



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

Y

ZOOTECNIA

**Evaluación de la esponja a base de colágena -
polivinilpirrolidona y gelatina absorbible de origen
porcino en el proceso de cicatrización traqueal.**

Estudio experimental.

Realizada en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
“Ismael Cosío Villegas”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

FRANCISCO DRUSSO MARTÍNEZ GARCÍA

ASESORES:

DR. ROGELIO JASSO VICTORIA

MVZ NORMA SILVIA PÉREZ GALLARDO



MÉXICO D.F.

2014



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.

ASESORES

Dr. Rogelio Jasso Victoria

Asesor de Tesis

Jefe del Departamento de Cirugía Experimental INER

MVZ Norma Silvia Pérez Gallardo

Asesora de Tesis

Departamento de Medicina, Cirugía y Zootecnia de Pequeñas Especies FMVZ
UNAM

Con gratitud a los siguientes miembros del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias por su colaboración y aportaciones realizadas a este trabajo de tesis en investigación a:

M. en C. J. Raúl Olmos Zúñiga
Investigador en Ciencias Médicas “D”
Departamento de Cirugía Experimental INER

MVZ Sergio Martínez Fonseca
Departamento de Cirugía Experimental INER

Dra. Claudia Hernández Jiménez
Investigadora en Ciencias Médicas “A”
Departamento de Cirugía Experimental INER

QFB. Matilde Baltazares Lipp
Departamento de Cirugía Experimental INER

Dr. Miguel Gaxiola Gaxiola
Departamento de Investigación en Morfología INER

Dr. Juan Carlos Vázquez Minero
Jefe del Servicio de Cirugía Cardiorácica INER

Dr. Marco Antonio Iñiguez García
Jefe de la Clínica de Tráquea INER



DEDICATORIA

A mi padre, a quien agradezco sus enseñanzas, paciencia y tiempo. Eres un ejemplo a seguir como persona, como médico pero sobretodo como papá.

A mi madre por su invaluable apoyo durante todos estos años, y ser pilar en mi formación personal.

A todos los miembros de mi familia, principalmente a mis hermanos Fernando y Octavio; a mis primos de sangre, pero hermanos de corazón Alicia, Marcela, Alejandra, Sergio y Josh; a mis tías Alma, Marcela, Sonia y Pacha por su apoyo y por siempre estar ahí con una sonrisa.

A mis amigos empezando por los más veteranos: Aline, Lulú, Lupita y Erick, a pesar del tiempo y la distancia, aquí seguimos.

A mis amigos de la facultad más cercanos: Fany, Karlita, Elisa, Vicente, Rafa y Jessica, con quienes compartí risas, alegrías, tristezas y enseñanzas.

A quien ha llegado en este tramo de mi vida para sorprenderme, a ti Carmen O, tú me haces creer que todo es posible.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rogelio Jasso Victoria, por su amistad, paciencia y oportunidad de realizar este proyecto de investigación, pero sobretodo por abrirme los ojos ante la importancia del médico veterinario en la investigación biomédica y su impacto en la salud humana.

A mi asesora, maestra y “mamá” académica, la Dra. Norma Pérez Gallardo, por todos estos años de consejos y apoyo tanto a nivel personal como profesional.

Al Dr. Raúl Olmos Zúñiga, por darme la oportunidad de integrarme al equipo de cirugía experimental, por su tiempo, disposición y enseñanzas.

A los miembros y doctores del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Melissa, Normita, Axel, Adrian, Antonia, Enrique, Istar, Roberto Rueda, Sergio Martínez Claudia Hernández, Matilde Baltazares, Miguel Gaxiola, Juan Carlos Vázquez y Marco Iñiguez , quienes me brindaron su amistad y me apoyaron directamente en la realización de este proyecto de tesis.

A los miembros del jurado, los Dres. Alicia Olivera Ayuub, Mario Pérez Martínez, Ricardo García García y Jorge Hernández Espinosa por sus valiosas aportaciones durante la revisión de este trabajo.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y a la UNAM, por abrirme sus puertas y adentrarme en este mundo tan extenso que representa la medicina veterinaria.

CONTENIDO

ASESORES	I
COLABORACIÓN	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	IV
CONTENIDO	V
RESUMEN	9
I. INTRODUCCIÓN	10
1.1 Antecedente histórico.....	10
1.2 Anatomía y fisiología de la tráquea.....	10
1.3 Patologías que afectan a la tráquea.....	12
1.4 Estenosis traqueal.....	12
1.5 Diagnóstico de la estenosis traqueal posintubación.....	13
1.6 Tratamiento de la estenosis traqueal.....	14
1.7 Cicatrización.....	16
1.7.1 Cicatrices fibróticas.....	18
1.8 Fármacos moduladores en el proceso de cicatrización.....	19
1.8.1 Colágena polivinilpirrolidona.....	20
1.8.2 Gelatina absorbible de origen porcino.....	21

II. JUSTIFICACIÓN	22
III. HIPÓTESIS	23
IV. OBJETIVOS	24
4.1 Objetivo general.....	24
4.2 Objetivos específicos.....	24
V. MATERIAL Y MÉTODOS	25
5.1 Recursos.....	25
5.2 Sujetos de experimentación.....	26
5.2.1 Criterios de inclusión.....	26
5.2.2 Criterios de exclusión.....	26
5.2.3 Criterios de eliminación.....	26
5.2.4 Criterios de terminación.....	27
5.3 Consideraciones éticas.....	27
5.4 Grupos de estudio.....	28
5.5 Preparación de la esponja.....	28
5.6 Anestesia.....	30
5.7 Técnica quirúrgica.....	31
5.8 Cuidados posquirúrgicos.....	33

5.9 Evaluación.....	33
5.9.1 Clínica.....	33
5.9.2 Macroscópica.....	35
5.9.3 Microscópica.....	36
VI. ANÁLISIS DE DATOS.....	37
VII. RESULTADOS.....	38
7.1 Clínicos.....	38
7.2 Macroscópicos.....	39
7.3 Microscópicos.....	43
VIII. DISCUSIÓN.....	48
IX. CONCLUSIÓN.....	52
X.REFERENCIAS.....	53

RESUMEN

Evaluación de la esponja a base de colágena - polivinilpirrolidona y gelatina absorbible de origen porcino en el proceso de cicatrización traqueal. Estudio experimental.

El tratamiento ideal de la estenosis traqueal es quirúrgico; sin embargo la reestenosis durante la cicatrización ocurre con frecuencia lo que justifica emplear moduladores de este proceso; la colágena-polivinilpirrolidona experimentalmente evita la aparición de estenosis traqueal posquirúrgica; sin embargo requiere de varias aplicaciones intralesionales mediante endoscopia. En este trabajo se utilizó en esponja (ECPVP), comparativamente con la esponja de gelatina absorbible (EGA) sobre el efecto en la cicatrización traqueal. El objetivo fue evaluar la cicatriz formada en el sitio de anastomosis traqueal de ratas Wistar tratadas con ECPVP y EGA posterior a la resección de tres anillos traqueales y anastomosis termino-terminal. Se utilizaron 30 ratas Wistar divididas en 3 grupos (n=10), se realizó resección de 3 anillos traqueales y anastomosis término-terminal. Grupo I Testigo (sin tratamiento), Grupo II ECPVP, Grupo III EGA. Se evaluaron clínicamente durante 4 semanas. Al final del estudio (día 28 poscirugía) se realizó una evaluación macroscópica y microscópica del sitio de anastomosis. Resultados. El Grupo II mostró menos adherencias ($p= 0.001$ ANDEVA, $p= 0.002$, Tukey y Dunnett) y grado de estenosis ($p=0.025$ ANDEVA, $p= 0.021$, Tukey, $p= 0.015$ Dunnett) comparativamente a los otros dos grupos. Se concluye que la ECPVP mejora la cicatrización y reduce la formación de estenosis traqueal.

Palabras clave: Estenosis traqueal, esponja, colágena-polivinilpirrolidona, gelatina absorbible, Fibroquel, Gelfoam.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTE HISTÓRICO

La cirugía traqueal fue la última subdivisión desarrollada en la cirugía cardiotorácica ⁽¹⁾. Arateus y Galeno hablaron del uso de la traqueostomía en el siglo II y III en la “*Arteria aspera*” (forma en la que era conocida la tráquea). La intervención quirúrgica no era una práctica común hasta antes de mediados del siglo pasado; el incremento en el uso de asistencia mecánica ventilatoria conlleva al acercamiento de este órgano, debido a las lesiones provocadas por intubación siendo la estenosis la consecuencia más común de este procedimiento. Los cirujanos pronto se dieron cuenta de la dificultad en la cicatrización de este órgano; Hipócrates ya había hecho mención de que “las fistulas más complicadas son aquellas que ocurren en zonas cartilagosas”, de esta manera se senta un precedente en la dificultad de cicatrización en las áreas formadas por cartílago ⁽¹⁾.

1.2 ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DE LA TRÁQUEA

La tráquea es un órgano tubular semirrígido que forma parte de la vía respiratoria alta, con una longitud y diámetro que varía de acuerdo a la etapa de desarrollo del paciente; se divide en una porción cervical o extra torácica y una porción intratorácica. Posee una capa mucosa, submucosa, cartilaginosa, adventicia y una porción membranosa. Está revestida en toda su extensión por una mucosa respiratoria, la cual se compone de epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado asentado en la lámina propia que contiene fibras elásticas y reticulares.

Este epitelio se compone de seis tipos celulares, las células basales y las células ciliadas columnares son las más abundantes, ambas encargadas de la movilización del moco y de partículas extrañas; las células caliciformes liberan precursores de mucina que permite la adhesión de estas partículas; las células clara producen gránulos de glicoproteínas y proteínas que lubrican la vía aérea. Las células neuroendócrinas generan gránulos que son liberados hacia la lámina propia; por último, las células de cepillo no tienen una función conocida; estos tres grupos celulares representan menos del 10% de la población celular total ⁽²⁾.

La submucosa posee glándulas seromucosas, encargadas de la producción de moco que mantiene lubricada la vía aérea y permite atrapar partículas extrañas. La parte cartilaginosa se compone de anillos incompletos compuestos principalmente de colágena tipo II; en el ser humano son de 16 a 20 anillos ⁽³⁾ y en los animales domésticos varía entre 29 a 60 anillos ⁽⁴⁾. Por la cara externa se encuentra unida a los tejidos circundantes por tejido conectivo laxo o adventicia. La porción membranosa se localiza anterior al esófago, se compone principalmente de músculo liso (músculo traqueal), la contracción de las fibras musculares disminuye el diámetro de la luz, permitiendo el arrastre de moco hacia el exterior. La naturaleza muscular de la membranosa facilita la distensión esofágica durante el paso del bolo alimenticio ⁽⁵⁾.

La irrigación está dada por plexos provenientes de la arteria tiroidea inferior y ramas de la subclavia, las cuales penetran entre la unión de la porción membranosa y cartilaginosa. Está inervada por el nervio laríngeo recurrente.

Desde el punto de vista fisiológico la tráquea es un espacio de tránsito para el aire inspirado que llega a los pulmones donde se realiza el intercambio gaseoso, así como la vía de salida una vez realizado este proceso ⁽⁵⁾.

1.3 PATOLOGÍAS QUE AFECTAN A LA TRÁQUEA

Las patologías traqueales pueden ser de origen congénito (traqueomalacia, estenosis traqueal y quistes) o adquiridas como neoplasias (carcinoma de células escamosas y carcinoma adenoideo quístico relacionado con el tabaquismo en el ser humano), trauma (quemaduras por inhalación), lesiones posintubación (consecuencia del uso de cánulas o tubos orotraqueales) que se manifiestan con la formación de fístulas (traqueoesofágicas principalmente) o la propia estenosis traqueal, que puede ocurrir en el 20% de los pacientes humanos sometidos a intubación ⁽⁶⁾.

1.4 ESTENOSIS TRAQUEAL

La estenosis traqueal se define como la reducción del espacio intraluminal de la tráquea a cualquier nivel (cervical o torácica), en raras ocasiones se presenta de forma congénita, aunque la mayoría de las veces es adquirida y originada por diversas condiciones clínicas, ya sea de forma traumática, neoplásica, inmunológica (granulomatosis con poliangeítis), o posintubación, siendo esta última la principal causa de estenosis en el ser humano y representa entre el 75% al 90% de los casos ⁽⁷⁾. Cuando se han descartado todas las anteriores se habla de estenosis idiopática ⁽⁸⁾.

La fisiopatología de la estenosis traqueal posintubación inicia con isquemia consecuente a la presión ejercida por el tubo y al globo neumático sobre la pared traqueal, que provocan abrasión y ulceración de la mucosa, estancamiento de secreciones, seguido de infiltrado inflamatorio, desarrollo de tejido de granulación y formación de una cicatriz patológica que presenta fibrosis excesiva durante la retracción cicatrizal lo que produce estenosis ⁽⁶⁾.

En algunos pacientes se reporta que lapsos de cuatro horas pueden ser suficientes para producir una lesión que más adelante se traduce en una zona de estenosis ⁽⁹⁾; a mayor tiempo de intubación también aumenta el número de anillos traqueales afectados ⁽¹⁰⁾.

1.5 DIAGNÓSTICO DE LA ESTENOSIS TRAQUEAL POSINTUBACIÓN

La estenosis traqueal posintubación constituye un verdadero problema clínico y quirúrgico; lamentablemente se considera que ocurre de manera iatrogénica como consecuencia de una lesión posintubación durante la asistencia mecánica ventilatoria ^(6,9).

Los primeros signos (disnea progresiva y estridor) se pueden manifestar inmediatamente al retirar la cánula o tubo endotraqueal, aunque la mayoría de los casos se presentan entre las 2 a 12 semanas posteriores a la extubación ⁽⁹⁾.

Es común que individuos con grados leves de estenosis sean diagnosticados de manera errónea con asma o bronquitis crónica ⁽⁶⁾, por lo que en pacientes con

historial de intubación debe considerarse la presencia de esta patología; los exámenes de imagenología como radiología, tomografía computada (TC) o resonancia magnética de cuello y tórax, suelen denotar la presencia de estenosis⁽¹¹⁾, aun cuando el principal objetivo de estos son para confirmar otras enfermedades como las mencionadas con antelación.

La mejor herramienta diagnóstica consiste en el examen endoscópico⁽¹²⁾, mediante el cual es posible observar *in situ* la lesión, así como sus características (extensión, región y grado de estenosis) lo que permitirá definir el plan terapéutico a seguir⁽¹³⁾.

1.6 TRATAMIENTO DE LA ESTENOSIS TRAQUEAL

El tratamiento de la estenosis traqueal consiste en evitar el cierre de la luz de este órgano para lo que existen distintos acercamientos.

Como primera opción terapéutica durante el examen endoscópico se puede realizar dilatación con cánula intraluminal; sin embargo la respuesta a este manejo es variable e incluso puede ocurrir la ruptura del segmento, en cuyo caso la vida del paciente está comprometida; además el 50% de las personas tratadas presentan reestenosis⁽⁷⁾, por lo que se considera que solo mejora la condición respiratoria del paciente de manera temporal. También se han utilizado endoprótesis (*stents*), pero su uso conlleva el riesgo de erosionar la pared aunado a que pueden migrar o bien favorecer la aparición de tejido de granulación e inducir reestenosis^(14,15). Otra alternativa es la ablación del tejido cicatrizal patológico mediante láser, pero solo es útil de manera temporal, y puede ir

acompañado de la aplicación de Mitomicina C con la finalidad de evitar reestenosis ^(13,16,17).

Sin embargo todos los tratamientos antes descritos son de tipo paliativo ya que la mayoría de los pacientes registra un alto índice de reestenosis; no obstante se recurre a ellas cuando la intervención quirúrgica no es viable por condiciones inherentes al paciente.

La cirugía representa la mejor opción terapéutica y es el único tratamiento que resuelve esta patología, la cual consiste en realizar la reconstrucción traqueal mediante la resección de los anillos traqueales afectados, seguido de la anastomosis término-terminal de los extremos restantes (también conocida como traqueoplastía) ^(18,19) El primer procedimiento exitoso fue realizado de manera experimental en perros por Gluck y Zeller en 1881 ⁽¹⁾.

A pesar de ser el tratamiento de elección, en ningún momento se encuentra exento de complicaciones, siendo la más frecuente la reestenosis por formación de tejido de granulación o fibrosis de la línea de anastomosis ⁽²⁰⁾; que se presenta entre el 25% al 30% ^(7,18), de esto se desprende la importancia en encontrar mejores opciones terapéuticas que redunden éxito para el paciente, la cirugía es el procedimiento de elección por lo que se buscan opciones encaminadas a reducir o evitar la formación de tejido cicatrizal patológico ⁽¹⁹⁾.

1.7 CICATRIZACIÓN

La cicatrización es un proceso por el cual se restaura morfológica y fisiológicamente el tejido dañado. Este proceso se divide en 3 fases: fase inflamatoria, fase proliferativa y la fase de remodelación o de maduración; sin embargo, cabe aclarar que este proceso es continuo y a pesar de que cada evento tiene una duración determinada, existe la transposición entre cada uno de ellos (21,22).

Dentro de la primera fase (inflamatoria) ocurre la hemostasia, donde se evita la pérdida de sangre por medio de la contracción de la musculatura lisa de los vasos sanguíneos que produce vasoconstricción; la agregación plaquetaria y la formación del coágulo compuesto principalmente por plaquetas y fibrina. Esta red de fibrina permite la migración de fibroblastos y otras células ⁽²³⁾; funciona de reservorio de distintos factores de crecimiento como el factor de crecimiento de fibroblastos tipo 2 (FGF-2) y el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF). Las primeras células en llegar al sitio de la lesión son los polimorfonucleares (PMN'S), atraídos por diversos factores de crecimiento y citocinas proinflamatorias como el factor derivado de plaquetas (PDGF) interleucina 8 (IL-8), y factor de crecimiento relacionado a oncogenes (GRO- α). De los PMN, son los neutrófilos los primeros leucocitos en llegar al sitio lesionado, su pico de población ocurre entre las 24 a 48 hrs; posterior a ellos, los macrófagos, transformados en monocitos continúan el proceso inflamatorio. Es en esta fase donde se observan los signos cardinales de la inflamación (rubor, tumor, dolor, calor). Tanto los neutrófilos como los macrófagos/monocitos se encargan de eliminar *detritus*, a su vez, estimulan la

producción de colágena por parte de los fibroblastos y continúan el proceso inflamatorio por medio de la liberación de interleucinas: IL-1 α , IL-1 β , IL-6, factor de necrosis tumoral alfa (TNF α). Los linfocitos son las siguientes células inflamatorias en llegar al sitio, atraídos principalmente por IL-2, y permanecen por varios días en la herida.

Dentro de la fase de proliferación se da la migración de fibroblastos por los factores y citocinas liberadas o producidos por los leucocitos de la fase inflamatoria. La presencia de metaloproteinasas (MMP's), permite la migración celular de manera ordenada a través de la matriz extracelular (MEC) al sitio dañado. Los fibroblastos son los principales productores de los componentes de la MEC entre los que sobresale la colágena, glucosaminoglicanos y proteoglicanos. La colágena permite la migración celular; su síntesis se inicia entre el 3er y 5to día por estímulo de PDGF y el factor transformante beta (TGF- β) ⁽²¹⁾. Otro proceso que se presenta durante la proliferación es la angiogénesis que inicia hacia el segundo día, el VEGF es el principal factor relacionado a este proceso; la hipoxia tisular e isquemia promueven su liberación ^(24,25), su presencia permite la revascularización del segmento dañado a partir de la vasculatura adyacente. El último paso de esta fase es la reepitelización, ocurre principalmente por los queratinocitos, los cuales migran a través del tejido de granulación con la finalidad de restablecer el contacto entre los bordes dañados.

Por último, en la fase de maduración o remodelación (que puede durar meses) ocurre la transformación de fibroblastos a miofibroblastos por la presencia de filamentos de actina, TGF- β y PDGF ^(21,22); esta modificación en su estructura

permite la contracción de la herida y se reduce la cantidad de fibroblastos en el sitio de lesión. La disminución en la síntesis de colágeno reduce el grosor de la cicatriz, el reordenamiento de las fibras presentes aumenta la resistencia de la misma, disminuye la presencia de vasos sanguíneos y la aparición de células inflamatorias. Al final, la cicatriz formada posee hasta el 80% de la resistencia del tejido original ^(22,26).

1.7.1 CICATRICES FIBRÓTICAS

La fibrosis puede definirse como el reemplazo de los componentes estructurales normales de un tejido por la acumulación excesiva de tejido cicatrizal no funcional ⁽²⁷⁾. Una cicatriz fibrótica ocurre por depósito excesivo de los componentes de la MEC, o por falta de su degradación; una inhibición o disminución de los componentes encargados de regular esta deposición (ej.: colagenasas), produce un aumento en la cantidad y una falta de organización de las fibras de colágena, esto promueve la formación de fibras gruesas y desorganizadas ⁽²³⁾. El aumento en la cantidad de fibroblastos dentro de la lesión no está relacionado a la formación de este tipo de cicatrices. Dentro de los mecanismos que causan una cicatriz fibrótica, están patologías con una prolongada fase inflamatoria en la cicatrización ⁽²⁶⁾.

1.8 FÁRMACOS MODULADORES EN EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN

Con la finalidad de evitar la formación de cicatrices fibróticas se han utilizado diversos fármacos a manera de modular los diferentes componentes de la cicatrización. En tráquea debido a la alta posibilidad de presentar reestenosis posquirúrgica se han utilizado experimental y clínicamente distintos fármacos, sin embargo su aplicación sistémica (AINES o esteroides) o intralesional (5 fluoracilo y Mitomicina C entre otros) no previene la formación de cicatrices fibróticas ^(20,28,29).

De forma clínica el agente más utilizado es la Mitomicina C para evitar reestenosis traqueal, fármaco antineoplásico e inhibidor del crecimiento de fibroblastos; no obstante se ha observado que la aplicación intralesional ya sea de manera adjunta a la ablación con láser o a la dilatación con cánula no previene la formación de estenosis ^(29,30,31).

En varios tejidos se ha utilizado ácido hialurónico (AH); componente de la MEC como modulador de la cicatrización; en tráquea se ha observado que bloquea la respuesta inflamatoria aguda y favorece la proliferación, regeneración y reparación tisular similar a la ocurrida en heridas fetales ⁽²⁹⁾.

1.8.1 COLÁGENA-POLIVINILPIRROLIDONA

La colágena-polivinilpirrolidona es un preparado a base de colágena tipo I obtenida de piel porcina irradiada con rayos gamma, unida de manera covalente a polivinilpirrolidona para potencializar su efecto y reducir su antigenicidad ⁽³²⁾. Es un fármaco que se comercializa en forma de esponja (**ECPVP**) o solución inyectable (Fibroquel® Laboratorio Farmacéutico Aspid S.A de C.V. D.F, México). Posee actividad fibrinolítica y actúa como remodelador de procesos fibrosos debido a que disminuye la actividad de moléculas de adhesión (ELAM-1, VCAM-1, ICAM-1) así como de citocinas proinflamatorias y fibrogénicas (IL-1 β , TNF- α , TGF-1 β y PDGF-AB) ^(33,34). Se ha utilizado para el tratamiento de cicatrices queloides e hipertróficas, fibrosis dérmicas y tendones para disminuir el volumen de la cicatriz, desaparecer el infiltrado inflamatorio y restablecer la arquitectura normal del tejido ^(35,36); su uso posterior a la resección y anastomosis traqueal disminuye la cantidad de colágena formada por gramo de tejido traqueal en el sitio de la anastomosis ⁽²⁹⁾; en forma de esponja se emplea como hemostática o en lesiones cutáneas con pérdida de la continuidad y se ha observado que reduce las adherencias intraabdominales ⁽³⁷⁾.

1.8.2 GELATINA ABSORBIBLE DE ORIGEN PORCINO

La gelatina absorbible de origen porcino (Gelfoam compressed sterile sponge®, Pfizer, Nueva York, EU) es un producto en forma de esponja (**EGA**), insoluble en agua, no elástica, y porosa preparada a base de piel purificada del cerdo. Se utiliza principalmente como esponja quirúrgica hemostática absorbible para sangrado difuso en vasos de pequeño calibre ⁽⁹⁾. Su mecanismo de acción ocurre por compresión más que en alteración en los factores de la coagulación. Se ha utilizado como material de empaquetamiento de oído medio para evitar el colapso de la membrana timpánica, lo que permite que actúe como puente para la migración celular durante la cicatrización de la misma ⁽³⁸⁾.

II. JUSTIFICACIÓN

El tratamiento ideal de las estenosis traqueales es la resección traqueal y anastomosis; sin embargo se ha observado reestenosis traqueal hasta en el 30% de los casos, aun cuando se utilizan moduladores de la cicatrización. La colágena-polivinilpirrolidona en suspensión ha mostrado buenos resultados de manera experimental para evitar reestenosis del sitio de la anastomosis; no obstante, una desventaja considerable en esta presentación es que requiere de varias aplicaciones, esto implica someter a los pacientes a procedimientos anestésicos y endoscópicos recurrentes. En este trabajo se propone aplicar la ECPVP alrededor de la anastomosis traqueal, la cual no ha sido probada en la cicatrización traqueal; con el propósito de disminuir la reestenosis traqueal posquirúrgica; de esta manera se realizaría la aplicación del fármaco una sola vez en forma de esponja, lo que reduce riesgos y el costo del tratamiento para los pacientes atendidos en este instituto.

III. HIPÓTESIS

Si la colágena-polivinilpirrolidona es un modulador de la cicatrización que evita la formación de cicatrices fibróticas, entonces su aplicación en forma de esponja sobre el sitio de anastomosis traqueal posterior a la resección traqueal disminuye la incidencia de estenosis posquirúrgica en ratas Wistar.

IV. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la cicatriz formada en el sitio de anastomosis traqueal en ratas Wistar tratadas con esponja de colágena polivinilpirrolidona y esponja de gelatina absorbible posterior a la resección de tres anillos traqueales y anastomosis término-terminal

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Evaluar los cambios macroscópicos asociados al uso de ECPVP y EGA sobre la cicatriz de la anastomosis traqueal posterior a realizar la resección traqueal en ratas Wistar.
- 2.- Valorar los cambios microscópicos asociados al uso de ECPVP y EGA sobre la cicatriz de la anastomosis traqueal después de realizar la resección traqueal en ratas Wistar.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 RECURSOS

El financiamiento de esta investigación fue otorgado por el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas” (INER - ICV).

En este estudio participaron los investigadores y técnicos del Departamento de Investigación en Cirugía Experimental del INER-ICV, que proporcionaron quirófanos, monitores, microscopio (*OMP 19-FC Carl Zeiss, Faserbeleuchtung, West Germany*) e instrumental de microcirugía, así como fármacos y materiales necesarios para llevar a cabo los procedimientos quirúrgicos, tratamientos y seguimiento posoperatorio en los animales.

Se involucraron técnicos pertenecientes al Bioterio del mismo instituto que proporcionaron a los animales de acuerdo a los criterios propios de esta investigación ^(38,39).

También intervino personal del Departamento de Investigación en Morfología del INER, quien procesó las muestras de los tejidos sometidos a estudio.

5.2 SUJETOS DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 30 ratas Wistar, clínicamente sanas sin importar sexo o edad, con un peso aproximado de 250 a 350 gramos. Durante todo el experimento se siguieron las especificaciones técnicas para el cuidado y uso de animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana en la materia ⁽³⁹⁾ y la *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* de los Estados Unidos ⁽⁴⁰⁾

5.2.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Se incluyeron ratas Wistar clínicamente sanas, que no presentaron antecedentes de alguna enfermedad respiratoria durante la estancia en el bioterio del INER ni previo al procedimiento quirúrgico. Todo animal sometido a eutanasia por causas relacionadas al procedimiento quirúrgico fue incluido en el estudio.

5.2.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Los animales que cursaron con algún cuadro clínico patológico de vías aéreas durante la permanencia en el bioterio del INER-ICV previo al procedimiento quirúrgico no fueron empleados como modelos experimentales, así como aquellos que fueron sometidos a eutanasia por causas ajenas al procedimiento quirúrgico.

5.2.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Todo animal que presentó signos clínicos de cualquier patología que no fue provocada ni relacionada al procedimiento quirúrgico.

5.2.4 CRITERIOS DE TERMINACIÓN

Aquellos animales que mostraron signos de dolor agudo o crónico, de acuerdo a los descrito por *The Rat Grimace Scale* ⁽⁴⁰⁾ o signos de enfermedad respiratoria relacionada al procedimiento que no disminuyó con la aplicación de medicamentos, de inmediato fueron sometidos a eutanasia por sobredosis anestésica con pentobarbital sódico (Anestesal, Pfizer S.A. de C.V. Guadalajara, México).

5.3 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El protocolo de investigación fue revisado y aprobado por el Comité de Bioética e Investigación del INER-ICV y por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales para Experimentación (CICUAE) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Durante el estudio se siguieron las especificaciones técnicas para el cuidado y uso de animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana en la materia ⁽³⁹⁾ y la *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* de los Estados Unidos ⁽⁴⁰⁾.

5.4 GRUPOS DE ESTUDIO

Los animales se dividieron en 3 grupos de estudio, en donde se realizó la resección de 3 anillos traqueales:

Grupo I Testigo (n = 10): Resección traqueal con anastomosis sin tratamiento.

Grupo II ECPVP (n = 10): Resección traqueal con anastomosis y aplicación de ECPVP en toda la cara externa al sitio de la anastomosis.

Grupo III EGA (n = 10): Resección traqueal con anastomosis y aplicación de EGA en toda la cara externa al sitio de la anastomosis.

5.5 PREPARACIÓN DE LA ESPONJA

La ECPVP y la EGA fueron preparadas de manera estéril para su uso quirúrgico; ya que se comercializan con medidas de 120mm x 80mm x 70mm y 50mm x 10mm respectivamente. Para la preparación y corte de la esponja, se esterilizó el material a utilizar (tijeras de Mayo, pinzas de disección, crioviales, y regla milimétrica) dentro de un gabinete de bioseguridad (Labconco Purifier Logic+ A2 Biosafety Cabinet®, LABCONCO, Kansas, Estados Unidos); se expuso a luz UV por 30min, finalizado este lapso y por medio de guantes estériles se realizó el corte de ambas esponjas (25 mm x 6mm x 4mm). Cada fragmento de ECPVP poseía 3.3mg de colágena polivinilpirrolidona, y fueron depositados en crioviales estériles hasta el momento de ser aplicados en las anastomosis traqueales. **(Figura 1).**

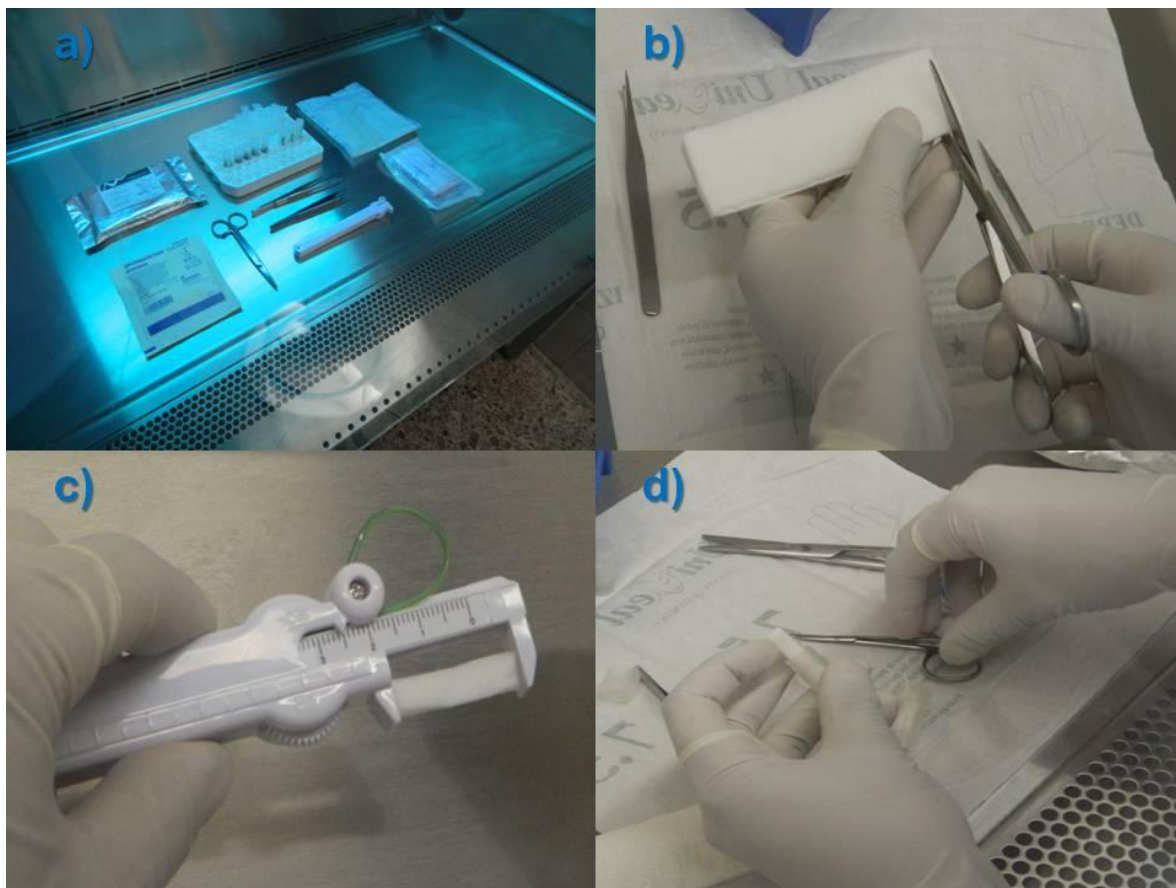


Figura 1. Corte y preparación de las ECPVP y EGA. a) Dentro de un gabinete de flujo laminar se colocó todo el material, se expuso a luz UV por 30min; b) finalizado este lapso se realizó el corte de la esponja. c) Se cortaron en fragmentos de 25 mm x 6mm x 4mm; d) los cuales fueron depositados en crioviales estériles hasta el momento de ser aplicados en las anastomosis traqueales.

5.6 ANESTESIA

Los animales fueron anestesiados con ketamina (Anesket®, Pisa, Guadalajara, México) 70mg/kg/IP y xilazina (Rompun®, Bayer, Leverkusen, Alemania) 5mg/kg/IP. Una vez anestesiados se les administró como analgesia preoperatoria meglumina de flunixin (Napzin®, Pisa, México, DF, México) 4 mg/kg/SC y enrofloxacin (Baytril®, Bayer, Leverkusen, Alemania) 5 mg/kg/SC de manera profiláctica. Se utilizó un monitor de signos vitales (Datascop Passport 5 Lead Monitor®, Mindray Medical International, Shenzhen, China) para registrar frecuencia cardiaca (FC) frecuencia respiratoria (FR) y saturación de oxígeno (SaO₂) durante todo el procedimiento quirúrgico y hasta la recuperación anestésica.

5.7 TÉCNICA QUIRÚRGICA

Bajo anestesia general se realizó tricotomía de la región cervical ventral, lavado y antisepsia de la zona; se efectuó una incisión longitudinal en piel y se separaron todos los planos hasta llegar a la tráquea; se retrajeron ambos nervios laríngeos recurrentes por medio de disección roma y el tejido conectivo presente entre la tráquea y el esófago. Se resecaron 3 anillos traqueales, del 6to al 8vo anillo los cuales se conservaron en formol al 10% y sirvieron como anillos de control histológico. Se realizó resección traqueal con anastomosis término-terminal (traqueoplastía) por medio de microcirugía a través del microscopio (OMP 19-FC Carl Zeiss, Faserbeleuchtung, Alemania) con sutura de polipropileno (Prolene®, Ethicon, New Jersey, EU) calibre siete ceros (7-0); se adosó la parte membranosa con súrgete simple y con puntos simples la cara ventral en la porción cartilaginosa. Se comprobó que no existieran fugas en la región anastomosada instilando solución salina fisiológica 0.9% (Solución CS Pisa®, Pisa, Guadalajara, México); de esta manera es posible visualizar la presencia de burbujas y por consecuencia fuga del sitio. En el grupo I se procedió al cierre convencional, en el caso del grupo II y III, se rodeó en 360° el sitio de la anastomosis con la esponja (ECPVP y EGA respectivamente) de tal manera que se recubrió en su totalidad la cara externa y se humedeció para darle consistencia. Posteriormente se efectuó el cierre convencional, uniendo los músculos esternohiodeos con puntos simples con polidioxanona (PDS®, Ethicon, New Jersey, USA) calibre cuatro ceros (4-0) y la piel se adosó por medio de puntos simples con el mismo material de sutura **(Figura 2)**.

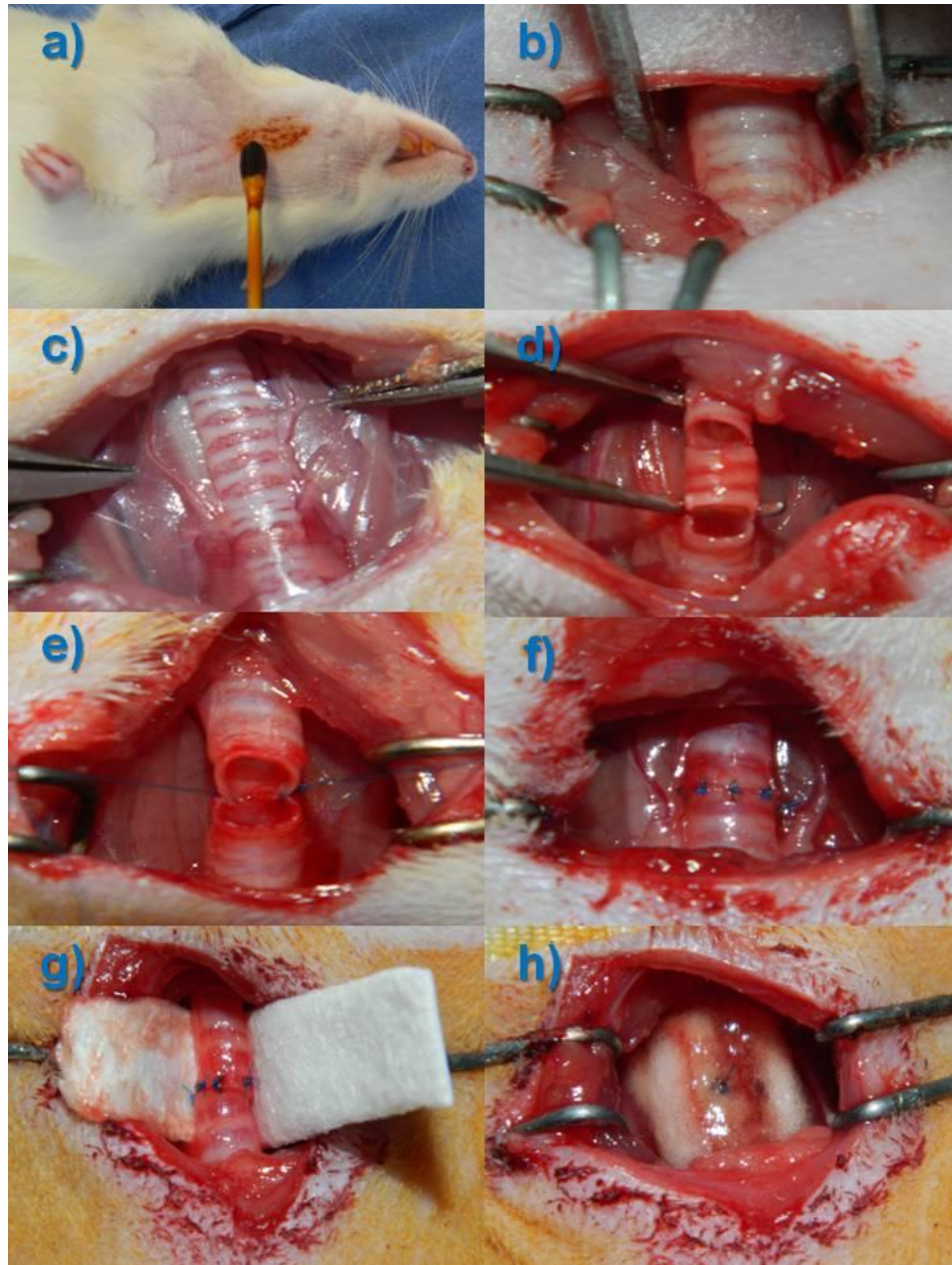


Figura 2. Técnica quirúrgica. a) Se efectuó tricotomía y antisepsia de la región cervical ventral; b) disección roma de todos los planos, c) separación de los nervios laríngeos recurrentes. d) Se realizó la resección de tres anillos traqueales; e) anastomosis término-terminal con suture simple en la porción membranosa y f) puntos simples en la porción cartilaginosa. g) En los grupos II (ECPVP) y III (EGA) se rodeó en 360° el sitio de la traqueoplastia y h) se humedeció para darle consistencia.

5.8 CUIDADOS POSQUIRÚRGICOS

Se utilizaron dos dosis de antibiótico (enrofloxacin) administradas cada 24 horas durante los dos días posteriores al procedimiento y dos aplicaciones de analgésico (meclumina de flunixin) bajo el mismo esquema y a las mismas dosis pre quirúrgicas. Todo animal con algún signo de patología respiratoria prolongó el tratamiento a base de desinflamatorios no esteroideos hasta por una semana, aquellos animales sin respuesta favorable al tratamiento fueron sometidos a eutanasia por sobredosis anestésica.

5.9 EVALUACIÓN

5.9.1 EVALUACIÓN CLÍNICA

Todos los animales fueron sujetos de observación clínica diaria durante los primeros 5 días y a los 10, 17, 23 y 28 días posteriores al procedimiento hasta finalizar el estudio (día 28). Los parámetros evaluados fueron: cambios en el patrón respiratorio (normal o disnea), presencia o ausencia de ruidos respiratorios (estridor), estado de la herida quirúrgica (inflamación, infección, dehiscencia, formación de enfisema subcutáneo) y signos de dolor de acuerdo a los criterios establecidos por The Rat Grimace Scale (posición de la orejas, cierre de los párpados, abultamiento de las mejillas y cambios en la posición de los bigotes), en una escala del “0” al “2”, el 0 corresponde a la ausencia total de signos, y “2”, clara evidencia en el cambio de la expresión facial de dolor en los animales, con un máximo de 8 puntos (**Tabla 1**) ⁽⁴¹⁾.



Tabla 1. Evaluación del dolor de acuerdo a lo descrito por Sotocinal *et al* (2011). En el caso de los animales que lo presenten (dolor) se observa que los párpados tienden cerrarse, el abultamiento de las mejillas se ve reducido, la posición de las orejas se modifica existiendo una mayor distancia entre ambas y los bigotes muestran una apertura mayor con respecto a las mejillas. Adaptado de The Rat Grimace Scale ⁽⁴¹⁾.

5.9.2 EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

La evaluación macroscópica se realizó el día 28 (fin de estudio), todos los animales fueron sometidos a eutanasia por sobredosis anestésica de pentobarbital sódico 150mg/kg/IP. La ausencia de reflejos, frecuencia cardiaca, pulso, frecuencia respiratoria y presencia de midriasis, se utilizaron como parámetros para determinar la muerte del animal ⁽⁴²⁾.

En todos los casos se evaluó en el sitio de la anastomosis, la presencia o ausencia de la esponja (ECPVP o EGA), dehiscencia, infección, formación de fístulas, así como la presencia de adherencias de acuerdo a la escala descrita por Olmos-Zúñiga *et al.* (2002): 0= sin adherencias, 1= adherencias mínimas fácilmente despegables, 2= adherencias completas fácilmente despegables y 3= adherencias completas y firmes ⁽⁴³⁾. Finalmente se retiró el segmento anastomosado para realizar el análisis morfométrico de acuerdo a lo descrito por Rodríguez-Revilla *et al.* (2009) para evaluar el diámetro de luz traqueal y se comparó con otro segmento traqueal sano extraído en el momento. Para determinar el grado de estenosis traqueal se utilizó la escala descrita por Freitag *et al.* (2007): grado 0= sin estenosis, grado 1= <25%; grado 2= 25-50%; grado 3= 50-75%; grado 4= 75-90% y grado 5= estenosis del 100% ⁽⁴⁴⁾.

5.9.3 EVALUACIÓN MICROSCÓPICA

Para la evaluación microscópica se tomaron los anillos obtenidos durante la cirugía (anillos de control) y el sitio de anastomosis (28 días poscirugía), se fijaron en formaldehído al 10%. Fueron incluidos en parafina, se realizaron cortes de 4 μ , se tiñeron con Hematoxilina-Eosina (H-E) y tricrómica de Masson para determinar la presencia de material de sutura, presencia de las esponjas, arquitectura anatómica normal del segmento traqueal, pérdida parcial o total del epitelio que fueron reportados descriptivamente. La inflamación, congestión, hemorragia y fibrosis fueron evaluados mediante la escala semicuantitativa descrita por Veiga-Barreiro *et al.* (2004). A cada parámetro evaluado se le asignó un grado de acuerdo a la severidad de los cambios histopatológicos: grado 1 (ausente) 0-10%, grado 2 (leve) 11-25%, grado 3 (moderado) 26-50% y grado 4 (severo) 51-100% (45).

VI. ANÁLISIS DE DATOS

El análisis estadístico de la evaluación macroscópica (ausencia o presencia de fístulas, infección, daño a tejidos periféricos, dehiscencia de la anastomosis, presencia de la esponja, número de casos con estenosis traqueal y grado de la misma) y microscópica (inflamación, congestión, hemorragia y fibrosis) se realizó mediante la prueba de análisis de varianza (ANDEVA), Tukey y Dunnet. Los valores de $p < 0.05$ se consideraron como significativos.

VII. RESULTADOS

7.1 CLÍNICOS

Todos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico, pero no al tiempo de estudio establecido. En el grupo I (testigo) dos animales fueron sometidos a eutanasia, uno por causas ajenas al estudio, y otro por complicación respiratoria asociada al procedimiento quirúrgico al día 7. Mientras que en los grupos II (ECPVP) y III (EGA) todos los animales completaron su tiempo de estudio (28 días).

En el grupo I y III el 20% de los animales presentaron disnea y estridor por los primeros 5 días y para el décimo día el 10% continuaba con estos signos.

En el grupo II el 50% presentó dificultad respiratoria durante los primeros 5 días; en el decimo día ningún animal presentaba disnea o estridor a diferencia de los otros dos grupos.

Para el día 17, 23 y 28 ningún animal de los tres grupos presentaba signos de dificultad respiratoria; ni infección en la herida quirúrgica, dehiscencia de los puntos o formación de enfisema subcutáneo y solo un animal alcanzó 4/8 de los puntos totales de la escala de dolor **(Tabla 1)**⁽⁴¹⁾.

7.2 MACROSCÓPICOS

Durante la inspección macroscópica al final del estudio ningún animal de los tres grupos presentó dehiscencia de la anastomosis, infección, daño a tejidos periféricos o presencia de fístulas. En el grupo II (ECPVP) y III (EGA) no hubo presencia visual de la esponja.

La presencia y tipo de adherencias fueron clasificadas de acuerdo a la escala anteriormente descrita (**Figura 3**).

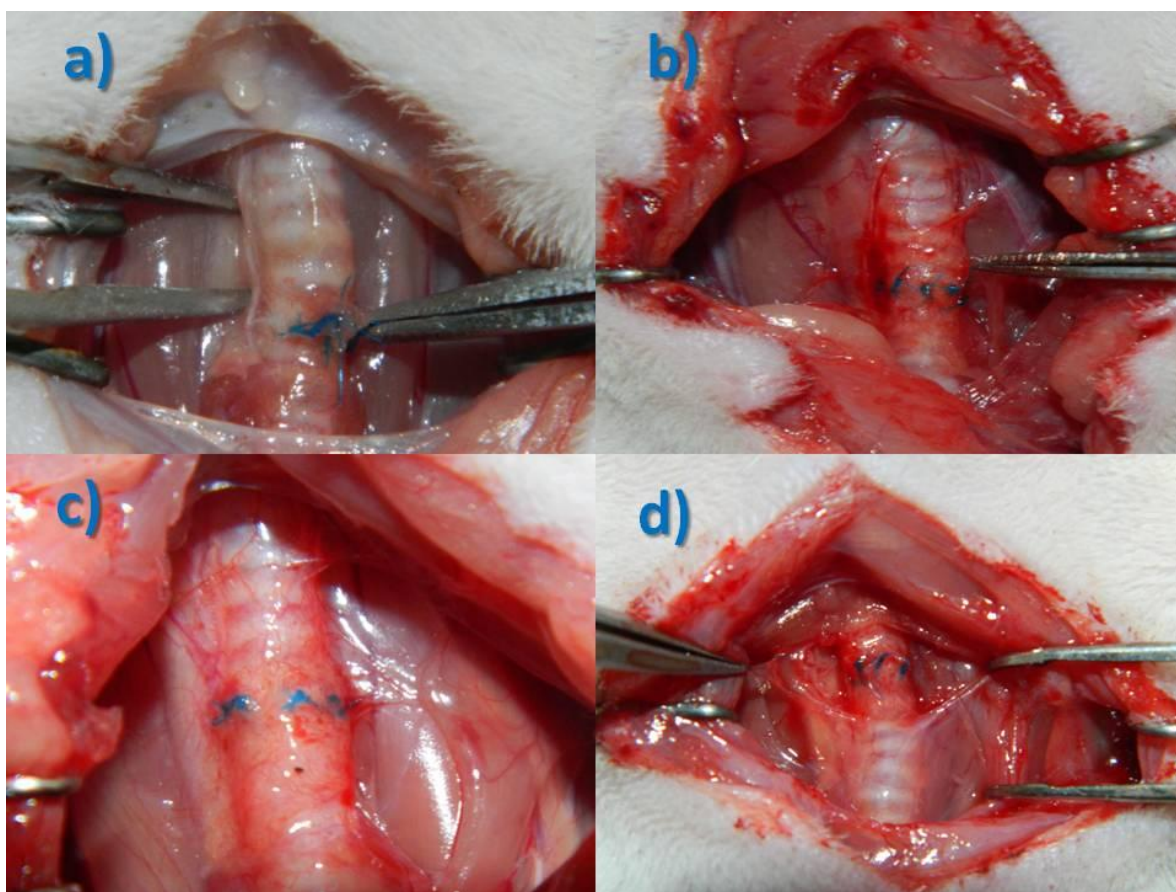
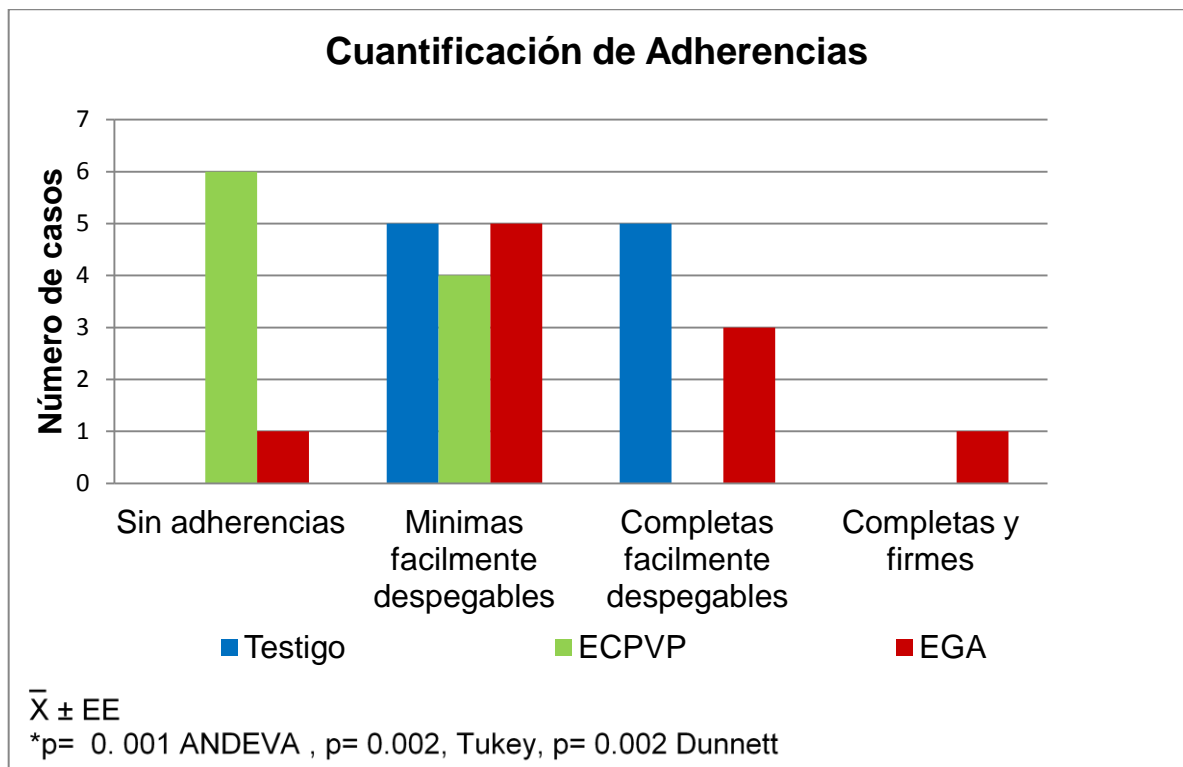


Figura 3. Fotografías con los distintos grados de adherencias de acuerdo a la escala descrita por Olmos-Zúñiga *et al.* (2002); a) sin adherencias; b) adherencias mínimas fácilmente despegables; c) adherencias completas fácilmente despegables y d) adherencias completas y firmes.

Del grupo I, cinco animales presentaron adherencias grado 1 (mínimas fácilmente despegables) y los cinco restantes adherencias grado 2 (adherencias completas fácilmente despegables). En el grupo II, 6 animales no tuvieron adherencias (0 = sin adherencias) y cuatro presentaron adherencias grado 1. Del grupo III, un animal no presentó adherencias; cinco animales presentaron grado 1; tres animales un grado 2 y uno presentó grado 3 (adherencias completas y firmes).

Gráfica 1.



Gráfica 1. Número de animales que presentaron adherencias al finalizar el estudio. Los animales del grupo II (ECPVP), desarrollaron menor presencia y grado de éstas en comparación a los otros dos grupos.

Para determinar el grado de estenosis traqueal se retiró el sitio de la anastomosis y un segmento traqueal sano caudal a la misma para realizar el análisis morfométrico y comparativo de la luz (Figura 4).

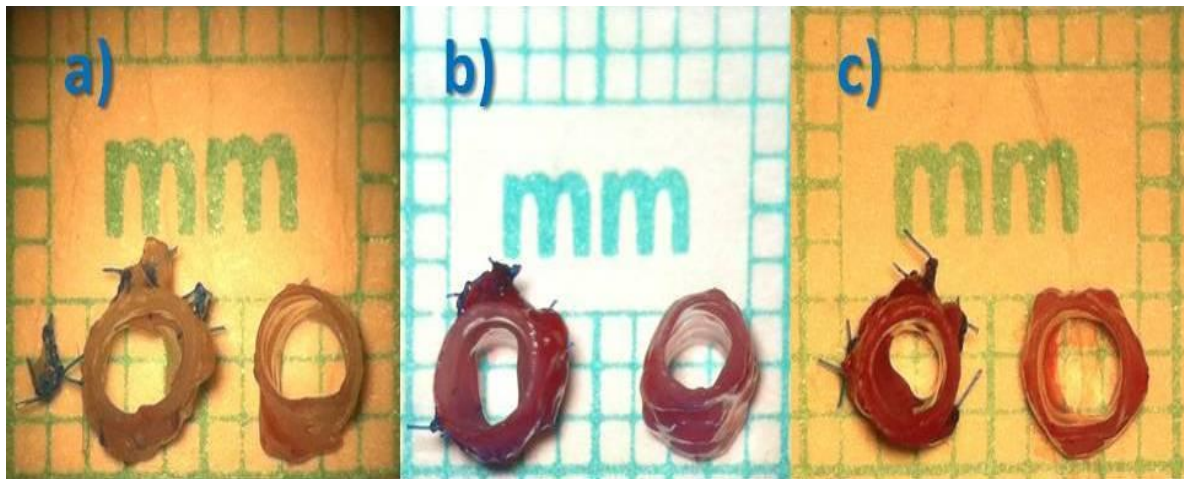
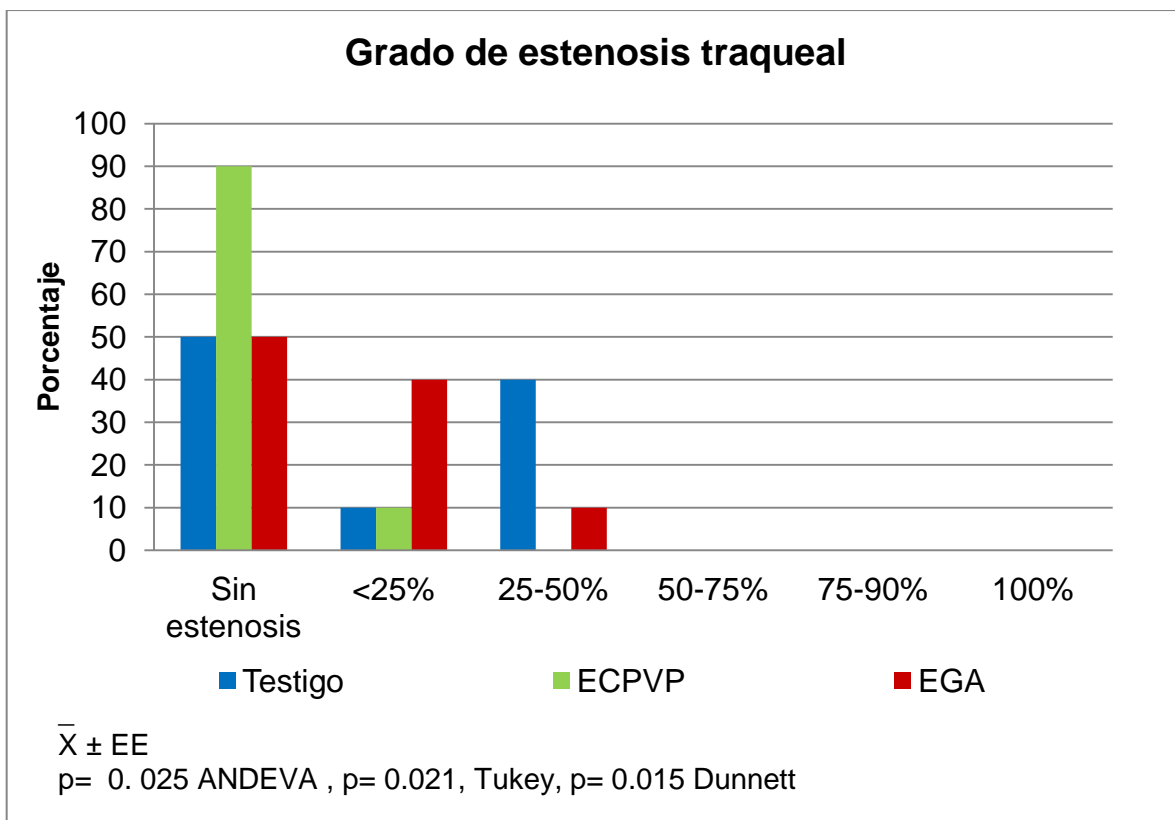


Figura 4. Análisis morfométrico de la luz traqueal. Del lado izquierdo se colocó el sitio de la anastomosis traqueal, del lado derecho un segmento caudal sano como comparativo del diámetro. Se utilizó la escala descrita por Freitag *et al.* (2007) para determinar el grado de estenosis; a) 0= sin estenosis; b) grado 1= estenosis < 25%; c) grado 2= estenosis de un 25 - 50%. No hubo animales que presentaran grado 3, 4 y 5 (50-75%; 75-90% y 100% respectivamente).

El grupo I (testigo) el 50% no presentó estenosis, un 10% presentó grado 1 y el 40% presentó un grado 2; en el grupo II (ECPVP) el 90% no presentó estenosis y solo 1 (10%) presentó grado 1. El grupo III (EGA) el 50% no presentó estenosis, el 40% presentó un grado 1 y el 10% presentó un grado 2. Ningún animal alcanzó grado 3, 4 o 5. (Gráfica 2).



Gráfica 2. Porcentaje de estenosis traqueal en los 3 grupos de acuerdo a la escala descrita por Freitag *et al.* (2007). Se observó que los animales tratados con la ECPVP mostraron menor grado de estenosis; sin embargo al compararlos entre grupos solo fue estadísticamente significativo con el grupo I.

7.3 MICROSCÓPICOS

Microscópicamente todos los anillos controles mostraron apariencia normal. En los anillos del grupo I (testigo) al día 28, el 30% presentó alteración en la arquitectura anatómica normal de la tráquea por pérdida en la continuidad debida a disrupción del cartílago (**Figura 5a**), células gigantes por la presencia de material de sutura en el 30% (**Figura 5b**); el 10% presentó metaplasia ósea del cartílago.

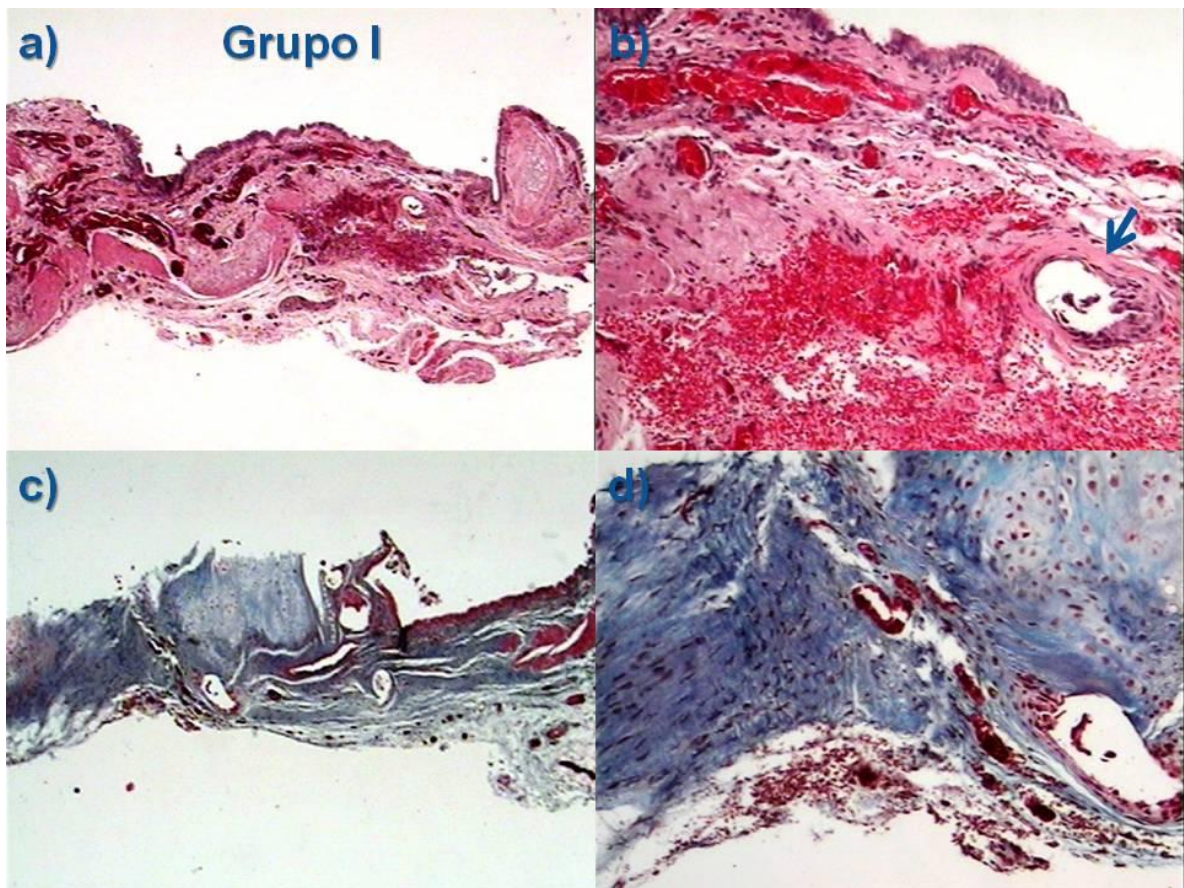


Figura 5. Fotomicrografía del grupo I, al final del estudio en la que a) se observa la pérdida de la arquitectura traqueal (H-E 2x); b) punto de sutura (flecha), congestión y hemorragia grado 3 (H-E 10x); c) gran cantidad de fibras de colágena a lo largo del segmento (Masson 2x); d) y fibrosis severa (Masson 10x).

En los anillos del grupo II no se encontró material compatible con la ECPVP en el sitio de anastomosis, el 40% de los segmentos mostró material de sutura con presencia de células gigantes. El 20% tuvo una pérdida parcial del epitelio y el 10% presentó ruptura del cartílago.

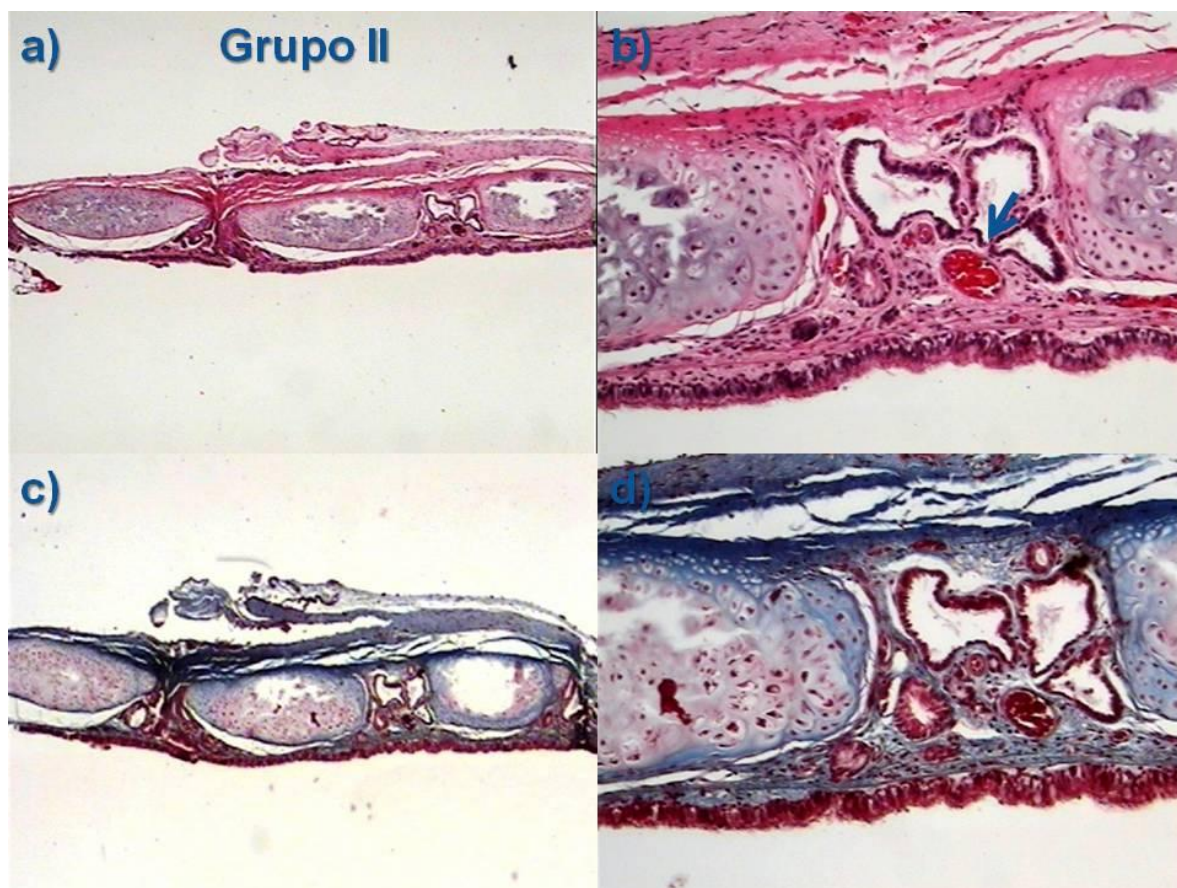


Figura 6. Fotomicrografía de un animal del grupo II; a) se observa el mantenimiento de la arquitectura traqueal (H-E 2x); b) con hemorragia leve (flecha; H-E 10x); c) se observa la disposición de las fibras de colágena lo largo del segmento (Masson 2x); d) fibrosis grado 1 (Masson 10x).

Los anillos del grupo III presentaron en el 40% de los casos pérdida parcial del epitelio, el 10% pérdida completa del mismo; en el 50% de las muestras se observó la presencia de material mucinoso en el sitio de anastomosis compatible con la presencia de EGA (**Figura 7**) y material de sutura en el mismo porcentaje.

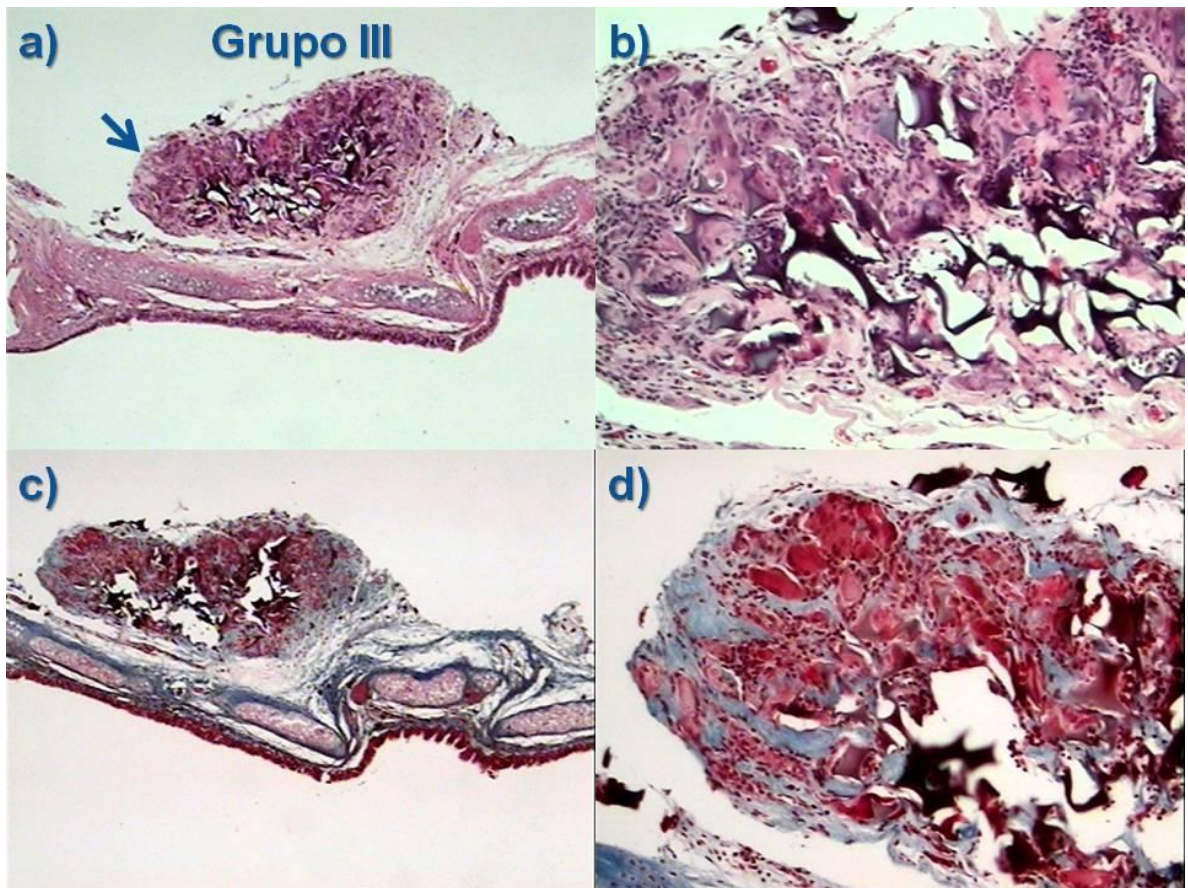
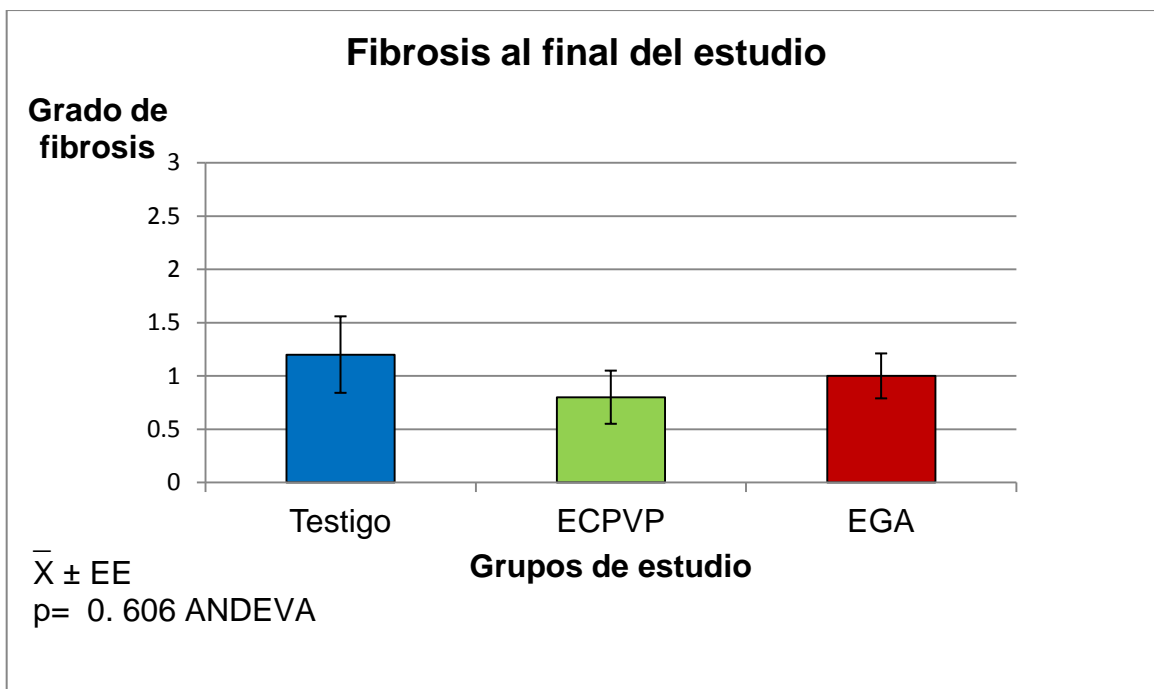


Figura 7. Fotomicrografía del Grupo III en la que; a) se observa material de aspecto mucinoso compatible con la EGA no degradada en el sitio de la anastomosis (flecha) y cambios en la arquitectura traqueal (H-E 2x); b) se observa infiltrado inflamatorio en el material compatible a la EGA (H-E 10X); c) deposición de fibras a lo largo de la anastomosis traqueal (Masson 2x); d) con presencia de fibrosis rodeando al material compatible con la EGA (Masson 10x).

La presencia de congestión y hemorragia en las biopsias de todos los animales del estudio fue de ausente a leve al comparar entre grupos y dentro de cada grupo no mostró diferencias importantes ($p= 0.368$ ANDEVA, $p= 0.250$ ANDEVA respectivamente).

Con respecto al grado de inflamación observada, los animales del grupo III desarrollaron grado 3 (moderada) en comparación con los otros grupos en los que se consideró ausente ($p < 0.001$, ANDEVA, Tukey).

Al comparar el grado de fibrosis microscópica, el grupo II presentó mejor organización y disposición de fibras de colágena y menor deposición de estas en el sitio de la anastomosis (**Figura 6**) comparativamente con los dos grupos restantes, los segmentos traqueales del grupo I presentaron mayor grado de fibrosis; la mitad de los individuos del grupo III presentó mayores grados de fibrosis comparativamente al grupo II en la mitad de la población de estudio (**Gráfica 3**), a pesar de lo anteriormente descrito, estadísticamente no se observaron diferencias ($p= 0.606$ ANDEVA).



Gráfica 3. Gráfica donde se muestra comparativamente el grado de fibrosis obtenido al final del estudio donde no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p= 0.0606$ ANDEVA)

VIII. DISCUSIÓN

La estenosis traqueal pos intubación es originada por la cicatrización patológica, caracterizada por excesiva formación de tejido fibroso. El tratamiento ideal es la resección traqueal y anastomosis término terminal de la misma, no obstante se ha observado que esta no se encuentra exenta de sufrir reestenosis traqueal por la alteración de los mecanismos de la cicatrización; con base en esto, se ha intentado la cirugía en conjunto con el uso de moduladores de la cicatrización a manera de evitar o minimizar estas alteraciones. Dentro de los fármacos más utilizados para este fin se encuentra la mitomicina C; sin embargo no ha tenido el éxito esperado; razón que justifica la búsqueda de otros productos ⁽⁴⁶⁾.

La colágena-polivinilpirrolidona es un biofármaco que existe en forma de suspensión y esponja, la cual se ha utilizado como modulador del proceso de la cicatrización debido a que reduce la respuesta inflamatoria ^(33,37). De forma clínica ha probado ser útil para el tratamiento de patologías crónico degenerativas como osteoartritis, pseudoartrosis de tibia, mastectomías radicales sin reconstrucción quirúrgica y en úlceras venosas ^(36,47,48) donde su empleo ha demostrado que reduce el costo de tratamiento de los pacientes ⁽⁴⁸⁾. Experimentalmente disminuye la formación de adherencias intraabdominales, y estimula la regeneración ósea ^(36,49) en la tráquea con el uso tópico de la suspensión que ha mostrado buenos resultados, ya que evita la reestenosis del sitio de la anastomosis en modelos caninos tras la resección y anastomosis término-terminal ^(29,51,52); pese a ello una desventaja considerable de esta presentación es que requiere de varias aplicaciones, lo cual implica someter a los pacientes a procedimientos anestésicos

y endoscópicos en forma recurrente. En este estudio se trabajó con la ECPVP, la cual aún no ha sido probada de manera previa en la cicatrización traqueal, con el propósito de disminuir la reestenosis posquirúrgica para lo que se aplica externa sobre el sitio de anastomosis; de ser exitosa, evitará los inconvenientes que posee la presentación en suspensión antes mencionada.

Con respecto a los hallazgos clínicos, los animales tratados con la ECPVP mostraron menor tiempo de dificultad respiratoria, debido a que este biofármaco disminuye la inflamación, lo que evitó que se prolongaran los signos inherentes a ésta ⁽³³⁾. Estos hallazgos coinciden con lo descrito por Santillán, Hernández, Iñiguez, González, y Olmos ^(29,51,52,53,54), quienes han estudiado la cicatrización traqueal en diferentes modelos experimentales y han observado que los animales con este tratamiento solo muestran estridor durante la primera semana pos cirugía como sucedió con los animales del grupo II del presente estudio. Algunos animales del grupo I mostraron signos (estridor principalmente) durante los 10 primeros días en virtud de que no recibieron ningún tratamiento y en aquellos que integraron el grupo III en donde se empleo la EGA que carece de propiedades antiinflamatorias también se prolongó el mismo tiempo ^(55,56).

Macroscópicamente en ningún caso se observaron restos o presencia de la ECPVP o de EGA al final del estudio. Este hallazgo para el grupo II (ECPVP), se relaciona de manera probable a que esta esponja se degrada antes de las 4 semanas pos cirugía, como lo describió Olmos-Zúniga *et al* (2009) al estudiar los cambios en la cicatrización al empaquetar el oído medio con la ECPVP pos perforación de la membrana timpánica. En cuanto a la EGA los hallazgos no

coinciden con lo descrito por este autor, quien menciona que a nivel macroscópico, la EGA permanece visible por más de 4 semanas como lo demuestra en el estudio anteriormente mencionado ⁽⁵⁷⁾; lo que no se observó en este trabajo experimental.

Por otro lado los animales tratados con la ECPVP desarrollaron menor grado de adherencias en comparación con los otros grupos de estudio, posiblemente porque este producto actúa disminuyendo la expresión de algunas citocinas fibrogénicas como la IL-1beta, TNF-alfa, TGF-beta1, y PDGF, como lo describió Cervantes-Sanchez *et al* (2003), al estudiar el efecto de la colocación de la ECPVP en la cavidad abdominal de conejos sometidos a apendicectomía ⁽³⁷⁾.

Con respecto a la menor presencia de estenosis mostrada en el grupo II, posiblemente fue originada porque la colágena-polivinilpirrolidona inhibe la respuesta inflamatoria aguda y crónica tanto local como periférica, así como la formación de decorina y colágeno, como lo han reportado varios investigadores que han valorado el efecto de la aplicación tópica de este fármaco en la presentación de suspensión de manera semanal en el sitio de la anastomosis, mejorando la cicatriz de la herida traqueal ^(29,51,52). Los hallazgos de este trabajo coinciden con lo descrito por otros autores que mencionan que el uso de moduladores de la cicatrización en la tráquea como el ácido hialurónico ⁽⁵⁸⁾ o la mitomicina C ^(59,60,61) disminuyen la formación de estenosis traqueal posterior a la resección de tres anillos en perros, no obstante, para el AH se reportó 16.6% de reestenosis; referencia mayor que lo observado en este estudio que arrojó solo el 10%.

En todos los grupos se presentó pérdida del epitelio debido a que durante la cicatrización de las heridas el epitelio traqueal dañado es sustituido por colágena de neoformación durante la fase de remodelación de tejidos ⁽⁶²⁾.

Las células gigantes a cuerpo extraño que se observaron en la zona de las suturas de todos los grupos de estudio, se consideró como respuesta inflamatoria crónica granulomatosa donde el material de sutura utilizado durante la anastomosis traqueal provocó la fusión de los macrófagos y al digerirlo dio lugar a la formación de estas células gigantes ⁽⁵⁸⁾.

Con respecto al mayor grado de inflamación y fibrosis mostrado por los animales tratados con EGA, se atribuyó a que la esponja carece de propiedades antiinflamatorias; además actuó como cuerpo extraño que originó mayor inflamación y desorganización en las fibras de colágena, así como la reorganización de estas ⁽⁵⁷⁾. En las ratas del grupo II se observó menor inflamación lo que confirma que la ECPVP inhibe la expresión de citocinas profibrogénicas y promueve la formación de fibras de colágena organizadas semejante a las observadas en los tejidos normales ^(33,63,64), y en los estudios experimentales de tráquea.

IX. CONCLUSIÓN

La colágena polivinilpirrolidona en esponja, en la rata como modelo experimental, posterior a la resección de anillos traqueales cervicales sobre el sitio de anastomosis, demostró que reduce las adherencias y el grado de estenosis traqueal, lo que concuerda con estudios previos de acuerdo a la literatura.

Estos hallazgos requieren ser llevados a cabo en otras especies que posibiliten la evaluación del paciente desde el punto de vista endoscópico, lo que permitirá reforzar los hallazgos encontrados en el presente estudio y en algún momento traspolarse a la cirugía en humanos; lo que denota la importancia de la cirugía experimental en la investigación biomédica.

X. REFERENCIAS

1. Grillo HC. Development of Tracheal Surgery : A Historical Review . Part 1 : Techniques of Tracheal Surgery. 2003; 610–9.
2. Samuelson DA. Textbook of Veterinary Histology. 1st ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2007.
3. Standring S. Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice, Expert Consult - Online and Print. 40th ed. London: Elsevier Health Sciences, 2008.
4. König HE, Liebich HG. Anatomía de los animales domésticos. 4th ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2005.
5. Marieb EN, Hoehn K. Human Anatomy & Physiology. 8th ed. Physiology. San Francisco CA: Pearson Education Inc, 2007.
6. Papla B, Dyduch G, Frasik W, Olechnowicz H. Post-intubation tracheal stenosis--morphological-clinical investigations. Pol J Pathol. 2003;54(4):261–6.
7. Zaldívar JA, Santiago JE, Mora R, Torres NA, Careaga G. Manejo quirúrgico de la estenosis traqueal en pediatría. Experiencia de 2001 a 2011. Neumol Cir Tórax. 2011;70(4):243–6.
8. Solly WR, O'Connell RJ, Lee HJ, Serman DH, Haas AR. Diagnosis of idiopathic tracheal stenosis and treatment with papillotome electrocautery and balloon bronchoplasty. Respir Care. 2011;56(10):1617–20.
9. Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG. Schwartz Principios de cirugía. 9na ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 2011.

10. Lorente-Ludlow F, Pinedo-Onofre J, Morales-Gómez J, Téllez-Becerra J. Duración de intubación orotraqueal y longitud de estenosis traqueal posintubación, una relación no establecida. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex.* 2008;21:181–6.
11. Valadez-Caballero D, Pérez-Romo A, González V, Flores-Calderón O, Borrego R, Peña JF, et al. Tratamiento quirúrgico de la estenosis traqueal. *Cir Gen.* 2009;31:239–43.
12. Delgado-Pecellín I, González-Valencia J, Machuca-Contreras M, Pineda-Mantecón M. Clínica , diagnóstico y tratamiento de las estenosis traqueales. *An Pediatría.* 2014;70(5):443–8.
13. Jyi Lin Wong, Siew Teck Tie, Bohari Samril, Chee Lun Lum, Mohammad Rizal Abdul Rahman, Jamalul Azizi Abdul Rahman. Successful treatment of tracheal stenosis by rigid bronchoscopy and topical mitomycin C: a case report. *Cases J.* 2010;3.
14. Serrano C, Laborda A, Lozano JM, Caballero H, Sebastián A, Lopera J, et al. Metallic Stents for Tracheobronchial Pathology Treatment. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2013;
15. Food and Drug Administration. FDA public health notification:Complications from metallic tracheal stents in patients with benign airway disorders. 2005.
16. Zozzaro M Harirchian S CE. Flexible Fiber CO2 Laser Ablation of Subglottic and Tracheal Stenosis. *Laryngoscope.* 2012;122:128–30.
17. Gelb AF Epstein JD. Nd-YAG laser treatment of tracheal stenosis. *West J Med.* 1984;141:472–5.

18. Bagheri R, Majidi M, Ehsan Khadivi, Alireza Sharifian, Azadeh Tabari. Outcome of surgical treatment for proximal long segment post intubation tracheal stenosis. *J Cardiothorac Surg.* 2013;8(35).
19. Villalba-Caloca J, Sotres-Vega A, Santibáñez-Salgado JA, Baltazares-Lipp M, Mendoza-Santiago M, Morales-Tiburcio JA, et al. Criopreservación de segmentos traqueales: Efecto del tiempo de congelación sobre la integridad estructural del cartílago. *Neumol Cir Tórax.* 2010;69(1):7–13.
20. Wright CD, Grillo HC, Wain JC, Wong DR, Donahue DM, Gaissert H a, et al. Anastomotic complications after tracheal resection: prognostic factors and management. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;128(5):731–9.
21. Bielsa Marsol I. Proceso de cicatrización de las heridas. *Piel.* 2006;21(4):207–12.
22. Teller P, White TK. Fisiología de la cicatrización de la herida: de la lesión a la maduración. *Surg Clin N Am.* 2009;89(3):599–610.
23. Monaco JL, Lawrence T. Acute wound healing An overview. *Clin Plast Surg.* 2003;30:1–12.
24. Rodríguez-Revilla I, Olmos-Zúñiga R, Jasso-Victoria R, Soda-Merhy A, Sotres-Vega A, Baltazares-Lipp M, et al. Efecto del factor de crecimiento del endotelio vascular en la cicatrización traqueal (traqueoplastia o autotrasplante) en ratas. *An Orl Mex.* 2009;54(2):55–62.
25. Dodge-Khatami A, Backer C, Holinger L, Mavroudis C, Crawford S. Healing of a free tracheal autograft is enhanced by topical vascular endothelial growth

factor in an experimental rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2001;122(3):554–61.

26. Hernández CA, Toro AM. Enfoque y manejo de cicatrices hipertróficas y queloides. *Rev Asoc Colomb Dermatol.* 2011;19:218–28.

27. Diegelmann R, Evans M. Wound Healing: An overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci.* 2004;9:283–9.

28. Cetin S, Tobey AB, Sandulache VC, Yang T, Barsic M, Lin Y, et al. Cyclooxygenase-2 inhibition for the prevention of subglottic stenosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012;138(10):962–8.

29. Olmos-Zúñiga JR, Hernández-Jiménez C, Díaz-Martínez E, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Gaxiola-Gaxiola MO, et al. Wound healing modulators in a tracheoplasty canine model. *J Invest Surg.* 2007;20(6):333–8.

30. Jong-Lyel R Dong-HyunK, Ki Sang R, Myung-Whun S, Kwang-Hyun K C-IP. Benefits and risks of mitomycin use in the traumatized tracheal mucosa. *Otolaryngol Neck Surg.* 2007;136:459–63.

31. Iñiguez-Cuadra R, San Martín Prieto J, Iñiguez-Cuadra M, Zúñiga Erranz S, Jofré Pavez D, González Bombardiere S, et al. Effect of mitomycin in the surgical treatment of tracheal stenosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;134(7):709–14.

32. Furuzawa-Carballeda J, Rojas E, Valverde M, Castillo I, León LD de, Krötzsch E. Cellular and humoral responses to collagen-polyvinylpyrrolidone administered during short and long periods in humans. *Can J Physiol Pharmacol.* 2003;81(11):1029–35.

33. Kröttsch E, Díaz de León E, Furuzawa GJ, Márquez R QE. Cytokine expression is down regulated by collagen-polivinylpirrolidone in hypertrophic scars. *J Invest Dermatol.* 1998;111:828–34.
34. Mendieta-Zerón H, Kröttsch-Gómez F, Hernández-Muñoz R. Interleucina 1 beta (IL-1 beta) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) en úlceras de decúbito tratadas con colágena-polivinilpirrolidona versus placebo. *Gac Med Bilbao.* 2007;104:102–5.
35. Rodriguez R, Furuzawa J, Corchado A, Kröttsch F. Collagen-polyvinylpirrolidone promotes human wound healing through cytokine down modulation. *Wound Rep Reg.* 2001;9:166.
36. Suárez C, Salgado RM AA. Inducción del tejido de granulación por pasta de Lassar vs colágena polivinilpirrolidona en úlceras por insuficiencia venosa. *Cir Plast.* 2004;14(1):5–13.
37. Cervantes-Sánchez CR, Olaya E, Testas M, Garcia-López N, Coste G, Arrellin G, Luna A KF. Collagen-PVP, a collagen synthesis modulator, decreases intraperitoneal adhesions. *J Surg Res.* 2003;110(1):207–10.
38. Olmos-Zuñiga J, González-López R, Gaxiola-Gaxiola M, Cristerna-Sanchez L, Villalba-Caloca J, Baltazares-lipp M, et al. Effects of Middle Ear Packing with Collagen Polyvinylpyrrolidone and Hyaluronic Acid in Guinea Pigs. *J Investig Surg.* 2012;25:398–404.
39. Estados Unidos Mexicanos. AFÍA. Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. *Diario Oficial de la Federación* 6-Dic-1999.

40. National Institutes of Health USA. Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health USA. Edición Mexicana auspiciada por la Academia Nacional de Medici. Institute of Laboratory Animal Resources Council. Mexico DF; 2002.
41. Sotocinal SG, Sorge RE, Zaloum A, Tuttle AH, Martin LJ, Wieskopf JS, et al. The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Mol Pain*. 2011;7(1):55.
42. Leary S, Underwood W, Lilly E, Anthony R, Cartner S, Corey D, et al. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals : 2013 Edition. 2013.
43. Olmos-Zúñiga JR, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Gaxiola-Gaxiola MO, Argote-Green LM, Lara-Guerra H, et al. Evaluación de la utilidad del pericardio bovino en resecciones pulmonares no anatómicas en perros. *Rev Investig Clínica*. 2002;54(4):334–41.
44. Freitag L, Ernst a, Unger M, Kovitz K, Marquette CH. A proposed classification system of central airway stenosis. *Eur Respir J*. 2007;30(1):7–12.
45. Veiga A, Rendal M, Matheu G, Andi3n C. S3nchez J, Segura R y col. Cambios histopatol3gicos en arterias humanas sometidas a procesos de isquemia fr3a y criopreservaci3n. *Angiologia*. 2004;56(2):97–105.
46. Ten Hallers EJO, Rakhorst G, Marres H a. M, Jansen J a., van Kooten TG, Schutte HK, et al. Animal models for tracheal research. *Biomaterials*. 2004;25(9):1533–43.

47. Ruiz-Eng R, Montiel-Jarquín Á, De la Rosa-Pérez R, López-Colombo A, Gómez-COnde E, Zamudio-Huerta L. Colágeno-polivinilpirrolidona, nueva opción para tratar secuelas de la mastectomía radical en mujeres con cáncer mamario. Informe preliminar. *Cir y Cir.* 2010;78:310–4.
48. Bermúdez-Hickey R, Nesme-Avila W, Ruiz-Flores L, Suárez E. Tratamiento de la pseudoartrosis de tibia con colágeno-polivinilpirrolidona. *Rev Mex Ortop Traum.* 1999;13(2):148–51.
49. Mendieta-Zerón H. Reducción de costos de atención médica con el empleo de colágena PVP. *Rev Esp Med Quir.* 2002;7(2):32–5.
50. Chimal-Monroy J, Bravo-Ruiz T, Krötzsch-Gómez, Fernando E. Díaz de León L. Implante de Fibroquel aceleran la formación de hueso nuevo en defectos óseos inducidos experimentalmente en cráneos de rata: un estudio histológico. *Rev Biomed.* 1997;8(2):81–8.
51. González-González A. Efecto de la aplicación de la mezcla de ácido hialurónico y colágeno polivinil-pirrolidona y de la Mitomicina C sobre la expresión en Decorina en la cicatriz postraqueoplastía en un modelo experimental canino. Tesis de Especialidad en Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello. Facultad de Medicina, UNAM; 2013.
52. Hernández-Jiménez C. Efecto del ácido hialurónico y colágeno polivinilpirrolidona sobre la cicatrización traqueal en un modelo experimental canino. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM; 2005.
53. Íñiguez M. Tipificación de la colágena producida en la cicatrización traqueal postraqueoplastía después de la aplicación de diferentes moduladores de la

cicatrización en la anastomosis traqueal. Estudio experimental. Tesis Especialidad en Cirugía Cardioracica. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México; 2011.

54. Santillán A. Efecto de diferentes moduladores cicatrízales en la traqueoplastía. Tesis Especialidad en Otorrinolaringología, Cirugía de Cabeza y Cuello. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México; 2006.

55. Silva BSR Da, Dolci JEL. Experimental study of the use of auricular cartilage with and without Gelfoam® on the nasal dorsum of rabbits. Braz J Otorhinolaryngol. 2014;80(2):111–9.

56. Pfizer. Gelfoam®. EU; 2012. p. 7.

57. Olmos-Zúñiga R, González-López R, Gaxiola-Gaxiola M, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Santibáñez-Salgado A, et al. Empaquetamiento del oído medio con esponja de colágena polivinil pirrolidona . Estudio experimental en cobayos. 2009;61:497–504.

58. Olmos-Zúñiga J, Santos-Cordero J, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Gaxiola-Gaxiola M, JR M-F, et al. Efecto del ácido hialurónico sobre la cicatrización traqueal en un modelo experimental canino. Acta Otorrinolaringológica Española. 2004;55:81–7.

59. Abbas M, Mohajeri D. Microscopic comparison of topical use of Mitomycin C and Fluorouracil on cold knife myringotomy. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2012;76:9–13.

60. Eliashar R, Eliachar I, Esclamado R, Gramlich T, Strome M. Can Topical Mitomycin Prevent Laryngotracheal Stenosis. *Laryngoscope*. 1999;109(10):1594-600
61. Rahbar R, Shapsay SM, Healy GB. Mitomycin: Effects on laryngeal and tracheal stenosis, benefits and complications. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2001;110:1–6.
62. Donahue T, Hiatt J, Busuttill R. Collagenase and surgical disease. *Hernia*. 2006;10:478–85.
63. Furuzawa J, González I, Corchado A, Arrellin G, Krötzsch E. La colágena-polivinilpirrolidona administrada localmente previene la formación de adherencias peritoneales en un modelo murino. *Rev Esp Med Quir*. 2001;6:11–6.
64. Furuzawa J, Rodríguez R, Díaz de León L, Alcocer J. Mediators of inflammation are down-regulated while apoptosis is up-regulated in rheumatoid arthritis synovial tissue by polymerized collagen. *Clin Exp Immunol*. 2002;130:140-9.