



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y SALUD ANIMAL

EFFECTO DEL ÁCIDO HIALURÓNICO (AH) Y COLÁGENO
POLIVINIL PIRROLIDONA (CPVP) SOBRE LA
CICATRIZACIÓN TRAQUEAL EN UN MODELO
EXPERIMENTAL CANINO

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS

PRESENTA

CLAUDIA HERNÁNDEZ JIMÉNEZ

TUTOR:

ROGELIO JASSO VICTORIA

COMITÉ TUTORAL:

RAÚL OLMOS ZÚÑIGA

JOAQUÍN AGUILAR BOBADILLA

MÉXICO D. F.

2005



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco especialmente a los doctores Rogelio Jasso Victoria y Raúl Olmos Zúñiga por su valiosa ayuda en la realización de este trabajo.

ÍNDICE.

AGRADECIMIENTOS.	ii
RESUMEN.	iii
ÍNDICE.	iv
I. INTRODUCCIÓN.	6
1. Anatomía, fisiología e histología de la tráquea.....	6
Irrigación de la tráquea.....	7
Inervación de la tráquea.	7
Morfología traqueal.....	8
2. Trastornos de las vías respiratorias superiores o craneales.	9
3. Estenosis traqueal.	10
4. Tratamiento de las estenosis traqueales.....	12
5. Fármacos moduladores del proceso de cicatrización.	13
5.1 Ácido hialurónico.	13
5.2 Colágeno polivinil-pirrolidona.	15
II. JUSTIFICACIÓN.	17
III. HIPÓTESIS.	18
IV. OBJETIVOS.	19
1. Objetivo General.....	19
2. Objetivos Específicos.	19
V. MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
1. Recursos.	20
2. Animales de experimentación.	21
2.1 Criterios de inclusión.	21
2.2 Criterios de exclusión.	22
2.3 Criterios de eliminación.	22
2.4 Criterios de Terminación.	22
3. Consideraciones Éticas.	22
4. Grupos de Estudio.....	23
5. Anestesia.....	24
6. Técnica quirúrgica.	25
7. Tratamiento.	25
8. Evaluación.	26
8.1 Clínica.....	26
8.2 Radiológica.....	27
8.3 Endoscópica.	27
8.4 Macroscópica.	28
8.5 Microscópica.....	28
8.6 Análisis Bioquímico de Woessner.	29
VI. ANÁLISIS DE DATOS.....	31
VII. RESULTADOS.....	32

1. Clínicos.....	32
2. <i>Radiológicos</i>	32
3. Endoscópicos.....	33
4. Macroscópicos.....	35
5. Microscópicos.....	35
6. Bioquímica de Woessner.....	36
VIII. DISCUSIÓN.....	38
X. FOTOGRAFÍAS.....	43
FOTOGRAFÍA 1.....	43
FOTOGRAFÍA 1a.....	44
FOTOGRAFÍA 2.....	45
FOTOGRAFÍA 3.....	46
FOTOGRAFÍA 4.....	47
FOTOGRAFÍA 5.....	48
FOTOGRAFÍA 6.....	49
FOTOGRAFÍA 7.....	50
FOTOGRAFÍA 8.....	51
FOTOGRAFÍA 9.....	52
FOTOGRAFÍA 10.....	53
FOTOGRAFÍA 11.....	54
FOTOGRAFÍA 12.....	55
FOTOGRAFÍA 13.....	56
FOTOGRAFÍA 14.....	57
FOTOGRAFÍA 15.....	58
FOTOGRAFÍA 16.....	59
FOTOGRAFÍA 17.....	60
FOTOGRAFÍA 18.....	61
FOTOGRAFÍA 19.....	62
FOTOGRAFÍA 20.....	63
FOTOGRAFÍA 21.....	64
XI. TABLAS.....	65
Evaluación de la Disnea.....	66
Tabla 1.....	66
Tabla 2.....	65
Tabla 3.....	67
XII. GRÁFICAS.....	68
XIII. REFERENCIAS.....	70

RESUMEN.

El objetivo fue determinar el efecto de la aplicación del AH y CPVP sobre la cicatrización traqueal, después de realizar traqueoplastía cervical en perros. Se utilizaron 24 perros, que fueron divididos en 4 grupos de estudio. Grupo I Resección de tres anillos cervicales y traqueoplastía con aplicación intraluminal de 3 ml de SSF. Grupo II Resección de tres anillos cervicales, traqueoplastía y aplicación de 15 microgramos de AH. Grupo III Resección de tres anillos cervicales, traqueoplastía y aplicación de 2.5 miligramos de CPVP y Grupo IV Resección de tres anillos cervicales, traqueoplastía y aplicación de AH+CPVP. A todos los animales se les realizó evaluación clínica, radiológica y endoscópica para observar la existencia de estenosis traqueal. Cuatro semanas posteriores a la cirugía los animales fueron sometidos a eutanasia y se les practicó evaluación macroscópica y microscópica del segmento traqueal operado y la cicatriz fue sometida a estudio bioquímico de Woessner. El análisis estadístico de todos los parámetros estudiados en las diferentes evaluaciones se hicieron mediante ANDEVA, Tukey. Ningún animal presentó diferencias en la evolución clínica importantes. El estudio radiológico y endoscópico, mostraron mayor desarrollo de estenosis en los animales del grupo I que en el grupo II. El grupo III y IV no se presentó estenosis. Se observaron las anastomosis bien selladas en todos los grupos, con presencia de tejido fibroso abundante en el grupo I y moderado en los otros grupos. Microscópicamente el grupo I mostró inflamación severa y fibrosis. En los grupos II, III y IV se presentó desarrollo de fibras de colágena bien organizadas y delgadas con reacción inflamatoria mínima en los grupos II y III y moderada en el grupo IV. La concentración de colágena fue mayor en el grupo I a las del resto, con diferencia estadísticamente significativa (ANOVA $p < 0.5$) Tukey /Kramer $p < 0.01$). Conclusión: la aplicación tópica de AH y CPVP después de realizar una traqueoplastia en perros disminuye la inflamación de la anastomosis y la presentación de estenosis traqueal.

Palabras clave: Cicatrización traqueal. Estenosis traqueal. Ácido hialurónico (AH). Colágeno polivinilpirrolidona (CPVP). Anastomosis traqueal. Traqueoplastía.

I. INTRODUCCIÓN.

1. Anatomía, fisiología e histología de la tráquea.



El sistema respiratorio en los mamíferos es un conjunto de órganos cuyas funciones principales son la termorregulación, el equilibrio ácido base y el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono (gases respiratorios) entre el organismo y el medio ambiente ^(1, 2). Se divide en tres zonas anatómicas: De conducción, de transición y respiratoria. La zona conductiva incluye la cavidad nasal (cojinete nasal, tabique nasal y los cornetes), la laringe, tráquea, bronquios, bronquiolos terminales, tejido conjuntivo y ramificaciones principales de las arterias y venas pulmonares. La zona de transición se compone de bronquiolos respiratorios y conductos alveolares. Tanto la zona conductiva como la de transición contienen vasos sanguíneos que sirven para humidificar, filtrar y distribuir aire rico en oxígeno a la unidad respiratoria, además de eliminar el dióxido de carbono del aire alveolar. La zona respiratoria contiene los alvéolos, que son la unidad anatomofuncional de los pulmones y capilares sanguíneos, y es el sitio de intercambio gaseoso entre el aire alveolar y la sangre ⁽³⁾.

Las vías aéreas conductoras (narinas, senos paranasales, laringe, faringe, tráquea y bronquios) son una serie de compartimientos que permiten el movimiento de aire desde su entrada al organismo, hasta el área de intercambio

¹ Dellmann H. D. Histología veterinaria. Sistema respiratorio. ed. Acribia S. A. Zaragoza España 1993: 159-176.

² Netter F. H. Colección Ciba de Ilustraciones Sobre Anatomía y Embriología, Fisiología, Anatomía Patológica, Síntomas Clínicos y Tratamiento de Enfermedades Tomo VII Sistema Respiratorio. Barcelona España: Salvat Editores, S. A.1984.).

³ Robert F. Schmidt. Human Physiology, Second, Completely Revised Edition Springer-Verlag 1990.

gaseoso de los pulmones, así como para la salida de éste. Las vías aéreas conductoras también tienen función protectora al filtrar partículas como bacterias y polvo que entran con el aire inspirado, calentando y proporcionando humedad al mismo.

La tráquea tiene como función llevar el aire inspirado ya sea por la nariz o boca hacia las zonas de intercambio gaseoso. Este órgano es un tubo semirígido flexible que se extiende por la parte inferior o ventral del cuello, desde el cartílago cricoides hasta el mediastino en donde a nivel de la cuarta o quinta vértebra torácica se bifurca en dos bronquios principales (derecho e izquierdo). En el perro ésta se encuentra formada por 35 a 45 cartílagos en forma de “C” los cuales se unen en la porción ventral mediante una membrana elástica a la que se denomina porción membranosa de la tráquea, mientras que cada cartílago se conecta al anillo adyacente por tejido conectivo fibroelástico ^(1, 4).

Irrigación de la tráquea

Tanto en el humano como en el perro, los vasos que suministran aporte sanguíneo a la tráquea se localizan en pedículos laterales de tejido conectivo laxo que rodea a la misma y se encuentra irrigada por ramas de la arteria tiroidea craneal y caudal y las venas yugulares internas (**Fotografías 1 y 1a**).

Inervación de la tráquea.

La inervación en todos los mamíferos es similar y está dada tanto por fibras simpáticas como parasimpáticas del sistema nervioso autónomo. Las fibras simpáticas son de los ganglios cervicales y tronco simpático que actúan inhibiendo

¹ Dellmann H. D. Histología veterinaria. Sistema respiratorio. ed. Acribia S. A. Zaragoza España 1993: 159-176.

⁴ Plopper C. G., Mariassy A. T. and Lollini L. O.: Structure as revealed by airway dissection: A comparison of mammalian lungs. Am Rev Respir Dis. 1993; 28: S4.

la contracción del músculo traqueal y secreciones glandulares, mientras que las fibras parasimpáticas son ramas craneales del nervio vago y del laringo recurrente, las cuales controlan la contracción del músculo traqueal y secreción glandular (**Fotografías 1 y 1a**).

Morfología traqueal.

Histológicamente en todos los mamíferos la tráquea se compone de las siguientes capas (de adentro hacia fuera): mucosa, lámina propia, submucosa, cartílago y adventicia.

La mucosa está formada por el llamado epitelio respiratorio, que es de tipo pseudoestratificado y ciliado. Éste tiene como función, actuar como barrera protectora ya que produce moco que filtra y remueve (a través de los cilios) las partículas atrapadas en él hacia la parte proximal de la tráquea.

La lámina propia está formada por tejido conjuntivo laxo, principalmente a base de fibras elásticas, también posee glándulas mucosas que tienen sus conductos de salida en la luz de la tráquea.

La submucosa se encuentra constituida por una capa de fibras elásticas.

El cartílago es de tipo hialino y se encuentra revestido por pericondrio que se continúa con un tejido conectivo fibroso que une a los cartílagos entre sí y su función es darle estabilidad a la tráquea.

La adventicia es la cubierta externa de la tráquea y se encuentra formada por tejido conectivo laxo y su función es unir a la tráquea con los tejidos adyacentes ⁽⁵⁾.

⁵ Junqueira LC, Carneiro J. Histología básica. 5ta ed. Masson S.A. Barcelona, España 2001: 331-348.

2. Trastornos de las vías respiratorias superiores o craneales.

Las vías respiratorias conductoras sufren varias enfermedades, las cuales tienen diversas causas, pero comparten ciertas características fisiopatológicas y clínicas, como son: la limitación del flujo respiratorio (provocado por la obstrucción intraluminal de la vía respiratoria, engrosamiento de sus paredes o pérdida de la elasticidad de los tejidos intersticiales que es necesaria para conservar la permeabilidad de la vía aérea), hipersecreción de moco e irritabilidad de toda la vía respiratoria, provocando: tos, producción de esputo y dificultad respiratoria ⁽⁶⁾.

Los trastornos de las vías aéreas conductoras son principalmente inflamatorios, infecciosos o debidos a alteraciones anatómicas.

Las infecciones producidas por virus o bacterias, así como la inhalación de irritantes o reacciones alérgicas provocan inflamación de estos órganos, denominándose de acuerdo a la estructura anatómica afectada.

Con respecto a las alteraciones anatómicas, éstas se deben a la presencia de neoplasias, traumas, malacias y estenosis traqueales. Representando estas últimas el 92% de las patologías de origen benigno.

⁶ Tojo, T., Niwaya, K., Sawabata, N., Nezu, K., Kawachi, K and Kitamura, S.: Tracheal allogenic immunoresponse is reduced by cryopreservation canine experiment. Transplant Proc. 1996; 28(3): 1814-1815.

3. Estenosis traqueal.

La estenosis traqueal se define como una disminución anormal en el calibre de la tráquea por retracción cicatrizal o depósito de tejido patológico. La estenosis traqueal constituye un verdadero problema clínico de obstrucción de vías aéreas superiores o craneales. Siendo la principal causa en humanos y perros, sin lugar a dudas, la intubación prolongada y cirugía traqueal (traqueotomía o resección) o incluso, después de algunos procedimientos endoscópicos; aunque también existen otras causas como: mala cicatrización de las cirugías traqueales, infecciones locales, mal manejo de las secreciones de la vía aérea durante la intubación, factores congénitos en la respuesta de cicatrización y condiciones inflamatorias crónicas ^(7, 8, 9). La estenosis postintubación puede presentarse entre el 5 al 20% de pacientes que han requerido intubación orotraqueal o traqueotomía, especialmente por tiempos prolongados o altas presiones del manguillo de las sondas.

En el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), como centro de referencia para el tratamiento de la estenosis traqueal, se ha observado en los últimos años, un incremento dramático en el número de pacientes con esta patología, siendo el grupo etáreo más afectado aquel en etapa más productiva, tanto en el sexo femenino como masculino. En la experiencia del Departamento de Cirugía del INER, de 1984 a diciembre del 2000, se presentaron 467 pacientes con diagnóstico de estenosis traqueal por diversas causas, destacando la secundaria a intubación orotraqueal prolongada, el tiempo de intubación muestra

⁷ Reza R., Stanley M. S. and Gerald B. H. Mitomycin: Effects on Laryngeal and Tracheal Stenosis, Benefits and Complications. *Ann Otol Laryngol.* 2001; 110: 1-6.

⁸ Soda M. A., Delgado A., Morales J. Manejo quirúrgico de las estenosis traqueales. *Gaceta Médica de México.* 1994; 130: 386-389.

⁹ Lau E. Richard, Schwartz Anthony, Buergelt D. Claus. *JAVMA*, Vol. 176 No. 2, January 15, 1980; 134-139.

un mínimo de 6 horas hasta 78 días como máximo, y el sitio de localización más frecuente es el tercio superior ⁽¹⁰⁾.

La fisiopatología de la estenosis obedece a múltiples factores como son: la presión elevada en el globo de las cánulas orotraqueales, infección local, el mal manejo de las secreciones de la vía aérea y probablemente influyan factores congénitos en la respuesta de cicatrización. La estenosis constituye una respuesta ⁽⁸⁾ a estos factores agresores, inicialmente ocurre una isquemia local de la mucosa traqueal a nivel del globo de la sonda endotraqueal, presentándose después, una necrosis de la mucosa con una posterior respuesta desproporcionada de restauración de la lesión con tejido fibroso que obstruye la luz traqueal, con la consiguiente obstaculización del flujo aéreo ^(11, 12). La estenosis de la tráquea produce signos o síntomas variables dependiendo de la reducción del calibre de la tráquea. La mayoría de los pacientes pueden estar asintomáticos durante un periodo variable después del retiro del tubo o de la traqueotomía. Posteriormente se puede presentar disnea, inicialmente con el ejercicio, después con reposo, tos, dificultad para la eliminación de las secreciones y estridor. El estridor, sonido de timbre alto, penetrante, es un signo muy importante de estenosis; puede presentarse en reposo o ejercicio, ser inspiratorio, espiratorio o combinado.

¹⁰ Morales GL, Tellez B. Niebla N. Loyola GU, Avalos BA, Patiño GH. Dilataciones Traqueales como Manejo Temporal de la Estenosis Traqueal en el INER 60 Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Neumología y Cirugía de Tórax. Tijuana, B. C. Abril 2001.

⁸ Soda M. A., Delgado A., Morales J. Manejo quirúrgico de las estenosis traqueales. Gaceta Médica de México. 1994; 130: 386-389.

¹¹ Davidson I.A., Cruickshank A.N., Duthie W.H., Bargh W. and Duncan J.G. Tracheal Lesions Following tracheostomy. Proceedings of The Royal Society of Medicine. 1971; 31: 479.

¹² Gallit J. and Clark A.F. Wound repair in the context of extracellular matrix. Current Opinion in Cell Biology. 1994; 6: 717-25.

4. Tratamiento de las estenosis traqueales.

En la actualidad existen varias posibilidades terapéuticas para el tratamiento de la estenosis traqueal, utilizando procedimientos tales como dilataciones con balón o cánulas, colocación de distintos tipos de férulas intratraqueales (silastic o metálicas expandibles) y la permeabilización con láser, pero éstos han sido solamente de tipo paliativo ^(13, 14).

También para el tratamiento de estas afecciones se ha intentado la traqueoplastía del segmento estenosado, sin embargo, este procedimiento puede mostrar problemas de cicatrización, y el paciente no está exento de presentar reestenosis ^(7, 8, 15).

Otra alternativa de tratamiento que se ha utilizado es la aplicación de fármacos como los esteroides, mitomicina C, antiinflamatorios no esteroides y agentes latirógenos, con el fin de modular el proceso de cicatrización y prevenir la formación de una cicatriz excesiva, pero ninguno ha tenido el éxito deseado ^(16, 17).

¹³ Grillo HC, Donahue DM: Stenosis Tracheal Postintubation. *Chest Surg Clin N Am*, 1996, 6(4): 725-731.

¹⁴ Academy of Surgical Research. Course of Animal Anesthesia and Models. Memories of the Course of Animal Anesthesia and Models of the 12th Annual Meeting and 1st International Conference of the Academy of Surgical Research; October 1996: Muenster, Germany. Academy of Surgical Research, 1996.

⁷ Reza R., Stanley M. S. and Gerald B. H. Mitomycin: Effects on Laryngeal and Tracheal Stenosis, Benefits and Complications. *Ann Otol Laryngol*. 2001; 110: 1-6.

⁸ Soda M. A., Delgado A., Morales J. Manejo quirúrgico de las estenosis traqueales. *Gaceta Médica de México*. 1994; 130: 386-389.

¹⁵ Soda M. A., Delgado F. A., Fernández E. J., Gánem M. J. y Borgstein V. J. Estenosis laringotraqueales: Experiencia en el Instituto Nacional de enfermedades Respiratorias. *Anales Sociedad Mexicana Otorrinolaringología*. 1990; 35: 85

¹⁶ Correa A. J., Reinish L., Sanders D. L. and Huang S. Inhibition of subglottic stenosis with mitomycin c in the canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1999; 108: 1053-60.

¹⁷ Krotz-Gomez F., Reyes Marquez R., Díaz L. TGF-B and PDGF-AB expression in fibroblast derived from normal skin, hypertrophic/keloid scar and hypertrophic/keloid scar treated with fiboquel. *Wound Repair and Repair Regeneration*. 1996; 4 (1): A160

¹⁸⁾ Además que, dentro de la literatura especializada, los antecedentes existentes sobre la investigación y el tratamiento, tanto médico como quirúrgico, son en estenosis subglótica y el tratamiento de estenosis a nivel específicamente traqueal prácticamente es nulo. Considerándose a la fecha, que el único tratamiento curativo de la estenosis traqueal es la traqueoplastia, sin embargo, aún en pacientes ideales para este procedimiento existe el riesgo de reestenosis, y lamentablemente un gran porcentaje de los pacientes con estenosis traqueal benigna, están fuera de la posibilidad de tratamiento quirúrgico.

5. Fármacos moduladores del proceso de cicatrización.

5.1 Ácido hialurónico.

El ácido hialurónico que está compuesto por unidades alternantes de ácido D-glucorónico y N-acetil glucosamina, es un componente de la matriz extracelular (MEC) de la herida fetal, el cual, durante la fase temprana de curación de la heridas en los fetos favorece la proliferación, regeneración y reparación tisular disminuyendo la inflamación y la fibrosis ^(19, 20). Estas propiedades de AH tienen implicaciones clínicas ya que puede ser posible modular la curación de las heridas

¹⁸ Livingstone G. L. and Schild J. A. Iatrogenic agents as therapy for subglottic stenosis a pilot study. *Otolaryngology Head Neck Surg.* 1987; 97: 446-51.

¹⁹ Longaker MT, Harrison MR, Crombleholme TM, et al: Studies in Fetal Wound Healing: I. A Factor in Fetal Serum that Stimulates Deposition of Hialuronic Acid. *J Pediatr Surg.* 1989; 24(8): 789-792.

²⁰ Olmos-Zúñiga JR, Santos-Cordero JA, Jasso-Victoria R, Sortrés -Vega A, Gaxiola-Gaxiola M, Mora-Fol JR, Franco-Oropeza A y Santillán-Doherty P. Efecto Del Ácido Hialurónico Sobre La Cicatrización Traqueal En Un Modelo Experimental Canino. *Acta Otorrinolaringológica Española.* 2004; 55: 81-87.

en niños y adultos para hacerla lo más parecida a la curación fetal, mediante la aplicación del AH en forma exógena ⁽²¹⁾.

Clínicamente el AH se ha utilizado con buenos resultados en reumatología para la disminución de procesos fibróticos en el tratamiento de la osteocondritis de rodilla ^(22, 23), en otorrinolaringología para favorecer la regeneración de las heridas de la mucosa nasal después de cirugía ⁽²⁴⁾, en ginecología se estudia su aplicación para prevenir la formación de adherencias intrabdominales posquirúrgicas ⁽²⁵⁾ y en cirugía plástica, así como en dermatología, se utiliza como expansor tisular en la piel ^(26, 27), en urología actualmente se usa en el tratamiento de la cistitis intersticial refractaria ⁽²⁸⁾.

Experimentalmente en oftalmología se está investigando el uso de AH como sustituto vítreo ⁽²⁹⁾, en urología se está experimentando su uso en la regeneración

²¹ Longaker MT, Whitby DJ, Adzick NS, et al: Studies in Fetal Wound Healing: VI. Second and Early Third Trimester Fetal Wound Demonstrate Rapid Collagen Deposition without Scar Formation. *J Pediatr Surg.* 1990; 25(1): 63-69.

²² Simon LS: Viscosupplementation Therapy with Intra-articular Hyaluronic Acid. Fact or Fantasy? *Reumatic Diseases Clinics of North America.* 1999; 25(2): 345-357.

²³ Wen DY: Intra-articular Hyaluronic Acid Injection for Knee Osteoarthritis. *American Family Physician.* 2000; 62(3): 565-570.

²⁴ Soldati D, Rahm F, Pasche P: Mucosal Wound Healing After Nasal Surgery. A Controlled Clinical Trial on the Efficacy of Hyaluronic Acid Containing Cream. *Drug under Experimental and Clinical Research.* 1999; 25(6): 253-261.

²⁵ Sawada T, Hasegawa K, Tsukada K, et al: Adhesion Preventive Effect of Hyaluronic Acid after Intraperitoneal Surgery in Mice. *Human Reproduction.* 1999; 14(6): 1470-1472.

²⁶ Duranti F, Salti G, Bovani B, et al: Injectable Hyaluronic Acid Gel for Soft Tissue Augmentation. A Clinical and Histological Study. *Dermatologic Surgery.* 1998; 24(12): 1317-1325.

²⁷ Italiano G, Abatangelo G Jr, Calabro A, et al: Guiding Spontaneous Tissue Regeneration for Urethral Reconstruction: Long-term Studies in the Rabbit. *Urological Research.* 1998; 26(4): 281-284.

²⁸ Porru D, Campus G, Tudino D, et al: Result of Treatment of Refractory Interstitial Cystitis with Intravesical Hyaluronic Acid. *Urologia Internationalis* 1997; 59(1):26-29.

²⁹ Nakagawa M, Tanaka M, Miyata T: Evaluation of Collagen Gel and Hyaluronic Acid as Vitreous Substitutes. *Ophthalmic Research.* 1997; 29(6):409-420.

citocelular de la reconstrucción uretral ^(25, 30) y en el tratamiento endoscópico del reflujo vésico-ureteral en el niño ⁽³¹⁾. También se ha utilizado para mejorar la cicatrización intestinal ⁽³²⁾, en el mecanismo de cicatrización del esófago con quemaduras por cáustico en ratas ⁽³³⁾ y en la anastomosis de uretra ⁽³⁴⁾. En otorrinolaringología se investiga su uso como bioimplante para la mucosa de las cuerdas vocales ⁽³⁵⁾.

5.2 Colágeno polivinil-pirrolidona.

La colágena polivinil-pirrolidona es un biomaterial formado por una mezcla de colágena porcina del tipo I irradiada con rayos gamma y polivinil-pirrolidona (CPVP) ^(36, 37, 38, 39), que ha mostrado actividad fibrinolítica al inhibir la expresión de

²⁵ Sawada T, Hasegawa K, Tsukada K, et al: Adhesion Preventive Effect of Hyaluronic Acid after Intraperitoneal Surgery in Mice. *Human Reproduction*. 1999; 14(6): 1470-1472.

³⁰ Italiano G, Abatangelo G Jr, Calabro A, et al: Reconstructive Surgery of the Urethra: A Pilot Study in the Rabbit on the Use of Hyaluronan Benzyl Ester (Hyaff-11) Biodegradable Grafts. *Urological Research*. 1997; 25(2): 137-142.

³¹ Lackgren G, Wahlin N, Stenberg A: Endoscopic Treatment of Children with Vesico-ureteric Reflux. *Acta Pediátrica Suppl* 1999; 88(431): 62-67.

³² De la Cruz YH: Efecto del Ácido Hialurónico Sobre el Mecanismo de Cicatrización del Intestino. Estudio Experimental. (Tesis de Especialidad). México, D.F.: Facultad de Medicina. UNAM. 1993

³³ Quiroz GJ: Efecto del Ácido Hialurónico Sobre el Mecanismo de Cicatrización del Esófago con Quemadura por Cáustico. Un estudio Experimental. (Tesis de Especialidad). México, D. F.: Facultad de Medicina. UNAM. 1996.

³⁴ Hernández AG: Efectos del Ácido Hialurónico Sobre el Mecanismo de Cicatrización en la Anastomosis de Uretra. Un estudio Experimental. (Tesis de Especialidad). México, D. F.: Facultad de Medicina. U.N.A.M. 2000.

³⁵ Chan RW, Titze IR: Hyaluronic Acid (With Fibronectin) as a Bioimplante for the Vocal Fold Mucosa. *Laryngoscope* 1997; 109: 1942-1949).

³⁶ Chimal J., Bravo T., Krotz F. and Díaz L. Implantes de fibroquel aceleran la formación de hueso nuevo en defectos óseos inducidos experimentalmente en cráneos de rata: un estudio histológico. *Rev. Biomed* 1997; 8: 81-88.

³⁷ Chimal J., Lira M., De la Cruz et al. Healing of fractures rat femoral bones enhanced by fibroquel. A radiological, histological and histochemistry study. *Wound Repair and Regeneration*. 1996; 4(1): A147.

³⁸ Doolin E., Tsumo K., Strande M. and Santos M. Pharmacologic inhibition of Collagen in an experimental model of subglottic stenosis. *Ann Otol Rhinol Laringol*. 1998, 107:275-78.

³⁹ Krotz Gómez Fernando Edgar. Modulación del metabolismo celular por colágena-pvp (Tesis doctoral). México, D.F., CCH, 1999.

moléculas de ELAM-1, VCAM-1, TGF- β y PDGF-AB, por lo que actúa como remodelador de procesos fibrosos^(40, 41). Este fármaco se ha utilizado con éxito en dermatología y cirugía plástica para el tratamiento de las cicatrices queloides e hipertróficas, en fibrosis dérmicas y de tendones, produciendo disminución del volumen de la cicatriz, desaparición del infiltrado inflamatorio y restablecimiento de la arquitectura dérmica normal de las cicatrices tratadas con ésta^(42, 43).

Debido a que el AH y la CPVP han probado ser buenos remodeladores de la cicatrización tanto experimental como clínicamente, se puede pensar que una área nueva para su utilización sería probar si su aplicación después de una traqueoplastia, modula el proceso de cicatrización traqueal y previene las estenosis traqueales posquirúrgicas.

⁴⁰ Furuzawa C.J., Kröttsch G.F., Reyes R. and Díaz L. Inhibition of the Expression of Adhesion Molecules ELAM-1 and VCMA-1 in Human Skin Biopsies from Hypertrophic and Keloid Scar Treated. *Wound Repair and Regeneration* 1996; 4 (1): A137.

⁴¹ Ingrams D., Ashton P., Dhingra J., Shah R. and Shapshay S. Slow-Release 5-Fluorouracil and Triamcinolone reduces Subglottic Stenosis in a Rabbit Model. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2000; 109: 422-24.

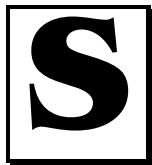
⁴² Charous S.J. Ossof RH, Reinisch L. and Davidson J.M. Canine subglottic stenosis as a model for excessive fibrosis: a pilot immunohistochemical analysis. *Wound Rep. Reg.* 1996; 4:444-53.

⁴³ Darzi M.A., Chowdri N.A., Kaul S.K. and Khan M. Evaluation of various methods of treating keloids and hypertrophic scar: A 10 years follow up study. *British Journal of Plastic Surgery.* 1992; 45:374-79.

II. JUSTIFICACIÓN

La tráquea es un órgano que está expuesto a sufrir patologías congénitas o adquiridas, las cuales tienen como tratamiento de elección la cirugía, sin embargo, ésta frecuentemente se complica con la presencia de estenosis traqueal provocada por el proceso de cicatrización, la cual se podría evitar mediante la modulación de ésta, por lo que en este trabajo se estudió la utilización de AH y/o CPVP para modular la regeneración celular y disminuir la fibrosis y estenosis posquirúrgica, ya que hay evidencias de que éstos modulan la organización de la colágena y evitan la fibrosis de las heridas.

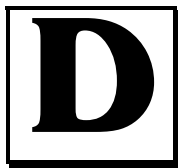
III. HIPÓTESIS.



Si el AH y la CPVP son moduladores de la regeneración celular y disminuyen la formación de cicatrices fibróticas, se puede pensar entonces que la aplicación de éstos sobre la herida quirúrgica de una traqueoplastía, podría disminuir el riesgo de aparición de estenosis cicatrizal posquirúrgica.

IV. OBJETIVOS.

1. Objetivo General.



eterminar el efecto de la aplicación tópica de AH, CPVP y la mezcla de ambos sobre la cicatrización traqueal, después de realizar traqueoplastía en perros.

2. Objetivos Específicos.

2.1 Evaluar la presencia de estenosis postraqueoplastia en perros, tratados con AH, CPVP y la mezcla de ambos mediante aplicación tópica.

2.2 Valorar los cambios macroscópicos y microscópicos producidos por el AH, CPVP y la mezcla de ambos, sobre la cicatriz formada, aplicados tópicamente después de realizar una traqueoplastía en perros.

2.3 Determinar la cantidad de colágena formada en la traquea, postraqueoplastía, en perros tratados tópicamente con AH y CPVP, así como la mezcla de ambos fármacos.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Recursos



El financiamiento de esta investigación fue otorgado por el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT (Proyecto REF: F643).

En este estudio participaron los investigadores y técnicos del Departamento de Investigación en Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, que proporcionaron los quirófanos, equipos de anestesia inhalada, monitores, aparato de rayos X (*Diagnostic X-Ray Unit Super 80 ACOMA X-Ray Industry Co. LTD Tokio Japan*) e instrumental necesario para la realización de los procedimientos quirúrgicos, tratamientos y seguimiento posoperatorios de los animales.

El equipo de endoscopia (*Olympus a 5254*) que se utilizó, fue proporcionado por Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) (Proyecto REF: F643).

También intervino en este estudio el personal del Departamento de Investigación en Morfología del INER, quien procesó las muestras de los tejidos sometidos a estudio. El responsable de la descripción de los hallazgos histopatológicos, fue el patólogo de este departamento Dr. Miguel Gaxiola Gaxiola.

El análisis bioquímico de Woessner lo realizó la Maestra en Ciencias Avelina Sotrés Vega.

Los animales que se utilizaron en este estudio fueron obtenidos de antirrábicos y proporcionados por el bioterio del INER.

2. Animales de experimentación.

Se utilizaron 24 perros mestizos, sanos, sin importar el sexo o la edad, con un peso entre 15 y 18 Kg. Los animales estuvieron confinados en jaulas individuales con espacio suficiente en amplitud y altitud para permitir movimientos y actitud normal de la especie, con comederos y bebederos individuales localizados en la puerta a una altura pertinente del suelo para evitar contaminación con excretas, con disposición de agua y alimento *ad libitum*. Asimismo se encontraban protegidos de condiciones climáticas extremas y siempre estuvieron bajo la supervisión de un Médico Veterinario Zootecnista. Todos los animales fueron tratados de acuerdo a las Especificaciones Técnicas para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana ⁽⁴⁴⁾ y de la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals de los Estados Unidos ⁽⁴⁵⁾.

2.1 Criterios de inclusión.

Se incluyeron perros clínicamente sanos, que no presentaron antecedentes de alguna enfermedad respiratoria desde su llegada al bioterio del INER y antes de que se les realizara el procedimiento quirúrgico.

⁴⁴ Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos. AFÍA 6 dic de 1999.

⁴⁵ Guía Para el Cuidado y Uso de Los Animales de Laboratorio. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health U.S.A. Edición Mexicana Auspiciada por la Academia Nacional de Medicina. México, D.F. 2002.

2.2 Criterios de exclusión.

Los animales con datos clínicamente patológicos durante su estancia en el bioterio del INER y previos al procedimiento quirúrgico o con antecedentes de alguna cirugía de tórax, fueron excluidos del estudio.

2.3 Criterios de eliminación.

Todo animal con signos clínicos de cualquier patología que no fuera provocada por el procedimiento quirúrgico.

2.4 Criterios de Terminación.

Todo animal con signos de dificultad respiratoria severa, por (dehiscencia o necrosis del segmento anastomosado), o cualquier otra patología que produzca signos evidentes de enfermedad fueron objeto de terminación del estudio.

3. Consideraciones Éticas.

El estudio fue conducido de acuerdo con los lineamientos de investigación en animales de laboratorio, (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) de los Estados Unidos y también lo descrito en la Norma Oficial Mexicana NOM- 062-ZOO-1999). Asimismo fue revisado y aprobado por el comité de Bioética y el Comité Científico del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

Los animales estuvieron confinados en jaulas individuales con protección a climas extremos, disposición de agua y alimento *ad libitum*, durante todo el tiempo del estudio, y siempre estuvieron bajo la supervisión de un médico veterinario zootecnista.

Para evitar el dolor de los animales se utilizó dipirona (Metamizol sódico Nondol-Sector Salud) 28 mg/kg IV durante el procedimiento quirúrgico y vía IM durante 3 días posteriores a la cirugía.

Una vez transcurrido el tiempo de estudio, todos los animales fueron sometidos a eutanasia con sobredosis de pentobarbital sódico (Anestosal, Pfizer S. A. de C. V. México)⁽⁴⁴⁾.

4. Grupos de Estudio.

Los animales fueron divididos en 4 grupos de estudio:

Grupo I (n=6): Resección de tres anillos traqueales cervicales y traqueoplastía convencional con aplicación intraluminal de solución cloruro de sodio al 0.9%

Grupo II (n=6): Resección de tres anillos traqueales cervicales y traqueoplastía convencional con aplicación intraluminal de AH

Grupo III (n=6): Resección de tres anillos traqueales cervicales y traqueoplastía convencional con aplicación intraluminal de CPVP.

Grupo IV (n=6): Resección de tres anillos traqueales cervicales y traqueoplastía convencional con aplicación intraluminal de AH y CPVP.

⁴⁴ Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos. AFÍA 6 dic de 1999.

5. Anestesia.

Los animales se prepararon con 24 horas de ayuno para sólidos y 12 horas para líquidos.

Todos los animales fueron premedicados con sulfato de atropina (0.05 mg/Kg) SC (*Atropisa, Pisa, Guadalajara, México*) y se realizó la inducción con hidrocloreuro de xilacina (*Rompun, Bayer*) a dosis de 0.1 mg/Kg. y 6 mg/Kg. de propofol (*Recofol, PISA*) vía intravenosa (IV) mezclados en la misma jeringa. La analgesia fue proveída con dipirona (*Metamizol Sódico-Nondol-Sector Salud*) a dosis de 28 mg/Kg. IV.

Acto seguido se practicó tricotomía y lavado de la región cervical ventral con jabón quirúrgico con límite craneal en la región de la mandíbula y límite caudal con el hueco antero-esternal. Finalmente se realizó la antisepsia de la zona con yodo povidona (*Dermodine Solución, Dermodex S. A. de C. V.*).

Posterior a esto cada animal fue colocado sobre la mesa de cirugía en decúbito dorsal y se intubó con sonda orotraqueal conectando ésta a un ventilador de volumen (*Harvard Apparatus, Boston MA, USA*) con un vaporizador (*Isotec 3 Ohmeda*) y la anestesia se mantuvo con Isoflurano al 1.5%. Todos los animales se ventilaron con un volumen corriente de 10 ml/Kg, una fracción inspirada de oxígeno (FiO_2) de 100% y 20 respiraciones por minuto, durante todo el procedimiento quirúrgico su frecuencia cardiaca se vigiló con un monitor para electrocardiografía (*Datascope Passport*). **(Fotografía 2)**

6. Técnica quirúrgica.

Se realizó una incisión media en la región cervical ventral, se disecó el tejido subcutáneo y platisma hasta llegar a los músculos infrahioideos (esternohioideo y esternotirohioideo) los cuales se separaron en la línea alba hasta llegar a la tráquea, ésta se disecó en toda su circunferencia y se resecaron tres anillos traqueales (**Fotografías 3 y 4**), finalmente se llevó a cabo la anastomosis término terminal con material absorbible (polidioxanona) 3 ceros (*PDS, Ethicon, New Jersey, USA*) con puntos separados (**Fotografía 5**). Terminada la traqueoplastia se cerraron los planos musculares sin dejar drenaje utilizando material de sutura absorbible de 2 ceros (*PDS, Ethicon, New Jersey, USA*), finalmente se suturó la piel con PDS de 2 ceros (*PDS, Ethicon, New Jersey, USA*). En el postoperatorio inmediato, a todos los animales, se les aplicó metamizol a dosis de 28 mg/Kg como analgésico cada 8 horas durante los primeros 3 días postcirugía, así como antibioterapia a base de penicilina procaínica (22,000 UI/Kg., IM) más 500 mg de sulfato de estreptomicina IM durante 7 días.

Cada uno de los anillos resecados se uso como control para la realización de los estudios de histología y determinación de hidroxiprolina.

7.- Tratamiento.

En todos los grupos el tratamiento se aplicó inmediatamente después de la cirugía y cada tres días durante 4 semanas que fue el tiempo de duración del estudio representando un total de ocho aplicaciones. Para la aplicación del tratamiento todos los animales se sometieron a anestesia general con propofol y xilacina), se les introdujo un Telescopio operatorio rígido 0º y 10 mm de diámetro (*Olympus A 5254 Germany*) en la tráquea y mediante una sonda orogástrica se

les instiló el fármaco sobre la anastomosis realizada (**Fotografía 6**). En los animales del grupo I se instilaron 3 mililitros de solución cloruro de sodio al 0.9%. En el grupo II se instilaron 15 microgramos de AH (*Hyaluronic acid Potassium SALT, Fluka Laboratory Chemicals, Kiedel-de Haën*) diluidos en 3 mililitros de agua destilada (dosis usada para evitar adherencias intrabdominales y estenosis uretrales e intestinales) ⁽²⁰⁾. Los animales del grupo III recibieron 2.5 miligramos de CPVP (*Fibroquel, Aspid S. A. de C. V. México D. F.*) (dosis utilizada para los problemas de piel y tendones) diluidos en 3 mililitros de agua destilada ⁽⁴⁶⁾. Mientras que en los animales del grupo IV se instiló una mezcla de ácido hialurónico y colágeno polivinil pirrolidona a la dosis antes mencionada.

8. Evaluación.

8.1 Clínica.

Se realizó evaluación clínica diaria durante la primera semana posquirúrgica y cada tres días, durante las 3 semanas restantes del estudio. En ésta se evaluó el grado de disnea de acuerdo a una escala modificada a la utilizada por la Medical Research Council ⁽⁴⁷⁾, la cual se basa en la severidad de ésta: 0 = sin dificultad para respirar después de correr, 1 = dificultad para respirar después de correr, 2 = dificultad para respirar en reposo.

²⁰ Olmos-Zúñiga JR, Santos-Cordero JA, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Gaxiola-Gaxiola M, Mora-Fol JR, Franco-Oropeza A y Santillan-Doherty P. Efecto Del Ácido Hialurónico Sobre La Cicatrización Traqueal En Un Modelo Experimental Canino. *Acta Otorrinolaringológica Española*. 2004; 55: 81-87.

⁴⁶ Loyola-García U. Respuesta Terapéutica A La Colágeno-Polivinil Pirrolidona En Un Modelo Experimental De Estenosis Traqueal Canino. (Tesis de Especialidad). México, D. F.: Facultad de Medicina. UNAM. 2002.

⁴⁷ American Thoracic Society. Task Group on Screening For Respiratory Disease in Occupational Settings. *Am Rev Respir Dis*. 1982, 126: 952-56.

La evaluación clínica consistió en realizar observación de cada animal dentro de su jaula, toma de temperatura, valoración de la coloración de mucosa oral, auscultación de la cavidad torácica para evaluar la frecuencia respiratoria, ruidos respiratorios, y frecuencia cardiaca. Así como también se evaluó la presencia de infección y sangrado de la herida quirúrgica.

El grado de disnea fue evaluado primero observando a los animales en reposo dentro de su jaula y posteriormente se les hizo correr 20 metros. Inmediatamente después se observó si los animales presentaban dificultad para respirar, vigilando la frecuencia cardiaca y respiratoria, escuchando los ruidos respiratorios, estridor al ladrido, así como si presentaban respiración torácica o abdominal, y la coloración de la mucosa oral.

8.2 Radiológica.

Se tomaron placas de rayos X laterales de cuello prequirúrgicas y posquirúrgicas, al tercer día postcirugía y posteriormente cada semana durante tres semanas y en éstas se evaluó el estado de la traqueoplastia y el porcentaje de estenosis, tomando como referencia el diámetro ventro-dorsal de la tráquea antes de ser operada. El grado de estenosis se midió con una regla estándar tomando el diámetro total de la tráquea y el diámetro de la zona de menor luz traqueal. Se midió en milímetros pero se reportó en porcentaje (%) de estenosis.

8.3 Endoscópica.

Se realizó evaluación visual directa de la tráquea mediante traqueoscopia antes de la cirugía y posterior a ésta cada tres días para la instilación del tratamiento, durante cuatro semanas y se valoró el estado de la anastomosis, así como la posible presencia de estenosis. Los procedimientos se videograbaron con

una videocassetra VHS. La presencia de estenosis se evaluó de acuerdo a la escala descrita por Cotton: Grado I = sin obstrucción de la luz hasta un 50% de obstrucción, Grado II = de un 51% de obstrucción de la luz hasta 70%, Grado III = de 71% hasta 99%, Grado IV = luz traqueal no detectable (**Tabla 1**)⁽⁴⁸⁾.

8.4 Macroscópica.

Una vez transcurridas 4 semanas postcirugía, los animales fueron sometidos a eutanasia con sobredosis de pentobarbital sódico (*AnestesaI, Pfizer S. A de C. V. México*)⁽⁴⁴⁾ y se realizó evaluación macroscópica y microscópica de la anastomosis.

Macroscópicamente se revisó el estado de la anastomosis, la cicatrización extraluminal, la presencia de dehiscencia, infección, así como la formación de fístulas. Para evaluar el estado de la mucosa, el lumen y la cicatriz de la tráquea, se retiró el segmento anastomosado y se incidió por la parte membranosa de la tráquea para evaluar la estenosis y tipo de cicatriz formada.

8.5 Microscópica.

Para la evaluación microscópica se tomaron muestras de los sitios de anastomosis y se fijaron en formaldehído al 10%, se incluyeron en parafina, se les realizaron cortes de 4 μ y se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricrómica de Masson para determinar la presencia de vasos de neoformación, inflamación o fibrosis.

⁴⁸ Cotton RT, Connor DM, Myer CM: Proposed Grading System For Subglottic Stenosis Based On Endotracheal Tube Sizes. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1994; 108: 319-323.

⁴⁴ Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos. AFÍA 6 dic de 1999.

8.6 Análisis Bioquímico de Woessner.

En la evaluación bioquímica se determinó la concentración de hidroxiprolina por gramo de tejido traqueal. La determinación se realizó por el método de Woessner en dos muestras de la misma muestra traqueal, la primera de ellas se tomó inmediatamente después de la traqueoplastía, la segunda muestra se tomó cuando finalizó el estudio. Las muestras se colocaron cada una dentro de un vial que se pesó previamente, inmediatamente después de colocar la muestra se obtuvo el peso “mojado” y posteriormente se mantuvo en una estufa a 80°C hasta que se deshidrató y se pudo obtener el peso “seco” de cada muestra.

Obtenido el peso “seco”, las muestras se hidrolizaron con ácido clorhídrico 6N (*J. T. Baker*) durante 36 horas. Transcurrido este tiempo, estas se filtraron y se colocaron en una evaporadora hasta eliminar el exceso de ácido clorhídrico. El residuo obtenido, se estandarizó a pH de 7.0 y se aforó a un volumen de 10 ml con agua destilada, de esta última dilución, se tomó una alícuota de volumen variable de acuerdo con cada una de las muestras y se determinó la concentración de hidroxiprolina presente en la muestra.

Para realizar la determinación de hidroxiprolina, se preparó una curva estándar que contenía 1 mg de hidroxiprolina/1 ml de agua (*SIGMA, Co*), se ajustó para la preparación de los estándares de hidroxiprolina en concentraciones de 200, 400, 600, 800 y 1000 μ l de hidroxiprolina y se incluyó un blanco que contenía agua destilada. Posteriormente, en todos los tubos se adicionó: 1 ml de cloramina T (*SIGMA, Co*) 0.05M disuelta en metilcelosolve (*SIGMA, Co*), agua y amortiguador de fosfatos pH 6.0, 1 ml de ácido perclórico 3.0N (*J. T. Baker*), 1 ml de solución de paradimetilaminobenzaldehído (*SIGMA Co*) al 20% en metilcelosolve. El ensayo se incubó durante 20 minutos a 60° C y concluido el

tiempo de incubación, se obtuvo la absorbancia de cada muestra, para esto se utilizó un espectrofotómetro (*DU 640, Beckman*) ajustado a una longitud de onda de 560 nm⁽⁴⁹⁾.

⁴⁹ Wossner, J.F. 1961. The Determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this iminoacid. *Arch. Biochem. Biophys.* 93:440-447

VI. ANÁLISIS DE DATOS.

E

l análisis estadístico del grado de disnea, estenosis, inflamación, fibrosis y la determinación de colágena se realizó mediante las pruebas de ANDEVA, Tukey/Kramer y Kruskal-Wallis. Los valores de $p < 0.05$ se consideraron como significativos.

VII. RESULTADOS.

1. Clínicos.



odos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico y al tiempo de estudio establecido. Ningún animal de los cuatro grupos de estudio mostró algún signo clínico que amenazaría su vida, sus constantes fisiológicas (temperatura, frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria) se encontraron dentro de los parámetros de referencia. No se observó dificultad respiratoria en ningún animal (**Tabla 2**). En 3 (50%) de los animales del grupo I se mostraron estridor al ladrido, sin que éste afectara su ventilación, mientras que en los grupos II, III y IV ningún animal (0%) lo presentó.

La revisión de la herida quirúrgica mostró inflamación y dolor leve durante la primera semana posquirúrgica en todos los grupos. En ningún animal se presentó sangrado postoperatorio ni dehiscencia de herida quirúrgica. La herida quirúrgica en los cuatro grupos se encontró bien cicatrizada a las 2 semanas postcirugía.

2. Radiológicos.

Radiográficamente las placas laterales de cuello, tomadas a la segunda semana de la traqueoplastía, en el 50% (n = 3) de los animales del grupo I; presentaron estenosis de la luz del 50% durante todo el tiempo de estudio (**Fotografía 7**). Mientras que en el 33.3 % (n = 2) de los animales del grupo II se presentaron estenosis del 50% de la luz, sin embargo en un animal, desapareció a la segunda semana postcirugía (**Fotografía 8**) y solo un animal de este grupo

(16.6%) presentó estenosis del 50% todo el tiempo de estudio. Los 6 animales del grupo III 100% (n = 6) presentaron estenosis menor o igual al 20% (**Fotografía 9**). El Grupo IV 5 animales 83.33% (n = 5) presentaron estenosis menor al 20% y un animal 16.6% (n = 1) tuvo 0% de estenosis (**Gráfica 1**).

3. Endoscópicos.

En los animales del grupo I, durante la primera y segunda semana se presentó estenosis del 50% (Grado I) en el 33.3% (n = 2) de los perros y en la tercera semana en el 50% (n = 3) de ellos, la cual se mantuvo hasta el final del estudio (**Fotografía 10**). También en este grupo, el 100% de los animales presentaron cicatrización de la traqueoplastia a los 7 días. La mucosa traqueal en este grupo se encontró edematosa e hiperémica en todos los animales operados durante las 2 primeras semanas del estudio. En un animal de este grupo, la hiperemia y el edema se mantuvieron hasta el final del estudio.

En el grupo II, el 83.3% de los animales presentó evolución endoscópica satisfactoria (**Fotografía 11**) y solo un perro (16.7%) presentó estenosis grado I de acuerdo con la escala de Cotton ⁽⁴⁸⁾, con reducción de la luz traqueal del 50%. Con respecto al estado de la anastomosis, el 100% de los animales presentaron desarrollo de tejido cicatrizal sobre ambos bordes de la traqueoplastia a los 7 días después de haber realizado la cirugía. Durante los primeros 5 días, la mucosa traqueal se mostró hiperémica y edematosa, pero estos signos ya no fueron aparentes en la segunda semana postcirugía. Asimismo, durante la traqueoscopia se pudo observar que la estenosis del animal del grupo II era laxa y permitió el

⁴⁸ Cotton RT, Connor DM, Myer CM: Proposed Grading System For Subglottic Stenosis Based On Endotracheal Tube Sizes. Ann Otol Rhinol Laryngol 1994; 108: 319-323.

paso del endoscopio sin dificultad, no así en las estenosis del grupo control, las cuales fueron fuertes, difíciles de vencer y sangraron al paso del endoscopio.

El 100% (n = 6) de los animales del grupo III, mostraron buena evolución endoscópica y estenosis grado I, ningún animal (0%) presentó obstrucción de la luz traqueal, todas las anastomosis desarrollaron tejido cicatrizal sobre ambos bordes de la traqueoplastía a los 7 días después de haber realizado la cirugía. Durante los primeros 5 días, la mucosa traqueal se mostró hiperémica y edematosa, pero estos signos ya no fueron aparentes en la segunda semana postcirugía (**Fotografía 12**).

En el grupo IV el 100% de los animales (n = 6) también mostraron evolución traqueoscópica satisfactoria y ninguno mostró obstrucción de la luz traqueal, presentando estenosis Grado I, todas las anastomosis desarrollaron tejido cicatrizal sobre ambos bordes de la traqueoplastía a los 7 días después de haber realizado la cirugía. En los primeros 3 días, la mucosa traqueal únicamente se mostró hiperémica y estos signos ya no fueron aparentes al sexto día postcirugía.

Al comparar la evaluación radiológica con la endoscópica, se observó que independientemente de la técnica utilizada para evaluar la estenosis traqueal, al comparar la aplicación de solución salina fisiológica vs. AH, CPVP y AH + CPVP estadísticamente se encontró, que las tráqueas a las que se les aplicó SSF presentaron mayor porcentaje de estenosis con reducción de la luz traqueal ($p < 0.05$).

4. Macroscópicos.

Cuando los animales fueron sometidos a eutanasia, a la evaluación macroscópica ningún grupo presentó evidencia alguna de dehiscencia, infección o fístulas (**Fotografías 13, 14, 15, 16 y 17**). En los cuatro grupos, la anastomosis estaba bien sellada y en el 100% de los animales del grupo I se observó presencia de abundante tejido fibroso de consistencia firme. En los grupos II y III, en todos los perros se apreció desarrollo de tejido fibroso moderado de consistencia laxa así como la presencia de aparentes vasos de neoformación a nivel de la anastomosis, tanto sobre el cartílago como sobre la mucosa traqueal. En el grupo IV también se observó desarrollo de tejido fibroso moderado pero de consistencia firme, además mostraron vasos de neoformación tanto en la mucosa como en el cartílago del segmento traqueal anastomosado.

5. Microscópicos.

En la evaluación histológica de los animales del grupo I en todos los casos (100%) se observó fibrosis, caracterizada por la formación de nuevas fibras de colágena gruesas y desordenadas, 2 de estos animales (33.3%) presentaron inflamación leve en la lamina propia. Los otros 4 animales (66.6%) en todas las capas de la tráquea, mostraron inflamación severa a base de linfocitos, con presencia de células gigantes a cuerpo extraño en la zona de las suturas (**Fotografía 19**), además, 2 de estos animales (33.3%) mostraron hemorragia en la lámina propia.

En los animales del grupo tratado con AH (grupo II), 4 perros (66.6%) mostraron desarrollo de nuevas fibras de colágena densa, delgada y bien organizada, así como fibras elásticas, también estos animales presentaron

reacción inflamatoria leve en la submucosa serosa y lámina propia de la tráquea (**Fotografía 20**), en 2 de éstos sujetos de estudio (33.3%) se observó hemorragia en el epitelio y lámina propia. En un animal de este grupo (16.6%), se presentó reacción inflamatoria intensa a base de linfocitos en todas las capas de la tráquea, con reacción granulomatosa al material de sutura, con formación de fibras de colágena gruesas y desordenadas.

Los estudios histológicos de los 6 animales (100%) del grupo III (CPVP) mostraron depósitos de nuevas fibras de colágena delgadas y bien organizadas, vasos de neoformación y hemorragia de la serosa, el 33% de estos animales (n = 2) desarrolló una reacción inflamatoria leve a base de linfocitos en la lamina propia, además 1 perro (16.6%) mostró fibrosis en la serosa (**Fotografía 21**).

En los animales del grupo IV, en el 100% (n = 6), también se observó el desarrollo de fibras de colágena bien organizadas, delgadas y fibras elásticas con poco desarrollo de vasos de neoformación. En cuatro animales (66.66%) todas las capas de la tráquea mostraron abundante inflamación con infiltrado de linfocitos.

6. Bioquímica de Woessner.

Al realizar la cuantificación de la concentración de miligramos de colágena por gramo de tejido traqueal, ésta se redujo significativamente en el 52% en el grupo tratado con ácido hialurónico más colágeno polivinil pirrolidona, (grupo IV) (ANOVA $p < 0.5$, procedimiento Tukey/Kramer $p < 0.01\%$) en comparación con el grupo control (solución salina fisiológica) al finalizar el tiempo de estudio, con un promedio de 176 ± 37.96 mg de colágena por gramo de tejido. Así mismo, este grupo mostró una reducción significativa en un 42% en comparación con el grupo

tratado con ácido hialurónico (grupo II) con un promedio de 302.86 ± 30.77 mg de colágena por gramo de tejido y un 40% en el grupo tratado con colágeno polivinil pirilidona, (grupo III) 295.21 ± 58.71 mg de colágena por gramo de tejido respectivamente al concluir el estudio. (ANOVA $p < 0.05$, procedimiento Tukey/Kramer $p < 0.05\%$). **(Tabla 3), (Grafica 2)**.

VIII. DISCUSIÓN.

Para quien ejerce la cirugía, el manejo de las estenosis traqueales es uno de los problemas más difíciles de resolver, debido a que la formación de cicatriz y reestenosis son las fallas principales en el manejo quirúrgico ^(50, 51).

En la cicatrización de la tráquea, el tejido de granulación juega un papel importante, ya que puede producir una cicatriz extensa y fibrosis, por lo que la modulación del proceso de cicatrización de la herida para prevenir la formación de una cicatrización excesiva, puede ayudar para cuando se presentan lesiones traqueales.

El ácido hialurónico y la colágeno polivinil-pirrolidona son moduladores de la cicatrización y se han utilizado con éxito en reumatología ^(22, 23), otorrinolaringología ⁽²⁴⁾, ginecología ⁽²⁵⁾, cirugía plástica y dermatología ^(26, 27). Sin embargo, hasta ahora

⁵⁰ Eliashar R., Eliachar I., Esclamado R., Gramlich T. and Strome M. Can Topical Mitomycin Prevent Laryngotracheal Stenosis?. *Laryngoscope*. 1999; 109: 1594-1600.

⁵¹ Adolph VR, DiSanto SK, Bleacher JC, et al: The Potential Role of the Lymphocyte in Fetal Wound Healing. *J. Pediatric Surg*. 1993; 28(10): 1316-1620.

²² Simon LS: Viscosupplementation Therapy with Intra-articular Hyaluronic Acid. Fact or Fantasy? *Reumatic Diseases Clinics of North America*. 1999; 25(2): 345-357.

²³ Wen DY: Intra-articular Hyaluronic Acid Injection for Knee Osteoarthritis. *American Family Physician*. 2000; 62(3): 565-570.

²⁴ Soldati D, Rahm F, Pasche P: Mucosal Wound Healing After Nasal Surgery. A Controlled Clinical Trial on the Efficacy of Hyaluronic Acid Containing Cream. *Drug under Experimental and Clinical Research*. 1999; 25(6): 253-261.

²⁵ Sawada T, Hasegawa K, Tsukada K, et al: Adhesion Preventive Effect of Hyaluronic Acid after Intraperitoneal Surgery in Mice. *Human Reproduction*. 1999; 14(6): 1470-1472.

²⁶ Duranti F, Salti G, Bovani B, et al: Injectable Hyaluronic Acid Gel for Soft Tissue Augmentation. A Clinical and Histological Study. *Dermatologic Surgery*. 1998; 24(12): 1317-1325.

²⁷ Italiano G, Abatangelo G Jr, Calabro A, et al: Guiding Spontaneous Tissue Regeneration for Urethral Reconstruction: Long-term Studies in the Rabbit. *Urological Research*. 1998; 26(4): 281-284.

no se tiene conocimiento de la existencia de reportes en la literatura, en los que se evalúen los cambios en la cicatrización de la tráquea después de la aplicación de alguno de estos medicamentos. En este trabajo se describe el efecto de la aplicación de ácido hialurónico y colágeno polivinil-pirrolidona sobre la cicatrización traqueal, después de realizar una traqueoplastia en perros.

Los hallazgos clínicos, radiográficos y endoscópicos, de todos los animales de experimentación incluidos en este estudio, mostraron que en todos los casos se presentó cicatrización traqueal, sin embargo, la cicatrización observada con la traqueoscopia en los animales de los grupos II, III y IV desde la primer semana no mostró signos de inflamación a diferencia de la del grupo control, por lo que se puede pensar que la respuesta inflamatoria de las heridas traqueales disminuye en presencia de AH y CPVP, debido a que éstos favorecen la proliferación de células que producen un infiltrado inflamatorio monocelular, el cual disminuye el proceso inflamatorio agudo, local y periférico ^(51, 21).

Los hallazgos macroscópicos de este estudio, coinciden con los reportados por otros autores ^(34, 52) y sugieren que el desarrollo de cicatrices menos fibróticas y laxas formadas en los animales del grupo II y III, se produjeron porque ambos fármacos durante la inflamación del proceso de cicatrización disminuyen la

⁵¹ Adolph VR, DiSanto SK, Bleacher JC, et al: The Potential Role of the Lymphocyte in Fetal Wound Healing. *J. Pediatric Surg.* 1993; 28(10): 1316-1620.

²¹ Longaker MT, Whitby DJ, Adzick NS, et al: Studies in Fetal Wound Healing: VI. Second and Early Third Trimester Fetal Wound Demonstrate Rapid Collagen Deposition without Scar Formation. *J Pediatr Surg.* 1990; 25(1): 63-69.

³⁴ Hernández AG: Efectos del Ácido Hialurónico Sobre el Mecanismo de Cicatrización en la Anastomosis de Uretra. Un estudio Experimental. (Tesis de Especialidad). México, D. F.: Facultad de Medicina. U.N.A.M. 2000.

⁵² Krupala, J.L., Gianoli G.J. and Smith R.A. The Efficacy of Hyaluronic Acid Foam As a Middle Ear Packing Agent In Experimental Tympanoplasty. *The American Journal Of Otology.* 1998; 19: 546-50.

producción de colágena y restablecen la arquitectura normal del tejido traqueal ^(21, 53).

En la histología, la inflamación severa con presencia de linfocitos en los animales del grupo I mostró que existe proceso de inflamación crónica a diferencia de los animales del grupo de AH y CPVP en donde éstos no se presentaron. Estos hallazgos coinciden con los de otros autores que mencionan que en presencia de éstos se disminuye la inflamación. ^(52, 54).

Las células gigantes a cuerpo extraño que se observaron en la zona de las suturas de un animal del grupo I, es una respuesta de inflamación crónica granulomatosa, al material de sutura que provocó la fusión de los macrófagos que fueron a digerirlo y por eso se formaron las células gigantes a cuerpo extraño ⁽⁵⁵⁾.

Con respecto al desarrollo de fibras de colágena bien organizadas en los animales de los grupos II, III, y IV sugiere que éstos ordenan y adelgazan las fibras de colágena y restablecen la arquitectura normal del tejido traqueal y con esto se evita la formación de fibrosis ⁽²¹⁾. La presencia de inflamación abundante con presencia de linfocitos en el 66.66% (n = 4) de los animales del grupo IV fue a

²¹ Longaker MT, Whitby DJ, Adzick NS, et al: Studies in Fetal Wound Healing: VI. Second and Early Third Trimester Fetal Wound Demonstrate Rapid Collagen Deposition without Scar Formation. *J Pediatr Surg.* 1990; 25(1): 63-69.

⁵³ Broker B.J. and Reiter D. Fetal Wound Healing. *Otolaryngology Head and Neck Surg.* 1994; 110(6): 547-49.

⁵² Krupala, J.L., Gianoli G.J. and Smith R.A. The Efficacy of Hyaluronic Acid Foam As A Middle Ear Packing Agent In Experimental Tympanoplasty. *The American Journal Of Otology.* 1998; 19: 546-50.

⁵⁴ Mast, B.A., Diegelman, R.F. Krummel T.M. and Cohen I.K. Scarless Wound Healing In The Mammalian Fetus. *Surg Gynecol Obstet.* 1992; 174:441-51.

⁵⁵ Peacock E.E.: Control of wound healing and scar formation in surgical patients. *Arch Surg.* 1981; 116: 1325-29.

²¹ Longaker MT, Whitby DJ, Adzick NS, et al: Studies in Fetal Wound Healing: VI. Second and Early Third Trimester Fetal Wound Demonstrate Rapid Collagen Deposition without Scar Formation. *J Pediatr Surg.* 1990; 25(1): 63-69.

un proceso de inflamación crónica en la que se presentan los linfocitos por motivos desconocidos, sin embargo siempre terminó en la formación de tejido cicatrizal.

La evaluación bioquímica presentó diferencia estadística en la cuantificación de la cantidad de colágena desarrollada por mg de tejido entre los grupos tratados con los fármacos, lo que indica que el tratamiento con AH y CPVP disminuye la formación de colágena ^(21, 53) en comparación cuando no se aplica ningún tratamiento. Estos hallazgos coinciden con los de otros estudios que describen el uso de AH y CPVP en la cicatrización de diferentes tejidos ^(18, 20, 23, 34, 52, 56, 57).

De acuerdo a lo descrito, se puede concluir que tanto el ácido hialurónico como la CPVP administrados después de la realización de traqueoplastías en perros, disminuyen la inflamación de las anastomosis y mejora la calidad de la

²¹ Longaker MT, Whitby DJ, Adzick NS, et al: Studies in Fetal Wound Healing: VI. Second and Early Third Trimester Fetal Wound Demonstrate Rapid Collagen Deposition without Scar Formation. *J Pediatr Surg.* 1990; 25(1): 63-69.

⁵³ Broker B.J. and Reiter D. Fetal Wound Healing. *Otolaryngology Head and Neck Surg.* 1994; 110 (6): 547-49.

¹⁸ Livingsstone G.L. and Schild J.A. Iathirogenic agents as therapy for subglottic stenosis a pilot study. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1987; 97:446-51.

²⁰ Olmos-Zuñiga JR, Santos-Cordero JA, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Gaxiola-Gaxiola M, Mora-Fol JR, Franco-Oropeza A y Santillan-Doherty P. Efecto Del Ácido Hialurónico Sobre La Cicatrización Traqueal En Un Modelo Experimental Canino. *Acta Otorrinolaringológica Española.* 2004; 55: 81-87.

²³ Wen DY: Intra-articular Hyaluronic Acid Injection for Knee Osteoarthritis. *American Family Physician.* 2000; 62(3): 565-570.

³⁴ Hernández AG: Efectos del Acido Hialuronico Sobre el Mecanismo de Cicatrización en la Anastomosis de Uretra. Un estudio Experimental. (Tesis de Especialidad). México, D.F.: Facultad de Medicina. U.N.A.M. 2000.

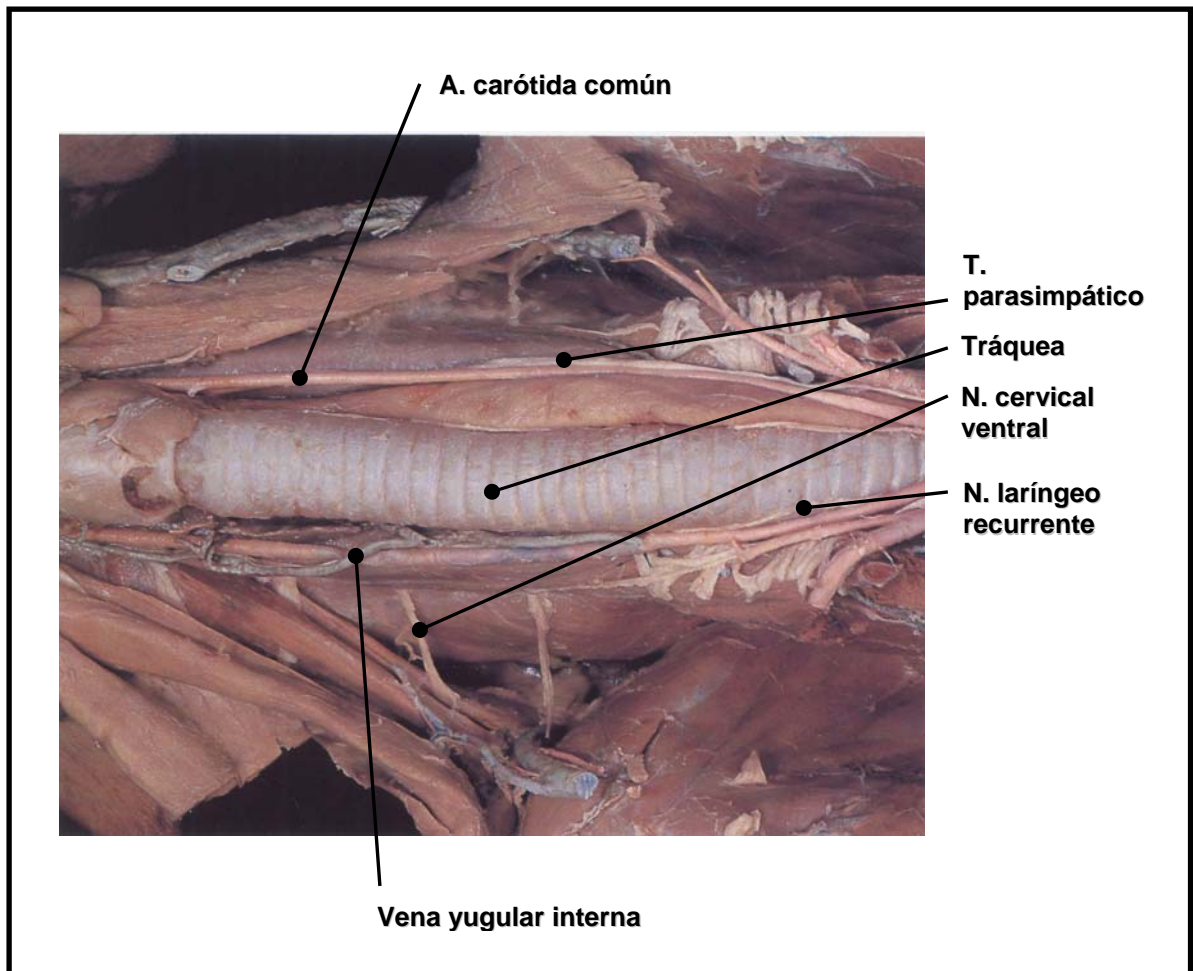
⁵² Krupala, J.L., Gianoli G.J. and Smith R.A. The Efficacy of Hyaluronic Acid Foam As A Middle Ear Packing Agent In Experimental Tympanoplasty. *The American Journal Of Otolaryngology.* 1998; 19: 546-50.

⁵⁶ Vallis C.P. Intralesional Injections Of Keloids And Hypertrophic Scars UIT Dermojet. *Plastic and Reconst Surg.* 1967. 40:255.

⁵⁷ Border W.A. and Ruoslahti E. Transforming growth factor β in diseases: the dark side of tissue repair. *J. Clin Invest.* 1992; 90: 1-7.

cicatrización traqueal controlando la formación de estenosis traqueal postraqueoplastía.

X. FOTOGRAFÍAS.

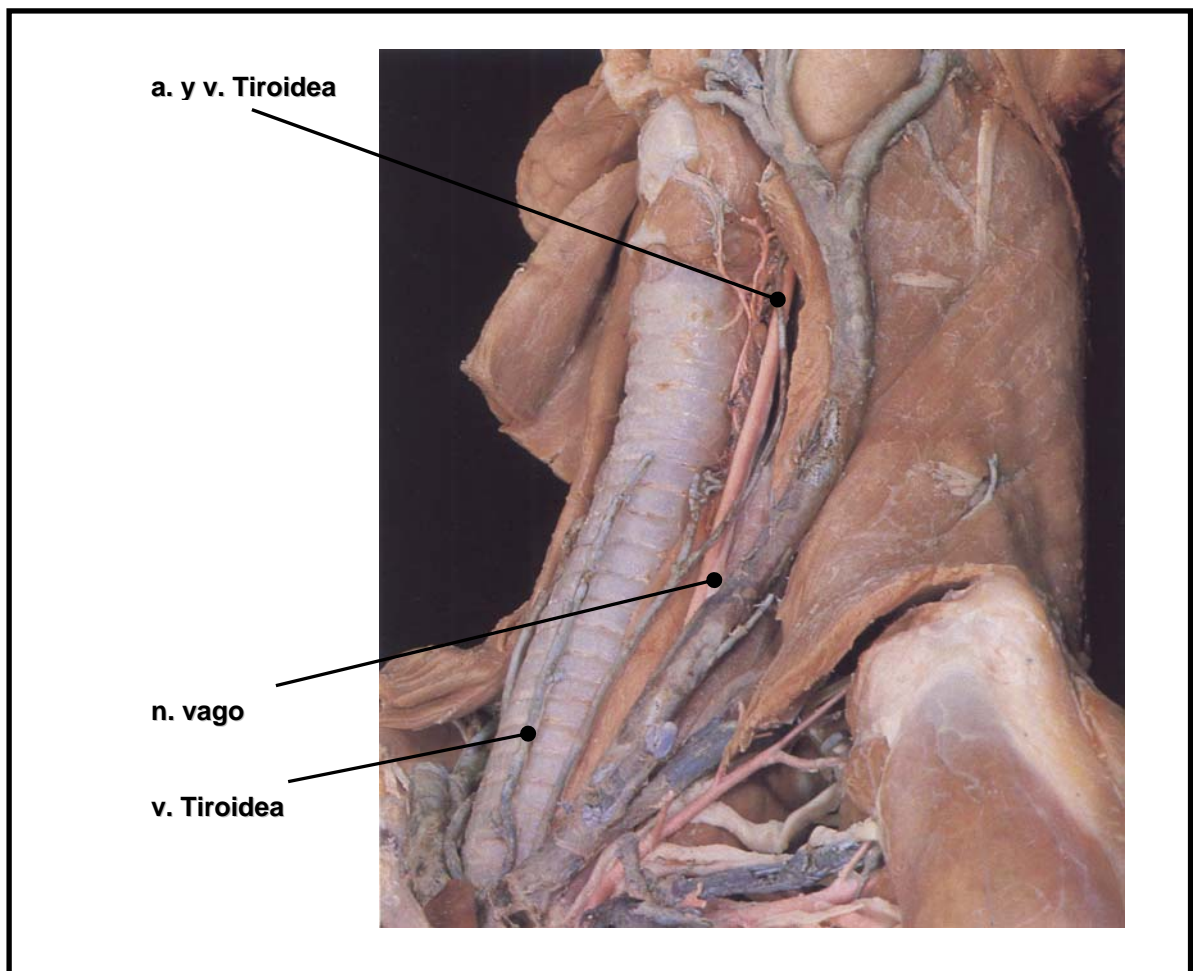


FOTOGRAFÍA 1.

Fotografía que muestra la anatomía de la tráquea (arterias, venas y nervios)

(58).

⁵⁸ Fotografía tomada de: Stanley H. Done Atlas de Anatomía Veterinaria. El perro y el gato. Ed. Harcourt Brace. Madrid España.



FOTOGRAFÍA 1a.

Fotografía que muestra la anatomía de la traquea (arterias, venas y nervios)

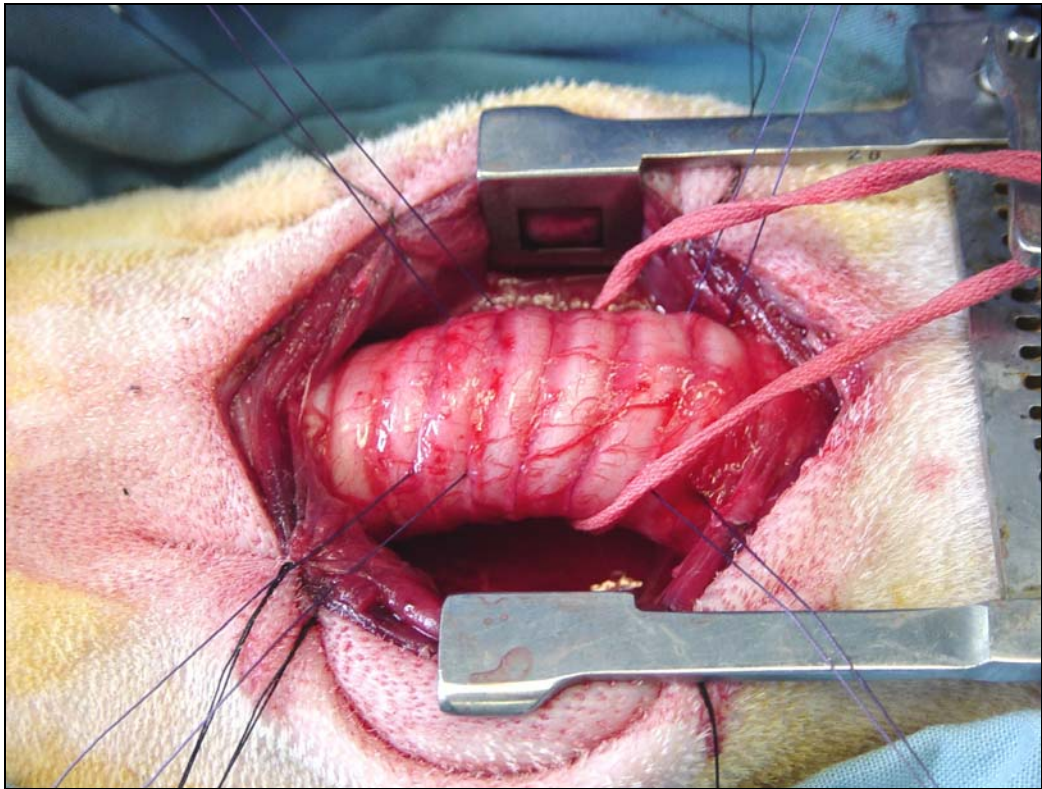
(58)

⁵⁸ Fotografía tomada de: Stanley H. Done Atlas de Anatomía Veterinaria. El perro y el gato. Ed. Harcourt Brace. Madrid España.



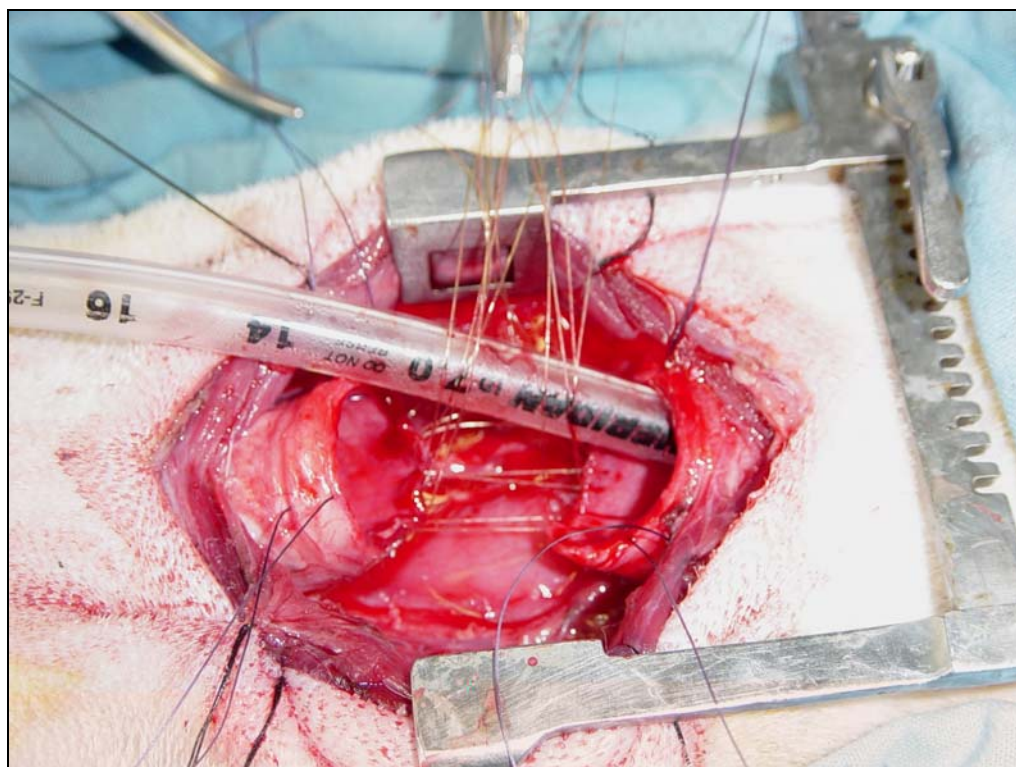
FOTOGRAFÍA 2.

Se observa un animal de experimentación anestesiado, colocado sobre la mesa de cirugía y conectado al monitor para electrocardiografía (*Datascope Passport*).



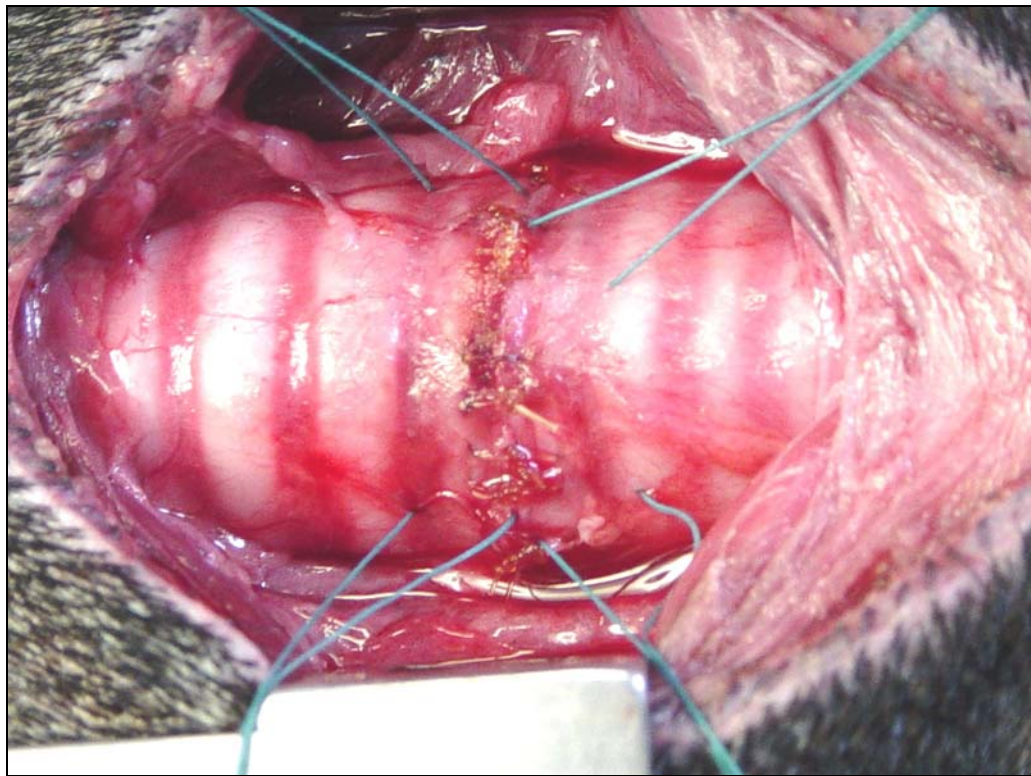
FOTOGRAFÍA 3.

Muestra la traquea cervical disecada y referida, previo a la resección de los anillos traqueales.



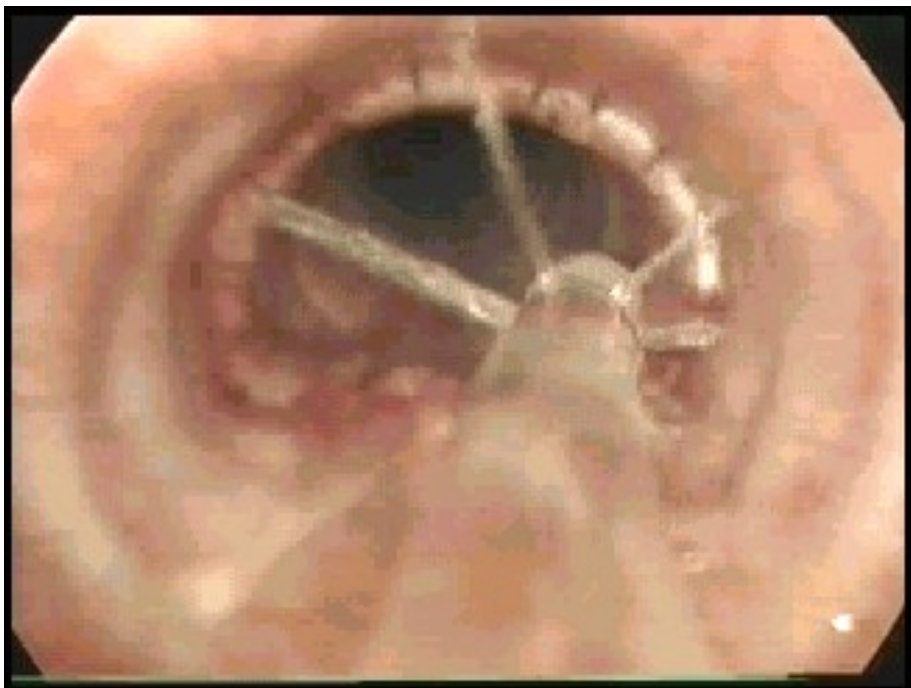
FOTOGRAFÍA 4.

Se observa la colocación de los puntos separados durante la realización de la anastomosis traqueal cervical.



FOTOGRAFÍA 5.

Anastomosis traqueal cervical finalizada, después de reseca 3 anillos traqueales.



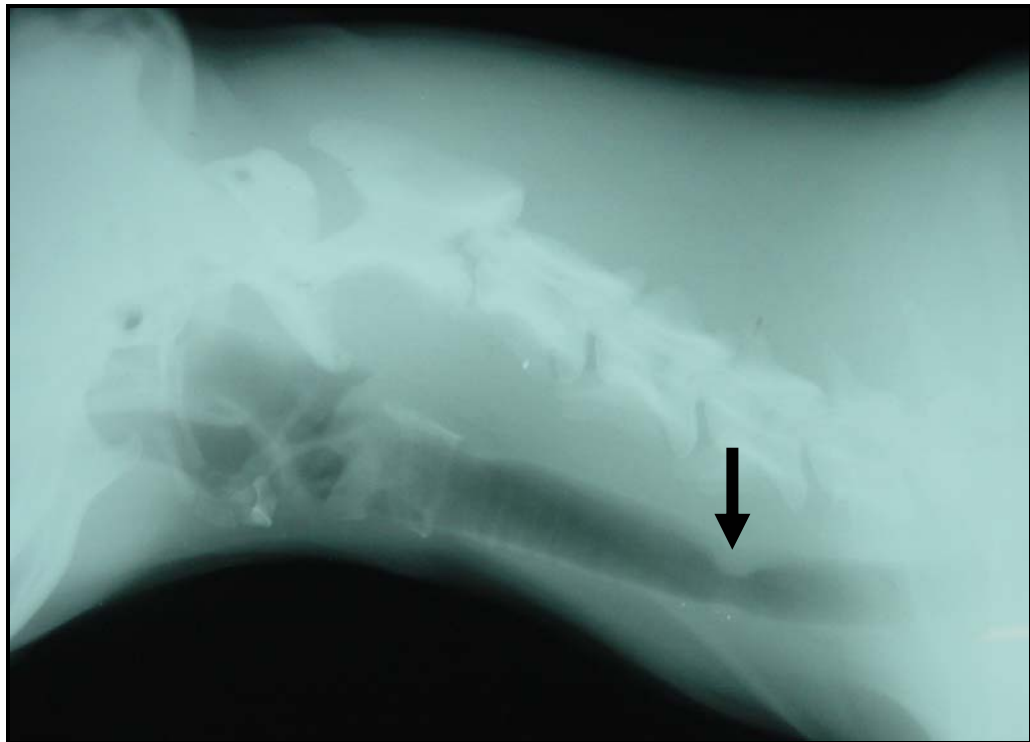
FOTOGRAFÍA 6.

Traqueoscopia en la que se observa la instilación del tratamiento (CPVP) tres días después de la cirugía.



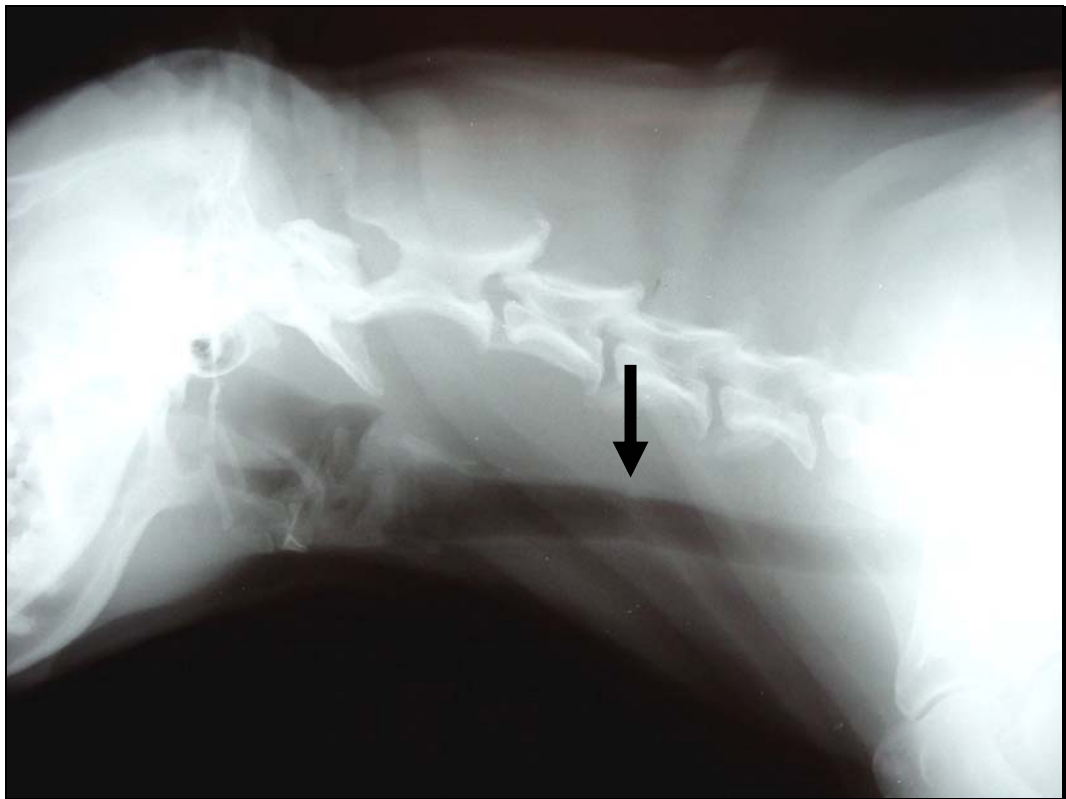
FOTOGRAFÍA 7.

Placa radiográfica lateral de un animal tratado con solución salina fisiológica en el que se observa la zona de la anastomosis disminuida en su calibre (flecha).



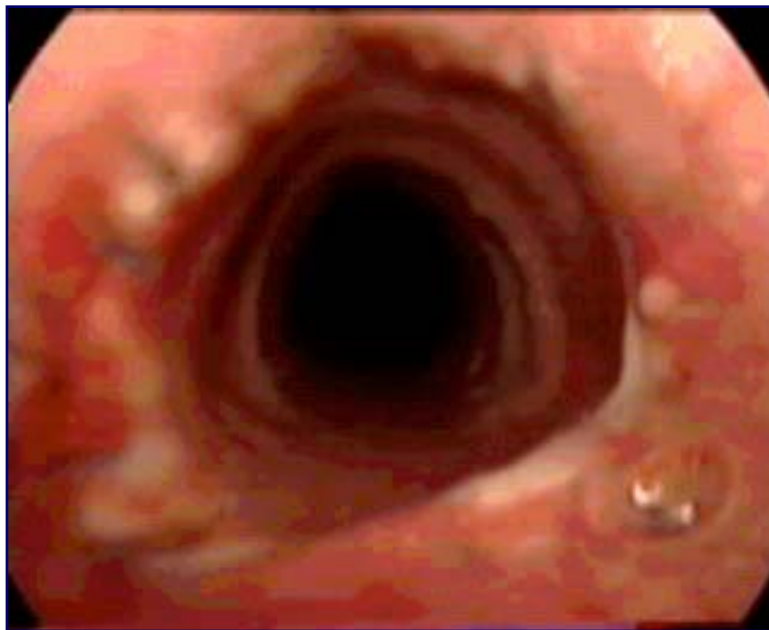
FOTOGRAFÍA 8.

Placa radiográfica lateral de un animal del Grupo II en donde se muestra la zona de la anastomosis (flecha) y tráquea permeable.



FOTOGRAFÍA 9.

Placa radiográfica lateral que muestra la tráquea permeable y su sitio de anastomosis (Flecha) a las 2 semanas postcirugía. Grupo III (CPVP)



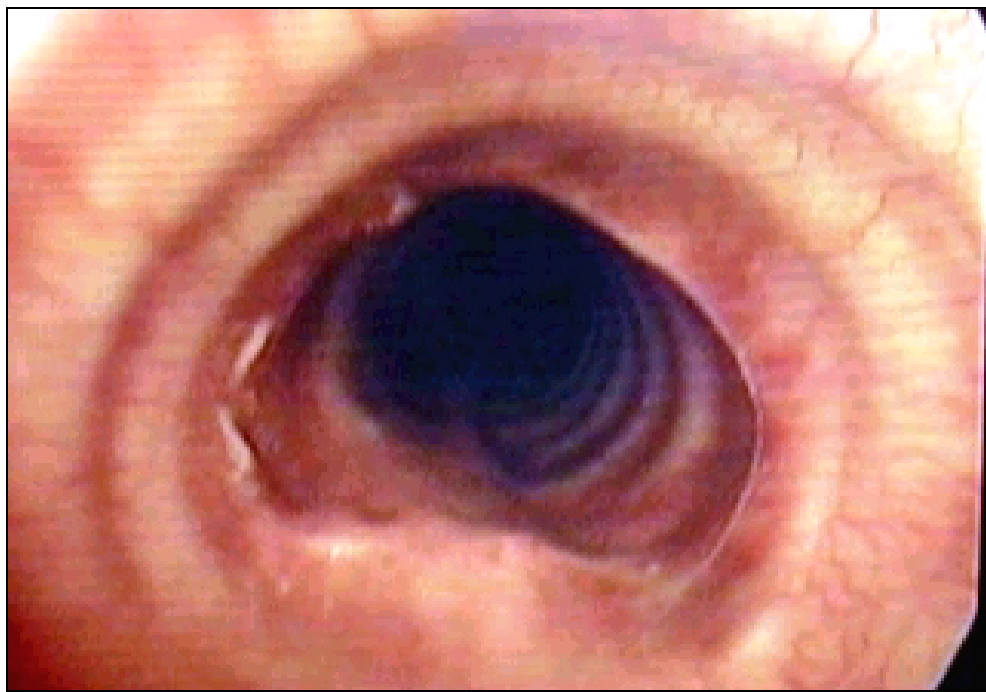
FOTOGRAFÍA 10.

Traqueoscopia de un animal del grupo I que muestra el estado de la anastomosis, la cual presenta inflamación y edema.



FOTOGRAFÍA 11.

Traqueoscopia de un animal del grupo II (AH) que muestra el estado de la anastomosis, la cual presenta estenosis grado I.



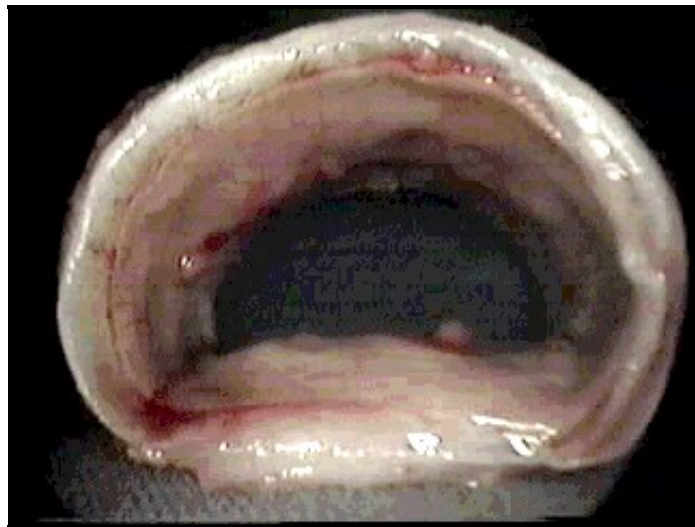
FOTOGRAFÍA 12.

Traqueoscopia realizada en la segunda semana poscirugía, en la que se observa la cicatrización de la anastomosis traqueal. Grupo III (CPVP)



FOTOGRAFÍA 13.

Segmento de tráquea resecado que muestra edema, hiperemia y estenosis de un animal del grupo I.



FOTOGRAFÍA 14.

Pieza quirúrgica macroscópica del animal del grupo II en el que se presentó estenosis posquirúrgica. Vista transversal.



FOTOGRAFÍA 15.

Pieza quirúrgica macroscópica del animal del grupo II en el que se presentó estenosis posquirúrgica. Vista longitudinal.



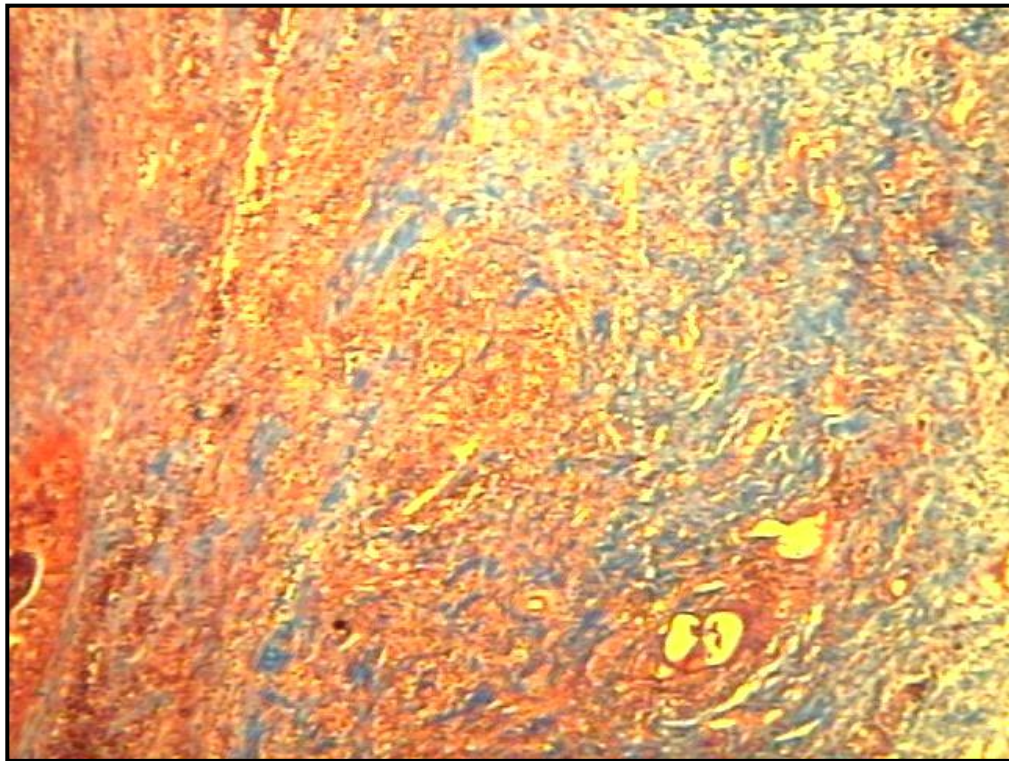
FOTOGRAFÍA 16.

Resección de segmento anastomosado del grupo IV (CPVP + AH) al final del tiempo de estudio el cual no presenta estenosis. Vista transversal.



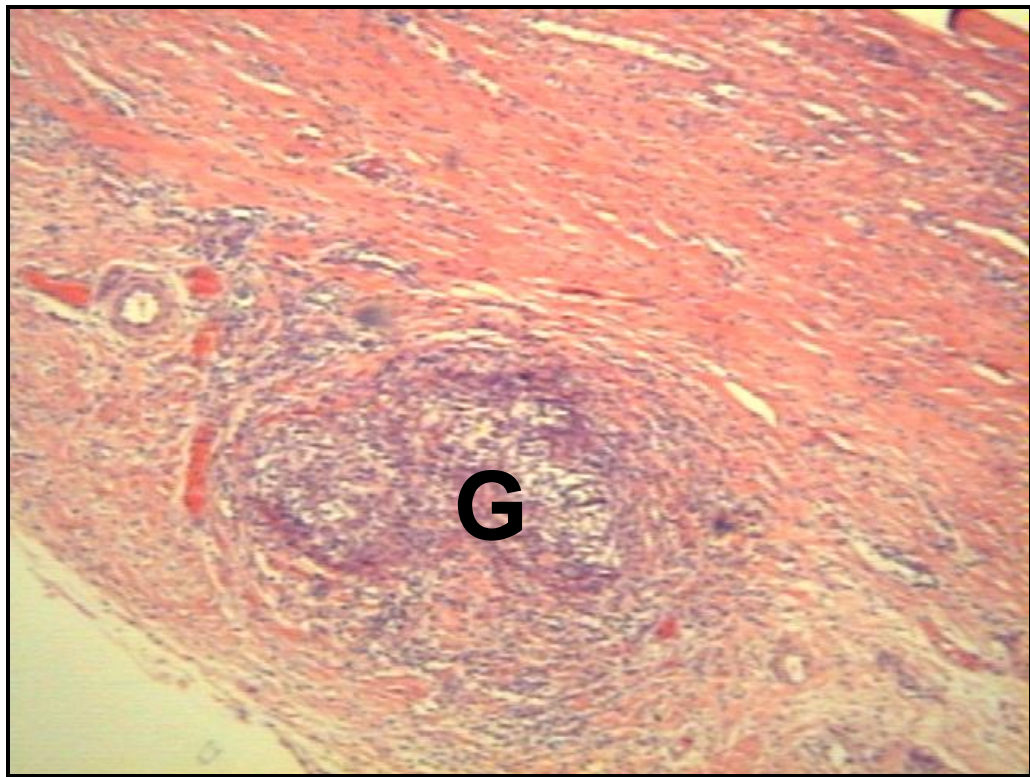
FOTOGRAFÍA 17.

Resección de segmento anastomosado del grupo IV (CPVP + AH) al final del tiempo de estudio. Vista longitudinal.



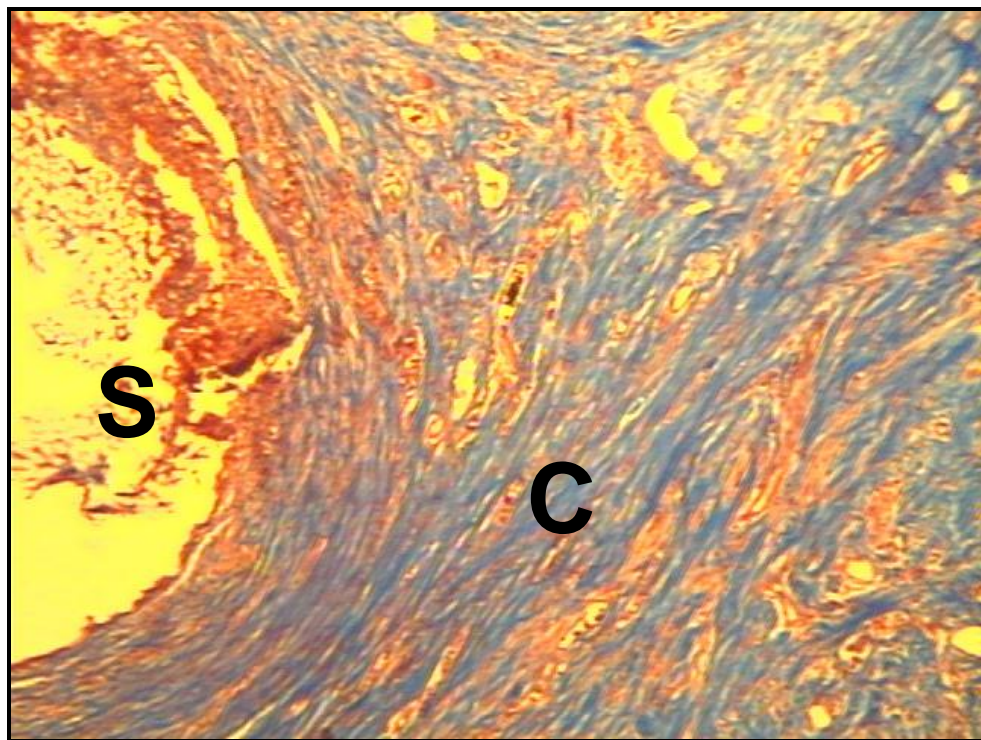
FOTOGRAFÍA 18.

Fotomicrografía que muestra fibras de colágena desorganizadas en un animal del grupo I (SSF). Tinción Masson 10x.



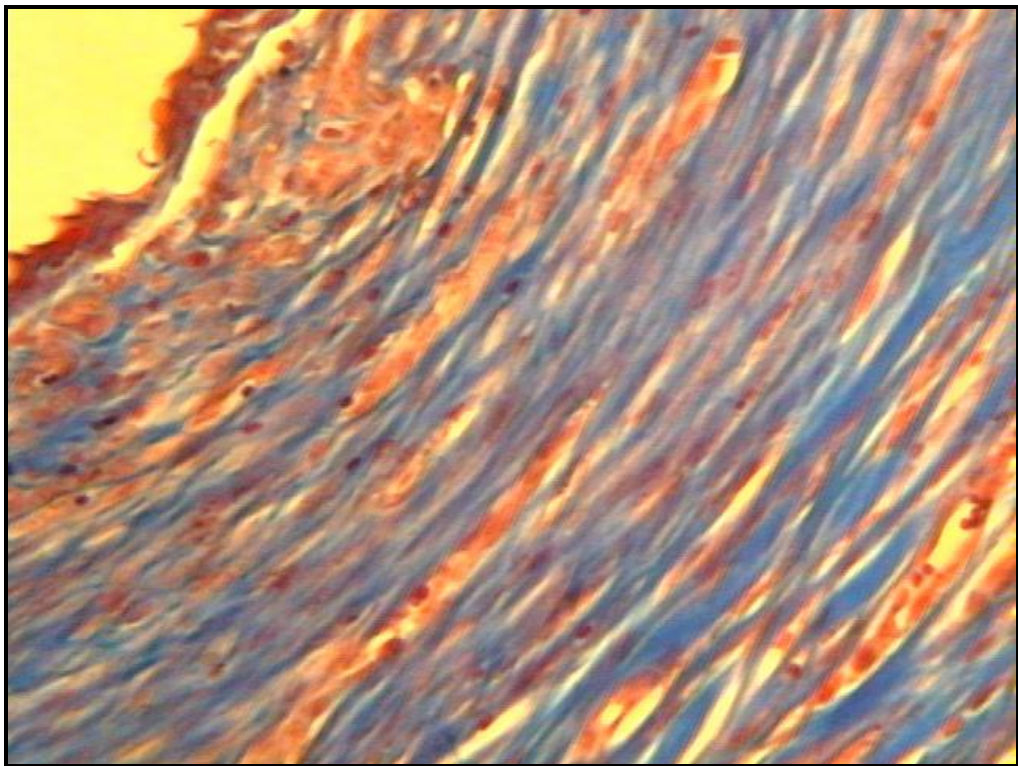
FOTOGRAFÍA 19.

Fotomicrografía que muestra el granuloma (G) formado en un animal del grupo II, también se observa infiltrado inflamatorio severo. Tinción H-E 2.5x



FOTOGRAFÍA 20.

Fotomicrografía, que muestra una capa de fibras de colágena bien organizada (C) alrededor de material de sutura (S). Grupo II AH. Tinción Masson 10x.



FOTOGRAFÍA 21.

Fotomicrografía que muestra las capas de colágena bien organizada en un animal del grupo III (CPVP). Tinción Masson 10x.

XI. TABLAS

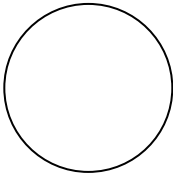
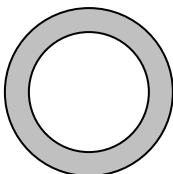
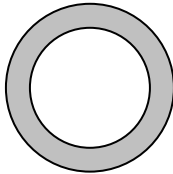
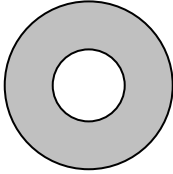
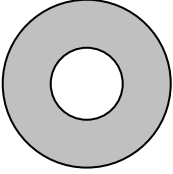
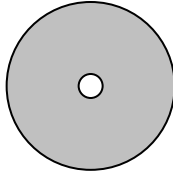
Clasificación	De	A
Grado I	 Sin Obstrucción	 50 % de Obstrucción
Grado II	 51% de Obstrucción	 70% de Obstrucción
Grado III	 71% de Obstrucción	 99% de Obstrucción
Grado IV	Luz no detectable	

Tabla 1.

Sistema de Clasificación de Estenosis Traqueal propuesto por Robin T. Cotton.

Evaluación de la Disnea

Grado	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
0 (Sin dificultad para respirar después de correr)	6	6	6	6
1 (Dificultad para respirar después de correr)	0	0	0	0
2 (Dificultad para respirar en reposo)	0	0	0	0

Tabla 2.

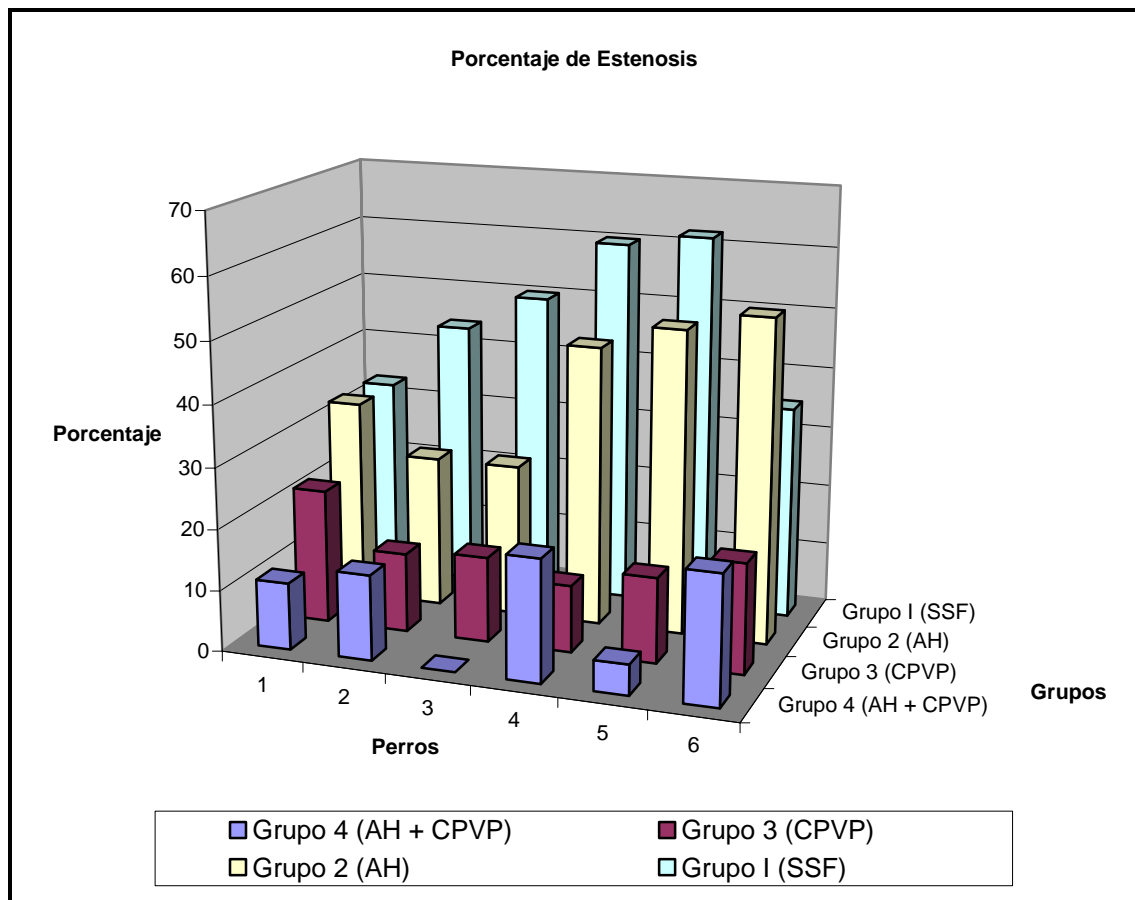
Muestra el grado de disnea en los cuatro grupos de estudio después de la resección y traqueoplastía.

Cuantificación de colágena obtenida de tejido traqueal				
GRUPOS DE ESTUDIO				
	SSF	AH	CPVP	AH+CPVP
Mg/g Tejido	335.67±127.79	302.86±30.77	295.21±58.71	176.0±37.96**

Tabla 3.

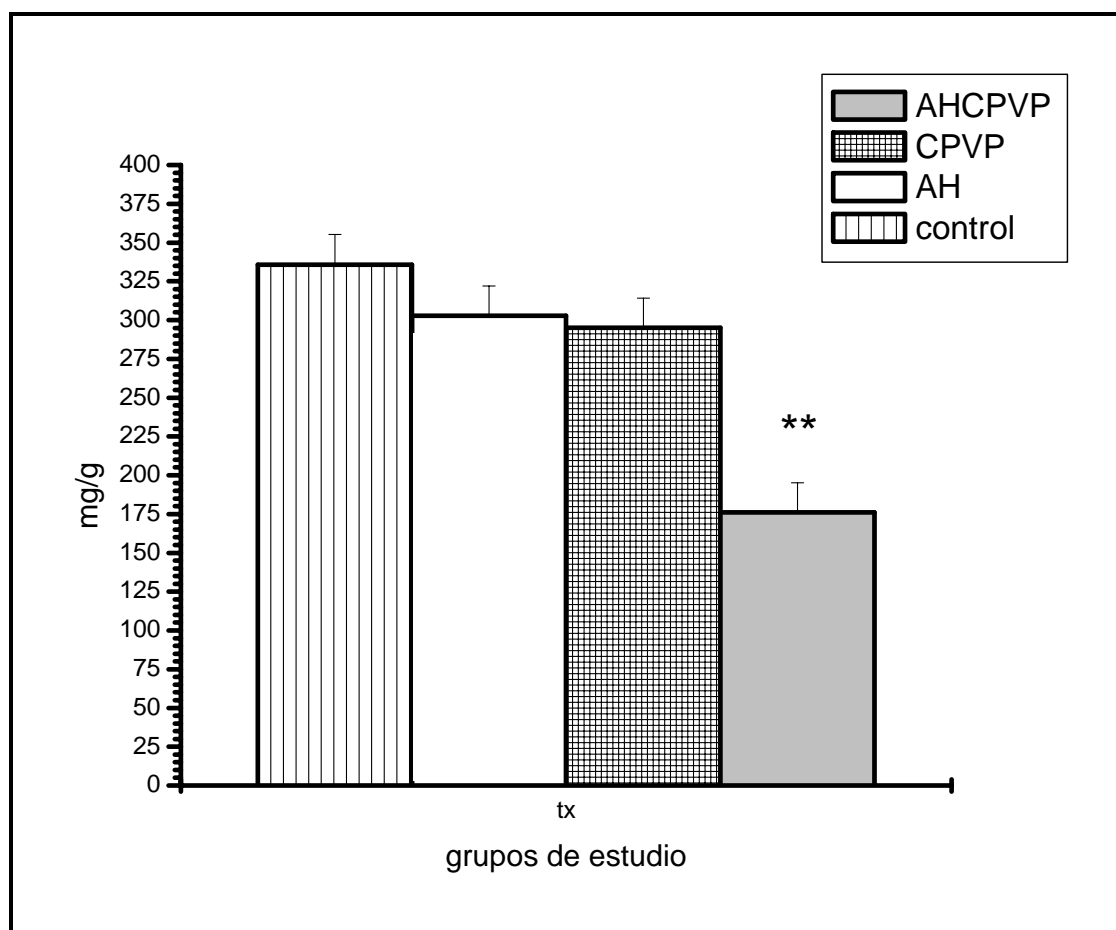
Promedio ± desviación estándar. ANOVA $p < 0.05$ entre grupos.
 Procedimiento Tukey/Kramer. * $p < 0.05$. ** $p < 0.01$

XII. GRÁFICAS.



Grafica 1

Muestra el porcentaje de Estenosis Traqueal de cada perro en cada uno de los Grupos.



Grafica 2.

Disminución de mg de colágena del grupo IV (AH + CPVP), al comparar entre los grupos de estudio. ** $p < 0.01$.

XIII. REFERENCIAS.

1. Dellmann H. D. *Histología veterinaria. Sistema respiratorio.* ed. Acribia S. A. Zaragoza España 1993: 159-176.
2. Netter F. H. *Colección Ciba de Ilustraciones Sobre Anatomía y Embriología, Fisiología, Anatomía Patológica, Síntomas Clínicos y Tratamiento de Enfermedades Tomo VII Sistema Respiratorio.* Barcelona España: Salvat Editores, S. A.1984.).
3. Robert F. Schmidt. *Human Physiology, Second, Completely Revised Edition* Springer-Verlag 1990.
4. Plopper C. G., Mariassy A. T. and Lollini L. O.: Structure as revealed by airway dissection: A comparison of mammalian lungs. *Am Rev Respir Dis.* 1993; 28: S4.
5. Junqueira LC, Carneiro J. *Histología básica.* 5ta ed. Masson S.A. Barcelona, España 2001: 331-348.
6. Tojo, T., Niwaya, K., Sawabata, N., Nezu, K., Kawachi, K and Kitamura, S.: Tracheal allogenic immunoresponse is reduced by cryopreservation canine experiment. *Transplant Proc.* 1996; 28(3): 1814-1815.
7. Reza R., Stanley M. S. and Gerald B. H. Mitomycin: Effects on Laryngeal and Tracheal Stenosis, Benefits and Complications. *Ann Otol Laryngol.* 2001; 110: 1-6.
8. Soda M. A., Delgado A., Morales J. Manejo quirúrgico de las estenosis traqueales. *Gaceta Médica de México.* 1994; 130: 386-389.
9. Lau E. Richard, Schwartz Anthony, Buergelt D. Claus. *JAVMA*, Vol. 176 No. 2, January 15, 1980; 134-139.
10. Morales GL, Tellez B. Niebla N. Loyola GU, Avalos BA, Patiño GH. Dilataciones Traqueales como Manejo Temporal de la Estenosis Traqueal en el INER 60 Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Neumología y Cirugía de Tórax. Tijuana, B. C. Abril 2001.
11. Davidson I.A., Cruickshank A.N., Duthie W.H., Bargh W. and Duncan J.G. Tracheal Lesions Following tracheostomy. *Proceedings of The Royal Society of Medicine.* 1971; 31: 479.
12. Gallit J. and Clark A.F. Wound repair in the context of extracellular matrix. *Current Opinion in Cell Biology.* 1994; 6: 717-25.
13. Grillo HC, Donahue DM: Stenosis Tracheal Postintubation. *Chest Surg Clinc N Am*, 1996, 6(4): 725-731.
14. Academy of Surgical Research. *Course of Animal Anesthesia and Models. Memories of the Course of Animal Anesthesia and Models of the 12th Annual Meeting and 1st International Conference of the Academy of Surgical Research; October 1996: Muenster, Germany.* Academy of Surgical Research, 1996.
15. Soda M. A., Delgado F. A., Fernández E. J., Gánem M. J. y Borgstein V. J. Estenosis laringotraqueales: Experiencia en el Instituto Nacional de enfermedades Respiratorias. *Anales Sociedad Mexicana Otorrinolaringología.* 1990; 35: 85
16. Correa A. J., Reinish L., sanders D. L. and Huang S. Inhibition of subglotic stenosis with mitomycin c in the canine model. *Ann Othol Rhinol Laryngol.*1999; 108: 1053-60.
17. Krotz-Gomez F., Reyes Marquez R., Díaz L. TGF-B and PDGF-AB expression in fibroblast derived from normal skin, hypertrophic/keloid scar and hypertrophic/keloid scar treated with fiboquel. *Wound Repair and Repair Regeneration.* 1996; 4 (1): A160
18. Livingstone G. L. and Schild J. A. Iathirogenic agents as therapy for subglotic stenosis a pilot study. *Otolaryngology Head Neck Surg.* 1987; 97: 446-51.

19. Longaker MT, Harrison MR, Crombleholme TM, et al: Studies in Fetal Wound Healing: I. A Factor in Fetal Serum that Stimulates Deposition of Hialuronic Acid. *J Pediatr Surg.* 1989; 24(8): 789-792.
20. Olmos-Zúñiga JR, Santos-Cordero JA, Jasso-Victoria R, Sortrés -Vega A, Gaxiola-Gaxiola M, Mora-Fol JR, Franco-Oropeza A y Santillán-Doherty P. Efecto Del Ácido Hialurónico Sobre La Cicatrización Traqueal En Un Modelo Experimental Canino. *Acta Otorrinolaringológica Española.* 2004; 55: 81-87.
21. Longaker MT, Whitby DJ, Adzick NS, et al: Studies in Fetal Wound Healing: VI. Second and Early Third Trimester Fetal Wound Demonstrate Rapid Collagen Deposition without Scar Formation. *J Pediatr Surg.* 1990; 25(1): 63-69.
22. Simon LS: Viscosupplementation Therapy with Intra-articular Hyaluronic Acid. Fact or Fantasy? *Reumatic Diseases Clinics of North America.* 1999; 25(2): 345-357.
23. Wen DY: Intra-articular Hyaluronic Acid Injection for Knee Osteoarthritis. *American Family Physician.* 2000; 62(3): 565-570.
24. Soldati D, Rahm F, Pasche P: Mucosal Wound Healing After Nasal Surgery. A Controlled Clinical Trial on the Efficacy of Hyaluronic Acid Containing Cream. *Drug under Experimental and Clinical Research.* 1999; 25(6): 253-261.
25. Sawada T, Hasegawa K, Tsukada K, et al: Adhesion Preventive Effect of Hyaluronic Acid after Intra-peritoneal Surgery in Mice. *Human Reproduction.* 1999; 14(6): 1470-1472.
26. Duranti F, Salti G, Bovani B, et al: Injectable Hyaluronic Acid Gel for Soft Tissue Augmentation. A Clinical and Histological Study. *Dermatologic Surgery.* 1998; 24(12): 1317-1325.
27. Italiano G, Abatangelo G Jr, Calabro A, et al: Guiding Spontaneous Tissue Regeneration for Urethral Reconstruction: Long-term Studies in the Rabbit. *Urological Research.* 1998; 26(4): 281-284.
28. Porru D, Campus G, Tudino D, et al: Result of Treatment of Refractory Interstitial Cystitis with Intravesical Hyaluronic Acid. *Urologia Internationalis* 1997; 59(1):26-29.
29. Nakagawa M, Tanaka M, Miyata T: Evaluation of Collagen Gel and Hyaluronic Acid as Vitreous Substitutes. *Ophthalmic Research.* 1997; 29(6):409-420.
30. Italiano G, Abatangelo G Jr, Calabro A, et al: Reconstructive Surgery of the Urethra: A Pilot Study in the Rabbit on the Use of Hyaluronan Benzyl Ester (Hyaff-11) Biodegradable Grafts. *Urological Research.* 1997; 25(2): 137-142.
31. Lackgren G, Wahlin N, Stenberg A: Endoscopic Treatment of Children with Vesico-ureteric Reflux. *Acta Pediátrica Suppl* 1999; 88(431): 62-67.
32. De la Cruz YH: Efecto del Ácido Hialurónico Sobre el Mecanismo de Cicatrización del Intestino. Estudio Experimental. (Tesis de Especialidad). México, D.F.: Facultad de Medicina. UNAM. 1993
33. Quiroz GJ: Efecto del Ácido Hialurónico Sobre el Mecanismo de Cicatrización del Esófago con Quemadura por Cáustico. Un estudio Experimental. (Tesis de Especialidad). México, D. F.: Facultad de Medicina. UNAM. 1996.
34. Hernández AG: Efectos del Ácido Hialurónico Sobre el Mecanismo de Cicatrización en la Anastomosis de Uretra. Un estudio Experimental. (Tesis de Especialidad). México, D. F.: Facultad de Medicina. U.N.A.M. 2000.
35. Chan RW, Titze IR: Hyaluronic Acid (With Fibronectin) as a Bioimplante for the Vocal Fold Mucosa. *Laryngoscope* 1997; 109: 1942-1949).
36. Chimal J., Bravo T., Krotz F. and Díaz L. Implantes de fibroquel aceleran la formación de hueso nuevo en defectos óseos inducidos experimentalmente en cráneos de rata: un estudio histológico. *Rev. Biomed* 1997; 8: 81-88.

37. Chimal J., Lira M., De la Cruz et al. Healing of fractures rat femoral bones enhanced by fibroquel. A radiological, histological and histochemistry study. *Wound Repair and Regeneration*. 1996; 4(1): A147.
38. Doolin E., Tsumo K., Strande M. and Santos M. Pharmacologic inhibition of Collagen in an experimental model of subglottic stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1998, 107:275-78.
39. Krotz Gómez Fernando Edgar. Modulación del metabolismo celular por colágena-pvp (Tesis doctoral). México, D.F., CCH, 1999.
40. Furuzawa C.J., Krötzsch G.F., Reyes R. and Díaz L. Inhibition of the Expression of Adhesion Molecules ELAM-1 and VCMA-1 in Human Skin Biopsies from Hypertrophic and Keloid Scar Treated. *Wound Repair and Regeneration* 1996; 4 (1): A137.
41. Ingrams D., Ashton P., Dhingra J., Shah R. and Shapshay S. Slow-Release 5-Fluorouracil and Triamcinolone reduces Subglottic Stenosis in a Rabbit Model. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2000; 109: 422-24.
42. Charous S.J. Ossof RH, Reinisch L. and Davidson J.M. Canine subglottic stenosis as a model for excessive fibrosis: a pilot immunohistochemical analysis. *Wound Rep. Reg*. 1996; 4:444-53.
43. Darzi M.A., Chowdri N.A., Kaul S.K. and Khan M. Evaluation of various methods of treating keloids and hypertrophic scar: A 10 years follow up study. *British Journal of Plastic Surgery*. 1992; 45:374-79.
44. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos. AFÍA 6 dic de 1999.
45. Guía Para el Cuidado y Uso de Los Animales de Laboratorio. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health U.S.A. Edición Mexicana Auspiciada por la Academia Nacional de Medicina. México, D.F. 2002.
46. Loyola-García U. Respuesta Terapéutica A La Colágeno-Polivinil Pirrolidona En Un Modelo Experimental De Estenosis Traqueal Canino. (Tesis de Especialidad). México, D. F.: Facultad de Medicina. UNAM. 2002.
47. American Thoracic Society. Task Group on Screening For Respiratory Disease in Occupational Settings. *Am Rev Respir Dis*. 1982, 126: 952-56.
48. Cotton RT, Connor DM, Myer CM: Proposed Grading System For Subglottic Stenosis Based On Endotracheal Tube Sizes. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1994; 108: 319-323.
49. Wossner, J.F. 1961. The Determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this iminoacid. *Arch. Biochem. Biophys*. 93:440-447
50. Eliashar R., Eliachar I., Esclamado R., Gramlich T. and Strome M. Can Topical Mitomycin Prevent Laryngotracheal Stenosis?. *Laryngoscope*. 1999; 109: 1594-1600.
51. Adolph VR, DiSanto SK, Bleacher JC, et al: The Potential Role of the Lymphocyte in Fetal Wound Healing. *J. Pediatric Surg*. 1993; 28(10): 1316-1620.
52. Krupala, J.L., Gianoli G.J. and Smith R.A. The Efficacy of Hyaluronic Acid Foam As A Middle Ear Packing Agent In Experimental Tympanoplasty. *The American Journal Of Otology*. 1998; 19: 546-50.
53. Broker B.J. and Reiter D. Fetal Wound Healing. *Otolaryngology Head and Neck Surg*. 1994; 110 (6): 547-49.
54. Mast, B.A., Diegelman, R.F. Krummel T.M. and Cohen I.K. Scarless Wound Healing In The Mammalian Fetus. *Surg Gynecol Obstet*. 1992; 174:441-51.
55. Peacock E.E.: Control of wound healing and scar formation in surgical patients. *Arch Surg*. 1981; 116: 1325-29.
56. Vallis C.P. Intralesional Injections Of Keloids And Hypertrophic Scars UIT Dermojet. *Plastic and Reconst Surg*. 1967. 40:255.

57. Border W.A. and Ruoslahti E. Transforming growth factor β in diseases: the dark side of tissue repair. *J. Clin Invest.* 1992; 90: 1-7.
58. *Fotografía tomada de: Stanley H. Done Atlas de Anatomía Veterinaria. El perro y el gato. Ed. Harcourt Brace. Madrid España.*