

## EFFECTO DEL ÁCIDO HIALURÓNICO SOBRE LA CICATRIZACIÓN TRAQUEAL EN UN MODELO EXPERIMENTAL CANINO

J. R. OLMOS-ZÚÑIGA, J. A. SANTOS-CORDERO\*, R. JASSO-VICTORIA, A. SOTRES-VEGA, M. O. GAXIOLA-GAXIOLA\*\*, J. R. MORA-FOL\*, J. A. FRANCO-OROPEZA, P. SANTILLAN-DOHERTY\*\*\*

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN CIRUGÍA EXPERIMENTAL, \*DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA PEDIÁTRICA DEL HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD PEMEX, \*\*DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN MORFOLOGÍA DEL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS Y \*\*\*DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN CIRUGÍA EXPERIMENTAL DEL INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y DE LA NUTRICIÓN "SALVADOR ZUBIRÁN". TLALPAN, MÉXICO, D.F.

### RESUMEN

Se han utilizado varios fármacos para modular el proceso de cicatrización de la tráquea y evitar la formación de una estenosis traqueal. El ácido hialurónico (AH) es un modulador de la fibrogénesis y en este trabajo evaluamos el efecto de la aplicación de éste sobre la cicatrización traqueal, después de realizar anastomosis traqueal término-terminal cervical en perros. En 12 perros mestizos se realizó resección traqueal y sutura cervical y postcirugía se trataron de la siguiente forma: Grupo I (n=6): Se aplicó tópicamente solución salina normal (0,9%) sobre la anastomosis traqueal y en el grupo II (n=6) se aplicó 15 µg de AH en la anastomosis traqueal. Los animales fueron evaluados clínica, radiológica y mediante endoscopia traqueal durante 4 semanas y fueron sometidos a eutanasia. Se examinó macroscópica y microscópicamente la cicatrización de la anastomosis traqueal y se cuantificó mediante estudio bioquímico utilizando el método de Woessner la cantidad de colágeno formado en ésta. Todos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico y al tiempo

de estudio establecido. Ningún animal presentó diferencias en la evolución clínica importantes. Los hallazgos radiológicos, endoscópicos y macroscópicos mostraron mayor desarrollo de estenosis traqueal en los animales del grupo I que en los del grupo II. Los estudios endoscópicos y macroscópicos mostraron mayor inflamación y desarrollo de tejido fibroso de consistencia firme en las cicatrices del grupo I que en las del grupo II. Microscópicamente en el grupo I se observó fibrosis y reacción inflamatoria severa. En el grupo II se presentaron depósitos de fibras de colágeno delgadas y bien organizadas con reacción inflamatoria mínima. En las determinaciones bioquímicas se demostró que la concentración de colágeno fue mayor en el grupo I a las del resto, sin que estadísticamente las diferencias resultasen significativas. Nosotros concluimos que el AH aplicado después de la realización de una anastomosis traqueal término-terminal en perros disminuye la formación de estenosis e inflamación traqueal postcirugía y mejora la calidad de la cicatrización traqueal.

**PALABRAS CLAVE:** Cicatrización traqueal. Estenosis traqueal. Ácido hialurónico (AH). Anastomosis traqueal término-terminal. Anastomosis traqueal. Fibrosis. Inflamación.

### ABSTRACT

#### EFFECT OF THE HYALURONIC ACID ON TRACHEAL HEALING. A CANINE EXPERIMENTAL MODE

Several drugs have been used to modulate the tracheal healing process in order to prevent tracheal stenosis. Hyaluronic acid (HA) is a modulator of the fibrogenesis. In this work we evaluate the effect in order the application of hyaluronic acid has on tracheal healing, after cervical tracheoplasty in dogs. A cervical tracheal resection and tracheoplasty was performed in 12 dogs and they were treated following surgery as follows: Group I (n=6) Topical application of normal saline solution (0.9%) on the anastomosis site. Group II Topical application of hyaluronic acid on the trachea anastomosed. The animals were evaluated clinical, radiological and tracheoscopically during 4 weeks and were submitted to euthanasia. Macroscopic and microscopic examinations of the tracheal anastomotic healing were evaluated. Biochemical collagen quantification by the Woessner method was performed to evaluate the collagen development at the anastomo-

tic site. All the animals survived the surgical procedure and the study time. No animal presented differences in clinical evaluation. Radiological and endoscopic findings both two showed more development of the tracheal stenosis in-group I than in group II. The tracheoscopy and macroscopic studies showed major inflammation and development of fibrotic tissue with a firm consistency in the healing of the group I than in group II. Microscopic examination in group I showed severe fibrosis and inflammatory reaction. The group II presented deposits of a thin and organized collagen fibers and minimal inflammatory reaction. Biochemical collagen concentration was larger in-group I, however significanty. We conclude that the hyaluronic acid applied after cervical tracheoplasty in dogs reduces postsurgical tracheal stenosis and inflammation, as well as improve the quality of the tracheal healing.

**KEY WORDS:** Tracheal healing. Tracheal stenosis. Hyaluronic acid (HA). Tracheoplasty. Tracheal anastomosis. Fibrosis. Inflammation.

**Correspondencia:** M.C. J. Raúl Olmos-Zúñiga. Departamento de Investigación en Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Calz. Tlalpan 4502. Unidad de Investigación. Tlalpan 14080. D.F. México. E-mail: raolzu@yahoo.com

**Fecha de recepción:** 12-7-2002

**Fecha de aceptación:** 9-6-2003

## INTRODUCCIÓN

Los pacientes mantenidos con intubación prolongada para ventilación asistida, padecen a consecuencia de ella y con cierta frecuencia estenosis laringo-traqueales, cuyo origen guarda relación con los fenómenos de isquemia, necrosis y reparación cicatricial, derivados de la presión ejercida por el balón o el propio tubo sobre las paredes internas de la laringe y de la tráquea<sup>1</sup>.

La resección del segmento afectado y su posterior reconstrucción, constituyen en la actualidad los fundamentos del tratamiento quirúrgico de las estenosis laringo-traqueales en los niños. La complicación más frecuente de este procedimiento terapéutico es la re-estenosis por fibrosis de la herida.

El tratamiento de las estenosis traqueales es variado y se han practicado procedimientos como las dilataciones con balón o cánulas, colocación de férulas intratraqueales y la permeabilización con láser, pero desafortunadamente éstas han sido solamente de tipo paliativo<sup>2,3</sup>.

También se han utilizado fármacos como los esteroides, mitomicina C y antiinflamatorios no esteroideos, con el fin de modular el proceso de cicatrización y prevenir la formación de una cicatriz excesiva, pero ninguno ha tenido el éxito deseado<sup>4,5</sup>.

El ácido hialurónico (AH) es un polisacárido de alto peso molecular que se encuentra involucrado en gran variedad de funciones biológicas y durante el proceso de cicatrización de las heridas favorece la regeneración y reparación tisular con menor inflamación y fibrosis<sup>6</sup>.

El AH, ha sido utilizado con buenos resultados, en el tratamiento de la osteocondritis de la rodilla, produciendo disminución de la fibrosis cicatricial<sup>7</sup>, regeneración de las heridas de la mucosa nasal<sup>8</sup>, para prevenir la formación de adherencias intrabdominales postquirúrgicas<sup>9</sup> y como expansor tisular en la piel<sup>10</sup>. Por lo que pensamos que una área nueva para su utilización sería probar si su aplicación después de una anastomosis traqueal término-terminal, modula el proceso de cicatrización traqueal y previene las estenosis traqueales postquirúrgicas.

En este trabajo evaluamos el efecto de la aplicación de ácido hialurónico sobre la cicatrización traqueal, después de realizar anastomosis traqueal término-terminal cervicales en perros.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales de experimentación

Se utilizaron 12 perros sanos de ambos sexos

y edades varias, con un peso de entre 15 y 18 Kg. Todos los animales fueron tratados de acuerdo a las Especificaciones Técnicas para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana<sup>11</sup> y de la *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* de los Estados Unidos<sup>12</sup>.

Los animales fueron divididos en 2 grupos de estudio:

En los dos grupos se practicó la resección de tres anillos de la tráquea cervical y anastomosis traqueal término-terminal convencional y se trataron de la siguiente forma:

Grupo I (n=6): Resección y anastomosis término-terminal con aplicación intraluminal tópica de solución salina normal al 0,9% en el sitio de la anastomosis traqueal.

Grupo II (n=6): Resección y anastomosis término-terminal con aplicación intraluminal tópica de 15 µg de ácido hialurónico sobre la anastomosis traqueal.

A todos los animales de experimentación se les premedicó con sulfato de atropina (0.05 mg/kg) SC (Atropisa, Pisa, Guadalajara, México) y se les suministró hidrocloreuro de xilacina como anestésico (Rompun, Bayer, D.F., México) a dosis de 0.1 mg/Kg y 6 mg/kg de propofol (Recofol, PISA, Guadalajara, México) e inmediatamente después se les aplicó dipirona (Metamizol Sódico-Nondol-Sector Salud) a dosis de 28 mg/Kg IV como analgésico<sup>13</sup>. Los animales anestesiados, se colocaron sobre la mesa de cirugía en posición decúbito dorsal, fueron intubados y conectados a un ventilador de volumen (Harvard Apparatus, Boston MA, USA), posteriormente se mantuvo la anestesia con isoflurano al 3,5% (VCM Anestesia Machine, Yorkshire, England).

### Técnica Quirúrgica

Se realizó una incisión media en la región cervical ventral, se separaron los planos musculares en la línea media hasta visualizar la tráquea, se disecó toda la circunferencia de ésta y se resecaron tres anillos traqueales, posteriormente se realizó anastomosis término-terminal de la misma con puntos separados de poliglactin 910, absorbible de 3-0 (Vicryl, Ethicon, New Jersey, USA), finalmente se procedió al cierre por planos sin dejar drenaje. Todos los animales recibieron tratamiento postoperatorio con penicilina G (800.000 UI, IM) y sulfato de estreptomina por una semana, así como analgésico (28 mg/Kg de Metamizol Sódico).

## Tratamiento

En ambos grupos al finalizar la cirugía y antes de que los animales se recuperaran de la anestesia, con un broncoscopio rígido de 0 grados y 10mm de diámetro (Olympus A5254 Germany), que se encontraba conectado a un equipo de cirugía videoasistida (Olympus, Germany), se visualizó la luz de la tráquea, se identificó el sitio de la anastomosis y la imagen fue grabada en vídeo. Inmediatamente después mediante una sonda orogástrica colocada en el interior del endoscopio se procedió a la instilación del tratamiento sobre la circunferencia interna de la anastomosis (Figura 1). En el grupo I se aplicaron 3 ml de solución salina normal (Solución de cloruro de sodio 0,9%, Pisa, Guadalajara, México) y al grupo II se le administraron 15 µg de ácido hialurónico (Hyaluronic acid potassium SALT, Fluka Laboratory Chemicals, Riedel-deHaën) diluïdos en 3 ml de agua desionizada, este procedimiento se realizó inmediatamente después de la cirugía y cada tercer día durante 4 semanas con el animal anestesiado.

## Evaluación

Los animales fueron evaluados durante 4 semanas después de haberles realizado la cirugía y aplicado el tratamiento y a todos los perros se les realizó evaluación clínica diaria durante la primera semana post-cirugía y cada tres días el tiempo restante del estudio. Como signos inflamatorios se

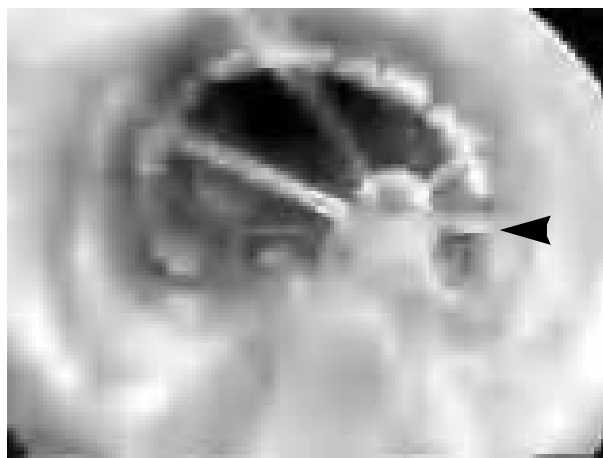


Figura 1. Endoscopia traqueal que muestra el sitio de la anastomosis traqueal (flecha) y la aplicación del tratamiento en un animal del grupo II, una semana después de la anastomosis traqueal término-terminal.

consideraron la presencia de estridor y de disnea de acuerdo a una escala modificada a la utilizada por la *Medical Research Council*<sup>14</sup>, que esta basada en la severidad de ésta: 0= sin dificultad para respirar después de correr, 1= dificultad para respirar después de correr, 2= dificultad para respirar en reposo.

Se realizaron radiografías simples laterales de cuello inmediatamente después de la cirugía y cada tercer día hasta finalizar el estudio, para evaluar radiográficamente el estado de la sutura. El objetivo de estas exploraciones era el de determinar el porcentaje de estenosis formado en el sitio de la anastomosis y la configuración de la misma (concéntrica o lateral), para lo que se tomó como referencia el diámetro ventro-dorsal de la tráquea y con una regla estándar sobre la radiografía, se midió en mm el diámetro de la porción traqueal anastomosada, el cual se comparó con la placa control tomada inmediatamente después de la cirugía. El porcentaje de estenosis se calculaba obteniendo la diferencia entre ambos diámetros.

Se llevó a cabo el examen endoscópico de la anastomosis traqueal en el momento de la instilación del tratamiento, con el fin de valorar la cicatrización, formación de estenosis, presencia de dehiscencia o infección y la formación de fístulas en el sitio de la anastomosis.

Todas las traqueoscopías se grabaron en vídeo y el grado de estenosis producido en la anastomosis traqueal se evaluó de acuerdo con la clasificación de Cotton<sup>15</sup>: Grado I = 0-50% de obstrucción de la luz traqueal, Grado II = 51-70% de obstrucción de la luz traqueal, Grado III = 71-99% de obstrucción de la luz traqueal y Grado IV = lumen traqueal no aparente.

Cuatro semanas después de la intervención quirúrgica, los animales fueron sacrificados mediante la administración de una sobredosis de pentobarbital sódico y se llevó a cabo la evaluación macroscópica y microscópica de la sutura.

Desde el punto de vista macroscópico, se procedió a revisar el estado de la anastomosis, especialmente la cicatrización intra y extraluminal. Para observar con detalle el estado de la mucosa, se resecó el segmento correspondiente a la anastomosis que se abrió por su porción membranosa, valorando de manera inmediata la existencia o no de estenosis, el tipo de cicatriz formada, la presencia de dehiscencia o infección y la formación de fístulas.

Se tomaron muestras de los segmentos traqueales anastomosados, para su estudio microscópico,

que se fijaron en formaldehído al 10%, se incluyeron en parafina, se les realizaron cortes de 4  $\mu$ g, se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricrómica de Massón, finalmente se les evaluó la presencia de vasos de neoformación, inflamación, fibrosis, infección o dehiscencia.

Posteriormente se realizaron los estudios bioquímicos mediante el método de Woessner, la concentración de mg de colágeno por g de tejido traqueal<sup>16</sup>. Esta determinación se realizó en dos muestras traqueales del mismo animal, una de los anillos resecados y la otra se tomó de la anastomosis cuando finalizó el estudio.

El análisis estadístico del grado de disnea, porcentaje de estenosis y la determinación de colágeno se realizó mediante Chi cuadrado, ANDEVA y t-Student. Los valores de  $p < 0,05$  fueron considerados como significativos.

## RESULTADOS

Todos los animales sobrevivieron con lo que se logró completar el tiempo prefijado de estudio. No se produjeron en los dos grupos (100% de los animales), diferencias clínicas importantes, ni eventos que amenazaran la vida de ninguno de ellos, ni disnea, aunque el 50% ( $n=3$ ) de los animales del grupo I presentaron estridor al ladrar, sin que éste afectase a su ventilación.

Los estudios radiográficos realizados dos semanas después de la anastomosis mostraron que el 50% ( $n = 3$ ) de los animales del grupo I (Chi cuadrado  $p < 0,05$ ), mostraron estenosis concéntrica de la luz traqueal del 50% y esta persistió hasta finalizar el estudio. Mientras que el 16,6% ( $n=1$ ) de los animales del grupo II también presentó estenosis concéntrica menor del 50% de la luz traqueal, sin embargo ésta desapareció al finalizar la tercera semana postcirugía (Figura 2).

A la evaluación endoscópica el 100% de los animales presentaron cicatrización de la anastomosis traqueal término-terminal a los 7 días posteriores a la cirugía. En los animales del grupo I la mucosa se observó edematosa e hiperémica durante las 2 primeras semanas del estudio, mientras que en los perros del grupo II estos signos se presentaron durante los primeros 5 días y desaparecieron en el transcurso de la segunda semana posterior al procedimiento quirúrgico.

La valoración del grado de estenosis, según la clasificación de Cotton fue la siguiente: 2 animales (33,3%) del grupo I, desarrollaron esteno-



Figura 2. Radiografía cervico-lateral en la que se puede observar la estenosis (flecha) desarrollada por un animal del grupo II, en la segunda semana postcirugía.

sis traqueal grado I (50%) durante la primera y segunda semana postcirugía, las cuales evolucionaron a grado II (Chi cuadrado  $p < 0,05$ ) de estenosis en la tercera semana post-cirugía y permanecieron hasta el final del estudio. Estas estenosis mostraron consistencia firme que impedía el paso del endoscopio. En el grupo II el 83,4% ( $n=5$ ) de los animales presentó evolución endoscópica satisfactoria (Figura 3) y sólo un perro (16,6%) presentó estenosis grado I durante todo el estudio, sin embargo ésta era de consistencia laxa y permitió el paso del endoscopio sin dificultad, además de que involucionó a la tercera semana posterior al procedimiento quirúrgico.

Al final de ella, cuando los animales fueron sometidos a eutanasia, a la evaluación macroscópica ningún animal operado (0%) presentó evidencia alguna de dehiscencia, infección o formación de fístulas. En ambos grupos, las anastomosis se encontraron bien cicatrizadas. En el 100% de los animales del grupo I se observó la presencia de tejido fibroso abundante y de consistencia firme.

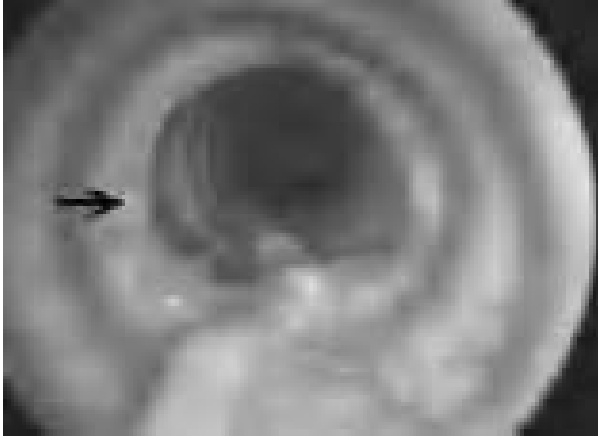


Figura 3. Endoscopia traqueal en la que se observa la cicatriz formada al final del estudio en un animal tratado con ácido hialurónico.



Figura 5. Fotomicrografía en la que se muestra la buena cicatrización en un animal tratado con ácido hialurónico, se observan las fibras de colágeno bien organizadas (C) alrededor del material de sutura (S). Tinción Masson, 16x.

Mientras que en todos los animales tratados con ácido hialurónico se observó presencia de tejido fibroso moderado y de consistencia laxa, así como la aparición de aparentes vasos de neoformación tanto sobre el cartílago como sobre la mucosa de la anastomosis.

Los estudios microscópicos mostraron que en el grupo I el 100% de los animales desarrolló fibrosis, caracterizada por la formación de nuevas fibras de colágeno gruesas y desordenadas con inflamación severa, principalmente a base de linfocitos en todas las capas de la tráquea (Figura 4). Un animal (16,6%) de este grupo mos-



Figura 4. Fotomicrografía que muestra la cicatrización en un animal del grupo I, se observa la presencia de un granuloma (G), el infiltrado inflamatorio severo (flecha) y las fibras de colágeno (C). Tinción H-E, 2,5x.

tró presencia de células gigantes a cuerpo extraño en la zona de las suturas. En el grupo II, el 80% de los perros operados mostraron desarrollo de nuevas fibras de colágeno densas, delgadas y bien organizadas, así como fibras elásticas con reacción inflamatoria leve (sin presencia de linfocitos) que involucraba la submucosa, serosa y lámina propia de la tráquea (Figura 5).

El análisis bioquímico de los especímenes procedentes de los animales del grupo I formaron más colágeno (316 mg/g de tejido) que los del grupo II (216 mg/g de tejido). Sin embargo, la cantidad de colágeno formado por gramo de tejido traqueal al compararla dentro de cada grupo y entre grupos, no fue estadísticamente significativa ( $p=NS$ , ANDEVA y t-Student).

## DISCUSIÓN

En la práctica diaria de la cirugía pediátrica, se presentan numerosos retos e interrogantes para quien la ejerce, y uno de ellos es la elección del tratamiento adecuado de las estenosis postintubación, las cuales requieren de la resección y reconstrucción de segmento traqueal afectado. Sin embargo, la realización de esta técnica quirúrgica, frecuentemente se complica con reestenosis del segmento traqueal<sup>17</sup>.

La estenosis traqueal se produce por una fibrosis desproporcionada que se debe al exagerado proceso de reparación que sucede a la necrosis

originada por la isquemia de la mucosa y tejido de soporte traqueales y que se traduce en obstrucción de la luz traqueal que obstaculiza la circulación de aire en los dos sentidos.

Durante el proceso de cicatrización traqueal, el tejido de granulación que se produce juega un papel importante, ya que puede provocar una cicatriz extensa y fibrótica. La atenuación de ese proceso de cicatrización, mediante la acción de un agente modulador puede resultar eficaz en la prevención de las estenosis traqueales.

El ácido hialurónico es un modulador de la fibrogénesis durante el proceso de cicatrización fetal, éste acelera el depósito del colágeno en la herida y le organiza en un patrón mesenquimatoso unidireccional y fibrilar muy parecido al normal, de manera que se evita la formación de fibrosis<sup>18</sup>.

No hemos encontrado en la bibliografía revisada artículos o trabajos, en los que se valoren los cambios de cicatrización acaecidos en la tráquea después de la aplicación de ácido hialurónico. En el presente trabajo describimos el efecto de la aplicación de ácido hialurónico sobre la cicatrización traqueal, después de realizar una resección segmentaria y anastomosis traqueal término-terminal en perros.

Los hallazgos clínicos, radiográficos y endoscópicos, de todos los animales de experimentación incluidos en este estudio, mostraron que en todos los casos se presentó cicatrización traqueal, sin embargo la cicatrización observada mediante endoscopia traqueal en los animales del grupo de ácido hialurónico desde la primera semana no mostró signos de inflamación a diferencia de la del grupo control, por lo que se puede pensar que la respuesta inflamatoria de las heridas traqueales disminuye en presencia de AH, debido a que éste favorece la proliferación de células mesenquimales que producen un infiltrado inflamatorio monocelular, el cual disminuye el proceso inflamatorio agudo, local y periférico<sup>18,19</sup>.

Los hallazgos macroscópicos observados en este estudio, coinciden con los reportados por otros autores<sup>20,21</sup> y sugieren que el desarrollo de cicatrices menos fibróticas y laxas formadas en los animales del grupo II, se produjo porque el AH durante la inflamación del proceso de cicatrización actúa directamente sobre la función de los fibroblastos, disminuyendo la producción de colágeno y tejido cicatricial compacto con lo que se evita la formación de cicatrices fibróticas.

Al analizar los hallazgos histológicos observados, la aparición de linfocitos en los animales del

grupo I, es indicación evidente de la existencia de un proceso de inflamación crónica a diferencia de los animales del grupo AH en el que no se detectaron linfocitos. Estos hallazgos coinciden con los de otros autores que mencionan que en presencia del AH disminuye el infiltrado inflamatorio y raras veces en éste se observan linfocitos<sup>21-23</sup>.

Las células gigantes a cuerpo extraño que se observaron en la zona de las suturas de un animal del grupo I es una respuesta de inflamación crónica granulomatosa, en la cual el material de sutura que fue el utilizado para la anastomosis, actuó como un irritante y provocó la fusión de los macrófagos, que al digerir el referido material dieron lugar a la formación de "células gigantes a cuerpo extraño"<sup>24</sup>.

Con respecto al desarrollo de fibras de colágeno bien organizadas en los animales del grupo tratado con AH, nos lleva a la deducción de que éste colabora con la cicatrización, al conducirla mediante un patrón similar al de la producción del tejido normal impidiendo la formación de fibrosis<sup>18</sup>.

Aunque en la evaluación bioquímica no se presentó diferencia estadística en la cuantificación de la cantidad de colágeno desarrollado por mg de tejido entre ambos grupos, la cantidad de ésta formada en el grupo II, fue menor, lo que indica que el tratamiento con AH disminuye la formación de colágeno<sup>18,22</sup> y estos hallazgos coinciden con los de otros estudios que describen el uso de AH en la cicatrización de diferentes tejidos<sup>7-10,20,21</sup>.

De acuerdo con lo expuesto, se puede concluir que el ácido hialurónico aplicado después de la realización de anastomosis traqueal término-terminal en perros disminuye la formación de estenosis traqueal post-quirúrgica disminuye la inflamación de las anastomosis, mejora la calidad de la cicatrización traqueal, ya que organiza y distribuye el colágeno en un patrón muy parecido al del tejido normal.

Finalmente pensamos que son precisos nuevos estudios con el fin de determinar la posibilidad de conseguir el mismo efecto de prevenir la formación de estenosis de la sutura, disminuyendo el número de aplicaciones con la utilización de dosis mayores, de la misma manera que cambiando la vía de administración por la de nebulizaciones. También sería interesante estudiar la posibilidad de combinar el AH con otros medicamentos, con el propósito de mejorar la seguridad y eficacia y de posibilitar su empleo clínico en el tratamiento de las estenosis traqueales.

## REFERENCIAS

- 1.- Pillsbury HC, Clark M. A rationale for therapy of the N0 neck. *Laryngoscope* 1997; 107:1294-1315.
- 1.- Grillo HC, Donahue DM: Stenosis Tracheal Postintubation. *Chest Surg Clin N Am* 1996; 6: 725-731.
- 2.- Soda A, Delgado A, Morales J. Manejo Quirúrgico de las estenosis traqueales. *Gaceta Medica de México* 1994;130:386-89.
- 3.- Reza R, Stanley MS, Gerald BH. Mitomycin: Effects On Laryngeal and Tracheal Stenosis, Benefits and Complications. *Ann Otol Laryngol* 2001;110:1-6.
- 4.- Correa A J, Reinish L, Sanders DL, Huang S. Inhibition of subglottic stenosis with mitomycin c in the canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1999;108:1053-60.
- 5.- Livingstone GL, Schild JA. Lathrogenic agents as therapy for subglottic stenosis a pilot study. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1987;97:446-51.
- 6.- Longaker MT, Harrison MR, Crombleholme TM, Langer JC, Decker M, Verrier ED, et al. Studies in Fetal Wound Healing: I. A Factor in Fetal Serum that Stimulates Deposition of Hialuronic Acid. *J Pediatr Surg*. 1989;24:789-792.
- 7.- Wen DY. Intra-articular Hyaluronic Acid Injection for Knee Osteoarthritis. *American Family Physician* 2000;62:565-570.
- 8.- Soldati D, Rahm F, Pasche P. Mucosal Wound Healing After Nasal Surgery. A Controlled Clinical Trial on the Efficacy of Hyaluronic Acid Containing Cream. *Drug Under Experimental and Clinical Research* 1999;25:253-261.
- 9.- Sawada T, Hasegawa K, Tsukada K, Kawakami S. Adhesion Preventive Effect of Hyaluronic Acid After Intraoperative Surgery in Mice. *Human Reproduction* 1999;14:1470-1472.
- 10.- Brown TJ, Alcorn D, Fraser JR. Adsorption of Hyaluronan Applied to the Surface of Intact Skin. *Journal Investigative Dermatology* 1999;113:740-746.
- 11.- Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. *Diario Oficial de la Federación* 6 dic, 1999. Estados Unidos Mexicanos.
- 12.- Guide For the Care and Use of Laboratory Animals. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health Re. 1985.
- 13.- Memories of the Course of Animal Anesthesia and Models of the 12 th Annual Meeting and 1ST International Conference of the Academy of Surgical Research. University of Muenster Department of Surgery. Muenster, Germany, October, 1996.
- 14.- Task Group on Screening For Respiratory Disease in Occupational Settings. *Am Rev Respir Dis* 1982;126:952-56.
- 15.- Cotton RT, Connor DM, Myer CM: Proposed Grading System For Subglottic Stenosis Based On Endotracheal Tube Sizes. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1994;108:319-323.
- 16.- Santillán-Doherty P, Jasso-Victoria R, Olmos-Zuñiga JR, Vanda-Cantón B, Sotres-Vega A, et al. Efecto de la Prednisona, la Azatioprina y la Ciclosporina Sobre la Cicatrización Bronquial. *Cir Ciruj* 1998;66:165-171.
- 17.- Backer CL, Mavroudis C, Dunham ME, Holinger L. Intermediate-Term Results of the Free Tracheal Autograft for Long Segment Congenital Tracheal Stenosis. *J Pediatr Surg* 2000;35:813-819.
- 18.- Longaker MT, Whitby DJ, Adzick NS, Crombleholme TM, Langer JC, Duncan BW, et al. Studies in Fetal Wound Healing: VI. Second and Early Third Trimester Fetal Wound Demonstrate Rapid Collagen Deposition Without Scar Formation. *J Pediatr Surg* 1990;25:63-69.
- 19.- Adolph VR, DiSanto SK, Bleacher JC, Dillon PW, Krummel TH. The Potential Role of the Lymphocyte in Fetal Wound Healing. *J Pediatric Surg* 1993;28:1316-1620.
- 20.- Hernández AG. Efectos del Ácido Hialurónico Sobre el Mecanismo de Cicatrización en la Anastomosis de Uretra. Un estudio Experimental. Tesis de Especialidad. México, D.F. México Facultad de Medicina UNAM 2000.
- 21.- Krupala, JL, Gianoli GJ, Smith RA. The Efficacy of Hyaluronic Acid Foam As A Middle Ear Packing Agent In Experimental Tympanoplasty. *The American Journal Of Otolaryngology* 1998;19:546-50.
- 22.- Broker BJ. Reiter D. Fetal Wound Healing. *Otolaryngology Head and Neck Surg* 1994;110:547-49.
- 23.- Mast BA, Diegelman RF, Krummel TM, Cohen IK. Scarless Wound Healing In The Mammalian Fetus. *Surg Gynecol Obstet* 1992; 74:441-51.
- 24.- Peacock EE. Control of wound healing and scar formation in surgical