



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS "ISMAEL COSÍO VILLEGAS"

**INTEGRACIÓN Y CICATRIZACIÓN DE UNA BIOPRÓTESIS DE
PERICARDIO BOVINO TRATADO CON GLUTARALDEHÍDO COMO
SUBSTITUTO DE LA PORCIÓN MEMBRANOSA DE LA TRÁQUEA
CERVICAL EN UN MODELO ANIMAL EXPERIMENTAL**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN:
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y
CUELLO

PRESENTA:
DRA. ELIZABETH PARRA PÉREZ

TUTOR:
DR. ARTURO IVAN GONZÁLEZ GONZÁLEZ

ASESORES:
M EN C J. RAÚL OLMOS ZUÑIGA
M EN C ROGELIO JASSO VICTORIA



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.

APROBADA POR

DR. JUAN CARLOS VÁZQUEZ GARCÍA
Director de Enseñanza

DRA. MARGARITA FERNÁNDEZ VEGA
Subdirectora de Enseñanza

DRA. MARÍA DEL CARMEN CANO SALAS
Jefa de Departamento de Formación de Posgrado

DR. ARMANDO R. CASTORENA MALDONADO
Profesor Titular de la Especialidad de Otorrinolaringología y Cirugía de
Cabeza y Cuello

DR. ARTURO IVÁN GONZÁLEZ GONZÁLEZ
Tutor de tesis
Médico adscrito al Departamento de Otorrinolaringología y Cirugía de
Cabeza y Cuello

M. EN C. J. RAÚL OLMOS-ZUÑIGA
Investigador en Ciencias Medicas "D" del
Departamento de Cirugía Experimental INER,
SNI 1 Sistema Nacional de Investigadores
Asesor de Tesis

MC. ROGELIO JASSO VICTORIA
Investigador en Ciencias Medicas "D" del
Departamento de Cirugía Experimental INER,
SNI 1 Sistema Nacional de Investigadores
Asesor de Tesis

COLABORADORES

- MVZ Mariana Silva Martínez, Departamento de Cirugía Experimental INER.
- QFB Matilde Baltazarez Lipp, QFB Adscrito al Departamento de Cirugía Experimental INER.
- Dr. Miguel Gaxiola Gaxiola, Investigador en Ciencias Médicas "C". Departamento de Morfología INER.
- Dra. Claudia Hernández Jiménez. Investigador en Ciencias Médicas "C". Departamento de Cirugía Experimental INER.

**Integración y cicatrización de una bioprótesis de pericardio
bovino tratado con glutaraldehído como sustituto de la
porción membranosa de la tráquea cervical en un modelo
animal experimental.**

INDICE

Introducción	5
Anatomía de la tráquea.....	5
Fisiología de la tráquea.....	6
Trauma traqueal	7
Tratamiento de los traumas traqueales	12
Materiales utilizados para reparación traqueal	12
Justificación	17
Hipótesis	17
Objetivos	18
Material y Métodos	18
Resultados	28
Discusión	35
Conclusión	36
Referencias Bibliográficas	37

Integración y cicatrización de una bioprótesis de pericardio bovino tratado con glutaraldehído como sustituto de la porción membranosa de la tráquea cervical en un modelo animal experimental.

INTRODUCCION

ANATOMIA DE LA TRAQUEA

La tráquea es un tubo semiflexible que mide entre 1.5 y 2.0 cm de diámetro y de 10 a 13 cm de longitud, situándose entre la sexta o séptima vértebra cervical hasta la cuarta o quinta vertebral torácica en donde se bifurca en dos bronquios principales a nivel de la carina.

El esqueleto traqueal está conformado por alrededor de 20 anillos incompletos de cartílago hialino, los cuales dan soporte a las paredes anterior y laterales. La pared posterior esta formada por una capa de músculo liso y tejido conectivo fibroso. El músculo contiene fibras longitudinales y transversas, estas últimas fibras, denominadas en conjunto musculo traqueal, conectan las porciones terminales de cada anillo cartilaginoso en la parte posterior.

El epitelio traqueal consiste en un epitelio columnelar pseudoestratificado con kinocilios y células de globet que producen una capa de moco en la superficie del mismo. La tráquea tiene glándulas seromucinosas que se localizan en el tejido conectivo que separa la capa epitelial del cartílago. La función de estas glándulas que drenan hacia el lumen traqueal, es lubricar el aire inspirado y

crear una capa protectora en la luz traqueal. La dirección del movimiento de los kinocilios es en dirección hacia la laringe, con el fin de transportar partículas y detritus celulares desde los pulmones hacia el exterior.

FISIOLOGIA DE LA TRAQUEA

La tráquea tiene 3 funciones principales: Conducir el aire entre la laringe y los bronquios, calentar y humidificar el aire y remover partículas del aire.

TRANSPORTE DEL AIRE EN LA TRAQUEA

El transporte del aire depende principalmente del diámetro interno de la tráquea. La resistencia al flujo a través de un tubo, representado por la ley de Hagen-Poiseuille, es inversamente proporcional al radio del tubo elevado a la cuarta potencia, siempre y cuando ese flujo sea laminar. El edema en la mucosa, la constricción de los músculos de la vía aérea, tumores que reducen el espacio en la vía aérea e inclusive la presencia de tubos endotraqueales, incrementan considerablemente la resistencia al flujo de aire: una reducción del 50% en el diámetro interno de la tráquea incrementa la resistencia 16 veces, y si el flujo es turbulento, incrementa hasta 32 veces.

ACONDICIONAMIENTO DE AIRE

Durante la inspiración, la vía aérea superior calienta y humidifica el aire inspirado. Este proceso es muy eficiente, durante una respiración tranquila

estando en una habitación a temperatura ambiente, el aire inspirado se calienta a 37°C y se humidifica al 100% una vez que alcanza el nivel de la carina.

REMOCION DE MICROORGANISMOS Y DETRITUS CELULARES

Las glándulas traqueobronquiales producen una secreción rica en mucina que forma una barrera protectora entre el epitelio y el ambiente. Esta secreción está controlada por el sistema nervioso autónomo, modulado por diversos mediadores inflamatorios, los cuales forman 3 capas; Capa "sol" que se encuentra en proximidad al epitelio, haciendo posible el movimiento ciliar. La capa sol esta cubierta por la capa "gel", y entre ambas existe una capa de surfactante. La capa gel, que contiene principalmente mucina, recolecta los detritus y microorganismos y los transporta en dirección cefálica gracias a los movimientos ciliares y al flujo aéreo durante la espiración. ⁽¹⁾

TRAUMA TRAQUEAL

La tráquea y el esófago tienen una proximidad anatómica muy cercana, están separados únicamente por una capa de tejido conectivo muy delgada. Cualquier daño o enfermedad de uno o ambos puede llevar a la pérdida de la capa de tejido que los separa, formar una fistula y conectar ambos lúmenes; la creación de este trayecto fistuloso conlleva a la contaminación del aire inspirado con secreciones, alimento y contenido gástrico, con el consecuente daño al parénquima pulmonar.⁽²⁾

Los defectos de la tráquea, bronquios o esófago pueden ser totales o parciales y pueden ser el resultado de una intubación oro-traqueal prolongada, complicaciones de cirugías de la vía aerodigestiva, defectos congénitos, trauma, radiación o enfermedades neoplásicas. ⁽²⁾

El trauma traqueal engloba un conjunto de entidades que se pueden clasificar con base a su mecanismo de lesión, sitio anatómico del daño y severidad de las complicaciones respiratorias subsecuentes. En el caso del trauma traqueal agudo, lo más importante es determinar si el daño al tejido es secundario al mecanismo del trauma o es una laceración iatrogénica, ya que en el caso de la última, es raro encontrar ruptura esofágica, mientras que en las lesiones secundarias a traumatismo, ya sea contuso o penetrante, frecuentemente se acompañan de compromiso esofágico y pueden ocasionar daños que puedan comprometer la vida. ⁽³⁾

TRAUMAS DE ACUERDO A SU MECANISMO DE LESIÓN.

TRAUMA IATROGÉNICO

El trauma traqueal de origen iatrogénico es una complicación rara que puede presentarse posterior a intubación endotraqueal, dilataciones traqueales, traqueostomías percutáneas o broncoscopías rígidas, con una incidencia del 0.05% al 0.5%. Algunas situaciones que están asociadas a mayor riesgo de trauma traqueal iatrogénico son: traqueostomías o cricotiroidotomías de urgencia, intubación por parte de personal no capacitado, uso de guías y estiletes durante la intubación y realización de traqueostomías percutáneas por

dilatación, sobre todo si no es controlado mediante broncoscopía. Así mismo, también existen factores de riesgo relacionados al paciente: género femenino, edad entre 50 y 70 años, índice de masa corporal elevado, uso prolongado de corticoesteroides.

Los signos y síntomas de un trauma traqueal iatrógeno son los mencionados a continuación:

Tabla 1. Signos y síntomas de trauma traqueal iatrógeno
Hemoptisis o sangre a través del tubo orotraqueal posterior a intubación
Enfisema subcutáneo y mediastinal expansivo
Neumotórax o neumotórax a tensión posterior a intubación o manipulación traqueal
Fuga masiva de aire a través de la boca en pacientes con ventilación mecánica
Pacientes con respiración espontánea pueden presentar colapso traqueal espiratorio con la consecuente fatiga respiratoria y la necesidad de reintubación
Incremento súbito en la presión respiratoria y ensanchamiento mediastinal cuando la porción distal del tubo de ventilación pasa a través de la lesión

Debido a que el retraso en el tratamiento correcto de la lesión incrementa el riesgo de complicaciones mayores y muerte, especialmente si existe daño esofágico, se deben de realizar los procedimientos necesarios para confirmar el diagnóstico, clasificar la lesión y planear el tratamiento. Los estudios de imagen como radiografías y tomografías de tórax muestran enfisema mediastinal y subcutáneo, neumotórax y ensanchamiento del diámetro traqueal alrededor de la sonda traqueal.

El primer paso en el tratamiento de un trauma traqueal iatrógeno es colocar una sonda de drenaje torácico; posteriormente se debe realizar una evaluación mediante broncoscopía de todo el árbol traqueo bronquial para identificar el sitio de la lesión.

TRAUMA NO IATROGÉNICO

Las lesiones trauma no iatrogénicos, generalmente son trauma contusos o penetrantes que ocurren acompañados de daño a otras estructuras, como a los grandes vasos, por lo que es importante su reconocimiento y pronta intervención, ya que el pronóstico de sobrevivencia del paciente depende principalmente del aseguramiento de la vía aérea.

El trauma contuso es el más frecuente (59%) y se relaciona en la mayoría de los casos a accidentes automovilísticos; su mortalidad es del 9%; mientras que el trauma penetrante tiene una menor incidencia, aproximada en 2.8% de los casos, de los cuales las rupturas traqueales transversas son las más comunes (71%) en comparación a las longitudinales (18%). Cerca del 75 a 80% de los traumas penetrantes involucran la tráquea cervical y 43% afectan los primeros 2 cm del bronquio principal derecho.

El diagnóstico de un trauma traqueal puede pasar desapercibido inicialmente, en especial cuando existe daño a otros órganos. La taquipnea y el enfisema subcutáneo son los signos clínicos más comunes. El neumotórax y

neumomediastino son más frecuentes en pacientes con daño a la tráquea intratorácica.

En la siguiente tabla se enlistan los signos clínicos del daño traqueobronquial.

Tabla 2. Signos clínicos de daño traqueobronquial
Salida de aire a través de una herida cervical
Fuga masiva de aire posterior a la colocación de un tubo de toracostomía
Persistencia de colapso pulmonar a pesar de drenaje adecuadamente colocado
Hemoptisis
Estridor
Cianosis
Enfisema subcutáneo
Disnea progresiva y taquipnea
Disfagia

Las tomografías de tórax son de gran ayuda al momento de evaluar lesiones asociadas, que están presente en alrededor del 75% de los pacientes con trauma contuso traqueobronquial. Así mismo, el estudio tomográfico es útil para detectar lesiones torácicas que no se sospechaban en pacientes politraumatizados.

En pacientes con alto índice de sospecha de trauma traqueobronquial, la tomografía puede servir como estudio diagnóstico al demostrar aire paratraqueal (93%), enfisema cervical profundo y neumomediastino (100%). La tomografía es menos sensible para determinar el sitio de daño a la pared traqueal, detectándose sólo en 71% de los casos. La deformidad de las paredes traqueales, discontinuidad o trazos de fractura en los anillos traqueales son raras encontrarlas en estudio de imagen (14%).

La broncoscopía es el procedimiento diagnóstico más importante en pacientes con traumatismos traqueobronquiales para determinar exactamente el sitio y gravedad de la lesión.

Las lesiones más comúnmente asociadas a trauma traqueobronquial son: neumotórax, hemotórax, fracturas costales, contusión pulmonar con ruptura del parénquima, fracturas laríngeas con daño al nervio laríngeo recurrente, daño esofágico, daño a la médula espinal cervical, daño a grandes vasos intratorácicos o daño cardíaco, daño a carótidas o yugulares. ⁽³⁾

TRATAMIENTOS DE LOS TRAUMAS TRAQUEALES.

Diversos estudios han descrito el uso de diferentes prótesis creadas mediante ingeniería de tejidos para reparar los defectos traqueales; otros estudios han mostrado resultados prometedores mediante la realización de trasplantes con donación de tráqueas homólogas, sin embargo, esto tiene sus limitantes, entre ellas que la preparación de la tráquea donada requiere mucho tiempo y el receptor debe de tomar inmunosupresores; además, la tráquea donada no es una opción viable para la reparación de defectos parciales, y tampoco está disponible en caso de traumas agudos. ⁽⁴⁾

Los defectos traqueales parciales son mucho más comunes que los defectos totales o circunferenciales. Por lo general, los defectos pequeños pueden ser reparados mediante cierre primario con suturas, mientras que los defectos grandes requieren resección segmental con anastomosis término-terminal; sin

embargo, los defectos medianos, con tamaño aproximado de 2 x 2 cm², no tienen un manejo estandarizado, ya que el cierre primario puede causar estenosis, y la anastomosis término-terminal incrementa la morbilidad, ameritando control intra y postoperatoria de la tensión en el sitio de anastomosis. Para la reparación de este tipo de defectos se ha descrito el uso de varias prótesis y materiales pero ninguna de ellas ha mostrado ser el material ideal. ⁽⁴⁾

MATERIALES PROTÉSICOS UTILIZADOS PARA LA REPARACIÓN DE TRAUMAS TRAQUEALES PARCIALES

Los materiales protésicos utilizados para la reparación de traumas traqueales parciales pueden ser de origen sintético o biológico cada uno con sus ventajas y sus desventajas.

Materiales Biológicos

Algunos de los materiales protésicos que se utilizan para la reparación de defectos traqueales se obtienen de tejido cadavérico y son tratados químicamente, criopreservados o liofilizados para remover los componentes celulares que pudieran generar una reacción inmunológica en el receptor.

Algunos de ellos son:

Matriz Dérmica Acelular

Su uso se inició en 1990 para cubrir quemaduras profundas, sin embargo, recientemente se ha visto su utilización en la reparación de paredes abdominales, reconstrucción mamaria o defectos faríngeos. En 2006, Bozuk y cols. Reportaron su uso en la reparación de defectos esofágicos y Su y Cols. en 2008 la utilizaron para reparar fístulas traqueoesofágicas grandes. En estos estudios se describe que por el tipo de proceso al que es sometido para su preparación, el receptor no amerita tomar inmunosupresores.

Injertos de Aorta

Inicialmente se utilizaron para reparar válvulas aórticas. En 1959 se empezaron a utilizar para reparación de defectos traqueales y esofágicos. En 1999 se escribió el primer reporte clínico en donde describen la experiencia de su uso en reparación de defectos de la vía aérea con resultados variables.

En nuestro Instituto se ha trabajado con injertos de aorta preparados mediante criopreservación, la cual es una técnica que preserva los vasos sanguíneos y disminuye la antigenicidad, manteniendo la integridad y arquitectura de los tejidos, permitiendo su adecuada integración a los huéspedes. En el estudio realizado en 2009 en el servicio de cirugía experimental, en donde 6 perros fueron sometidos a xenotransplante traqueal con injerto de aorta bovina criopreservada, se obtuvieron resultados similares a los descritos por Azorin et al(5), con evolución clínica desfavorable, con estridor y disnea entre los 3 y 15 días posterior a la cirugía, secundario a colapso del injerto de aorta por pérdida del tono muscular, así como necrosis y fistulización por falta de aporte vascular.

Se concluyó que no es viable utilizar injertos de aorta bovina criopreservada para la sustitución de segmentos traqueales, debido a que se necrosan y fistulizan por la falta de aporte sanguíneo o por rechazo. ⁽⁶⁾

Tráquea

Se han utilizado injertos de tráquea, sin embargo, el resultado generalmente es la reestenosis o necrosis del segmento traqueal injertado, así como la formación de tejido de granulación en el sitio de anastomosis. ⁽²⁾

La experiencia con el alotransplante de tráquea es anecdótica debido a las dificultades en cuanto al restablecimiento del flujo sanguíneo del injerto y las altas tasas de rechazo y necrosis. Actualmente se están realizando protocolos para garantizar la viabilidad del injerto, mediante revascularización por transplante ortotópico y uso de inmunosupresores; las desventajas son que la preparación del aloinjerto requiere de aproximadamente 2 a 3 semanas para asegurar la neovascularización de la mucosa traqueal y el uso de inmunosupresores por aproximadamente 12 meses posterior a la implantación. Al momento, esta opción de tratamiento continúa en fase de investigación. ⁽⁷⁾

Pericardio Bovino Tratado con Glutaraldehído

En nuestro laboratorio (Investigación en cirugía experimental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER)) desde hace 20 años hemos trabajado con el pericardio bovino tratado con glutaraldehído al 0.5% (PBTG) y pericardio bovino tratado con glutaraldehído al 0.5% y liofilizado (PBTGL) en diferentes modelos experimentales y clínicos con buenos resultados. En este

tiempo hemos observado que es fácil de obtener y preparar, y su costo es menor que el de los materiales sintéticos. Además, es un material de origen biológico que no se rechaza, es de alta resistencia y de fácil manejo quirúrgico, que ha sido utilizado en la reconstrucción de válvulas cardíacas, comunicaciones interventriculares e interauriculares y en cirugía reconstructiva de mano.

La fijación del pericardio bovino en glutaraldehído mejora su estabilidad bioquímica y reduce su antigenicidad permitiendo su incorporación biológica. Estos cambios químicos modifican las características mecánicas del tejido favoreciendo la unión de enlaces cruzados irreversibles entre las moléculas de colágeno, manteniendo la integridad y arquitectura del tejido haciéndolo más resistente.

La liofilización, esterilización con gas (óxido de etileno) y empaquetamiento individual del tejido, posterior al tratamiento con glutaraldehído, facilita el transporte y almacenamiento del mismo. ⁽⁸⁻¹¹⁾

JUSTIFICACIÓN

La incidencia de lesiones de la porción membranosa de la tráquea secundaria a trauma, neoplasias, iatrogenias, etc., tiene repercusiones clínicas importantes, como estenosis traqueal y enfisema subcutáneo que puede progresar a neumomediastino o neumotórax. Dependiendo del tamaño de la lesión, si es pequeña puede cicatrizar espontáneamente, sin embargo, cuando son muy extensas tienen que repararse de manera quirúrgica. En ocasiones el tejido dañado no es suficiente y se tiene que recurrir a la colocación de una prótesis para mantener la continuidad de ésta.

Hoy en día no existe un material ideal que se adapte bien a la tráquea y mantenga la función de este órgano sin mostrar ninguna complicación.

Diferentes estudios experimentales y clínicos demuestran que el pericardio bovino tratado con glutaraldehído (PBTG) es un material útil en la reparación quirúrgica de defectos anatómicos que presenta menor rechazo e infección, además de ser un material de bajo costo que provee una adecuada tensión y elasticidad, y puede ser suturado con materiales convencionales, por lo que se puede pensar que puede ser útil para la reparación quirúrgica de las lesiones de la porción membranosa de la tráquea.

HIPÓTESIS

El PBTG es un material biológico que se integra adecuadamente a diversos tejidos, entonces su utilización en la reparación de lesiones de la porción membranosa de la tráquea permitirá la cicatrización e integración del mismo sin que se presente rechazo o infección y mantendrá la función de este órgano. Así

mismo favorecerá la migración, proliferación y posterior diferenciación a epitelio ciliado pseudoestratificado en el sitio sustituido.

OBJETIVOS

Evaluar los cambios macroscópicos y microscópicos del pericardio bovino tratado con glutaraldehído liofilizado (PBTGL) al ser utilizado como sustituto de la porción membranosa de la tráquea cervical en un modelo animal experimental.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Valorar traqueoscópica y macroscópicamente la cicatrización, integración y epitelización que sufre el PBTGL utilizado como sustituto de la porción membranosa de la tráquea cervical en perros.

- Evaluar los cambios microscópicos de la cicatrización del pericardio bovino tratado con glutaraldehído al ser utilizado como sustituto de la porción membranosa de la tráquea cervical en perros.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo, longitudinal, experimental y comparativo.

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.

En este estudio participaron los investigadores y técnicos del Departamento de Investigación en Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, que proporcionó los quirófanos, equipos de anestesia inhalada, monitores, aparato de rayos X e instrumental necesario para la realización de los procedimientos quirúrgicos, tratamientos y seguimiento postoperatorios de los animales.

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

Los animales utilizados en este estudio fueron proporcionados por el bioterio del INER.

PREPARACIÓN DEL PBTGL

El pericardio se obtuvo de bovinos entre 6 y 18 meses de edad recién sometidos a eutanasia. Se realizó limpieza manual del tejido mediante disección para retirar el exceso de grasa pericárdica y el tejido se sumergió en solución salina a 4°C, se transportó al laboratorio donde se limpió de grasa y tejido conectivo, posteriormente se lavó en solución de Hank (SIGMA Chemical Co. St. Louis, M.O.) a 4°C en un contenedor con un agitador magnético por 6 horas. Posteriormente los pericardios se colocaron en aros de plástico de 15 cm de diámetro y se sumergieron durante 15 días en una solución de glutaraldehído al 0.5%, manteniendo un pH de 7.4 con amortiguador de fosfatos 0.1 M a 4°C. Transcurrido este tiempo de almacenamiento y bajo

condiciones de esterilidad, los pericardios se desmontaron de los soportes y se lavaron con solución salina fisiológica 0.9% a 4°C durante 60 minutos, cambiando la solución cada 15 minutos, esto con el fin de eliminar restos de glutaraldehído. Después del lavado se cortaron los pericardios con ayuda de pinzas y tijeras de mayo previamente esterilizadas ⁽⁸⁻¹¹⁾. Se tomaron muestras de pericardio y de la solución de preservación para cultivo microbiológico, los cuales siempre fueron negativos.



Fig. 1. Lavado del pericardio en solución de Hank



Fig. 2. Colocación de pericardio bovino en aros de plástico para su introducción en glutaraldehído

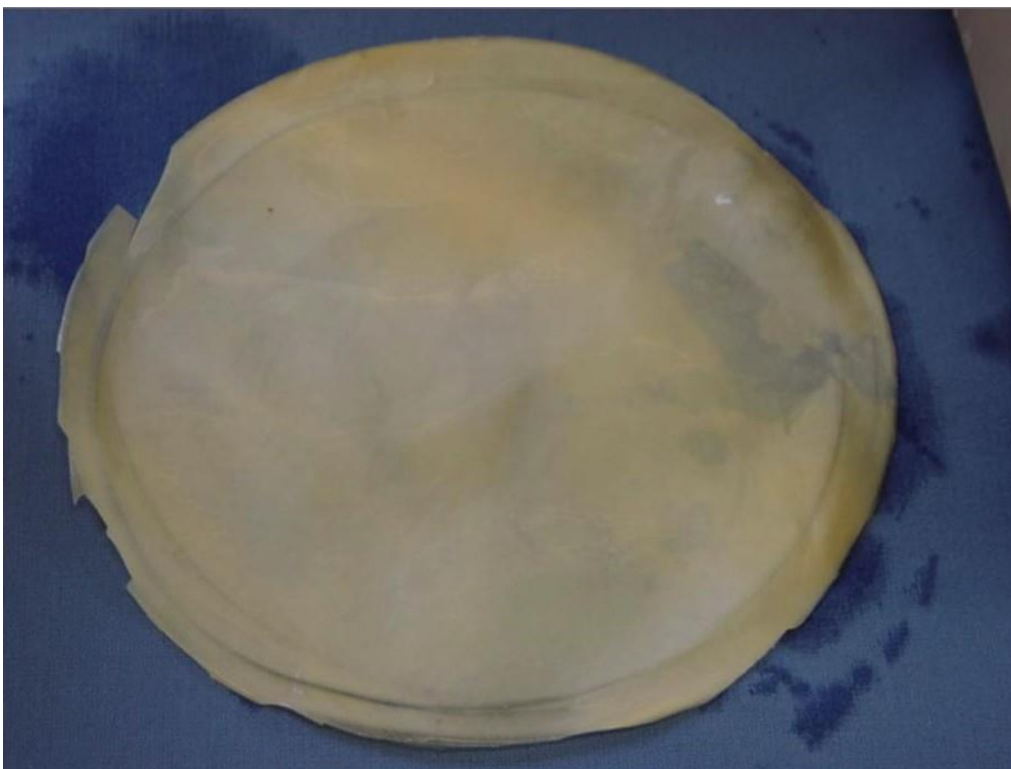


Fig. 3. Pericardio bovino retirado de aros de plástico y posterior a lavado con solución salina.

Técnica quirúrgica

Antes de iniciar la cirugía los implantes de PBTG fueron lavados por tres periodos de 10 minutos cada uno con solución salina fisiológica para retirar el exceso de glutaraldehído.

Se realizó una incisión media en la región cervical ventral, se disecó el tejido celular 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, esta se disecó en toda su circunferencia (Figura 4), a partir del quinto anillo traqueal posterior al cricoides se identificaron 10 anillos y se colocaron suturas de tracción en la parte distal y proximal de estos (Figura 5). Posteriormente la tráquea se rotó 90 grados para la visualización de la porción membranosa de la misma, y con bisturí se resecó la porción membranosa de 4 anillos traqueales (4to al 8tavo anillo traqueal del segmento seleccionado) (Figura 6).



Fig. 4. Disección de tráquea cervical en toda su circunferencia

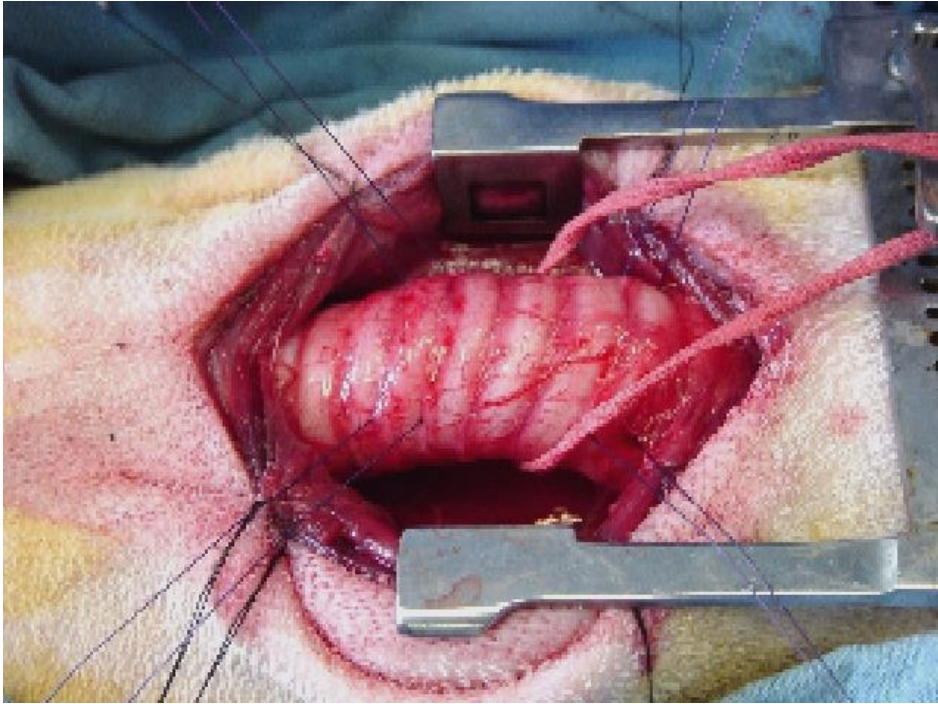


Fig. 5. Colocación de suturas de tracción en porción proximal y distal de la tráquea

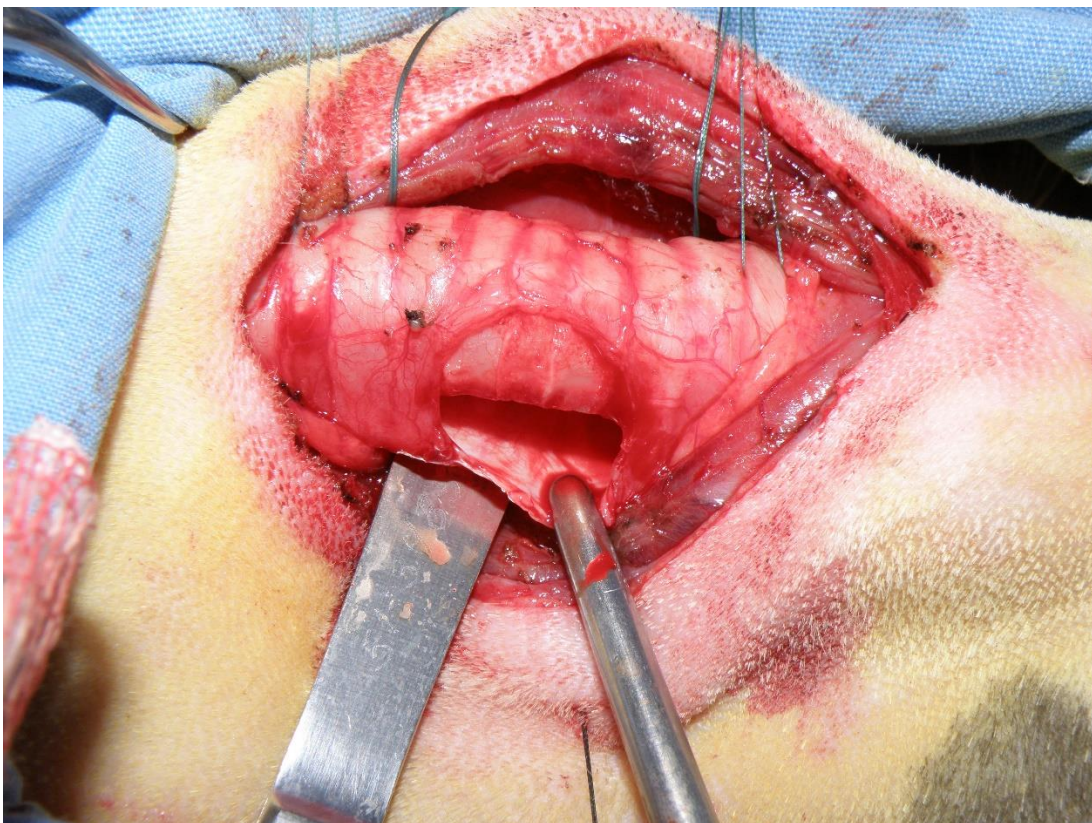


Fig. 6. Resección de porción membranosa de 4 anillos traqueales.

En el grupo I se llevó a cabo cierre del defecto traqueal utilizando puntos separados con sutura absorbible de polidioxanona de 4-0 (PDS, Ethicon, New Jersey, USA), mientras que en el grupo II el PBTG se fijó tanto a la porción membranosa como cartilaginosa con puntos separados de polipropileno de 4-0 (Prolene, Ethicon, New Jersey, USA) colocando la cara mesotelial del pericardio hacia la luz traqueal (Figura 7).

A todos los animales se les administró antes de la cirugía y durante 5 días enrofloxacina (5 mg/Kg) (Baytril, Bayer, Leverkusen, Germany) intramuscular y metamizol sódico (28 mg/Kg) (Metamizol sódico, Pisa agropecuario S.A. de C.V. Tula, Hidalgo, México) IM como analgésico.

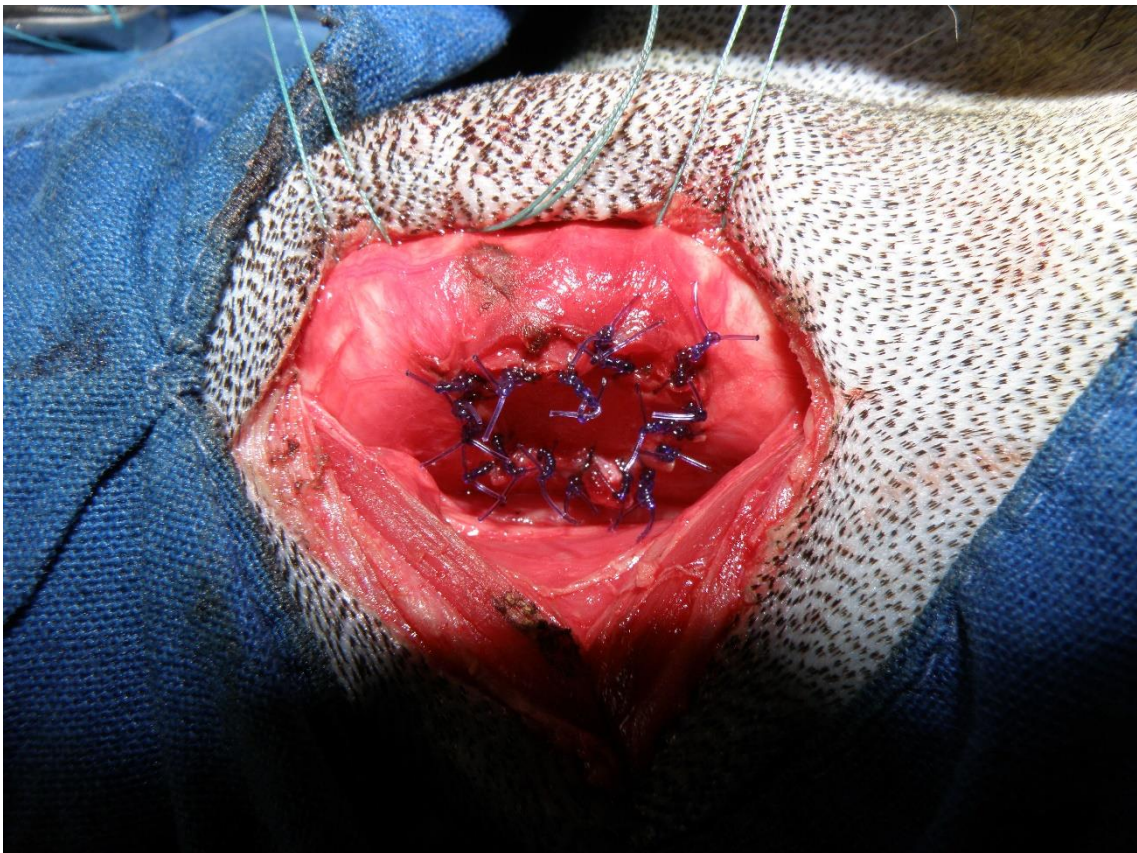


Fig. 7. Fijación de PBGTL con polipropileno en porción membranosa de la tráquea

Evaluación.

Clínica.

El estudio tuvo una duración de 4 semanas y se realizó evaluación clínica diaria los primeros tres días en la primera semana posquirúrgica y cada semana, durante las 3 semanas restantes del estudio. Durante ésta se prestó mayor interés en la presencia de estridor, disnea y enfisema subcutáneo. El grado de disnea se midió de acuerdo a una escala modificada a la utilizada por la Medical Research Council ⁽¹²⁾, 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.

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

El grado de disnea fue evaluado sometiendo a los animales a una prueba de esfuerzo, la cual se llevó a cabo primero observando a los animales en reposo dentro de su jaula, posteriormente cada animal caminó una distancia de 20 metros y finalmente se les lanzó una bola de carne para que los animales corrieran por ella (recorriendo la misma distancia) e inmediatamente después de esto; se observó si los animales presentaron dificultad para respirar, vigilando la frecuencia cardíaca y respiratoria, escuchando los ruidos respiratorios y el estridor al ladrido; también se observó si presentaban respiración torácica o abdominal, así como la coloración de la mucosa oral.

Radiológica

Se tomaron placas de rayos X laterales de cuello para evaluar radiográficamente el estado de la tráquea, antes de la cirugía, inmediatamente después del procedimiento quirúrgico y cada semana hasta finalizar el estudio. En éstas se evaluó la continuidad de la tráquea y presencia de enfisema subcutáneo.

Endoscópica

Los animales de experimentación fueron sometidos a traqueoscopia previo al procedimiento quirúrgico, inmediatamente después del procedimiento quirúrgico y cada semana hasta finalizar el estudio. Para la realización del estudio endoscópico, todos los animales fueron sometidos a anestesia general. A través de la cavidad bucal se introdujo un endoscopio rígido de 5 mm (Hopkins II, Karl Storz, Germany) y con un equipo de cirugía videoasistida (Cámara de video Elmo Company, Tokio, Japan. Monitor Sony PVM-1943MD, Tokio, Japan) se visualizaron las tráqueas operadas en el monitor. En esta se evaluó el estado de la anastomosis, cicatrización, presencia o no de estenosis, inflamación, necrosis e infección. El grado de inflamación fue evaluado de acuerdo a la severidad de ésta en ausente, leve, moderada y severa. La presencia de estenosis se valoró de acuerdo a la escala descrita por Freitag y col ⁽¹³⁾ la cual se basa en el grado de estrechez de la luz: Grado 1 = 0 – 25 % estenosis, 2 = 26 – 50 %. 3 = 51 - 75 y grado 4 = 76% – Luz no detectable.

Macroscópica

Al final del estudio los animales fueron sometidos a cirugía para la resección de la porción de la tráquea con el sustituto de PBTG que abarcaron de 4 a 5 anillos traqueales mediante una anastomosis traqueal termino-terminal y se realizó la evaluación macroscópica y microscópica de la porción resecada. Macroscópicamente se revisó la integración de las prótesis biológicas a la tráquea, cicatrización extraluminal, presencia de dehiscencia, infección, así como la formación de fístulas. Para evaluar el estado de la mucosa traqueal, el segmento anastomosado fue incidido longitudinalmente por la porción cartilaginosa.

Microscópica

Para la evaluación microscópica se tomaron muestras de los sitios de anastomosis, así como del PBTGL y tejido de los alrededores, se fijaron en formaldehído al 10%, se incluyeron en parafina, se les realizaron cortes de 4_M y se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricrómica de Massón para evaluar la integración del implante al tejido traqueal, tipo de cicatriz formada, grado de inflamación, presencia de calcificaciones, células inflamatorias como células gigantes, eosinófilos, neutrófilos y linfocitos. El grado de inflamación y presencia de células inflamatorias fue evaluado de acuerdo a una escala semi-cuantitativa en la que cada parámetro evaluado recibió un porcentaje de acuerdo a la severidad de los cambios histológicos (0-10% ausente, 11-25% leve, 26-50% moderado, 51-100% severo).

RESULTADOS

Hallazgos clínicos

Todos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico y al tiempo de estudio establecido, a excepción de 2 animales del grupo II en los que se tuvo que retirar el injerto de PBTGL a la segunda y tercera semana postcirugía (t student, ANDEVA, $p < 0.05$). Ningún animal mostró algún signo clínico que amenazara la vida, ya que sus constantes fisiológicas (temperatura, frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria) se encontraron dentro de los parámetros normales. Durante todo el estudio no se observó disnea en ningún animal sometido al procedimiento quirúrgico (Cuadro 1). Dos (33%) de los animales del grupo II mostraron estridor al ladrido sin que éste afectara su ventilación, mientras que en el grupo I ningún animal (0%) lo presentó.

La revisión de la herida quirúrgica mostró inflamación 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 dos grupos se encontró bien cicatrizada a las 2 semanas post operatorias.

Hallazgos radiológicos

El enfisema subcutáneo leve observado radiológicamente en ambos grupos inmediatamente después y primera semana postcirugía fue originado porque durante este tiempo aún no se ha llevado a cabo la cicatrización y el aire inspirado se fuga a través de los pequeños orificios creados con la aguja de la sutura. En el animal del grupo II este se presentó hasta la tercera semana por que la prótesis nunca se integró al tejido traqueal.

Los estudios radiológicos en todos los casos mostraron continuidad traqueal debido a que en ningún caso se presentó necrosis de la tráquea operada como lo han descrito otros autores que han realizado diversos estudios en tráquea y han observado que cuando los injertos se necrosan, radiológicamente pierden su continuidad.

La disminución de la luz traqueal que mostraron los 3 animales del grupo II durante las 2 primeras semanas postcirugía fue debido a que el pericardio se extruyó en un animal (16.6%) y 3 semanas en otro (16.6%). En el animal restante esta tomo sus dimensiones normales en la tercera semana postcirugía y así se mantuvo hasta el final del estudio. Los 3 animales restantes de este grupo II mostraron continuidad de la traquea del 100% y sin disminución de su luz durante todo el tiempo de estudio.

Radiológicamente en ambos grupos, al observar las placas laterales de cuello, tomadas inmediatamente después de la cirugía se observó la presencia de enfisema subcutáneo leve, el cual se resolvió a partir de la segunda semana postcirugía, con excepción de un animal del grupo II en el que este permaneció hasta la tercera semana del estudio (en este animal tuvo que retirarse el PBTGL).

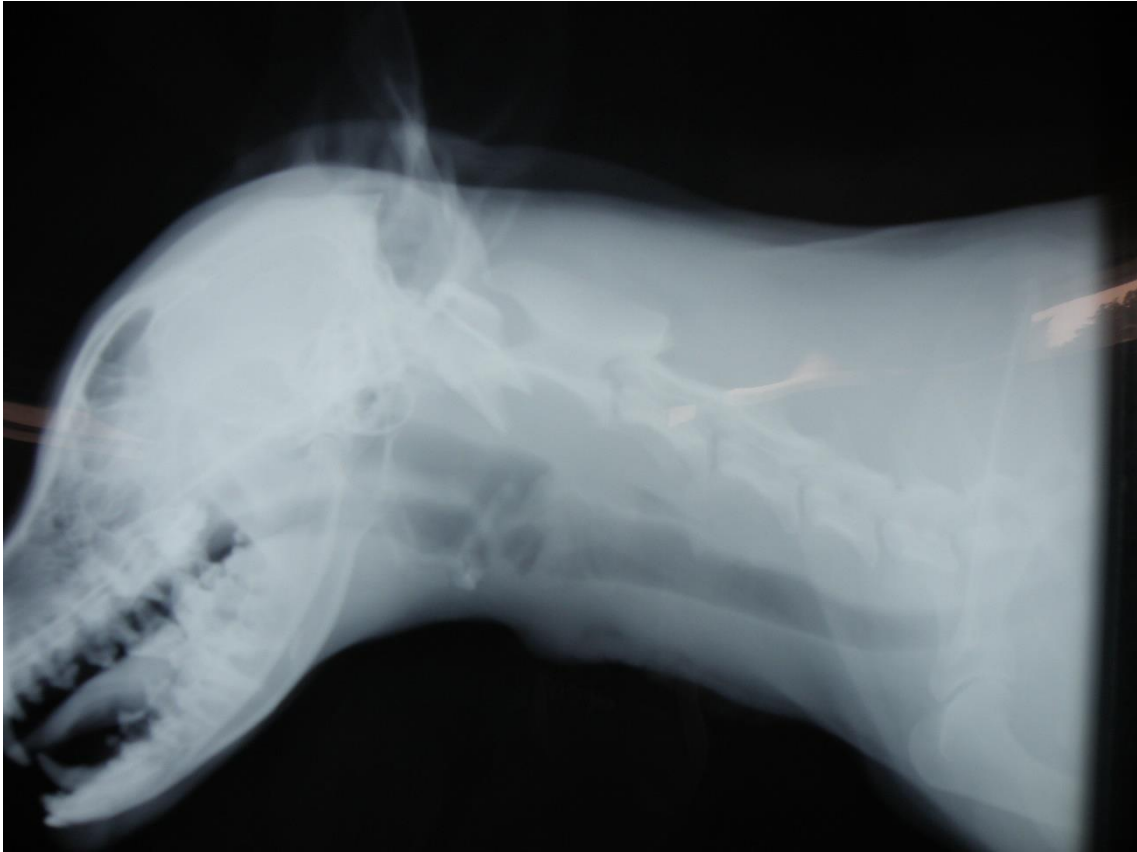


Fig 8. Radiografía lateral cervical en donde se observa continuidad traqueal.

En el grupo I, los rayos X mostraron continuidad de la tráquea del 100% y sin disminución de su luz.

Hallazgos endoscópicos

Endoscópicamente en ambos grupos inmediatamente después y la primera semana postcirugía se observó hiperemia, inflamación y edema leve alrededor de los puntos de sutura tanto en el grupo control como en el de PBTGL.

En los 6 animales (100%) del grupo I, al finalizar la primera semana postcirugía el sitio de la porción membranosa reparado, se observó bien cicatrizado y sin inflamación, ni edema (t student, ANDEVA, $p < 0.05$). En el grupo II, 3 (50%)

perros mostraron cicatrización del injerto sin inflamación, ni edema al finalizar la segunda semana después del procedimiento quirúrgico. Los otros 3 (50%) de este grupo presentaron protusión del PBTGL hacia la luz en la primera semana postcirugía (t student, ANDEVA, $p < 0.05$), en 1 perro esta se mantuvo hasta la tercera semana después de haber sido injertada y al concluir esta se observó bien cicatrizada y sin inflamación ni edema. En un perro (16.6%) el injerto tuvo que ser retirado en la segunda y el otro (16.6%) en la tercera semana postcirugía respectivamente por presentarse dehiscencia (t student, ANDEVA, $p < 0.05$). En ambos casos debajo de la prótesis se observó la formación de una capa de tejido fibroso que cubría todo el espacio traqueal perforado. En todos los casos de este grupo, a partir de la segunda semana postcirugía se observó cicatrización e integración del injerto a la tráquea, caracterizado por el crecimiento progresivo de un tejido similar al de la mucosa traqueal, el cual al finalizar la cuarta semana postcirugía ya cubría en su totalidad el injerto.

Con respecto a la presencia de estenosis traqueal, solo en los 3 animales del grupo II en los que se presentó la protusión del injerto se observó disminución de la luz traqueal grado 1 (menor al 25%) durante la primera semana postcirugía (t student, ANDEVA, $p < 0.05$) y grado 2 (26-50% de la luz traqueal) (t student, ANDEVA, $p < 0.05$) al momento de retirar el PBTGL en los otros 2 animales. El animal restante la protrusión desapareció en la tercera semana postcirugía.

Solo en un animal (16.6%) del grupo II se observó infección del sitio en el que se colocó la prótesis (t student, ANDEVA, $p < 0.05$)

Hallazgos macroscópicos

En los 6 animales del grupo I, la tráquea se observó bien cicatrizada y de apariencia normal, con permeabilidad de la luz del 100% (Figura 9). En el grupo II en los 4 animales en los que el injerto de PBTGL se mantuvo durante todo el estudio se observó sobre este el desarrollo de un tejido similar al de la mucosa tráquea. En los otros 2 animales en los que el PBTG tuvo que ser retirado sobre el defecto se observó el crecimiento de una capa de tejido fibroso el cual en los bordes mostró tejido parecido al de la mucosa (Figura 10).

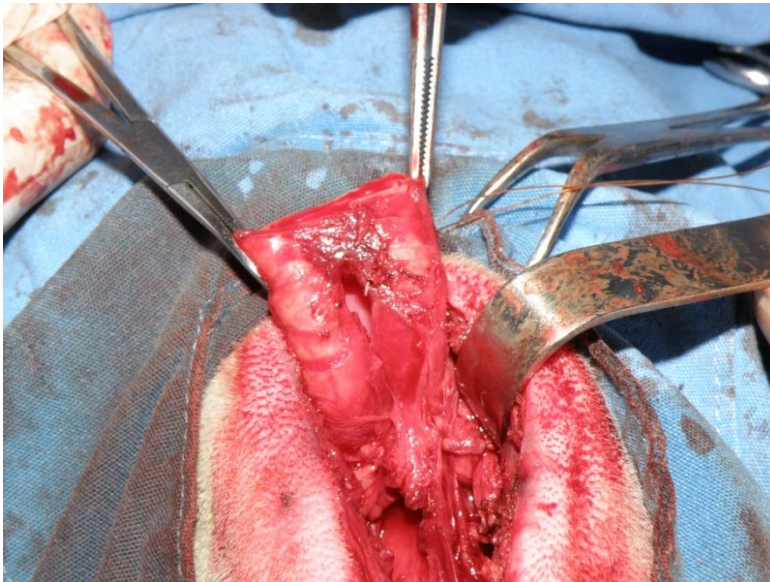


Fig. 9. Tráquea de un perro del grupo I, sin defectos en su porción membranosa.



Fig. 10. Hallazgos macroscópicos en la tráquea de un perro del grupo II, en donde se observa tejido similar a la mucosa traqueal en el sitio de colocación del injerto.

5. Hallazgos Microscópicos.

En la evaluación histológica en ambos grupos se presentó inflamación microscópica; sin embargo ésta fue de mayor intensidad en el grupo II (5 (83%) casos moderada a severa y leve en 1 (16.6%) caso), que en el grupo control en el que todos los animales (100%) presentaron inflamación leve (t student, ANDEVA, $p=0.003$). Además el grupo de pericardio mostró fibrosis moderada en 4 (66.6%) y leve en 1 (16.6%), mientras que en el grupo control ningún animal la presentó (0%) (t student, ANDEVA, $p=0.003$).

En cuanto a las calcificaciones, sólo se presentaron de manera leve en 2 (33.3%) animales del grupo II, aunque esto no fue significativo (t student, ANDEVA, $p=0.145$).

En el grupo I, 3 (50 %) animales mostraron presencia leve y 1 (16.6%)

moderada de células gigantes a cuerpo extraño a nivel de la zona de las suturas, mientras que en el grupo II, 3 (50 %) animales la presentaron de forma leve y 2 (33.3%) de forma moderada. Al comparar entre grupos la presencia de estas células en la cicatriz formada no fue significativa (t student, ANDEVA, $p=0.209$).

En el grupo I solo 2 (33.3%) animales mostraron presencia de infiltrado neutrofílico (1, leve y 1 severo), a diferencia del grupo II en el que 5 (83%) perros presentaron este tipo de infiltrado (3 severos, 2 moderado), sin embargo esto no fue estadísticamente significativo al compararlo con el grupo control (t student, ANDEVA, $p=0.092$). De los 3 animales con el infiltrado neutrofílico severo, 2 eran los que no concluyeron su tiempo de estudio.

El estudio de microscopía de luz también reveló la presencia leve de linfocitos en 2 (33.3%) animales del grupo I y severa en 1 (16.6%) animal del grupo II, lo cual al comparar entre grupos no fue significativo (t student, ANDEVA, $p=0.644$). Aunado a esto también se observó presencia de células plasmáticas en 5 (83%) animales de grupo II; de estos, en 3 casos fue severo, en 1 moderado y en otro leve. En el grupo I ningún animal mostró este tipo de infiltrado (t student, ANDEVA, $p=0.003$).

En ambos grupos hubo presencia de vasos de neoformación, en el grupo I esta fue leve en el 100% de los casos (6 perros), mientras que en el grupo II fue leve en 4 (66.6%) casos y moderado en 2 (33.3%). Al comparar estos hallazgos entre grupos no mostraron diferencias importantes (t student, ANDEVA, $p=0.145$).

En ningún caso se observó presencia de eosinófilos.

DISCUSIÓN.

En nuestro laboratorio desde hace 20 años hemos trabajado con el PBTG y PBTGL al 0.5% en diferentes protocolos experimentales y clínicos obteniendo excelentes resultados en la reconstrucción de defectos de la pared toracoabdominal, resecciones pulmonares no anatómicas, reparación quirúrgica de perforaciones del septum nasal y en el cierre de defectos atriales. En este tiempo nosotros hemos observado que el pericardio es un material fácil de obtener y preparar, su costo es menor que el de los materiales sintéticos, son biocompatibles, tienen baja antigenicidad y adecuado manejo quirúrgico, por lo que su uso como injerto de la porción membranosa de la tráquea puede ser una buena alternativa.

Este trabajo describe la biocompatibilidad y comportamiento del PBTGL como materiales para la reparación de la porción membranosa de la tráquea.

Todos los cultivos microbiológicos realizados en las muestras de pericardio tomadas después del periodo de preservación inicial, liofilización y antes de su colocación en la tráquea fueron negativos debido a que el pH y tiempo de exposición al glutaraldehído hacen que este actúe como un agente bactericida, fungicida y virucida. Esto coincide con lo reportado por García et al al estudiar válvulas cardiacas biológicas y mencionan que en las concentraciones al 0.5% y exposiciones de 72 horas producen este efecto esterilizante.

La inflamación y el edema observado endoscópicamente en todos los perros durante la primera semana postcirugía fueron ocasionados porque siempre que

se implanta un material, se produce una respuesta fisiopatológica del tejido caracterizada por el desarrollo de una reacción inflamatoria aguda inicial alrededor del implante durante los primeras horas o días postimplante.

CONCLUSION

Las lesiones traqueales secundarias a traumatismos, cirugías, neoplasias, iatrogenias, etc., tiene repercusiones clínicas importantes, por lo que el manejo adecuado disminuye la morbimortalidad del paciente. En ocasiones, el defecto traqueal es tan extenso, que es imposible repararlo mediante cierre primario con suturas y es necesario recurrir al uso de prótesis para su reparación. Hoy en día no existe un material ideal que se adapte bien a la tráquea y mantenga la función de este órgano sin mostrar ninguna complicación.

En nuestro estudio se comprobó que el pericardio bovino con glutaraldehído y liofilizado es una bioprótesis de fácil acceso, bajo costo y que se puede moldear fácilmente y suturar con materiales convencionales a la tráquea; sin embargo, a largo plazo se comprobó que en la mitad de los perros en los que se colocó la bioprótesis hubo rechazo de la misma, así como mayor inflamación y en un caso infección de la herida traqueal.

Se requieren más estudios para confirmar estos hallazgos, y que en los mismos, el número de muestra sea mayor para que los resultados sean más confiables y representativos.

Hasta no contar con más estudios, por el momento no consideramos que la bioprótesis de pericardio bovino sea un material idóneo para la reparación de defectos de la porción membranosa de la tráquea.

Bibliografía

1. Beate E.M. Brand-Saberi, Thorsten Schäfer. "Trachea: Anatomy and Physiology". Thorac Surg Clin 24 (2014) 1–5.
2. Udelsman B, Mathisen DJ, Ott HC. "Bioprosthetics and repair of complex aerodigestive defects". Ann Cardiothorac Surg 2018;7(2):284-292.
3. Stefan Welter. "Repair of Tracheobronchial Injuries". Thorac Surg Clin 24 (2014) 41–50.
4. Lee JH, Park HS, Oh SH, Lee JH, Kim JR, Kim HJ, et al. Triple-Layered Polyurethane Prosthesis With Wrinkles for Repairing Partial Tracheal Defects. 2014; The Laryngoscope (December):2757–63.
5. Azorin JF, Bertin F, Martinod E, Laskar M. Tracheal replacement with and aortic autograft. Eur J Cardiothorac Surg 2006;29:261-263.
6. Olmos-Zuñiga JR, Jasso-Victoria R, Villalba – Caloca J. "Reemplazo traqueal con aorta bovina criopreservada. Estudio experimental". Rev Inst Nal Enf Resp Mex, volumen 22 número 3, julio-septiembre 2009, páginas: 171-181.
7. Pierre Delaere, Toni Lerut, Dirk Van Raemdonck. "Tracheal Transplantation. State of the Art and Key Role of Blood Supply in Its Success". Thorac Surg Clin 28 (2018) 337–345.
8. Jasso-Victoria R, Olmos-Zuñiga JR, Gutierrez-Marcos LM, Sotres-Vega A, Manjarez Velázquez JR, Gaxiola-Gaxiola M, Avila-Chavez A, Avendaño Moreno G, Santillan-Doherty P. Usefulness of Bovine Pericardium as Interpositional Graft in the Surgical Repair of Nasal Septal Perforations (Experimental Study). Journal of Investigative Surgery. 2003; 16: 1-9.
9. Santillan Doherty P., Jasso Victoria R., Sotres Vega A., Olmos R., Arreola J.L., García D., Gaxiola M., Vanda B., Santibañez A., Martin S

- and Cabello R.: Thoracoabdominal wall repair with glutaraldehyde-preserved bovine pericardium. *J. Invest Surg.* 1996; 9: 45--55.
10. Olmos-Zuñiga J.R, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Gaxiola-Gaxiola M, Argote-Green LM, Lara-Guerra H, Santillan-Doherty P. Evaluación de la utilidad del pericardio bovino en resecciones pulmonares no anatómicas en perros. *Rev Inv Clin.* 2002; 54: 334-341.
 11. Olmos Zuñiga J. Raúl, Jasso Victoria Rogelio, Sotres Vega Avelina, Gaxiola Gaxiola Miguel, Cedillo Ley Ivonne, Argote Green Marcelo and Santillan Doherty Patricio. Suture line reinforcement whit glutaraldehyde preserved bovine pericardium for non-anatomic of lung tissue resection. *Journal of Investigative Surgery.* 2001; 14: 161–8.
 12. Task Group on Screening For Respiratory Disease in Occupational Settings. *Am Rev Respir Dis.* 1982, 126: 952-56.
 13. Freitag L, Ernst A, Unger M, Kovitz K, Marquette CH. A proposed classification system of central airway stenosis. *European Respiratory Journal* 2007;30 (1): 7-12