

Regeneración del tejido biliar en perros mediante el uso de submucosa procesada del intestino delgado

Héctor Herrera Meillón,* Carlos N Melo Martínez,* José Antonio Del Pozzo Magaña*

RESUMEN

Hipótesis: La submucosa procesada del intestino de cerdo (SIS) regenerará de manera total la vía biliar lesionada del modelo canino, sin presentar fibrosis del injerto que pudiese producir estenosis, rechazo del material (submucosa procesada del intestino de cerdo) o fuga biliar. **Material y métodos:** Se realizó un ensayo experimental, comparativo, aleatorizado y cegado para el observador histopatológico. Se utilizó un modelo canino con un total de 10 perros criollos, realizándose una lesión parcial de la vía biliar con reparación a base de un parche elíptico del material SIS cubriendo este defecto. Los perros fueron seleccionados de manera aleatoria en dos grupos: cinco perros en cada uno dependiendo de la etapa clínica a investigar (etapa clínica I: 15 días, etapa clínica II: 56 días). **Resultados:** Se encontró neovascularización en el primer grupo, mientras que en el segundo se encontraba un vaso bien conformado. Tres perros del primer grupo presentaron inflamación aguda, mientras que en el segundo grupo, ningún perro presentó reacción. Ningún perro del primer grupo presentó inflamación crónica organizada a diferencia del segundo grupo. Del primer grupo, ningún perro presentó granuloma al injerto, mientras que dos perros del segundo grupo lo presentaron. Finalmente, se evaluó la presencia de colágena en ambos grupos, encontrando que el primer grupo presentaba sólo integración leve de colágena densa y mayor presencia de colágena laxa, el segundo grupo en su mayoría se componía de colágena densa. **Conclusión:** El SIS es un material adecuado para realizar injertos en la vía biliar con lesión aguda o en la reparación de una vía biliar estenótica, sin requerir del uso de una derivación biliointestinal, el cual es el tratamiento estándar en la actualidad.

Palabras clave: Lesión de la vía biliar, SIS, submucosa procesada del intestino delgado.

Nivel de evidencia: I.

Servicio de Cirugía General, HCSAE, PEMEX «Picacho».

Recibido para publicación: 27/03/12. Aceptado: 23/04/12

Correspondencia: Dr. Héctor Herrera Meillón
Av. Carlos Graef Fernández 154, Torre de Consultorios, Consultorio 339,
Col. Tlaxala, Santa Fe, 05300, Ciudad de México, D.F.
Teléfono: (015) 16647208
E-mail: drhherrera_abc@yahoo.com

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/analesmedicos>

*Bile duct regeneration in dogs with processed
small intestinal submucosa*

ABSTRACT

Hypothesis: The SIS material will fully regenerate injured bile ducts without fibrosis thus preventing stenosis, material rejection and fistula formation. **Materials and methods:** A comparative, randomized, experimental study, blinded to the histopathology observer was carried out. In a sample of 10 mangrel dogs the main bile duct was partially injured and repaired with an elliptical patch of the SIS material. The sample was randomly divided into two groups of 5 dogs each depending on the clinical stage being evaluated (stage I: 15 days, Stage II: 56 days). **Results:** 3 dogs in the first group presented acute inflammation while none of the dogs in the second group had none. The dogs in the first group did not develop chronic inflammation in contrast to what was found in second group. None of the dogs of the first group developed a granulomatose reaction while 2 in the second one developed it. Native blood vessel infiltration was observed in every dog in the first group. Finally, all dogs in the first group persisted without cellular collagen while those in the second group developed dense collagen fibers. **Conclusion:** The SIS material is useful for repairing acute bile duct injuries or in the presence of chronic stenotic injuries without the use of biliary-intestinal bypass.

Key words: Biliary lesion, SIS, processed small intestinal submucosa.

Level of evidence: I.

INTRODUCCIÓN

El propósito de este estudio será sentar las bases para la aplicación de este material en el área de la transplantología y, con ello, evitar las complicaciones tempranas y tardías de los injertos.

Con el advenimiento de la cirugía laparoscópica, particularmente de la colecistectomía y la exploración de las vías biliares –estándar de oro para el ma-

nejo de la enfermedad litiásica de la vía biliar principal y accesoria,¹⁻⁴ este procedimiento ha tenido, independientemente de la curva de aprendizaje, un considerable aumento en el riesgo de lesión de la vía biliar comparado con la técnica convencional (cirugía abierta). Existen metaanálisis que demuestran que la incidencia de lesiones de la vía biliar por laparoscopia (0.5 a 1%) se mantiene estable, debido a un aumento en la destreza, seguridad, confianza y nuevos adeptos a este abordaje en comparación con la cirugía abierta (0.1% a 0.2%).^{5,6} Se describen los diferentes factores de riesgo para la incidencia de estas lesiones, pobre visualización del campo quirúrgico, anatomía aberrante, experiencia quirúrgica, falta de conocimiento anatómico, inflamación aguda y crónica, y ausencia de colangiografía transoperatoria.

Actualmente, se utilizan procedimientos endoscópicos y de radiología intervencionista con la inserción de «férulas» metálicas expandibles o de teflón.⁷ Sin embargo, a pesar del incremento del uso de estas técnicas, se ha demostrado que son secundarias y adyuvantes a las anastomosis biliodigestivas, y se recomiendan para aliviar las estenosis postquirúrgicas o en pacientes de alto riesgo. La debilidad de cualquier técnica que involucre la vía biliar es su irrigación axial. Topográficamente, la mayoría de las lesiones se localizan fuera de estas regiones hacia sitios independientes de los plexos, por lo que la historia natural de una colédoco-coledocoanastomosis es invariablemente la estenosis de la vía biliar, así como una anastomosis biliodigestiva con tensión o con manipulación excesiva y pérdida de sustancia.⁸

En busca de alternativas al tratamiento actual, cuyo costo elevado, además de requerir de cirujanos experimentados, tiene el riesgo de las complicaciones previamente descritas, estas alternativas deben ser más fisiológicas, anatómicas y que requieran de una menor destreza quirúrgica para resolver la problemática de la irrigación de la vía biliar y la preservación de su esfínter natural, sin aumentar la morbilidad de esta patología. Se han desarrollado materiales para injerto como son: vitallium, malla de tantalio, esponja de polivinilo, politetrafluoroetileno, teflón y dacrón,⁹⁻¹³ los cuales producen diferentes grados de colangitis, formación de cristales y estenosis por fibrosis. Entre otras opciones terapéuticas, se encuentran los materiales autólogos como el yeyuno, arterias, venas, injertos de piel, fascia, homoinjertos de la vía biliar, uréter e incluso el apéndice con poco éxito, debido a la cicatrización del tejido o necrosis.¹⁴⁻¹⁸

La inquietud de desarrollar un reemplazo más que un injerto o un material protésico llevó al nacimiento de un

biomaterial «acelular», que no produce encapsulamiento pero que es remodelado gradualmente dejando atrás el tejido organizado,¹⁹⁻²⁶ puede promover la reparación tisular como un reemplazo de matriz, teniendo una composición y estructura completamente natural.

De esta idea nació el SIS (small intestinal submucosa), obtenido de la submucosa del intestino delgado de cerdos. El proceso aísla la submucosa de tal manera, que remueve las células dejando una matriz prácticamente intacta entre la mucosa y las capas musculares del intestino. Posee una gran cantidad de colágena que le da fuerza y actúa como reservorio de citocinas para guiar el reemplazo tisular. La composición de este material es primordialmente proteico a base de colágena (tipo I, III y IV), glicosaminoglicanos (ácido hialurónico, condroitín sulfato A y B, heparina y heparán sulfato), proteoglicanos y glicoproteínas (fibronectina) que juegan un papel importante en la reparación y remodelación del tejido huésped. El SIS actúa como un soporte tridimensional para el crecimiento celular y su remodelación. Actualmente, múltiples protocolos aprueban su uso dentro del terreno de la otorrinolaringología en la traqueoplastia y reparaciones septales, reportado en el 8º Simposio Internacional de Cirugía Plástica Facial en mayo del 2002; en urología en la reparación vesical, cirugía de aumento vesical e implantes ureterales; en cirugía vascular para injertos en sitios contaminados; en neurocirugía como parches de dura; en la cirugía plástica como injertos, y en cirugía general en plastias de pared como lo reportado en la revista *Hernia* en el año 2002.²⁰⁻²⁶

El presente estudio pretenderá demostrar la existencia de otras posibilidades en el tratamiento de las lesiones de la vía biliar que disminuyan la morbilidad, aceleren la recuperación y mejoren la calidad de vida; quirúrgicamente que faciliten el abordaje y la técnica de reparación aun en reparaciones complicadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación es un ensayo experimental, comparativo, aleatorizado y cegado para el observador histopatológico, donde un analista ajeno a la investigación valoró los resultados. Se incluyeron perros adultos de ambos sexos, criollos, mayores de 20 kg de peso, sanos y que no estuviesen incluidos en algún otro protocolo. Los criterios de exclusión fueron: perros en los que, al momento de realizar la laparotomía, se encontrase alguna otra patología inadvertida antes de su inclusión y perros fallecidos durante el protocolo que demostraran causas de muerte ajenas al procedimiento de investigación al que fueron sometidos.

Se tomó una muestra de 10 perros criollos en los que se realizó una lesión parcial de la vía biliar (de < 2/3 de la circunferencia total del colédoco) con reparación a base de un parche elíptico de material SIS cubriendo el defecto. La muestra se dividió aleatoriamente en dos grupos de cinco perros cada uno para evaluar la integración del injerto a los quince días (etapa clínica I) y a los 56 días (etapa clínica II) con previa muerte del modelo animal.

Los animales de estudio se mantuvieron en un ayuno de 12 horas de evolución, sin alimento sólido y se utilizó anestesia a base de tiopental 30 mg/kg de peso, utilizando intubación orotraqueal, con canalización de vía periférica con solución fisiológica al 0.9%, administrando una dosis de antibiótico IV (oxitetraciclina 100 mg/kg de peso) previo a la cirugía.

Se realizó una incisión tipo Kocher, exponiendo la región del ligamento gastrohepático y hepatoduodenal (omento menor) y se identificó, mediante la disección roma, la vía biliar principal y accesoria. Una vez expuesto el campo operatorio, se identificó el colédoco y se esqueletizó en su porción supraduodenal, y se realizó la coledocotomía de 2 cm longitudinales al eje mayor de la vía biliar principal. Se elaboraron parches elípticos de 2.5 cm del SIS que se colocaron en solución salina al 0.9% por 10 minutos, éstos se ocuparon para reparar el defecto con sutura continua longitudinal a los dos bordes libres de la coledocotomía con polipropileno 6-0. No se colocó ninguna férula, sonda en T o drenaje biliar.

Los sujetos intervenidos iniciaron dieta el primer día del postoperatorio, con oxitetraciclina IM durante los cinco días siguientes del postoperatorio.

Una vez aleatorizados en subgrupos se sacrificaron según la etapa clínica a la que fueron asignados, ya sacrificados se realizó una nueva laparotomía a través de la herida inicial, accediendo al campo quirúrgico, se disecó el injerto y la vía biliar principal, así como la accesoria por encima de la carina, colocando una aguja 19Ga en el fondo vesicular para la instilación del medio de contraste hidrosoluble para la realización de una colangiografía transoperatoria. Después de obtenida, se extrajo la pieza y se fijó en solución de formol al 4%, enviándose al Servicio de Histopatología. En Patología, se realizó un estudio con técnica de Mason y hematoxilina y eosina, en todas las etapas clínicas de ambos grupos.

El estudio se basó en los artículos 8° y 9° de la "Ley de protección a los animales" publicada en el *Diario Oficial*.²⁷

RESULTADOS

De los 10 perros que se intervinieron, fueron separados en dos grupos para observar la integración del

parche de SIS, donde el 100% sobrevivieron sin complicaciones postoperatorias.

En el grupo I, se encontraron adherencias laxas macroscópicas del epiplón al sitio quirúrgico y adherencias de la pared vesicular hacia el parche de SIS sin fistula (*Figura 1*), fuga o estenosis del conducto biliar principal. En los cinco perros de este grupo, se realizó colangiografía transvesicular con adecuado paso del medio de contraste hasta el duodeno, sin fuga y con ligera dilatación del conducto biliar principal, sin estenosis. Se evaluó la inflamación aguda (reacción sobre el injerto no cicatricial), inflamación crónica (reacción cicatricial en bordes del injerto) inflamación granulomatosa (reacción sobre el injerto), neovascularización (presencia de vasos de neoformación en la zona quirúrgica), presencia de colágena nativa laxa (injerto) y colágena nativa densa (presencia de infiltración de colágena nativa sobre todo el injerto) y la epitelización (presencia de epitelio biliar de regeneración sobre el parche). Del primer grupo, cuatro de cinco perros presentaron inflamación aguda leve; sin embargo, cuatro de cinco presentaron reacción crónica moderada, y dos de cinco reacciones presentaron reacción granulomatosa al parche; el resto sin reacción. Se presentó neovascularización en todos los casos. En cuanto a la presencia de colágena laxa (parche aún no infiltrado completamente por la colágena nativa), fue encontrado en cinco de cinco perros. La epitelización se encontró en cuatro de cinco; sin embargo, sólo se vio en los bordes del parche, el último no presentaba epitelio de regeneración. Siguiendo con el protocolo establecido durante la laparotomía del segundo grupo, se encon-

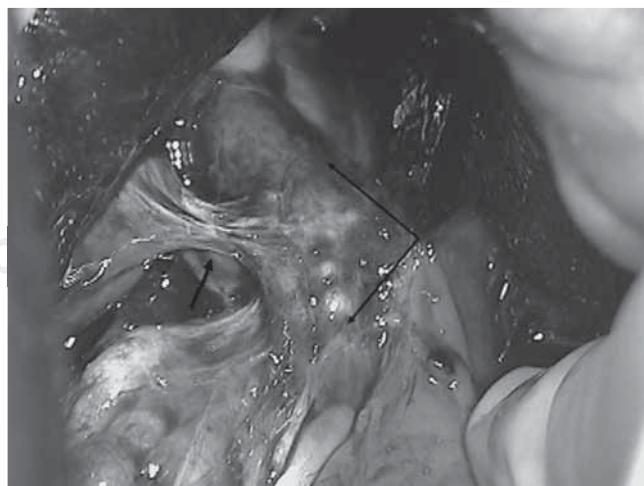


Figura 1. Se encuentra una adherencia laxa (flecha gruesa) de la pared vesicular a la zona del injerto (doble flecha).

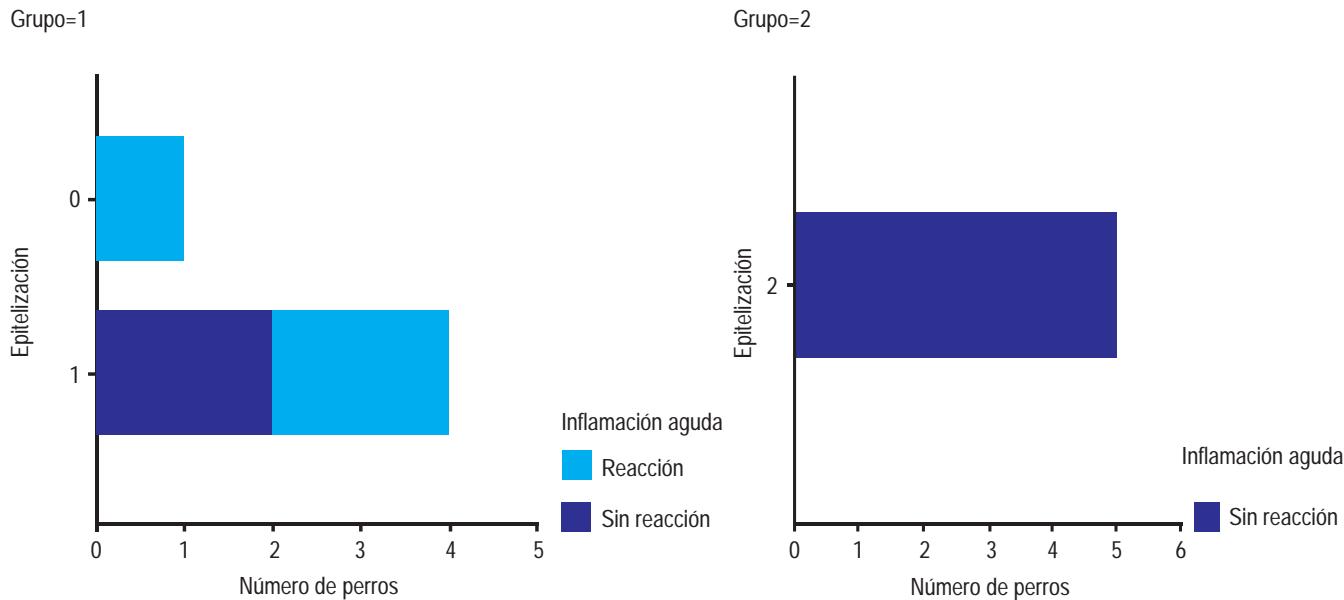


Figura 2. Inflamación aguda. Se observa presencia de mayor inflamación aguda con respecto al tiempo en el grupo 1 (izquierda) y ausencia de la misma en el grupo 2 (derecha).

traron menos adherencias peritoneales. Aun así, el hallazgo más importante fue la presencia de adherencias firmes organizadas de la pared libre vesicular hacia la zona del injerto, sin presencia de fistula, estenosis o dilatación de los conductos biliares. También se realizó colangiografía transvesicular sin datos de las complicaciones ya mencionadas. Se evaluó el injerto histopatológicamente, siguiendo los parámetros establecidos para el primer grupo.

Del segundo grupo, ningún perro presentaba inflamación aguda, cinco de cinco presentaron reacción inflamatoria crónica completa y ninguno presentó reacción granulomatosa. En dos de cinco perros se presentó neovascularización y ningún perro de este grupo se presentó colágena laxa contra la presencia de colágena densa (parche infiltrado por colágena nativa completamente). La epitelización se encontró en cinco de cinco, cubriendo completamente el injerto sobre el lumen coledociano. Uno de los perros presentó absorción del 80% del parche.

En cuanto se refiere a la epitelización, se consideraron tres situaciones: ausente (0), en bordes del injerto (1) y completa (2). Se observó un grado dos en cinco de cinco perros del segundo grupo, mientras que en el primer grupo se obtuvo uno de cinco sin epitelización (0), y en cuatro de cinco en bordes del injerto (1). En relación con la presencia de inflamación aguda (Figura 2),

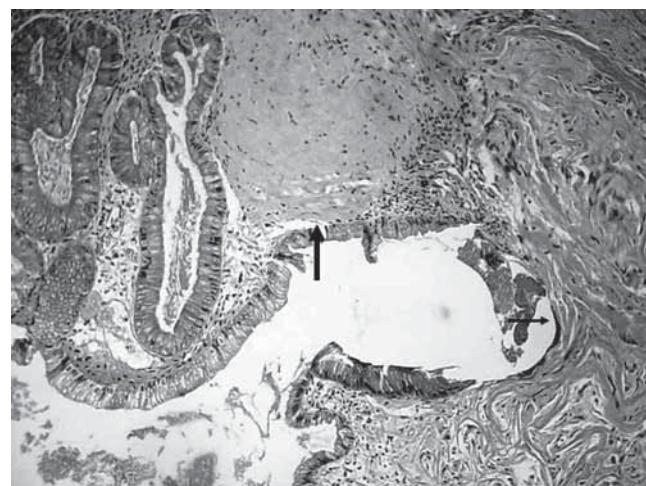


Figura 3. Se observa el material protésico integrado a la pared, revestido por monocapa del epitelio (flecha delgada), se observa zona de inflamación crónica (flecha gruesa).

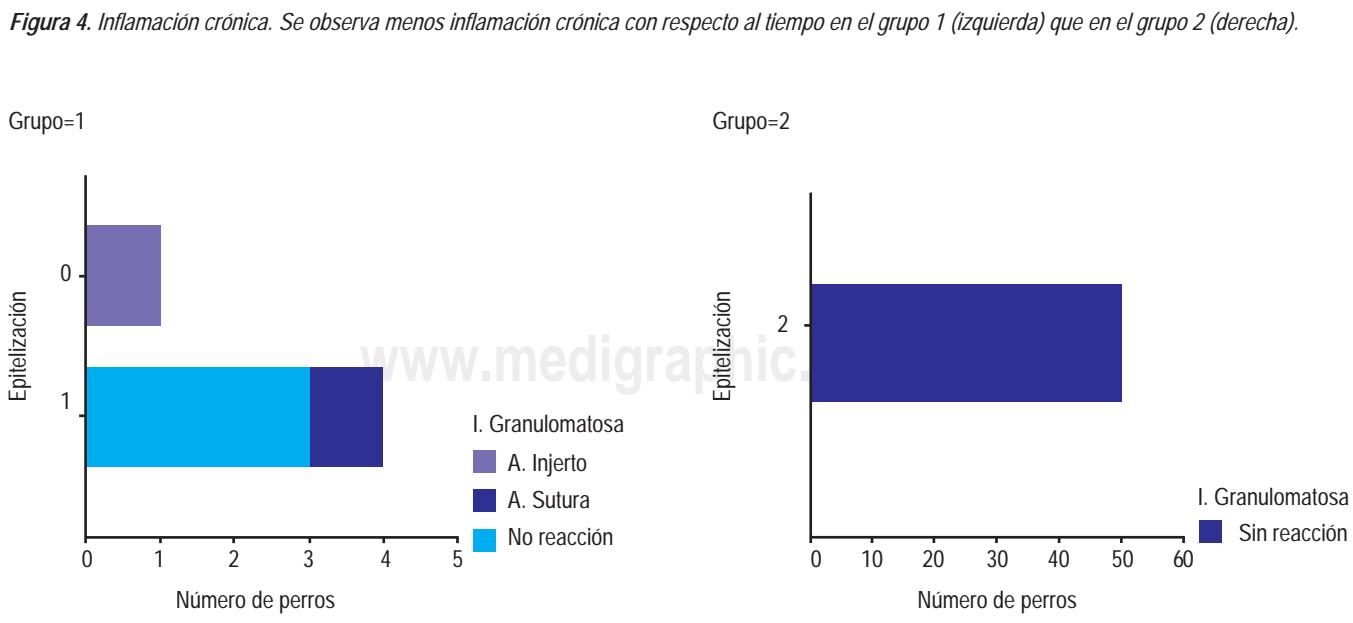
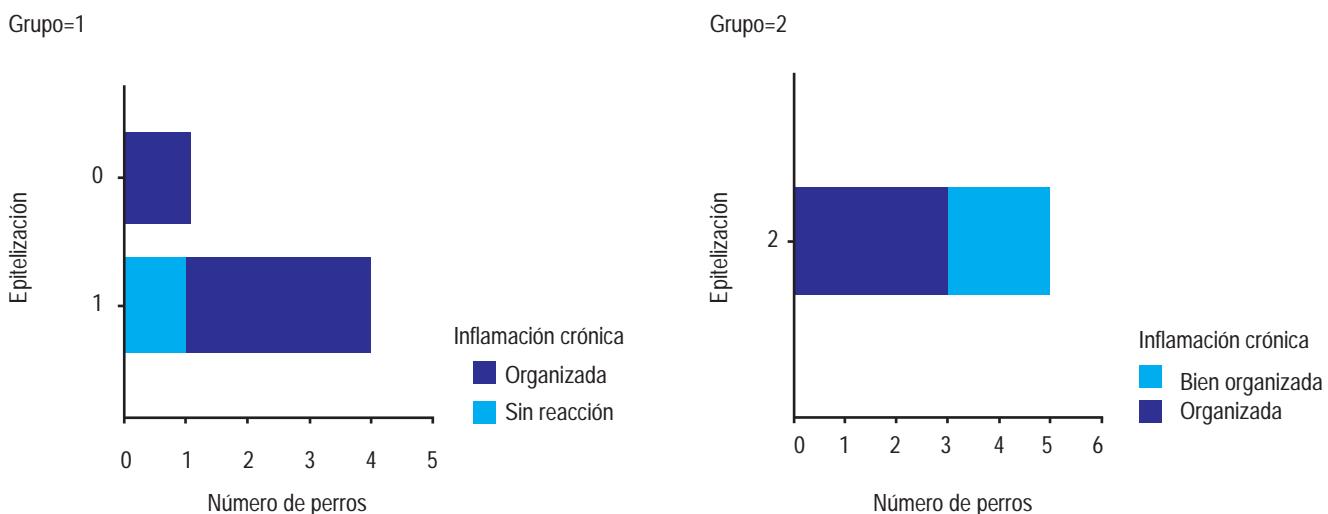
marcando ésta como tejido inflamatorio no cicatricial; en el primer grupo se encontró que tres de cinco presentaban reacción, y del segundo ninguno lo presentó.

Según el parámetro de inflamación crónica (Figuras 3 y 4), identificado como tejido cicatricial organizado, en el primer grupo uno de cinco no presentaron

reacción y cuatro de cinco con reacción organizada, mientras que en tres de cinco lo presentaron de manera organizada y en dos de cinco perros en el segundo grupo se presentó bien organizada.

A la evaluación de la inflamación granulomatosa (*Figura 5*), se reportó que en el primer grupo, uno de cinco perros presentó reacción al injerto, dos de cinco a la sutura y dos de cinco estuvieron sin reacción, a diferencia del segundo grupo que en ninguno existía reacción. El siguiente parámetro evaluado fue la neovascularización (*Figura 6*), la cual en el primer grupo, tres de cinco perros presentaban neovascularización completa y dos

de cinco en organización; en tanto el segundo grupo en tres de cinco perros presentaban un vaso bien conformado y en dos de cinco, en organización. Finalmente, se evaluó la evolución del injerto como colágena laxa o de reacción de integración como colágena densa (*Figuras 7 a 10*), obteniendo lo siguiente: en el primer grupo, cuatro de cinco perros presentaron poca infiltración al injerto y en uno de cinco perros, injerto intacto, y en el segundo grupo, cinco de cinco perros no presentaron colágena laxa intacta. Asimismo, en el primer grupo, tres de cinco no presentaron infiltración y dos de cinco presentaron infiltración leve al injerto, mientras que en



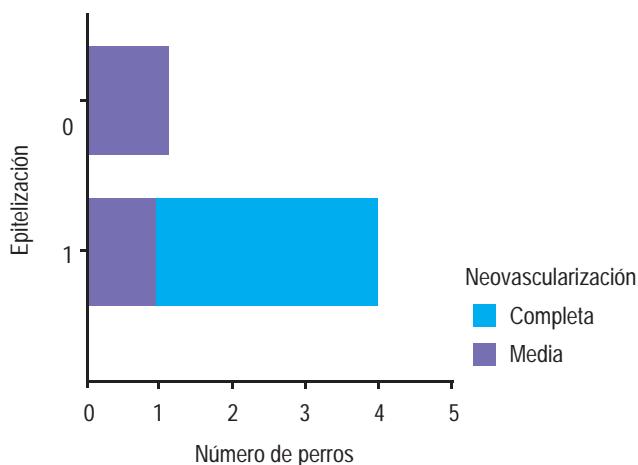
el segundo grupo tres de cinco presentaron infiltración completa de colágena densa y en dos de cinco perros, infiltración media.

DISCUSIÓN

En la actualidad, hay una gran cantidad de estudios de investigación con respecto al uso del SIS en diferentes situaciones clínico-quirúrgicas. Este material ha sido utilizado como injerto en cirugía urológica, como implante vesical e injerto ureteral;²³ en ciru-

gía general para malla protésica en reparación de hernia inguinal;^{26,28} en neurocirugía como parche de duramadre;²¹ en cirugía plástica como injerto en el paciente quemado, así como injerto en tenorrafias. Rosen y colaboradores describieron la utilización del SIS como material protésico para regeneración del conducto biliar en perros, con resultados descriptivos de su estudio, donde el SIS demuestra ser una excelente herramienta en la cirugía de vía biliar, con regeneración del epitelio biliar en cinco meses de estudio.¹⁹

Grupo=1



Grupo=2

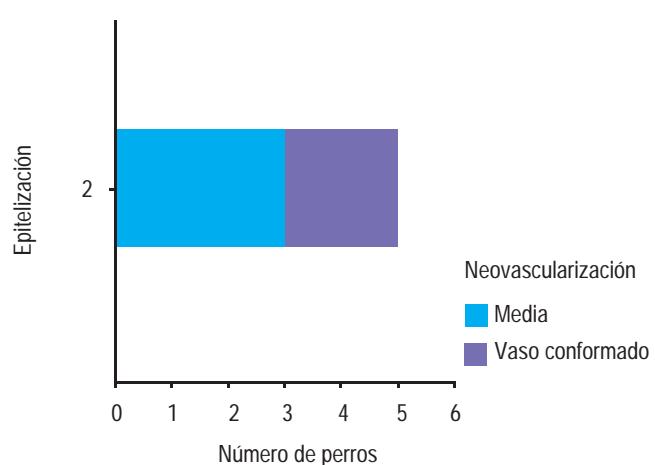


Figura 6. Neovascularización. Se observa mayor neovascularización con respecto al tiempo en el grupo 2 (derecha) en comparación con el grupo 1 (izquierda).



Figura 7. Parche integrado (flecha delgada), epitelizado en la superficie monocapa, sin infiltrado inflamatorio (flechas gruesas).



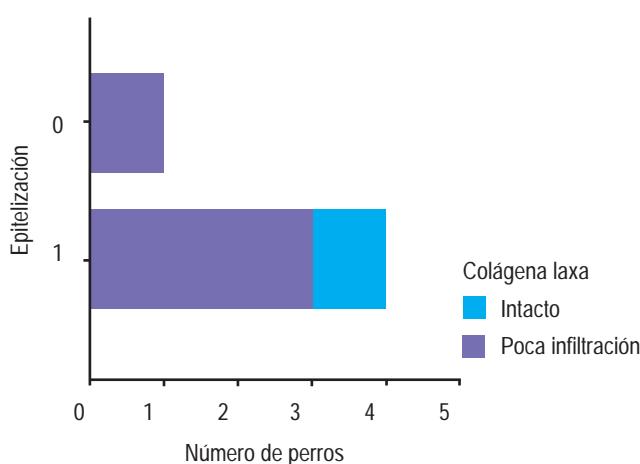
Figura 8. Parche con integración completa (flecha gruesa), mucosa hiperplásica completamente reepitelizada (flecha delgada).

Este protocolo, tomando el estudio como punto de partida, donde se utilizó el SIS como injerto, pretende marcar de manera más objetiva los parámetros de integración celular del material protésico en una vía biliar con base en los estudios histopatológicos cegados para el observador de dos grupos a 15 y 56 días.

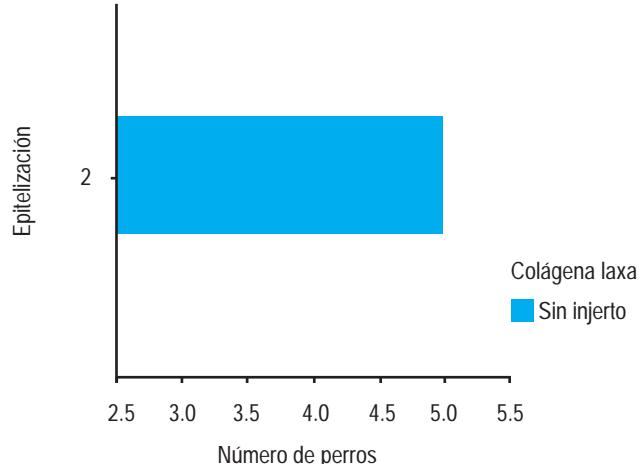
Coincidimos con las observaciones macroscópicas (*Figuras 1 a 9*) en la laparotomía posterior a la integración del parche con los resultados de otros estudios, lo que se refiere a la presencia a 15 días de adherencias laxas en la región quirúrgica sin datos de fistula o estenosis de los conductos; sin embargo, en comparación

con el estudio de Rosen y asociados, a los 15 días, el SIS estaba prácticamente integrado a la vía biliar principal, y sólo era localizable por la sutura no absorbible. Asimismo, se observó una dilatación discreta del sitio proximal al injerto que no alteraba la función biliar. Radiológicamente se comprobó una discreta dilatación sin datos de estenosis o limitación del paso del medio al duodeno. Con estas observaciones, se consideró innecesario llevar el estudio a cinco meses y evaluar la evolución macroscópica a 56 días. En esta segunda etapa, se encontró una limitación en la dilatación proximal al injerto, con adherencias firmes de la pared vesicular

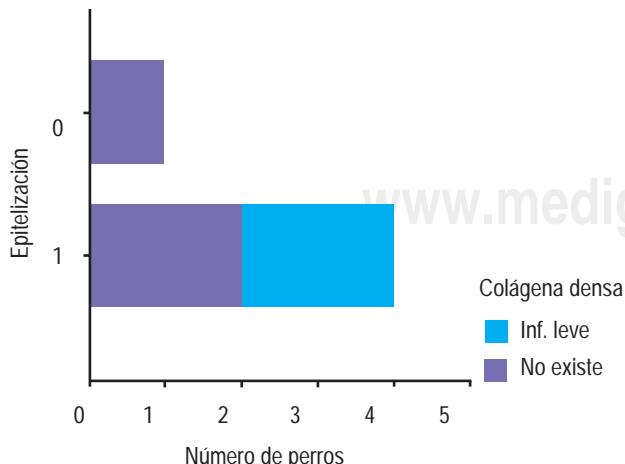
Grupo=1



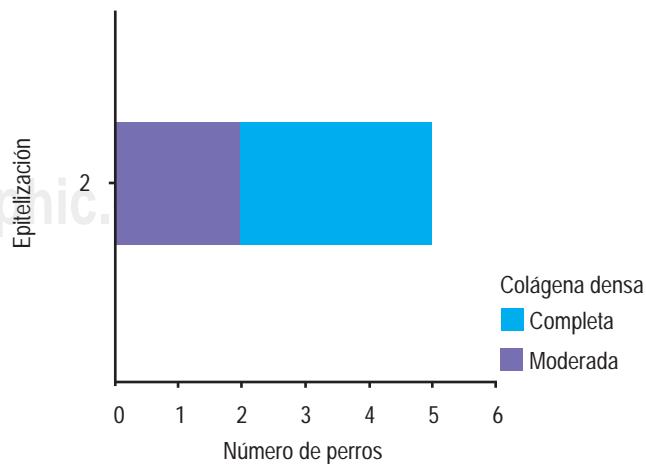
Grupo=2

*Figura 9. Colágena laxa. Mayor presencia de colágena laxa con respecto al tiempo del grupo 1 (izquierda).*

Grupo=1



Grupo=2

*Figura 10. Colágena densa. Mayor presencia con respecto al tiempo de colágena densa (tejido cicatricial) en el grupo 2 (derecha).*

al injerto, sin embargo, con disminución franca de la reacción inflamatoria en el lecho quirúrgico, y en la colangiografía se observó un adecuado paso del material al duodeno sin fistula o estenosis.

Microscópicamente, en comparación con otros estudios, los parámetros de integración fueron más objetivos, describiendo la presencia de inflamación aguda, inflamación crónica e inflamación granulomatosa, colágena laxa y densa, epitelización y neovascularización, además de permitir la observación de la evolución natural de la integración del injerto.

CONCLUSIÓN

Puede considerarse que el SIS es un material adecuado para realizar injertos en la lesión aguda de la vía biliar o en la reparación de una vía biliar estenótica, sin requerir del uso de una derivación biliodigestiva. Además, debido a la facilidad del material para producir neovascularización, permite su integración a la vía biliar a diferencia de otros injertos donde la necrosis ocasiona el rechazo y la reestenosis del conducto biliar reparado, demostramos que la epitelización del injerto de SIS es dependiente del tiempo de su integración y la organización adecuada de la neovascularización hasta la conformación de un vaso nutriente.

Se encontró que los parámetros descritos para la integración del parche son una herramienta suficiente para evaluar la evolución natural del parche hasta su integración.

Cabe mencionar que para validar este estudio se requiere de una muestra mayor, y un estudio comparativo donde se realice una coledocorrafía para demostrar si la regeneración de la vía biliar es o no afectada por el parche de SIS.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lillemoe KD, Melton GB, Cameron JL et al. Postoperative bile duct strictures: management and outcome in the 1990's. *Ann Surg* 2000; 232: 430-441.
2. Longmire WP Jr. Early management of injury to the extrahepatic biliary tract. *JAMA* 1966; 195: 623-625.
3. Dogliotti AM, Fogliati E. Operations for fibrous stenosis of the common bile duct. *Surgery* 1954; 36: 69-79.
4. Tocchi A, Mazzoni G, Liotta et al. Late development of bile duct cancer in patients who had biliary-enteric drainage for benign disease: a follow-up study of more than 1,000 patients. *Ann Surg* 2001; 234: 210-214.
5. Strasberg SM, Eagon CJ, Drebin JA. The "Hidden cystic duct" syndrome and the infundibular technique of laparoscopic cholecystectomy- The danger of the false infundibulum. *J Am Coll Surg* 2000; 191: 661-667.
6. Keulemans YC, Bergman JJ, de Wit LT et al. Improvement in the management of bile duct injuries? *J Am Coll Surg* 1998; 187: 246-254.
7. Tez M, Keskek M, Özkan Ö et al. External metallic circle in microsurgical anastomosis of common bile duct. *Am J Surg* 2001; 182 (2): 130-133.
8. Johnson SR, Koehler A, Pennington LK et al. Long-term results of surgical repair of bile duct injuries following laparoscopic cholecystectomy. *Surgery* 2000; 128: 668-677.
9. Lord JW, Chenoweth AI. Free graft over a Vitallium tube for bridging a gap in the bile duct of the dog. *Arch Surg* 1943; 46: 245-252.
10. Bergan JJ, Anderson M, Lounsbury FB. Vascularized polyvinyl sponge prosthesis. Its use to replace the canine common bile duct. *Arch Surg* 1962; 84: 49-53.
11. Mendelowitz DS, Beal JM. Expanded polytetrafluoroethylene in reconstruction of the canine biliary system. *Am J Surg* 1982; 143: 221-224.
12. Hartung H, Kirchner R, Baba N et al. Histological, laboratory, and X-ray findings after repair of the common bile duct with a Teflon graft. *World J Surg* 1978; 2: 639-642.
13. Gulati SM, Iyengar B, Thusoo TK et al. Use of dacron velour in choledochoplasty. An experimental study. *Am Surg* 1983; 49: 440-445.
14. Hooper JH, Shackelford RT. Experimental replacement of the common bile duct. *Arch Surg* 1962; 85: 166-170.
15. Bergan JJ, Anderson M, Lounsbury FB. Vascularized polyvinyl sponge prosthesis. Its use to replace the canine common bile duct. *Arch Surg* 1962; 84: 49-53.
16. Belzer FO, Watts JM, Ross HB et al. Auto-reconstruction of the common bile duct after venous patch graft. *Ann Surg* 1965; 162: 346-355.
17. Schatten WE, Cramer LW, Herbsman H et al. Experimental reconstruction of the common bile duct with split thickness skin graft. *Surg Gynecol Obstet* 1957; 42: 747-753.
18. Ginsburg N, Speese J. Autogenous fascial reconstruction of the bile duct. *Ann Surg* 1916; 64: 753-754.
19. Rosen M et al. Small intestinal submucosa as a bioscaffold for biliary tract regeneration. *Surgery* 2002; 132 (3): 481.
20. Badylak SF. Small intestinal submucosa: a biomaterial conductive to smart tissue remodeling. *Tissue Engineering: Current Perspectives*, 1993: 179-189.
21. Cobb MA, Badylak SF, Janas W et al. Porcine small intestinal submucosa as a dural substitute. *Surg Neurol* 1999; 51: 99-104.
22. Prevel CD, Eppley BL, Summerlin DJ et al. Small intestinal submucosa: utilization as a wound dressing in full-thickness rodent wounds. *Ann Plast Surg* 1995; 35: 381-388.
23. Liatsikos EN, Dilmenci CZ, Kapoor R et al. Laparoscopic ureteral reconstruction with small intestinal submucosa. *J Endourol* 2001; 15: 217-220.
24. Kropp BP, Eppley BL, Prevel CD et al. Experimental assessment of small intestinal submucosa as a bladder wall substitute. *Urology* 1995; 46: 396-400.
25. Peel SAF, Chen H, Renlund R et al. Formation of a SIS cartilage composite graft *in vitro* and its use in the repair of articular defects. *Tissue Eng* 1998; 4: 143-155.
26. Badylak SF, Kokini K, Tullius B et al. Strength over time of a resorbable bioscaffold for body wall repair in a dog model. *J Surg Res* 2001; 99: 282-287.
27. De Aluja AS. Animales de laboratorio y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). *Gac Med Mex* 2002; 138 (3): 295-298.
28. Helton WS et al. Short-term outcomes with small intestinal submucosa for ventral abdominal hernia. *Arch Surg* 2005; 140: 549-560.