

**EFFECTO DE DIFERENTES MODULADORES CICATRIZALES EN LA  
TRAQUEOPLASTÍA. ESTUDIO EXPERIMENTAL.**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE: ESPECIALISTA EN  
OTORRINOLARINGOLOGIA Y CIRUGIA DE CABEZA Y CUELLO**

**P R E S E N T A**

**DR. ALBERTO SANTILLÁN ARTOLÓZAGA**

**BAJO LA DIRECCIÓN DE  
M. C. J. RAUL OLMOS ZUÑIGA**

**CO-ASESORES**

**DR ROGELIO JASSO VICTORIA  
DR ANTONIO SODA MERHY**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

---

**M. en C. RAÚL OLMOS ZÚÑIGA**  
ASESOR DE TESIS  
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA EXPERIMENTAL INER

---

**DR. ANTONIO SODA-MERHY**  
CO-ASESOR DE TESIS Y PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE  
OTORRINOLARINGOLOGIA INER

---

**DR. ROGELIO JASSO-VICTORIA**  
CO-ASESOR DE TESIS  
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA EXPERIMENTAL INER

---

**DR MIGUEL GAXIOLA-GAXIOLA**  
CO-ASESOR DE TESIS  
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA EXPERIMENTAL INER

---

**M. en C. AVELINA SOTRES-VEGA**  
CO-ASESOR DE TESIS  
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA EXPERIMENTAL INER

---

**DR. PATRICIO SANTILLÁN-DOHERTY**  
CO-ASESOR DE TESIS  
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA EXPERIMENTAL INER

## DEDICATORIA

A mi mamá y mi hermana por todos estos años de ausencia , por todo el apoyo que siempre tuve de parte de ustedes de manera incondicional.

Este trabajo no es más que la consolidación del esfuerzo y cariño de ustedes hacia mi , que me ha ayudado a terminar una etapa tan importante en la vida.

Gracias MAMÁ

Gracia ANA

A PAMPI y mi abuelita por que siempre creyeron en mi.....

ANA LUISA... por ser una nueva fuente de felicidad y esperanza en la familia....

## **AGRADECIMIENTOS**

A todo el equipo de el laboratorio de cirugía experimental en especial a M. en C. Raúl Olmos y al Dr. Rogelio Jasso por su incasable aportación, disposición, cariño e Interés en el proyecto

A Verouschka por el inmenso apoyo, amor y comprensión que nunca dejaron de faltarme.... Gracias...

AL DR. ANTONIO SODA MERHY por sus enseñanzas y por haberme permitido ser parte durante 4 años de su excelente servicio.

A mis maestros: DR ARTURO RAMIREZ, DR BERNANDRO DAVILA, DRA MARIA LIDIA SÁNCHEZ, DRA LISETTE CRISTERNA, DR ALEJANDRO JIMENEZ CHOBILLON, DRA TIRADO.

Muchas gracias al DR MARIO HERNANDEZ PALESTINA por ese año y medio que compartió con nosotros enseñándonos que la medicina no sólo esta en los libros. Gracias...

De el servicio de anestesiología a la Dra. Arango por su invaluable ayuda.

Al invaluable apoyo de: TERE, BLANCA, IRMA, ANITA, MARY Y EMA.

Gracia LEO por haber compartido conmigo estos 4 años de ardua labor.....

Gracias a mis compañeros y amigos que me ayudaron a formarme durante la residencia.: LUIS, ELVIRA, GABRIEL, NACHO, LUIS PEDRO, CARLOS, ELOISA, FERNANDO, YURIA, NIDIA, IVETTE, IOHANNAN, RODSBERTO, ROSALBA, SCHOBERT, INGE, MARIO Y DANIEL

## **INDICE**

### **DEDICATORIA**

### **AGRADECIMIENTOS**

### **RESUMEN**

## **INDICE**

### **I. INTRODUCCIÓN**

### **II. JUSTIFICACIÓN**

### **III. HIPOTESIS**

### **IV. OBJETIVOS**

1. Objetivo general
2. Objetivo específico

### **V. MATERIAL Y METODOS**

1. Recursos
2. Animales de experimentación
  - 2.1 Criterios de inclusión
  - 2.2 Criterios de exclusión
  - 2.3 Criterios de eliminación
3. Grupos de estudio
4. Anestesia
5. Técnica quirúrgica
6. Tratamiento
7. Evaluación
  - 7.1 Clínica
  - 7.2 Radiológica
  - 7.3 Endoscópica
  - 7.4. Macroscópica
  - 7.5 Microscópica
  - 7.6 Bioquímica

## **VII. RESULTADOS**

1. Clínicos
2. Radiológicos
3. Endoscópicos
4. Macroscópicos
5. Microscópicos
6. Bioquímicos

## **VIII. DISCUSIÓN**

## **IX. CONCLUSIÓN**

## **X. FIGURAS**

## **XI. CUADROS**

## **XII. GRÁFICAS**

## **XIII. BIBLIOGRAFÍA**

## **RESUMEN.**

Introducción.

La cicatrización traqueal frecuentemente ocasiona estenosis, por lo que la aplicación de moduladores cicatrizales (ácido hialurónico (AH), colágeno polivinilpirrolidona (CPVP) y mitomicina C (MC)) en la anastomosis traqueal podría evitarlo.

Objetivo.

Determinar los cambios macroscópicos, microscópicos y bioquímicos de la cicatrización traqueal en perros, después de la aplicación de AH, CPVP y MC en la anastomosis traqueal postraqueoplastía.

Material y métodos. En 36 perros se realizó resección de 3 anillos y traqueoplastía cervical. Se formaron 6 grupos (n=6) aplicando tópicamente en la anastomosis el tratamiento: Gpo I: solución fisiológica, Gpo II: 4 mg de betametasona, Gpo III: 15 µg de AH, Gpo IV: 2.5 mg de CPVP, Gpo V: 15 µg de AH más 2.5 mg de CPVP, Gpo VI: 1.2 mg de mitomicina C. Se realizó evaluación clínica, radiológica y traqueoscópica por 4 semanas. Concluido el estudio se examinó macroscópicamente y microscópicamente la cicatriz de la traqueoplastía y se cuantificó la cantidad de colágena formada por gramo de tejido.

Resultados. Ningún animal presentó cambios clínicos o radiológicos. Endoscópica y macroscópicamente hubo menor inflamación y fibrosis en los grupos III, IV y V (Kruskall-Wallis  $p < 0.05$ ). Microscópicamente el grupo I desarrollo fibrosis e inflamación severa a diferencia de los otros 5 que presentaron fibras de colágena

bien organizada e inflamación mínima. La concentración de colágena fue menor en los grupos IV, V y VI (Andeva y Tukey  $p < 0.01$ ).

Conclusión. La CPVP, la mezcla de AH-CPVP o la MC administrados en la anastomosis postraqueoplastías, mejoran la cicatrización traqueal en perros.

**Palabras Clave:** Cicatrización traqueal, postraqueoplastía, ácido hialurónico (AH), colágeno polivinil-pirrolidona (CPVP) y mitomicina C (MC), fibrosis, concentración de colágena.

## **INTRODUCCIÓN.**

En las salas de cuidados intensivos cuando los pacientes son ventilados por largo tiempo, frecuentemente presentan estenosis traqueal postintubación (principalmente subglótica), producida por que la presión que ejerce el globo y el tubo endotraqueal sobre las paredes de la tráquea, provoca necrosis de la mucosa, la cual se repara con una cicatriz fibrosa que ocasiona la mayoría de las veces disminución de la luz traqueal (1).

Las estenosis traqueales tienen como principal indicación la resección del segmento traqueal estenosado y la reconstrucción de ésta, pero frecuentemente se complica con fibrosis y estenosis posquirúrgica.

El tratamiento de las estenosis traqueales es variado siendo el Standard de oro la plastia traqueal con reconstrucción termino terminal sin embargo se han practicado diversos procedimientos como las dilataciones con balón o cánulas, la colocación de los distintos tipos de férulas intratraqueales (silastic o metálicas expandibles) y la permeabilización con láser, pero desafortunadamente estas han sido solamente de tipo paliativo (2-4).

Se estima que el porcentaje de reestenosis traqueal posterior a un procedimiento de traqueoplastia termino terminal varia entre el 5%-20% (5).

Para disminuir las estenosis traqueales, también se ha evaluado la utilidad de fármacos como los esteroides, antiinflamatorios no esteroideos y algunos fármacos como la 5 fluorouracil, triamcinolona y  $\beta$ -aminopropionitrilo para prevenir

la formación de una cicatrización excesiva, pero ninguno ha tenido el éxito deseado (6-8).

Existen otros medicamentos como el ácido hialurónico (AH) (9), colágena polivinil-pirrolidona (CPVP) (10-12) y la mitomicina C (2,13) que han demostrado ser buenos moduladores de la cicatrización.

El AH es un componente de la matriz extracelular de la herida fetal, el cual modula la fibrogénesis de colágena durante el proceso de cicatrización de las heridas fetales (9) y favorece la regeneración, así como la reparación tisular con menor inflamación y fibrosis. Este medicamento ha sido usado con buenos resultados para la disminución de procesos fibroticos en el tratamiento de la osteocondritis de rodilla (14), regeneración de las heridas de la mucosa nasal (15), para prevenir la formación de adherencias intrabdominales postquirúrgicas (16) y como expansor tisular en la piel (17). También se ha observado en estudios experimentales que este medicamento evita las estenosis traqueales (18).

La CPVP es un fármaco formado por una mezcla de colágena porcina del tipo I y polivinil-pirrolidona, el cual actúa como remodelador de procesos fibrosos (10-12) y se ha utilizado para el tratamiento de las cicatrices queloides e hipertróficas, en fibrosis dérmicas, de tendones y en traquea, produciendo disminución de los síntomas y el volumen de la cicatriz, así como desaparición del infiltrado inflamatorio y restablecimiento de la arquitectura dérmica normal de las cicatrices tratadas con ésta (19-21).

La mitomicina C es un antibiótico antineoplásico producido por el *Streptomyces caespitosus* que inhibe la proliferación y actividad de los fibroblastos evitando la

fibrosis y formación de cicatriz (2,13). Este fármaco ha mostrado buenos resultados cuando se usa como un tratamiento adyuvante después de la realización de gran número de procedimientos oftálmicos para disminuir la recurrencia del pterigión, prevención de estenosis en cirugía de glaucoma, fibrosis del nervio óptico y disminución de las estenosis laringotraqueales. (2, 13, 22-24)

Los esteroides son producidos en el ser humano por las glándulas suprarrenales principalmente, teniendo diversas funciones dentro del organismo. En su forma sintética se han utilizado en una gran cantidad de padecimientos y con muchos fines. Diversos estudios han demostrado su efecto como importantes inhibidores de la colágena tanto *in vivo* como *in Vitro*, interfiriendo con la fase inflamatoria normal estabilizando las membranas de los lisosomas intracelulares de los leucocitos y reduciendo la infiltración celular inflamatoria así como el crecimiento de vasos sanguíneos y fibroblastos. Ayudando así a modular la cicatrización en diversos tejidos. (32,33). El fosfato sódico de betametasona es un corticoesteroide de acción rápida y potente que se ha utilizado para el control de procesos inflamatorios crónicos y agudos así como el control de la cicatrización en cicatrices queloides e hipertróficas.

La combinación del AH y la CPVP se ha utilizado en otro protocolo de estudio con resultados significativos en cuando a la reducción de cicatrización traqueal (31).

Con base a lo anterior se puede pensar que la aplicación del AH, CPVP, AH más CPVP, esteroide y mitomicina C después de una traqueoplastía, modulará el proceso de cicatrización traqueal y prevendrá las estenosis traqueales posquirúrgicas.



## **II. JUSTIFICACION.**

La tráquea es un órgano que está expuesto a sufrir diferentes patologías que tienen como tratamiento de elección la cirugía, sin embargo ésta se puede complicar en un 5-20% de los casos con la presencia de estenosis traqueal provocada por el proceso de cicatrización, la cual se podría evitar mediante la modulación de ésta, es por lo que en este trabajo se propone la utilización de ácido hialurónico, colágeno polivinil pirrolidona, combinación de ácido hialurónico y colágeno polivinil pirrolidona, fosfato sódico de betametasona y mitomicina C para modular la cicatrización, ya que hay evidencias de que éstos modulan la organización de la colágena y evitan la fibrosis de las heridas.

## **III. HIPÓTESIS.**

El ácido hialurónico, el colágeno polivinil pirrolidona, la combinación de éstos, el fosfato sódico de betametasona y la mitomicina C son moduladores de la regeneración celular y disminuyen la formación de cicatrices fibroticas, por lo que se puede pensar que la aplicación de éstos después de realizar una traqueoplastia en perros, podría evitar la estenosis cicatrizal posquirúrgica.

#### **IV.- OBJETIVOS.**

##### **1. Objetivo General.**

Determinar el efecto de la aplicación de ácido hialurónico, colágeno polivinil pirrolidona, ácido hialurónico más polivinil pirrolidona, fosfato sódico de betametasona y mitomicina C sobre la cicatrización traqueal, después de realizar una traqueoplastia en perros.

##### **2. Objetivos Específicos.**

- Determinar cual de estos medicamentos es más eficaz para modular la cicatrización traqueal posterior a la realización de traqueo plastia en perros.
  
- Evaluar los cambios macroscópicos y microscópicos producidos por el ácido hialurónico, colágeno polivinil pirrolidona, ácido hialurónico más colágeno polivinil pirrolidona, fosfato sódico de betametasona y mitomicina C sobre la cicatriz formada, después de realizar una traqueoplastia en perros.
  
- Determinar la cantidad de colágena formada en la traquea, post-traqueoplastia, en perros tratados con el ácido hialurónico, colágeno polivinil pirrolidona , ácido hialurónico más colágeno polivinil pirrolidona , fosfato sódico de betametasona y mitomicina C.

## **V. MATERIAL Y MÉTODOS.**

### ***1. Recursos.***

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

En este estudio participaron los investigadores y técnicos del Departamento de Investigación en Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, que 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.

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

También intervino en este estudio el personal del Departamento de Investigación en Morfología del INER, 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 Dr. Miguel Gaxiola Gaxiola.

El análisis bioquímico se llevó a cabo en el Departamento de Investigación en Biología Molecular.

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

## ***2. Animales de experimentación.***

Se utilizaron 36 perros mestizos, sanos, sin importar el sexo o la edad, con un peso entre 15 y 18 Kg. Todos los animales fueron tratados de acuerdo a las Especificaciones Técnicas para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana (25) y de la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals de los Estados Unidos (26).

### ***2.1 Criterios de inclusión.***

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

### ***2.2 Criterios de exclusión.***

Los animales con datos clínicamente patológicos a su llegada al INER y previos al procedimiento quirúrgico o con antecedentes de alguna cirugía de cuello, fueron excluidos del estudio.

### ***2.3 Criterios de eliminación.***

Todo animal que presente signos clínicos de cualquier patología que no sea provocada por el procedimiento quirúrgico, será eliminado.

### **3. Grupos de Estudio.**

Los animales fueron divididos en 6 grupos de estudio:

**Grupo I (n=6):** Resección de tres anillos traquéales cervicales y traqueoplastia convencional con aplicación intraluminal de solución fisiológica.

**Grupo II (n=6):** Resección de tres anillos traquéales cervicales y traqueoplastia convencional con aplicación intraluminal de fosfato sódico de betametasona.

**Grupo III (n=6):** Resección de tres anillos traquéales cervicales y traqueoplastia convencional con aplicación intraluminal de ácido hialurónico.

**Grupo IV (n=6):** Resección de tres anillos traquéales cervicales y traqueoplastia convencional con aplicación intraluminal de colágeno polivinil pirrolidona.

**Grupo V (n=6):** Resección de tres anillos traquéales cervicales y traqueoplastia convencional con aplicación intraluminal de ácido hialurónico más colágeno polivinil pirrolidona.

**Grupo VI (n=6) :** Resección de tres anillos traquéales cervicales y traqueoplastia convencional con aplicación intraluminal de mitomicina C

### **4. Anestesia.**

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

La anestesia en todos los grupos de estudio se indujo con hidrocloreuro de xilacina (Rompun, Bayer) a dosis de 0.1 mg/Kg. y 6 mg/kg. de propofol (Recofol, PISA) vía intravenosa (IV) mezclados en la misma jeringa e inmediatamente después se les

aplicó dipirona (Metamizol Sódico-Nondol-Sector Salud) a dosis de 28 mg/Kg. IV como analgésico (27).

Una vez anestesiados, los animales se colocaron sobre la mesa de cirugía en posición decúbito dorsal y se intubaron con una sonda orotraqueal con globo Rüsck México D.F. de alto volumen y baja presión medidas entre 5 y 7 Fr dependiendo del tamaño del perro.

Acto seguido se rasuró y lavó con jabón quirúrgico la región traqueal cervical, con límite craneal en la región de la mandíbula y límite caudal con el hueco supraesternal. Finalmente se realizó la antisepsia de la zona con yodo povidona (Dermodine Solución, Dermodex S.A. de C.V.)

Posterior a esto cada animal fue colocado sobre la mesa de cirugía en posición decúbito dorsal y se conectó la cánula orotraqueal a un ventilador de volumen (Harvard Apparatus, Boston MA, USA) con un vaporizador (Isotec 3 Ohmeda) y la anestesia se mantuvo con Isoflurano al 1.5%. Todos los animales se ventilaron con un volumen corriente de 10 ml/Kg, una fracción inspirada de oxígeno (FiO<sub>2</sub>) de 100% y 20 respiraciones por minuto, durante todo el procedimiento quirúrgico sus signos vitales se vigilaron con un monitor para electrocardiografía (Datascop Passport). (Figura 1).

### **5. Técnica quirúrgica.**

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 (Figuras 2A) y se resecaron tres anillos traqueales a nivel medio de la traquea cervical ( 3º, 4º y 5º anillos) (Figuras 2B), se introdujo una cánula oro-traqueal en la porción distal de la traquea para mantener la ventilación (Figuras 2C) y finalmente se realizó anastomosis término terminal con material absorbible 3 ceros (PDS, Ethicon, New Jersey USA) con puntos separados (Figura 2D). Terminada la traqueoplastia se cerró por planos sin dejar drenaje. En el postoperatorio inmediato a todos los animales, se les aplicó metamizol a dosis de 28 mg/Kg como analgésico cada 6 horas durante los primeros 3 días post-cirugía, así como penicilina procaínica (22,000 UI/Kg., IM) más 500 mg de sulfato de estreptomicina IM durante 7 días.

#### **6.- Tratamiento.**

En los grupos I, III, IV y V, el tratamiento se aplicó inmediatamente después de la cirugía y cada semana durante 3 semanas (Figura 3), en el resto de los grupos (II y VI) el tratamiento únicamente se aplicó durante el procedimiento quirúrgico.

Para la aplicación del tratamiento en los grupos I, III, IV y V, todos los animales fueron sometidos a anestesia general, se les introdujo un broncoscopio flexible (Olympus BF 1T20D) y mediante una sonda orogástrica se instiló el fármaco (Figura 3). En los animales del grupo I se instilaron 3 mililitros de solución fisiológica. En el grupo II se instiló 2ml (8mg) de fosfato sódico de betametasona en la mucosa traqueal. En el grupo III se instiló 15 microgramos de ácido hialurónico diluidos en 3 ml de agua destilada (dosis usada para evitar adherencias intrabdominales y estenosis uretrales e intestinales y para prevenir

las estenosis traqueales) (18). Los animales del grupo IV recibieron 28.2 mg de CPVP (que es la dosis utilizada para los problemas de piel y tendones y experimentalmente en estenosis traqueales crónicas) diluidos en 3 ml de solución fisiológica (20). Mientras que en el grupo V se instilaron una combinación de ácido hialurónico y colágeno polivinil pirrolidona a la dosis antes mencionada.

En los animales del grupo VI se instilaron directamente sobre ambos extremos de la traquea reseca (antes de llevar a cabo la anastomosis) 1.2 mg de mitomicina C, diluidos en 3 ml de SSF (dosis utilizadas para las estenosis traqueales) y 5 minutos después de haber sido instilada, la traquea fue lavada nuevamente con SSF (2).

## **7. Evaluación.**

### **7.1 Clínica.**

El estudio tuvo una duración de 4 semanas y se realizó evaluación clínica diaria durante la primera semana posquirúrgica y cada tercer día, durante 3 semanas restantes del estudio. Se evaluó el grado de disnea de acuerdo a una escala modificada a la utilizada por la Medical Research Council (28), 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, estridor al ladrido 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 presentan dificultad para respirar, vigilando la frecuencia cardíaca y respiratoria, escuchando los ruidos respiratorios, el estridor al ladrido, también se observó si presentaban respiración torácica o abdominal, así como la coloración de la mucosa oral.

## ***7.2 Radiológica.***

Se tomaron placas de rayos X laterales de cuello para evaluar radiográficamente el estado de la traqueoplastia, inmediatamente después del procedimiento quirúrgico, al tercer día postcirugía y posteriormente cada semana hasta finalizar el estudio. En estas se evaluó el porcentaje de estenosis y la configuración de la misma (centrípeto o lateral), tomando como referencia del diámetro ventro-dorsal de la traquea antes de ser operada.

### **7.3 Endoscópica.**

En todos los animales se realizó evaluación visual directa de la anastomosis traqueal mediante traqueoscopia, previo a la cirugía y cada tercer día durante todo el tiempo de estudio. En esta se evaluó el estado de la anastomosis, así como la presencia o no de estenosis. Los procedimientos se videograbaron con una videocassetra VHS. La presencia de estenosis se valoró de acuerdo a la escala descrita por Cotton (29): Grado I = sin obstrucción de la luz hasta un 50% de obstrucción, Grado II = de un 51% de obstrucción de la luz hasta 70%, Grado III = de 71% hasta 99%, Grado IV = luz traqueal no detectable. (Figura 4).

### **7.4 Macroscópica.**

Una vez transcurridas 4 semanas postcirugía los animales fueron sometidos a eutanasia con sobredosis de pentobarbital sódico (Anestesal) (25-27) y se realizó evaluación macroscópica y microscópica de la anastomosis.

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

### **7.5 Microscópica.**

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

### **7.6 Bioquímica.**

En la evaluación bioquímica se determinó la concentración de hidroxiprolina por gramo de tejido traqueal. La determinación se realizó por el método de Woessner (30) en dos muestras de la misma traquea, la primera de ellas se tomó inmediatamente después de la traqueoplastía, mientras que la segunda muestra se tomó cuando el estudio concluyó. Las muestras se colocaron cada una dentro de un vial que se pesó previamente, inmediatamente después de colocar la muestra se obtuvo el peso “mojado” y posteriormente se mantuvo en una estufa a  $80^{\circ}\text{C}$  hasta que se pudo obtener el peso “seco” de las muestras.

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

Para realizar la determinación de hidroxiprolina, se preparó una curva estándar que contenga 1 mg de hidroxiprolina/1 ml de agua (SIGMA,Co), se ajustó para la preparación de los estándares de hidroxiprolina en concentraciones de 200, 400, 600, 800 y 1000  $\mu$ l de hidroxiprolina y se incluyó un blanco que contenía agua destilada. Posteriormente, en todos los tubos se adicionó: 1 ml de cloramina T (SIGMA Co) 0.05M disuelta en metilcelosolve (SIGMA Co), agua y amortiguador de fosfatos pH 6.0, 1 ml de ácido perclórico 3.0N (J.T. Baker), 1 ml de solución de paradimetilaminobenzaldehído (SIGMA Co) al 20% en metilcelosolve. El ensayo se incubó durante 20 minutos a 60°C y concluido el tiempo de incubación, se obtuvo la absorbancia de cada muestra, para esto se utilizó un espectrofotómetro (DU 640,Beckman) ajustado a una longitud de onda de 560 nm.

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

## **VI. RESULTADOS.**

### **1. Hallazgos clínicos.**

Todos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico y al tiempo de estudio establecido. Ningún animal de los seis grupos de estudio mostró algún signo clínico que amenazaré su vida, ya que sus constantes fisiológicas (temperatura, frecuencia cardiaca 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). En 3 (50%) de los animales del grupo I se mostraron estridor al ladrido, sin que éste afectara su ventilación, mientras que en los grupos II, III, IV, V y VI ningún animal (0%) lo presento.

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

### **2. Hallazgos Radiológicos.**

Radiológicamente, al observar las placas laterales de cuello, tomadas a la segunda semana de la traqueoplastia, en el 50% (n=3) de los animales del grupo I; se observó estenosis concéntrica de la luz del 50% durante todo el tiempo de estudio (Figura 5A). Mientras que en el 33.3 % (n=2) de los animales del grupo III presentaron estenosis concéntrica del 50% de la luz durante la primera semanas

postcirugía. Sin embargo en un animal ésta desapareció a la segunda semana postcirugía, mientras que en el otro animal de este grupo (16.6%) la estenosis concéntrica del 50% se mantuvo hasta el final del estudio (Figura 5B). Los animales de los grupos II, IV, V (Figura 5C) y VI (Figura 5D) no presentaron de estenosis durante todo el tiempo que fueron evaluados (Gráfica 1).

Al comparar radiológicamente el porcentaje de estenosis dentro de cada grupo y entre grupos solo el grupo I mostró diferencia estadística significativa (ANDEVA  $p < 0.05$ , Kruskal-Wallis  $p < 0.05$ ).

### **3. Hallazgos Endoscópicos.**

En los animales del grupo I, durante la primera y segunda semana se presentó estenosis del 50% (Grado I) en el 33.3% ( $n=2$ ) de los perros y en la tercera semana en el 50% ( $n=3$ ) de ellos, la cual se mantuvo hasta el final del estudio. También en este grupo, el 100% de los animales presentaron cicatrización de la traqueoplastia a los 7 días. La mucosa traqueal en este grupo se encontró edematosa e hiperémica en todos los animales operados durante las 2 primeras semanas del estudio. En un animal de este grupo la hiperemia y el edema se mantuvieron hasta el final del estudio (Figura 6A).

En el grupo II el 100% ( $n=6$ ) de los animales, mostraron buena evolución endoscópica y ningún animal (0%) presentó estenosis, se encontró cicatrización de la traqueoplastia a los 7 días con desaparición del edema e hiperemia a las 2 semanas en todos los animales (Figura 6B).

En el grupo III, el 83.3% de los animales presentó evolución endoscópica satisfactoria y solo un perro (16.7%) presentó estenosis grado I de acuerdo con la escala de Cotton (2), con reducción de la luz de la traqueal del 50%. Con respecto al estado de la anastomosis, el 100% de los animales presentó desarrollo de tejido cicatrizal sobre ambos bordes de la traqueoplastia a los 7 días después de haber realizado la cirugía. Durante los primeros 5 días, la mucosa traqueal se mostró hiperémica y edematosa, pero estos signos ya no fueron aparentes en la segunda semana postcirugía. Asimismo, durante la traqueoscopia se pudo observar que la estenosis del animal del grupo III era laxa y permitió el paso del endoscopio sin dificultad, no así en las estenosis del grupo control, las cuales fueron fuertes, difíciles de vencer y sangraron al paso del endoscopio (Figura 6C). El 100% (n=6) de los animales del grupo IV, mostraron buena evolución endoscópica y ningún animal (0%) presentó estenosis (Figura 6D), todas las anastomosis desarrollaron tejido cicatrizal sobre ambos bordes de la traqueoplastia a los 7 días después de haber realizado la cirugía. Durante los primeros 5 días, la mucosa traqueal se mostró hiperémica y edematosa, pero estos signos ya no fueron aparentes en la segunda semana postcirugía.

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

Grupo VI el 100% de los animales (n=6) también mostraron evolución traqueoscópica satisfactoria y ninguno mostró estenosis de la anastomosis traqueal (Figura 6F), todas las anastomosis desarrollaron tejido cicatrizal sobre ambos bordes de la traqueoplastia a los 7 días después de haber realizado la cirugía. La mucosa se encontró hiperémica durante los primeros 7 días persistiendo el edema por 2 semanas en todos los animales postcirugía.

Al correlacionar la evolución endoscópica dentro de cada grupo y entre grupos, se pudo observar que las tráqueas a las que se les aplicó SSF presentaron mayor porcentaje de estenosis (ANDEVA  $p < 0.05$ ) (Gráfica 2).

#### ***4. Hallazgos Macroscópicos.***

Cuando los animales fueron sometidos a eutanasia, a la evaluación macroscópica ningún grupo presentó evidencia alguna de dehiscencia, infección o fístulas. En los seis grupos, la anastomosis estaba bien sellada (Figura 7). En el 100% de los animales del grupo I se observó presencia de abundante tejido fibroso de consistencia firme. En los grupos II, III, IV y VI en todos los perros se apreció desarrollo de tejido fibroso moderado de consistencia laxa, así como la presencia de aparentes vasos de neoformación a nivel de la anastomosis, tanto sobre el cartílago como sobre la mucosa traqueal. Además en el grupo V se observó desarrollo de tejido fibroso moderado pero de consistencia firme, así como vasos de neoformación tanto en la mucosa como en el cartílago del segmento traqueal anastomosado.

### **5. Hallazgos Microscópicos.**

En la evaluación histológica de los animales del grupo I en todos los casos (100%) se observó fibrosis, caracterizada por la formación de nuevas fibras de colágena gruesas y desordenadas, 2 de estos animales (33.3%) presentaron inflamación leve en la lamina propia. Los otros 4 animales (66.6 %) en todas las capas de la tráquea, mostraron inflamación severa a base de linfocitos, con presencia de células gigantes a cuerpo extraño en la zona de las suturas (**Figura 8A**), además 2 de estos animales (33.3%) mostraron hemorragia en la lámina propia.

Los Animales del grupo II, microscópicamente presentaron fibrosis moderada caracterizada por la presencia de fibras de colágena gruesa y bien organizada, en todos los casos el cartílago se observó con desorganización de sus estructuras histológicas. Además, cinco (83.3%) de los seis perros operados desarrollaron inflamación moderada a base de linfocitos en la zona de las suturas (**Figura 8B**), solo un animal (16.6%) mostró una inflamación severa a base de neutrófilos en la zona de sutura.

En los animales del grupo tratado con AH (grupo III), 4 perros (66.6 %) mostraron desarrollo de nuevas fibras de colágena densa, delgada y bien organizada, así como fibras elásticas, también presentaron reacción inflamatoria leve en la submucosa serosa y lámina propia de la tráquea (**Figura 8C**), en 2 de éstos sujetos de estudio (33.3%) se observó hemorragia en el epitelio y lámina propia. En un animal de este grupo (16.6%), se presento reacción inflamatoria intensa a base de linfocitos en todas las capas de la tráquea, con reacción granulomatosa al

material de sutura, con formación de fibras de colágena gruesas y desordenadas **(Figura 8D)** .

Los estudios histológicos de los 6 animales (100%) del grupo IV (CPVP) mostraron depósitos de nuevas fibras de colágena gruesas y bien organizadas, vasos de neoformación y hemorragia de la serosa, el 33% de estos animales (n=2) desarrollo una reacción inflamatoria leve a base de linfocitos en la lamina propia, además 1 perro (16.6%) mostró fibrosis en la serosa **(Figura 8E)**.

En los animales del grupo V, en el 100% ( n = 6 ) , también se observó el desarrollo de fibras de colágena bien organizadas, delgadas y fibras elásticas con poco desarrollo de vasos de neoformación **(Figura 8F)**. En cuatro animales (66.66%) todas las capas de la tráquea mostraron abundante inflamación con infiltrado de linfocitos.

Los animales del grupo VI en general todos los animales de este grupo (100%) mostraron una buena cicatrización, en la que se identificaron pocas fibras de colágena, delgadas y bien organizadas. El cartílago traqueal se observó normal a excepción de la zona en la que se llevó a cabo la anastomosis, la cual mostró degeneración del mismo. También se apreciaron zonas de pérdida del epitelio en el sitio de la anastomosis. En todos los casos se desarrollo inflamación mínima a base de linfocitos en la zona de las suturas.

## **6. Hallazgos Bioquímicos**

Al cuantificar bioquímicamente la cantidad de colágena por mg de tejido traqueal mediante el método de Woessner, al comparar dentro de cada grupo se observó

que en los grupos I (SSF), II (betametasona) y AH, la cantidad de esta se incremento después de la cirugía y aplicación del tratamiento, sin embargo este incremento solo fue significativo en el grupo I (Andeva  $p < 0.05$ , Tukey/Kramer  $p < 0.05$ ) (Cuadro 1, Gráfica 1).

En los grupos IV (CPVP) (Andeva  $p < 0.05$ , Tukey/Kramer  $p < 0.01$ ) V (AH más CPVP) y VI (Mitomicina C) (Andeva  $p < 0.05$ , Tukey/Kramer  $p < 0.01$ ), la cantidad de colágena formada poscirugía y postratamiento disminuyo significativamente (Cuadro 2, Gráfica 3).

Al comparar entre grupos, todos los grupos (II, III, IV Andeva  $p < 0.01$ , Tukey/Kramer  $p < 0.05$ ) (V y VI Andeva  $p < 0.001$ , Tukey/Kramer  $p < 0.01$ ) formaron menos colágena después de la cirugía que el grupo I (Cuadro 2, Gráfica 3).

Al final del estudio no se observó diferencia en la cantidad de colágena formada entre los grupos V y VI ( $p = NS$ ), sin embargo estas mostraron disminución significativa al compararla con la del grupo IV (Andeva  $p < 0.001$ , Tukey/Kramer  $p < 0.001$ ) (Cuadro 2, Gráfica 3).

## **VII. DISCUSIÓN.**

La laringe y la traquea son estructuras tubulares semirígidas en las cuales la contracción concéntrica de la cicatrización (un proceso normal de la forma de sanar de estas estructuras) tiende a estrechar su lumen. La amplia gama de técnicas quirúrgicas para cualquier estenosis atestigua la complejidad y los variables resultados de los distintos tratamientos (5)

La estenosis traqueal se produce por una fibrosis desproporcionada que se debe al exagerado proceso de reparación que sucede a la necrosis originada por la isquemia de la mucosa y tejido de soporte traqueal y que se traduce en obstrucción de la luz traqueal obstaculizando la circulación de aire en los dos sentidos.

Durante el proceso de cicatrización traqueal el tejido de granulación que se produce juega un papel importante, ya que puede provocar una cicatriz extensa y fibrótica. La atenuación de ese proceso de cicatrización mediante la acción de un agente modulador puede resultar eficaz en la prevención de las estenosis traqueales (18).

El ácido hialurónico , la colágeno polivinil-pirrolidona, el fosfato sódico de betametasona y la mitomicina C son moduladores de la cicatrización y se han utilizado con éxito en reumatología (14), otorrinolaringología (15), ginecología (16), oftalmología (21,22,23,24), cirugía plástica y dermatología (20). Sin embargo hasta ahora no se tiene conocimiento de la existencia de reportes en la literatura, en los que se evalúen los cambios en la cicatrización de la tráquea después de la aplicación de alguno de estos medicamentos en un solo estudio. En este trabajo

se describe el efecto de la aplicación de ácido hialurónico, colágeno polivinilpirrolidona, fosfato sódico de betametasona y la mitomicina C sobre la cicatrización traqueal, después de realizar una traqueoplastia en perros.

Los hallazgos clínicos, radiográficos y endoscópicos, de todos los animales de experimentación incluidos en este estudio, mostraron que en todos los casos se presentó cicatrización traqueal, sin embargo, la cicatrización observada con la traqueoscopia en los animales de los grupos II, III, IV, V y VI desde la primer semana no mostró signos de inflamación a diferencia de la del grupo control, debido a que la respuesta inflamatoria de las heridas traqueales disminuye en presencia de AH, CPVP y fosfato sódico de betametasona, ya que éstos favorecen la proliferación de células que producen un infiltrado inflamatorio monocelular, el cual disminuye el proceso inflamatorio agudo, local y periférico en el caso del AH (18) y la CPVP (9, 21), mientras que el esteroide estabiliza la pared celular, disminuye el edema y previene la migración de macrófagos (34) supresión de la proliferación de fibroblastos (10) o la inhibición de la síntesis de colágena o colagenasa (13). Sin embargo en el grupo al que se le aplicó la mitomicina C la mucosa se encontró edematizada por 2 semanas, porque este fármaco no tiene efecto antiinflamatorio agudo

Los hallazgos macroscópicos de este estudio, coinciden con los reportados por otros autores (7,10, 12, 14-16, 35-40) y sugieren que el desarrollo de cicatrices menos fibróticas y laxas formadas en los animales del grupo II, III, IV, V y VI se produjeron porque todos estos fármacos durante la inflamación que es parte del

proceso de cicatrización disminuyen la producción de colágena y restablecen la arquitectura normal del tejido traqueal permitiendo una mejor organización de los fibroblastos en el caso del AH y CPVP, mientras que los esteroides y la mitomicina pero este puede deberse producen una completa e irreversible inhibición de la proliferación de los fibroblastos, así como la producción y migración de la matriz extracelular (2,13).

En la histología, la inflamación severa con presencia de linfocitos en los animales del grupo I mostró que existe proceso de inflamación crónica a diferencia de los animales del grupo de AH, CPVP, fosfato sódico de betametasona en donde éstos no se presentaron. Estos hallazgos coinciden con los de otros autores que mencionan que en presencia de éstos se disminuye la inflamación (12, 32-35).

Las células gigantes a cuerpo extraño que se observaron en la zona de las suturas de un animal del grupo I, es una respuesta de inflamación crónica granulomatosa, al material de sutura que provocó la fusión de los macrófagos que fueron a digerirlo y por eso se formaron las células gigantes a cuerpo extraño (41-43).

La presencia de menor inflamación a base de linfocitos que se presento en todos los grupos en contraste con los animales del grupo I en la que fue severa, sugieren que la aplicación de los fármacos (esteroide, AH, la mezcla AH-CPVP) disminuyen la respuesta inflamatoria. Estos hallazgos coinciden con los de otros autores (42) que menciona que los mediadores inflamatorios del sistema inmune se asocian a la reparación de los tejidos. Barbur and cols. mostraron que los linfocitos (esencialmente los T), tienen un papel muy importante en la regulación

de la cicatrización del adulto principalmente en la modulación de la fibrosis (44-47).

También se puede inferir que la presencia de menor respuesta inflamatoria en los grupos II, III, IV y V se debió a que los fármacos promueven una respuesta inflamatoria local y periférica mediada por células mononucleares, como lo reporto Krümel (2,13, 46), Burrington (47), Sopher (48), Goss (49) y Adolph (43). Aunque en este estudio no se observó que la mitomicina C disminuyera la inflamación durante el mismo tiempo que los otros medicamentos, en los estudios histológicos se apreció que esta tiene efectos antiinflamatorios a largo plazo (4 semanas), sin embargo no existen estudios que reporten estos hallazgos.

Con respecto al desarrollo de fibras de colágena bien organizadas en los animales de los grupos II, III, IV, V y VI sugiere que éstos ordenan y adelgazan las fibras de colágena y restablecen la arquitectura normal del tejido traqueal y con esto se evita la formación de fibrosis, porque durante la inflamación cicatrizal se disminuye la producción de colágena. (9,13, 17, 20, 21,31).

Mientras que la mitomicina C aún no se sabe cuál el mecanismo exacto por el cual disminuye la fibrosis, algunos autores sugieren que tiene un efecto similar a la de los agentes alquilosantes, ya que produce uniones cruzadas de DNA e inhibe la síntesis de RNA y de colágena. También se menciona que hay evidencias que sugieren de que su actividad antifibroblástica es por que la reducción de la actividad de los fibroblastos esta mediada por apoptosis en la cual se produce la muerte programada del mismo, en la que células apoptóticas muestran una característica morfológica que incluye condensación del núcleo y citoplasma,

fragmentación nuclear y derrame citoplásmico con la membrana celular intacta (2), además de producir migración de la matriz extracelular. En nuestro estudio la disminución en la fibrosis traqueal coinciden con los reportados por otros autores (2, 13, 50, 51).

La evaluación bioquímica mostró que tanto la CPVP, la mezcla AH-CPVP y la mitomicina C disminuyen de manera importante la cantidad de colágena desarrollada por mg de tejido en comparación con el grupo tratado con SSF, esto puede explicarse porque el tratamiento con estos fármacos disminuye la formación de fibras de colágena y coincide con los hallazgos observados por otros autores al realizar estudios de cicatrización en otros tejidos y diferentes modelos experimentales y clínicos (2, 13, 34, 50-56),

## **VIII. CONCLUSIÓN.**

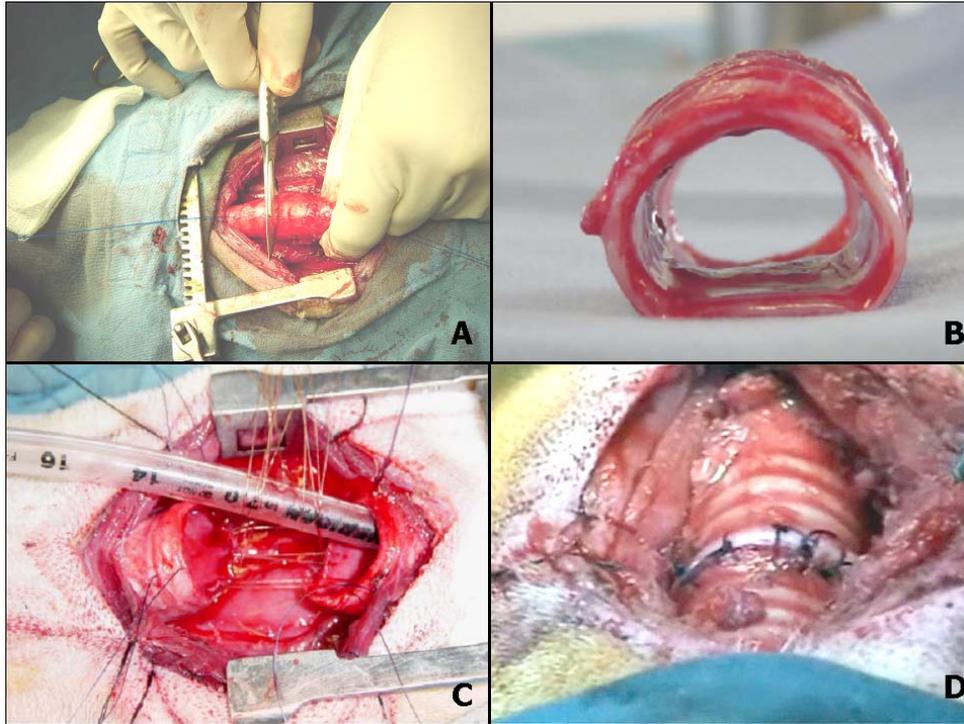
De acuerdo a lo descrito, se puede concluir que tanto la colágeno polivinil pirrolidona, la mezcla de ácido hialurónico y CPVP o la mitomicina C administrados después de la realización de traqueoplastías en perros, disminuyen la inflamación de las anastomosis y mejora la calidad de la cicatrización traqueal disminuyendo la formación de estenosis traqueal postraqueoplastía en perros.

La cantidad de colágena formada por gramo de tejido traqueal disminuye significativamente en el sitio de la anastomosis traqueal después de la aplicación tópica de ácido hialurónico, colágeno polivinil pirrolidona, la mezcla de ambos o mitomicina C, después de la realización de traqueoplastías en perros.

## X. FIGURAS.



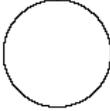
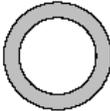
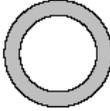
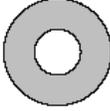
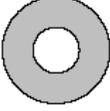
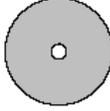
**Figura 1.** Animal anestesiado y colocado en posición decúbito dorsal sobre la mesa de cirugía, previo a la realización de la traqueoplastía.



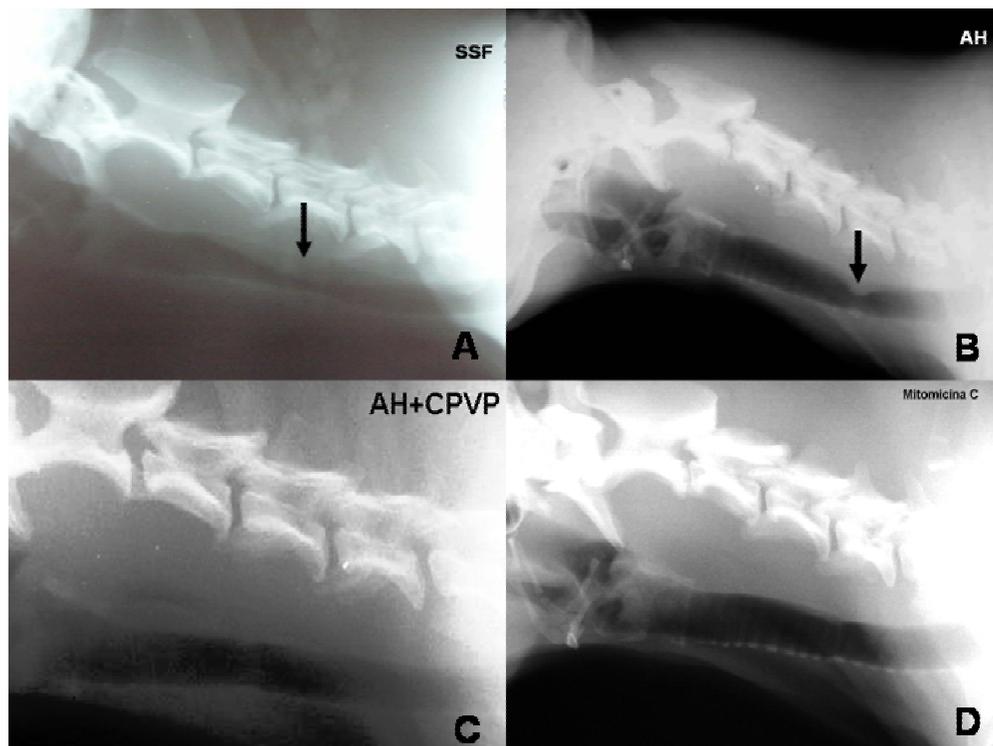
**Figura 2.** (A) Muestra la traquea cervical antes de ser resecada. (B) anillos traqueales resecados, (C) tubo traqueal colocado en la porción distal de la traquea y (D) traqueoplastia terminada.



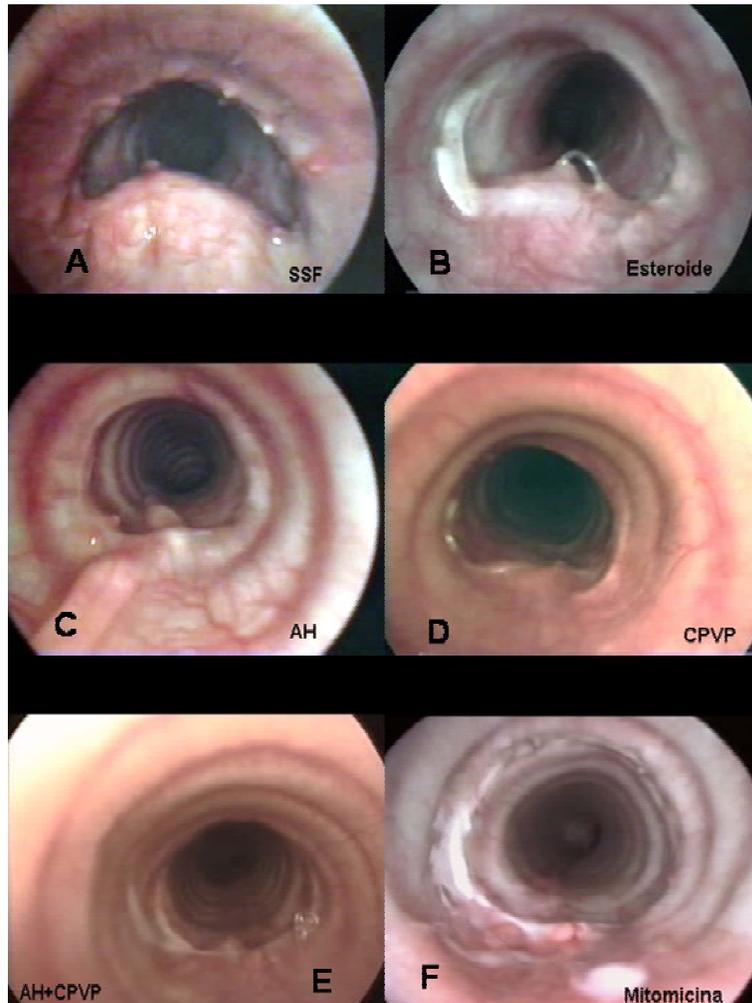
**Figura 3.** Instilación de medicamento en sitio de anastomosis de la plastía traqueal en un animal del grupo III.

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

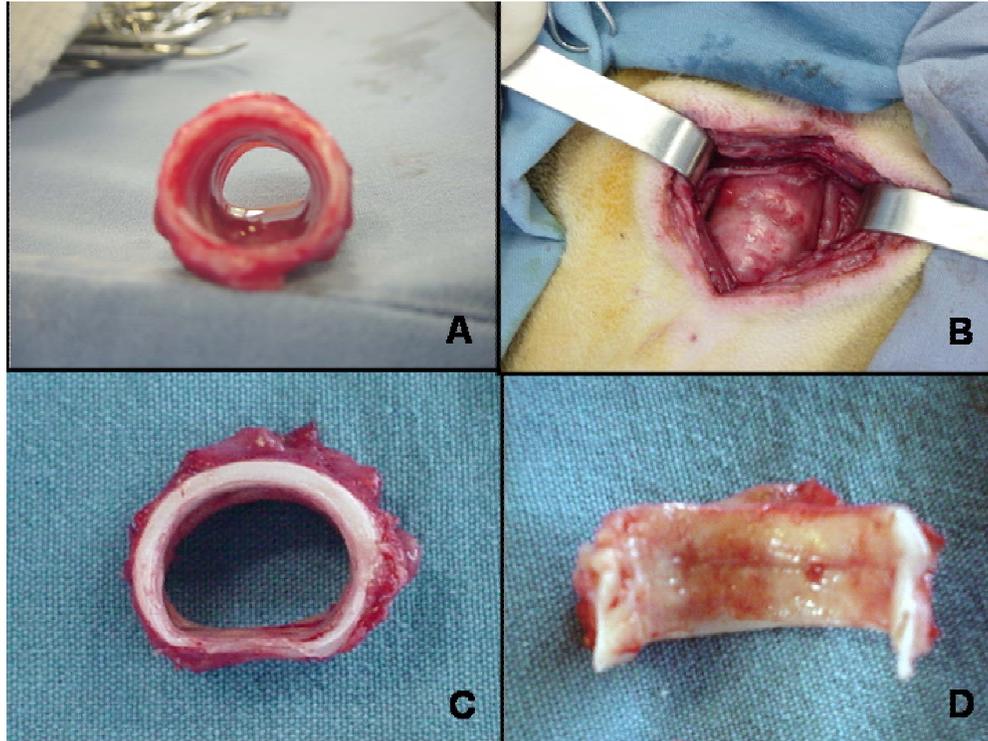
**Figura 4.** Esquema que muestra la clasificación para las estenosis traqueal propuesto por Robbin T. Cotton (29)



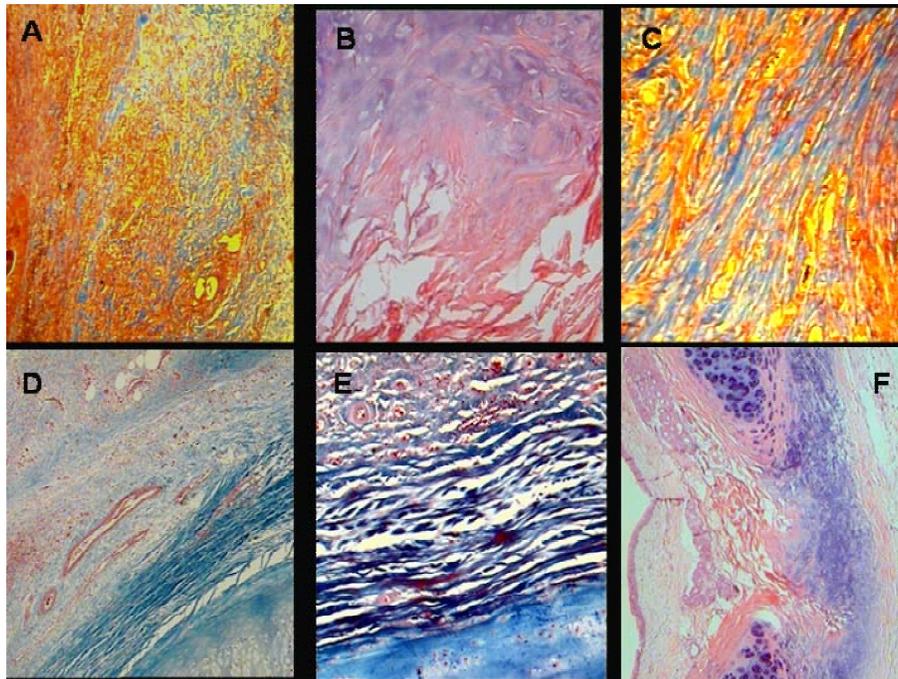
**Figura 5.** Placas laterales de cuello tomadas a las 4 semanas postraqueoplastía en las que se observa la estenosis traqueal (Flecha) en los animales del grupo I (A) y II (B), así como la luz traqueal completamente permeable en los animales de los grupos V (C) y VI (D).



**Figura 6.** Traqueoscopia realizada al final del estudio que muestra (A) la presencia de inflamación y estenosis en un animal del grupo I. También se observa la perfecta cicatrización de la traqueoplastia y la completa permeabilidad de la luz traqueal en los animales de los grupos II (B), III (C), IV (D), V (E) y VI (F).



**Figura 7.** Muestra la perfecta cicatrización de la anastomosis traqueal al final del estudio en los animales del grupo V (A y B) y VI (CyD).



**Figura 8.** **(A)** Fotomicrografía que muestra fibras de colágena desorganizadas en un animal del grupo I (SSF) (Masson 10x). **(B)** se observan las fibras de colágena en el grupo tratado con betametasona (Grupo II) (H-E 40x). **(C)** colágena gruesa y bien organizada en el grupo III (AH) (Masson 40x). **(D)** vasos de neoformación y colágena delgada y bien organizada en un animal del grupo IV (CPVP) (Masson 10x). **(E)** colágena bien organizada, vasos de neoformación y estructura del cartílago bien preservada en el grupo V (AH-CPVP) (Masson 40x). **(F)** epitelio traqueal, perfecta estructura del cartílago y fibras de colágena bien organizada entre el cartílago traqueal seccionado por el corte de la traqueoplastía en un animal del grupo VI (Mitomicina C) (Masson 10x).

## XI. CUADROS.

Evaluación de la disnea						
Grupos de estudio						
Grado de disnea	Grupo I (SSF)	Grupo II (Esteroid e)	Grupo III (AH)	Grupo IV (CPVP)	Grupo V (AH más CPVP)	Grupo VI (Mitomicina C)
0 Sin dificultad para respirar después de correr	6	6	6	6	6	6
1 Dificultad para respirar después de correr	0	0	0	0	0	0
2 Dificultad para respirar en reposo	0	0	0	0	0	0

Promedio  
ANDEVA y Kruskal-Wallis, p=NS.

**Cuadro 1.** Representa el grado de disnea en los seis grupos experimentales durante todo el tiempo de estudio.

<b>Miligramos de colágena en el tejido traqueal antes y después de la cirugía</b>						
<b>Grupos de estudio</b>						
	<b>Grupo I (SSF)</b>	<b>Grupo II (Esteroid e)</b>	<b>Grupo III (AH)</b>	<b>Grupo IV (CPVP)</b>	<b>Grupo V (AH- CPVP)</b>	<b>Grupo VI (Mitomicin a C)</b>
<b>Precirugía Sin Tratamien to</b>	223.15 ± 15.80	101.44 ± 19.46	187.06 ± 12.19	257.16 ± 10.10	225.12 ± 8.95	226.62 ± 26.56
<b>Poscirugí a Pos tratamient o</b>	318.15 ± 10.92	138.11 ± 20.87	217.46 ± 14.51	*184.40 ± 13.20	** † 8.58 ± 1.38	** † 13.67 ± 3.70

Promedio ± EE.

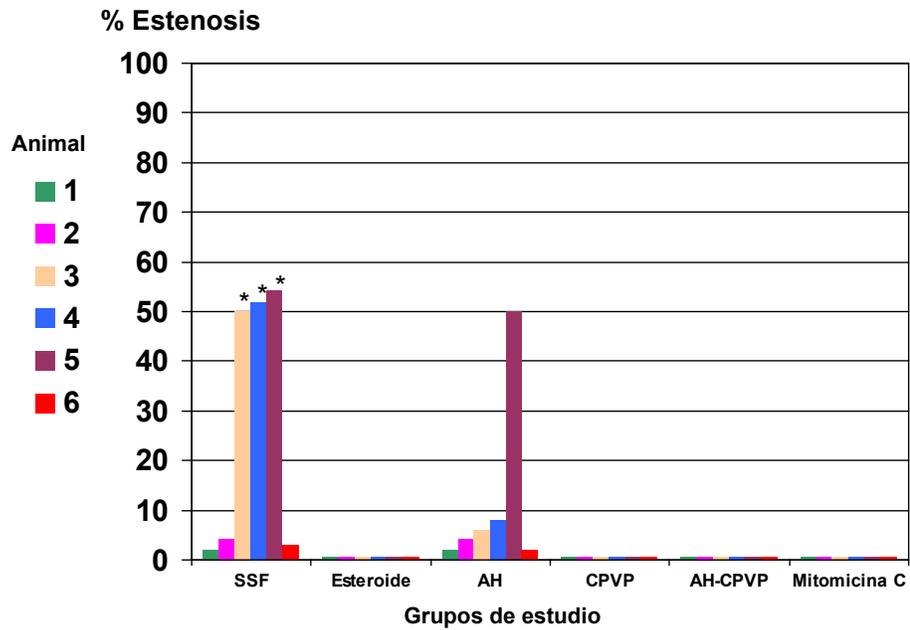
Andeva \* p<0.05 \*\* p<0.001.

\*Tukey Kramer p<0.01, † Tukey Kramer p<0.001.

**Cuadro 2.** Muestra la disminución de los mg de colágena formada en la cicatriz de la traqueoplastía al final del estudio.

## XII. GRAFICAS.

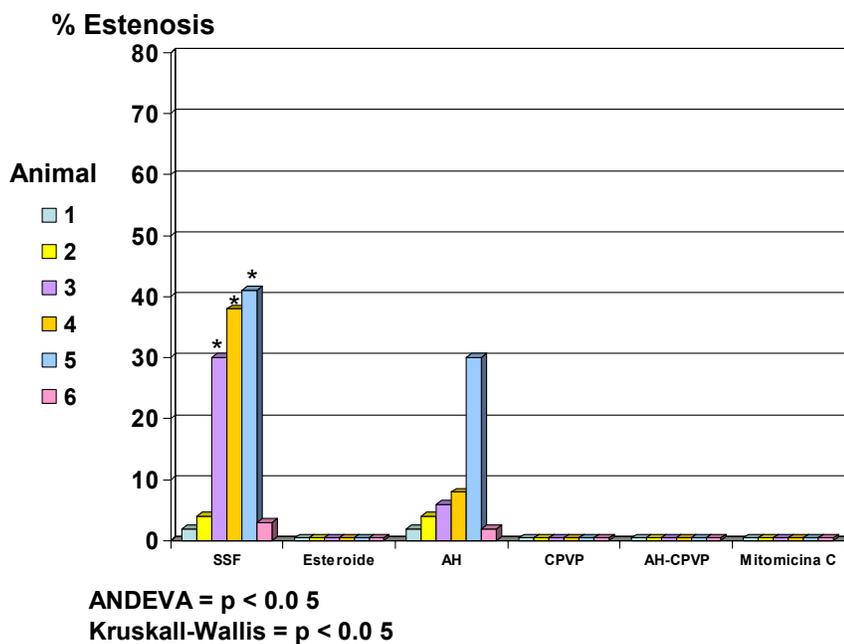
### Evaluación radiológica



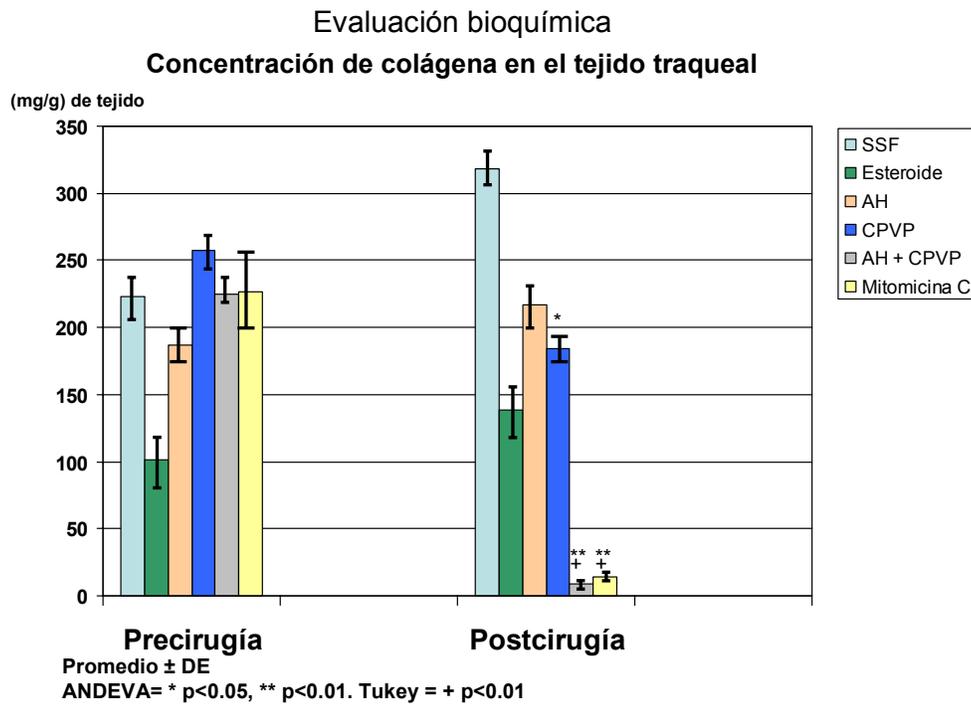
\* ANDEVA =  $p < 0.05$

**Gráfica 1.** Muestra el porcentaje de estenosis detectado en la evaluación radiológica al final del estudio en los animales del grupo I y III.

## Evaluación traqueoscópica.



**Gráfica 2.** Se observa la presencia de estenosis durante la evaluación traqueoscópica en los animales del grupo I y III al final del estudio.



**Gráfica 3.** Muestra la disminución de colágena formada por mg de tejido traqueal en la cicatriz de la traqueoplastia al final del estudio, en los grupos IV, V y VI.

## **IX. BIBLIOGRAFIA.**

- 1.- Grillo HC, and Donahue DM: Stenosis Tracheal Postintubation. Chest Surg Clin N Am , 1996, 6: 725-731.
- 2.- Reza R, Stanley MS and Gerald BH. Mitomycin: Effects On Laryngeal and Tracheal Stenosis, Benefits and Complications. Ann Otol Laryngol. 2001; 110: 1-6.
- 3.- Soda A, Delgado A y Morales J. Manejo Quirúrgico de las estenosis traqueales. Gaceta Medica de México. 1994; 130: 386-389.
- 4.- Soda MA, Delgado FA, Fernández EJ, Gánem MJ and Borgstein VJ. Estenosis laringotraqueales: Experiencia en el Instituto Nacional de enfermedades Respiratorias. Anales Sociedad Mexicana Otorrinolaringología. 1990; 35: 85-92.
- 5.- Lorenz R. Adult laryngotracheal stenosis: etiology and surgical management. Current opinion in otolaryngology and head and neck surgery 2003 11:467-472.
- 6.- Correa AJ, Reinish L, Sanders DL and Huang S. Inhibition of subglottic stenosis with mitomycin c in the canine model. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1999; 108:1053-60.
- 7.- Krotz-Gomez F, Reyes-Marquez R, Díaz L. TGF-B and PDGF-AB expresión in fibroblast derived from normal skin, hypertrophic/keloid scar and hypertrophic/keloid scar treated with fiboquel. Wound Repair and Repair Regeneration. 1996; 4: A160.
- 8.- Livingstone GL and Schild JA. Lathirogenic agents as therapy for subglottic stenosis a pilot study. Otolaryngol Head Neck Surg. 1987; 97:446-51.

- 9.- Longaker MT, Harrison MR, Crombleholme TM, et al: Studies in Fetal Wound Healing: I. A Factor in Fetal Serum that Stimulates Deposition of Hialuronic Acid. J Pediatr Surg. 1989; 24: 789-792.
- 10.- Chimal J, Lira M, De la Cruz et al. Healing of fractures rat femoral bones enhanced by fibroquel. Aradiological, histological and histochemistry study. Wound Repair and Regeneration. 1996; 4: A147.
- 11.- Chimal J, Bravo T, Krotz F and Díaz L. Implantes de fibroquel aceleran la formación de hueso nuevo en defectos óseos inducidos experimentalmente en cráneos de rata: un estudio histológico. Rev. Biomed 1997; 8: 81-88.
- 12.- Doolin E, Tsumo K, Strande M and Santos M. Pharmacologic inhibition of Collagen in an experimental model of subglottic stenosis. Ann Otol Rhinol Laringol. 1998, 107:275-78.
- 13.- Eliashar R, Eliachar I, Esclamado R, Gramlich T and Strome M. Can Topical Mitomicyn Prevent Laryngotracheal Stenosis?. Laryngoscope. 1999; 109: 1594-1600.
- 14.- Wen DY. Intra-articular Hyaluronic Acid Injection for Knee Osteoarthritis. American Family Physician. 2000; 62: 565-570.
- 15.- Soldati D, Rahm F, Pasche P. Mucosal Wound Healing After Nasal Surgery. A Controlled Clinical Trial on the Efficacy of Hyaluronic Acid Containing Cream. Drug Under Experimental and Clinical Research. 1999; 25: 253-261.
- 16.- Sawada T, Hasegawa K, Tsukada K, et al: Adhesion Preventive Effect of Hyaluronic Acid After Intraperitoneal Surgery in Mice. Human Reproduction. 1999; 14: 1470-1472.

- 17.- Krauss MC. Recent Advances in Soft Tissue Augmentation. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*. 1999; 182: 119-128.
- 18.- Olmos-Zuñiga JR, Santos-Cordero A, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Gaxiola-Gaxiola M, Mora-Fol R, Franco-Oropeza A y Santillan-Doherty P. Efecto del ácido hialurónico sobre la cicatrización traqueal en un modelo experimental canino. *Acta Otorrinolaringológica Española*. 2004; 55: 81-87.
- 19.- Charous SJ, Ossof RH, Reinisch L and Davidson JM. Canine subglottic stenosis as a model for excessive fibrosis: a pilot immunohistochemical analysis. *Wound Rep. Reg*. 1996; 4: 444-453.
- 20.- Darzi MA, Chowdri NA, Kaul SK and Khan M. Evaluation of various methods of treating keloids and hypertrophic scar: A 10 years follow up study. *British Journal of Plastic Surgery*. 1992; 45: 374-79.
- 21.- Loyola-Garcia U. Respuesta Terapéutica A La Colágeno-Polivinil Pirrolidona En Un Modelo Experimental De Estenosis Traqueal Canino. Tesis Especialidad de Cirugía Torácica. México D.F. Facultad de Medicina. UNAM, 2001.
- 22.- Kunimoto N and Mori S. Studies on the pterygium. Part IV A treatment of the pterygium by mitomycin- C instillation. *Acta Soc Ophthalmol Jpn*. 1963; 67: 601-607.
- 23.- Palmer S., Mitomicyn as adjunct chemotherapy with trabeculectomy. *Ophthalmol*. 1991; 98: 317-321.
- 24.- Bergstrom TJ, Wilkinson WS, Skuta GL, Watnick RL and Elner VM. The effects of subconjunctival mitomycin C on glaucoma filtration surgery in rabbits. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 1725-1730.

25.- 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. Estados Unidos Mexicanos.

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

27.- Memories of the Course of Animal Anesthesia and Models of the 12 th Annual Meeting and 1ST International Conference of the Academy of Surgical Research. University of Muenster Department of Surgery. Muenster, Germany, October, 1996.

28.- Task Group on Screening For Respiratory Disease in Occupational Settings. Am Rev Respir Dis. 1982, 126: 952-56

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

30.- Ruiz López VM. Efecto de los Inmunosupresores en la Cicatrización Bronquial en un Modelo de Autotrasplante Pulmonar. Tesis Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF. 1996.

31.- Hernández Jiménez Claudia. Efecto del ácido hialurónico y colágeno polivinil pirrolidona sobre la cicatrización traqueal en un modelo experimental canino. Tesis de Maestría en Ciencias. México D.F. Facultad de Veterinaria. UNAM 2005

- 32.- . Del Rio J, Beck DE. Chronic perioperative Steroids and colon anastomosis healing in rats . Journal of Surgical Research. 1996; 66 138-142.
- 33.- Santillán Doherty P, Jasso-Victoria R, Olmos- Zúñiga R. Efecto de la prednisona, la azatioprina y la ciclosporina A sobre la cicatrización bronquial. Cir Ciruj. 1998; 66: 165-171.
- 34.- Edgard J, Louise. F. Pharmacologic inhibition of collagen in an experimental model of subglottic stenosis. Annal of rhinology and laryngology. 1998; 107: 275-279.
- 35.- Krupala, J.L., Gianoli G.J. and Smith R.A. The Efficacy of Hyaluronic Acid Foam As a Middle Ear Packing Agent In Experimental Tympanoplasty. The American Journal Of Otology. 1998; 19: 546-50.
- 36.- Simon LS. Viscosupplementation Therapy with intra-articular Hyaluronic Acid. Fact or fantasy?. Rheum Dis Clin N Am. 1999; 25: 345-357.
- 37.- Kelly MA, Moskowitz RW, Lieberman JR. Hyaluronan therapy: looking toward the future. Am J Orthop. 2004; 33(2 Suppl): 23-28.
- 38.- Reijnen MM, Bleichrodt RP, Van Goor H. Pathophysiology of intra-abdominal adhesions and abscess formation, and the effect of hyaluronan. Br J Surg. 2003; 90: 533-541.
- 39.- Chimal-Monroy J, Bravo-Ruiz T, Furuzawa-Carballeda GJ, et al. Collagen-PVP accelerates new bone formation of experimentally induced bone defects in rat skull and promotes the expression of osteopontin and SPARC during bone repair of rat femoral fractures. Ann N Y Acad Sci. 1998; 857:232-236.

- 40.- Cervantes-Sanchez CR, Olaya E, Testas M, et al. Collagen-PVP, a collagen síntesis modulator, decreases intraperitoneal adhesions. *J Sur res.* 2003; 110: 207-210.
- 41.- Peacock E.E. Control of wound healing and scar formation in surgical patients. *Arch Surg.* 1981; 116: 1325-29.
- 42.- Burd DAR, Greco RM, Regauer S, Longaker MT, Siebert JW, Garg HG. Hyaluronan and wound healing: a new perspective. *Br J Plastic Surg.* 1991; 44: 579-584.
- 43.- Adolph VR, DiSanto SK, Bleacher JC, et al. The potential role of the lymphocyte in fetal wound healing. *J Ped Surg.* 1993; 28: 1316-1320.
- 44.- Barbul A, Regan MC. The regulatory role of T-Lymphocytes in wound healing. *J Trauma.* 1990; 30:cS97-S100.
- 45.- Barbul A.. Immune aspects of wound repair. *Clin Plast Surg.* 1990; 17: 433-441.
- 46.- Krummel TM, Nelson JM, Diegelmann RL, et al. Fetal response to injury in the rabbit. *J Pediatr Surg.* 1987; 22: 640-644.
- 47.- Burrington JD. Wound healing in the fetal lamb. *J Pediatr Surg.* 1971; 6: 523-528.
- 48.- Sopher D. The response of rat fetal membranes to injury. *Ann R Coll Surg.* 1972; 51: 240-249.
- 49.- Goss AN. Intra-uterine healing of fetal rat oral mucosa, skin and cartilage wounds. *J Oral Pathol.* 1977; 6: 35-43.

- 50.- Lee DA, Lee TC, Cortes AE. Effects of mitramycin, mitomycin, daunorubicin and bleomycin on human subconjunctival fibroblast attachment and proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1990; 31: 2136-2144.
- 51.- Khaw PT, Sherwood MB, MacKay SL. Five-minute treatments with fluorouracil, floxuridine and mitomycin have long-term effect on human Tenon's capsule fibroblast. *Arch Ophthalmol.* 1992; 110: 1150-1154.
- 52.- Longaker MT, Whitby DJ, Adzick NS, et al. Studies in fetal wound healing, VI. Second and early third trimester fetal wounds demonstrate rapid collagen deposition without scar formation. *J Pediatr Surg.* 1990; 25: 63-69.
- 53.- Mast BA, Diegelmann RF, Krummel TM, Cohen IK. Scarless wound healing in the mammalian fetus. *Surg Gynecol Obstetrics.* 1992; 174:441-51.
- 54.- Longaker MT, Chiu ES, Adzick NS, Stern M, Harrison MR, Stern R. Studies in fetal wound healing V. A prolonged presence of hyaluronic acid characterizes fetal wound fluid. *Ann Surg.* 1991; 213: 292-296.) , (20,31),
- 55.- Senders CW. Use of mitomycin C in the pediatric airway. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004; 12: 473-475.
- 56.- McCurdy E, Blake S. Airway complications from topical mitomycin C. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005; 133: 831-835.)