

Cirugía y Cirujanos

Volumen **74**
Volume

Número **1**
Number

Enero-Febrero **2006**
January-February

Artículo:

Efecto del ácido hialurónico en la cicatrización de la anastomosis ureteropiélica. Estudio experimental

Derechos reservados, Copyright © 2006:
Academia Mexicana de Cirugía

Otras secciones de
este sitio:

- 📖 Índice de este número
- 📖 Más revistas
- 📖 Búsqueda

*Others sections in
this web site:*

- 📖 *Contents of this number*
- 📖 *More journals*
- 📖 *Search*

Efecto del ácido hialurónico en la cicatrización de la anastomosis ureteropielica. Estudio experimental*

Acad. Dr. Éctor Jaime Ramírez-Barba,[‡] MIC Javier de Jesús Quiroz-Guerrero,**
Dr. José Báez-Mendoza,*** Dr. Jorge Martínez-García[‡]

Resumen

Introducción: la obstrucción ureteropielica es la causa congénita más frecuente de uropatía obstructiva en el recién nacido. Su reparación es quirúrgica y la tasa de recidiva de la estenosis secundaria a fibrosis en plastias abiertas es de 5 a 12 %, y de 10 a 20 % en plastias endourológicas. El ácido hialurónico ha demostrado utilidad para modular la cicatrización; se busca determinar su efecto en la cicatrización de la anastomosis ureteropielica.

Material y métodos: estudio experimental, controlado, comparativo y doble ciego. Muestra $n = 20$, protocolo correcto con $\delta = 26\%$, $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.80$. Se utilizaron dos grupos de ratas Wistar de cuatro meses de edad y peso de 250 a 350 g. Bajo anestesia general y visión 12x se realizó sección en bisel de la unión ureteropielica izquierda y anastomosis término-terminal con Vicryl[®] 7-0. Al grupo experimental se le aplicó en la anastomosis 25 μg de ácido hialurónico, al grupo B, placebo. Se reintervinieron el día 15 y se cuantificaron las adherencias en cavidad. Bajo visión microscópica se realizaron cortes de la anastomosis ureteropielica, se tiñeron con tricómico de Masson y se cuantificó el grado de fibrosis. Se utilizó estadística inferencial con $\alpha = 0.05$.

Resultados: hubo adherencias en 75 % del grupo A y 90 % del grupo placebo ($p > 0.05$). La fibrosis en el grupo experimental fue significativamente menor ($p = 0.043$) con media de 534 ± 292 micras que en el grupo placebo (728 ± 295 micras).

Conclusión: el ácido hialurónico fue útil para disminuir la formación de fibrosis de la anastomosis ureteropielica en modelo animal.

Palabras clave: ratas Wistar, obstrucción ureteropielica, adherencias, ácido hialurónico.

Summary

Background: Ureteropyelic obstruction is the most frequent congenital cause of obstructive uropathy in the newborn. Its repair is based on surgical procedures and has a very high rate of relapse of secondary stenosis to fibrosis (5-12 %) in open repair and 10-20 % in endo-urological pyeloplasties. Hyaluronic acid has demonstrated therapeutic utility in modulating the healing process and its effect in scar formation from ureteropyelic anastomosis is determined.

Methods: An experimental, controlled, comparative, double blind study was performed. Sample $n = 20$ per protocol with $\delta = 26\%$, $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.80$. Two groups of Wistar rats, 4 months of age and weighing between 250 and 350 g, were used. Under general anesthesia, Vision 12x was used and bevel section was realized in the left ureteropyelic union and end-to-end anastomosis with Vicryl 7-0. Experimental group was treated with 25 μg of hyaluronic acid and group B was treated with placebo. The rats were reoperated on the 15th day and adherences in cavity were quantified. To quantify the degree of fibrosis, samples of ureteropyelic anastomosis tissue were dyed with Masson Trichrome and observed microscopically. Inferential statistics were used with $\alpha = 0.05$.

Results: Macroscopic: there were adherences in 75 % of group A and 90 % of the group B ($p > 0.05$). Microscopic: anastomotic fibrosis in group A ($534 \pm 292 \mu$) was significantly lower ($p = 0.043$) than that of group B ($728 \pm 295 \mu$).

Conclusions: Hyaluronic acid plays a role in diminishing the formation of fibrosis from ureteropyelic anastomosis in an animal model.

Key words: Wistar rats, ureteropyelic obstruction, adhesions, hyaluronic acid.

[‡] Académico titular de la Academia Mexicana de Cirugía. Profesor titular B, Universidad de Guanajuato. Investigador asociado B. Secretario de Salud de Guanajuato.

** Urólogo pediatra, Maestro en Investigación Clínica. Hospital Ángeles León.

*** Anatomopatólogo. Cuerpo académico de Investigación Clínica y Epidemiológica de las Enfermedades Crónicas y Degenerativas, Universidad de Guanajuato.

[‡] Anatomopatólogo, Hospital General Regional, Secretaría de Salud.

* Trabajo presentado en la Semana Quirúrgica Nacional 2004 en Aguascalientes, Ags. Financiado con apoyo del Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología de Guanajuato, Convenio SSG/Concyteg-202-019, y distinguido con el premio "Académico Doctor Francisco Fonseca García 2004", de la Academia Mexicana de Cirugía.

Solicitud de sobretiros:

Acad. Dr. Éctor Jaime Ramírez-Barba,

Circuito Jardín de San Juan de Dios 180, Col. Jardines del Campestre, 37128 León, Guanajuato, México. Tel.: (01 477) 217 8665. Fax: (01 477) 788 5746. E-mail: ramirezbarba@hotmail.com_eramirez@guanajuato.gob.mx

Recibido para publicación: 11-04-2005.

Aceptado para publicación: 30-06-2005.

Introducción

La obstrucción de la unión ureteropielíca es la causa congénita más frecuente de uropatía obstructiva en el recién nacido. El tratamiento es quirúrgico en los casos que se confirma la obstrucción.¹

De 1800 a 1890, la nefrectomía fue el tratamiento de elección de la obstrucción de la unión ureteropielíca. Luego se utilizaron diversas técnicas con muchos fracasos. En 1929 se contó por primera vez con la pielografía descendente (desarrollada por Swick), que aunada a nuevas técnicas quirúrgicas hizo sistemática la operación de la unión ureteropielíca. Ormond observó que a pesar de la reparación del riñón obstruido, era muy común la mala evolución que llegaba a falla renal. En 1946, Anderson e Hynés publicaron su experiencia con una técnica que requería la completa transección del uretero, resección de la zona de estenosis, espatular el uretero y posteriormente realizar anastomosis término-terminal en diamante de la unión ureteropielíca, y aunque esta técnica se utilizó inicialmente en la corrección de un uretero retrocavo, marcó un paso importante. Actualmente la técnica más utilizada en la cirugía abierta para la reparación de la obstrucción de la unión ureteropielíca.¹

Las complicaciones posoperatorias tempranas incluyen infección, hemorragia y edema. La complicación tardía es la estenosis de la anastomosis. Floyd informó 22 casos de reestenosis de la unión ureteropielíca; siendo la principal la fibrosis y la formación de cicatriz.² La recurrencia de la estenosis se trata con reintervención quirúrgica abierta, y dada la fibrosis secundaria a la primera cirugía es mucho el tiempo invertido en el abordaje hasta la exposición renal y la disección del uretero específicamente en la unión ureteropielíca, ya que la disección debe de ser meticulosa para evitar más daño.^{3,4} Actualmente se han encaminado los estudios al tratamiento de la complicación (estenosis) por medio de endourología para evitar todo el proceso fibroso al que se enfrenta una segunda intervención abierta.⁵ Sin embargo, no hay estudios dirigidos a prevenir la fibrosis y la estenosis, y no hay investigaciones sobre el mecanismo de cicatrización propiamente dicho de esta región.

La cicatrización fetal puede orientar las estrategias terapéuticas que ayuden a modificar la cicatrización y la fibrosis. Las heridas en los fetos de humanos y animales sanan característicamente con una gran disminución en la formación de tejido fibroso. Esta hipótesis estriba esencialmente en la diferencia que existe en los niveles de ácido hialurónico en el feto y en el adulto. El ácido hialurónico es un polisacárido lineal con unidades de disacáridos repetidas, que se encuentra en altas concentraciones en la matriz extracelular en el proceso de cicatrización. Los efectos reportados del ácido hialurónico son su capacidad para disminuir la repuesta inflamatoria, inhibición de la liberación de proteasas de los leucocitos y de los radicales libres de los macrófagos. Los macrófagos llevan en su membrana receptores CD44 de hialuronato, los cuales modulan la respuesta de las

citoquinas. Cuando ocurre la reparación de heridas en el feto, se mantienen concentraciones elevadas de ácido hialurónico en el sitio de la lesión, éste organiza la disposición de la colágena y favorece la proliferación y movilización celular temprana, de tal modo que se origina cicatriz fina sin fibrosis y nula retracción. Este fenómeno fue primeramente observado en la experiencia en cirugía fetal del Programa de tratamiento fetal de la Universidad de San Francisco, California, desde 1981.⁶⁻⁸

La cicatrización se atribuyó a la presencia de una matriz extracelular con componentes estructurales macromoleculares diferentes comparados con la matriz extracelular del adulto; en particular, con la aparición de un ambiente rico en ácido hialurónico que facilita la movilidad celular, la proliferación celular y la regeneración.^{8,9}

De Palma-Krummel y colaboradores¹⁰ demostraron que la matriz extracelular contiene grandes concentraciones de ácido hialurónico, un disacárido compuesto de D-ácido glucurónico y N-acetil-D-glucosamina {->4)-B-D-GlucA-(1->3)-B-D-GluNAc-(1->}.^{11,12} Se considera que esta alta concentración de ácido hialurónico se debe a la presencia de una glicoproteína llamada *actividad estimuladora de ácido hialurónico* (AEAH), dicho factor está presente en la herida fetal por periodos prolongados, lo cual resulta en una respuesta prolongada rica en ácido hialurónico de la herida fetal, mecanismo completamente ausente en la herida del adulto. En el adulto el ácido hialurónico se presenta en menor concentración y desaparece rápidamente dado que no existe estímulo constante para su producción (déficit de AEAH), además que es degradado por la presencia de la enzima hialuronidasa (ácido hialurónico'asa), depositándose entonces glicosaminoglicanos sulfatados que dan origen a la formación de cicatriz.¹³⁻¹⁶ En el feto, la AEAH no sólo estimula la producción de ácido hialurónico y mantiene concentraciones óptimas en el sitio de la lesión, sino también inhibe la acción de la enzima hialuronidasa por tiempo prolongado.

Estudios realizados en corderos hembras gestantes reportaron la concentración de ácido hialurónico (por ser el elemento principal de la matriz extracelular) en las heridas fetales y la compararon con la concentración de ácido hialurónico en el adulto. En la herida del adulto, para el tercer día se encontró un nivel de ácido hialurónico de 7.0 ± 1.2 mg/ml, con decremento importante al séptimo día, aproximadamente de 0 ± 0.9 mg/ml, y para el día 21 no se encontraron niveles de ácido hialurónico. En el feto la cantidad de ácido hialurónico para el tercer día fue de 4.6 ± 1.4 mg/ml. En contraste con el adulto el nivel del ácido hialurónico permanece elevado (4.6 ± 1.4 mg/ml) durante 21 días, con disminución lenta hasta el tercer mes.^{6,17,18}

Considerando lo anterior y tomando en cuenta la necesidad de mantener concentraciones tempranas, altas y prolongadas de ácido hialurónico en el sitio de la lesión para una curación sin fibrosis, existe la posibilidad de modular la reparación de tejidos del niño y del adulto de manera que la herida sane en la forma más parecida a la del feto.¹⁹ Existen informes

de la utilidad terapéutica del ácido hialurónico en diversas áreas de la medicina como en otorrinolaringología, que lo han utilizado para modular la cicatrización después de cirugía de la mucosa nasal²⁰ y en el tratamiento de la perforación de la membrana timpánica.²¹ Otras aplicaciones clínicas están en reumatología, dermatología y ortopedia.²²

No existen en la literatura reportes sobre la utilización de ácido hialurónico como recurso terapéutico para la manipulación de regeneración del tejido urinario (ureteros, pelvis renal o uretra) sometido a una intervención quirúrgica, de aquí el interés del presente estudio.

Material y métodos

Diseño: estudio experimental, controlado, comparativo y doble ciego, aprobado por el Comité de Investigación, Ética y Bioseguridad de la Facultad de Medicina de la Universidad de Guanajuato, con registro 111-01, el 18 de octubre de 2001. Fue financiado parcialmente por el Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología mediante el convenio SSG/Concyteg-202-019.

Muestra: el tamaño de la muestra se calculó con el método de diferencia de proporciones con el programa *Primer of Biostatistics* versión de Stanton A. Glantz, considerando un nivel de significancia de 0.05 y potencia de 80 %, resultando en 20 por cada grupo protocolo correcto.

Criterios de inclusión: ratas macho de la raza Wistar, de cuatro meses de edad y con peso entre 250 y 350 g.

Criterios de no inclusión: ratas que presentaran alguna complicación anestésica inmediata o que tuvieran alguna anomalía anatómica en la región quirúrgica a estudiar, identificada al momento de la cirugía.

Criterios de exclusión: ratas que murieran antes de los 15 días preestablecidos para la reintervención, por infección o complicaciones quirúrgicas como la eventración, evisceración, fíleo intestinal y obstrucción intestinal por bridas. También las que adquirieran o desarrollaran alguna enfermedad no inherente al estudio.

Variables: de intervención: tratamiento con ácido hialurónico o placebo; de desenlace: características de la fibrosis en la región de la anastomosis ureteropielica al tratamiento.

Procedimiento: en el Departamento de Cirugía Experimental de la Facultad de Medicina de León se realizó el corte y la anastomosis de la unión ureteropielica de 40 ratas Wistar divididas aleatoriamente en dos grupos:

- **Grupo A:** se le aplicó ácido hialurónico.
- **Grupo B:** se le administró placebo (solución salina).

La cicatrización de la anastomosis se valoró macro y microscópicamente a los 15 días de la operación.

Técnica quirúrgica: cada rata fue intervenida bajo anestesia general con droperidol a dosis de 1.5 mg/kg y ketamina 1.5

mg/kg de peso intramuscular, dosis única. Se fijó a la tabla de disección y se rasuró la pared abdominal. Se realizó asepsia con Isodine® y alcohol. Bajo visión con lentillas de aumento 3x, se incidió en la línea media disecando por planos hasta identificar el riñón y la unión ureteropielica. Bajo visión de 12x se realizó sección en bisel de la unión ureteropielica izquierda, posteriormente se efectuó la anastomosis término-terminal con Vicryl 7-0®. Se aplicó la dosis de ácido hialurónico o placebo en la pared del uretero y se suturó la pared abdominal por planos con Vicryl® y nylon 3-0.

Tratamiento: las ratas se distribuyeron en dos grupos de 20 ratas en forma aleatoria:

- **Grupo A:** se le aplicó medicamento del frasco etiquetado como non.
- **Grupo B:** que se le aplicó medicamento del frasco etiquetado como par.

El ácido hialurónico utilizado fue adquirido de la empresa Sigma Aldrich. Los frascos y etiquetas que contenían el ácido hialurónico y el placebo fueron conocidos y preparados por el jefe del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de León. Al realizar la anastomosis se administraron 0.5 ml, que contenía 25 µg/ml de ácido hialurónico o placebo en la pared ureteral. La solución se administró aleatoriamente del frasco non o par según correspondiera al caso.

Antibióticos: al momento de la cirugía se administró en forma intramuscular amikacina, 15 mg/kg de peso intramuscular en dosis única.

Alimentación: Posterior a la cirugía, los dos grupos fueron alimentadas igual —nutrimentos específicos para las ratas Wistar—, así como con ingesta de agua a libre demanda.

Reoperación: al día quince del posoperatorio se reintervinieron realizándoles nefroureterectomía izquierda. Se estudió la región de la anastomosis en forma macroscópica (magnificada con lentes de aumento 4x). Se registró la presencia o ausencia de adherencias y características de las mismas de acuerdo con la escala utilizada. A cada pieza se le realizaron cortes de la zona anastomótica (anastomosis) bajo visión con microscopio quirúrgico, las muestras se procesaron en el Departamento de Patología del Hospital Regional de León. Los cortes se tiñeron con tricómico de Masson y fueron analizados por un patólogo quien desconocía el grupo al que pertenecían las muestras de tejido. Previamente se le proporcionaron riñones y ureteros sanos para el conocimiento y estandarización de la morfología e histología normal de la rata. Microscópicamente se midió en la zona de la anastomosis la cantidad de fibrosis con una regla graduada en micras que se adaptaba al ocular del microscopio.

Se consideraron las siguientes variables con sus definiciones:

- **Adherencias abdominales:** estructuras fibróticas que corren en forma de liga calificadas, así como la firmeza de

Cuadro I. Grado de severidad de las adherencias a los 15 días del posoperatorio según la escala de Diamond modificada por Evrard²³

Grupo	Grado de severidad			
	0	1	2	3
Adherencias en cavidad abdominal				
Ácido hialurónico (n)	5	5	3	7
Placebo (n)	2	7	2	9
Adherencias en el área anastomótica				
Ácido hialurónico (n)	3	8	5	4
Placebo (n)	1	7	5	7

adhesión entre los órganos abdominales y el uretero en el área de la anastomosis.

- *Densidad de las adherencias:* se midió con la escala de Diamond modificada por Evrard,²³ graduándolas de 0 a 3 de la siguiente manera: grado 0, sin adherencias; grado 1, pocas adherencias y separables fácilmente; grado 2, moderadas adherencias, difícilmente separables; grado 3, adherencias severas, se requieren instrumentos para su separación.
- *Fibrosis microscópica:* depósito de colágena tipo I desde la membrana basal del epitelio hasta la serosa del uretero, en la región de la anastomosis. La colágena tipo I se tiñe de azul con la técnica de tinción de trocromico de Masson. Se midió con método lineal, en micras por campo microscópico a 40x.

Análisis estadístico: se realizó con la prueba de t de Student para muestras independientes, Z para diferencia de proporciones y U de Mann-Whitney con un nivel de confianza del 95 %.

Terminado el proceso se procedió a la apertura de los sobres para identificar los grupos experimental y placebo.

Resultados

Durante la aplicación de la anestesia fallecieron tres ratas, por lo que no fueron incluidas en el estudio. Ningún animal de experimentación presentó anomalías anatómicas en la re-

Cuadro II. Fibrosis en micras en la zona de la anastomosis

Grupo	Media	DE	p*
Ácido hialurónico (n = 20)	534	292	0.043
Placebo (n = 20)	728	295	

DE = desviación estándar

* t Student -2.90, 38 grados de libertad

gión quirúrgica a estudiar, complicaciones quirúrgicas posoperatorias ni falleció antes de los quince días del posoperatorio.

Se encontraron adherencias macroscópicas en 82 % de las ratas (33/40). No se apreciaron diferencias significativas entre los grupos A (75 %) y B (90 %), $p > 0.05$.

La severidad de las adherencias en la cavidad abdominal en el grupo A fue en promedio de 1.6 ± 1.23 , y en el grupo B, de 2 ± 1.11 . En la zona anastomótica, de 1.5 ± 1 en el grupo A, y de 1.9 ± 0.96 en el grupo B. Las diferencias encontradas no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$, cuadro I).

La fibrosis desarrollada en la zona de anastomosis fue evaluada con 205 cortes microscópicos, siendo significativamente menor (cuadro II) en el grupo tratado con ácido hialurónico, con un rango de 230 a 1100 micras y en el grupo B, de 300 a 1460 micras (figuras 1 a 4). En el cuadro III se muestra además que 75 % del grupo A tiene menos de 640 micras de fibrosis, mientras que el grupo placebo se encuentra por arriba de las 700 micras.

Discusión

El ácido hialurónico es una potente macromolécula bioactiva de derivación celular que está involucrada en muchas funciones celulares tales como migración, invasión, proliferación, transformación y mitosis. Con base en estas características y buscando una regeneración tisular con la mínima fibrosis, aplicamos ácido hialurónico en la pared del uretero que se anastomosó a la pelvis renal. Al realizar la evaluación microscópica identificamos que se formó menos fibrosis en la zona de la anastomosis, y además de disminuir la cantidad de fibrosis el efecto positivo fue significativo, ya que en 75 % de los ureteros tratados el grosor de la fibrosis formada en la anastomosis fue menor de 640 micras, 35 % menos que en el grupo control. Aun cuando no fue posible comparar nuestros resultados porque no encontramos otros estudios en los que se haya aplicado ácido hialurónico en el tejido ureteral, en otros tejidos sí se ha demostrado la disminución de la fibrosis formada al aplicar el ácido hialurónico, como los trabajos de

Cuadro III. Grosor de la fibrosis en la zona anastomótica

Intervalo en micras	Grupo	
	Ácido hialurónico (n = 20)	Placebo (n = 20)
230-435	9	3
436-640	6	5
641-845	1	6
846-050	3	4
1051-1255	1	1
1256-1460	0	1

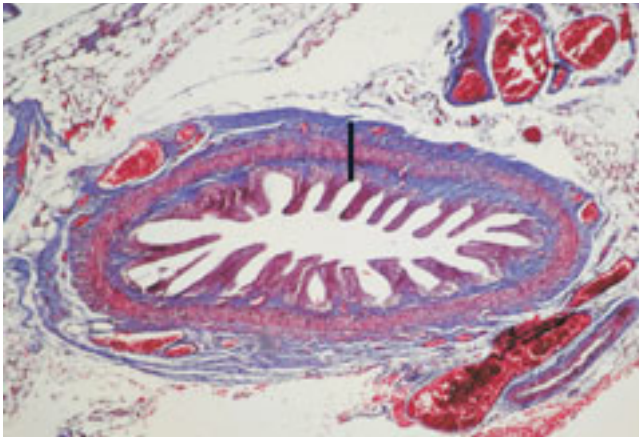


Figura 1. Corte microscópico de la unión ureteropiélica teñido con tricrómico de Masson donde se aprecia el espesor de la fibrosis (raya negra), proveniente del grupo tratado con ácido hialurónico.

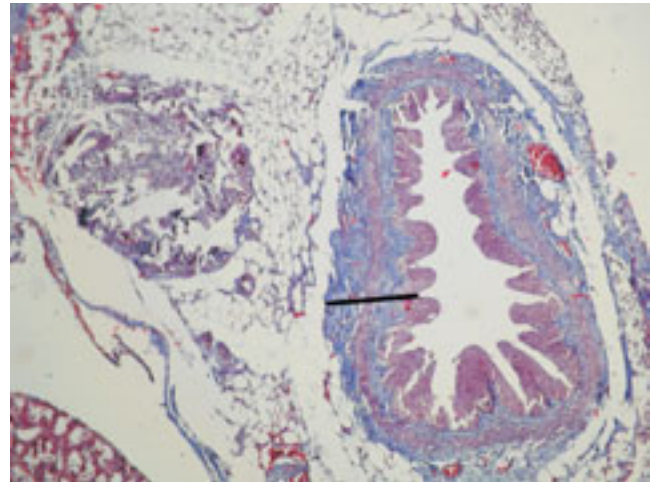


Figura 2. Corte microscópico de la unión ureteropiélica teñido con tricrómico de Masson donde se aprecia el espesor de la fibrosis (raya negra), proveniente del grupo tratado con ácido hialurónico.

Soldati en cirugía de mucosa nasal y de Chauvin en perforaciones de membrana timpánica.^{20,21} En el tejido urinario sólo está reportado el efecto negativo que se ha encontrado por el déficit de ácido hialurónico. Da-Silva²⁴ informa una serie de 10 pacientes con estenosis de uretra bulbar en los que la concentración de ácido hialurónico en la zona de la estenosis está disminuida hasta en 49.9 % en comparación con el tejido uretral normal.

Otro factor importante en los casos de reobstrucción es la inflamación y fibrosis periureteral (extrínseca).² En nuestro estudio se presentaron adherencias intraabdominales en 87 % de las ratas. Consideramos que la alta incidencia de adherencias

es secundaria a la respuesta inflamatoria originada por el contacto de la cavidad con la orina que se extravasa al momento de la plastia y en cuatro de los casos por fuga de orina en la zona de la anastomosis.

Ya se ha indicado la utilidad del ácido hialurónico en la prevención de adherencias intraabdominales en modelos animales como lo hace Kramer²⁵ en cerdos, Sawada²⁶ en ratones y Rodgers en conejos.²⁷ En nuestro estudio no se utilizó ácido hialurónico en la cavidad con la finalidad de evitar adherencias, se aplicó exclusivamente en la pared ureteral del sitio de anastomosis.

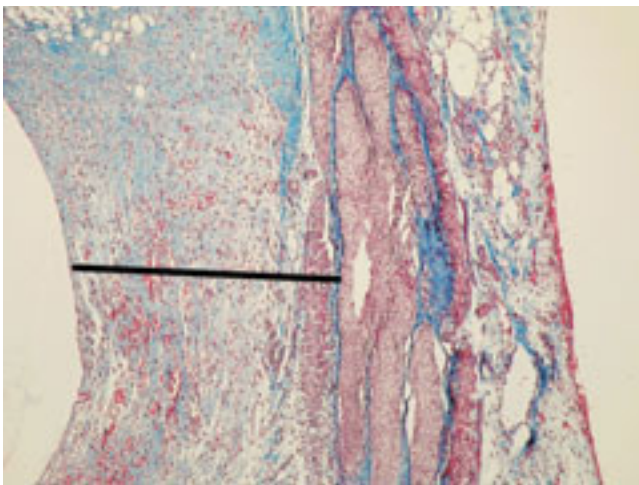


Figura 3. Corte microscópico de la unión ureteropiélica teñido con tricrómico de Masson donde se aprecia el espesor de la fibrosis (raya negra), proveniente del grupo placebo.

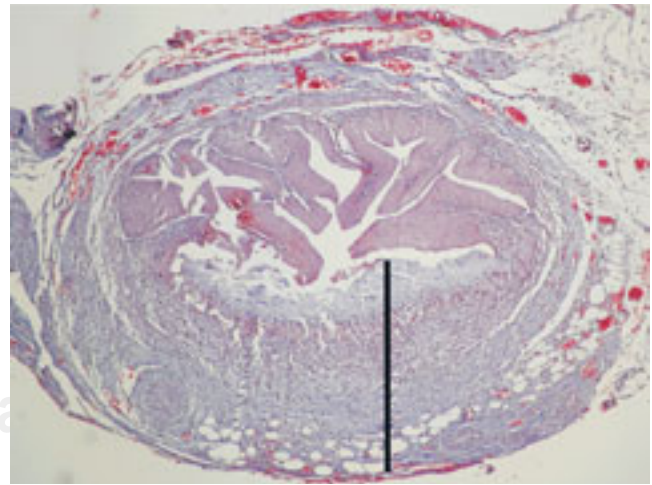


Figura 4. Corte microscópico de la unión ureteropiélica teñido con tricrómico de Masson donde se aprecia el espesor de la fibrosis (raya negra), proveniente del grupo placebo.

El tema de cómo resolver el problema sigue en debate²⁸⁻³³ y parecería conveniente realizar estudios en los que se aplique ácido hialurónico en la cavidad con el propósito de disminuir las adherencias periuretrales y la cantidad de fibrosis extrínseca por un lado, así como verificar si esta disminución en el modelo con ratas es aplicable a otros modelos.

Referencias

- Steinhardt GF. Ureteropelvic junction obstruction. In: Edmont TG, ed. *Pediatric Urology Practice*;1999. pp. 181-204.
- Floyd JW, Hendren WH. Reoperative pyeloplasty: experience with 22 cases. *J Urol* 1990;143:275A.
- Persky L, McDougal WS, Kedia K. Management of initial pyeloplasty failure. *J Urol* 1981;125:695-697.
- Wolpert JJ, Woodard JR, Parrot TS. Pyeloplasty in the young infant. *J Urol* 1989;142(2 pt 2):573-575.
- Kavoussi LR, Meretyk S, Dierks SM, et al. Endopyelotomy for secondary ureteropelvic junction obstruction in children. *J Urol* 1999;145(2):345-349.
- Longaker MT, Chiu ES, Adzick NS, Stern M, Harrison MR, Stern R. Studies in fetal wound healing. V. A prolonged presence of hyaluronic acid characterizes fetal wound fluid. *Ann Surg* 1991;213(4):292-296.
- Harrison MR, Adzick NS. The fetus as a patient: surgical considerations. *Ann Surg* 1991;213(4):279-291.
- Dado DV, Kernahan DA, Gianopoulos JG. Intrauterine repair of cleft lip: what's involved. *Plast Reconstr Surg* 1990;85(3):461-465.
- Dostal GH, Gamelli RL. Fetal wound healing. *Surg Gynecol Obstet* 1993;176(3):299-306.
- DePalma RL, Krummel TM, Durham LA 3rd, et al. Characterization and quantitation of wound matrix in the fetal rabbit. *Matrix* 1989;9(3):224-231.
- Lehninger AL. *Biochemistry*. 2nd ed. New York: VG Worth Publishers; 1977. pp. 249-277.
- Montgomery RT. *Biochemistry*. 4th ed. St. Louis: C.V. Mosby;1983. pp. 321-392.
- Longaker MT, Chiu ES, Harrison MR, et al. Studies in fetal wound healing. IV. Hyaluronic acid-stimulating activity distinguishes fetal wound fluid from adult wound fluid. *Ann Surg* 1989;210(5):667-672.
- Longaker MT, Harrison MR, Crombleholme TM, et al. Studies in fetal wound healing. I. A factor in fetal serum that stimulates deposition of hyaluronic acid. *J Pediatr Surg* 1989;24(8):789-792.
- Longaker MT, Adzick NS, Hall JL, et al. Studies in fetal wound healing. VII. Fetal wound healing may be modulated by hyaluronic acid stimulating activity in amniotic fluid. *J Pediatr Surg* 1990;25(4):430-433.
- Mast BA, Haynes JH, Krummel TM, Diegelmann RF, Cohen IK. In vivo degradation of fetal wound hyaluronic acid results in increased fibroplasia, collagen deposition, and neovascularization. *Plast Reconstr Surg* 1992;89(3):503-509.
- Hunt TK, Twomey P, Zederfeldt B, Dunphy JE. Respiratory gas tensions and pH in healing wounds. *Am J Surg* 1967;114(2):302-307.
- Estes JM, Adzick NS, Harrison MR, Longaker MT, Stern R. Hyaluronate metabolism undergoes an ontogenic transition during fetal development: implications for scar-free wound healing. *J Pediatr Surg* 1993;28(10):1227-1231.
- Goa KL, Benfield P. Hyaluronic acid. A review of its pharmacology and use as surgical aid in ophthalmology, and its therapeutic potential in joint disease and wound healing. *Drugs* 1994;47(3):536-566.
- Soldati D, Rahm F, Pasche P. Mucosal wound healing after nasal surgery. A controlled clinical trial on the efficacy of hyaluronic acid containing cream. *Drugs Exp Clin Res* 1999;25(6):253-261.
- Chauvin K, Bratton C, Parkins C. Healing large tympanic membrane perforations using hyaluronic acid, basic fibroblast growth factor, and epidermal growth factor. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;121(1):43-47.
- Sasaki T, Watanabe C. Stimulation of osteoinduction in bone wound healing by high-molecular hyaluronic acid. *Bone* 1995;16(1):9-15.
- Evrard VA, De Bellis A, Boeckx W, Brosens IA. Peritoneal healing after fibrin glue application: a comparative study in a rat model. *Hum Reprod* 1996;11(9):1877-1880.
- Da Silva EA, Sampaio FJ, Dornas MC, Damaio R, Cardoso LE. Extracellular matrix changes in urethral stricture disease. *J Urol* 2002;168(2):805-807.
- Kramer K, Senninger N, Herbst H, Probst W. Effective prevention of adhesions with hyaluronate. *Arch Surg* 2002;137(3):278-282.
- Sawada T, Hasegawa K, Tsukada K, Kawakami S. Adhesion preventive effect of hyaluronic acid after intraperitoneal surgery in mice. *Hum Reprod* 1999;14(6):1470-1472.
- Rodgers KE, Johns DB, Girgis W, Campeau J, di Zerega GS. Reduction of adhesion formation with hyaluronic acid after peritoneal surgery in rabbits. *Fertil Steril* 1997;67(3):553-558.
- Gettman MT, Lotan Y, Roerhborn CG, Cadeddu JA, Pearle MS. Cost-effective treatment for ureteropelvic junction obstruction: a decision tree analysis. *J Urol* 2003;169(1):228-232.
- Thomas R, Monga M. Endopyelotomy. Retrograde ureteroscopic approach. *Urol Clin North Am* 1998;25(2):305-310.
- Gupta M, Tuncay OL, Smith AD. Open surgical exploration after failed endopyelotomy: a 12-year perspective. *J Urol* 1997;157(5):1613-1618.
- Van Cangh PJ, Wilmart JF, Opsomer RJ, Abi-Aad A, Wese FX, Lorge F. Long-term results and late recurrence after endoureteropyelotomy: a critical analysis of prognostic factors. *J Urol* 1994;151(4):934-937.
- Chow GK, Geisinger MA, Strem SB. Endopyelotomy outcome as a function of high versus dependent ureteral insertion. *Urology* 1999;54(6):999-1002.
- Shalhav AL, Giusti G, Elbahnasy AM, et al. Endopyelotomy for high-insertion ureteropelvic junction obstruction. *J Endourol* 1998;12(2):127-131.

