

## Hallazgos histopatológicos en la dermis después de la aplicación de ácido hialurónico monofásico *versus* bifásico

Yenifer Lorena Ramírez Herrera,<sup>1</sup> José Juan Montes Bracchini,<sup>2</sup> Lourdes Molinar,<sup>3</sup> Diego Leonardo Jorge,<sup>4</sup> Héctor de la Garza Hesles<sup>5</sup>

### Resumen

#### ANTECEDENTES

El ácido hialurónico ha sido el relleno más utilizado desde 1996, ya que se considera un método seguro para dar volumen y ocupar defectos tisulares, además de que cumple con los requisitos de biocompatibilidad, facilidad de aplicación, resultados duraderos, seguridad y costo-efectividad. Existen dos tipos de ácido hialurónico: el bifásico y el monofásico, desarrollados por diferentes casas comerciales.

#### OBJETIVO

Determinar los hallazgos histopatológicos en la piel de ratas egipcias posteriores a la aplicación de ácido hialurónico monofásico *versus* bifásico a los 15 y 30 días.

#### MATERIAL Y MÉTODO

Estudio experimental realizado en ratas egipcias a las que se les aplicó en el lomo ácido hialurónico intradérmico monofásico y bifásico. Se tomaron biopsias a los 15 y 30 días. Posteriormente, se hizo un estudio histopatológico de cada muestra para determinar la reacción tisular.

#### RESULTADOS

Ninguna rata experimentó cambios significativos con el ácido hialurónico monofásico a los 15 días, en tanto que una mostró inflamación crónica a 30 días. Con el bifásico una rata mostró reacción a cuerpo extraño a los 15 días, y en las tres ratas se identificaron cambios de respuesta inflamatoria crónica y granulomas a cuerpo extraño a los 30 días.

#### CONCLUSIONES

Las ratas tienen mayor respuesta a cuerpo extraño con formación de granulomas y tejido inflamatorio crónico con el ácido hialurónico bifásico a los 30 días.

### Abstract

#### BACKGROUND

Hyaluronic acid has been more used since 1996, as it is considered a safe method to give volume and deal with defective tissue, that meets the requirements of biocompatibility, ease of application, long-lasting results, safety and cost-effectiveness. There are two types of hyaluronic acid: the two-phase and single-phase, developed by different companies.

#### OBJECTIVE

To determine the histopathological findings in the skin of Egyptian rats following application of monophasic *versus* biphasic hyaluronic acid at 15 and 30 days.

#### MATERIAL AND METHOD

An experimental study was performed. We applied mono and biphasic intradermal hyaluronic acid on the back of Egyptian rat. Biopsies were taken at 15 to 30 days. Subsequently, a histopathological study of each one of the samples was made to determine the tissue reaction.

#### RESULTS

There were not rats that underwent significant changes with monophasic hyaluronic acid at 15 days, while one showed chronic inflammation at 30 days. With biphasic hyaluronic acid a rat showed reaction to foreign body to 15 days, and three rats had chronic inflammatory and granulomas at 30 days.

#### CONCLUSIONS

Rats have a great response to foreign body forming granulomas and chronic inflammatory tissue with biphasic hyaluronic acid at 30 days.

#### Palabras clave:

ácido hialurónico, ratas egipcias, reacción tisular, colágeno.

#### Key words:

Egyptian rats, hyaluronic acid, collagen, tissue reaction.

## Introducción

El ácido hialurónico es un glicopolisacárido de alto peso molecular que se encuentra en la piel humana y es uno de los principales componentes de la matriz extracelular del tejido conectivo; también está en los tejidos epiteliales y nerviosos, en el humor vítreo y el líquido sinovial.<sup>1</sup> Forma parte de la matriz intersticial elástica de la dermis y se encarga de la hidratación, lubricación y firmeza de la piel.<sup>2,3</sup> Otra de sus cualidades está dada por la estructura química hidrofílica que le permite retener agua de manera uniforme. Un humano de aproximadamente 70 kilogramos de peso tiene 15 gramos de ácido hialurónico,<sup>4</sup> 50% del cual está en la piel, distribuido de la siguiente manera: 0.5 mg/g en la dermis y 0.1 mg/g en la epidermis.<sup>2</sup>

El ácido hialurónico es causante de gran parte de la viscosidad del tejido conectivo de la dermis y la multiplicación de algunas células fibroblásticas, su migración e incluso la proliferación de capilares.<sup>5</sup> El equilibrio entre la creación y la degradación celular por retroalimentación es sutil y varía de un sujeto a otro, lo que podría explicar la existencia de sujetos que son excesivamente destructores del ácido hialurónico. Industrialmente, el ácido hialurónico se obtiene sobre todo por dos métodos: 1) extracción a partir de la cresta de gallo después de su pulverización, tratamiento químico y purificación, y 2) fermentación bacteriana: los filamentos de ácido hialurónico son sintetizados por bacterias genéticamente modificadas: *Streptococcus equinus*. Su uso en el campo de la medicina para el relleno de arrugas y el aumento de tejidos blandos inició en 1996,<sup>1</sup> y más de 27 millones de personas en todo el mundo han sido tratadas desde entonces con diferentes productos elaborados con ácido hialurónico.<sup>4</sup>

Aproximadamente un tercio del ácido hialurónico del cuerpo es degradado y regenerado cada día,<sup>6</sup> de esta forma, los rellenos inyectados en la piel podrían perderse con rapidez. Para evitar esto, el producto debe robustecerse y estabilizarse mediante el entrecruzamiento con geles reticulados para dar soporte y volumen durante cuatro a doce meses.<sup>7</sup> La mayor parte de los productos usan 1,4 diglicidiléter butanodiol como agente reticulador.<sup>7</sup>

Existen dos tipos de ácido hialurónico, el bifásico y el monofásico. El bifásico consiste en partículas reticuladas de tamaños seleccionados, suspendidas en ácido hialurónico no reticulado usado como transporte; a esta familia pertenece el Restylane y el Perlane, productos que difieren sólo en el tamaño de sus partículas. Las partículas de Restylane son de aproximadamente 250 µm (100,000 partículas/mL) y las de Perlane de 550 µm (8-10,000 partículas/mL). El monofásico es producido por la variación de la cantidad de ácido hialurónico de alto y bajo peso molecular; se forma mezclando el ácido hialurónico y el agente reticulador en un solo paso, a esta familia pertenece el Juvederm.<sup>7</sup>

En la bibliografía hay estudios en los que se reporta un incremento en el depósito de colágeno alrededor de infiltraciones con ácido hialurónico;<sup>8</sup> sin embargo, en ese trabajo no se compararon los tipos principales de ácido hialurónico ni los cambios tisulares perilesionales.<sup>8</sup> En otro estudio se llegó a la conclusión de que no hay diferencia entre los dos tipos de ácido hialurónico en las dos semanas posteriores a la aplicación,<sup>7</sup> aunque no hubo seguimiento.

El objetivo de este estudio fue determinar los hallazgos histopatológicos en la piel de ratas egipcias posteriores a la aplicación de ácido hialurónico monofásico *versus* bifásico en un periodo de un mes.

<sup>1</sup> Otorrinolaringóloga. Estudiante del diplomado en rinología, cirugía facial y cirugía endoscópica de senos paranasales, UNAM.

<sup>2</sup> Médico adscrito al Departamento de Otorrinolaringología.

<sup>3</sup> Jefe del Departamento de Patología.

<sup>4</sup> Médico adscrito al Departamento de Patología.

<sup>5</sup> Jefe del Departamento de Otorrinolaringología.

Hospital Ángeles Lomas, Huixquilucan, Estado de México.

**Correspondencia:** Dra. Yenifer Lorena Ramírez Herrera. Calle 23 D núm. 85B-55, Bogotá, Colombia.

Correo electrónico: yeniferramirez31@yahoo.com. Dr. José Juan Montes Bracchini. Correo electrónico: jjuan\_montes@terra.com.mx

Recibido: abril, 2013.

Aceptado: mayo, 2013.

Este artículo debe citarse como: Ramírez-Herrera YL, Montes-Bracchini JJ, Molinar L, Leonardo-Jorge D, De la Garza-Hesles H. Hallazgos histopatológicos en la dermis después de la aplicación de ácido hialurónico monofásico *versus* bifásico. *An Orl Mex* 2013;58:134-138.

## Material y método

Estudio experimental en tres ratas egipcias hembras a las que se les aplicó en el lomo 0.2 mL de ácido hialurónico monofásico (Surgiderm, Allergan, Inc. California, Estados Unidos) y 0.2 mL de ácido hialurónico bifásico (Restylane, Q-MED. Uppsala, Suecia) a 1.5 centímetros de distancia, mediante técnica retrógrada lineal (Figura 1). Después de 15 días se tomó una biopsia incisional en cada zona infiltrada con ácido hialurónico y en piel sin infiltrar como control, tratando de minimizar la manipulación del tejido. Las muestras se trasladaron en frascos con formol al laboratorio de patología, donde los patólogos realizaron la descripción, corte e inclusión; posteriormente, los histopatólogos las introdujeron en parafina y las tiñeron con hematoxilina, eosina y tricrómico de Masson. Los especímenes fueron examinados por dos patólogos que estaban cegados con respecto al producto en evaluación. Se repitió el procedimiento a 30 días de la aplicación.

El estudio se realizó siguiendo los criterios del Acta de Bienestar Animal, Estatutos Federales y Guía para el cuidado y uso de animales del laboratorio en Latinoamérica y la Norma Oficial Mexicana 062-ZOO-1999.



**Figura 1.** Infiltración de ácido hialurónico monofásico (círculo con flecha) y bifásico (círculo) en el lomo de una rata.

## Resultados

Poco después de la infiltración de ácido hialurónico se identificó macroscópicamente un mayor efecto de volumen con el bifásico que con el monofásico, sin signos de respuesta inflamatoria local en ninguna de las dos zonas infiltradas.

Desde el punto de vista microscópico, se encontró ácido hialurónico en la dermis de los especímenes estudiados, excepto en las muestras control, en las que no hubo ningún cambio al comparar las de 15 con las de 30 días.

La piel de las ratas infiltradas con el ácido hialurónico monofásico no mostró ningún hallazgo representativo a los 15 días. Al día 30, en la rata número 3 se identificó inflamación crónica; las otras dos no mostraron cambios (Cuadro 1).

Con el ácido hialurónico bifásico la rata 3 manifestó respuesta inflamatoria crónica y pequeños granulomas a cuerpo extraño a los 15 días. En las tres ratas se corroboraron cambios de respuesta inflamatoria crónica y granulomas a cuerpo extraño a los 30 días. Se reportó una zona de fibrosis que generaba una cápsula alrededor del ácido hialurónico en la rata 3 (Cuadro 1).

Las microfotografías se muestran en la Figura 2.

## Discusión

La aplicación de ácido hialurónico para corregir defectos de volumen en la cara se ha vuelto más frecuente, como lo demuestran las estadísticas de la Academia Americana de Cirugía Plástica y Reconstructiva Facial (AAFPRS) que indican que en el año 2010 tres cuartas partes de los procedimientos realizados por los cirujanos que pertenecen a esta academia fueron no quirúrgicos debido a que cada vez más personas eligen este tipo de tratamiento para retrasar procedimientos más invasivos. En los pacientes de 35 a 60 años de edad, las inyecciones de ácido hialurónico se incrementaron en 15% a partir de 2009.<sup>9</sup>

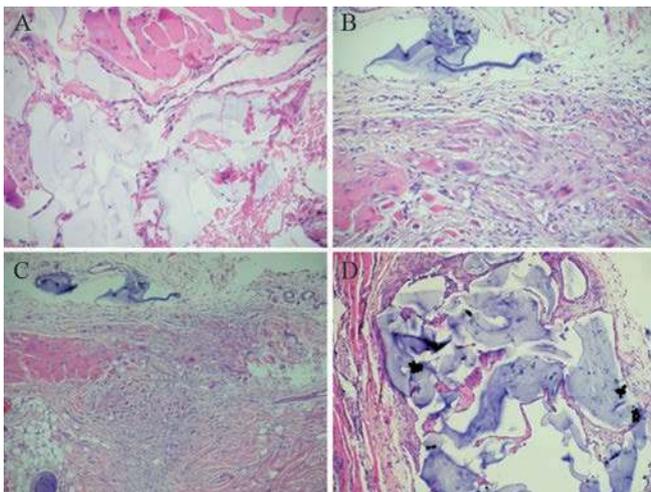
En los resultados obtenidos en este estudio se identifica cómo en la piel de las ratas egipcias el ácido hialurónico bifásico muestra mayor reacción a cuerpo extraño, lo que empieza a ser evidente a los 30 días de la aplicación. Existen publicaciones en las que no se reportó dicha respuesta inflamatoria, pero no se realizó seguimiento hasta 30 días.<sup>7</sup>

No pudo determinarse con certeza si se incrementó el colágeno en los especímenes estudiados, si bien no hubo diferencias entre el control y las muestras con ácido hialurónico. En la bibliografía se reporta aumento de colágeno, dato que se encuentra de forma más tardía, entre las semanas 4 y 13 luego de la aplicación del ácido hialurónico,<sup>8</sup> por lo que valdría la pena realizar un estudio con un seguimiento más largo. Otra limitación para identificar esta variable es que se trata de medidas subjetivas que no permiten dar un valor exacto a la producción de colágeno.

**Cuadro 1.** Hallazgos histopatológicos

Rata	Ácido hialurónico	Día de la biopsia	Hallazgos histopatológicos*
1	Monofásico	15	
1	Bifásico	15	
1	Control	15	
1	Monofásico	30	
1	Bifásico	30	Células gigantes con material refringente, granuloma a cuerpo extraño
1	Control	30	Sin cambios con respecto al espécimen de control de 15 días antes
2	Monofásico	15	
2	Bifásico	15	
2	Control	15	
2	Monofásico	30	
2	Bifásico	30	Foco de inflamación crónica
2	Control	30	Sin cambios con respecto al espécimen de control de 15 días antes
3	Monofásico	15	
3	Bifásico	15	Inflamación crónica, pequeños granulomas a cuerpo extraño
3	Control	15	
3	Monofásico	30	Inflamación crónica, pequeños granulomas a cuerpo extraño
3	Bifásico	30	Inflamación crónica y granuloma a cuerpo extraño, con fibrosis que encapsula el ácido hialurónico
3	Control	30	Sin cambios con respecto al espécimen de control de 15 días antes

\*Sólo se reportan hallazgos positivos.



**Figura 2.** Hallazgos histopatológicos. **A.** Ácido hialurónico monofásico, biopsia a los 15 días; se observa el relleno. **B.** Bifásico, biopsia a los 15 días, relleno, mínima inflamación crónica. **C.** Monofásico, biopsia a los 30 días, relleno y mínima inflamación crónica. **D.** Bifásico a los 30 días, reacción a cuerpo extraño con células gigantes multinucleadas alrededor del ácido hialurónico.

Se concluye que en este estudio las ratas mostraron mayor respuesta a cuerpo extraño con formación de granulomas y tejido inflamatorio crónico 30 días después de la aplicación del ácido hialurónico bifásico. Consideramos que podría

deberse a las características del producto bifásico, en el que se combinan dos tipos de ácido hialurónico: reticulado y no reticulado; sin embargo, para poder confirmar esta hipótesis se requiere otro tipo de estudio.

## Referencias

- Bachelier J. DERMAL Relleno de ácido hialurónico posicionamiento y estudio clínico. *J Med Chir Derm* 2009;1-7.
- Ojeda G. Rellenos faciales inyectables: revisión de la literatura. *Act Otorrinolaringología Cirug Cabeza y Cuello* 2008;36:73-84.
- Bonnetblanc JM. Propriétés Pharmacologiques de L'acide Hyaluronique. *Ann Dermatol Venereol* 2001;9-12.
- Brandt F. Hyaluronic acid fillers: Restylane and Perlane. *Facial Plast Surg Clin N Am* 2007;15:63-76.
- Bennett R. Anatomy and physiology of the skin. In: Papel ID, editor. *Facial Plastic and Reconstructive Surgery*. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Thieme, 2002;5-12.
- Lowe NJ, Maxwell A, et al. Hyaluronic acid skin fillers: adverse reaction and skin testing. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:930-933.
- Flynn TC, et al. Comparative histology of intradermal implantation of mono and biphasic hyaluronic acid fillers. *Dermatol Surg* 2011;37:637-643.

8. Wang F. *In vivo* stimulation of *de novo* collagen production caused by cross-linked hyaluronic acid dermal filler injections in photodamaged human skin. *Arch Dermatol* 2007;143:155-163.
9. Rejuvenation of the aging face meeting. January 19-23, 2010. San Diego California: [http:// www.aafprs.org](http://www.aafprs.org)

A toda la comunidad otorrinolaringológica:

Por este medio, quiero hacer de su conocimiento que en el pasado volumen 58, número 1 de esta revista, se publicó un artículo intitulado "Manejo de la parálisis bilateral de cuerdas vocales mediante cordectomía con láser: experiencia en el Centro Médico Nacional de Occidente", enviado por la Dra. Paulina Venegas Loya. Este artículo fue su tesis de especialidad, por lo que, sin conocer el protocolo que debe llevarse a cabo para la publicación de dichas investigaciones, sometió el artículo mencionado a nuestra revista para su publicación. Sin embargo, la propiedad intelectual de esta investigación recaía en la Dra. Luz del Carmen Martínez Oropeza, quien fungía como tutora de tesis. Por esta razón el artículo fue removido de las versiones electrónicas, asimismo, hemos regresado la propiedad intelectual a la Dra. Martínez Oropeza.

Les hacemos saber del incidente con el afán de evitar que una situación parecida vuelva a ocurrir y para no afectar a los demás coautores de la investigación, la cual, además, ya se había sometido a otra revista médica para su publicación.

Dr. Daniel Bross  
Editor