

ARTICULO ORIGINAL

Polidocanol versus alcohol absoluto como sustancias esclerosantes en modelo experimental animal

Polidocanol versus absolute alcohol as sclerosing substances in experimental animal model

Bermúdez, Carlos¹; Sosa, Cristian²; Planchart, Annie³

¹ Unidad de Perinatología. Hospital Universitario de Caracas, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

² Unidad de Perinatología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (I.V.I.C). Hospital Universitario de Caracas, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

³ Sección de Patología Genitourinaria del Instituto de Anatomopatológico. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

RESUMEN

Introducción: La esclerosis se caracteriza por la destrucción celular epitelial con apoptosis, inflamación estéril, fibrosis irreversible y disminución de la masa tisular por retracción con subsecuente obliteración de la luz de los quistes y/o vasos sanguíneos. Existen diferentes sustancias esclerosantes que pueden ser utilizados. Aun así, actualmente no se han definido pautas claras en el manejo con sustancias esclerosantes. Esto puede considerarse como un tratamiento poco invasivo y efectivo. **Objetivo:** Determinar la eficacia y seguridad del polidocanol versus alcohol absoluto como sustancias esclerosantes en modelo experimental animal. **Materiales y Métodos:** El estudio se realizó con 34 ratas, distribuidas en forma aleatoria en 3 grupos. Grupo A con 16 ratas a las cuales se les introdujo 1 ml de polidocanol intravesical. Grupo B con 16 ratas a las que se les introdujo 1 ml de alcohol absoluto intravesical. Grupo C (control) con 2 ratas sin intervención. Las 2 ratas del grupo control fueron sacrificadas con sobredosis de halotano. Igualmente las ratas de cada grupo experimental, que fueron sacrificadas en pares, escogidos al azar, a las 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas post aplicación respectivamente. Luego se realizó el estudio anatomopatológico. Se verificó la profundidad y extensión de la esclerosis y se adjudicó puntaje según escala numérica previamente diseñada. Se determinó y comparó la eficacia y seguridad de ambas sustancias dependiendo de la extensión y profundidad de la esclerosis según el tiempo de acción con regresión logística y test exacto de Fisher. **Resultados:** Ambas sustancias mostraron similar efectividad al producir esclerosis con retracción de la pared vesical en 100% de los casos después de 24 horas de aplicación. El polidocanol mostró acción biológica progresiva encontrándose correlación entre el tiempo de acción y la profundidad de la esclerosis mediante el análisis de regresión logística con coeficiente de correlación de 0.75 e índice de probabilidad: 0.00183 ($p < 0.05$). El alcohol absoluto produjo esclerosis profunda inmediata, sin correlación con el tiempo de acción, con coeficiente de correlación de - 0.0465 con un índice de probabilidad de 0.864 ($p > 0.05$). Se estimó la seguridad de las sustancias según el hallazgo de esclerosis transmural y lesión de órganos vecinos. En ningún caso con polidocanol (0%) hubo paso transmural ni lesión de órganos vecinos mientras que en 83,33% de los casos del alcohol absoluto se presentó esclerosis transmural con lesión de órganos adyacentes en 50% de los casos (Test de Fisher's $p < 0.0001$ extremadamente significativo). Ninguna de las 2 sustancias produjo lesiones de órganos a distancia.

Autor correspondiente: Dr. Carlos Bermúdez. Departamento de Obstetricia, Centro Médico Docente La Trinidad. Caracas, Venezuela. E-mail: cbermu@hotmail.com.

Fecha de recepción el 30 de Agosto del 2018; aceptado el 27 de Setiembre del 2018.

Conclusiones: Tanto el alcohol como el polidocanol son efectivos para generar esclerosis. La escleroterapia con polidocanol impresiona ser segura por quedar limitada a la vejiga. La escleroterapia con alcohol no parece ser segura porque genera esclerosis transmural y lesión de órganos contiguos. La diseminación de las sustancias a través de vasos sanguíneos o linfáticos con lesiones de órganos distantes no ocurrió en ningún caso y parece improbable ya que los esclerosantes producen la oclusión de estos vasos.

Palabras Clave: Escleroterapia, polidocanol, alcohol, terapia fetal.

ABSTRACT

Introduction: Sclerosis is characterized by epithelial cell destruction with apoptosis, sterile inflammation, irreversible fibrosis and decreased tissue mass by retraction with subsequent obliteration of the lumen of the cysts and / or blood vessels. There are different sclerosing substances that can be used. Even so, clear guidelines have not yet been defined in the management of sclerosing substances. This can be considered as a minimally invasive and effective treatment. **Objective:** To determine the efficacy and safety of polidocanol versus absolute alcohol as sclerosing substances in an experimental model. **Materials and Methods:** The study was conducted with 34 rats, randomly distributed in 3 groups. Group A with 16 rats to which 1 ml of intravesical polidocanol was introduced. Group B with 16 rats to which 1 ml of intravesical absolute alcohol was introduced. Group C (control) with 2 rats without intervention. The 2 rats of the control group were sacrificed with halothane overdose. Also the rats of each experimental group, which were sacrificed in pairs, chosen at random, at 12, 24, 48, 72, 96 and 120 hours after application respectively. Then the anatomopathological study was carried out. The depth and extension of the sclerosis was verified and a score was awarded according to a previously designed numerical scale. The efficacy and safety of both substances were determined and compared depending on the extension and depth of the sclerosis according to the time of action with logistic regression and Fisher's exact test. **Results:** Both substances showed similar effectiveness in producing sclerosis with retraction of the bladder wall in 100% of the cases after 24 hours of application. The polidocanol showed progressive biological action, finding a correlation between the time of action and the depth of the sclerosis by means of the logistic regression analysis with a correlation coefficient of 0.75 and a probability index of 0.00183 ($p < 0.05$). Absolute alcohol produced immediate deep sclerosis, without correlation with the time of action, with a correlation coefficient of - 0.0465 with a probability index of 0.864 ($p > 0.05$). The safety of the substances was estimated according to the finding of transmural sclerosis and injury to close organs. In no case with polidocanol (0%) there was transmural passage or injury of close organs, while in 83.33% of cases of absolute alcohol, transmural sclerosis with lesion of adjacent organs occurred in 50% of the cases (Fisher's Test $p < 0.0001$ extremely significant). None of the 2 substances produced remote organ injuries. **Conclusions:** Both alcohol and polidocanol are effective in generating sclerosis. Sclerosis with polidocanol is safe because it is limited to the bladder. Sclerotherapy with alcohol does not appear to be safe because it generates transmural sclerosis and injury to contiguous organs. The dissemination of the substances through blood or lymphatic vessels with lesions of distant organs did not occur in any case and seems unlikely since the sclerosants produce the occlusion of these vessels.

Keywords: Sclerotherapy, polidocanol, alcohol, fetal therapy.

INTRODUCCION

La escleroterapia es un procedimiento utilizado para tratar los vasos sanguíneos o las malformaciones vasculares y también las del sistema linfático. Se inyecta un medicamento en los vasos, lo que los hace encogerse.

Se usa para niños y adultos jóvenes con malformaciones vasculares o linfáticas. En los adultos, la escleroterapia a menudo se usa para tratar las venas varicosas y las hemorroides (1).

Así mismo tanto quistes de epidídimo, abdominales, testiculares, ováricos, hepáticos, cerebrales y renales, entre otros, han sido tratados mediante la inyección de diversas sustancias con la propiedad de producir esclerosis, retracción y obliteración de las paredes del quiste logrando así su involución y evitando su recidiva (1-6). Asimismo, estas sustancias han sido también utilizadas para sellar várices de miembros inferiores, malformaciones linfáticas y venosas, hemorroides, várices esofágicas y linfoceles por la capacidad de generar esclerosis y oclusión de los vasos sanguíneos o linfáticos (7-9).

La esclerosis se caracteriza por la destrucción celular epitelial con apoptosis, inflamación estéril, fibrosis irreversible y disminución de la masa tisular por retracción con subsecuente obliteración de la luz de los quistes y/o vasos sanguíneos y la formación de trombo intravascular, denominado esclerotrombo, que sella la circulación (10-12).

Existen 3 grupos de sustancias esclerosantes: Los esclerosantes osmóticos como la solución salina al 30% o la solución dextro/sal hipertónica, que producen lisis de las células epiteliales por deshidratación (10-12). Los esclerosantes químicos irritantes como alcohol absoluto (etanol al 98%), el glicerol cromado y la yodina poliodinada, que producen destrucción celular y necrosis por citotoxicidad; y los esclerosantes detergentes como el polidocanol (tetradecilsulfato de sodio al 3%), etanolamina y el clorhidrato de lapidium que interactúan con los lípidos de la membrana de las células epiteliales, produciendo la lisis celular por disminución de la tensión superficial resultando en esclerosis, retracción tisular y obliteración de los quistes y vasos sanguíneos (10-12).

En terapia fetal se ha intentado la inyección de alcohol absoluto, como estrategia terapéutica sencilla y económica, en casos de tumores fetales, tumores placentarios, secuestro pulmonar extralobar y gemelos acardios complicados con hidropesía (13-16). Los resultados de la escleroterapia percutánea con alcohol no han sido muy alentadores y se ha comunicado la muerte fetal post inyección de etanol en múltiples reportes (14-15). Los

resultados reportados sugieren que el alcohol absoluto no representa una sustancia segura para ser usada en fetos. En contraste, nosotros y otros autores hemos comunicado múltiples casos exitosos de escleroterapia percutánea en casos de secuestro pulmonar intralobar y malformación adenomatoidea quística pulmonar mediante la inyección de polidocanol o etanolamina, sin muerte ni otras complicaciones fetales reportadas, con buenos resultados perinatales (17-20).

Las diferencias de los resultados publicados hacen pensar que la escleroterapia no es una técnica riesgosa si se escoge el esclerosante adecuado.

El objetivo de este estudio es determinar la efectividad y seguridad del Polidocanol versus alcohol absoluto como sustancia esclerosante.

MATERIALES Y METODOS

Previo aprobación por el Comité de Bioética de la Unidad de Perinatología del Hospital Universitario de Caracas, se planificó el estudio con 34 ratas Sprague-Dawley adultas hembras de 8 a 9 semanas. Se conformaron 3 grupos en forma aleatoria. Dos grupos experimentales y un grupo control con dos ratas. Grupo A: experimental con polidocanol, de los cuales 12 muestras fueron procesadas. Grupo B: experimental con alcohol absoluto, de los cuales 14 muestras fueron procesadas. Grupo C: control sin tratamiento. Cada rata fue sometida a anestesia general inhalatoria con halotano en cámara cerrada. Luego se realizó la cateterización vesical transuretral con sonda de 1,5 French de grosor. Después del vaciamiento urinario, se introdujo en la vejiga 1 ml. de solución de polidocanol en cada rata del grupo A y 1 ml de alcohol absoluto en cada rata del grupo B. Todas las ratas de cada grupo experimental fueron sacrificadas por pares escogidos al azar con sobredosis de halotano a las 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas respectivamente. Asimismo las 2 ratas del grupo control fueron sacrificadas según el protocolo. Se efectuó la autopsia de cada animal, con disección y estudio anatomopatológico. Se realizó el estudio macroscópico de las vías urinarias y de la cavidad toraco-abdominal de cada rata.

Las ratas del grupo control fueron utilizadas para estandarizar los criterios de normalidad histológica, tamaño y grosor vesical. En las ratas de los grupos experimentales se registró el tamaño, los cambios en las paredes y en la luz de las vejigas. Se verificó la existencia de lesiones transmurales de órganos contiguos y de órganos distantes. Se tomaron las muestras para el análisis histológico. Los especímenes fueron fijados en buffer de formalina al 5% por 24 horas y luego fueron deshidratadas y embebidas en parafina. Se realizaron cortes histológicos del bloque de parafina de 4 micras y se realizó tinción con hematoxilina-eosina. Los cortes fueron revisados y documentados y se le adjudicó a cada caso un puntaje según la profundidad y extensión de los cambios histológicos de la esclerosis usando una escala numérica previamente diseñada para la clasificación, según los resultados obtenidos de la profundidad de las lesiones en los análisis

de anatomía patológica, se detalla en la Tabla 1. Se tabularon los resultados según el puntaje obtenido en cada rata en hoja de Excel. Se determinó y comparó la eficacia de ambos esclerosantes según la capacidad de producir esclerosis vesical después de 24 horas de su aplicación. Mediante regresión logística se obtuvo el coeficiente de correlación entre el tiempo de acción y la profundidad de las lesiones producidas para cada esclerosante. Se determinó y comparó la seguridad de ambos esclerosantes según la aparición de lesiones transmurales, de órganos contiguos y/o la aparición de lesiones en órganos distantes por diseminación del esclerosante vía sanguínea y/o linfática. Se utilizó el test exacto de Fisher para comparar la profundidad de las lesiones y se estableció una $p < 0.05$ como significancia estadística y un CI del 95%. El análisis estadístico descriptivo se efectuó con el programa Statgraphics stadistical graphics system, versión 6.1.

Tabla 1. Escala numérica de puntaje según la profundidad y extensión de la esclerosis, mayor extensión y profundidad de la lesión, mayor puntaje

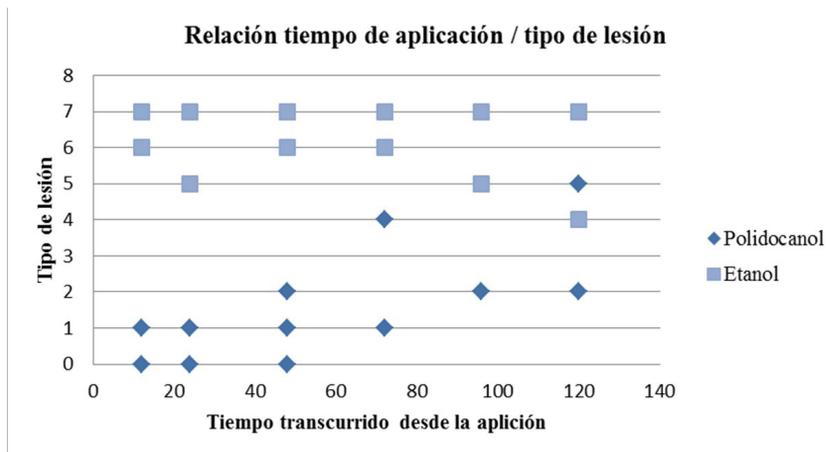
Tipos de lesiones tras la inyección del esclerosante	Puntajes
Sin esclerosis	0
Esclerosis (cistitis) del urotelio	
Limitada al urotelio	1
Traspasa la membrana basal al tejido conectivo	2
Esclerosis (cistitis) del musculo detrusor	
Mitad interna del músculo detrusor	3
Espesor total del músculo detrusor	4
Esclerosis(cistitis transmural) de la serosa	
Limitada al espesor de la túnica adventicia	5
Transmural (traspasa la túnica adventicia)	6
Lesión de otras estructuras	
Órganos vecinos	7
Órganos a distancia	8

RESULTADOS

Los resultados de la acción de cada esclerosante según el tiempo de exposición se sintetizan en el Gráfico 1. Tanto el polidocanol como el alcohol fueron efectivos para producir esclerosis vesical. Ambas sustancias produjeron esclerosis

caracterizada por descamación del urotelio, infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos, áreas de hemorragia, retracción de las paredes vesicales con obliteración parcial en 100% de los casos sin diferencias estadísticas después de 24 horas de aplicación.

Gráfico 1. Tiempo Transcurrido de la aplicación y el tipo de lesión.



En el Grupo A, el polidocanol produjo esclerosis progresiva según el tiempo que transcurrió desde su aplicación, con coeficiente de correlación de 0.75, con un índice de probabilidad del 0.00183 con una $p < 0.05$ (Gráfico 2). En el Grupo B, el alcohol produjo esclerosis transmural en 83,34% de los casos, independientemente del tiempo de aplicación, con coeficiente de correlación de -0.0465 e índice de probabilidad de 0.864 y $p > 0.05$ (Gráfico 3). En ningún caso del Grupo A (0%) se evidenció esclerosis

extravesical, independientemente del tiempo de exposición mientras que en 83,33% de los casos del grupo B, el alcohol absoluto produjo esclerosis transmural y lesión de órganos contiguos (peritoneo, intestino, hígado, estómago, bazo y diafragma) en 50% de los casos. Al comparar la ocurrencia de lesiones transmurales y de órganos vecinos originadas por ambos esclerosantes con el test exacto de Fisher se obtuvo valor de $p < 0.0001$ con IC 95 % (Figura 1).

Gráfico 2. Análisis de regresión para el efecto del polidocanol según el tiempo de aplicación con coeficiente de correlación de 0.75 e índice de probabilidad de 0.00183 con $p < 0.05$.

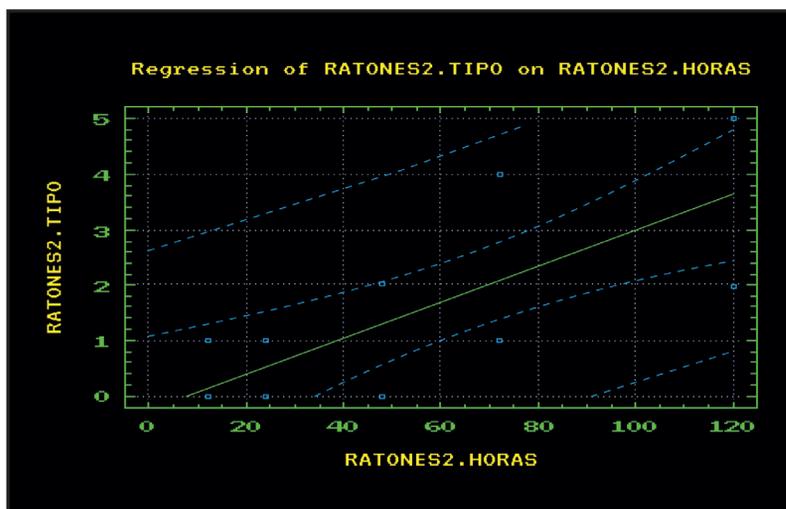


Gráfico 3 Análisis de regresión para el efecto del alcohol según el tiempo de aplicación con coeficiente de correlación de -0.0465 e índice de probabilidad de 0.864 con $p > 0.05$

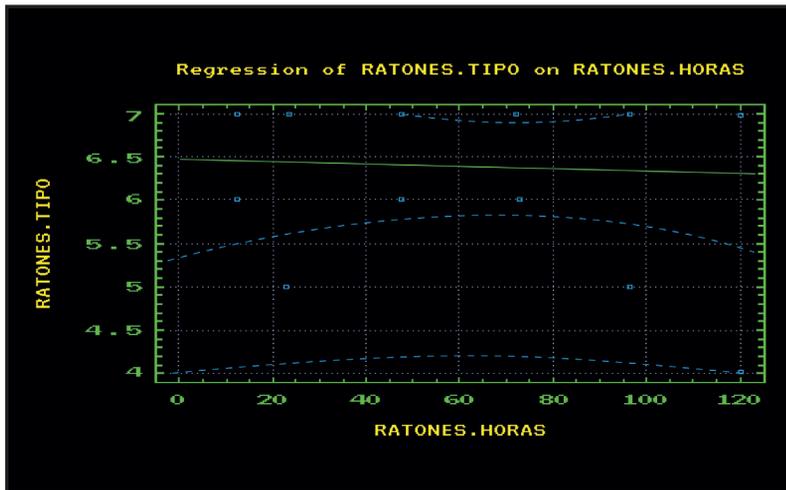


Figura 1. Seguridad de los esclerosantes establecida por el paso transmural de las sustancias con lesión de órganos vecinos y comparadas con test exacto de Fisher.

	0-3	4-7	Total
POLIDOCANOL	9 (36%)	2 (8%)	11 (44%)
ETANOL	0 (0%)	14 (56%)	14 (56%)
Total	9 (36%)	16 (64%)	25 (100%)

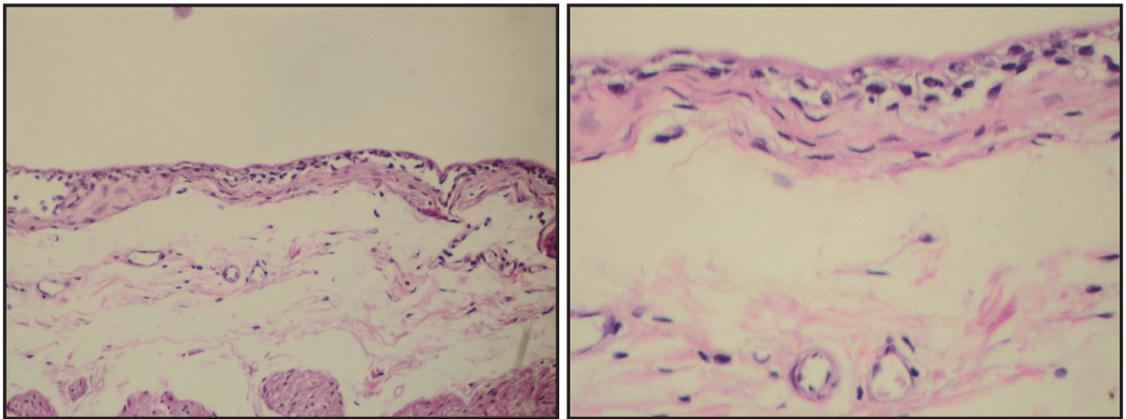
Fisher's Exact Test
 The two-sided P value is < 0.0001 , considered extremely significant.
 There is a significant association between rows and columns.

Odds Ratio = 110.20
 95% Confidence Interval: 4.744 to 2559.9
 (using the approximation of Woolf.)
 Note that at least one value is zero. To make calculations possible...

Figura 2. Imagen del estudio macroscópico de la cavidad toraco-abdominal de las ratas

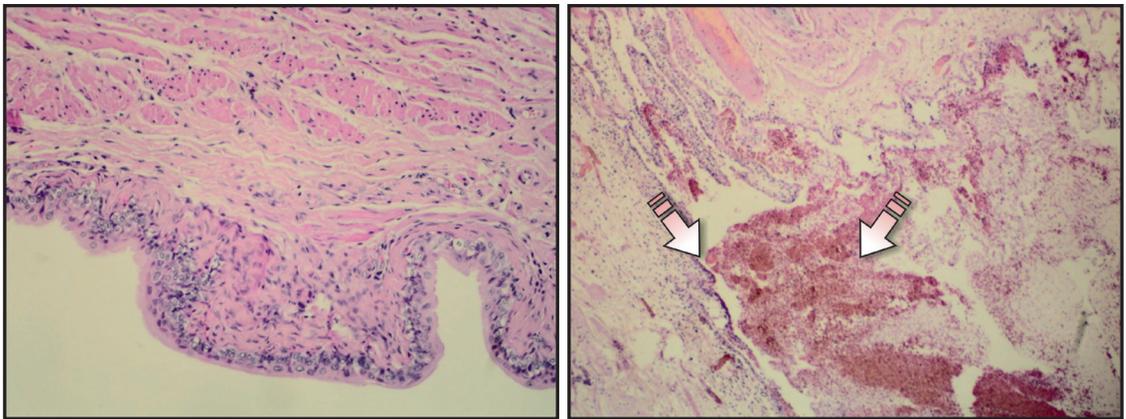


Figura 3. En a y b se visualiza el epitelio normal y el grosor de la pared vesical.



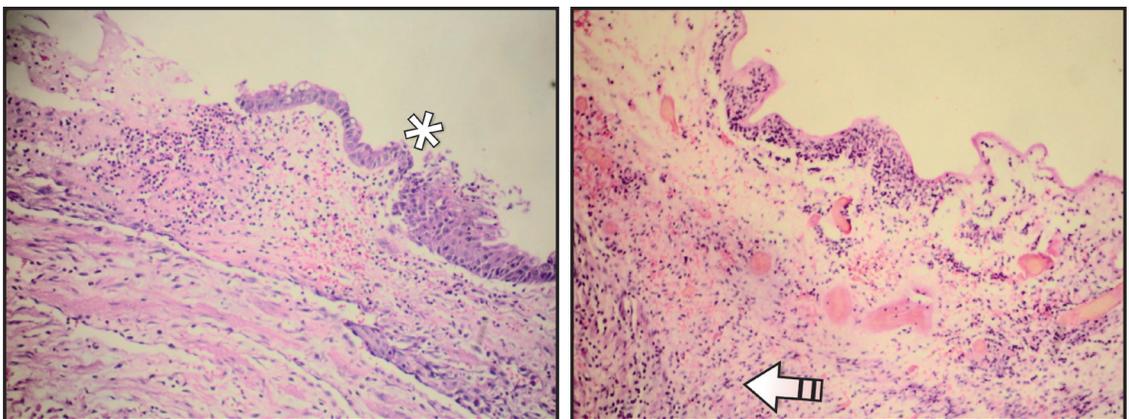
a) Epitelio normal x10

b) Aumento x40 de la pared vesical normal



c) Polidocanol 12 horas x10

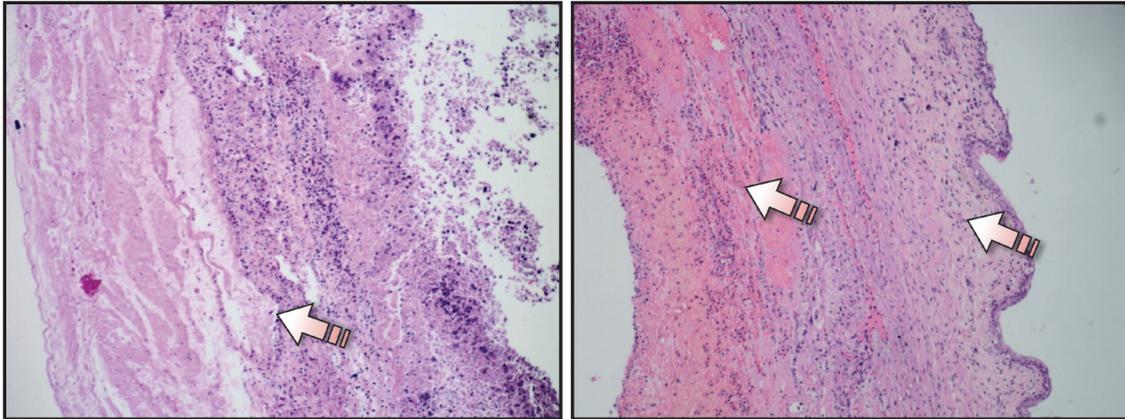
d) Alcohol 12 horas x10



e) Polidocanol 24 horas x10

f) Alcohol 24 horas x10

En **a** y **b** se visualiza el epitelio normal y el grosor de la pared vesical. En **c** y **d** la comparación del tipo de lesión producida tras la aplicación del polidocanol o grupo A y el alcohol o grupo B, podemos ver la extensión a través de todas las capas el desprendimiento y hemorragias del urotelio (flechas) en el grupo B a diferencia del grupo A. En **e** y **f** tras 24 horas de inyección de las sustancias observamos la misma lesión tipo 7, llegando el infiltrado leucocitario hasta capas profundas de la pared vesical en el grupo B (flecha) y en cambio en el grupo A fue de tipo 1 a 2 con sólo descamación del urotelio (asterisco) y ligero infiltrado polimorfo nuclear.



g) Polidocanol 48 – 120 horas x10

h) Alcohol 48 – 120 horas x10

En **g** y **h** se aprecia la lesión en toda la extensión de la pared vesical con intensa hemorragia que llega a la muscular (flecha corta) y gran infiltrado polimorfo nuclear en todas las capas de la vejiga (flecha larga) en el grupo B, a diferencia del grupo A donde a pesar de la descamación del urotelio y el gran infiltrado esto queda delimitado a una región sin llegar a traspasar la capa muscular (flecha).

Con ninguna de las sustancias ocurrió migración del esclerosante ni lesión de órganos distantes independientemente del tiempo de aplicación.

DISCUSION

Los resultados demuestran que tanto el polidocanol como el alcohol absoluto son efectivos y produjeron esclerosis en nuestro modelo experimental animal, en las vejigas de las ratas después de 24 horas de su aplicación en 100% de los casos.

El polidocanol produjo esclerosis progresiva según el tiempo de acción y en ningún caso (0%) se presentaron lesiones transmurales de órganos contiguos, por lo cual parece ser una sustancia segura que limitó su acción biológica al sitio de aplicación en la totalidad de los casos. Adicionalmente, el polidocanol, como otros esclerosantes detergentes, no persiste en el tiempo porque es desactivado y consumido por la actividad celular (21) lo cual potencia su seguridad.

El alcohol absoluto se comportó de forma diferente al polidocanol. El alcohol produjo esclerosis transmural en 83,34% de los casos y se evidenciaron lesiones y necrosis de intestino, hígado, bazo y diafragma en 50% de los casos, independientemente del tiempo de aplicación, por lo cual el alcohol absoluto parece ser una sustancia peligrosa para ser utilizada como esclerosante en terapia fetal.

Ninguna de las 2 sustancias produjo lesiones en órganos distantes independientemente del tiempo transcurrido desde su colocación. Los esclerosantes producen daño endotelial vascular, retracción fibrótica y obliteración de los vasos sanguíneos y linfáticos (12). Los esclerosantes también inducen la formación de un esclerotrombo intravascular que ocluye los vasos imposibilitando su diseminación vía linfática o sanguínea (12). Por estos motivos parece improbable que los esclerosantes puedan migrar y producir lesiones a órganos distantes a través de estas vías. Sin embargo hay reportes de complicaciones severas con algunos esclerosantes con base alcohólica (22).

CONCLUSIONES

En nuestro modelo animal, tanto el polidocanol como el alcohol absoluto son sustancias efectivas para producir esclerosis. El polidocanol parece una sustancia segura ya que en todos los casos la acción biológica quedó limitada a la vejiga e independientemente del tiempo de exposición no se presentaron lesiones transmural de órganos adyacentes. El alcohol absoluto no parece ser una sustancia segura porque produjo esclerosis transmural y de órganos contiguos. El riesgo de que los esclerosantes puedan diseminarse y ocasionar lesiones en órganos distantes parece improbable, ya que producen esclerosis, obliteración y oclusión trombótica de los vasos sanguíneos y linfáticos, lo cual imposibilita la migración de la sustancia a distancia.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ethanol sclerotherapy of ovarian endometrioma: a safe and effective minimal invasive procedure. Preliminary results. García-Tejedor A, Castellarnau M, Ponce J, Fernández ME, Burdio F. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2015 Apr;187:25-9.
2. Percutaneous ethanolamine sclerotherapy of a retrobulbar cyst in a child with microphthalmos and proptosis. Salsamendi J, Ghosh S, KoAC, Pereira K, Yang EY, Alabiad C. J Vasc Interv Radiol. 2015 Nov;26(11):1658-9/
3. Symptomatic abdominal simple cysts: is percutaneous sclerotherapy with hypertonic saline and bleomycin a treatment option?. Souftas VD, Kosminodou M, Karankas M, Souftas D, Menexes G, Prassopoulos P. Gastroenterol Res Pract. 2015;2015:489363.
4. Sclerotherapy of hydroceles with polidocanol. Fuse H, Sakamoto M, Fujishiro Y, Katayama T. Int Urol Nephrol. 1994; 26 (2): 199-204.
5. Tetracycline sclerotherapy of hydroceles and epididimal cysts. Long term results. Honnens de Lichtenberg M, Miskowiak J, Krogh J. Acta Chir Scand. 1990 Jun-Jul;156(6-7):439-40.
6. Conjunctival Retention Cysts: Outcomes of Aspiration and Sclerotherapy With Sodium Tetradecyl Sulfate. Dave T, Taneja S, Tiple S, Basu S, Naik MN. Ophthalmic Plast Reconstr Surg. 2018 Aug 23.
7. MR angiographic-guided percutaneous sclerotherapy for venous vascular malformations: A radiation dose-reduction strategy. Imbesi SG, Green DA, Cho A, Pakbaz RS. Am J Neuroradiol. 2015 Oct;47(8):643-50.
8. The French polidocanol study on long-term side effects: a Surrey covering 3,357 patient years. Guex J, Schliephake DE, Otto J, Mako S, Allaert FA. Dermatol Surg. 2010 Jun;36 Suppl 2:993-1003.
9. Endoscopic injection of cyanoacrylate glue versus other endoscopic procedures for acute bleeding gastric varices in people with portal hypertension. Rios Castellanos E, Seron P, Gisbert JP, Bonfil Cosp X. Cochrane Database Syst Rev. 2015 May 12;5:CD010180.
10. Morphological changes in vascular and circulating blood cells following exposure to sclerosants. Cooley-Andrade O, Connor, Ma D, Weisel J, Parsi K. Phlebology. 2015 Feb 17. pii 0268355515573686.
11. Interaction of detergent sclerosants with cell membranes. Parsi K. Phlebology. 2015 Jun;30(5):306-15.
12. Varicose veins of lower extremities, hemodynamics and treatment methods. Maciej Chwala, Wojciech Szczeklik, Michal Szczeklik, Tomasz Aleksiejew, Maria Jagielska-Chwala. Adv Clin Exp Med. 2015 Jan-Feb;24(1):5-14.
13. A new approach to prenatal treatment of extralobar pulmonary sequestration. Nicolini U, Cerri V, Groli C, Poblete A, Mauro F. Prenat Diagn. 2000 Sep 20(9):756-60.
14. Intrafetal alcohol chemosclerosis of acardiac twins: a multicenter experience. Sepúlveda W, Corral E, Aiello H, Otano L, Paredes R, Escobar MF, Heredia F, Quiroz V. Fetal Diagn Ther. 2004 Sep-Oct;19(5):448-52.
15. Fetal therapy in twin reverse arterial perfusion sequence pregnancies with alcohol ablation or bipolar Cord coagulation. Gul A, Gungorduk K, Gedikbasi A, Yildirim D, Ceylan Y. Arch Gynecol Obstet. 2009 Apr; 279(4):517-20
16. Outcome of antenatally diagnosed sacrococcygeal teratomas: Single-center experience. Makin EC, Hyett J, Ade-Ajayi N, Patel S, Nicolaidis K, Davenport M. J Pediatr Surg. 2006 Feb;41(2):388-93.
17. (17) Percutaneous fetal sclerotherapy for congenital cystic adenomatoid malformation of the lung. Bermúdez C, Pérez-Wulff JA, Arcadipane M, Bufalino G, Gómez L, Flores L, Sosa C, Bornick PW, Kontopoulos E, Quintero RA. Fetal Diagn Ther. 2008;24(3):237-40.
18. Percutaneous ultrasound-guided sclerotherapy for complicated fetal intralobar pulmonary sequestration. Bermúdez C, Pérez-Wulff JA, Bufalino G, Sosa C, Gómez L, Quintero RA. Ultrasound Obstet Gynecol. 2007 May;29(5):586-9.
19. Treatment of congenital pulmonary airway malformation induced hydrops fetalis via percutaneous sclerotherapy. Lee FL, Said N, Grikscheit TC, Shin CE, Llanes A, Chmait RH. Fetal Diagn Ther. 2012;31(4):264-8.

20. Congenital cystic adenomatoid malformation of the lung, intrauterine diagnostic and treatment. A case report and literature review. Juárez-García L, López Rioja M de J, Leis-Márquez MT, Machuca-Vaca A, Erdmenger-Orellana J. *Ginecol Obstet Mex.* 2015 May;83(5):320-7.
21. Detergent sclerosants are deactivated and consumed by circulating blood cells/ Connor DE, Cooley-Andrade O, Goh WX, MA DD, Parsi K. *Eur J Vasc Surg* 2015 Apr;49(4):426-31.
22. A Complication of Percutaneous Sclerotherapy for Congenital Pulmonary. Airway Malformation: Intravascular Injection and Cardiac Necrosis. H Chon A, Takeda MR, Felix JC, Chmait RH. *Fetal Pediatr Pathol.* 2017 Dec;36(6):437-444.