

**UNIVERSIDAD DE VALLADOLID.  
FACULTAD DE MEDICINA.**

**DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA, OFTALMOLOGÍA,  
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y FISIOTERAPIA.**



TESIS DOCTORAL.

***“VALORACIÓN HISTOPATOLÓGICA DE LA APLICACIÓN  
DE SUSTANCIAS SELLANTES EN LESIONES  
TRAQUEALES. ESTUDIO EXPERIMENTAL”.***

**LUIS JORGE CEREZAL GARRIDO.**

VALLADOLID, ENERO DE 2009.



TESIS DOCTORAL.



***“VALORACIÓN HISTOPATOLÓGICA DE LA APLICACIÓN  
DE SUSTANCIAS SELLANTES EN LESIONES  
TRAQUEALES. ESTUDIO EXPERIMENTAL”.***

**DOCTORANDO:**

**LUIS JORGE CEREZAL GARRIDO.**

**DIRECTORES:**

**PROF. JAVIER AGUDO BERNAL.**

**PROF. CARLOS VAQUERO PUERTA.**



*“Para mis hijos, Gemma y Jorge.  
Para Pilar, mi esposa”.*



**AGRADECIMIENTOS.**





En primer lugar, he de manifestar mi más profundo agradecimiento a los Profesores Don Carlos Vaquero Puerta y Don Javier Agudo Bernal, por sus enseñanzas y apoyo iniciados en mis tiempos de estudiante en la Facultad de Medicina de Valladolid, y culminados en la dirección del presente trabajo de Tesis Doctoral.

En segundo lugar he de mostrar mi reconocimiento al Doctor Ángel Álvarez Barcia, veterinario de la Facultad de Medicina, por su valiosa labor en el cuidado de los animales intervenidos, y a los Doctores Noelia Cenizo, Enrique San Norberto y Antonio Brizuela por su meritoria asistencia en la elaboración de las muestras para su estudio y análisis.

Deseo también hacer particular mención de las empresas Baxter, Ethicon y Palex por la buena disposición y facilidades que me brindaron en la obtención de las sustancias sellantes empleadas para el trabajo experimental.

No debo olvidar el ánimo que en todo momento me prestaron mis maestros, compañeros y amigos de los Hospitales Universitarios de Valladolid y Alicante.

Y muy especialmente expongo mi gratitud a mis padres y abuelos, que siempre fueron un ejemplo y apoyo para mi; a mis tíos Mari y Jacinto por su cariño y ayuda en la edición gráfica de esta obra; a mis hijos, Gemma y Jorge, por los ratos de mi compañía que mi trabajo les ha privado; y sobre todo a mi esposa por su consejo, ánimo continuo y por encontrarse siempre a mi lado.

A todos, muchas gracias.



**ÍNDICE.**



---

<b>CAPÍTULO I.-PRÓLOGO</b> .....	1
<b>CAPÍTULO II.-INTRODUCCIÓN</b> .....	5
<b>1.-Historia de la cirugía traqueal</b> .....	7
<b>2.-Anatomía traqueal</b> .....	11
2.1.-Dimensiones y posición .....	11
2.2.-Vascularización .....	12
2.3.-Inervación .....	13
2.4.-Histología .....	14
<b>3.-Patología traqueal</b> .....	15
3.1.-Obstrucción y estenosis traqueal .....	15
3.1.1.-Estenosis no tumorales .....	15
3.1.2.-Estenosis tumorales. Tumores traqueales .....	18
3.2.-Fístulas traqueales adquiridas .....	20
3.2.1.-Fístulas traqueovasculares .....	20
3.2.2.-Fístulas traqueoesofágicas .....	21
3.3.-Traumatismos traqueales .....	22
<b>4.-Reconstrucción y sustitución traqueal</b> .....	25
4.1.-Utilización de materiales protésicos .....	25
4.1.1.-Prótesis sólidas .....	26
4.1.2.-Prótesis porosas .....	26
4.2.-Implante de tejidos desvitalizados .....	28
4.3.-Empleo de autoinjertos .....	29
4.3.1.-Injertos libres .....	29
4.3.2.-Colgajos de tejidos vascularizados .....	30
4.3.3.-Confección de tubos con tejidos autólogos .....	31
4.4.-Ingeniería de tejidos .....	31
4.5.-Trasplante traqueal .....	32
4.5.1.-Injertos no revascularizados .....	32
4.5.2.-Injertos revascularizados .....	33
4.5.3.-Revascularización directa .....	35

<b>5.-Cicatrización de las heridas y regeneración traqueal</b>	37
5.1.-Cicatrización de las heridas	37
5.1.1.-Fase catabólica o desasimilativa	37
5.1.2.-Fase anabólica o asimilativa	38
5.1.3.-Fase de epitelización	40
5.1.4.-Fase de maduración y remodelación	40
5.2.-Regeneración traqueal tras la lesión	41
<b>6.-Utilidad de las sustancias sellantes en cirugía traqueal</b>	45
6.1.-Derivados del cianoacrilato	46
6.1.1.-Tipos de derivados de cianoacrilato	46
6.1.2.-Características del proceso adhesivo	47
6.1.3.-Propiedades	48
6.1.4.-Aplicaciones clínicas	50
6.2.-Derivados de fibrina	53
6.2.1.-Tipos de derivados de fibrina	53
6.2.2.-Características del proceso adhesivo	54
6.2.3.-Propiedades	55
6.2.4.-Aplicaciones clínicas	57
6.3.-Derivados de albúmina-glutaraldehído	60
6.4.-Derivados de polietilenglicol	62
<b>7.-La rata como animal de experimentación</b>	63
7.1.-La rata Wistar	63
7.2.-Anatomía e histología de la vía aérea	64
<b>CAPÍTULO III.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y</b>	
<b>OBJETIVOS</b>	67
<b>CAPÍTULO IV.-MATERIAL Y MÉTODOS</b>	71
<b>1.-Material</b>	73
1.1.-Animales de experimentación	73
1.2.-Instalaciones y material	75
1.2.1.-Instalaciones	75
1.2.2.-Material quirúrgico	76
1.2.3.-Material complementario	77

1.3.-Sellantes .....	79
1.3.1.-Octil-2-cianoacrilato (Dermabond®) .....	79
1.3.2.-Fibrinógeno-Trombina (Tissucol®).....	82
1.3.3.-Albúmina-Glutaraldehido (Bioglue®).....	85
1.3.4.-4S PEG-4T PEG (Coseal®).....	88
<b>2.-Métodos</b> .....	91
2.1.-Periodo preoperatorio. Marco legal .....	91
2.2.-Período operatorio .....	92
2.2.1.-Anestesia .....	92
2.2.2.-Técnica quirúrgica .....	94
2.3.-Período postoperatorio .....	102
2.3.1.-Establación .....	102
2.3.2.-Sacrificio y toma de muestras .....	104
2.3.3.-Procesamiento de las muestras histológicas .....	106
<b>CAPÍTULO V.-RESULTADOS</b> .....	113
<b>1.-Complicaciones y mortalidad</b> .....	115
1.1.-Periodo operatorio .....	115
1.2.-Periodo postoperatorio .....	118
<b>2.-Valoración macroscópica</b> .....	119
<b>3.-Valoración microscópica</b> .....	122
<b>CAPÍTULO VI.-DISCUSIÓN</b> .....	139
<b>1.-Elección del modelo experimental</b> .....	141
1.1.-La rata Wistar .....	141
1.2.-El modelo quirúrgico .....	143
1.3.-Sustancias sellantes y grupos de estudio.....	144
<b>2.-Evaluación de los grupos de estudio</b> .....	145
2.1.-Evaluación del grupo Control.....	145
2.2.-Evaluación del grupo Testigo .....	147
2.3.-Evaluación del grupo Cianoacrilato.....	150
2.4.-Evaluación del grupo Fibrina.....	155
2.5.-Evaluación del grupo Albúmina-glutaraldehido.....	159
2.6.-Evaluación del grupo Polietilenglicol.....	161

<b>CAPÍTULO VII.-CONCLUSIONES</b> .....	163
<b>CAPÍTULO VIII.-BIBLIOGRAFÍA</b> .....	167
<b>ANEXO</b> .....	197
<b>Índice de tablas</b> .....	I
<b>Índice de figuras</b> .....	II
<b>Abreviaturas</b> .....	IV



## **I. PRÓLOGO.**



En el natural entender del hombre siempre ha existido la idea y el afán de volver a unir los bordes de las heridas tras sufrir una lesión o traumatismo. Este hecho se constata en la elaboración y diseño de procedimientos para este fin a lo largo de la tradición humana.

En este sentido, históricamente y de forma general, se han descrito dos categorías distintas de recursos; las suturas y los adhesivos. Ambos se encuentran reflejados en la historia desde épocas similares y de forma prácticamente sincrónica.

Los primeros procedimientos de sutura de las heridas, probablemente con lino, se recogen en textos tan antiguos como el papiro egipcio de Edwin Smith, datado en el siglo XVI antes de Cristo, y en el Shusruta Samhita, un texto clásico de la India fechado entre el año 600 y 1000 antes de Cristo, sirviéndose de crin de caballo, tiras de cuero y fibras vegetales.

El empleo de adhesivos se remonta al 1700 antes de Cristo en el antiguo Egipto. En el citado papiro de Edwin Smith se recoge la utilización en el cierre de heridas de una mezcla de cereales y miel. Además es conocido que las heridas sufridas por el cadáver durante el embalsamamiento no se suturaban sino que se sellaban con cera de abejas. Por otra parte el empleo de cintas adhesivas es aún más antiguo, remontándose a los albores de la época histórica.

Los procedimientos quirúrgicos sobre la tráquea, excluida la traqueostomía, descrita en papiros egipcios del 3600 antes de Cristo, no fueron desarrollados plenamente hasta hace algo más de 50 años. En este último medio siglo, tras las primeras resecciones y anastomosis termino-terminales, de una forma progresiva se han ido sumando intervenciones cada vez de mayor complejidad sobre el eje traqueo-bronco-laríngeo. Esto es debido a las ingeniosas y originales aportaciones

de cirujanos sin duda ya incorporados a las más brillantes páginas de la historia de la cirugía, como Belsey, Montgomery, Grillo o Pearson entre otros.

Sin embargo, estos avances técnicos se han llevado a cabo básicamente gracias al desarrollo de los estudios anatómicos y de las suturas, con una exigua contribución hasta la fecha de las sustancias adhesivas.

Cierto es que las experiencias con elementos sellantes en cirugía traqueobronquial han sido aún muy limitadas, quizás por el relativamente reciente desarrollo de las mismas, salvo en el caso de los derivados de la fibrina con los que existe una restringida experiencia. Sin embargo, en otras áreas de la ciencia quirúrgica su uso es cotidiano y se encuentra estandarizado.

Es de esperar, que ha medida que se incrementen las investigaciones bioquímicas, experimentales y clínicas, y seamos capaces de obtener resultados alentadores, estos elementos muestren también su potencial y utilidad en esta compleja y peculiar rama del proceder quirúrgico.

## **II. INTRODUCCIÓN.**



## 1.-HISTORIA DE LA CIRUGÍA TRAQUEAL.

La cirugía traqueal ha sido el último espacio anatómico, perteneciente al ámbito de las intervenciones cardiorácicas, en desarrollarse. Belsey en 1950 dijo: “ La porción intratorácica de la tráquea es el último órgano del cuerpo humano en caer bajo el poder del cirujano, y la solución satisfactoria del problema de su reconstrucción puede marcar el final de la época expansionista en el desarrollo de la cirugía”.<sup>1</sup>

Existía la antigua y persistente creencia de que la escasa capacidad de regeneración del tejido cartilaginoso limitaría cualquier esfuerzo quirúrgico en relación con la reconstrucción traqueal mediante anastomosis terminoterminal. Por ello se pensaba que no se podían resear y anastomosar con seguridad más de tres o cuatro anillos, es decir unos dos centímetros de longitud traqueal. De ahí que se fueran ideando complejos métodos de reconstrucción usando colgajos de tejidos, materiales prostéticos, combinación de ambos, y trasplantes con o sin vascularización.<sup>2,3</sup>

A pesar de estos inconvenientes, varias series de resecciones y reconstrucciones exitosas, se publicaron en las décadas de los cincuenta y sesenta del pasado siglo por equipos como los de Conley y Clagett.<sup>4,5</sup>

Debido a las dificultades citadas, varios grupos de investigadores decidieron explorar las posibilidades de reparación con una más extensa liberación del órgano, mediante escisión de los tejidos pretraqueales, flexión cervical, disección hiliar, liberación de bronquios principales y descenso de la laringe. Para llevar a cabo estas maniobras se precisa un exacto conocimiento del aporte vascular traqueal.<sup>6</sup>

Los tumores traqueales proporcionaron el estímulo inicial para el desarrollo de las técnicas quirúrgicas de resección y reconstrucción. La escisión lateral frecuentemente conducía a recidiva precoz y a complicaciones, aunque inicialmente fueron publicadas algunas series pequeñas de resección circunferencial de neoplasias primitivas traqueales. En cuanto a la afectación por tumores secundarios, excluidos los broncopulmonares con invasión de carina traqueal, son los tiroideos los más relevantes, y fue en Japón por su alta incidencia donde se logró un abordaje más sistemático.<sup>7,8</sup>

De una especial complejidad se caracteriza la resección carinal y la subsiguiente reconstrucción, por la dificultad técnica y la alta incidencia de complicaciones. La resección de carina traqueal por un carcinoma adenoide quístico practicada por Barclay, McSwann y Welsh en los años 50, pronto fue seguida por otros procedimientos, utilizando en algunos casos bypass cardiopulmonar, hasta culminar desde un punto de vista histórico con la serie de 36 pacientes referida por el grupo de H. G. Grillo.<sup>9-11</sup>

Los tubos en "T" traqueales fueron descritos en época tan temprana como 1891, y reintroducidos en 1965 por Montgomery usando hoy en su diseño modernos polímeros inorgánicos de silicona.<sup>12</sup>

La epidemia de poliomielitis que tuvo lugar a mediados del pasado siglo y la necesidad de ventilación mecánica para tratar el fallo respiratorio que se producía en algunos casos, tuvo como consecuencia un gran incremento de las lesiones traqueales postintubación y de las relacionadas con la traqueostomía. En la actualidad suponen la indicación más frecuente de resección y reconstrucción traqueal. La fístula traqueoesofágica como complicación de la ventilación mecánica con tubos con balón hinchable se identificó precozmente; sin embargo no fue hasta 1976 cuando se ideó la técnica definitiva de reparación, consistente



en el cierre de la vertiente esofágica, resección traqueal e interposición de tejidos vitales entre ambas líneas de sutura.<sup>13,14</sup>

Un problema peculiar suponen las estenosis laringotraqueales. El tratamiento de la afectación subglótica fue abordado en un solo paso por primera vez en 1953 por Conley. Sin embargo, la solución definitiva fue aportada años después por Grillo y Maddaus.<sup>15,16</sup>

La historia de la traqueotomía es tan antigua como la de la Medicina, y de ella se encuentran referencias en los tratados médicos más antiguos, como el Rig Veda, un antiguo texto sagrado hindú (2.000 a. de C.) y el Papiro egipcio de George Moritz Ebers (1.500 a. de C.). Cuenta una leyenda que Alejandro Magno salvó de morir asfixiado a uno de sus soldados que había aspirado un fragmento de hueso, haciéndole una incisión en la garganta con la punta de su espada. Fue Heister quien propuso el término traqueotomía, aun utilizado, en el siglo XVIII. Sin embargo Giulio Caseiro publicó un libro a principios del siglo XVII sobre la voz y el oído con algunas descripciones gráficas del procedimiento, y Feyens en 1649 la ideó de forma similar a como la conocemos actualmente, aunque la llamó broncotomía.<sup>17</sup>

Sin embargo, a mediados del siglo XIX a causa de la terrible epidemia de difteria que asoló Europa y Estados Unidos, la traqueotomía se puso en práctica de forma generalizada, demostrando su utilidad, y realmente se incorporó al arsenal de las técnicas quirúrgicas, de empleo cotidiano en la Medicina moderna.<sup>18</sup>

La traqueostomía mediastínica, habitualmente asociada a exenteración cervical, resulta necesaria en el tratamiento de extensas neoplasias que afectan a la laringe y tráquea superior. Los intentos iniciales de Waddel, que denominó al procedimiento traqueostomía esternal, conducían a la erosión del tronco arterial braquiocefálico o del

arco aórtico. Buscando una solución a este problema, Grillo propuso resecar la parte ósea superior del tórax, incluyendo el manubrio esternal, la cabeza de ambas clavículas y los cartílagos de las dos primeras costillas, seccionando la arteria braquiocefálica y añadiendo un colgajo pediculado de epiplón para proteger las estructuras mediastínicas.<sup>19,20</sup>

Todos estos avances no podrían haber tenido lugar sin una mejoría simultánea de los procedimientos anestésicos. Las técnicas de ventilación a través del campo operatorio con inserción directa de tubos endotraqueales en el árbol traqueobronquial, se describieron tempranamente con varias posibilidades. La ventilación con alta frecuencia fue descrita ulteriormente. La circulación extracorpórea en general no es precisa y se reserva para casos de una excepcional complejidad.<sup>21,22</sup>

## **2.-ANATOMÍA TRAQUEAL.**

La función de la tráquea es la de permitir la entrada de aire al aparato respiratorio y también servir de vía para el aclaramiento de las secreciones broncopulmonares.

### **2.1.-DIMENSIONES Y POSICIÓN.**

La longitud traqueal en un varón adulto desde el borde inferior del cartílago cricoides a la carina principal es de media 11.8 cm.(con un rango de 10 a 13 cm.) suponiendo de 18 a 22 cartílagos (dos cartílagos por centímetro aproximadamente). El grosor de la pared del órgano es de unos 3 mm. En hombres los diámetros coronal y sagital son respectivamente de 2,3 y 1,8 cm., y en las mujeres de 2 y 1,4 cm. Después de los 14 años la tráquea femenina cesa en su crecimiento, no así la masculina que continúa ampliándose en sección aunque no en longitud.

En adultos, el bronquio principal derecho se alinea más verticalmente que el izquierdo con el eje traqueal. En impúberes, el ángulo que forman ambos bronquios principales es mayor, posicionándose más horizontalmente. En general, las dimensiones traqueales se relacionan con el tamaño corporal, aunque en niños se correlaciona mejor con el peso que con la talla o edad. En la práctica clínica es útil recordar que el diámetro traqueal en infantes es aproximadamente el de su dedo meñique. Tanto en niños como en adultos el punto más estrecho de la vía aérea mayor se sitúa en el centímetro y medio subglótico que incluye la luz del cartílago cricoides.<sup>23</sup>

En las personas de edad la tráquea se va horizontalizando en su eje longitudinal debido al incremento en la cifosis dorsal fisiológica. Esto

hace que la laringe se aproxime a la incisura jugularis esternal, aumentando la probabilidad de lesión subglótica si se porta una cánula de traqueotomía. Las tres quintas partes de la tráquea se sitúan bajo la escotadura esternal en la niñez; esta proporción disminuye con la edad hasta suponer aproximadamente la mitad con la madurez. En jóvenes, con la hiperextensión del cuello, más de la mitad de la tráquea se encuentra cervical. A efectos de implicación quirúrgica, significa que en personas jóvenes es factible reseca una mayor porción traqueal que en mayores contando sólo con la hiperextensión cervical.<sup>24</sup>

## **2.2.-VASCULARIZACIÓN.**

Utilizando radiografías de piezas de tráquea humana tras la inyección intraarterial de una suspensión coloidal radio-opaca, se observó que el aporte sanguíneo de la porción cervical proviene de tres ramas traqueoesofágicas originadas en la arteria tiroidea inferior. La primera rama irriga la tráquea cervical baja con poco aporte al esófago. La segunda y tercera aportan sangre tanto para la parte media como superior traqueal y también para el esófago. El patrón de vascularización oscila, pudiendo faltar una o dos arterias, si bien lo más común es que existan las tres. La predominancia de una u otra rama varía, siendo más frecuente que tenga mayor relevancia la rama inferior, suponiendo casi el 70% de los casos. La arteria tiroidea superior se anastomosa con ramas de la tiroidea inferior y contribuye con finos vasos próximos al istmo tiroideo para la pared traqueal anterior a ese nivel. Se han descrito un total de tres a siete ramas arteriales principales que penetran por el surco esófago-traqueal, dividiéndose en ramas traqueales y esofágicas. Estas últimas colaboran con pequeños vasos a la vascularización de la pars membranosa. Las traqueales penetran directamente en la pared del órgano, originando una rama superior y otra inferior, que se interconectan con otras originadas de ramas traqueales adyacentes por medio de anastomosis laterales longitudinales. De los vasos que penetran en la

pared traqueal surgen las arterias transversas intercartilaginosas anterior y posterior, que se anastomosan con sus homónimas del lado opuesto en la línea media. Estos vasos se ramifican formando el plexo capilar submucoso, que es el que proporciona el único aporte nutritivo al cartílago traqueal.<sup>25,26</sup>

Se ha objetivado un patrón de vascularización similar en otras especies animales, como el cerdo, conejo, perro o rata.<sup>27</sup>

De este esquema de vascularización, en relación con la cirugía traqueal, se deduce que una disección longitudinal excesiva, sobre todo en sus vertientes laterales, conduce a desvascularización con posibles problemas de dehiscencia o estenosis; no se debe disecar más que uno o dos centímetros a cada lado de la línea anastomótica.<sup>28</sup>

El drenaje venoso traqueal tiene lugar mediante pequeñas venas que surgen de la red mucosa y de la proximidad de las glándulas discurrendo en sentido anteroposterior en los espacios intercartilaginosos, donde drenan en uno o dos pequeños troncos longitudinales, y estos en las venas esofágicas y tiroideas inferiores.

En estudios realizados en tráquea canina con inyección de colorantes, se observa que los linfáticos traqueales se sitúan entre la membrana mucosa y la superficie del cartílago y que de una a tres ramas discurren en el espacio entre anillos, pasando a la pared lateral y luego a la membranosa. Las estaciones ganglionares primarias se localizan a nivel paratraqueal, pretraqueal y subcarinal.

### **2.3.-INERVACIÓN.**

Tiene dos orígenes; el nervio vago y el sistema simpático. Las ramas provenientes del neumogástrico surgen del plexo pulmonar, del

nervio laríngeo superior y de los recurrentes. Los filetes simpáticos emanan de los ganglios cervicales y de los dos o tres primeros torácicos. Se distribuyen en la mucosa, muscular y en las glándulas: son a la vez sensitivos, motores y secretores.

#### **2.4.-HISTOLOGÍA.**

La tráquea y los bronquios principales están recubiertos en su interior por un epitelio columnar ciliado pseudoestratificado. Las células más numerosas son las ciliadas, interviniendo en el aclaramiento de secreciones. La producción mucosa se realiza en las células caliciformes. Las células en cepillo, que en realidad comprenden varios tipos celulares, se caracterizan por presentar microvellosidades en su borde libre. De estas últimas, el subtipo uno son terminaciones sensitivas y el dos corresponde a ejemplares inmaduros. En el epitelio, próximas a la membrana basal, se encuentran las células de gránulos pequeños, relacionadas con la regulación de la actividad secretora. Más profundamente se sitúa la membrana basal, cuya lámina propia tiene gran cantidad de fibras elásticas. La submucosa es rica en tejido conectivo laxo, que por una parte fija la membrana elástica al pericondrio, y por otra contiene las glándulas seromucosas traqueales.

En la parte membranosa se sitúa el músculo traqueal, formado por fibras musculares lisas orientadas predominantemente de forma transversal, cuya función se relaciona con las modificaciones del diámetro del órgano.

El cartílago traqueal es de tipo hialino, y en el espacio intercartilaginoso se observa tejido conectivo fibroso. Por fuera del cartílago se sitúa la túnica adventicia, por donde discurren los vasos y nervios traqueales.<sup>29</sup>

### **3.-PATOLOGÍA TRAQUEAL.**

#### **3.1.-OBSTRUCCIÓN Y ESTENOSIS TRAQUEAL.**

##### **3.1.1.-ESTENOSIS NO TUMORALES.**

###### **Estenosis postintubación.**

Las lesiones postintubación continúan suponiendo la principal indicación de resección y reconstrucción traqueal, observándose en el 0,5 al 15% de las intubaciones. El factor común en su origen es la necrosis por isquemia ocasionada por presión excesiva del balón del tubo endotraqueal. Su insuflación por encima de 20 mm de Hg. ocasiona oclusión capilar. En la actualidad, para minimizar este efecto se utilizan tubos con balones de baja presión y volumen alto. El tratamiento definitivo consiste en la resección del fragmento patológico y reconstrucción traqueal, proporcionando la curación en prácticamente el 90% de los casos, con un 2% de mortalidad.<sup>30</sup>

###### **Estenosis postraqueotomía.**

Las estenosis a nivel del estoma de traqueostomía suelen ocasionarse por orificios demasiado amplios o bien por tracción excesiva del tubo de traqueostomía en la conexión al respirador o en el manejo y movilización del paciente. Sin embargo, es habitual una leve disminución del calibre anteroposterior traqueal tras el cierre secundario del estoma, por lo general asintomática. Menos comúnmente, cambios inflamatorios a nivel del estoma o del balón pueden conducir a pérdida cartilaginosa y a la malacia subsiguiente. Siempre que sea posible, el tratamiento debe ser resección del segmento traqueal afecto y reconstrucción. Ocasionalmente no se consigue el cierre espontáneo del estoma traqueal; esto suele suceder en los casos en que se ha producido epitelización entre la epidermis y la mucosa traqueal, observándose esta circunstancia

más comúnmente en casos de intubación prolongada. El tratamiento es la escisión del tracto epitelizado para permitir un cierre de novo.<sup>31</sup>

### **Lesiones infecciosas e inflamatorias.**

En la *tuberculosis traqueobronquial* se afecta principalmente la porción inferior traqueal y los bronquios principales. Se produce una traqueitis ulcerada que puede devenir en tejido polipoide y estenosis cicatricial. De forma típica la fibrosis es circunferencial y submucosa. No debe existir enfermedad activa en el momento del tratamiento quirúrgico.<sup>32</sup>

En la *histoplasmosis* se produce compresión de la luz traqueobronquial por grandes adenopatías fibróticas y calcificadas con centro necrótico, que pueden perforarse a la vía aérea ocasionando obstrucción por tejido de granulación o hemoptisis. También puede darse fibrosis intrínseca de la pared bronquial y mediastínica con síndrome de vena cava superior.<sup>33</sup>

La *difteria* en la infancia puede seguirse de estenosis traqueal alta o laringotraqueal años después. Debido a que muchos de estos pacientes precisaron durante el tratamiento de traqueotomía o intubación, en ocasiones es dificultoso dilucidar la patogenia del proceso obstructivo.

El *rioescleroma* es una condición granulomatosa crónica de la nariz y otras estructuras del tracto respiratorio superior resultado de la infección por la bacteria *Klebsiella rhinoscleromatis*, organismo identificado en 1882 por Von Frisch, y que en el 2% de las ocasiones produce afectación traqueobronquial.<sup>34</sup>

En ocasiones se produce a nivel de laringe subglótica y tráquea superior una estenosis cicatricial con escaso componente inflamatorio y sin causa conocida; a este proceso se le conoce como *estenosis*



*idiopática laringotraqueal*. En algunos casos se recoge como antecedente destacable sintomatología sugerente de reflujo esofágico. La lesión es circunferencial y de longitud variable, de uno a tres centímetros, centrada en la unión entre el cartílago cricoides y la tráquea. Desde un punto de vista endoscópico la mucosa aparece hemática y sangra con facilidad pero es poco frecuente observar tejido de granulación. Al microscopio se observa un denso tejido colágeno que loide y metaplasia escamosa.<sup>35</sup>

La *policondritis recidivante* es una entidad de origen desconocido caracterizada por degeneración y destrucción inflamatoria de cartílagos articulares y extraarticulares. Se piensa que es una enfermedad autoinmune, posiblemente por reacción al colágeno tipo II. Se observa además afectación cardiovascular, renal y neurológica. El cartílago deteriorado es sustituido por tejido fibroso. El compromiso ventilatorio inicial es por el edema y la inflamación, y más tardíamente por la destrucción cartilaginosa y el colapso subsiguiente de la vía aérea. La afectación laringotraqueal se da en cerca del 40% de los casos.<sup>36</sup>

La *sarcoidosis* es una enfermedad multisistémica de origen incierto, posiblemente autoinmune, caracterizada desde un punto de vista anatomopatológico por la presencia de granulomas epitelioides no caseificantes. Puede producirse obstrucción traqueobronquial de tres maneras: compresión y distorsión por agrandamiento masivo adenopático a nivel mediastínico e hilar, por cambios fibróticos intrínsecos en la pared traqueal y bronquial, y por la presencia de nódulos endoluminales.<sup>37</sup>

La *granulomatosis de Wegener* es un proceso idiopático definido por la presencia de granulomas, vasculitis y necrosis, con afectación del tracto respiratorio alto y bajo, riñones y sistema nervioso central entre otros órganos. El 16% de los pacientes se encuentran afectados en diverso grado de estenosis subglótica, siendo más frecuente en menores de 20 años, y en más de la mitad de los casos se objetivan lesiones

endobronquiales, que van desde estenosis a traqueobronquitis ulcerada. También se ha observado afectación laríngea única sin evidencia de vasculitis en otros órganos. La respuesta al tratamiento corticoideo e inmunosupresor es la regla, por lo que el manejo debe ser en principio conservador, recurriendo a dilataciones e inyecciones intralesionales de acetato de metilprednisolona.<sup>38</sup>

Bajo el término *amiloidosis* se engloba un grupo de entidades clínicas de etiología no aclarada, con la característica común de la existencia de un depósito extracelular hialino eosinofílico de proteínas de estructura fibrilar, que se tiñen con rojo Congo. A nivel respiratorio pueden observarse nódulos pulmonares, que pueden coalescer produciendo obstrucción bronquial, y depósito de amiloide en la lámina propia de la mucosa traqueobronquial que puede llegar a dar lugar a lesiones obstructivas pseudotumorales.<sup>39</sup>

La *traqueopatía osteoplástica u osteocondroplástica* es una entidad de origen desconocido en la que se observan múltiples nódulos osteocartilaginosos submucosos a nivel traqueal, subglótico, laríngeo y bronquial, que histopatológicamente están constituidos por cartílago hialino con focos de osificación. Las nodulaciones no se desarrollan en la pars membranosa traqueobronquial y llegan a convertir la tráquea en un auténtico cilindro óseo, de interior rugoso, con zonas de compromiso luminal, de difícil biopsia e impracticable dilatación.<sup>40</sup>

### 3.1.2.-ESTENOSIS TUMORALES. TUMORES TRAQUEALES.

Los tumores de la tráquea son un infrecuente grupo de neoplasias de tratamiento básicamente quirúrgico. Aproximadamente se observan de 2 a 3 nuevos casos por millón de habitantes y año, siendo aún más raros en niños. Pueden ser benignos y malignos, y dentro de estos últimos, primarios o secundarios.

### **Tumores traqueales benignos.**

Pueden derivarse de la superficie epitelial, como los papilomas y los adenomas papilares, de las glándulas traqueobronquiales, como son el adenoma mucoso, el cistoadenoma y el adenoma pleomórfico, y de otros tejidos como el condroma, el hemangioma, el leiomioma y el fibroma.

Los *papilomas* suponen el 60% de los tumores benignos en niños y el 25% en adultos, siendo excepcionales en mayores de 30 años. La recurrencia tras el tratamiento es la regla, en más del 90% de los casos. La actitud terapéutica incluye la aplicación local de estrógenos, tratamiento fotodinámico con dihematoporfirinas o rodamina B, y la resección o fotorresección endoscópica. Los tratamientos con interferón o regímenes quimioterápicos no resultan satisfactorios, y la radioterapia se asocia con un 14% de transformación maligna.

El *condroma* es una tumoración formada por cartílago histológicamente normal, aunque puede exhibir una celularidad incrementada. Son cuatro veces más frecuentes en varones y pueden aparecer a cualquier edad, si bien su incidencia es mayor entre los cuarenta y los sesenta años. Desde un punto de vista de exploración radiológica, en el 75% se objetivan macrocalcificaciones, lo que puede considerarse un signo patognomónico.

Los *hemangiomas* se observan en el área subglótica, especialmente en infantes, y frecuentemente responden a la radioterapia.

El primer *fibroma* traqueal fue descrito por Lerutaud en 1767. Suponen el 20% de los tumores benignos en adultos. El estridor es el síntoma de presentación más frecuente, y la escisión endoscópica el tratamiento más efectivo.

### **Tumores traqueales malignos secundarios.**

Los más usuales son los originados en pulmón, laringe, tiroides y esófago, que invaden por contigüidad. Las metástasis en la tráquea son raras, habiéndose descrito de melanoma y de tumores de mama y colon.

### **Tumores traqueales malignos primarios.**

Los más frecuentes son el carcinoma epidermoide y el carcinoma adenoide quístico o cilindroma. También pueden observarse otros tumores netamente malignos como los carcinomas neuroendocrinos, melanomas y sarcomas, o de malignidad intermedia, como los carcinoides.

El *carcinoma epidermoide traqueal*, que supone el 35%, está asociado con el hábito tabáquico. Su pico de incidencia se observa en la sexta y séptima década de la vida. Son irsecables en el 40 %.

El *carcinoma adenoide quístico*, se suele observar como una lesión exofítica, rosada, a menudo con márgenes pobremente definidos. Suman el 40% de los tumores traqueales malignos. Pueden detectarse metástasis ganglionares, pero menos frecuentemente que en el carcinoma epidermoide. Una característica relevante es su capacidad de extensión submucosa y perineural, de difícil detección, lo que amplía la posibilidad de recidiva postquirúrgica.<sup>41,42</sup>

## **3.2. -FÍSTULAS TRAQUEALES ADQUIRIDAS.**

### **3.2.1.-FÍSTULAS TRAQUEOVASCULARES.**

La fístula entre la luz traqueal y la arteria innominada es, afortunadamente, una rara complicación que sigue a intervenciones como la traqueotomía, procedimientos de resección y reconstrucción traqueal, exenteración cervical y traqueostomía mediastínica.

En las *fístulas post-traqueotomía*, según su patogenia, pueden diferenciarse dos situaciones. En el primer caso, la curva del tubo de traqueostomía ocasiona la erosión de la arteria directamente. En niños y adultos jóvenes el tronco braquiocefálico se sitúa discretamente craneal al manubrio esternal y está mas expuesto a lesiones directas o por decúbito. Esta situación se facilita en traqueostomías anormalmente bajas. La forma de prevenir la lesión es situar el traqueostoma en su correcta posición, es decir en el segundo a tercer anillo traqueal. La segunda situación se produce cuando el balón del tubo endotraqueal está anormalmente inflado y se sitúa en el área de contacto traqueovascular, normalmente el noveno cartílago traqueal.

En la patogenia de las *fístulas postoperatorias*, influyen circunstancias como la infección en la zona (especialmente en situaciones de dehiscencia de la anastomosis traqueal), la presencia de materiales de sutura y cuerpos extraños (como en el caso de las endoprótesis metálicas, especialmente la de Gianturco) y en la cirugía de exenteración cervical y traqueostomía mediastínica. En la prevención de su aparición juega un papel importante evitar una disección periarterial excesiva y la interposición de tejidos vitales como son el músculo esternohioideo, el timo o incluso el epiplón.<sup>43</sup>

### 3.2.2.-FÍSTULAS TRAQUEOESOFÁGICAS.

Antes de la década de 1960 las causas más frecuentes de las *fístulas de origen benigno* eran las infecciones granulomatosas mediastínicas y los traumatismos. En la actualidad la etiología más común es la necrosis de la pars membranosa traqueal y la pared esofágica adyacente resultado de la presión ejercida, de un lado por el balón insuflado del tubo endotraqueal, y del otro por una sonda nasogástrica. Esto sucede con mayor frecuencia en pacientes con infecciones graves, hipotensión mantenida, tratamiento esteroideo o diabetes. Hoy en día,

gracias a los modernos tubos endotraqueales con balones de baja presión y alto volumen, la incidencia de esta eventualidad se ha reducido al 0,5%.

En cuanto a las *fístulas malignas* el carcinoma de esófago supone más de las tres cuartas partes de la mismas -produciéndose este evento en casi el 5% de las neoplasias esofágicas-, seguido del carcinoma pulmonar con el 16%, la enfermedad de Hodgkin, el carcinoma de laringe y el de mama.

La curación espontánea está descrita pero es extremadamente rara. Para poder realizar con éxito un tratamiento quirúrgico curativo, es necesario que los tejidos circundantes al trayecto fistuloso sean saludables, que la infección pulmonar esté bajo control, que el estado nutricional sea adecuado y que no se prevea ventilación mecánica prolongada. De no ser así, no debe intentarse un tratamiento definitivo, con sección del trayecto fistuloso y cierre traqueal y esofágico, mediante cervicotomía lateral izquierda anterior al músculo esternocleidomastoideo o toracotomía posterolateral derecha, e interposición de tejidos vitales. En este caso deben adoptarse procedimientos conservadores como yeyunostomía o gastrostomía aspirativa e incluso exclusión esofágica.<sup>44</sup>

### **3.3.-TRAUMATISMOS TRAQUEALES.**

Las lesiones traumáticas del árbol traqueobronquial eran consideradas raras hasta los últimos 20 años. Sin embargo se observa una creciente incidencia debido a un incremento de los accidentes de alta energía como los de tráfico, y a unos mejores y más rápidos medios de transporte, diagnóstico y atención de estos pacientes. Pueden clasificarse en dos tipos; traumatismos cerrados y traumatismos abiertos. Considerando ambas situaciones, la tráquea cervical se ve afectada en el 75% de los casos dada su mayor exposición anatómica. Los

traumatismos traqueales y bronquiales mayores se encuentran en cerca del 3% de los fallecidos en accidentes.

Las *lesiones traumáticas cerradas* se producen bien por impacto directo cervical o sobre el manubrio esternal provocando la avulsión y luxación posterior de éste (es este caso se produce frecuentemente arrancamiento del tronco arterial braquiocefálico), o bien por incremento de la presión en la vía aérea con la glotis cerrada, ocasionándose disrupción traqueal, separación laringo-traqueal o lesión traqueobronquial, con mayor frecuencia en la periferia de la carina principal. En este último caso de afectación traqueobronquial, además se suma el mecanismo de desaceleración y el desplazamiento posterior del corazón. El grado de la lesión va desde la rotura lineal de la pars membranosa al arrancamiento completo de un bronquio principal. Existe la posibilidad de ruptura en dos tiempos; el tejido fibroso peribronquial cede secundariamente, agravando bruscamente un cuadro de ruptura incompleta.<sup>45</sup>

En las *lesiones por traumatismos abiertos*, penetrantes, existirá con frecuencia daño en estructuras asociadas como grandes vasos del cuello (herida carotídea en el 40%) y mediastino, así como el esófago cervical y torácico (en el 6%). También se ha descrito la afectación de los nervios recurrentes laríngeos. Con el incremento de las heridas por arma de fuego, las lesiones asociadas han aumentado. Dentro de las manifestaciones clínicas del traumatismo traqueal se observan tos, estridor, disnea, hemoptisis, enfisema cervical y mediastínico, neumotórax y cambios en la voz. En una lesión abierta, puede observarse la salida abundante de burbujas sanguinolentas por la herida.

Las lesiones de la parte anterior deben tratarse con sutura simple si no son anfractuosas. La mayor parte de las perforaciones de la superficie posterior deben repararse definitivamente. Las heridas extensas se pueden tratar con resección de dos a cuatro anillos y anastomosis

termino-terminal. Es preferible la sutura con puntos de material sintético absorbible polifilamento a los materiales irreabsorbibles monofilamento, ya que producen menos tejido de granulación. La traqueostomía, que antes se utilizaba con frecuencia, en la actualidad tiene sólo indicaciones excepcionales, como por ejemplo cuando existe fractura de laringe.<sup>46</sup>

Mención especial merecen las *lesiones iatrogénicas traqueales*, en situaciones como intubación orotraqueal o broncoscopia. Con frecuencia son de morfología lineal e interesan a la pars membranosa próxima a la carina principal. Las pacientes femeninas de corta estatura con intubación dificultosa son la tipología más frecuente referida. En aquellos casos en los que no se observa herida traqueal abierta, lesión esofágica asociada, signos vitales inestables, enfisema mediastínico o subcutáneo en progresión, mediastinitis o colecciones mediastínicas sospechosas o sepsis, es asumible el tratamiento médico conservador, siempre con control endoscópico frecuente hasta objetivar la resolución sin secuelas del cuadro.<sup>47</sup>



## **4.-RECONSTRUCCIÓN Y SUSTITUCIÓN TRAQUEAL.**

Un número apreciable de lesiones traqueales no pueden tratarse satisfactoriamente con resección y reconstrucción primaria debido a su extensión. En general se acepta que la máxima cantidad de tráquea resecable que puede después ser anastomosada es de la mitad del órgano para los adultos y un tercio en el caso de los niños. En las ocasiones en las no es posible recibir este tratamiento las posibilidades terapéuticas son paliativas oncológicas o de manejo con endoprótesis o tubos en T; en estas situaciones solo cabría esperar el desarrollo de un procedimiento de extensa reconstrucción o sustitución traqueal, que hoy por hoy es inexistente en la práctica clínica contrastada. De hecho se han empleado una gran cantidad de sistemas y de materiales -protésicos o no- en resecciones traqueales circunferenciales o laterales, lo cual es demostrativo de lo ilusorio de la mayoría de ellos.

Esta gran cantidad de aproximaciones terapéuticas a la sustitución traqueal podemos dividirla en varios epígrafes en aras de una descripción más didáctica; empleo de materiales protésicos, tejidos desvitalizados, tejidos autólogos, ingeniería de tejidos o trasplante.

### **4.1.-UTILIZACIÓN DE MATERIALES PROTÉSICOS.**

La aparente simplicidad de la sustitución traqueal ha propiciado que durante décadas se hayan reportado gran cantidad de intentos de reemplazo de segmentos por prótesis tubulares elaboradas en materiales de lo más variado. Estos materiales no se incorporaban a los tejidos circundantes, migraban con relativa facilidad, y la obstrucción por secreciones, infección, erosión vascular y falta de epitelización eran la regla. Es más, si se extraían una vez que se había formado a su alrededor un molde de tejido conectivo, nuevas granulaciones surgían y

crecían en su interior. Con estos hallazgos se pensó que una prótesis tubular porosa permitiría el crecimiento de tejido a su través, y por tanto una epitelización progresiva de su luz.

#### 4.1.1.-PRÓTESIS SÓLIDAS.

A *nivel experimental*, con mayor frecuencia en perros, se han empleado tubos y parches de diversos materiales en la reconstrucción de defectos parciales o circunferenciales: acero inoxidable, espirales de alambre de acero comprimidas, Vitallium (aleación de cobalto, cromo y molibdeno), vidrio, PET (tereftalato de polietileno), Lucita, silicona, Teflón, polivinilo formalinizado (Ivalon), cloruro de polivinilo y Silastic.<sup>48-52</sup>

A *nivel clínico* este tipo de prótesis se han empleado ocasionalmente usando acero inoxidable, espirales de acero, silicona, polietileno, Teflón, Tantalio y Lucita. También se han utilizado stents de polietileno en anastomosis traqueales tras resecciones cortas. Neville empleó en la clínica una prótesis de silicona con sus extremos de Dacron en la sustitución de segmentos traqueales.<sup>53,54</sup>

La norma es la migración, la erosión del tronco arterial braquiocefálico, el crecimiento de tejido de granulación de manera incontrolable en su interior y la infección en la interfase entre el epitelio traqueal y el material extraño. La epitelización completa es excepcional. Daniel pensó erróneamente que los cartílagos traqueales podían regenerarse sobre el tubo rígido que supone el tubo protésico.<sup>55</sup>

#### 4.1.2. PRÓTESIS POROSAS.

Debido al fracaso habitual de las prótesis tubulares impermeables se comenzó a trabajar en mallas de diversos materiales para construir un tubo fenestrado que pudiese emplearse en procedimientos de sustitución

traqueal. La estructura porosa debiera tolerar el crecimiento de tejido conectivo en sus orificios. Por otra parte es necesaria una porosidad mínima de 40 a 60  $\mu\text{m}$  para permitir el crecimiento de capilares que sirvan de base para la migración del epitelio traqueal adyacente. De hecho se ha descrito esta regeneración epitelial con evolución de epitelio escamoso a cúbico, de éste a pseudoestratificado, y por último a ciliado. Se han empleado mallas de varios materiales solos o rodeados por biopolímeros como esponja de fibrina o colágeno reconstituido. Por otra parte en experimentos realizados en perros con prótesis de Dacron se demuestra que del diámetro del poro y de la densidad de éstos depende el crecimiento de tejido de granulación en su interior. Así, una porosidad de pequeño diámetro y densidad baja (300  $\mu\text{m}$ , 25 poros/ $\text{cm}^2$ ) no permite ni la formación tisular en su interior ni la integración del injerto, a diferencia de una densidad alta y un poro de gran diámetro (700  $\mu\text{m}$ , 100 poros/ $\text{cm}^2$ ) que facilita la obstrucción luminal. La situación ideal es la de un orificio de tamaño medio y una densidad también intermedia (500  $\mu\text{m}$  de diámetro, 64 poros/ $\text{cm}^2$ ).<sup>56</sup>

Dentro de los dispositivos probados *experimentalmente* cabe destacar, dentro de una lista de combinaciones casi interminable, las redes de alambre de acero cubiertas con tejidos dérmicos, Tantalio, Titanio, Marlex (malla de polipropileno), PTFE (politetrafluoroetileno), esponja de poliuretano, Teflón, Dacron, hidroxiapatita (comparándola con cartílago costal autólogo en un estudio realizado en conejo) y Lactosorb (polímero constituido en proporción 82/18 por ácido poliglicólico y ácido poli-L-láctico).<sup>57-61</sup>

A *nivel clínico* esta descrito el empleo de mallas, como parches o circunferencialmente, de alambre de acero, Tantalio, Marlex e Ivalon. Al igual que en las experiencias animales, el tejido conectivo crece a través de los poros, y en numerosas ocasiones en el interior de la luz del tubo provocando su obstrucción y estenosis. Frecuentemente no se logra la

epitelización completa de la prótesis lo que favorece la cicatrización, granulación y estenosis, así como la infección crónica en especial por *Pseudomonas aeruginosa*. Por otra parte, tanto en la clínica como en cirugía experimental está descrita la erosión del tronco arterial braquiocefálico, en concreto tras el empleo de mallas de Marlex y de acero.<sup>62-64</sup>

#### **4.2.-IMPLANTE DE TEJIDOS DESVITALIZADOS.**

Se han empleado tejidos fijados químicamente, congelados, liofilizados o irradiados, traqueales o no. En numerosas ocasiones estos procedimientos han sido denominados erróneamente “trasplante”; quizás sería más correcto el término de bioprótesis. Estos tejidos habitualmente son reemplazados por tejido conectivo del huésped.

*Experimentalmente* se ha empleado tráquea de rata y cerdo de Guinea tratada químicamente con taninos y glutaraldehído como autoinjerto, heteroinjerto y aloinjerto, en la sustitución de segmentos traqueales y como parches laterales. El rechazo parecía evitarse y se observó, durante un tiempo variable, la supervivencia morfológica del cartílago y la epitelización del mismo en las ratas pero no en los suidos. También se han empleado en perro homoinjertos de aorta liofilizada sobre tubos de polietileno, pudiéndose evitar la estenosis en su interior al prevenir la formación de tejido de granulación, pero no la constricción en los extremos proximal y distal del injerto. Siguiendo con los injertos vasculares, el empleo de arteria carótida bovina en perros fue seguido de reepitelización ciliar y recuperación funcional, constatándose mejores resultados en cuanto a disminución de la inflamación y del tejido de granulación cuando se empleaban suturas reabsorbibles.<sup>65-67</sup>

Otros injertos desvitalizados empleados experimentalmente han sido el Zenoderm (dermis porcina tratada enzimáticamente) en la

reconstrucción de tráquea murina con epitelización apreciable, el cartílago costal irradiado como aloinjerto en conejos o de origen humano deshidratado en ratas, y la duramadre liofilizada en experimentos en perros o cerdos con resultados aceptables.<sup>68-73</sup>

*En la práctica clínica*, se cita un caso en el que se implantó un aloinjerto de cadáver, fijado en formalina y almacenado en mertiolato. Se observó durante más de un año mostrando desintegración histológica y reducción de su alogenicidad. También se han empleado aloinjertos en la reconstrucción traqueal en adultos y niños, utilizando tráquea cadavérica tratada con formalina al 4%, Thimerosal y acetona. Se extirpaba la porción cartilaginosa de la estenosis y se sustituía por el injerto ayudado por stents intraluminales de silicona (Prótesis de Dumon o Hood). Se producía una exuberante granulación en la luz del órgano que debía ser extirpada broncoscópicamente con frecuencia. A pesar de ello se observó una epitelización completa, si bien un resultado satisfactorio final solo se comprobó en uno de un total de seis pacientes. En cualquier caso no es posible la sustitución de cartílago desvitalizado por cartílago normal en el huésped ya que se produce un recambio por tejido conectivo con la malacia subsiguiente.<sup>74,75</sup>

### **4.3.-EMPLEO DE AUTOINJERTOS.**

Podemos diferenciar tres epígrafes; injertos libres, colgajos vascularizados y construcciones tubulares.

#### **4.3.1.-INJERTOS LIBRES.**

*Experimentalmente* se ha usado malla de Marlex y fascia lata en perros, cartílago de conducto auditivo externo (también en perros), cartílago costal en conejos, periostio sólo o apoyado en materiales artificiales en varias especies animales, pared aórtica autóloga en ovejas

y mucosa oral en perros Beagle, entre una pléyade de combinaciones de injertos con materiales de lo más variado.<sup>76-82</sup>

*En la clínica*, históricamente Belsey en 1943 realizó dos resecciones radicales por cilindroma, preservando una tira de tráquea intacta empleando fascia lata apoyada en un muelle de alambre de acero; esta misma técnica fue adoptada después por Clagett.<sup>1, 5</sup>

También se han empleado clínicamente con resultados poco satisfactorios otros diseños técnicos como parche bronquial libre junto con fascia lata e injertos dérmicos soportados por alambre o alrededor de tubos de Tantalio. Crafoord empleando piel y cartílago consiguió reparar la tráquea cervical y Caputo amplió con éxito la tráquea inferior utilizando cartílago auricular.<sup>83-86</sup>

#### 4.3.2.-COLGAJOS DE TEJIDOS VASCULARIZADOS.

Se han empleado tejidos autólogos preservando o reanastomosando su vascularización. Debido a la obvia necesidad de cierta rigidez en la neoestructura tubular, el sostén se ha buscado en injertos libres de cartílago, anillos plásticos o mallas.

*A nivel experimental* se ha empleado músculo intercostal, músculo dorsal ancho, colgajos pleuroperiósticos y bronquio principal derecho en la reconstrucción de la tráquea inferior e injertos de costilla y pleura con anastomosis microvascular.<sup>87-91</sup>

Desde un punto de vista *clínico*, en 1909 Nowakowski empleo flaps cutáneos en el cierre de defectos de la tráquea cervical. Otros colgajos pediculados utilizados han sido músculo intercostal y pleura, periostio, bronquio rotado, diafragma para la pared traqueal posterior y parches de pericardio pediculados reforzados con Marlex.<sup>92-94</sup>

#### 4.3.3.-CONFECCIÓN DE TUBOS CON TEJIDOS AUTÓLOGOS.

La tráquea cervical ha sido reconstruida *experimentalmente* con tubos cutáneos reforzados con cartílago costal o anillos plásticos. En 1964 Grillo propuso la formación de una neotráquea cutánea soportada con anillos de polipropileno situados entre la dermis y el platisma colli. También se ha empleado en conejos fascia vascularizada.<sup>95,96</sup>

Otra línea de trabajo diferente se ha basado en el empleo del esófago adyacente para reemplazar amplios segmentos de tráquea. Es necesario el refuerzo mural del órgano para proporcionar la necesaria rigidez; para ello se han utilizado stent metálicos expandibles.<sup>97</sup>

*Clínicamente*, la confección de tubos cutáneos en varios pasos ha sido profusamente empleada. Grillo describió una técnica en dos pasos, que aunque ofreció resultados en algunas ocasiones no debe recomendarse de forma generalizada por los problemas que plantea. Es necesario reseñar que no se han empleado en la tráquea torácica, debido a la necesidad de rigidez de la estructura tubular desde el comienzo, y a la posibilidad de mediastinitis por fallos mínimos en su estanqueidad.<sup>7</sup>

#### 4.4.-INGENIERÍA DE TEJIDOS.

Este término habitualmente hace referencia a la formación de tejidos mediante cultivos celulares introducidos en un armazón o en un polímero sintético biodegradable, que puedan servir como modelo en forma y tamaño apropiados para la sustitución de una estructura tubular. Conforme a esto, condrocitos en una plantilla de fibras de ácido poliglicólico, pueden producir cartílago de la forma y tamaño prefijados a las cuatro semanas. La estructura así formada es resistente al colapso y fue usada para sustituir segmentos traqueales en rata.<sup>98</sup>

#### **4.5.-TRASPLANTE TRAQUEAL.**

Por la vascularización del injerto podemos diferenciar; injertos no revascularizados, vascularizados y con revascularización directa.

##### **4.5.1.-INJERTOS NO REVASCULARIZADOS.**

###### **Autoinjertos: en fresco y devascularizados.**

En 1918 Burket describió una serie de ocho perros en los que autotrasplantó segmentos traqueales de tres a nueve anillos, con resultados satisfactorios en cuatro de ellos; en los que se realizó la técnica con aloinjerto se produjo estenosis y fallecimiento. Más tarde se comprobó que la mayoría de autotrasplantes en fresco tienen una buena evolución con regeneración del aporte sanguíneo. Sin embargo cuando se devasculariza el autoinjerto y este tiene una cierta longitud se objetiva una progresiva degeneración cartilaginosa y sustitución por tejido fibroso. Albes comprobó en conejos que aportando factor de crecimiento fibroblástico mejoraba la revascularización de los autoinjertos.<sup>99,100</sup>

###### **Aloinjertos: en fresco y devascularizados.**

La norma es el fallo del injerto en ausencia de revascularización, sea cual sea su longitud e independientemente del uso o no de terapia inmunosupresora. Acorde con esto, Neville observó la supervivencia de aquellos perros en los cuales se había situado un pequeño injerto, que era sustituido por tejido fibroso con tendencia a la obstrucción luminal, y el fallecimiento de todos los especímenes con injertos largos que eran reemplazados por un tejido cicatricial flácido.<sup>101</sup>

Este aserto ha sido corroborado en otras especies animales como la rata, observando rechazo de los tejidos injertados en oposición a la creencia inicial de que la tráquea posee una débil antigenicidad. Así las cosas, en algunos trabajos se asevera que probablemente la mucosa



traqueal es la estructura responsable de la acción inmunogénica en los aloinjertos traqueales.<sup>102</sup>

#### **Aloinjertos: preservados y devascularizados.**

En 1950, Jackson describió que aloinjertos caninos parcialmente desepitelizados, tratados con Mertiolato y preservados en frío, no eran útiles en la reparación de defectos traqueales extensos; se producía una reabsorción cartilaginosa y sustitución por tejido cicatrizal con colapso y obstrucción. Estos hechos ponen de relieve que el aporte sanguíneo en los injertos traqueales es un factor crítico para su supervivencia, independientemente de los métodos de preservación que se empleen.<sup>103</sup>

También, en experiencias en perros, con el empleo de aloinjertos con preservación alcohólica se objetivaba una mejoría de los resultados por la reducción de la antigenicidad del implante.<sup>104</sup>

#### **4.5.2.-INJERTOS VASCULARIZADOS.**

La revascularización de un injerto traqueal ortotópico puede realizarse de manera indirecta mediante epiplón, músculo intercostal y colgajos musculofasciales entre otros pedículos, o directamente mediante anastomosis vasculares.

#### **Autoinjertos: en fresco e indirectamente vascularizados.**

Se ha empleado de manera experimental el omento para revascularizar injertos libres en ratas y perros con éxito destacable. A su vez, se ha demostrado que la cobertura con epiplón de autoinjertos traqueales en fresco permite la recuperación de cambios isquémicos precoces y la formación de neovasos. Idéntico hallazgo se ha observado empleando músculo intercostal pediculado. Estos resultados se optimizan si el injerto permanece cubierto por epiplón en el abdomen durante las dos semanas previas al trasplante. A pesar de estos eventos positivos,

también se ha comprobado en perros que cuando los injertos tienen un tamaño de ocho anillos o más, la viabilidad de los condrocitos no mejora ni siquiera con la ayuda del omento.<sup>105</sup>

**Aloinjertos: en fresco o preservados, indirectamente vascularizados.**

A nivel experimental se ha podido constatar que los aloinjertos con revascularización indirecta por epiplón sin otro tratamiento como inmunosupresión –farmacológica o por radiación- o criopreservación, no son eficaces probablemente por fenómenos de rechazo. A diferencia de lo que ocurre en autoinjertos, no se observa recuperación del epitelio del daño isquémico inicial ni formación de neovascularización. Sin embargo los injertos criopreservados empleando omento sobreviven sin inmunosupresión, quizás debido a que la criopreservación parece inhibir la antigenicidad de los aloinjertos. Esto se comprueba en lo que se refiere a la reducción del rechazo agudo, ya que no parece prevenir el crónico donde se demuestra oclusión vascular y atrofia tisular.<sup>106</sup>

De acuerdo con esto, Mukaida observó el reemplazo del epitelio del injerto por células epiteliales del receptor después de cincuenta a sesenta días en ratas, mientras que los condrocitos que permanecían eran los del receptor. En contraposición a estos hallazgos otros autores objetivaron el deterioro cartilaginoso del injerto implantado en músculo abdominal y cubierto por epiplón, a pesar de emplear criopreservación.<sup>107,108</sup>

Basándose en la creencia de que la antigenicidad del injerto proviene en su mayor parte de la mucosa y no del cartílago, Liu eliminó con detergente el epitelio y lo revascularizó con epiplón consiguiendo la viabilidad cartilaginosa, observando la incorporación del injerto y la ausencia de estenosis, a diferencia de lo que ocurría en los casos no tratados que terminaban en estenosis por crecimiento de tejido de granulación exuberante. También se ha observado un efecto favorable en cuanto a la aparición del rechazo se refiere, en injertos de cartílago

irradiados a dosis tan altas como de 100 Gy –lo cual destruiría el epitelio– añadiendo vascularización con omento. Estos hechos pueden explicarse teniendo en cuenta que los antígenos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH I y II) se expresan en el epitelio y en las glándulas mucosas traqueales y no en el cartílago. Davreux, en sus trabajos realizados en rata, pudo comprobar que la supervivencia de aloinjertos heterotópicos rodeados de grasa epiploica mejoraba empleando ciclosporina A. Hallazgos concordantes se han observado en otras especies animales como el conejo.<sup>109-111</sup>

A nivel clínico, en 1979 Rose publica un caso de alotransplante traqueal sin empleo de inmunosupresión con éxito inicial a las nueve semanas; la tráquea del donante fue situada inicialmente de forma heterotópica en el músculo esternocleidomastoideo, e implantada ortotópicamente a las tres semanas. Sin embargo, en otro caso publicado por Levashov, en un aloinjerto ortotópico vascularizado con epiplón y tratado con inmunosupresión se produjo necrosis y estenosis del implante, precisando el paciente un stent de forma permanente.<sup>112</sup>

#### 4.5.3-REVASCULARIZACIÓN DIRECTA.

Desde un punto de vista *experimental*, la irrigación arterial y el drenaje venoso traqueales no se prestan con facilidad a revascularización directa, debido a que los vasos son de pequeño calibre y presentan una distribución segmentaria. Existen intentos técnicos de soslayar este problema; así, Khalil-Marzouk presenta un injerto tirotraqueal, anastomosando la arteria tiroidea a la carótida común sin uniones venosas. Observó que en ausencia de inmunosupresión el cartílago era preservado, no así los tejidos blandos traqueales. Cuando se añadía al tratamiento ciclosporina A y corticoides, todos los tejidos traqueales sobrevivían. En contraste con estas experiencias, Macchiarini observó, empleando inmunosupresión con ciclosporina en un modelo heterotópico

en suidos, que sólo se conservaban los segmentos traqueales en los cuales se había restaurado el drenaje arterial y venoso, objetivándose infarto de las zonas sin anastomosis venosa.<sup>113-115</sup>

Desde un punto de vista *clínico*, en el trasplante bipulmonar en bloque, el Profesor Couraud diseñó una técnica de revascularización de la anastomosis traqueal empleando un parche aórtico que incluía el origen de la arteria intercostobraquial, conectándolo con la aorta del receptor mediante un puente de safena. Strome describió el trasplante clínico en un caso postraumático; se trasplantó la laringe, un segmento traqueal de cinco anillos, tiroides, glándulas paratiroides, una porción de faringe y de ambos nervios laríngeos superiores y el nervio recurrente derecho, practicando las anastomosis venosas, arteriales y nerviosas. Con el tiempo el paciente recuperó la función vocal y la deglución, y a pesar de sufrir un episodio de rechazo se describe un seguimiento con buena evolución de más de cuarenta meses con inmunosupresión continua.<sup>116,117</sup>

## **5.-CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS Y REGENERACIÓN TRAQUEAL.**

### **5.1.-CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS.**

El objetivo del proceso reparador de las heridas quirúrgicas es reintegrar la normalidad funcional del órgano dañado aunque habitualmente no se suele obtener una restitución tisular ad integrum, ya que los elementos celulares lesionados se sustituyen mayoritariamente por tejido conectivo.

En este proceso de cicatrización podemos diferenciar cuatro fases sucesivas: catabólica, anabólica, de epitelización y de remodelación.

#### **5.1.1.-FASE CATABÓLICA O DESASIMILATIVA.**

Comienza en el mismo instante en que se produce la herida y se extiende aproximadamente hasta el sexto día. Su objetivo es el de ejercer una acción de limpieza sobre el lecho tisular lesionado eliminando cuerpos extraños, gérmenes, restos necróticos y exudados. Esta función depende de una compleja actividad enzimática local.

Existe un primer periodo de inflamación postraumática, cuya duración está en relación con el grado de contaminación existente, y una segunda fase de migración caracterizado por la llegada de células inflamatorias y mesenquimales.

En la fase de *inflamación postraumática* las plaquetas se adhieren al endotelio de los vasos lesionados y al colágeno expuesto formando un tapón. Los fosfolípidos liberados estimulan la vía intrínseca de la coagulación. La vía extrínseca se activa por la tromboplastina exudada

por los tejidos dañados. Ambas vías generan bandas de fibrina, que junto con las plaquetas, dan lugar a un coágulo en la zona central de la herida. En la proximidad de la lesión se demuestran el conjunto de fenómenos comunes a toda reacción inflamatoria. Durante los primeros cinco a diez minutos el epitelio palidece a consecuencia de la vasoconstricción mediada por las prostaglandinas ( $\text{PGF}_2\alpha$  y Tromboxano) y por las catecolaminas. Esta vasoconstricción es seguida de vasodilatación, mediada por prostaglandinas vasodilatadoras ( $\text{PGE}\alpha$  y  $\text{PGI}_2$ ) liberadas por las células lesionadas, histamina segregada por los mastocitos y plaquetas, y serotonina excretada por las células cebadas. Se objetiva un incremento en la permeabilidad vascular que da lugar a que los leucocitos (predominantemente neutrófilos), plaquetas y eritrocitos abandonen los vasos y junto con suero pasen a los tejidos, causando edema.

Tras esta primera fase se objetiva el *periodo de migración* en el que los macrófagos reemplazan paulatinamente a los neutrófilos hasta llegar a ser las células predominantes. Cuando la contaminación persiste, la excesiva acción de los leucocitos ocasiona su destrucción, liberando enzimas lisosomales (proteasas y colagenasas) produciendo daño tisular con prolongación de la respuesta inflamatoria. Las células muertas y el tejido licuado constituyen el pus, que puede ser o no estéril. Los fibroblastos son atraídos a la lesión por sustancias como PDGF, FGF,  $\text{TGF}\alpha$ ,  $\text{TGF}\beta$ , IL-1, IL-2,  $\text{TNF}\alpha$  e IFN.

#### 5.1.2.-FASE ANABÓLICA O ASIMILATIVA.

En esta fase se diferencian a su vez tres periodos: de angiogénesis, de proliferación de fibroblastos y síntesis de colágeno, y por último de retracción de la herida. En esta fase participan las citoquinas liberadas por las células involucradas: PDGF, FGF,  $\text{TGF}\alpha$ ,  $\text{TGF}\beta$ , IL-1, IL-2,  $\text{TNF}\alpha$ , KGF, IGF-1, EFG e IFN.

En el periodo de *angiogénesis* –que alcanza su máxima expresión hacia el octavo día- se observa neovascularización, actuando los capilares como ejes tróficos, aportando el oxígeno y la energía necesaria para la síntesis tisular.

Durante la fase de *proliferación de fibroblastos y síntesis de colágeno* se comprueba que el incremento de estas células se encuentra en íntima relación con el desarrollo vascular, dependiendo directamente del aporte de oxígeno y nutrientes. Se mueven a través de la red de fibrina creada en la fase de inflamación postraumática, guiados por inhibición de contacto, cambiando el rumbo por diapédesis cuando su membrana se aproxima a la de otro fibroblasto, ocupando así toda la red fibrinosa existente. La síntesis de colágeno aumenta rápidamente a partir del quinto al séptimo día, alcanzando su máximo en la tercera semana. Por otra parte, la dirección de la formación de las fibras parece depender del tipo de fuerzas que actúan sobre el tejido. De esta forma resultan varios tipos de colágeno (tejido conectivo irregular, ligamentoso y tendinoso) dependiendo de la orientación de las mismas. La sustancia fundamental se dispone entre los fibroblastos, depositándose en el lecho de la herida. Básicamente se compone de glucoproteínas (procedentes del plasma extravasado y del tejido conectivo despolimerizado y degradado) y glucosaminoglicanos o mucopolisacáridos ácidos (sintetizados por los fibroblastos).

La *retracción de la herida* se produce por la aparición de miofibroblastos. Esto se observa con más claridad en los bordes de la lesión, con una velocidad de 0.6-0.75 mm/día, variando en función de la laxitud de los tejidos. Esta retracción continúa por regla general durante doce a quince días.

### 5.1.3.-FASE DE EPITELIZACIÓN.

Depende de la migración de células de la capa basal del epitelio hacia el área denudada de la herida y se produce progresiva y solapadamente durante las dos fases anteriores. Las células epiteliales adyacentes a la herida pierden sus adhesiones al tejido conectivo y también las uniones intercelulares y comienzan a migrar. Cuarenta y ocho horas después de la lesión, la capa basal en los bordes de la herida crece y prolifera. Inicialmente las células constituyen una monocapa epitelial, adquiriendo diferenciación específica y completa, con lo que se obtiene un cierto grado de recuperación funcional. Este nuevo epitelio no llega a ser idéntico al normal ya que se encuentra engrosado y presenta bordes hiperplásicos, mientras que en el resto de la herida es más tenue y frágil.

### 5.1.4.-FASE DE MADURACIÓN Y REMODELACIÓN.

Se inicia simultáneamente con el comienzo de la síntesis de colágeno, siendo más notorio del sexto al duodécimo día. Aunque la herida ya se encuentra ocupada por un tejido conectivo reparador, puede decirse que no alcanza la solidez deseada para resistir ulteriores agresiones externas hasta que transcurren varias semanas e incluso meses; por tanto el tejido debe madurar para adaptarse a las exigencias mecánicas propias del área donde asienta. Tres semanas después de la lesión, la actividad predominante del proceso cicatricial es la remodelación de la cicatriz. Las colagenasas destruyen el colágeno antiguo al mismo tiempo que se sintetiza el nuevo, manteniéndose constante su cantidad total. El nuevo colágeno se forma paralelo a las líneas de tensión que soporta el tejido, adaptándose a los vectores de fuerza, y aumentando gradualmente la resistencia de la cicatriz. Esta alternancia de síntesis y degradación de colágeno ocurre durante toda la vida del paciente, cambiando de aspecto la cicatriz pero sin recobrar nunca la fuerza original del tejido sano.<sup>118,119</sup>



## **5.2.-REGENERACIÓN TRAQUEAL TRAS LA LESIÓN.**

Las células epiteliales que cubren el tracto respiratorio superior están en contacto con el exterior y expuestas a la agresión por una gran variedad de sustancias químicas y agentes orgánicos infecciosos víricos y bacterianos. La lesión puede producir la exfoliación de la superficie celular epitelial y, en algunos casos, la exposición de la membrana basal o la submucosa. El tipo de injuria que sufre el epitelio influye en el curso de la reparación celular.

Aunque la duración y la expresión espacio-temporal de los factores de crecimiento peptídicos pueden variar dependiendo del mecanismo y la duración de la lesión, la expresión de los factores proteicos específicos permanece constante.

El epitelio respiratorio de la tráquea es pseudoestratificado y ciliado con una gran cantidad de células caliciformes. Como respuesta a sustancias irritantes el epitelio sufre generalmente cambios morfológicos (metaplasia) y se transforma en epitelio plano estratificado, con la pérdida consiguiente de la acción ciliar, mecanismo esencial para la limpieza de las secreciones. El tejido epitelial traqueal suprayace a una gruesa membrana basal. Por debajo de la misma, la lámina propia está formada por tejido conectivo laxo, muy vascularizado, que se condensa en las regiones más profundas para formar una banda de tejido fibroelástico.

Por debajo de la lámina propia está la capa submucosa, laxa, con numerosas glándulas mixtas seromucosas, las cuales disminuyen en número en las porciones más distales de la tráquea. La submucosa se une con el pericondrio o con la capa adventicia externa que se encuentra entre los anillos.

En la tráquea se reconocen la existencia de dos redes vasculares principales, situadas en la mucosa y en el tejido peritraqueal, unidas por vasos comunicantes que atraviesan músculo liso y cartílago. El músculo liso presenta una vascularización precaria mientras que el cartílago carece la misma. La principal función de la red capilar subepitelial es suministrar nutrientes al epitelio, que exhibe uno de los índices metabólicos más altos por unidad celular del organismo, presumiblemente debido a la energía requerida para el movimiento ciliar y a los mecanismos de transporte activo que ocurren a su través. Además, la red capilar constituye una barrera para sustancias agresivas. Se ha objetivado que en el árbol traqueobronquial de animales como muridos, suidos, y también de pacientes humanos asmáticos existe una red capilar subepitelial fenestrada, mientras que en el hombre sano los capilares no son fenestrados. Una característica importante de la vascularización traqueal es la ausencia de anastomosis arteriovenosas, a diferencia del resto de la vía aérea superior, lo que hace al tejido más vulnerable a las agresiones externas, ya que los efectos de las mismas podrían ser minimizados por un rápido incremento en el fluido sanguíneo que se produciría con la apertura de estas anastomosis. Hay tres modelos primarios de lesiones de las vías aéreas superiores: exfoliación, denudación conservando intacta la membrana basal, y denudación con lesión o disrupción de la membrana basal.

La exfoliación de la capa suprabasal del epitelio respiratorio, quedando intacta la membrana basal, deja una capa celular potencialmente capacitada para la regeneración del epitelio pseudoestratificado respiratorio. Por ello, cuando la capa de células basales es renovada, una matriz extracelular provisional es depositada antes de la restitución y regeneración del epitelio de la vía aérea superior y de esta forma la integridad luminal puede quedar restablecida. La restitución celular comporta el transporte de células epiteliales adyacentes a la lesión y la migración rápida de ellas para restaurar la función de

barrera epitelial. Tras la regeneración del epitelio pseudoestratificado desde las células progenitoras se produce la diferenciación en células especializadas. Los factores de crecimiento queratinocíticos juegan un importante papel en la reparación tisular incrementando la migración y proliferación de las células epiteliales. Este factor de crecimiento es producido por el tejido estromal y actúa en el epitelio de una forma paracrina.

La lesión traqueal produce una respuesta programada, con cambios epiteliales, y también en la expresión de factores de crecimiento estereotipados independientemente del mecanismo lesional. De cualquier manera los mecanismos de control de la reparación fisiológica están pobremente definidos.

Es sabido que la reparación de las lesiones severas de la vía aérea se produce por la migración de las células epiteliales vecinas. Los sucesos de denudación-restitución epitelial están asociados con algunas respuestas tisulares incluyendo hipersecreción celular, exudación plasmática, reclutamiento celular, activación de leucocitos y aumento en la proliferación de fibroblastos y células musculares lisas. Por otra parte, en trabajos experimentales en perros, ha podido objetivarse que la zona lesionada inicialmente es recubierta y reparada con epitelio escamoso, y a partir de la segunda semana éste es recubierto por cilíndrico definitivamente.

Durante la fase aguda de reparación, la microcirculación mucosa constituye potencialmente la más importante respuesta orgánica temprana. En trabajos experimentales realizados en conejos ha podido observarse deterioro en la red capilar tras la lesión mucosa traqueal. Después de la denudación epitelial, una red de fibrina y otras proteínas plasmáticas son formadas en la membrana basal. Las células columnares y basales epiteliales vecinas son activadas por los mecanismos de la

inflamación y cubren la superficie epitelial dañada. Los procesos de reparación se ven beneficiados por la extravasación plasmática y por el reclutamiento de leucocitos además de por la hipersecreción y la proliferación de células vecinas.

Los procesos de lesión-reparación epitelial sugieren que la mucosa de las vías aéreas está bien equipada para una rápida y eficiente restitución independientemente de la severidad del daño epitelial. De este modo la descamación puede ocurrir en epitelio sano o patológico sin un deterioro importante de la barrera mucosa.

Los resultados de las investigaciones respecto a la reparación traqueal "in vivo" pueden ser difíciles de interpretar debido a la variación en la cantidad de daño y por ello no existe un consenso respecto a los procesos de regeneración.

La formación de tejido de granulación comprende en realidad la producción de exudado inflamatorio, con gemación de los capilares sanguíneos y movilización de las células epiteliales, que se posicionan en la superficie cruenta para facilitar su cicatrización; este hecho, desde un punto de vista clínico, sobre todo si se produce de una manera exuberante, puede conducir a disminución del calibre de la vía aérea y dificultad para el paso de aire. Por otra parte la retracción inevitable en el tejido conjuntivo cicatricial, conlleva con el tiempo a una mayor o menor estrechez en la vía aérea superior como respuesta a fenómenos reparativos. En un intento de paliar una excesiva cicatrización, se han realizado experimentos en perros en los que la aplicación de ácido hialurónico -mucopolisacárido de elevado peso molecular modulador de la fibrogénesis- se demuestra útil en disminuir los infiltrados inflamatorios iniciales tras la lesión y la cantidad de colágeno producido por los fibroblastos, lo que conduce a una menor cicatrización.<sup>120-122</sup>

## **6.-UTILIDAD DE LAS SUSTANCIAS SELLANTES EN CIRUGÍA TRAQUEAL.**

La idea de unir heridas, tejidos y anastomosis con colas o pegamentos es bastante antigua en la historia de la cirugía, conllevando la búsqueda de un adhesivo quirúrgico seguro, de acción rápida, biológicamente compatible y con la resistencia adecuada.

Hacia el año 1100 a. C. los egipcios desarrollaron una gran variedad de adhesivos que incluían la goma de acacia y muchos tipos de resinas vegetales. En el Papiro Quirúrgico de Edwin Smith, escrito en el 1700 a. C. probablemente por el médico egipcio Imhotep, se describe el cierre de lesiones con una sustancia consistente en una mezcla de cebada, avena y miel. También se sabe que las heridas practicadas durante el embalsamamiento no eran suturadas, siendo cubiertas por cera de abejas. La cinta adhesiva tiene unos cuatro mil años de antigüedad siendo posiblemente más añeja que las suturas. Hunter recomendaba un método de “sutura seca” empleando tiras de yeso con vendas de París. Por otra parte el cirujano francés Ambrosio Paré propuso un método de “sutura indirecta” utilizando fragmentos adhesivos de lino, los cuales se pegaban a la herida directamente. En 1787, Haberlein observó que muchos artesanos cerraban sus llagas usando cola de carpintero diluida con agua.

Los adhesivos titulares son biomateriales o materiales sintéticos utilizados con fines terapéuticos, que deben reunir una serie de condiciones definidas por Cumberland en 1950, y Sales en 1953:

- El material en cuestión no debe ser alterado físicamente por los tejidos.
- Debe ser químicamente inerte.
- Debe producir escasa o nula reacción a cuerpo extraño.

- No debe ser carcinogénico.
- No debe provocar reacciones de hipersensibilidad o alergia.
- Debe resistir la tracción mecánica adecuándose a los esfuerzos a los que es sometida la herida.
- Debe poder ser esterilizado sin perder sus propiedades.

En 1970 W. H. Heiss establece las propiedades de un adhesivo tisular para uso quirúrgico:

- Alto poder adherente.
- Polimerización rápida sin cambio de volumen en medio húmedo.
- Baja toxicidad y ausencia de irritación tisular.
- Acción rápida, en unos segundos.
- No poseer propiedades carcinogénicas.
- Reabsorción lenta tras el cierre de la herida.
- Esterilización eficiente sin variar sus propiedades.<sup>123</sup>

## **6.1.-DERIVADOS DEL CIANOACRILATO.**

Fueron descubiertos por Ardis en 1949, pero hasta diez años después no se publicó el primer artículo sobre su uso como adhesivo, evaluando sus propiedades físico-químicas como pegamento industrial, aunque sugiriendo su utilidad médica.<sup>124</sup>

### **6.1.1.-TIPOS DE DERIVADOS DEL CIANOACRILATO.**

Las primeras publicaciones sobre su uso clínico aparecieron en los años sesenta. El metil-2-cianoacrilato (monómero Eastman 910<sup>®</sup>) fue el primer derivado empleado como adhesivo quirúrgico. Posteriormente se desarrollan los derivados de cadena larga; el etil-2-cianoacrilato (Krazy Glue<sup>®</sup>), el isobutil-2-cianoacrilato (Bucrylate<sup>®</sup>) y el octilcianoacrilato (Indermil<sup>®</sup>).

El alkyl-2-cyanoacetato se obtiene mediante el proceso de esterificación de Fisher entre el éster glicolato y el ácido cianoacético. Posteriormente con la reacción entre el alquil-cianoacetato y el formaldehído, al vacío y con calor, se obtiene un monómero líquido parecido al agua en su aspecto y viscosidad, el cianoacrilato. El número de carbonos del grupo alquilo (cadena lateral -R) puede variar desde uno (metil-cianoacrilato) hasta seis (butil-cianoacrilato) u ocho (octil-cianoacrilato); cada uno de estos compuestos tienen su peculiar comportamiento biológico (Figura 1).

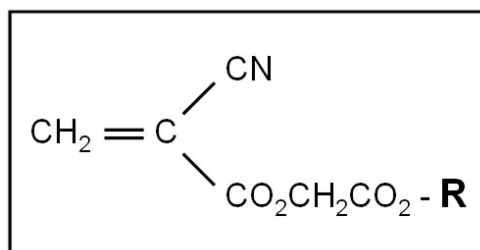


Figura 1. Fórmula química del alquil-2-cianoacrilato.

#### 6.1.2.-CARACTERÍSTICAS DEL PROCESO ADHESIVO.

La velocidad de polimerización depende de la longitud de la cadena lateral, siendo los de cadena corta los más rápidos en hacerlo. Este proceso, que es exotérmico, se produce con cualquier grado de humedad y a temperatura ambiente al contactar con sustancias aniónicas, formando dos largas cadenas que resultan en una sólida película que se adhiere a ambas superficies a unir. Esta fina capa adhesiva desaparece entre los siete y los catorce días sin necesidad de retirarla. Para mantenerlo en estado líquido, se añaden ácidos débiles, pues este medio retrasa la polimerización, de tal forma que al aplicarlo sobre una superficie aniónica (tejidos, sangre...) el medio ácido es neutralizado, polimerizando con rapidez.<sup>125,126</sup>

6.1.3.-PROPIEDADES.**Toxicidad e histocompatibilidad.**

Aunque los primeros trabajos afirmaban un escaso poder tóxico, estudios más recientes aseguran su citotoxicidad, siendo menos citotóxicos los de cadena larga (butil y octil-cianoacrilato) que los de corta (etil y metil-cianoacrilato). Esta propiedad se relacionó inicialmente con el calor generado durante el proceso exotérmico de la polimerización y con la producción de compuestos citotóxicos. En la actualidad se cree que el daño tisular es causado principalmente por una reacción oxígeno dependiente, resultado de la activación del TXA2 por la asociación de radicales libres con lípidos, produciendo isquemia local y trombosis. El cianoacrilato es descompuesto en formaldehído y mediadores carbonilo que reaccionan con los citados radicales produciendo la destrucción de las células (Figura 2). Así, la dosis letal media del butil e isobutil-cianoacrilato en ratas es de 230 mg/kg y 196 mg/kg respectivamente, valores seguros para su uso clínico.<sup>127-129</sup>

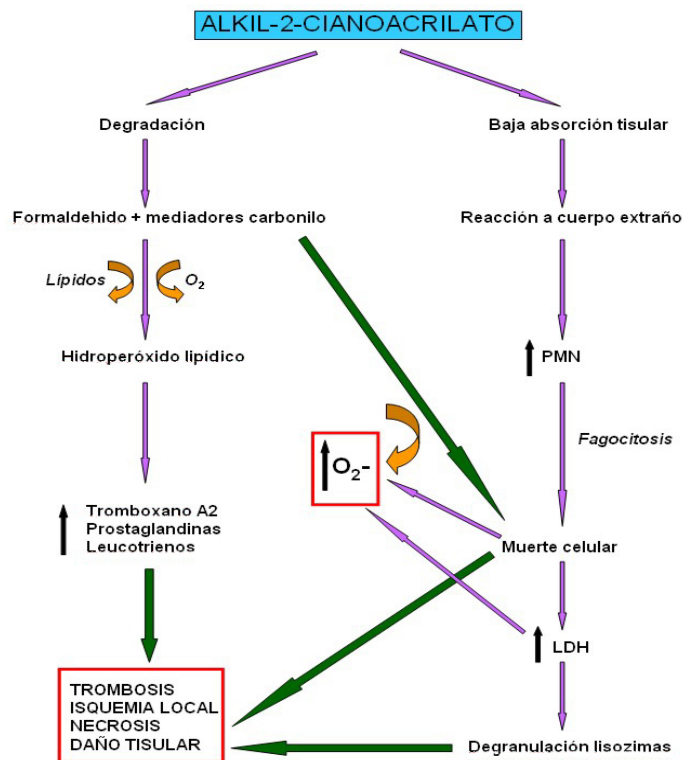


Figura 2. Mecanismo de toxicidad del cianoacrilato.



### **Degradación y reabsorción del adhesivo.**

La degradación de los derivados de cadena corta es más rápida, desencadenando una respuesta inflamatoria aguda con activación del TXA<sub>2</sub>, producción de radicales libres y productos histotóxicos como el formaldehído y el cianoacetato, que ocasionan necrosis coagulativa. Esta es la razón por la que estos compuestos no se utilizan en la clínica y sí como potentes adhesivos industriales.

Los cianoacrilatos de cadena hidrocarbonada larga, como el hexil, octil y decil derivados, muestran mayor utilidad como adhesivos quirúrgicos ya que producen polímeros que se degradan lentamente liberando pequeñas cantidades de productos tóxicos, permitiendo un mejor aclaramiento tisular. Con estos compuestos sólo se ha comprobado una reacción inflamatoria crónica leve por reacción a cuerpo extraño del tipo de células gigantes multinucleadas.<sup>130</sup>

### **Potencial carcinogénico.**

No se ha podido demostrar taxativamente que los derivados de cadena larga o corta sean carcinogénicos. Los estudios iniciales en la década de los sesenta parecían relacionar la aparición de fibrosarcomas en ratas con la inyección de dosis elevadas de metil-2-cianoacrilato, si bien con escasa significación estadística. Además, estas neoplasias son relativamente frecuentes en estos animales sin necesidad de exposición tóxica. Estudios más recientes concluyen que no hay evidencia de carcinogenicidad en el tratamiento de las heridas con cianoacrilatos.<sup>131</sup>

### **Propiedades bacteriológicas.**

En varios trabajos se ha demostrado un efecto bacteriostático de los adhesivos derivados del cianoacrilato. Este poder antimicrobiano se constata frente a gérmenes gram positivos como *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Candida albicans*. Estos hechos también se han verificado, aunque con

menor intensidad, frente a gram negativos como *Escherichia coli* y *Pseudomonas Aeruginosa*. Esta consecuencia puede ser resultado de la potente carga electronegativa del polímero resultante que reacciona con la pared celular del germen. Estudios realizados sobre quemaduras y heridas traumáticas, demuestran que la colonización bacteriana es menor tras el empleo de estos compuestos, observándose por tanto una cicatrización por segunda intención más rápida. A su vez se ha podido objetivar un efecto esporicida.<sup>132</sup>

#### 6.1.4.-APLICACIONES CLÍNICAS.

Son muchas las áreas de la medicina donde los cianoacrilatos se muestran útiles; oftalmología, cirugía maxilofacial y odontología, cirugía torácica, ginecología, cirugía cardiovascular, otorrinolaringología, neurocirugía, cirugía ortopédica, urología, cirugía del aparato digestivo y también en radiología intervencionista como material embolizante. En la clínica se han empleado derivados del butil-cianoacrilato como el Hystoacril® y el Glubran®, y del octil-cianoacrilato como el Dermabond®.

##### **Cirugía plástica.**

Probablemente sea el campo quirúrgico donde más profusamente se han empleado estos compuestos, sobre todo en cirugía facial. El resultado estético es comparable o incluso mejor que la sutura convencional, sin observarse mayor número de dehiscencias o infecciones. Cuando se emplea en laceraciones lineales menores de 4 cm, con baja tensión en sus bordes, siendo éstos limpios y separados menos de medio centímetro, el adhesivo se demuestra tan eficaz como una sutura y la unión es igual de estable a los 7 días de la intervención. También se ha descrito menor índice de infecciones, menos reacción a cuerpo extraño y una más rápida epitelización, en particular con el uso de butil-cianoacrilato y octil-2-cianoacrilato. Para ello, la aplicación del adhesivo no debe realizarse en el interior de la herida, ya que actúa como

una barrera para la correcta reparación, ocasionando una amplia cicatriz con incremento de la colonización bacteriana por una exagerada reacción a cuerpo extraño.<sup>133-136</sup>

### **Cirugía del aparato digestivo.**

Los primeros trabajos sobre anastomosis experimentales fueron publicados en los años sesenta, empleando metil-2-cianoacrilato sobre intestino canino en el tratamiento de fístulas yeyunales recurrentes y como refuerzo de anastomosis gastroyeyunales; se pudo demostrar que los resultados clínicos y en tiempo quirúrgico eran equiparables a la sutura convencional. También se ha empleado en hemostasia hepática y esplénica. Sin embargo, poco tiempo después dejó de utilizarse este derivado tras comprobarse un alto grado de histotoxicidad. Debido a esta circunstancia se evaluaron otras sustancias como el n-butil-cianoacrilato observándose incluso una mejor cicatrización que con las uniones convencionales empleándolo sólo, y un incremento de la resistencia de la anastomosis cuando se usa concomitantemente con suturas mecánicas. De hecho, en experimentos en cerdos se constata su utilidad en anastomosis intestinales de alto riesgo.<sup>137</sup>

### **Cirugía del árbol traqueobronquial.**

Existen varios trabajos experimentales donde se describe la reparación de defectos traqueales a varios niveles en distintos tipos de animales. Así las cosas, en experimentos efectuados en perros en la porción traqueal mediastínica, se practicó cobertura de la lesión realizada con un colgajo músculo-pleural siendo el cierre estanco y satisfactorio a largo plazo.

En experiencias realizadas en conejos a nivel de la tráquea cervical, se practicaba una resección anterior de cinco milímetros y se cubría el defecto con un parche de teflón o con un colgajo miofascial de platisma, empleando en ambos casos adhesivo de cianoacrilato. Se

observó que la combinación tejido autólogo-pegamento era eficaz para mantener estanca la pared traqueal a diferencia de los casos en los que se utilizaba material protésico donde se producía mediastinitis supurada. Transcurridas de tres a cuatro semanas apareció una fina cicatriz y la mucosa se presentaba nuevamente turgente y lisa. No se observó estenosis. Los primeros días, en la zona de la herida, se observó el acúmulo de pequeñas cantidades de fibrina, inflamación y enrojecimiento de la mucosa. Al examen histológico, las partículas de adhesivo aparecieron inicialmente rodeadas de un denso ribete de leucocitos, detectándose la presencia de células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño. Después de la fase inflamatoria aguda, se observa un tejido cicatricial pobre en elementos nucleares. El tejido de granulación en la zona de la herida se extendía entre las partículas de adhesivo formando puentes titulares. Los elementos empleados como plastia finalmente se transformaron en tejido conectivo.<sup>138,139</sup>

También se han empleado los adhesivos de cianoacrilato en la preservación de aloinjertos traqueales empleando como animal de experimentación la rata Wistar albina; de esta forma se preservaban segmentos traqueales extirpados de un animal donante empleando el pegamento y se implantaban en el músculo recto del animal receptor. A las tres semanas se sacrificaban los animales y se procesaban los injertos analizando las poblaciones de linfocitos, polimorfonucleares, histiocitos, eosinófilos, plasmocitos, así como la presencia de fibrosis, neovascularización o necrosis, llegando a la conclusión de que estas sustancias se muestran eficaces en la preservación de los aloinjertos y disminuyen los fenómenos de rechazo.<sup>140</sup>

Desde un punto de vista clínico el empleo de estos adhesivos prácticamente se ha limitado al cierre de fístulas bronquiales postoperatorias secuentes a resecciones pulmonares mayores, a través de maniobras endoscópicas, con algunos resultados satisfactorios.<sup>141</sup>

## **6.2.-DERIVADOS DE FIBRINA.**

El uso de la fibrina como adhesivo quirúrgico biológico se remonta a principios del siglo XX cuando Bergel describe su efecto hemostático y Grey lo emplea en hemorragias cerebrales y hepáticas. En la década de los cuarenta se utilizó la mezcla de fibrinógeno y trombina para la fijación de injertos cutáneos. Sin embargo no fue hasta los años setenta (los avances tecnológicos permitieron la producción de soluciones con alta concentración de fibrinógeno) cuando comenzó su uso estandarizado.<sup>142</sup>

### **6.2.1.-TIPOS DE DERIVADOS DE FIBRINA.**

Los adhesivos de fibrina se obtienen mediante técnicas de crioprecipitación del plasma de donantes humanos. Son sustancias biodegradables que son catabolizadas por fibrinólisis en unas 72 horas. Poseen propiedades tanto adherentes como hemostáticas, y pueden utilizarse como coadyuvantes incrementando la seguridad del material de sutura habitual.

La presentación más comúnmente empleada es el producto Tissucol<sup>®</sup> de la empresa Baxter. Está constituido por dos componentes de origen humano, el concentrado proteico adhesivo liofilizado constituido por fibrinógeno y plasmafibrinectina para disolver con solución de aprotinina, y la trombina liofilizada para reconstituir con solución de cloruro de calcio.

También existen en el mercado sistemas para confeccionar el preparado con fibrina autóloga, obtenida de la sangre del paciente mediante dos centrifugaciones sucesivas, la primera para separar el plasma de los elementos formes hemáticos, y la segunda para aislar el fibrinógeno, precipitado previamente con etanol.<sup>143</sup>

### 6.2.2.-CARACTERÍSTICAS DEL PROCESO ADHESIVO.

El mecanismo de acción corresponde a la última fase de la coagulación sanguínea. La molécula de fibrinógeno humana es una glucoproteína compuesta de tres pares de cadenas polipeptídicas 2Aa, 2Bb y 2g que forman una molécula con dos mitades simétricas. El fibrinógeno bajo la acción de la trombina se transforma en fibrina (a,b,g)<sub>2</sub> con liberación de dos moléculas de fibrinopéptido A y B. Los monómeros de fibrina formados, polimerizan en dímeros y posteriormente se unen entre sí mediante enlaces covalentes, por acción del factor XIII previamente activado por la trombina y en presencia de iones de calcio. La fibrina producida, se adhiere a los tejidos expuestos tras la lesión tisular, con especial afinidad hacia las fibras de colágeno. La malla de fibrina formada sirve de soporte para el incremento de los fibroblastos y capilares que se producen en el proceso de cicatrización, el cual depende de muchos factores, entre ellos de la trombina, la fibrina y el factor XIII, que estimulan la proliferación de fibroblastos.

Por otra parte, la velocidad de solidificación del adhesivo depende de la concentración de la solución de trombina empleada. El adhesivo tarda un minuto en solidificarse si se utiliza una concentración de trombina de 4UI/ml (Una Unidad Internacional de Trombina está definida como la actividad contenida en 0,0853 mg del Primer Estándar Internacional de Trombina Humana), aunque la solidificación se conseguirá en pocos segundos si se emplea una concentración de trombina de 500 UI/ml. Concentraciones altas de trombina se utilizan para conseguir hemostasia local, mientras que más bajas son más adecuadas para sellar tejidos, ya que se obtiene margen suficiente para aproximar los bordes de las heridas. Además, la fuerza del coágulo de fibrina así formado y por tanto su capacidad de sellado y hemostasia se incrementa empleando al tiempo concentraciones altas de factor XIII de la coagulación. Se considera una concentración óptima la situada en un rango de 40 a 80 UI/ml (siendo una

Unidad Internacional la cantidad de factor XIII contenida en un mililitro de plasma fresco normal). Por otra parte existen estudios que demuestran que la adición de agentes antifibrinolíticos como el ácido tranexámico a los componentes previos del sellante incrementa la vida media y por tanto la función del adhesivo constituido, obteniéndose un efecto sinérgico con la aprotinina, componente habitual de estos pegamentos.<sup>144,145</sup>

### 6.2.3.-PROPIEDADES.

#### **Histocompatibilidad y reacción inflamatoria.**

La etapa siguiente del proceso es la degradación por proteólisis y fagocitosis de la malla de fibrina. La fibrinólisis entre otros factores depende de la presencia de los activadores tisulares del plasminógeno, cuya concentración puede variar de un tejido a otro. Así, la etapa final es la sustitución de la malla de fibrina por tejido conjuntivo y después la formación de un tejido de cicatrización. En el proceso de curación de la herida, se absorbe completamente el adhesivo de fibrina solidificado. Además, el sellante está constituido por proteínas ajenas al organismo que ocasionan en mayor o menor medida reacción a cuerpo extraño, estimulando una inflamación local que retrasa la cicatrización, formando también una barrera física alrededor de la herida que también puede dificultar este proceso. En cuanto a la aparición de los diversos tipos de colágeno en la zona de depósito del adhesivo, se observan fibras de colágeno de tipo I y III, de grosores diversos y diferentes orientaciones, alrededor del material implantado, así como un incremento en la cantidad de vasos sanguíneos y capilares conteniendo en su membrana basal colágeno tipo IV. Las fibras colágenas de tipo V se localizan desde los primeros días hasta la cuarta semana postoperatoria, sin llamativa reacción inflamatoria, constituyendo una matriz extracelular resistente a la acción de las colagenasas. En cuanto al colágeno tipo VI, se presenta con un patrón de distribución microfibrilar. El de tipo VII se localiza en la profundidad del tejido conectivo como fibras de anclaje varias semanas

después en el período postoperatorio. Los estudios demuestran que los adhesivos de fibrina son altamente biocompatibles, no produciendo una excesiva respuesta inflamatoria. Sin embargo existen trabajos experimentales que describen un incremento en el tejido de granulación, medido éste en relación con la concentración de hidroxiprolina, la cual está en relación directa con el tejido conectivo neoformado. Estos hechos pueden basarse en que tanto la fibrina como la trombina, el factor XIII, la fibronectina y sus productos de degradación tienen un efecto mitogénico estimulador del crecimiento celular y de la migración fibroblástica.<sup>146,147</sup>

### **Efecto del sellante sobre las propiedades mecánicas de las heridas.**

Las características mecánicas de las heridas tratadas con el adhesivo de fibrina varían en función de la concentración de varios de sus constituyentes. Así, en lo referente al fibrinógeno, concentraciones iguales o inferiores a 23 g/l no afectan a las características físicas de la lesión, mientras que cantidades comprendidas entre 29 y 39 g/l la hacen más fuerte y resistente pero también más rígida. En cuanto a la trombina, concentraciones menores de 50 UI/ml no alteran la resistencia de la herida, cantidades de 200 a 600 UI/ml la tornan más fuerte y también más elástica, y las superiores a 1000 conducen a una mayor elasticidad pero a expensas de disminuir la resistencia.<sup>148</sup>

### **Transmisión de enfermedades infecciosas.**

Teniendo en cuenta que la fabricación de este tipo de adhesivos se realiza a partir de plasma de procedencia humana, tiene cierta lógica pensar en la posibilidad de transmisión de enfermedades infecciosas principalmente virales. En general, sobre toda muestra de plasma humano obtenido de donaciones se realizan una serie de tests para virus de las hepatitis de tipo B y C, el VIH y el virus de la leucemia de células T. A su vez, los especímenes son sometidos a sistemas de inactivación viral por calor seco. Sin embargo existen virus que por una parte son resistentes a los mecanismos de esterilización habituales y por otra su detección no



está incluida de forma estandarizada. Esto ocurre con el parvovirus B19, causante de un cuadro agudo de aplasia medular transitoria. Existen varios casos recogidos en la literatura, comúnmente en pacientes de grupo sanguíneo de fenotipo P2 (antígeno P positivo y P1 negativo), sometidos a intervenciones quirúrgicas en las que se emplearon sellantes de fibrina contaminados, debido a que el antígeno P es el receptor celular para el parvovirus B19.<sup>149</sup>

#### 6.2.4.-APLICACIONES CLÍNICAS.

Es un material muy versátil, habiendo sido utilizado en casi todas las especialidades quirúrgicas con diversos propósitos; está indicado su uso en aquellas intervenciones en las que se requiera actividad hemostática, sellado de cavidades, adhesión de tejidos, así como soporte para la cicatrización de heridas. En ciertos casos se usa conjuntamente como refuerzo con material biocompatible, como mallas de colágeno. Así, dentro de las indicaciones pueden incluirse:

##### **Hemostasia.**

Se emplea en hemorragias en sabana, tras cirugía traumatológica y ortopédica, adenoidectomía y tonsilectomía, en pacientes con discrasias sanguíneas, en la hemostasia del lecho prostático después de una prostatectomía, en el tratamiento endoscópico de várices esofágicas o de úlceras gastroduodenales sangrantes y en general para toda aquella maniobra quirúrgica en donde se lesionen vasos sanguíneos.

##### **Adhesivo tisular.**

Se ha utilizado para adhesión parenquimatosa en intervenciones de riñón, hígado, bazo y páncreas, para la fijación de injertos y colgajos, de fragmentos e implantes osteocondrales, en las anastomosis de nervios periféricos y en la colocación de implantes dentarios, así como para el tratamiento de lesiones del tendón de Aquiles.

### **Soporte en la cicatrización de heridas.**

Empleado en la fijación de injertos cutáneos en lugares receptores poco vascularizados o infectados, úlceras cutáneas y mucosas y en la incorporación de trasplantes óseos homólogos.

### **Sellado.**

Utilizado en el recubrimiento y sellado de prótesis vasculares, en timpanoplastias, en el manejo de fístulas del L.C.R. tras lesiones de la duramadre, en el tratamiento de ruptura prematura de membranas con amenaza de parto, como sellador del cristalino, en microanastomosis vasculares, fístulas vesicovaginales y también como coadyuvante de suturas para prevenir fugas en anastomosis esofagogástricas, gastroentéricas, biliodigestivas y anastomosis colónicas de riesgo.<sup>150</sup>

### **Cirugía del árbol traqueobronquial.**

Es bien conocida la importancia que posee el respetar al máximo la vascularización arterial y el retorno venoso en la cirugía traqueobronquial a fin de favorecer una correcta cicatrización de la anastomosis. Debido a esta circunstancia es importante minimizar el número de suturas necesarias para garantizar la estanqueidad de la unión. Por otra parte es un hecho constatable la contaminación bacteriana desde la luz traqueobronquial no estéril hacia los espacios cervicomediatísticos a través del paso del hilo de sutura, en especial si el punto es cartilaginoso. Además, cuando la presión de aire en la vía aérea –por circunstancias como la tos- supera los 150 cm de H<sub>2</sub>O se produce paso de mucosidad probablemente contaminada a través de la línea anastomótica.<sup>151</sup>

Los adhesivos de fibrina presentan las siguientes ventajas:

- Proporcionan un sellado apropiado tanto de la línea de anastomosis como de los orificios de los puntos impidiendo la contaminación bacteriana de los tejidos colindantes.

- Posicionados entre la sutura y los vasos adyacentes dificultan la formación de catastróficas fístulas traqueoarteriales.
- Amplían la fuerza de la anastomosis, disminuyen el número de puntos de sutura necesarios y presentan buena compatibilidad sistémica y local.
- Favorecen la cicatrización y curación de la herida traqueal ya que el coágulo de fibrina formado representa un excelente terreno para la migración y crecimiento de los fibroblastos, la fibronectina favorece la migración de las células endoteliales y el factor XIII promueve la proliferación celular.

Estos hallazgos se han podido constatar tanto a nivel experimental en varias especies animales como el perro, el cerdo, el conejo y la rata, así como en algunas experiencias clínicas.<sup>152-157</sup>

Desde un punto de vista histológico, inicialmente se objetivan focos de hemorragia contenidos completamente por el sellante, y a las dos semanas una discreta proliferación de tejido de granulación en la superficie mucosa de la vía aérea con cobertura parcial por epitelio ciliado pseudoestratificado.<sup>158</sup>

Además de su empleo en las anastomosis traqueales o bronquiales, otro campo de uso de estos adhesivos ha sido el sellado de las fístulas broncopleurales tras resecciones pulmonares mayores, bien por vía endoscópica o abierta. Existen estudios en cerdo que demuestran su utilidad en el tratamiento de fístulas postneumonectomía, incluso con contaminación bacteriana provocada, observándose condrogénesis a los 120 días de la intervención. Sin embargo en la aplicación clínica se describen porcentajes de evolución favorable de alrededor del 50%, siempre tras varias aplicaciones y en fístulas pequeñas, menores de medio centímetro.<sup>159,160</sup>

### **6.3.-DERIVADOS DE ALBÚMINA-GLUTARALDEHIDO.**

En el mercado existe un único sellante de este tipo, en concreto el Bioglue<sup>®</sup> comercializado por la casa Palex. Se presenta en dos aplicadores, uno de los cuales contiene un preparado de seroalbúmina bovina y el otro glutaraldehido; ambos productos deben mezclarse para producir la polimerización en una sustancia sellante de color ámbar. Para disminuir el riesgo de transmisión de la encefalopatía espongiforme bovina, el suero de bóvidos empleado en la fabricación se obtiene de países con mínimo riesgo y se somete a un proceso de purificación validado para la eliminación de priones. La adhesión se produce por la reacción entre el glutaraldehido y los grupos amina aportados por el aminoácido lisina, presente tanto en la seroalbúmina bovina como en las proteínas de la matriz extracelular y de la superficie de la célula.

En estudios experimentales realizados en tráquea de conejos y ovejas se demuestra una buena tolerancia tisular. Se observa persistencia del pegamento a las dos semanas de su aplicación, con una respuesta inflamatoria con presencia de polimorfonucleares, macrófagos y tejido de granulación alrededor de la anastomosis e hiperplasia epitelial. La presencia del pegamento se objetiva aún a los tres meses con tejido de granulación y células gigantes a cuerpo extraño. La afectación intraluminal por granulomas es infrecuente. Este tejido granulomatoso va siendo sustituido progresivamente por tejido cicatrizal maduro.<sup>161,162</sup>

En trabajos ex vivo realizados en ovejas se comprueba que la aplicación del sellante disminuye la tensión sobre la anastomosis traqueal. Es sabido que la tensión es uno de los factores capitales limitantes en las resecciones traqueales y anastomosis terminotermiales, de ahí que cualquier método que sea útil en disminuirla deba ser considerado. Se anastomosaron especímenes traqueales de estos animales empleando tres parches de cartílago auricular rectangulares longitudinalmente; en

unos individuos se utilizó sutura estándar, en otros el adhesivo y en un tercer grupo ambas técnicas. Midiendo la resistencia mecánica a la tracción hasta llegar a la dehiscencia se comprueba que la aplicación del sellante incrementa la solidez de la unión y ayuda a disminuir la tensión en la misma.<sup>163</sup>

Desde un punto de vista clínico debe considerarse un elemento complementario de métodos de reparación quirúrgica para adherir, sellar, y/o reforzar tejidos blandos, con utilidad en procedimientos en los sistemas cardiovascular, respiratorio, genitourinario, gastrointestinal, en la vía biliar y otros tejidos intraabdominales, y en la duramadre. De hecho su uso inicialmente aprobado fue como coadyuvante en la reparación de las disecciones aórticas agudas tanto en U.S.A. como en Europa. En nuestro continente, ya desde 1999 está admitido su empleo en cirugía pulmonar si bien su utilidad en el manejo traqueobronquial no está bien establecida. Las experiencias clínicas en cirugía de la vía aérea han sido limitadas aunque prometedoras. Se han descrito casos aislados de reparación traqueal o traqueobronquial con éxito empleando este adhesivo en combinación con parches de pericardio. Sin embargo donde su uso es cotidiano es en la cirugía pulmonar, empleándose tanto en la disminución de fugas de aire parenquimatosas como del drenado linfático tras la linfadenectomía reglada que debe realizarse en las intervenciones por neoplasias pulmonares.<sup>164-166</sup>

#### **6.4.-DERIVADOS DE POLIETILENGLICOL.**

Aplicables en cirugía torácica existen en la actualidad sólo tres sellantes derivados o conteniendo polietilenglicol (PEG). Todos ellos se presentan en dos aplicadores que deben ser mezclados para obtener el sellador. El Coseal<sup>®</sup> de la casa Baxter tuvo un uso inicial como hemostático, si bien en la actualidad se utiliza también para disminuir las fugas aéreas en cirugía pulmonar, estando constituido por dos glicoles de polietileno sintético (PEG), una solución de cloruro de hidrógeno diluida y otra de carbonato y fosfato sódico. Más recientemente se ha presentado en el mercado el Pleuraseal<sup>®</sup> de la empresa Tyco Healthcare, enfocado exclusivamente hacia la reducción de fugas aéreas en cirugía torácica; está compuesto por una solución éster de polietilenglicol y por otra aminoácida de amina de trilisina. El Focalseal<sup>®</sup>, actualmente en desuso y denominado en nuestro país Advaseal<sup>®</sup>, comercializado por Ethicon de Johnson & Johnson Medical, está constituido por PEG modificado en segmentos más cortos (diacrilato) y eosina Y que actúa como fotoiniciador, ya que para que se produzca la polimerización es necesaria la aplicación de una luz de xenón. Los adhesivos derivados de PEG polimerizan como un hidrogel que se sitúa entre los intersticios del tejido formando un enlace tenaz, y debido a su elasticidad se adaptan bien a la expansión tisular natural. Los polímeros forman entre sí y con los tejidos circundantes uniones químicas covalentes lo que les hace muy adherentes. Al ser sus componentes sintéticos en su totalidad no presentan riesgos de transmisión viral. Su hidrólisis se produce tras cuatro a ocho semanas y la respuesta tisular inflamatoria que provocan es discreta. Su degradación es segura incluso a dosis elevadas, si bien hay que ser precavido en situaciones de insuficiencia renal severa, ya que esta es su vía de eliminación. Su empleo en cirugía torácica se ha limitado a la disminución de las fugas de aire parenquimatosas tras cirugía pulmonar, no habiendo sido estudiada su utilidad en intervenciones sobre el árbol traqueobronquial.<sup>167,168</sup>

## 7.-LA RATA COMO ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN.

### 7.1.-LA RATA WISTAR.

Los roedores son especies muy utilizadas en experimentación biológica por su coste reducido, fácil manejo y mantenimiento en cautividad, precisando de instalaciones relativamente sencillas, siendo además muy prolíficos alcanzando el estado adulto en poco tiempo. La rata de laboratorio deriva de la rata salvaje marrón o *Rattus Norvergicus*.

La rata Wistar, utilizada en este trabajo, fue seleccionada por H.H. Donaldson a principios del siglo XX en el Instituto Wistar de Filadelfia (U.S.A.) –llamado así en honor de Caspar Wistar (1761-1818), médico dedicado al estudio de la anatomía y poseedor de una colección de modelos anatómicos- es una rata albina, de tamaño medio (el peso de una hembra adulta es de unos 300 gramos, y algo mayor el de un macho) con una buena tasa de crecimiento, dócil y fácil de manipular. Es considerada como un animal polivalente desde el punto de vista experimental, con una vida media larga lo que la hace especialmente útil en técnicas de supervivencia y de patología tumoral. La taxonomía de la rata de laboratorio es:

- Clase: *Mammalia*.
- Subclase: *Theria*.
- Infraclasse: *Eutheria*.
- Orden: *Rodentia*.
- Suborden: *Myomorpha*.
- Superfamilia: *Muroidea*.
- Familia: *Muridae*.
- Subfamilia: *Murinal*.
- Género: *Rattus*.
- Especie: *Norvergicus*.<sup>169,170</sup>

## **7.2.-ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DE LA VÍA AÉREA.**

La vía aérea en la rata está constituida por las fosas nasales, nasofaringe, laringe, tráquea y bronquios principales. La glotis se proyecta hacia la nasofaringe, encontrándose cerrada por la epiglotis. El cartílago tiroideos de la laringe conforma un semicírculo de concavidad posterior, donde se encuentran los aritenoides, aunque el cricoides es totalmente circular.

La laringe se abre a la tráquea, que está formada por anillos incompletos de cartílago unidos por bandas de tejido fibromuscular. Sobre ella, justamente caudal a la laringe, se sitúa la glándula tiroideos, que presenta dos lóbulos laterales conectados por un tenue istmo.

Se observan alrededor de 24 cartílagos traqueales -aunque el número puede variar debido a la unión irregular entre ellos- con una longitud total de 33 mm. Los cartílagos pueden calcificar en animales adultos y seniles. La sección transversal de la tráquea es ovalada, con un eje horizontal de 3 mm y vertical de 1,4-2 mm. El espesor de su pared es de 1 mm. Se bifurca próxima al corazón en dos bronquios principales. El pulmón izquierdo posee un único lóbulo pero el derecho está dividido en cuatro: cefálico, medial, caudal y otro accesorio retrocava.

La tráquea cervical superior se encuentra cubierta por un gran magma glandular constituido por las glándulas parótida, submandibular y sublingual. Se objetiva la musculatura prelaringo-traqueal dentro del área triangular que definen ambos músculos esternocleidomastoideos. A ambos lados se sitúa el paquete vasculonervioso conteniendo la arteria carótida y el nervio neumogástrico. Sin embargo, no contiene vena yugular interna, ya que el retorno venoso se realiza por una única vena yugular a cada lado, que presenta un recorrido más superficial (Figura 3).



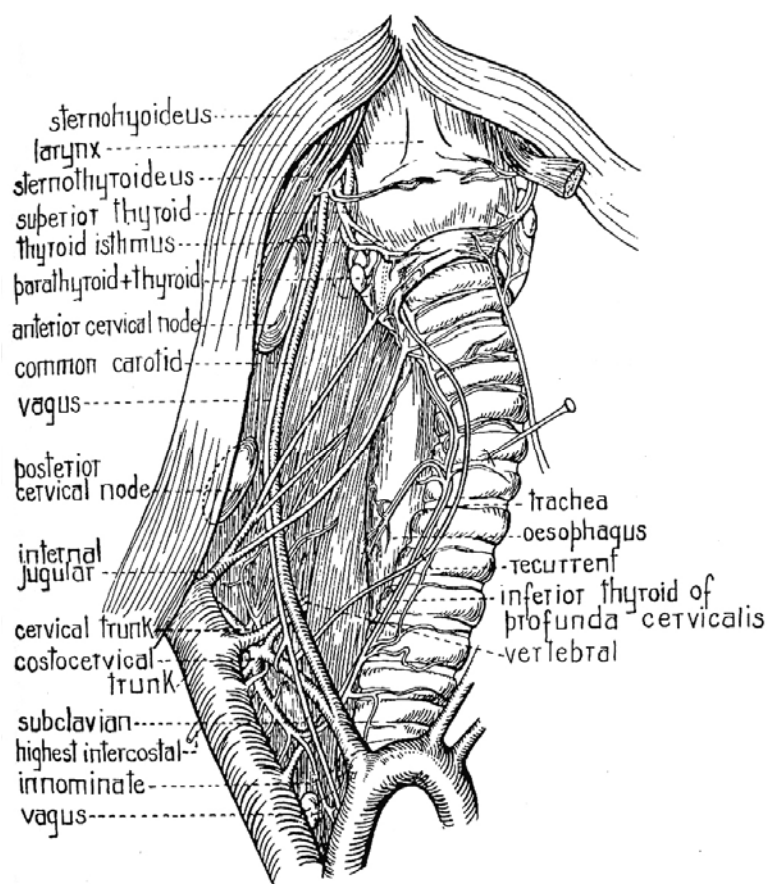


Figura 3. Anatomía cervical de la rata (Fuente: Greene EC (1963), p.89).<sup>171</sup>

La mucosa respiratoria de estos animales contiene glándulas y folículos linfoides subepiteliales, estando constituida por un epitelio columnar simple en el que se observan células ciliadas y caliciformes. Bajo esta capa se encuentra la membrana submucosa que contiene las estructuras ganglionares. Entre esta y el pericondrio que rodea al cartílago de tipo hialino que conforma la estructura rígida de la tráquea, se sitúa una tenue capa de tejido conjuntivo laxo (Figura 4).

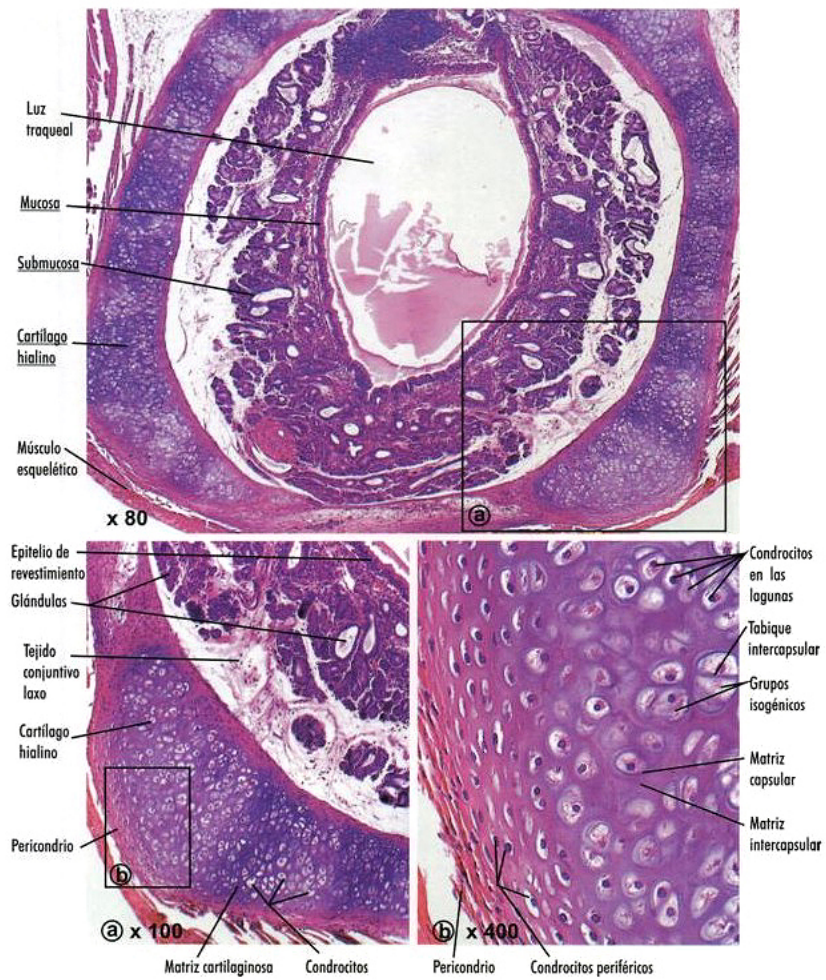


Figura 4. Histología traqueal de la rata de laboratorio.  
(Hematoxilina-Eosina, x80, x100, x400).  
(Fuente: Martín-Lacave I (2000), p. 4).<sup>172</sup>

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS.**



Hoy en día las potenciales aplicaciones de las sustancias sellantes están bien establecidas en diversos procedimientos de la práctica totalidad de las especialidades quirúrgicas.

En lo referente al área de conocimiento de la cirugía torácica, cada vez es más frecuente el uso de compuestos adhesivos en labores de hemostasia y control de fugas aéreas parenquimatosas, especialmente tras intervenciones de exéresis pulmonar, pudiéndose decir que su empleo en estas circunstancias se encuentra estandarizado.

Sin embargo, en el campo concreto de la cirugía del árbol traqueobronquial, la utilidad de los sellantes no está bien establecida. De hecho, las experiencias tanto clínicas como experimentales a este nivel son escasas.

Por ello, las descripciones tanto histopatológicas como macroscópicas de las estructuras constituyentes de la vía aérea tras el empleo de estas sustancias son exiguas en la literatura o inexistentes, según el grupo de adhesivos de que se trate. Esto es así no sólo para el ser humano, sino también para cualquier especie animal del ámbito experimental.

Debemos tener en cuenta que:

-Los procesos de cicatrización e inflamación –bien por exceso o bien por defecto- son fundamentales para la evolución exitosa o hacia el fracaso de los procedimientos sobre las estructuras traqueobronquiales.

-Que una sustancia sellante apropiada sería de una inmensa ayuda en estas intervenciones ya que favorecería la disminución de la fuga aérea a través de la anastomosis y el decremento de la tensión de la sutura sobre la misma, dificultaría el paso de bacterias a través de la línea

de unión (como efecto mecánico o también bacteriostático) y aislaría la zona operatoria de las estructuras vasculares adyacentes.

Con estas aseveraciones, consideramos de interés una documentación de los hallazgos microscópicos tras la aplicación de sellantes de los grupos químicos más relevantes en el eje traqueobronquial.

Para ello, se ideó un modelo sencillo y reproducible de lesión en la vía aérea, como es la creación de un traqueostoma en la tráquea de ratas Wistar. Después se aplicó la sustancia sellante de los cuatro grupos principales utilizados en cirugía torácica, a saber:

- Derivados de los cianoacrilatos (Dermabond®).
- Derivados de la fibrina (Tissucol®).
- Derivados de la albúmina-glutaraldehído (Bioglue®).
- Derivados del polietilenglicol (Coseal®).

La evaluación se realizó tras un plazo medio, en concreto a las ocho semanas, para obviar los hallazgos agudos y subagudos ocasionados por reacción a los adhesivos y por la propia lesión traqueal.

Por tanto, el objetivo del presente trabajo estriba en la descripción de los hallazgos histopatológicos en la tráquea de la rata Wistar tras la lesión de la misma y la aplicación de cada uno de los sellantes citados, especialmente en lo que se refiere a la respuesta inflamatoria y a la formación de fibrosis.

#### **IV. MATERIAL Y MÉTODOS.**





## **1.-MATERIAL.**

### **1.1.-ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.**

El trabajo fue realizado en su totalidad empleando como animal de experimentación la rata Wistar albina. La decisión de utilizar estos muridos en los experimentos se fundamenta en varias motivaciones; es un animal de accesibilidad y manejo excelentes, podemos decir que su empleo se encuentra estandarizado, es fácil de obtener, de costo relativamente bajo y escaso mantenimiento; presenta además una buena tolerancia a la agresión quirúrgica y anestésica, y permite prescindir de ayudante en la intervención en muchas ocasiones, y también de una estricta asepsia.<sup>169</sup>

El diseño del trabajo incluyó seis grupos, a saber:

#### **1-Grupo Control.**

En estos animales se llevaba a cabo una incisión cutánea y disección muscular hasta llegar a la tráquea cervical, disecando los tejidos peritraqueales, pero sin lesionar la vía aérea. Tras esta maniobra se suturaban los planos suprayacentes.

#### **2-Grupo Testigo.**

Inicialmente la operación era similar al grupo previo, si bien se practicaba una lesión circular de 2 mm empleando un punch del citado diámetro en la pared anterior de la porción media de la tráquea cervical. Hecho esto se cerraba por planos sin ninguna maniobra adicional.

#### **3-Grupo Cianoacrilato.**

La intervención era análoga a la realizada en el grupo Testigo, aunque se empleaba un sellante del grupo de los derivados del

cianoacrilato, el octil-2-cianoacrilato (Dermabond<sup>®</sup>), para obturar la lesión ocasionada en la vía aérea.

#### 4-Grupo Fibrina.

Idéntico proceder pero empleando un sellante del grupo de los derivados de la fibrina que contiene en su composición fibrinógeno-trombina (Tissucol<sup>®</sup>).

#### 5-Grupo Albúmina-glutaraldehído.

El procedimiento fue similar al practicado en el grupo anterior, si bien el adhesivo que se utilizó en el cierre del traqueostoma pertenecía al grupo de los derivados de la albúmina-glutaraldehído (Bioglue<sup>®</sup>).

#### 6-Grupo Polietilenglicol.

En este conjunto se empleó un sellante derivado del polietilenglicol conteniendo pentaeritritol polietilenglicol éter tetrasuccinimidil glutarato y pentaeritritol polietilenglicol éter tetratiol (Coseal<sup>®</sup>) en el cierre del estoma traqueal.

Se utilizaron un total de 54 ratas (30 hembras y 24 machos). En todos los conjuntos se practicó la intervención en suficientes animales hasta sumar un total de siete supervivientes inmediatos a la cirugía para poder valorar su evolución, de lo que resulta que el número total de especímenes incluidos en el estudio evolutivo fue de 42. Se produjeron por tanto doce fallecimientos durante la cirugía y en el postoperatorio inmediato, por causas diversas como veremos en el apartado de resultados.

Todos los especímenes procedían del Animalario de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid, y permanecieron en todo momento en condiciones similares de estabulación, régimen de iluminación y oscuridad, temperatura y humedad ambientales, y con un

tipo de alimentación idéntico, tanto en el período preoperatorio como después de la intervención.

El peso de los animales que sobrevivieron a la intervención estaba comprendido entre 240 y 310 gramos como muestra la Tabla I.

GRUPO CONTROL	260	240	250	310	250	270	270
GRUPO TESTIGO	300	280	270	250	240	260	260
GRUPO CIANOACRILATO	240	260	250	260	270	260	270
GRUPO FIBRINA	280	250	270	290	280	300	240
GRUPO ALBÚMINA- GLUTARALDEHIDO	240	280	270	240	290	300	250
GRUPO POLIETILENGLICOL	270	260	240	260	290	290	250

Tabla I. Peso de los animales de experimentación (en gramos).

## **1.2.-INSTALACIONES Y MATERIAL.**

### **1.2.1.-INSTALACIONES.**

Todos los animales se encontraban estabulados en el Animalario de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid. El estudio experimental, tanto la técnica quirúrgica como el sacrificio, autopsia y preparación inicial de las muestras histológicas, se realizó en el Laboratorio de Cirugía Experimental del citado centro, y el estudio histopatológico en los laboratorios del Departamento de Biología Celular, Histología y Farmacología. Las instalaciones utilizadas fueron las siguientes:

- Animalario.
- Quirófano de cirugía experimental.
- Sala de recuperación.
- Sala de necropsias.
- Sala de observación.
- Laboratorio de histopatología.

#### 1.2.2.-MATERIAL QUIRÚRGICO.

Para la realización de las intervenciones se dispuso de material quirúrgico estándar y también de microcirugía.<sup>173,174</sup>

- Mangos de bisturí de los números 3 y 4 para hojas desechables.
- Tijera curva de Mayo.
- Tijera curva de Metzemaum
- Tijera de Westcott recta.
- Separador de Farabeuf.
- Separador de Langebeck.
- Pinzas de disección, con y sin dientes.
- Disector.
- Pinzas de Dumont, rectas y curvas.
- Porta-agujas de Castroviejo.
- Porta-agujas de Hegar-Mayo.
- Gasas.
- Sutura de Poliglactina 910 trenzado recubierto (Vicryl® 3/0 de la casa Ethicon).
- Punch de 2 mm de diámetro: Biopsy Punch, fabricado por Laboratorios Stiefel S.A. Se presenta en cajas de 10 dispositivos (Figura 5).



Figura 5. Biopsy Punch de Stiefel: A, Embalaje. B, Dispositivo.

### 1.2.3.-MATERIAL COMPLEMENTARIO.

Otros materiales utilizados fueron:

#### **En la mesa de disección.**

- Tablero para la fijación de los animales durante la intervención.
- Micropore.
- Gomas de sujeción.
- Agujas de insulina y jeringuillas de 1 ml.
- Ketamina clorhidrato solución (Ketolar<sup>®</sup> 50 mg/10ml).
- Torundas de disección.
- Gasas.
- Paños de campo.

### **Aparataje.**

- Báscula digital.
- Rasuradora eléctrica marca Oster-Cryotech.
- Lupa Photo Bino marca Nikon.

### **Sistema de adquisición de imágenes.**

- Cámara Sony Digital Mavica.
- Scanner digital Epson Perfection 1670.

### **Sistema informático.**

- Ordenador con procesador AMD Athlon 64 - 4000 plus con 2 Gb de memoria RAM.
- Impresora Epson Stylus Photo 870.
- Programas de procesamiento de textos, bases de datos y presentaciones (Word, Access y PowerPoint del paquete informático Office 2003), de retoque fotográfico (Photoshop 5) y de conexión a Internet (Explorer 6).

### **Material para el procesamiento y estudio anatomopatológico.**

- Cubre-objetos y porta-objetos.
- Resina sintética Eukitt.
- Formol tamponado al 10%.
- Suero fisiológico isotónico.
- Alcohol etílico de varias concentraciones.
- Parafina (Paraplast<sup>®</sup>).
- Xilol.
- Hematoxilina.
- Eosina "Y".
- Procesador automático de muestras histológicas Shandon Citadel Tissue Processor<sup>®</sup> 1000, Internacional Medical Equipment Inc.
- Microtomo de rotación o tipo Minot, marca Leitz<sup>®</sup> modelo 1512.
- Microscopio óptico (Nikon Labophot).

### 1.3.-SELLANTES.

Como hemos visto se emplearon cuatro sellantes diferentes en los experimentos octil-2-cianoacrilato, fibrinógeno-trombina, albúmina glutaraldehído y pentaeritritol polietilenglicol éter tetrasuccinimidil glutarato-pentaeritritol polietilenglicol éter tetratiol.

#### 1.3.1.-OCTIL-2-CIANOACRILATO (DERMABOND®).

Es un adhesivo tisular quirúrgico del grupo de los cianoacrilatos, fabricado por la empresa Ethicon (Johnson & Johnson Medical). Su empleo fundamental es en el cierre de incisiones quirúrgicas y laceraciones cutáneas, siendo resistente, flexible e histocompatible.<sup>134,135,175</sup>

Se comporta como una barrera antimicrobiana efectiva frente a gérmenes como *Staphylococcus Epidermidis*, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecium* y *Pseudomonas Aeruginosa* entre otros. Esto es debido en parte al aislamiento mecánico que facilita y también a las propiedades antimicrobianas de los cianoacrilatos basadas en la potente carga electronegativa del polímero formado, que reacciona con la pared celular del germen.<sup>132,176</sup>

Proporciona también un medio húmedo para la cicatrización de las heridas, lo cual previene la deshidratación y disminución de la muerte celular, reduciendo el dolor y la tasa de infección, incrementando la velocidad de cicatrización y estimulando la angiogénesis al fomentar un pH bajo. Su aplicación debe ser cuidadosa, no introduciendo el adhesivo en la herida para evitar una excesiva inflamación por reacción a cuerpo extraño del tipo de células gigantes multinucleadas.

El Dermabond® contiene una formulación monomérica de octil-2-cianoacrilato y el colorante D&C violeta # 2. Dentro de los adhesivos del grupo este es el que tiene un grupo alquilo con un mayor número de carbonos, en concreto ocho (Figura 6). Esta característica incrementa su tolerancia tisular, disminuye su toxicidad, amplía su tiempo de polimerización, lo cual facilita su manejo, y también dilata su periodo de degradación, lo que favorece la absorción de subproductos tóxicos, disminuye la respuesta inflamatoria aguda y permite que se lleven a cabo los procesos de cicatrización sin pérdida de su fuerza mecánica.<sup>177</sup>

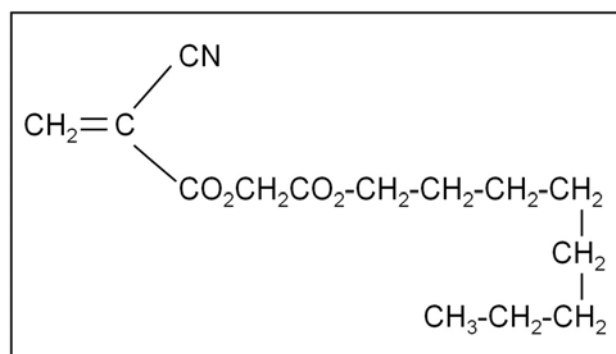


Figura 6. Fórmula del octil-2-cianoacrilato.

Se presenta en un dispositivo para un solo uso que consta de una ampolla de vidrio que se puede romper y que contiene 0,25 ó 0,5 ml de producto, contenida en un vial de plástico con punta roma aplicadora sujeta al mismo (Figura 7).

El adhesivo es ligeramente más viscoso que el agua y polimeriza y endurece en un intervalo de 45 a 60 segundos, alcanzando su fuerza mecánica total en dos minutos y medio. Debe emplearse inmediatamente después de rota la ampolla de vidrio, ya que el líquido no fluirá libremente de la punta aplicadora cuando hayan transcurrido unos minutos, haciendo el envase inutilizable. El agua o fluidos que contienen alcohol pueden acelerar esta polimerización. Aunque es un proceso exotérmico que se produce al contactar el sellante con sustancias aniónicas, formándose dos



cadena que constituyen la película de sellante, la temperatura que se alcanza no es suficiente como para alterar los tejidos con los que contacta. Su conservación debe ser a temperatura inferior a 30 ° C y no puede exponerse a las radiaciones de alta energía ni tampoco a la luz visible, ya que esto puede incrementar su viscosidad y hacer el producto inservible.



Figura 7. Sellante Dermabond<sup>®</sup> : A, Embalaje. B, Dispositivo.

### 1.3.2.-FIBRINÓGENO-TROMBINA (TISSUCOL®).

Es un adhesivo del grupo de los derivados de la fibrina comercializado por la casa Baxter. El Tissucol Duo® se presenta como un sistema de dos componentes congelado, debiendo conservarse a temperaturas inferiores a 18 °C bajo cero. Debe utilizarse en las 48 horas siguientes a su descongelación y una vez hecho esto no se puede enfriar ni congelar de nuevo.

Los dos componentes citados son:

- Primer componente, solución de Tissucol:
  - El principio activo de la solución, fibrinógeno y plasmafibrinectina, disueltos en solución de aprotinina (bovina).
  - Los demás componentes son: Factor XIII, plasminógeno, albúmina humana, glicina, cloruro sódico, citrato sódico, polysorbato 80, creatina y agua para preparaciones inyectables.
- Segundo componente, solución de trombina:
  - El principio activo es trombina humana (500 UI/ml) disuelta en una solución de cloruro cálcico.
  - Los demás componentes son: albúmina humana, cloruro sódico, glicina y agua para preparaciones inyectables.

Cada uno de los componentes se incluye en una jeringuilla. La totalidad del dispositivo está patentado con el nombre de Duploject. Este sistema consta de dos jeringas desechables idénticas y tiene un émbolo común que garantiza la aplicación simultánea de volúmenes iguales de cada uno de los dos componentes una vez descongelados, mediante una boquilla de unión común, antes de su mezclado en la aguja de aplicación y su administración. Al sistema puede también acoplarse un dispositivo para la pulverización del sellante (Figura 8).

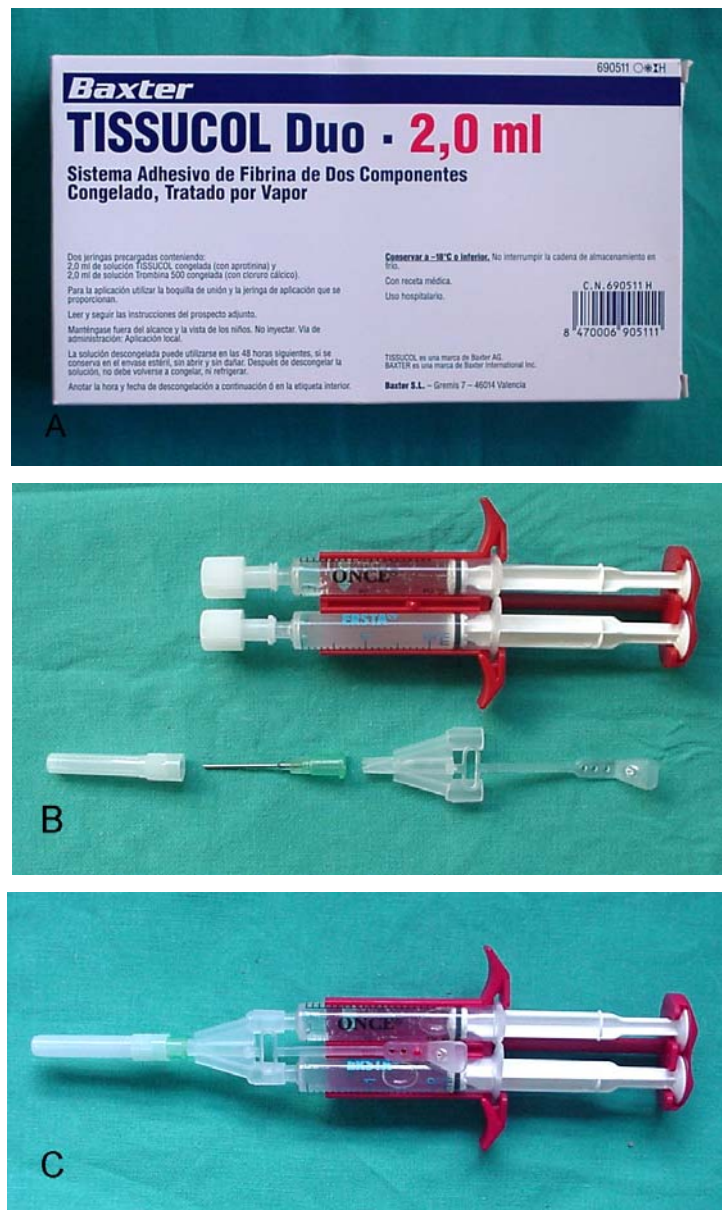


Figura 8. Sellante Tissucol®: A, Embalaje del producto.  
B, Sistema de aplicación Duploject desmontado.  
C, Dispositivo ensamblado.

La solución debe aplicarse sobre las superficies receptoras a sellar. Si la aplicación de los componentes del adhesivo de fibrina se interrumpe, inmediatamente se producirán coágulos en la aguja. El adhesivo

solidificado adquiere su máxima resistencia después de cerca de dos horas, si bien el 70% de su fuerza total se alcanza en solo diez minutos.

Para evitar que el sellante se adhiera a los guantes y al instrumental, antes de que contacten con la sustancia, se deben humedecer con solución salina. Tanto la solución de Tissucol como la de trombina pueden desnaturalizarse en contacto con líquidos que contengan alcohol, yodo o metales pesados, como es el caso de muchos antisépticos y desinfectantes, por lo que los restos de estos productos deben ser eliminados antes de la aplicación del adhesivo.

Inicialmente se forman monómeros de fibrina, que polimerizan en dímeros, constituyendo finalmente entre sí enlaces químicos covalentes, para lo cual es necesario el factor XIII, la trombina y la presencia de iones de calcio. La fibrina formada se adhiere a las fibras colágenas expuestas del tejido a sellar, y forma una malla que sirve de matriz para la migración celular y la formación neovascular capilar.<sup>144</sup>

Aunque su empleo clínico como sellante ha sido profuso en numerosos campos de la cirugía, desde un punto de vista farmacoterapéutico pertenece al grupo de los antihemorrágicos, ya que ese fue su uso inicial. Como hemos visto está indicado en el tratamiento coadyuvante para conseguir la hemostasia en hemorragias en sábana, y también en el sellado y/o adhesión de tejidos en intervenciones quirúrgicas en gran cantidad de especialidades quirúrgicas incluyendo la cirugía laringotraqueal. En ocasiones se aplica asociado a materiales biocompatibles como láminas de colágeno.<sup>178-180</sup>

### 1.3.3.-ALBÚMINA-GLUTARALDEHIDO (BIOGLUE®).

Es un adhesivo quirúrgico comercializado por la casa Palex compuesto por albúmina sérica bovina purificada y glutaraldehído. En su forma activa se constituye un hidrogel reabsorbible con base proteica. El glutaraldehído contiene dos grupos aldehído y es capaz de unirse a dos grupos amino. El extremo de la cadena del aminoácido lisina contiene un grupo amino. La albúmina bovina contiene 59 lisinas. Las moléculas de los tejidos contienen también lisinas que permiten la unión de las moléculas de albúmina al tejido. Así, las moléculas de glutaraldehído se unen de forma covalente con las de albúmina, y tras la aplicación, a las proteínas de la superficie celular y de la matriz extracelular del tejido a reparar, creando una zona de sellado mecánico que es independiente de los mecanismos de coagulación del paciente. Los numerosos nexos con la albúmina ocasionan una red extensa de uniones, constituyendo un producto fuerte y a la vez flexible. Bioglue® también se incorpora a los implantes sintéticos como el Dacron vía uniones mecánicas con los intersticios de la matriz del implante (Figura 9).

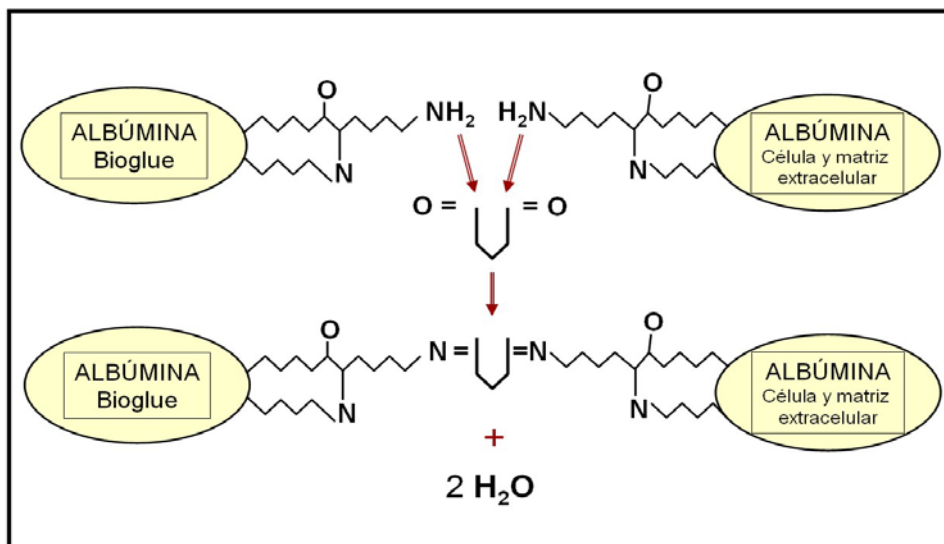


Figura 9. Mecanismo de reacción del Bioglue®.

La tensión máxima testada en los los extremos de una anastomosis alcanza los  $847\pm 127$  g/cm<sup>2</sup>, y la capacidad de estiramiento de una lámina adherida a una superficie alcanza los  $256\pm 46$  g/cm<sup>2</sup>.

La solución es suministrada en un sistema de liberación controlada, compuesto por una jeringa con doble compartimiento (con una capacidad de 5 ó 10 ml.) un doble émbolo y puntas aplicadoras. Según esto, la albúmina y el glutaraldehído están almacenados en compartimentos distintos dentro de la jeringa, y al pasar por la punta en proporción de cuatro (albúmina) a uno (glutaraldehído), se unen de forma covalente entre sí y posteriormente a las moléculas del tejido (Figura 10).

La zona a tratar debe estar seca antes de la administración del producto y es importante esperar dos minutos antes de aplicar presión sobre la misma. Polimeriza a partir de los 30 segundos alcanzando su máximo nivel en dos minutos. Los componentes de Bioglue<sup>®</sup> tienen una vida media de tres años si se almacenan a una temperatura ambiente de menos de 25 °C.

Este adhesivo quirúrgico está indicado para su uso como adyuvante a los sistemas estándar de hemostasia (tales como suturas y grapas, manuales o mecánicas) asegurando las aproximaciones de los extremos de tejido y sirviendo de refuerzo tisular en cirugía cardíaca, vascular, pulmonar, genitourinaria, sobre la duramadre y tracto gastrointestinal (incluyendo cirugía esofágica, gástrica, colo-rectal, además de otros tejidos blandos abdominales tales como páncreas, bazo, hígado y vesícula biliar) entre otras. Sin embargo no debe emplearse en cirugía cerebro-vascular y en procedimientos intraluminales de cualquier índole.<sup>166, 181-183</sup>



Figura 10. Sellante Bioglue®: A, Embalaje del producto. B, Sistema de aplicación desmontado. C, Dispositivo ensamblado.

1.3.4.-4S PEG-4T PEG (COSEAL<sup>®</sup>).

Es una sustancia adhesiva del grupo de los derivados de polietilenglicol (PEG) comercializado por la empresa Baxter. El hidrogel se forma cuando dos derivados sintéticos poliméricos de PEG (pentaeritritol polietilenglicol éter tetrasuccinimidil glutarato, 4S-PEG o COH102 PEG; y pentaeritritol polietilenglicol éter tetratiol, 4T-PEG o COH206 PEG) son mezclados y aplicados al tejido a tratar. Se producen reacciones entre las múltiples ramas de los polímeros formando entre sí uniones covalentes y constituyendo una matriz tridimensional que se adhiere por el mismo tipo de enlace a los tejidos circundantes (Figura 11).

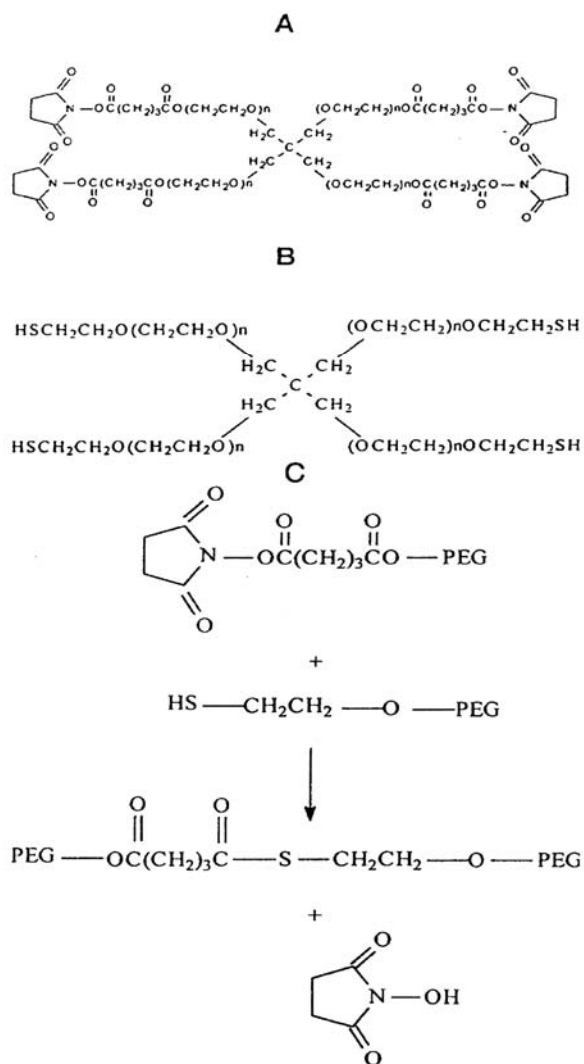


Figura 11. A, Estructura del 4S-PEG. B, Estructura del 4T-PEG. C, Esquema de la reacción entre 4T-PEG y 4S-PEG. (Fuente: Wallace DG (2001), p. 545).<sup>168</sup>



Ambos polímeros se presentan en forma de polvo separados en dos jeringas donde se reconstituyen con dos soluciones tampón (una solución de cloruro de hidrógeno diluida, y otra de fosfato y carbonato sódicos) alojadas en sendos recipientes. Una vez reconstituidas las soluciones de PEG en sus respectivas jeringuillas, estas se ensamblan en un dispositivo mezclador que presenta un émbolo común y una punta aplicadora (disponible en varias longitudes) donde de facto se produce la mezcla (Figura 12).

Los test de biocompatibilidad, de acuerdo con la Norma ISO 10993 de Evaluación Biológica de Dispositivos Médicos, Parte 1, de 1997, demuestran que este producto no es citotóxico, ni mutagénico ni clastogénico, es decir que no provoca roturas cromosómicas. Los resultados de los estudios muestran que es un material biocompatible, eficaz en la reducción del tiempo de hemostasia y en la cantidad de sangre perdida, y que se reabsorbe completamente.

Su utilidad inicial se limitaba al campo de la cirugía vascular como coadyuvante de las suturas convencionales en el sellado de las anastomosis. En la actualidad se emplea también con eficacia en el tratamiento y disminución de las fugas aéreas tras la cirugía pulmonar, y en otras especialidades quirúrgicas como la cirugía cardíaca.<sup>184,185</sup>

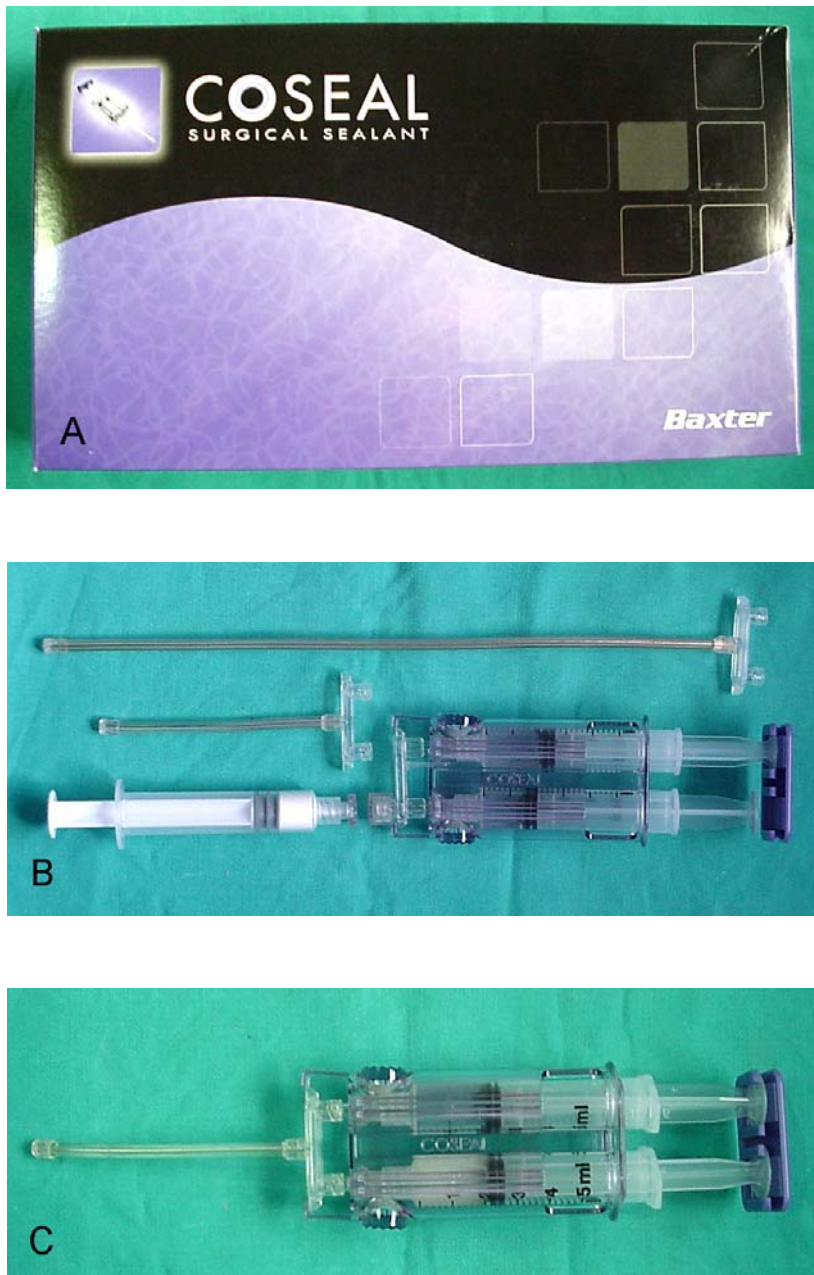


Figura 12. Sellante Coseal®: A, Embalaje del producto. B, Sistema de aplicación desmontado. C, Dispositivo ensamblado.

## **2.-MÉTODOS.**

### **2.1.-PERIODO PREOPERATORIO. MARCO LEGAL.**

Como hemos visto, todos los animales empleados en los experimentos procedían del Animalario de la Facultad de Medicina, encontrándose estabulados en condiciones similares. En todo momento, tanto en la etapa preoperatoria, como durante la intervención, los cuidados postoperatorios y el sacrificio de los especímenes, se respetó el marco legal vigente sobre experimentación animal.

En instancias europeas, la Directiva 86/609/CEE se modificó en 2003, mediante la Directiva 2003/65/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de julio. (DOUE L 230 de 16 de septiembre, p. 32) para poder adoptar el Protocolo de Enmienda al Convenio 123.<sup>186</sup>

En nuestro país, el Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos (BOE nº 252, de 21 de octubre, p. 34367) desarrolla la Directiva 86/609/CEE. Regula, entre otros aspectos, las condiciones en que se pueden utilizar animales de experimentación, el registro de establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales, los requisitos de las instalaciones y equipos de los mismos, tanto humanos – haciendo especial hincapié en cual debe ser su formación- como materiales. Establece asimismo la creación tanto de comités éticos de bienestar animal en los centros de titularidad estatal como de la Comisión Ética Estatal de Bienestar Animal.<sup>187</sup>

Desde el 8 de diciembre de 2007 es de aplicación la Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. El objetivo de esta Ley es

establecer las normas básicas para la manipulación y experimentación animal. Con esta Ley se completa la normativa nacional ya existente, incorporando al ordenamiento jurídico algunos aspectos de la normativa comunitaria en materia de protección animal, incluyendo la tipificación de infracciones y sanciones. Comprende en su ámbito de aplicación tanto las explotaciones (incluyendo los centros donde se alojan animales de experimentación) como los medios de transporte y de sacrificio.<sup>188</sup>

## **2.2.-PERIODO OPERATORIO.**

Debemos contemplar este periodo desde dos vertientes; la anestésica y la quirúrgica.

### **2.2.1.-ANESTESIA.**

La anestesia es la privación total o parcial de sensibilidad, provocada con una finalidad biomédica.

La anestesia en cirugía experimental y en cirugía asistencial tiene diferentes características, aunque las dos buscan como fin un estado en el que no se perciba la sensación dolorosa, pero manteniendo la homeostasis del paciente -o animal en nuestro caso- durante el acto quirúrgico.

En el animal de experimentación la narcosis no sólo suprime el dolor, sino que nos facilita su posterior manejo. Por tanto, podemos decir, que la anestesia, desde el punto de vista de la cirugía experimental, es una técnica que nos permite desarrollar nuestro trabajo quirúrgico de investigación. Por ello es de suma importancia realizar una anestesia adecuada en el animal de experimentación, dependiendo del experimento que precisemos realizar o de si nos interesa que el animal sobreviva al mismo; también tendremos en cuenta el tiempo que necesitamos que la

rata esté dormida y los cambios metabólicos o hemodinámicas que va a sufrir. No olvidaremos pues, que hay que elegir el anestésico más idóneo y adecuado para que no interfiera en el experimento que estamos realizando.

En nuestro caso, empleamos como anestésico la ketamina, debido a su fácil manejo y sencilla administración, así como a su margen terapéutico.

Se utilizó Ketolar<sup>®</sup>, fármaco fabricado por el Grupo Pfizer. Es el hidrocloreto de 2-(0-clorofenil)-2-metilaminocicloxanona, a concentración de 50 mg/ml. Es un sólido cristalino, de color blanco, hidrosoluble, y su solución al 20% es transparente e incolora. El componente base es un 86,7% de la sal. Se administra en una disolución ligeramente ácida (pH 3,5-5.5) para inyección intravenosa o intramuscular, en concentraciones que contengan el equivalente de 50 mg de Ketamina base por mililitro.

Vemos pues, que es un anestésico general, líquido, transparente e incoloro, con un pH ácido, que se utiliza en solución acuosa del 1 al 5%, de acción anestésica rápida con un potente efecto analgésico. Permite al animal conservar el reflejo faringo-laríngeo, produciendo rara vez laringoespasma y depresión cardio-respiratoria. La administración muy rápida de esta sustancia puede dar lugar a apnea.

Produce taquicardia, aumento de la presión arterial e incremento del consumo de oxígeno cerebral, pero carece de efectos acumulativos perjudiciales.

Pueden ocurrir movimientos bruscos de las extremidades del animal durante el curso de la anestesia, que no implican un nivel anestésico ligero ni son indicativos de administrar dosis adicionales.

La dosis inicial a utilizar es de 60 mg/Kg de peso corporal por vía intraperitoneal. La anestesia se mantiene con dosis fraccionadas, por la misma vía, teniendo en cuenta que cuanto mayor sea la dosis de fármaco administrado, más largo será el periodo de recuperación.

En la sobredosis se produce depresión respiratoria, aunque esta es una eventualidad poco frecuente, ya que la Ketamina es un fármaco que posee un amplio margen de seguridad.<sup>189</sup>

La anestesia se realizó de igual forma en todos los especímenes. Previa sujeción del animal, se aplicó por vía intraperitoneal Ketamina mediante aguja hipodérmica a través de la pared abdominal anterior, en la línea media, en dosis de 0,5 ml más incrementos de 0,1 ml.

### 2.2.2.-TÉCNICA QUIRÚRGICA.

Una vez anestesiado el espécimen, procedimos a rasurar la región cervical con una rasuradora eléctrica (Oster Cryotech) y a fijar el animal en decúbito supino en el tablero sobre la mesa de disección, ciñendo sus extremidades abiertas en cruz con esparadrapo. (Figura 13).



Figura 13. Posición del animal en el tablero de disección.

Se realizó una incisión cervical cutánea longitudinal, en el sentido del eje mayor del cuello (Figura 14). Separando los bordes de la herida nos encontramos con un magma glandular formado por los órganos secretores salivares. Se disecaron las glándulas parótidas, sublinguales y submandibulares con retracción craneal de estas últimas (Figura 15).

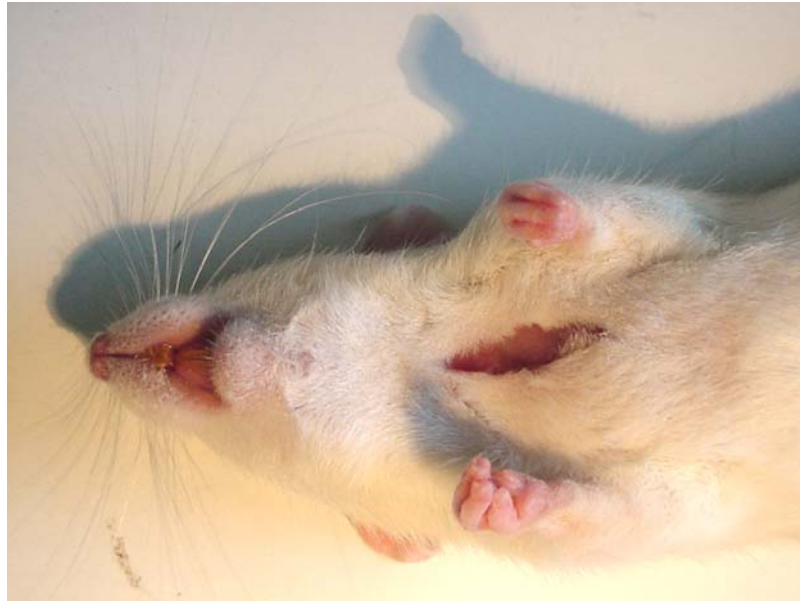


Figura 14. Incisión cervical cutánea longitudinal.

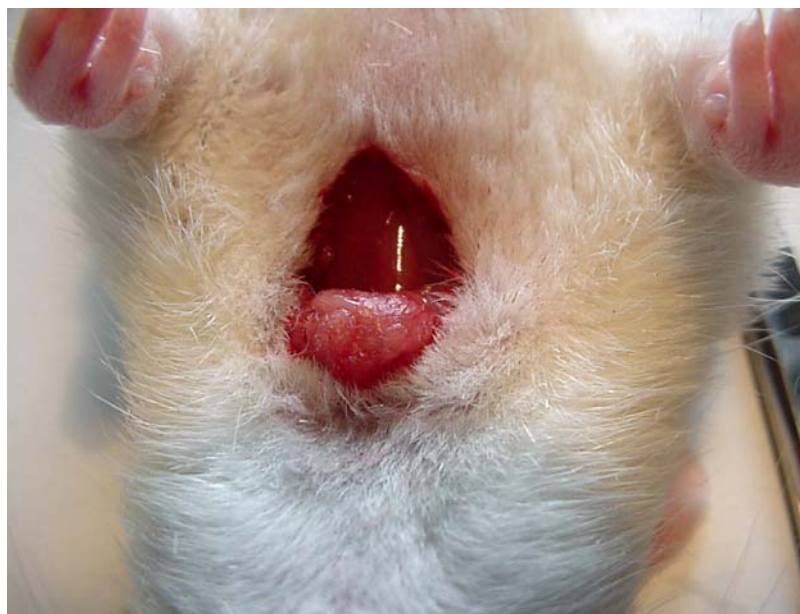


Figura 15. Disección y retracción craneal de las glándulas submandibulares.

A continuación se percibe inmediatamente la “V” formada por los dos esternocleidomastoideos que convergen hacia la línea media en la porción cervical inferior. Entre ellos, longitudinalmente, observamos la sutil musculatura prelaringotraqueal. Se disecciona y rechaza el músculo esternocleidomastoideo apareciendo entonces el músculo omohioideo, el cual puede ser rechazado o seccionado; en nuestro caso se separó la musculatura pretraqueal en la línea media hacia los lados sin seccionarla (Figura 16).



Figura 16. Disección y separación de la musculatura pretraqueal.

Separados a ambos lados los citados grupos musculares, aparecen por debajo los anillos traqueales, y en cada uno de sus límites laterales una arteria carótida con el nervio neumogástrico acompañante. En la rata no existe vena yugular interna, siendo el retorno venoso asegurado por una sola yugular a cada lado, con un recorrido más superficial.

Por último, se realiza una cuidadosa disección de los tejidos peritraqueales, que son muy laxos, obteniéndose con facilidad un trayecto traqueal de unos diez anillos (Figura 17). Sobre los primeros anillos se



aprecia una delgada capa carnosa de color rojizo que sutilmente cubre la zona de conexión laringotraqueal y que corresponde a la glándula tiroides.



Figura 17. Disección de los tejidos peritraqueales.

Después se levanta la tráquea cuidadosamente con un disector, y así fijada, se practica un orificio de dos milímetros de diámetro en la cara anterior de la porción media de su región cervical con un dispositivo tipo punch del citado tamaño, concretamente el Biopsy Punch de la casa Stiefel (Figura 18). Esta maniobra debe realizarse con gran cuidado de no lesionar la pars membranosa traqueal en la cara posterior lo que haría al animal inservible para el experimento, y procurar que el orificio de traqueotomía no quede excesivamente amplio, ciñéndose sólo al diámetro del punch para no dificultar su cierre con adhesivos.

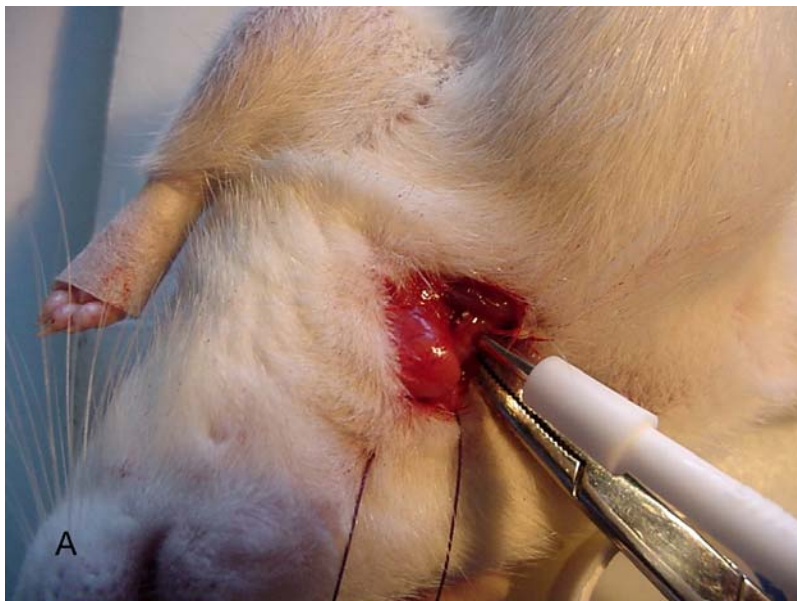


Figura 18. Realización de la traqueotomía: A, Con el Biopsy Punch de Stiefel. B, Situación del traqueostoma en la pared anterior de la porción media traqueal.

En los grupos Cianoacrilato, Fibrina, Albúmina-glutaraldehído y Polietilenglicol, una vez realizada esta maniobra, el paso siguiente consistió en aplicar una pequeña cantidad de las diferentes sustancias sellantes en el orificio y en la inmediata periferia del mismo, hasta obturarlo. Así se observa la aplicación de Dermabond® en la figura 19, de Tissucol® en la figura 20, de Bioglue® en la figura 21 y por último de

Coseal<sup>®</sup> en la 22. De esta forma se pretendía evitar el trasiego de aire a su través. Debíamos tener gran cuidado de que la sustancia no se introdujera en la luz traqueal, ya que la adhesión se produciría también en el interior del lumen ocasionando un molde o tapón que podría provocar en el animal un cuadro asfíctico y su fallecimiento. Esta circunstancia se constató en varias ocasiones como veremos en el apartado de resultados.

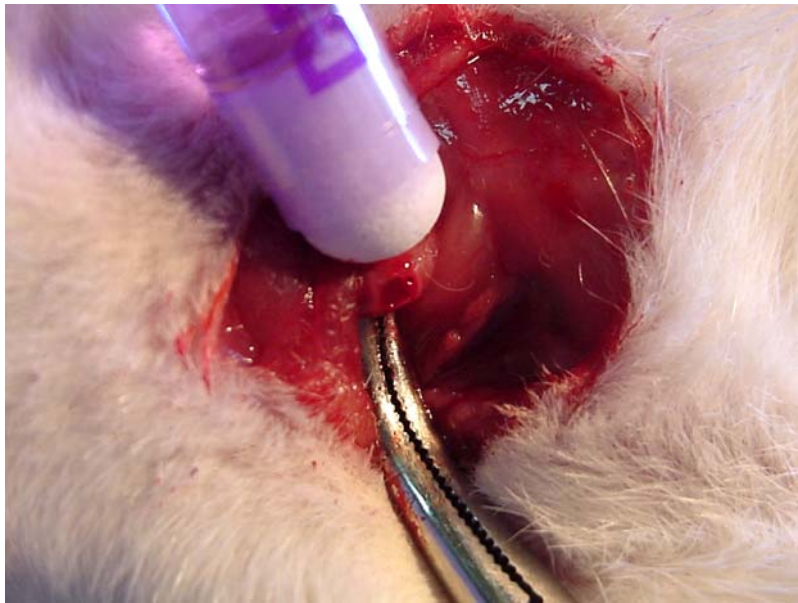


Figura 19. Aplicación del sellante Dermabond<sup>®</sup>.



Figura 20. Aplicación del sellante Tissucol<sup>®</sup>.



Figura 21. Aplicación del sellante Bioglue®.



Figura 22. Aplicación del sellante Coseal®.

Más tarde posicionamos en su lugar la musculatura pretraqueal sobre la traqueotomía y el sellante, lo que motivaba que los músculos se adhiriesen al orificio. Se situó la glándula submandibular en su posición anatómica, fijándola con un punto suelto de Poliglactina 910 (Vicryl® 3/0) (Figura 23).



Figura 23. Fijación con sutura de la glándula submandibular.

Y ya por último, se realizó el cierre cutáneo en bloque con puntos de sutura sueltos del citado Vicryl® 3/0, realizando un lavado de la piel del animal como último gesto antes de su despertar y depósito en la jaula para su control en estabulación (Figura 24).<sup>190,191</sup>



Figura 24. Sutura cutánea tras finalizar la intervención.

En los especímenes del grupo Control se llevaba a cabo la incisión cutánea y la separación muscular y glandular hasta llegar a la tráquea cervical disecando los tejidos peritraqueales, pero sin provocar ninguna

lesión en la vía aérea. Tras esta maniobra se suturaba la glándula submandibular con un punto suelto de Poliglactin 910, y luego el plano cutáneo, también con puntos sueltos.

En el grupo Testigo toda la intervención se realizó de manera similar al grupo Control, si bien en este caso si que se practicaba la lesión circular de 2 mm de diámetro en la pared anterior de la tráquea cervical; después se cerraban los planos suprayacentes de igual forma sin ninguna maniobra adicional ni aplicación de ninguna sustancia sellante.

### **2.3.-PERIODO POSTOPERATORIO.**

Debemos contemplar tres apartados en este epígrafe; la estabulación , el sacrificio y toma de muestras de los especímenes, y por último la fijación y procesamiento de los tejidos para su estudio.

#### **2.3.1.-ESTABULACIÓN.**

Una vez practicada la intervención, y pasados ya por completo los efectos de la anestesia, los animales fueron colocados en sus jaulas previa comprobación de su correcto estado respiratorio clasificándolos y separados en los seis grupos ya reflejados.

El Animalario de la Facultad de Medicina cuenta con una serie de características idóneas, a saber: es independiente del Laboratorio, localizándose de hecho en otra planta del edificio, presenta separación entre las zonas limpias y las sucias, y posee dependencias para el alojamiento de los animales y locales anexos para la preparación de dietas y tratamientos, almacén, incinerador y locales de administración.

Los techos y suelos de unas instalaciones de este tipo preferiblemente deben de ser lisos, con paredes impermeabilizadas y

provisión de agua en cada departamento. Los pasillos es conveniente que sean anchos para facilitar las manipulaciones de jaulas y enseres, y las puertas deben tener mirilla. No debe recomendarse la existencia de ventanas al exterior en las dependencias de los animales. Cada especie debe contar con habitaciones independientes.<sup>192,193</sup>

Es imprescindible el mantenimiento de una ventilación apropiada, con control de humedad (del 40 al 70%) y temperatura (de 18 a 25 °C).

La iluminación insuficiente produce fenómenos negativos en la función reproductiva de los roedores. Lo correcto es disponer ciclos de luz de 12 horas diarias, mediante tubos fluorescentes.

Las ratas de laboratorio pueden mantenerse en jaulas de suelo sencillo o jaulas metabólicas con suelo de alambre, bajo el cual poseen un recipiente para la recogida de orina y heces. Las jaulas deben tener una altura mínima de 25 cm y un área de 0,1 m<sup>2</sup>, y el cierre de su tapa debe ser hermético, ya que son animales lo bastante fuertes para levantarla y escapar.

Nuestros especímenes fueron alimentados con pienso de mantenimiento. Una rata de 400 gramos consume el 5% de su peso en pienso seco diariamente. De hecho, la alimentación supone aproximadamente el 70% del coste total de producción. Estos animales beben alrededor de 24-35 ml de agua al día, variando en función de las condiciones del entorno. No se administró ningún tratamiento ni fármaco durante el periodo de estabulación.<sup>169</sup>

### 2.3.2.-SACRIFICIO Y TOMA DE MUESTRAS.

Los animales fueron sacrificados a las ocho semanas de la intervención. La razón de elegir este lapso temporal, estriba en que pretendíamos una valoración macro y microscópica en un plazo medio de tiempo. Pensamos que de realizarla en un periodo mayor, las manifestaciones histopatológicas de la influencia de uno u otro sellante serían menos diferenciables entre sí. Por otra parte, una valoración excesivamente precoz, en el seno de fenómenos de respuesta inflamatoria más o menos agudos o subagudos al adhesivo y también como defensa ante la lesión, podría enmascarar la respuesta tisular al sellante.

El sacrificio de los especímenes se realizó de manera humanitaria, evitando a los animales agitación, dolor o sufrimiento innecesarios. Se llevó a cabo mediante la técnica de dislocación cervical manual, que ejecutada apropiadamente induce inconsciencia rápidamente. Se toma el espécimen por la base de la cola con una mano y se posiciona sobre una superficie donde el animal se sostenga. Con los dedos índice y pulgar de la otra mano o bien en su defecto situando un instrumento delgado pero rígido sobre la base del cráneo, se ejerce tracción de la cola para ocasionar la dislocación cervical.

Tras el sacrificio de los animales se procedió a realizar su estudio necrópsico. Después de practicar una amplia incisión cutánea en el plano cervical anterior se retrajeron los tejidos glandulares salivales y se separó la musculatura pretraqueal. Una vez expuesta el área objeto de investigación, primero se hizo la valoración macroscópica y después la extracción en bloque de la zona de la traqueotomía tratada con las sustancias sellantes, incluyendo la citada porción traqueal y los tejidos adyacentes, para proceder a su estudio histológico (Figura 25).



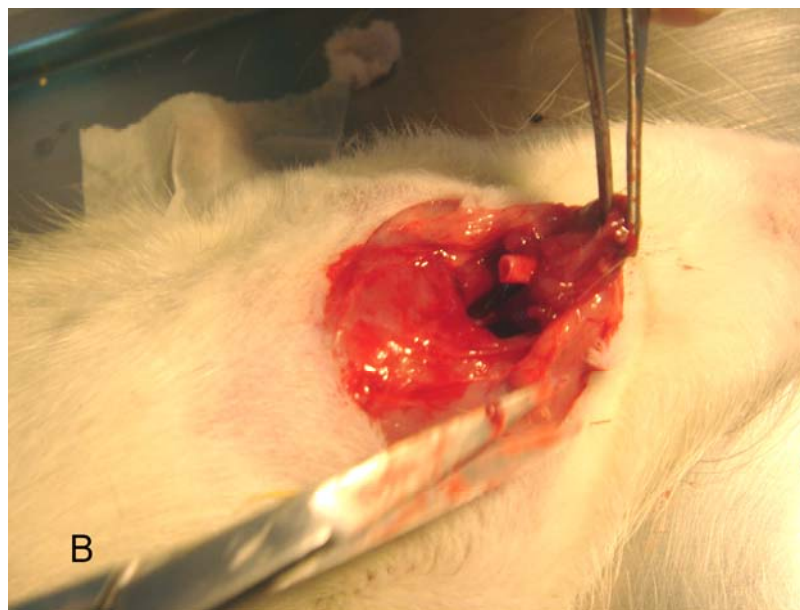


Figura 25. Autopsia: A, Disección de los tejidos peritraqueales  
B, Extracción en bloque de área a estudiar.

### 2.3.3.-PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS HISTOLÓGICAS.

El procesamiento de las muestras tiene por objeto final la obtención de un bloque de parafina en el que se encuentra inmerso el tejido a estudiar. La obtención de dicho bloque posibilita, por un lado el posterior corte y tinción del material para el estudio histológico, y por otro permite la conservación futura del tejido.

El procesamiento de las muestras histológicas se realizó de manera estándar, según la técnica que se describe en el siguiente apartado.

#### **Fijación.**

Los tejidos fueron fijados mediante la técnica de inmersión, es decir incluyendo la pieza en un líquido fijador. Un fijador debe ser capaz de actuar con rapidez, matando y fijando las células antes de que aparezcan los fenómenos agónicos o post-mortem (autolisis, desintegración, etc.). Debe también poseer un alto poder de penetración para asegurar la fijación correcta hasta en las capas profundas de la pieza, y conservar en lo posible los detalles estructurales que presentaban in vivo. Tiene que permitir o favorecer el empleo de los procedimientos necesarios para su observación ulterior (ejecución de cortes, coloración, etc.), impedir la desaparición de los elementos solubles durante la fijación o después de ella, no debe provocar artefactos, ni retraer excesivamente los tejidos ni tornarlos friables o quebradizos.

Se procedió a la fijación inmediatamente después de la extracción de la muestra de tejido, con el ánimo de interrumpir los procesos degenerativos y mantener la estructura celular con la menor variación posible. Se sumergió en una solución fijadora tamponada de formol al 10%, empleando formalina (disolución de formaldehído en agua en una

concentración que oscila entre el 37 y el 50 %), agua destilada, y fosfatos monosódico y disódico.

La fórmula del formol al 10% tamponado es la siguiente:

Formalina	100 ml
Fosfato monosódico ( $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na} \cdot 1\text{H}_2\text{O}$ )	11 g.
Fosfato disódico anhidro ( $\text{PO}_4\text{HNa}_2$ )	4,4 g.
Agua destilada	1000 ml.

Tabla II. Fórmula del formol tamponado al 10%.

Con esta fórmula la osmolaridad resultante es aproximadamente de 0,1 M y el pH discretamente básico, alrededor de 7,4. La relación de volumen entre el líquido fijador y la pieza debe ser de 20/1, relación mínima para combatir la pérdida de solución fijadora.

### **Lavado.**

Transcurrido el tiempo de fijación de las piezas, se lavaron éstas con agua destilada durante dos horas para eliminar el exceso de fijador.

### **Deshidratación.**

Para lograr que la inclusión en parafina sea satisfactoria, las muestras deben ser sometidas a una deshidratación previa realizada con distintos alcoholes. Se realiza mediante baños de la muestra en alcohol etílico de concentraciones progresivamente crecientes. Una vez que se alcanza el paso a alcohol absoluto y la pieza está deshidratada, se sumerge en un solvente intermedio, el xilol (mezcla de los tres isómeros –orto, meta y para-del xileno). En este paso es frecuente que las muestras se tornen traslúcidas.

### Inclusión de las muestras en parafina.

A continuación, las piezas ya deshidratadas y aclaradas pasan por varios baños de parafina fundida. Estos pasos están automatizados en la rutina histopatológica, empleando procesadores automáticos, como el Shandon Citadel Tissue Processor<sup>®</sup>, modelo 1000, de la casa Internacional Medical Equipment Inc, utilizado en este estudio.

La inclusión permite obtener cortes finos y homogéneos para lo cual las piezas a cortar deberán tener una determinada consistencia y uniformidad. Por esta razón, el medio de inclusión debe ser un líquido que posteriormente se solidifique de forma homogénea y penetre en todos los espacios libres de los tejidos. Se colocan las piezas en un molde adecuado, teniendo en cuenta la orientación idónea para el corte. Después se cubren con parafina líquida limpia y se deja solidificar. La inclusión automática en parafina (empleando Paraplast<sup>®</sup>, que es una mezcla de parafinas purificadas de distintos pesos moleculares) sigue el siguiente proceso de sucesivos baños en diferentes productos:

Formalina	2 horas
Formalina	2 horas
Alcohol etílico 70%	1 hora
Alcohol etílico 90%	1 hora
Alcohol absoluto	2 horas
Alcohol absoluto	2 horas
Alcohol absoluto	2 horas
Xilol	1 hora
Xilol	1 h. 30 m.
Xilol	1 h. 30 m.
1 Paraplast <sup>®</sup>	2 horas
2 Paraplast <sup>®</sup>	3 horas

Tabla III. Proceso de inclusión automática.

### **Preparación y realización de los cortes histológicos.**

Obtenidos los bloques titulares endurecidos, se procedió a su marcado y rotulación. Generalmente, para la obtención de los cortes histológicos suele utilizarse el microtomo, que consta de un portapiezas, un portacuchillas y un sistema de avance que mueve la pieza hacia la cuchilla. También puede llevar un sistema de aproximación rápida de la cuchilla a la pieza. En este estudio se utilizó un microtomo de rotación o tipo Minot, marca Leitz<sup>®</sup>, modelo 1512.

El bloque de parafina ha de tener la base adecuada para la mordaza del portapiezas. Se talla en forma de tronco de pirámide de base rectangular o preferiblemente trapezoidal, con el eje mayor de la pieza paralelo al eje mayor del trapecoide. Una vez tallada la pieza y sujeta en el microtomo, se coloca la cuchilla y se orienta la pieza con la base del trapecio paralela al borde de la cuchilla, con lo que se obtienen cortes de unos 6 micrómetros de espesor.

Se obtuvieron cortes seriados del citado espesor, y se colocaron en el portaobjetos, adecuadamente preparado con albúmina con el fin de facilitar la adherencia de las muestras. Los portaobjetos fueron desengrasados mediante inmersión en alcohol-éter. Por último, los portaobjetos se introducen en una estufa a 37°C durante 24 horas, con el objeto de que la albúmina se coagule y se produzca una buena adherencia de los cortes al vidrio.

### **Desparafinación de los cortes.**

Como la mayor parte de los colorantes se emplean en solución acuosa, el tejido debe desparafinarse y rehidratarse. Los portaobjetos son sometidos a inmersión en xilol y luego en alcoholes de concentración decreciente.

La secuencia que se empleó fue la siguiente:

Xilol I	10 minutos
Xilol II	10 minutos
Alcohol de 100°	2 minutos
Alcohol de 100°	2 minutos
Alcohol de 96°	2 minutos
Alcohol de 80°	2 minutos

Tabla IV. Proceso de desparafinación.

### **Tinción con hematoxilina-eosina.**

La mayor parte de las preparaciones histológicas precisan para poder ser observadas bajo el microscopio de luz que sus estructuras sean teñidas con uno o más colorantes.

La técnica más utilizada es la de hematoxilina-eosina y emplea dos colorantes: uno es básico, la hematoxilina, y el otro ácido, la eosina.

Se utilizó el siguiente protocolo:

#### *1.-Solución de hematoxilina.*

Se prepara el colorante empleando las siguientes sustancias:

- Hematoxilina: 8 gramos.
- Alcohol de 100°: 50 mililitros.
- Alumbre potásico: 100 gramos.
- Agua destilada: 1000 mililitros.
- Óxido de mercurio (rojo): 2,5 gramos.

Se disuelve en caliente la hematoxilina en alcohol etílico y en otro recipiente se disuelve el alumbre en agua destilada. Se mezclan ambas soluciones y la disolución resultante se hierve, de forma que lo haga de la manera más rápidamente posible. Después se retira de la fuente de calor

y se añade lentamente el óxido de mercurio. Se calienta de nuevo hasta su ebullición adquiriendo un color púrpura, tras lo cual se enfría la mezcla en un baño de agua. Una vez fría se puede añadir ácido acético glacial (ácido acético en concentración próxima al 100%) en proporción de 2 a 4 ml por cada 10 ml de solución.

#### 2.-Alcohol ácido.

Constituido por:

- Alcohol de 70º: 100 mililitros.
- Ácido clorhídrico: 10 mililitros.

#### 3.-Solución saturada de carbonato de litio.

- Carbonato de litio: 1 gramo.
- Agua destilada: 100 gramos.

#### 4.-Solución de eosina.

La solución madre está formada por:

- Eosina "Y" soluble en agua:1 gramo.
- Agua destilada: 20 mililitros.
- Alcohol de 95º: 80 mililitros, que se añaden a la disolución de la eosina en agua destilada en las cantidades arriba citadas.

La solución de trabajo se constituye de la siguiente manera:

- Solución madre: una parte.
- Alcohol de 80º: tres partes.

El procedimiento fue el siguiente:

- Inmersión en hematoxilina durante 15 minutos.
- Lavado con agua corriente (pH alcalino).
- Diferenciación en alcohol-ácido, una vez, durante 10 segundos, al objeto de eliminar el exceso de colorante.
- Lavado con agua destilada.

- Inmersión de los cortes en agua amoniacal, de 3 a 5 veces.
- Lavar en agua corriente de 10 a 20 veces durante 5 minutos.
- Sumergir en alcohol de 80° durante un minuto.
- Inmersión en eosina durante un minuto.
- Alcohol de 95° para retirar el exceso de eosina.

### **Aclaramiento y montaje.**

Terminado el proceso de coloración, los cortes pasan por baños sucesivos de alcohol de concentraciones crecientes, terminando en alcohol absoluto. A continuación, los portaobjetos se pasaron por baños de xilol para eliminar el alcohol y lograr la máxima transparencia de los cortes.

Alcohol de 80°	5 minutos
Alcohol de 96°	5 minutos
Alcohol de 100° I	5 minutos
Alcohol de 100° II	5 minutos
Xilol I	5 minutos
Xilol II	5 minutos

Tabla V. Proceso de aclaramiento.

Una vez aclaradas las preparaciones, se depositó sobre los cortes resina sintética Eukitt, cuyo índice de refracción es igual al del vidrio, y se posicionó encima el cubreobjetos, dejándolos secar 24 horas. La valoración histológica se realizó con un microscopio óptico (Nikon Labophot), empleando una resolución de 100X y 400X aumentos.<sup>194</sup>

Ya preparadas las muestras histológicas, se evaluó la integridad traqueal, en especial a nivel del estoma, la conformación de sus capas constitutivas cartilaginosas y epiteliales, los tejidos peritraqueales, la existencia de neoformación vascular, y especialmente la respuesta flogótica y reparadora de tejido conjuntivo.



## **V. RESULTADOS.**



## 1.-COMPLICACIONES Y MORTALIDAD.

### 1.1.-PERIODO OPERATORIO.

Para obtener la cantidad de siete animales por cada grupo de estudio, hasta sumar un total de cuarenta y dos, fue preciso intervenir a cincuenta y cuatro. Se produjeron un total de 12 éxitos intraoperatorios y en el postoperatorio inmediato: uno en el grupo Cianoacrilato, otro en el grupo Fibrina, tres en el grupo Albúmina-glutaraldehido, siete en el grupo Polietilenglicol y ninguno en los grupos Control y Testigo (Tabla VI).

	ESTUDIO	ÉXITOS INTRAOPERATORIOS	TOTAL
GRUPO CONTROL	7	0	7
GRUPO TESTIGO	7	0	7
GRUPO CIANOACRILATO	7	1	8
GRUPO FIBRINA	7	1	8
GRUPO ALBÚMINA- GLUTARALDEHIDO	7	3	10
GRUPO POLIETILENGLICOL	7	7	14
TOTAL	42	12	54

Tabla VI. Distribución en grupos y éxitos intraoperatorios y en el postoperatorio inmediato.

#### 1-Grupo Control.

No se ocasionó mortalidad en este grupo, ni se objetivaron complicaciones inmediatas. Tras la intervención los animales emergieron de la anestesia sin mostrar alteraciones cardiorrespiratorias.

## 2-Grupo Testigo.

Tampoco en este conjunto se produjo mortalidad durante la intervención, si bien al presentar la perforación traqueal de 2 mm que habíamos practicado, y cerrar los tejidos suprayacentes sobre la misma, en todos los especímenes se reconocía cierto grado de estridor y enfisema autolimitado en los tejidos subcutáneos y peritraqueales, aunque no insuficiencia respiratoria patente.

## 3-Grupo Cianoacrilato.

Se intervinieron ocho animales. En este conjunto se observó un fallecimiento en el postoperatorio inmediato; el animal presentó un cuadro de 45 minutos de duración de enfisema subcutáneo y estridor al término del cual murió, no siendo eficaces las maniobras de reanimación adoptadas. En otros dos casos, dada la baja viscosidad del sellante (similar a la del agua), éste se introdujo en la luz traqueal, polimerizando y originando un molde intratraqueal de consistencia dura, ocasionando un cuadro asfíctico que pudo ser solventado tras la extracción del adhesivo (Figura 26). Estos animales se recuperaron por completo y pudieron ser incluidos en el estudio postoperatorio con los otros cinco intervenidos que no sufrieron este percance.

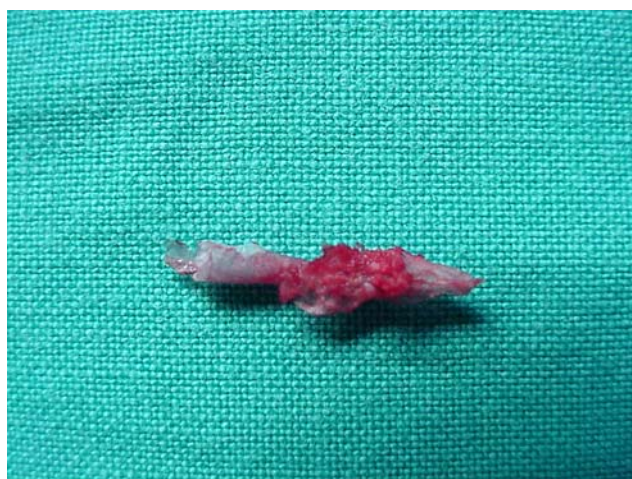


Figura 26. Molde traqueal de Dermabond®.

#### 4-Grupo Fibrina.

Se intervinieron ocho animales, de los cuales uno falleció por parada respiratoria durante la cirugía, siendo infructuosas las maniobras de reanimación adoptadas.

#### 5-Grupo Albúmina-glutaraldehído.

Fue necesario intervenir 10 animales para conseguir los siete necesarios, ya que se produjeron tres fallecimientos. Dos de ellos presentaron un cuadro de insuficiencia respiratoria con estridor relevante al término de la intervención, y otro depresión respiratoria intraoperatoria.

#### 6-Grupo Polietilenglicol.

En este grupo fue necesario practicar la intervención en catorce ratas para obtener las siete de estudio evolutivo, ya que murieron otras siete. Tres de los éxitos sucedieron al aspirar el animal por el traqueostoma parte del sellante. Esta circunstancia se dio en otras dos ocasiones, si bien pudo extraerse el molde. El adhesivo, al polimerizar, adquiere una consistencia gomosa friable resultando difícil su extracción de la vía aérea (Figura 27). Otros tres animales fallecieron por depresión respiratoria intraoperatoria, sin causa obstructiva aparente, y otro más presentó un cuadro de temblor y convulsiones de origen incierto. No observamos estridor postoperatorio, presentando el traqueostoma un buen sellado aparente con el adhesivo.

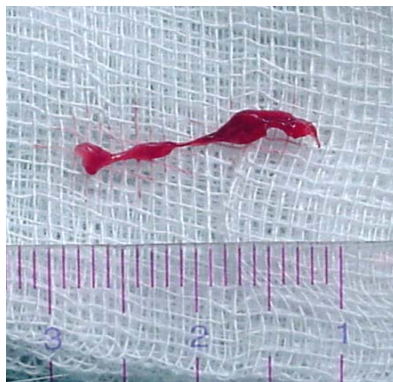


Figura 27. Molde traqueal de Coseal<sup>®</sup>, extraído postmortem.

**1.2.-PERIODO POSTOPERATORIO.**

De los 42 animales incluidos inicialmente para su estudio, fallecieron tres. Uno del grupo Testigo persistió con estridor e insuficiencia respiratoria progresiva falleciendo a los tres días. Otro del grupo Cianoacrilato presentó fallo respiratorio gradual a partir de la primera semana muriendo diez días después por obstrucción de la vía aérea; la misma situación surgió en una rata del grupo Albúmina-glutaraldehido, aunque expiró unos días más tarde. Por tanto, en el momento del sacrificio a las ocho semanas permanecían vivos para su estudio 39 animales (Tabla VII).

	INICIO DEL ESTUDIO	ÉXITOS POSTOPERATORIOS	FINAL DEL ESTUDIO
GRUPO CONTROL	7	0	7
GRUPO TESTIGO	7	1	6
GRUPO CIANOACRILATO	7	1	6
GRUPO FIBRINA	7	0	7
GRUPO ALBÚMINA- GLUTARALDEHIDO	7	1	6
GRUPO POLIETILENGLICOL	7	0	7
TOTAL	42	3	39

Tabla VII. Distribución en grupos y éxitos en el período postoperatorio.

## **2.-VALORACION MACROSCÓPICA.**

Tras el sacrificio de los animales supervivientes a las ocho semanas de realizados los experimentos, se procedió a la extracción en bloque de la zona tratada con los adhesivos, incluyendo la tráquea con los tejidos circundantes.

Desde un punto de vista general, no se objetivo ningún caso de fístula tráqueo-cutánea o tráqueo-vascular, ni tampoco zonas localizadas de infección o abscesos peritraqueales.

Teniendo en cuenta los distintos grupos de estudio cabe señalar los siguientes hallazgos.

### 1-Grupo Control.

En los siete casos estudiados la herida operatoria cicatrizó correctamente, observándose crecimiento del pelo sobre la misma, lo cual dificultaba la identificación de la zona de actuación experimental.

Tras la realización de las incisiones de abordaje a nivel de la cara ventral del cuello del animal, se pudieron delimitar con claridad las diferentes estructuras de la zona, correspondientes a la piel, tejido celular subcutáneo, musculatura infrahioidea, y el eje traqueal flanqueado a ambos lados por los paquetes vásculo-nerviosos de la región cervical, es decir por los nervios neumogástricos y las arterias carótidas. En todo momento, los tejidos se mostraron netamente delimitados y fácilmente disecables, permitiendo un adecuado aislamiento de las estructuras.

Tras el examen macroscópico de los bloques extraídos no observamos ningún hallazgo patológico.

## 2-Grupo Testigo.

En los seis especímenes estudiados, en la zona donde practicamos el estoma traqueal, las estructuras se mostraron con un cierto grado de fibrosis que dificultaba levemente la disección y el aislamiento de los componentes anatómicos de la zona.

Se objetivaron discretos tractos fibrosos que conferían moderada rigidez al bloque, aunque no había perdido su elasticidad.

## 3-Grupo Cianoacrilato.

Los seis animales analizados pertenecientes a este grupo han mostrado en su totalidad un importante grado de fibrosis, originando un gran endurecimiento de la zona tratada con el sellante. Encontrándose ésta dotada de una excesiva rigidez, la disección y aislamiento quirúrgico se tornaban dificultosos. La fibrosis tenía un carácter irregular, manifestándose más consistente en la zona central, y menos compacta en los márgenes laterales, donde se recuperaba la elasticidad normal de los tejidos.

En dos especímenes pudieron detectarse formaciones de consistencia dura, fibrótica, morfología redondeada y con cierto carácter inflamatorio, que dificultaban aún más las maniobras de aislamiento de las estructuras. La ubicación de esta estructura en uno de los animales era central y muy próxima a la región donde se practicó el traqueostoma, siendo su tamaño aproximado de unos 2 mm. En el segundo caso, la formación poseía un tamaño algo superior, unos 3 mm aproximadamente, situándose en posición más lateral y discretamente distante de la zona del traqueostoma.



#### 4-Grupo Fibrina.

En los siete especímenes analizados se percibieron unas características de la zona de estudio semejantes al grupo Albúmina-glutaraldehído, si bien la parte ventral del cuello del animal no mostraba importantes signos de induración cicatricial. A su vez la disección de los tejidos y el acceso a las estructuras anatómicas y delimitación de las mismas se practicó también sin dificultad, encontrándose adheridas únicamente en la zona central por moderado tejido fibroso.

#### 5-Grupo Albúmina-glutaraldehído.

Los seis ejemplares evaluados mostraron en la disección un cierto grado de fibrosis, presentando zonas irregulares induradas a nivel de los planos superficiales. También se observó una moderada reacción cicatricial en la zona de la incisión quirúrgica. La liberación del bloque para estudio histológico no mostró gran dificultad técnica, pudiendo realizarse una neta identificación de las estructuras anatómicas. También pudo observarse una mesurada induración en la región medial de la cara ventral del cuello de los animales, correspondiente al punto donde se practicó el estoma traqueal.

#### 6-Grupo Polietilenglicol.

En los siete animales estudiados, la zona evaluada no exhibía signos inflamatorios, ni tan siquiera de carácter reactivo. No se detectó ningún grado de fibrosis, mostrándose las estructuras anatómicas unidas por un tejido laxo que no denotaba la manipulación quirúrgica previa. En la parte central cervical, se advertía un área discretamente rígida pero no fibrótica, y que orientaba hacia la región de actuación experimental, perfectamente sanada en la totalidad de los animales.

### 3.-VALORACION MICROSCÓPICA.

En el estudio histológico realizado de la forma descrita cabe mencionar los hallazgos siguientes.

#### 1-Grupo Control.

En el estudio de las preparaciones del grupo Control, con respecto a la vía aérea se pudieron observar las capas constitutivas de esta estructura anatómica, visualizándose secciones de los cartílagos traqueales con pericondrio junto a fibras musculares, que en algunos puntos servían de nexos de unión. El cartílago, que no presentaba alteraciones destacables, se visualizaba de color claro, y los músculos de color rosáceo con algunos núcleos dispersos. El tejido cartilaginoso hialino traqueal en ocasiones se observó con calcificaciones en su interior, lo cual no debe considerarse un hallazgo patológico, presentando un pericondrio de aspecto normal (Figura 28).

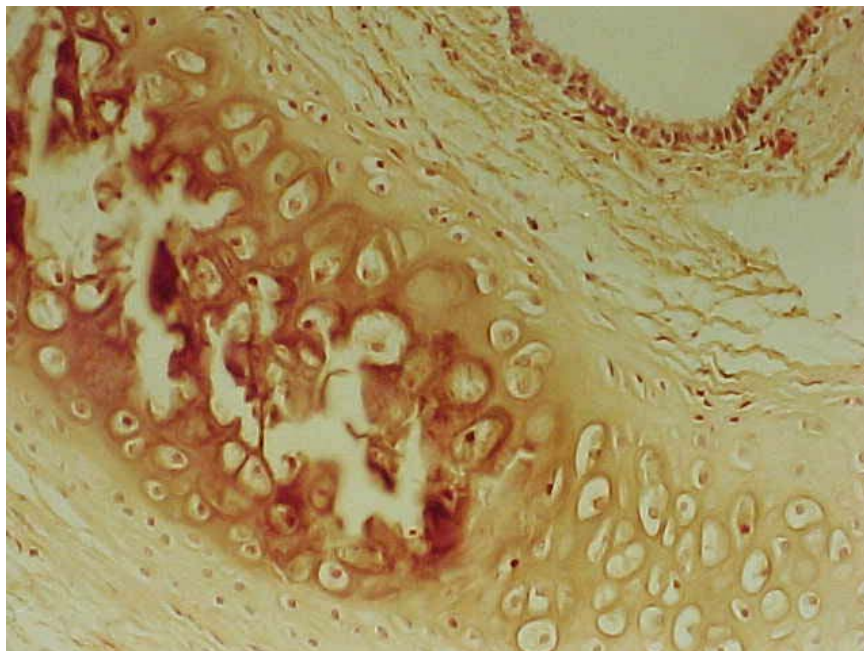


Figura 28. Preparación histológica del grupo Control mostrando cartílago (con calcificación en su interior), mucosa y pericondrio normales (Hematoxilina-Eosina (H-E) x 400).

En la periferia del cartílago se pudo detectar tejido conjuntivo, a veces laxo y en otras ocasiones de consistencia más densa, pudiéndose catalogar como levemente fibroso. Su disposición era regular y se visualizaba cierta celularidad fibroblástica. No se observaron signos inflamatorios (Figura 29).

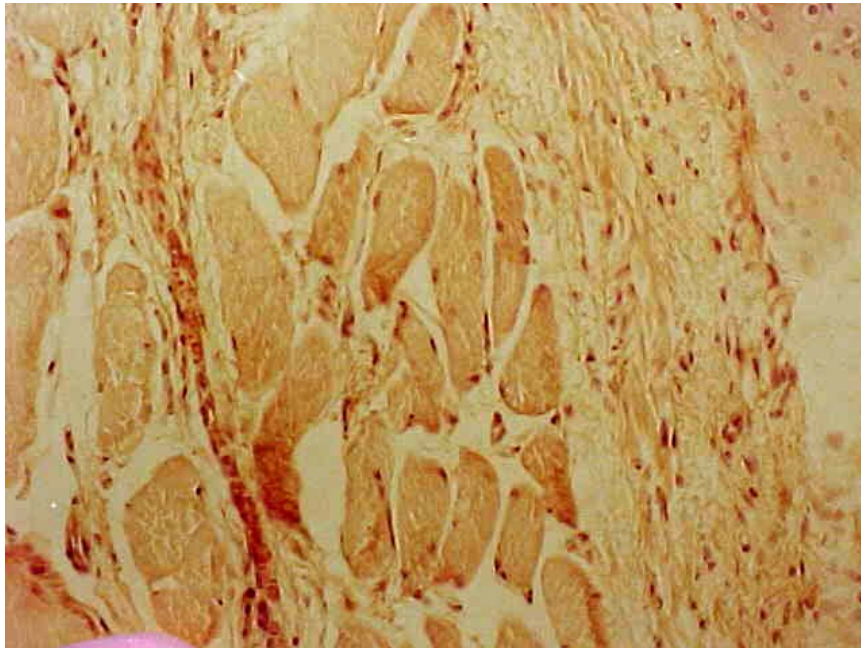


Figura 29. Preparación histológica del grupo Control mostrando cartílago, tejido fibroso con disposición regular y músculo estriado normal (H-E x 100).

En la parte más interna se observaba una cubierta mucosa, mostrando células epiteliales con núcleos dispersos. De la misma manera se descubrían células caliciformes. Las citadas células epiteliales exhibían un aspecto cúbico ocupando los núcleos casi un tercio del tamaño celular. Las células parabasales se objetivaban con un núcleo esférico. También se insinuaba la membrana basal y la lámina propia de la mucosa. Ocasionalmente se detectaban conductos glandulares. En algunos especímenes se mostraba una cierta necrosis mucosa, achacable al proceso de manipulación y fijación (Figura 30).

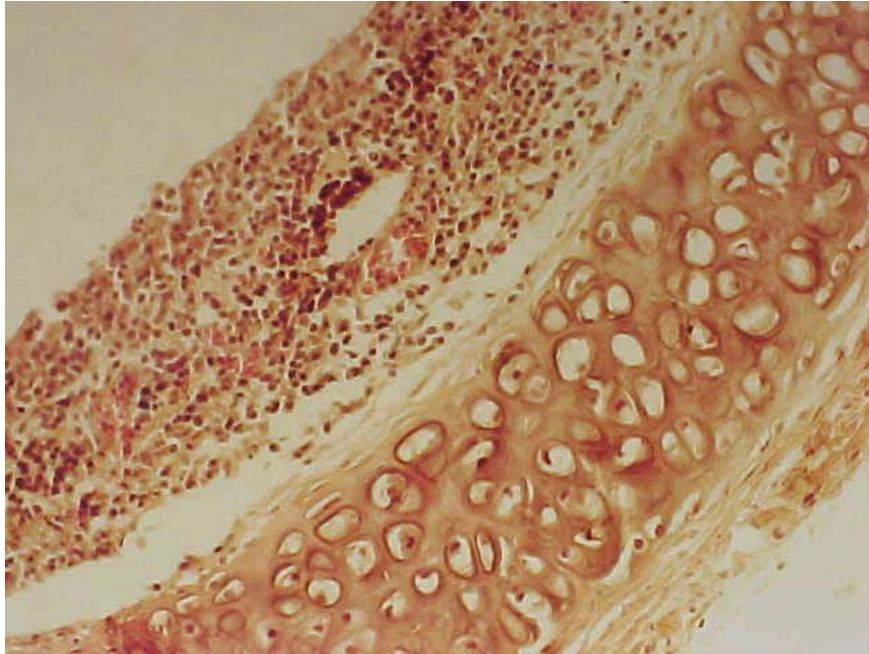


Figura 30. Preparación histológica del grupo Control mostrando cartílago y pericondrio normales, y necrosis mucosa (H-E x 400).

La submucosa se mostró gruesa, como soporte de la mucosa, siendo el lugar de localización de las glándulas traqueales (Figura 31).

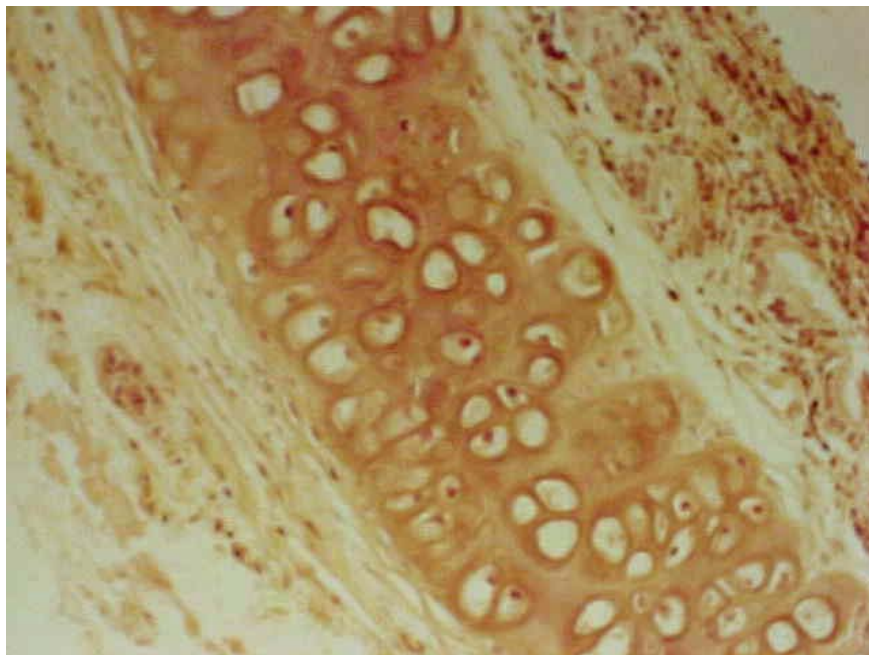


Figura 31. Preparación histológica del grupo Control mostrando estructuras glandulares normales submucosas (H-E x 400).

Con un grosor variable, en ocasiones se visualizaba tejido muscular perteneciente a la musculatura infrahioidea del animal, como se puede observar en la figura 29, detectándose en muchos casos formaciones nerviosas y vasculares de aspecto normal adheridas al bloque del material analizado. Tampoco el músculo traqueal presentaba cambios relevantes.

## 2-Grupo Testigo.

En el análisis de las preparaciones del grupo Testigo fue posible diferenciar las estructuras cartilaginosas de los anillos traqueales mostrando formas más o menos irregulares, recubiertas de una lámina de pericondrio que envolvía de manera continua el perímetro del corte del anillo (Figura 32).

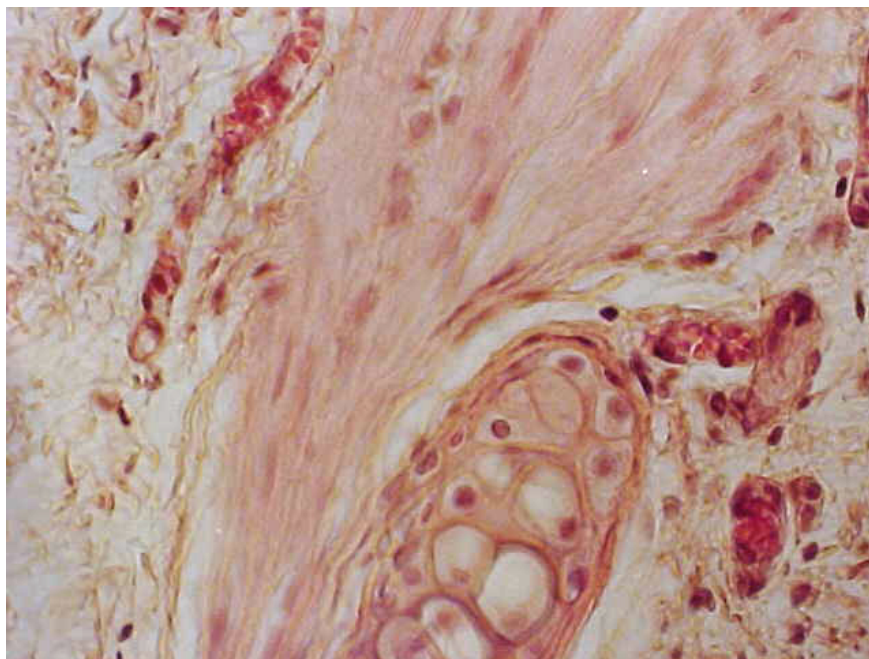


Figura 32. Preparación histológica del grupo Testigo mostrando tejido fibroso con fibroblastos, cartílago con pericondrio y estructuras vasculares (H-E x 400).

Se podían encontrar formaciones musculares más o menos uniformes claramente diferenciadas entre las estructuras cartilaginosas, no lográndose evidenciar claramente los núcleos celulares. Más

internamente se pudo reconocer la capa mucosa distribuida de forma regular con un epitelio en el que se identificaban a grandes aumentos los núcleos de las células epiteliales y caliciformes. También fue posible identificar algunas estructuras correspondientes a las glándulas traqueales con su arquitectura conservada (Figura 33).

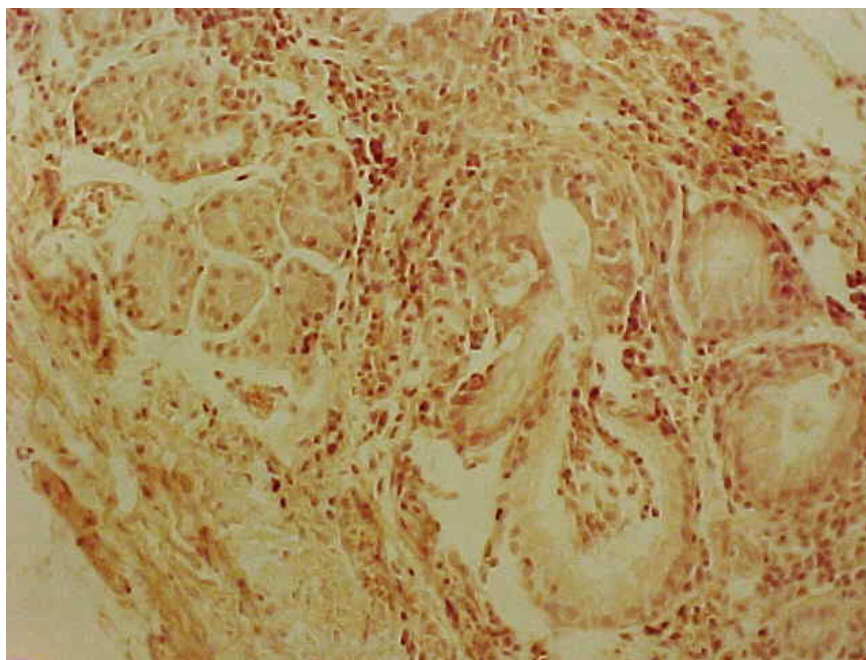


Figura 33. Preparación histológica del grupo Testigo mostrando glándulas con estructura normal (H-E x 100).

El conducto traqueal se mostró recubierto por una formación de aspecto moderadamente fibroso constituida por tejido conjuntivo uniforme que conservaba cierta celularidad, como se refleja en la figura 32. En áreas yuxtatraqueales, ocasionalmente el tejido conectivo se mostraba con una densidad mayor que en zonas más periféricas. A su vez, en este grupo de especímenes se pudo evaluar el tejido muscular peritraqueal objetivándose formaciones fibrosas laxas que incluían estructuras vasculares y nerviosas, sin ninguna característica microscópica diferenciable de la estructura histológica normal. Tampoco se objetivaron signos tisulares de flogosis (Figura 34).

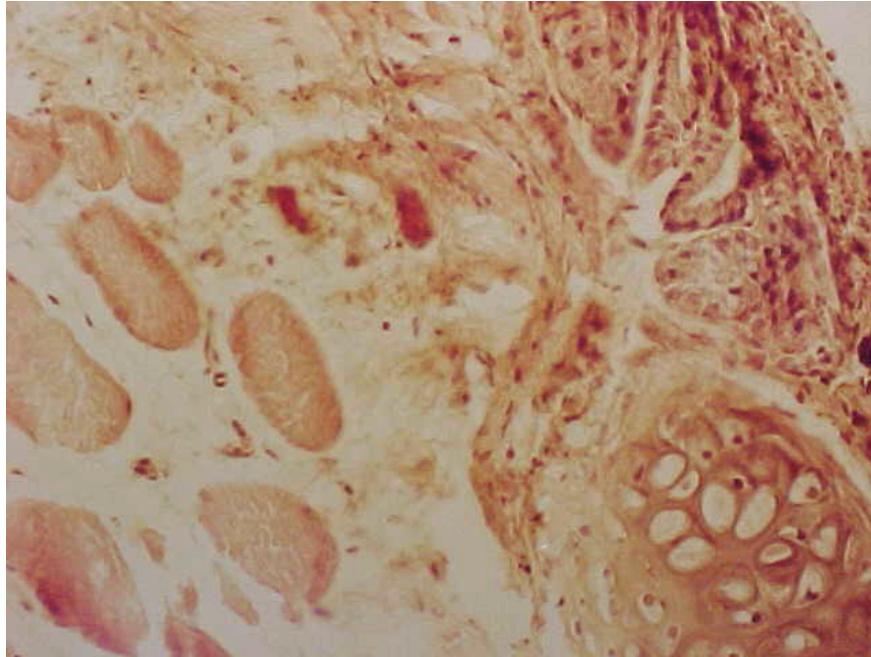


Figura 34. Preparación histológica del grupo Testigo mostrando tejido fibroso próximo al traqueostoma, estructuras glandulares submucosas y músculo de aspecto normal (H-E x 400).

### 3-Grupo Cianoacrilato.

En las preparaciones histológicas, la estructura traqueal se mostró constituida por formaciones cartilaginosas, que en los cortes longitudinales se presentaban con contornos irregulares más bien aplanados en su parte externa, y convexos en la interna. Los cartílagos se visualizaban unidos por tractos fibrosos mostrando un carácter claramente desestructurado, especialmente las zonas próximas al área en la que se había practicado el estoma traqueal. En este área se observó un proceso reconstructivo de aspecto desorganizado, con un magma fibroconectivo muy fibroso de estructuración irregular, y con evidentes signos de flogosis, visualizándose un gran número de células de varias estirpes inflamatorias. También el músculo esquelético estriado próximo se encontraba desestructurado (Figura 35).

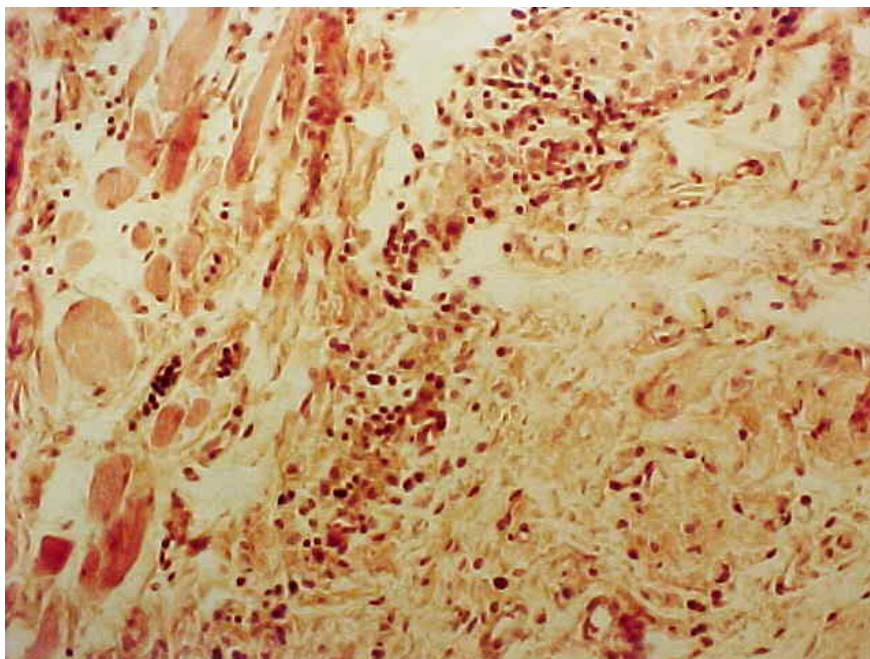


Figura 35. Preparación histológica del grupo Cianoacrilato mostrando tejido fibroso denso arremolinado, inflamación linfocitaria e histiocitaria y músculo estriado de aspecto desestructurado (H-E x 100).

En el tejido conectivo se objetivaban fibras elásticas, pero en una proporción disminuida en relación con las fibras colágenas, que eran claramente predominantes. Estas fibras colágenas presentaban en la mayoría de las ocasiones, y muy especialmente en el área donde se practicó el orificio traqueal, una disposición anárquica. En la región exterior de la tráquea el tejido conectivo se mostraba más laxo en las zonas alejadas del orificio practicado, y muy denso y con disposición irregular en las inmediaciones del estoma, que en ningún caso se evidenció cubierto por tejido reparador.

Las fibras musculares lisas que forman parte de la estructura traqueal ofrecían una imagen de organización celular, aunque con discretos componentes inflamatorios en algunas zonas, conservando su estructura y su regularidad en la disposición de sus elementos constituyentes. La orientación de las fibrillas de las células musculares era horizontal en relación al eje traqueal. Los capilares sanguíneos se



mostraban muy alterados, no pudiéndose detectar con precisión ni los vasos linfáticos ni tampoco las formaciones nerviosas.

Se podían apreciar formaciones glandulares desestructuradas en el interior del tejido conectivo, con serias alteraciones morfológicas respecto a su estructura normal, siendo de tal magnitud que ocasionalmente impedían valorar con claridad el perfil constitutivo de las glándulas traqueales. Esporádicamente se mostraban como estructuras dilatadas, casi quísticas, con material mucinoso en su interior, rodeadas por un magma inflamatorio de aspecto más crónico (Figura 36).

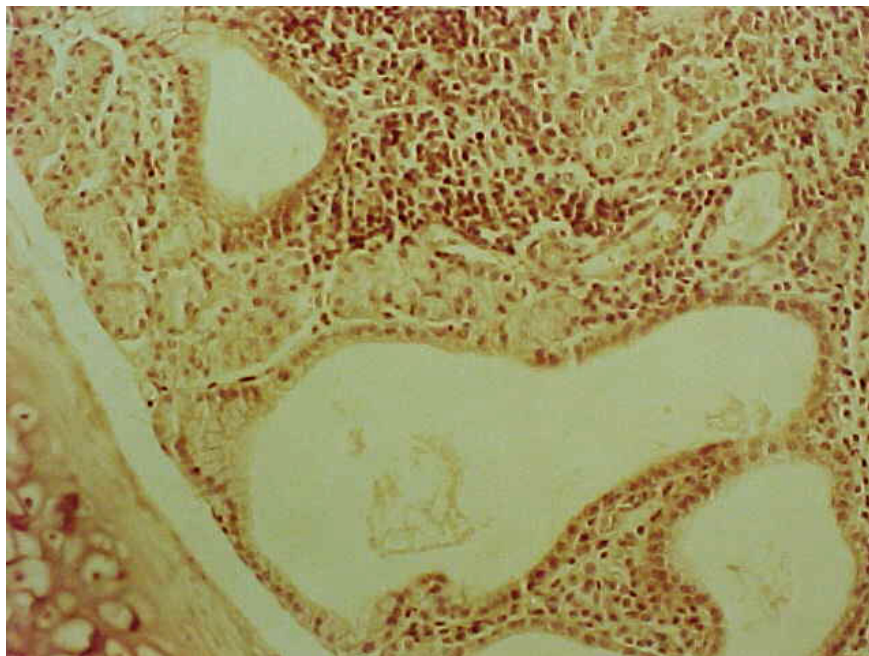


Figura 36. Preparación histológica del grupo Cianoacrilato mostrando estructuras glandulares quísticas con contenido mucinoso y reacción inflamatoria (H-E x 400).

En la lámina propia de la cubierta mucosa interna de la tráquea se observaban numerosas fenestraciones, desapareciendo en las zonas cercanas al traqueostoma. La citada membrana se mostró en todo momento muy alterada, constituida por fibras elásticas dispersas alrededor de acúmulos linfoides también poco definidos, en el seno de

una inflamación de características mononucleares linfohistiocitarias (Figura 37).

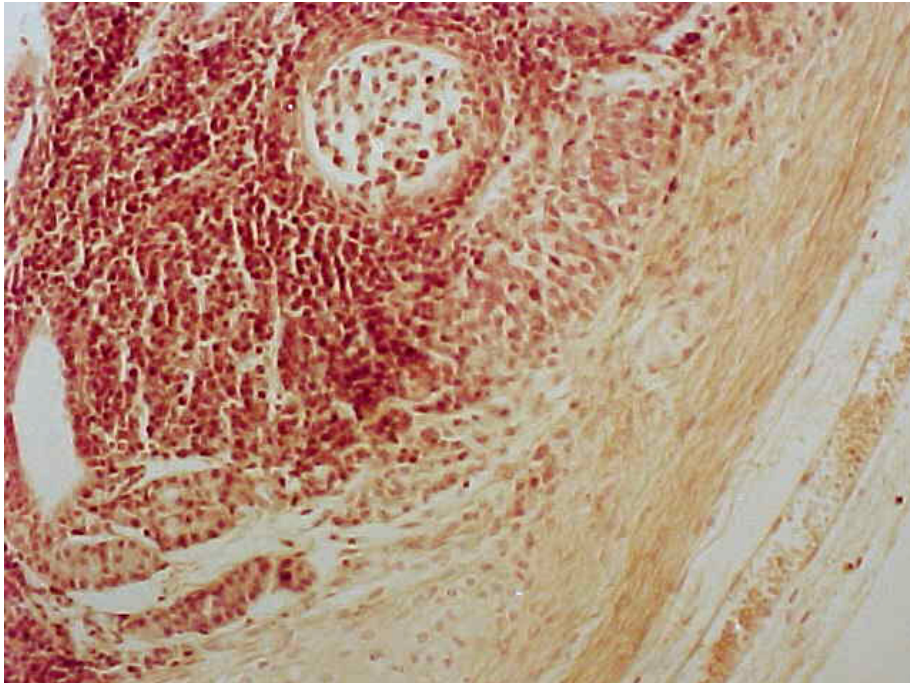


Figura 37. Preparación histológica del grupo Cianoacrilato mostrando acúmulos linfoides, inflamación linfohistiocitaria y cartílago desestructurado (H-E x 400).

La mucosa se presentaba muy irregular en la zona de la perforación traqueal, en ocasiones prolongándose como lengüetas con orientación al centro del orificio, con tendencia a obturar el mismo, aunque sin llegar a completar el cierre del estoma en ningún caso.

En las zonas alejadas del estoma, la disposición celular de la mucosa ha sido la típica, con la presencia de un epitelio pseudoestratificado, ciliado o cilíndrico, con células caliciformes soportadas por una lámina basal de grueso espesor. En este grupo y muy especialmente en la zona del traumatismo quirúrgico y por tanto de aplicación del sellante, no se pudieron diferenciar los diferentes tipos celulares de la mucosa, no manifestándose la presencia de células cilíndricas ciliadas, ni tampoco las cilíndricas de borde estriado. Sólo las

células caliciformes se insinuaban, apreciándose cierto contenido mucoide en su interior, aunque aparecieron con contornos imprecisos y muy mal definidas. Sin embargo la presencia de linfocitos y macrófagos fue abundante en la zona.

#### 4-Grupo Fibrina.

La valoración de los cortes histológicos en este conjunto de animales al cual se le practicó un traqueostoma y se selló el orificio resultante con cola de fibrina, evidenció imágenes en parte semejantes a las ofertadas por el resto de grupos experimentales. A nivel de la estructura cartilaginosa, también pudo evidenciarse la sección de los anillos sin que se iniciara ningún proceso regenerativo relevante. Los cartílagos traqueales, que mostraban cierta irregularidad, podían visualizarse unidos por tractos fibrosos. Se halló tejido moderadamente fibroso desorganizado y poco estructurado, con gran predominio de fibras colágenas y muy escasas elásticas. Ocasionalmente este tejido fibroso se evidenciaba formando remolinos, con disposición de las fibras de manera bastante anárquica, y sin distribución paralela de las mismas. En el seno de este tejido conjuntivo fibroso se descubrían algunas células inflamatorias de distinta índole, especialmente en las zonas de menor densidad y de perfil más laxo.

En la parte más interna se pudo objetivar una capa mucosa constituida de forma uniforme por las estructuras características y habituales, en especial en lo concerniente a la presencia de formaciones glandulares. En ocasiones, estas glándulas se presentaban desestructuradas, dilatadas, con contenido mucinoso en su interior (Figura 38).

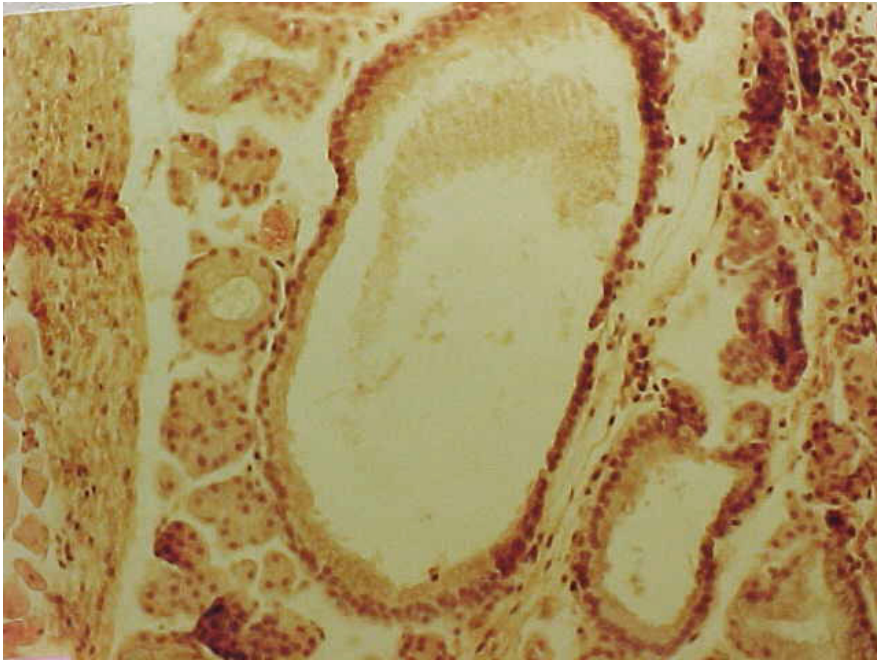


Figura 38. Preparación histológica del grupo Fibrina mostrando glándulas dilatadas, tejido fibroso y células inflamatorias (H-E x 400).

En la mucosa traqueal de algún espécimen se observaron pequeños focos de epitelio escamoso próximos al traqueostoma y cercanos a zonas de tejido fibrótico con presencia de celularidad inflamatoria. La irritación continua del epitelio respiratorio ocasiona inicialmente hipertrofia de las células mucosas, y de proseguir causa metaplasia escamosa (Figura 39).

La lámina muscular no mostraba alteraciones ostensibles, guardando las fibras musculares una disposición homogénea donde resaltaban los núcleos de color oscuro. A su vez, los vasos y filetes nerviosos no denotaban cambios patológicos, salvo alguna variación ocasional de tipo congestivo como queda reflejado en la figura 39.

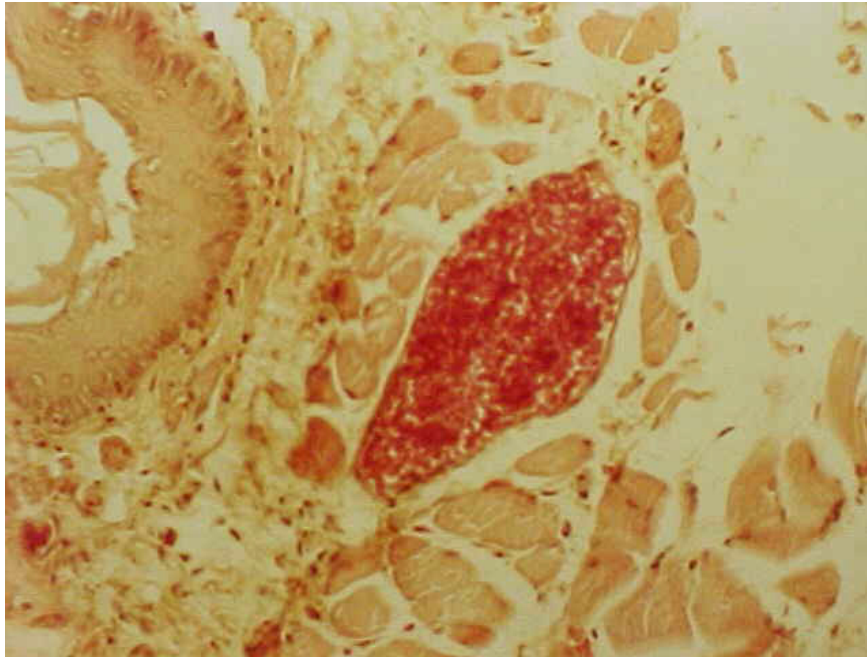


Figura 39. Preparación histológica del grupo Fibrina mostrando un foco de epitelio escamoso y congestión vascular (H-E x 100).

#### 5-Grupo Albúmina-glutaraldehido.

En este grupo también se podían evidenciar los anillos traqueales cortados en secciones más o menos limpias y nítidas a nivel de los traqueostomas presentando cierta irregularidad. Ocasionalmente se demostraban calcificaciones en los cartílagos hialinos traqueales, lo que como vimos, no puede considerarse patológico ya que se observa a veces en especímenes sanos. El componente estructural moderadamente fibroso que sirve de nexo entre los anillos se mostró bastante organizado, discretamente engrosado y desestructurado, con una cierta disposición anárquica, con claro predominio de las fibras colágenas y marcada ausencia de las elásticas. Se observaban ocasionalmente tractos fibrosos haciendo protrusión en la luz de la tráquea a nivel del traqueostoma. En la zona de la sección traqueal el componente flogótico se manifestaba más acusado, con presencia de células de carácter inflamatorio como polimorfonucleares, macrófagos y algún linfocito aislado. Llamaba la atención la presencia de un exceso de eosinófilos en este grupo. Los tractos fibrosos en ocasiones se disponían formando remolinos de tejido

conjuntivo en formaciones concéntricas con núcleos más densos. También se observaban esporádicamente formaciones glandulares dilatadas (Figura 40).

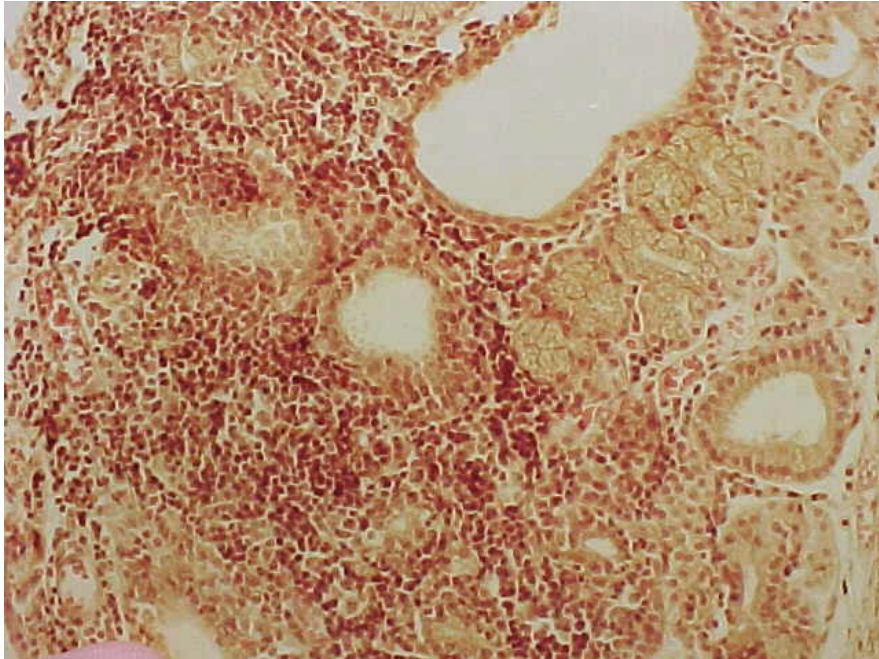


Figura 40. Preparación histológica del grupo Albúmina-glutaraldehído mostrando glándulas, algunas dilatadas, e intensa inflamación con abundantes eosinófilos (H-E x 100).

La lámina muscular no se mostraba alterada, y su estructura y disposición celular y fibrilar no evidenciaban ningún cambio relevante. Las estructuras vasculares tampoco mostraban alteraciones destacables.

A nivel de la mucosa, en los límites de la sección traqueal, se objetivaba una moderada reacción inflamatoria, sin llegar a ocluir en ningún caso los estomas traqueales practicados (Figura 41).

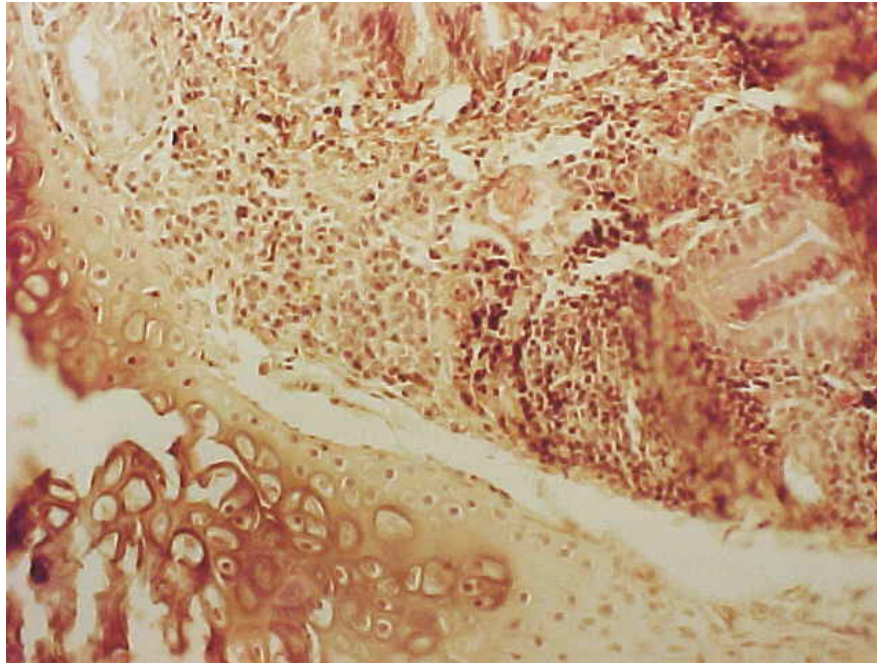


Figura 41. Preparación del grupo Albúmina-glutaraldehído mostrando calcificación del cartílago, glándulas e inflamación (H-E x 100).

#### 6-Grupo Polietilenglicol.

Destacaban los anillos de cartílago traqueal, con cortes limpios a nivel del estoma, apreciando sus límites y su estructura cartilaginosa más o menos homogénea, exhibiendo tractos levemente fibrosos a su alrededor. Entre los cortes circulares de los anillos traqueales se disponían láminas de tejido conjuntivo organizado constituido fundamentalmente por fibras colágenas y fibras elásticas, con una estructura homogénea. Ocasionalmente se encontraban núcleos de tejido conjuntivo más o menos desorganizados alrededor del tejido cartilaginoso, aunque en escasa densidad en la zona de corte del estoma. La celularidad se mostró escasa y no se evidenciaba la presencia de células inflamatorias ni otros signos flogóticos destacables (Figura 42).

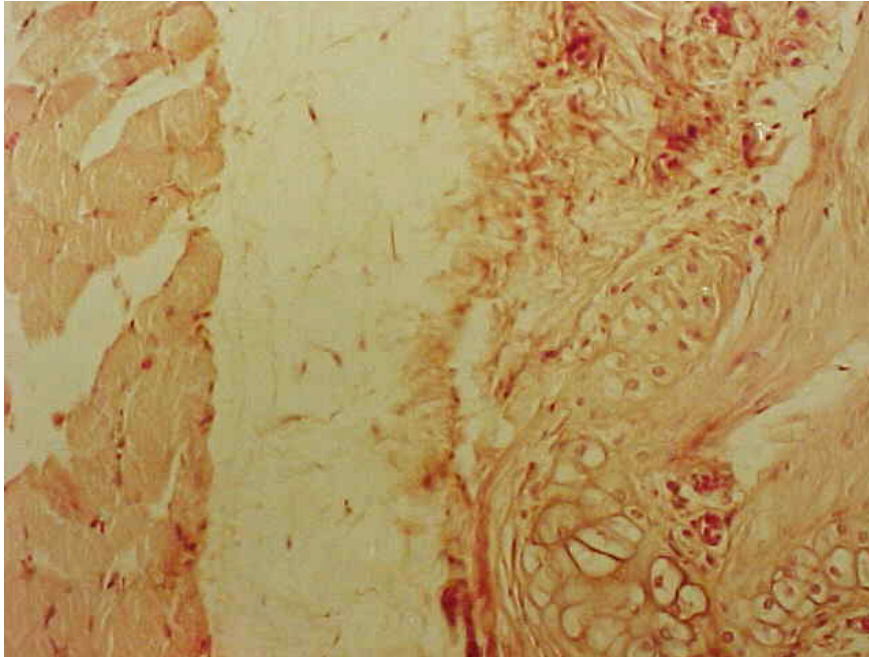


Figura 42. Preparación histológica del grupo Polietilenglicol mostrando tejido fibroso estructurado, con formaciones vasculares y cartílago de aspecto normal (H-E x 100).

La lámina muscular también se visualizaba con las características habituales del músculo liso, claramente diferenciables por tanto de las propiedades que mostraban las secciones de músculo esquelético estriado infrahioideo, extraído en bloque junto con el resto de tejidos al obtener la pieza traqueal.

La mucosa presentaba las peculiaridades propias de la localización traqueal, con la presencia de las estirpes celulares epiteliales acostumbradas, alguna de ellas con sus extremos luminales ciliados.

Por otro lado, se evidenciaban formaciones glandulares que mostraban un aspecto netamente normal, conteniendo en ocasiones moco en su interior (Figura 43).



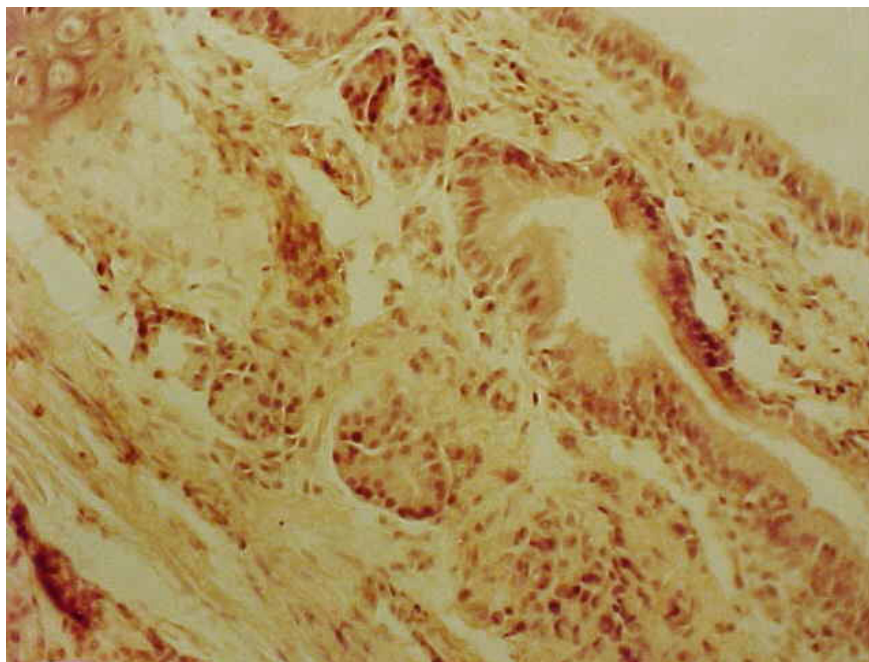


Figura 43. Preparación histológica del grupo Polietilenglicol mostrando la mucosa traqueal con formaciones glandulares normales (H-E x 100).

Por regla general, la desestructuración de la zona de aplicación del sellante a nivel del estoma traqueal fue menos marcada que en los grupos experimentales tratados con adhesivos, descritos previamente. A su vez, podemos decir que la intensidad de los procesos inflamatorios también fue menor en este conjunto de especímenes que en el resto. Ocasionalmente, a nivel de la zona correspondiente al estoma, se evidenciaba la presencia de una lámina fina de tejido fibroso laxo que ocluía el foramen, y al que a veces acompañaban láminas de mucosa, con discreto estroma, pero sin la presencia de formaciones glandulares; todas estas estructuras tisulares contribuían al cierre de la apertura en la luz traqueal anterior.

En este grupo el desarrollo de los capilares y otras neoformaciones vasculares tampoco fue especialmente intensa.

En la Tabla VIII se puede observar un resumen de los hallazgos histológicos visualizados en cada uno de los grupos experimentales.

	CARTÍLAGO	TEJIDO CONJUNTIVO	INFLAMACIÓN	MUCOSA	GLÁNDULAS
<b>GRUPO CONTROL</b>	Sin alteraciones.	Levemente fibroso. Disposición regular.	Ausente.	Sin alteraciones.	Sin alteraciones.
<b>GRUPO TESTIGO</b>	Morfología irregular.	Moderadamente fibroso. Disposición regular.	Ausente.	Sin alteraciones.	Sin alteraciones.
<b>GRUPO CIANOACRILATO</b>	Morfología irregular.	Muy fibroso. Disposición muy irregular. ↑↑ f. colágenas. ↓↓ f. elásticas.	Intensa. Linfocitos y macrófagos.	Irregular.	Glándulas desestructuradas y dilatadas.
<b>GRUPO FIBRINA</b>	Morfología irregular.	Moderadamente fibroso. Disposición irregular. ↑ f. colágenas. ↓ f. elásticas.	Moderada.	Focos esporádicos de epitelio escamoso.	Glándulas ocasionalmente dilatadas.
<b>GRUPO ALBÚMINA-GLUTARALDEHIDO</b>	Morfología irregular.	Moderadamente fibroso. Disposición irregular. ↑ f. colágenas. ↓ f. elásticas.	Intensa. Eosinófilos.	Inflamación leve.	Glándulas ocasionalmente dilatadas.
<b>GRUPO POLIETILENGLICOL</b>	Sin alteraciones.	Levemente fibroso. Disposición regular.	Ausente.	Sin alteraciones.	Sin alteraciones.

Tabla VIII. Hallazgos histológicos más relevantes en cada uno de los grupos de estudio.

## **VI. DISCUSIÓN.**



## **1.-ELECCIÓN DEL MODELO EXPERIMENTAL.**

La elección y planteamiento del modelo experimental se basa en los siguientes puntos: el animal de experimentación, el diseño de la intervención quirúrgica y la elección de las sustancias sellantes y grupos de experimentación.

### **1.1.-LA RATA WISTAR.**

En las publicaciones experimentales acerca de procedimientos sobre el árbol traqueobronquial se encuentran en la literatura referencias de experiencias practicadas en varias especies. Existen trabajos realizados en animales de mediano y gran tamaño, como son el perro, el cerdo y la oveja, y en pequeños animales, como la rata y el conejo.

Así, se encuentran estudios en diversas razas de canes – de mestizos a Beagle- en varios campos, a saber:

- Procedimientos de reconstrucción traqueal empleando materiales prostéticos.<sup>50-52,56,57,59,76</sup>
- Reconstrucción con biomateriales.<sup>67,71,72,77,82,87-90,97,104</sup>
- Trasplante traqueal.<sup>106,107,109,113,120</sup>
- Valoración de suturas y cicatrización traqueal.<sup>1,28,49,55</sup>
- Experimentos con sellantes, especialmente derivados de la fibrina.<sup>152,158</sup>
- En los trabajos en los que el objetivo era la observación de la respuesta traqueal a las suturas y autoinjertos durante el crecimiento, obviamente se emplearon cachorros.<sup>195-197</sup>

También los suidos, tanto adultos como lechones, han sido utilizados con estos propósitos, aunque menos profusamente:

- Reparación traqueal empleando materiales prostéticos.<sup>61</sup>

- Reconstrucción con biomateriales.<sup>65,73</sup>
- Trasplante traqueal.<sup>114,115</sup>
- Estudios de suturas y cicatrización traqueal.<sup>198</sup>
- Experiencias con sellantes.<sup>137,153,159,177,199</sup>

En cuanto a la oveja, los trabajos son menos abundantes:

- Evaluación de la respuesta de las anastomosis traqueales a la tensión y a diferentes suturas.<sup>163,200-202</sup>
- Experimentos con sellantes, especialmente derivados de albúmina-glutaraldehído.<sup>161,163</sup>

En lo referente al conejo, ha sido utilizado de manera pródiga en estudios relativos a cirugía traqueal:

- Reconstrucción con materiales protésicos.<sup>48,58,60</sup>
- Reparación traqueal empleando biomateriales.<sup>69,78-80,96</sup>
- Experiencias con sustancias adhesivas.<sup>122,144,154-156,168</sup>

Sin embargo es la rata, especialmente la raza Wistar albina, uno de los especímenes animales más empleados junto con el perro:

- Valoración de anastomosis y suturas.<sup>68,70,203-205</sup>
- Trasplante traqueal.<sup>110,206-208</sup>
- Experimentos con materiales sellantes.<sup>140,142,156</sup>

Teniendo en cuenta la apreciable cantidad de bibliografía existente, y que la rata Wistar es un animal de laboratorio de sencillo manejo, bajo coste, y que su empleo se encuentra estandarizado, creímos oportuno su uso como espécimen en nuestro caso.<sup>169</sup>

A esto hay que añadir su buena tolerancia anestésica y quirúrgica, que su eje laringo-traqueal es tan accesible como en el humano, y que sus características histológicas constitutivas difieren poco de nuestra especie.<sup>189,203,204</sup>

## **1.2.-EL MODELO QUIRÚRGICO.**

La elección del modelo operatorio utilizado se basa sobre todo en su sencillez y reproductibilidad, resultando además novedoso en la evaluación del efecto de sustancias sellantes sobre el árbol traqueobronquial. La mayor dificultad estribaba en la aplicación de la cantidad justa de adhesivo; no fue necesario idear ningún dispositivo especial, ya que los que aportaba el fabricante para la administración en la clínica humana permitían su uso con la requerida precisión.

Así mismo, la traqueotomía en pequeños animales de experimentación es un procedimiento totalmente estandarizado, y no es complicado de realizar.<sup>190,191,209</sup>

Por otra parte, una lesión limitada de la vía aérea a ese nivel, teóricamente permitiría la supervivencia del animal, si las maniobras de obturación con adhesivos fuesen ineficaces -cosa que no conocíamos a priori- o si no se realizasen, como en el grupo Testigo.

Además, la aplicación de las sustancias sellantes en el propio traqueostoma y en su vecindad permite observar y describir los hallazgos histopatológicos de todas las capas constitutivas de la tráquea y también de su periferia.

Como vimos, los animales se sacrificaron a las ocho semanas de la intervención. En la literatura se recogen variados lapsos temporales para el sacrificio de los especímenes en función de lo que se pretenda analizar. Así las cosas, existen experiencias en las cuales el fallecimiento de las ratas se programa a las dos<sup>110</sup>, tres<sup>140,156,205,208</sup>, cuatro<sup>70,204</sup>, cinco<sup>207</sup>, ocho<sup>206</sup>, diez<sup>65</sup>, e incluso veinticuatro<sup>210</sup> y veintiséis<sup>68</sup> semanas de practicadas las operaciones.

En este estudio elegimos un periodo de tiempo medio para obviar las interferencias iniciales causadas por la lesión quirúrgica y la respuesta aguda a los sellantes. También creímos que de realizar el análisis más tardíamente, las manifestaciones histopatológicas por la influencia de las distintas sustancias adhesivas no serían bien diferenciables entre sí.

### **1.3.-SUSTANCIAS SELLANTES Y GRUPOS DE ESTUDIO.**

Los dos grupos en los cuales no se emplearon adhesivos, dígame Control y Testigo, fueron ideados para poder observar los procesos reparativos peritraqueales y cervicales con la vía aérea indemne en el primero, y además a nivel traqueal en el segundo; en ambos casos sin interferencia de la reacción a materiales extraños al organismo murino.

La justificación de la elección de los cuatro sellantes utilizados en los grupos Cianoacrilato, Fibrina, Albúmina-glutaraldehido y Polietilenglicol radica en que son de los más comúnmente empleados en cirugía torácica, lo que permite una mayor facilidad en el acceso a las citadas sustancias y en la extrapolación de las observaciones. Las referencias clínicas más relevantes son las siguientes:

- Derivados de los cianoacrilatos (Dermabond®).<sup>141</sup>
- Derivados de la fibrina (Tissucol®).<sup>151,157,159,160,178-180</sup>
- Derivados de la albúmina-glutaraldehido (Bioglue®).<sup>164-166</sup>
- Derivados del polietilenglicol (Coseal®).<sup>185</sup>

Por otra parte, a pesar de que las referencias experimentales acerca del uso de sellantes en el árbol traqueobronquial son más bien escasas, estos cuatro suman la mayor parte de los estudios.

Además, otra razón estriba en que su conservación, manejo y aplicación son relativamente sencillos.



## **2.-EVALUACIÓN DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO.**

### **2.1.-EVALUACIÓN DEL GRUPO CONTROL.**

Los hallazgos en este grupo nos permiten evaluar la lesión producida de manera exclusiva por el traumatismo quirúrgico sin interferencia de las sustancias sellantes en los tejidos peritraqueales, obviando también la alteración de las estructuras constitutivas del espesor traqueal.

Desde un punto de vista clínico, estos especímenes son los que menos alteraciones presentaron, obviamente al ser la lesión de menor entidad. Como vimos, no hubo mortalidad intraoperatoria ni postoperatoria, ni complicaciones inmediatas o postquirúrgicas, sanando todos los animales.

En la valoración macroscópica no se encontraron hallazgos patológicos en el momento de su sacrificio, observándose una neta delimitación de los tejidos con un mínimo aumento de su consistencia.

En cuanto a los aspectos microscópicos, en algún animal se observó la presencia de calcificaciones en los cartílagos traqueales. Este hecho no tiene relación con el traumatismo quirúrgico, ya que no se produjo lesión cartilaginosa en ningún caso. Por otra parte estos depósitos cálcicos se han descrito con relativa frecuencia en animales adultos. Esta calcificación del cartílago traqueal murino se observa durante el desarrollo. En los estudios de Sasano se describe la disminución de la actividad de las fosfatasas alcalinas en el cartílago traqueal durante el transcurso de la calcificación, con alteración progresiva de la matriz extracelular y depósito de calcio.<sup>211</sup>

No se mostraron alteraciones a nivel pericóndrico ni mucoso, con la salvedad de áreas aisladas de necrosis mucosa, achacables a la manipulación, fijación, tinción y procesado de las piezas.

En la tráquea murina se describen dos redes vasculares, una mucosa y otra peritraqueal, ambas con capilaridad fenestrada. La observación de los vasos a ese nivel en nuestros especímenes es concordante con las descripciones anatómicas normales. Esto es acorde con los hallazgos reflejados ya desde los años sesenta por Sobin, en los que se describen espacios microvasculares confluentes en la tráquea del conejo, perro, cerdo de Guinea y rata, con un plexo capilar subepitelial de flujo intermedio en los múridos y suidos, mayor en canes y menor en conejos.<sup>27</sup>

Los tejidos peritraqueales musculares mostraban hallazgos compatibles con la normalidad, excepción hecha de un cierto grado de fibrosis, con disposición regular de sus fibras. El máximo de la síntesis de colágeno se alcanza a las tres semanas en el proceso de la reparación de las heridas; a partir de ese momento predominan los fenómenos de remodelación, y el tejido conectivo madura en la disposición de sus fibras según las exigencias mecánicas de la herida. Estos hechos son consistentes con nuestros hallazgos; en nuestro caso las fibras mostraban una disposición ordenada, probablemente consecuencia de la levedad del traumatismo y del tiempo transcurrido hasta el sacrificio. Esto concuerda con los trabajos de Abenia Ingalaturre en rata Wistar, donde se describe que en un grupo control (formado por animales que sufren una moderada agresión quirúrgica) a los que se autotrasplanta un fragmento traqueal, se visualiza escasa alteración de los tejidos peritraqueales. Una parte importante de los animales se sacrificaron a los sesenta días lo cual presenta la utilidad adicional de ser este lapso temporal casi coincidente con nuestro estudio. No se observó tampoco la presencia de complicaciones a largo plazo como la formación de abscesos

peritraqueales y la inflamación fue mínima, con escasa presencia de linfocitos y células plasmáticas. El grado de fibrosis fue máximo a los quince días para ir disminuyendo progresivamente hasta hacerse leve a los dos meses.<sup>206</sup>

## **2.2.-EVALUACIÓN DEL GRUPO TESTIGO.**

Los hallazgos en este conjunto de animales nos permiten valorar la lesión que se produce sobre las estructuras traqueales exclusivamente por el traumatismo de practicar el traqueostoma, sin adición de la reacción tisular a una sustancia extraña como son los sellantes, lo que nos aporta una base para poder comparar mejor entre los distintos grupos de animales tratados con adhesivos.

De manera general podemos decir que observamos una fibrosis algo más intensa, sobre todo en los márgenes peritraqueales y a nivel del traqueostoma en este grupo que en el Control, lo cual se explica obviamente por que el traumatismo practicado también fue de mayor magnitud.

Desde un punto de vista clínico, al cerrar los tejidos peritraqueales sobre el traqueostoma de 2 mm. de diámetro, en todos los animales se observó cierto estridor y enfisema subcutáneo por fuga de aire peritraqueal. Puede sorprender que no falleciese ningún animal de manera inmediata ni se observasen complicaciones de abscesificación (uno murió a los tres días por insuficiencia respiratoria progresiva) al dejar la vía aérea abierta a partes blandas cervicales. Sin embargo, esto se observa también en otros trabajos. Así, en los experimentos de Daniel, en uno de los grupos de perros mestizos, se practica una ventana rectangular de 8mm y se cubre esta únicamente con tejidos blandos peritraqueales. Tampoco observaron ningún fallecimiento, siendo sacrificados entre dos y seis semanas, probablemente debido a la

tendencia a la adhesión tisular al defecto traqueal y a la formación de tejido de granulación a ese nivel obturando el traqueostoma. En su seno se objetivaban nuevos condrocitos a partir de la diferenciación fibroblástica.<sup>55</sup>

La formación de tejido de granulación en lesiones traqueales cubiertas por partes blandas también se constata en la clínica humana. Así, en el cierre quirúrgico de un estoma traqueal persistente no deben ubicarse flaps de músculo sobre el mismo, por la frecuencia de formación de excrecencias granulomatosas que pueden protruir en la luz traqueal y estenosarla.<sup>212</sup>

En nuestro caso no se detectaba tejido de granulación a nivel del traqueostoma, ni tampoco cartílago neoformado, sino tejido conectivo maduro obturando la lesión en la tráquea. Esta formación tisular hacía estanca la vía aérea, y no se visualizó estenosis de la misma en ningún espécimen. Esto puede ser debido al mayor tiempo de evolución de los mecanismos reparativos en nuestros animales, que además cuentan con un metabolismo más rápido que el de los canes. Tampoco se revelaba a ese nivel cobertura epitelial, a diferencia de lo reflejado en el trabajo arriba citado donde sí se descubría regeneración epitelial aunque incompleta.

El epitelio traqueal, las glándulas mucosas y la membrana basal no presentaban alteraciones. Sin embargo en el ser humano traqueotomizado sí que se describen una pléyade de alteraciones mucosas y submucosas como ulceraciones traqueales y carinales, sobreinfección bacteriana o micótica y destrucción de la membrana basal; en este caso, como dato diferenciador hemos de tener en cuenta que la vía aérea está permanentemente abierta al aire ambiente, sin la protección de la vía superior y que es frecuente una cierta alteración deglutoria con frecuentes microaspiraciones. En humanos se observa metaplasia a epitelio plano pseudoqueratinizado y cúbico bajo, hecho que

se ve favorecido por la deficiencia en vitamina A. Este epitelio escamoso constituye la primera evidencia reparativa, originándose en la zona basal de los márgenes de las áreas denudadas o desde los conductos de las glándulas seromucosas. Después se descama y se sustituye por epitelio pseudoestratificado normal por diferenciación de las células basales.<sup>213</sup>

También pudimos observar en este grupo que el epitelio no se había regenerado a nivel de la lesión traqueal sobre el tejido cicatricial. En los experimentos de Moussa, en los que se cubren lesiones en la cara anterior de la tráquea con una membrana de Zenoderm (dermis porcina tratada con enzimas pancreáticas hasta obtener una membrana colágena, fijada más tarde con glutaraldehído, liofilizada y esterilizada con rayos gamma) en ratas Sprague-Dawley, se observa regeneración epitelial a partir del día decimocuarto; primero aparece epitelio de tipo plano y después cúbico no ciliado, con escasez de células caliciformes. Se determinó que la maduración del epitelio traqueal murino es lenta.<sup>68</sup>

Este período de dos semanas para el inicio de la regeneración del epitelio respiratorio también se describe en otros trabajos con otras especies animales, como los de Kubota, trabajando con cachorros de perro.<sup>197</sup>

Sin embargo, otros autores describen escasa regeneración epitelial, lo cual es consistente con nuestros hallazgos. Así Dal, trabajando también con ratas Sprague-Dawley, a las que se practica la resección de un parche de pared anterior traqueal y cobertura con un fragmento suturado de cartílago humano deshidratado y rehidratado, describe una regeneración epitelial inadecuada o ausente, y signos flogóticos como infiltración leucocitaria y crecimiento bacteriano. Empero en nuestro caso esta inflamación e infección no pudo demostrarse.<sup>70</sup>

Esto mismo sucede en otras especies como el conejo; así, Björkerud, analizando el daño experimental en la pared traqueal de estos animales describe áreas focales de necrosis y regeneración epitelial incompleta a las cuatro semanas.<sup>121</sup>

### **2.3.-EVALUACIÓN DEL GRUPO CIANOACRILATO.**

Los descubrimientos en este conjunto de especímenes nos permiten, teniendo en cuenta lo reflejado en los grupos Control y Testigo, valorar el efecto del sellante sobre las capas constitutivas traqueales así como en los tejidos aledaños.

Pudimos objetivar una cierta facilidad para la formación de moldes de sellante intratraqueales, lo cual ocasionó varios cuadros asfícticos en los animales, a pesar de una cuidadosa aplicación de la cantidad mínima necesaria para intentar obturar el traqueostoma. La viscosidad de los cianoacrilatos es discretamente superior a la del agua. La viscosidad de esta varía con la temperatura, siendo de 1,002 mPa·s o centiPoises (cP) a 20 °C. La de los cianoacrilatos supone de 2 a 4 cP, aunque en el caso del Dermabond<sup>®</sup> el fabricante ha logrado incrementarla a fin de facilitar su manejo. Por otra parte, a mayor longitud del grupo alkilo de la molécula, mayor es también el tiempo de polimerización; así, en el caso del octil-cianoacrilato se observa un periodo mayor que en los sellantes precedentes de este grupo, lo que favorece su manipulación y aplicación, aunque en nuestro caso también la aspiración por el traqueostoma y la formación de los citados moldes.

En el periodo postoperatorio se produjo el fallecimiento de uno de los animales tratados por un cuadro de obstrucción de la vía aérea. Sin embargo no se observó hallazgo alguno en relación con una eventual toxicidad del producto. Este efecto, según refiere Trott, puede considerarse despreciable en la administración cutánea.<sup>126</sup>

Sin embargo, esta aseveración puede ser inexacta cuando se emplea el adhesivo en el interior del organismo como es el caso. Es sabido que la histotoxicidad y citotoxicidad de estas sustancias es mayor a medida que la cadena alkilo lateral es más corta, ya que su degradación es más rápida y el aclaramiento tisular de sus productos tóxicos (sobre todo cianoacetato y formaldehído) puede verse saturada. Estas moléculas indirectamente alteran el metabolismo del ácido araquidónico e incrementan la producción de TXA<sub>2</sub> y leucotrienos, que conlleva agregación plaquetaria y los subsiguientes fenómenos de trombosis, isquemia y necrosis, como describe Papatheofanis. Nosotros no hemos podido determinar ningún hallazgo en relación con esos hechos, lo que debe interpretarse teniendo en cuenta la lenta degradación y baja toxicidad del octil-cianoacrilato y el tiempo transcurrido desde la aplicación hasta el examen de los especímenes.<sup>127-129</sup>

Por otra parte, en los trabajos de Tebala se calculó que la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) en la rata, es para el butil-cianoacrilato de 230 mg/Kg y de 196 mg/Kg para el isobutil-cianoacrilato. En nuestros animales, la cantidad administrada fue mínima, proveniente de viales de 0,5 ml, aplicando aproximadamente la décima parte de los mismos o incluso menos. Teniendo en cuenta que la densidad de estos productos es de 1,05 a 1,18 g/ml (aumenta a medida que se incrementa el peso molecular del derivado) podemos inferir que administramos alrededor de 150-200 mg/Kg de octil-cianoacrilato en cada animal.<sup>137</sup>

Tampoco objetivamos hallazgo alguno en relación con contaminación bacteriana. Esto podría interpretarse teniendo en cuenta las propiedades bacteriostáticas –sobre todo frente a gérmenes gram positivos- de estas sustancias, aunque en realidad fenómenos de este tipo no se observaron en ningún animal de cualquiera de los grupos.<sup>132,176</sup>

Desde un punto de vista microscópico observamos cierta irregularidad en las formaciones cartilaginosas, que se visualizaban unidas por tractos fibrosos desestructurados, aunque no podemos decir que hubiese sufrido el cartílago un proceso inflamatorio intenso. Estas observaciones concuerdan con lo reflejado en los trabajos de Toriumi, realizados en pabellón auricular de conejo blanco, en los que se observa que los tejidos muy vascularizados presentan una reacción inflamatoria intensa tras la aplicación del sellante, hecho que no se objetiva en los escasamente vascularizados como el cartílago o el hueso; este hallazgo también fue reseñado por Trott.<sup>126,128</sup>

Como vimos, en este grupo y en zonas próximas al estoma traqueal donde obviamente se depositó la mayor parte del sellante, se visualizaban evidentes signos inflamatorios, que afectaban a los músculos circundantes desestructurándolos. Estos fenómenos flogóticos con los cianoacrilatos ya habían sido descritos previamente en varias ocasiones, siendo más acusados para los de cadena corta que para los de larga como es nuestro caso. Sin embargo, esto se objetiva en periodos más cortos; así en los experimentos de Toriumi, realizados en conejo con butilcianoacrilato, se observa una inflamación no muy importante que desaparece de manera progresiva a partir de las dos semanas, para hacerse inexistente ya al mes, dando paso a una reacción más crónica de células gigantes de cuerpo extraño. En nuestro caso se visualizaron un gran número de estirpes celulares inflamatorias pero no células gigantes. Esto es consistente con la experiencia del citado autor, pues observa que a partir de las cuatro semanas la reacción a cuerpo extraño es mínima, siendo raro encontrar células gigantes a los tres meses. Por otra parte Tebala, en trabajos realizados en intestino de cerdo también con butilcianoacrilato, si que reporta la presencia de células gigantes multinucleadas de cuerpo extraño en el contexto de una ligera inflamación crónica.<sup>128,137</sup>



También en los trabajos de Erdik realizados en rata Wistar, en los que se cubren aloinjertos traqueales con cianoacrilatos y se implantan en el músculo recto de otro animal, se observa esta inflamación aguda que hemos descrito, con presencia de muchas estirpes celulares como linfocitos, polimorfonucleares, histiocitos, plasmocitos y eosinófilos, si bien esta observación se realiza a las tres semanas.<sup>140</sup>

En nuestra experiencia, además de esta inflamación observamos fenómenos intensos de fibrosis, más tenues en zonas periféricas, mostrando irregularidad en la disposición de las fibras. Este hallazgo también es relatado por Cañizares. Estos experimentos fueron realizados en conejos; se practicaba una lesión con defecto traqueal, y sobre éste se adhería un colgajo muscular con butil-cianoacrilato, de manera similar a nuestro diseño experimental. Al inicio se observaba infiltración leucocitaria, que más tarde daba paso a una inflamación con células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño, y finalmente a un tejido cicatricial pobre en núcleos, con elementos celulares en forma de focos e inflamación crónica. En suturas nerviosas realizadas sobre nervio ciático también de conejo, se observaba un empeoramiento de las funciones neurológicas conseguidas inicialmente, por proliferación de tejido conjuntivo entre los 60 y 80 días.<sup>139</sup>

Nosotros describimos una alteración llamativa de las formaciones glandulares, inmersas en tejido conectivo, que aparecían dilatadas y en ocasiones quísticas. Esto no hemos podido encontrarlo reflejado en la literatura, si bien puede estar en relación con un fenómeno irritativo crónico. Tampoco se describe en los trabajos publicados la fenestración y alteración de la lámina propia de la mucosa detallada en el epígrafe de resultados.

La mucosa en ningún caso llegó a obturar la cara interna del traqueostoma aunque se insinuaban lengüetas titulares hacia el centro del

orificio. Esto puede estar en relación con el hecho constatado por Maw en experimentos cutáneos de que la introducción del sellante en los tejidos dificulta el crecimiento epitelial por reacción a cuerpo extraño.<sup>125</sup>

De la circunstancia referida por Henderson de que los cianoacrilatos de grupo alkilo largo como el isobutil-cianoacrilato permanezcan casi inalterados en los tejidos, incluso después de las 36 semanas, podría inferirse que debiéramos haber visualizado restos de los mismos en nuestras preparaciones tisulares a las ocho semanas.<sup>130</sup>

Sin embargo no conseguimos objetivar las citadas sustancias. Esto puede basarse en tres hechos: en primer lugar que intentamos emplear una pequeña cantidad de adhesivo; en segundo lugar que utilizamos xilol, (que como sabemos está constituido por la mezcla de los tres isómeros – orto, meta y para- del xileno) en el procesado de las preparaciones histológicas; y en tercer lugar que la tinción de Hematoxilina y Eosina no es apropiada para la visualización de los cianoacrilatos. En los trabajos de Galil en ratas y ratones se refleja que el uso del xileno en las preparaciones histológicas disuelve los restos de cianoacrilatos. Esta aseveración también es cierta para el cloroformo y el tolueno. De hecho, se produce una completa y casi inmediata destrucción del sellante al emplear como agentes aclarantes estas sustancias. Para evitar la desaparición de los cianoacrilatos es necesario usar éter de petróleo en la desparafinación de los cortes. En lo que se refiere a su tinción debe usarse Rojo Aceite-O según la técnica descrita por Pani, ya que muestra afinidad por estos adhesivos. El problema de este procedimiento es que el sellante tiende a separarse del tejido al realizar la sección; esto se puede soslayar usando gelatina de glicerina como medio de montaje.<sup>214</sup>

## **2.4.-EVALUACIÓN DEL GRUPO FIBRINA.**

Como vimos, únicamente tuvimos un fallecimiento durante la intervención sin poder determinar la causa exacta. En el seguimiento hasta el sacrificio no se produjeron incidencias dignas de mención, lo que habla a favor de la buena tolerancia al producto. Esta compatibilidad ya ha sido descrita en varios trabajos. Así, en los estudios de Kram, realizados en perros mestizos, se observa que tras sección de las tres cuartas partes de la circunferencia traqueal y posterior anastomosis, el producto disminuye la fuga de aire, reduce el número necesario de suturas, favorece la curación de la lesión traqueal y presenta una buena compatibilidad tanto sistémica como local.<sup>152</sup>

En el estudio experimental llevado a cabo por Doolin, empleando cultivos celulares de cartílago y epitelio traqueal, se deduce que el sellante de fibrina utilizado (muy similar al nuestro) no presenta toxicidad alguna para estos tipos celulares, ya que no observan diferencias respecto a los controles en el tamaño de la célula epitelial ni del condrocito ni tampoco en el grosor del epitelio.<sup>215</sup>

Objetivamos una induración moderada por tejido fibroso, más patente en la zona donde se situó el estoma traqueal. Sin embargo no pudimos determinar una reacción a cuerpo extraño como tal, verificable en otros estudios como los de Romanos, realizados en piel de rata. De otra parte el hecho contrario es reflejado en otras publicaciones como la de Kang empleando hurones.<sup>147,216</sup>

En este último estudio refieren como complicación local la formación de seromas, lo que nosotros no pudimos comprobar. Tampoco verificamos ningún hallazgo en relación con una eventual infección. En otros experimentos sin embargo, esto si que se refleja en mayor o menor medida. Así, en los trabajos de Saltz realizados con injertos cutáneos en

ratas Sprague-Dawley si que describen este problema. A su vez Houston, trabajando con rata Wistar en anastomosis intestinales, encuentra contaminación frecuente, con mayor probabilidad de abscesos perianastomóticos en animales tratados con el sellante que en los controles. Llegan a la conclusión que la formación del coágulo de fibrina por el adhesivo predispone a la infección por que inhibe la capacidad fagocítica de los neutrófilos. Este mismo efecto tienen las altas concentraciones de trombina presente en la preparación del adhesivo, al igual que la aprotinina, fármaco antifibrinolítico. Incluso se llega a observar colonización bacteriana del coágulo de fibrina junto con presencia leucocitaria en el mismo, como describe Kram en sus experiencias.<sup>142,150,158</sup>

En cuanto al cartílago, no observamos ningún proceso de regeneración; únicamente cierta irregularidad con la presencia de tractos fibrosos. En los trabajos de Waclawiczek, realizados en cerdos a los que se les practicaba una neumonectomía y una fístula iatrogénica del muñón bronquial para después obturarlo con adhesivo de fibrina, si que se describe condrogénesis. Esta situación se objetiva a los 120 días, lo que podría justificar la ausencia de referencia a la misma en trabajos con análisis más precoces como en nuestro caso.<sup>159</sup>

También pudimos determinar procesos inflamatorios en el seno del tejido conjuntivo fibroso, con presencia de celularidad de diferentes estirpes, más intensos en las áreas con una menor densidad de fibrosis. Esto corrobora las experiencias de otros autores. Así, en los trabajos de Salz en ratas se describe un infiltrado inflamatorio formado en gran parte por neutrófilos a partir del segundo día de la aplicación del sellante. Daniel, en uno de los grupos experimentales caninos -concretamente en el que se repara una lesión iatrogénica traqueal anterior con una lámina de fibrina- observa una infiltración leucocitaria intensa del tejido de granulación neoformado, que va disminuyendo de forma progresiva,

aunque es objetivable pasado el mes. En los trabajos ya mencionados de Houston en los que investiga en la rata Wistar la aplicación de adhesivo de fibrina en anastomosis colónicas de alto riesgo, se señala que la presencia del sellante en la herida exagera la natural respuesta inflamatoria al incrementar el depósito de fibrina, postulando además que al tratarse de proteínas de origen humano, actúan como un material ajeno al organismo murino, y quizás potencien los fenómenos inflamatorios locales.<sup>55,142,150</sup>

Observamos en el tejido conectivo neoformado un predominio de fibras colágenas, con disposición anárquica. Estos hechos son concordantes con los trabajos de Romanos, realizados también en rata, donde se describe un aumento de la migración fibroblástica desde los primeros días, fenómeno que perdura a lo largo de las primeras cuatro semanas. A partir de la tercera semana se detectan fibras colágenas con diferentes orientaciones.<sup>147</sup>

Es sabido que la presencia de fibrina y de factor XIII de la coagulación (parte de los componentes de nuestro adhesivo) estimula el crecimiento de los fibroblastos. De ello se deduce que los sellantes de este grupo favorezcan la formación de colágeno. En trabajos como los de Hedelin se implantan en el tejido celular subcutáneo cilindros de teflón perforado, unos con fibrina y otros vacíos. De esta forma, mediante la cuantificación de la concentración de hidroxiprolina que es directamente proporcional a la concentración de colágeno por tratarse del aminoácido más abundante en el mismo, llegan a la conclusión de que el coágulo de fibrina presenta un efecto estimulador en la formación de tejido de granulación y por tanto de colágeno.<sup>146</sup>

En nuestro caso el estudio histológico se practicó en un período relativamente tardío visualizándose la fibrosis descrita. En otros estudios se constata también la persistencia de fibrosis moderada también en este

lapso temporal. Así, en las experiencias de Ussia en conejos en los que se practica una anastomosis termino-terminal traqueal tras la resección de un cartílago y cobertura de la sutura con adhesivo de fibrina, se objetiva la persistencia de un anillo fibroso perianastomótico hasta los sesenta días de la intervención.<sup>154</sup>

Además de glándulas mucosas dilatadas (hallazgo no reflejado previamente en la literatura), la mucosa presentaba sus elementos constitutivos habituales, aunque no conseguía tapizar la cara interna del tejido fibrótico del traqueostoma. Este déficit de epitelización es descrito previamente en otros estudios experimentales.<sup>216</sup>

Un hallazgo llamativo fue la observación de focos de epitelio escamoso próximos al orificio del estoma. Esto puede interpretarse de dos maneras; o bien se debe a una irritación continua que conduce a metaplasia escamosa, o bien a que la formación de epitelio plano es un paso inicial en los fenómenos reparativos de la mucosa, comenzando habitualmente desde los bordes de la lesión. Este hecho ha podido constatarse tanto en perros como en humanos.<sup>55,213</sup>

Las estructuras vasculares no presentaban alteraciones relevantes salvo algunos fenómenos de ectasia de tipo congestivo. Se ha descrito el proceso de neoformación capilar desde el cuarto al séptimo día postoperatorio tras la aplicación de sellantes de fibrina, en experimentos cutáneos en la rata.<sup>142,155</sup>

No observamos en ningún caso restos del sellante. Esto es lo esperable, dado que al obtenerse como producto final del proceso adhesivo un coágulo de fibrina, la malla que forma esta sustancia sirve de soporte para fibroblastos y capilares, siendo sustituida después por tejido conjuntivo. De hecho, se ha observado en trabajos en perros mestizos la

completa absorción del sellante en un periodo tan relativamente precoz como son dos semanas.<sup>158</sup>

## **2.5.-EVALUACIÓN DEL GRUPO ALBÚMINA-GLUTARALDEHIDO.**

En este grupo observamos tres fallecimientos perioperatorios; uno por depresión respiratoria quizás por causas anestésicas, ya que el animal se encontraba en el rango bajo de peso, y otros dos por insuficiencia ventilatoria postquirúrgica asociada a estridor.

En el período postoperatorio uno de los especímenes murió por un cuadro obstructivo respiratorio. En los experimentos de Herget, en los que se practica en conejos de raza Nueva Zelanda una resección de un tramo de 10 mm traqueales y anastomosis termino-terminal con cobertura con Bioglue<sup>®</sup>, también describen este problema, bien por estenosis traqueal bien por granulaciones intraluminales, además de un caso de fístula traqueocutánea. Este mismo autor, aunque empleando ovejas como animal de experimentación en anastomosis bronquiales y traqueales reforzadas con este sellante, no consigue observar crecimiento de tejido de granulación dentro de la luz traqueal.<sup>161,162</sup>

Como ya reflejamos, se daba una cierta irregularidad en la morfología cartilaginosa, y en algunos especímenes de este conjunto se pudieron constatar calcificaciones ocasionales del cartílago traqueal. Ya explicamos en el epígrafe de evaluación del grupo Control que este hecho puede observarse durante el desarrollo del animal.<sup>211</sup>

Pudimos objetivar una respuesta inflamatoria con abundancia de polimorfonucleares, macrófagos, linfocitos y también eosinófilos, estos de manera llamativa. Este último tipo celular no esta descrito en la literatura tras la aplicación de este sellante. Si que se apunta en los experimentos de Erdik en rata Wistar, pero empleando cianoacrilatos, y también en

humanos traqueostomizados, especialmente en pacientes diabéticos o que han recibido radioterapia.<sup>140,213</sup>

En los citados trabajos de Herget, tanto en ovejas como en conejos, se describen focos inflamatorios a las dos semanas con presencia de polimorfonucleares y macrófagos. En el conejo refieren también hiperplasia epitelial. En este tiempo, además de los fenómenos flogóticos agudos descritos, comienza a observarse tejido de granulación y células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño. Aún al mes se objetiva un infiltrado inflamatorio con gran cantidad de polimorfonucleares, y transición progresiva del tejido de granulación a tejido fibroso. A las doce semanas, continúan persistiendo los fenómenos inflamatorios descritos y un tejido cicatricial da cobertura al área tratada. En nuestro trabajo, valorado a las ocho semanas, todavía persiste la flogosis en el seno de un tejido fibroso con disposición anárquica de sus fibras, con tractos que protruyen levemente en la luz traqueal a través del traqueostoma. En nuestro estudio no observamos células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño. El citado autor refiere un pico máximo de visualización de este tipo celular a las cuatro semanas disminuyendo su presencia más o menos rápidamente desde ese punto, siendo raro encontrarlas a las doce semanas. Esto podría explicar que nosotros, a las ocho semanas, no consiguiésemos observarlas. Se ha descrito que el pegamento va siendo degradado de forma progresiva en el seno del proceso inflamatorio, persistiendo mínimos restos hacia el tercer mes. Sin embargo, no visualizamos fragmentos de adhesivo, posiblemente por emplear la cantidad mínima para conseguir el sellado del traqueostoma.<sup>161,162</sup>

Un hallazgo peculiar, no referenciado en la literatura y ya observado en otros grupos del diseño experimental, es la presencia de formaciones glandulares dilatadas.



## **2.6.-EVALUACIÓN DEL GRUPO POLIETILENGLICOL.**

Hemos encontrado en la literatura revisada una pequeña cantidad de artículos que versen sobre el empleo de sellantes derivados de polietilenglicol en el ámbito experimental.

Ya reflejamos previamente que se dieron siete éxitos intraoperatorios en nuestros animales de experimentación, con lo que tuvimos que intervenir a catorce para obtener los siete necesarios para el seguimiento. En cinco casos se formó un molde de adhesivo intratraqueal, que pudo ser extraído evitando la muerte del animal en solo dos ocasiones. Esta situación pudo darse porque el sellante, aunque polimeriza en dos o tres segundos, inicialmente presenta una baja viscosidad lo que favorece su aspiración. Transcurrido ese escaso tiempo va conformando una unión muy consistente con los tejidos incluyendo los intratraqueales, lo que dificulta su extracción. Durante el periodo de seguimiento previo al sacrificio no pudimos detectar ninguna reacción adversa o tóxica al adhesivo, mostrando una buena tolerancia. De hecho es descrito por el fabricante como no citotóxico, ni mutagénico ni clastogénico, demostrando ausencia de toxicidad en implantes peritoneales en rata a dosis tan altas como de 7,5 a 15 ml/Kg.<sup>168</sup>

En las preparaciones el cartílago mostraba una estructura y morfología homogéneas no presentando alteraciones reseñables. Se objetivaban escasos signos de flogosis, con ausencia de celularidad inflamatoria y presencia de tejido conjuntivo de escasa densidad. Estos hallazgos corroboran lo observado en los trabajos de Wallace. Este autor, trabajando con carótida y bolsillos cutáneos de conejo, observa una moderada inflamación con presencia de tejido de granulación, células gigantes a cuerpo extraño y fibroblastos a la semana de la aplicación. Al mes la inflamación se torna leve, con fibrosis y estirpes celulares similares al grupo en el que no se aplicó el adhesivo. El mismo autor, en

experiencias in vitro con membranas colágenas determina que se precisa una presión de 100 mm Hg para despegar el sellante de orificios de 2 mm de diámetro. De ello podemos deducir que nuestro traqueostoma, de idéntico tamaño, presentase un sellado correcto desde el inicio. Las experiencias de Kobayashi, en las que se aplicaba un sellante con polietilenglicol-disuccinimidil succinato (PEG-SS2) en laceraciones pulmonares practicadas en rata Wistar, también son consistentes con lo observado por nosotros. Describe una infiltración celular escasa desde los tres días, y ya a los catorce se objetiva una respuesta tisular muy tenue. En resumen, ambos autores coinciden en describir una discreta respuesta inflamatoria y de fibrosis, de la misma forma que lo reflejado en nuestras preparaciones histológicas. No detectamos resto alguno de sellante lo cual es lógico si tenemos en cuenta que se describe su degradación in vitro en unos 30 días e in vivo en alrededor de una semana.<sup>168,217</sup>

## **VII. CONCLUSIONES.**



De los experimentos realizados podemos extraer varias conclusiones:

1.-Nuestro modelo experimental se muestra sencillo y adecuado en la valoración de la respuesta tisular de los elementos constitutivos de la vía aérea a la agresión química tras su reparación con sustancias adhesivas.

2.-El sellante octil-2-cianoacrilato (Dermabond®) exhibe la ventaja de ser una sustancia con una gran capacidad adherente, y la desventaja de provocar una respuesta irritativa inflamatoria severa y fenómenos fibróticos exuberantes en la vía aérea y tejidos colindantes. Estos hallazgos sugieren que puede ser de escasa utilidad en la reparación de las lesiones de la vía aérea mayor, por anastomosis quirúrgicas (traqueales o broncoplásticas) o fístulas bronquiales.

3.-El adhesivo basado en fibrinógeno-trombina (Tissucol®) presenta la ventaja de su buena tolerancia tisular al seguir una vía fisiológica formando un coágulo de fibrina. Sin embargo, precisamente por este exceso de fibrina, favorece una respuesta inflamatoria y fibrótica moderadas. Por otra parte su capacidad adherente es limitada. Estos hechos sugieren que pueda considerarse una sustancia útil en la reparación de las lesiones de la vía aérea, de forma coadyuvante a otros procedimientos.

4.-El sellante albúmina-glutaraldehído (bioglue®) demuestra una buena adherencia. En la respuesta tisular al producto exhibe una fibrosis moderada. De otra parte constatamos fenómenos inflamatorios intensos que no son convenientes en un producto empleado como ayuda en procedimientos sobre el árbol traqueobronquial.

5.-El adhesivo 4S PEG-4T PEG (Coseal®) produce en la tráquea murina y tejidos aledaños una respuesta cicatricial muy leve con ausencia total de

inflamación. Estos hallazgos son equiparables a los observados en los grupos Control y Testigo en los que no se utilizó ningún pegamento. Además su capacidad adhesiva y de sellado es relevante. Estos hechos sugieren que esta sustancia resulte apropiada en la reparación de lesiones, quirúrgicas o no, del árbol traqueobronquial, al obtener un correcto sellado con una exigua inflamación y fibrosis.

## **VIII. BIBLIOGRAFÍA.**





- 1.-Belsey R. Resection and reconstruction of the intrathoracic trachea. *Br J Surg* 1950; 38 (150): 200-5.
- 2.-Grillo HC. Development of tracheal surgery: a historical review. Part 1: Techniques of tracheal surgery. *Ann Thorac Surg* 2003; 75 (2): 610-9.
- 3.-Grillo HC. Tracheal replacement: a critical review. *Ann Thorac Surg.* 2002; 73 (6):1995-2004.
- 4.-Conley JJ. Reconstruction of the subglottic air passage. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1953; 62 (2): 477-95.
- 5.-Clagett OT, Moersch HJ, Grindlay JH. Intrathoracic tracheal tumors: development of surgical technics for their removal. *Ann Surg* 1952; 136 (3): 520-32.
- 6.-Cantrell JR, Folsie JR. The repair of circumferential defects of the trachea by direct anastomosis; experimental evaluation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1961; 42 (5): 589–98.
- 7.-Grillo HC. Circumferential resection and reconstruction of mediastinal and cervical trachea. *Ann Surg* 1965; 162 (3): 374–88.
- 8.-Ishihara T, Kikuchi K, Ikeda T, Inoue H, Fukai S, Ito K et al. Resection of thyroid carcinoma infiltrating the trachea. *Thorax.* 1978; 33 (3): 378-86.
- 9.-Abbot OA. Experiences with the surgical resection of the human carina, tracheal wall, and contralateral bronchial wall in cases of right total pneumonectomy. *J Thorac Surg* 1950;19 (6): 906-22.
- 10.-Barclays RS, McSwan N, Welsh TM. Tracheal reconstruction without the use of grafts. *Thorax* 1957;12 (3): 177-80.

- 11.-Grillo HC. Carinal reconstruction. *Ann Thorac Surg* 1982; 34 (4): 356–73.
- 12.-Montgomery WW. Silicone tracheal T-tube. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1974; 83 (1): 71–5.
- 13.-Grillo HC. The history of tracheal surgery. *Chest Surg Clin N Am* 2003; 13 (2): 175-89.
- 14.-Grillo HC, Moncure AC, McEnany MT. Repair of inflammatory tracheoesophageal fistula. *Ann Thorac Surg* 1976; 22 (2): 112-9.
- 15.-Grillo HC, Mathisen DJ, Wain JC. Laryngotracheal resection and reconstruction for subglottic stenosis. *Ann Thorac Surg* 1992; 53 (1): 54–63.
- 16.-Maddaus MA, Toth JLR, Gullane PJ, Pearson FG. Subglottic tracheal resection and synchronous laryngeal reconstruction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104 (5): 1443-50.
- 17.-Haeger K. Humanización de la cirugía. En: Haeger K. *The Illustrated History of Surgery*. Primera edición. Gothenburg, Suecia: Editorial AB Nordbok; 1988. p. 199-222.
- 18.-Goodall EW. The story of tracheostomy. *Br J Child Dis* 1934; 31: 167-76.
- 19.-Waddell WR, Cannon B. A technic for subtotal excision of the trachea and establishment of a sternal tracheostomy. *Ann Surg* 1959; 149 (1): 1-8.
- 20.-Grillo HC, Mathisen DJ. Cervical exenteration. *Ann Thorac Surg* 1990; 49 (3): 401-9.

- 21.-Geffin B, Bland J, Grillo HC. Anesthetic management of tracheal resection and reconstruction. *Anesth Analg* 1969; 48 (5): 884-90.
- 22.-El-Baz HN, Jensik R, Faber LP, Faro RS. One-lung high-frequency ventilation for tracheoplasty and bronchoplasty: a new technique. *Ann Thorac Surg* 1982; 34 (5): 564-71.
- 23.-Wailoo MP, Emery JL. Normal growth and development of the trachea. *Thorax* 1982; 37 (8): 584-7.
- 24.-Mulliken JB, Grillo HC. The limits of tracheal resection with primary anastomosis: further anatomical studies in man. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1968; 55 (3): 418-21.
- 25.-Miura T, Grillo HC. The contribution of the inferior thyroid artery to the blood supply of the human trachea. *Surg Gynecol Obstet* 1996; 123 (1): 99-102.
- 26.-Salassa JR, Pearson BW, Payne WS. Gross and microscopical blood supply of the trachea. *Ann Thorac Surg* 1977; 24 (2): 100-7.
- 27.-Sobin SS, Frasher WG, Tremer HM, Hadley GG. The microcirculation of the tracheal mucosa. *Angiology* 1963; 14: 165-70.
- 28.-Fujita H, Kawahara H, Hidaka M, Nagano T, Yoshimatsu H. An experimental study on viability of the devascularized trachea. *Jpn J Surg* 1988; 18 (1): 77-83.
- 29.-Allen MS. Surgical anatomy of the trachea. *Chest Surg Clin N Am* 1996; 6 (4): 627-35.

- 30.-Cooper JD, Grillo HC. The evolution of tracheal injury due to ventilatory assistance through cuffed tubes: a pathologic study. *Ann Surg* 1969; 169 (3): 334-48.
- 31.-Grillo HC, Donahue DM, Mathisen DJ, Wain JC, Wright CD. Postintubation tracheal stenosis: treatment and results. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 109 (3): 486–93.
- 32.-Smith LJ, Schillaci RF, Sarlin RF. Endobronchial tuberculosis. Serial fiberoptic bronchoscopy and natural history. *Chest* 1987; 91 (5): 644-7.
- 33.-Mathisen DJ, Grillo HC. Clinical manifestation of mediastinal fibrosis and histoplasmosis. *Ann Thorac Surg* 1992; 54 (6):1053-7.
- 34.-Miller RH, Shulman JB, Canalis RF, Ward PH. Klebsiella rhinoscleromatis: a clinical and pathogenic enigma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1979; 87 (2): 212-21.
- 35.-Grillo HC, Mark EJ, Mathisen DJ, Wain JC. Idiopathic laryngotracheal stenosis and its management. *Ann Thorac Surg* 1993; 56 (1): 80-7.
- 36.-Trentham DE, Le CH. Relapsing polychondritis. *Ann Intern Med* 1998; 129 (2): 114-22.
- 37.-Brandstetter RD, Messina MS, Sprince NL, Grillo HC. Tracheal stenosis due to sarcoidosis. *Chest* 1981; 80 (5): 656.
- 38.-Daum TE, Specks U, Colby TV, Edell ES, Brutinel MW, Prakash UB, DeRemee RA. Tracheobronchial involvement in Wegener's granulomatosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151 (2 Pt 1): 522-6.

- 39.-Keen PE, Weitzner S. Primary localized amyloidosis of trachea. Arch Otolaryngol 1972; 96 (2):142-5.
- 40.-Nienhuis DM, Prakash UB, Edell ES. Tracheobronchopathia osteochondroplastica. Ann Otol Rhinol Laryngol 1990; 99 (9 Pt 1): 689-94.
- 41.-Grillo HC, Mathisen DJ. Primary tracheal tumours: Treatment and results. Ann Thorac Surg 1990; 49 (1): 69-77.
- 42.-Pearson FG, Todd TR, Cooper JD. Experience with primary neoplasms of the trachea and carina. J Thorac Cardiovasc Surg 1984; 88 (4): 511-8.
- 43.-Wright CD. Management of tracheoinnominate artery fistula. Chest Surg Clin N Am 1996; 6 (4): 865-73.
- 44.-Dartevelle P, Macchiarini P. Management of acquired tracheoesophageal fistula. Chest Surg Clin N Am 1996; 6 (4): 819-36.
- 45.-Gómez-Caro A, Ausín P, Moradiellos FJ, Díaz-Hellín V, Larrú E, Pérez Antón JA, Martín de Nicolás JL. Manejo médico-quirúrgico de las lesiones traqueobronquiales traumáticas no iatrogénicas. Arch Bronconeumol 2005; 41 (5): 249-54.
- 46.-Mathisen DJ, Grillo H. Laryngotracheal trauma. Ann Thorac Surg 1987; 43 (3): 254-62.
- 47.-Vidal MC, Vázquez E, Tercedor A, Guzmán E, Cuesta P, Galán M. Tratamiento conservador en el manejo de la vía aérea tras rotura traqueal iatrogénica. Rev Esp Anesthesiol Reanim 2007; 54 (4): 246-9.

48.-Bassi N, Terribile V, Callegari P, Abbate A. Validità sperimentale di una protesi in teflon nelle sostituzioni della trachea. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 1985; 5 (4): 433-41.

49.-Petroianu A, Barbosa AJ. Experimental reconstruction of anterior and circumferential defects of the cervical trachea. *Laryngoscope* 1993; 103 (11 Pt 1): 1259-63.

50.-Villegas-Cabello O, Vázquez-Juárez JL, Gutiérrez-Pérez FM, Dávila-Córdova RF, Díaz Montemayor C. Staged replacement of the canine trachea with ringed polyethylene terephthalate grafts. *Thorac Cardiovasc Surgeon* 1994; 42 (5): 302-5.

51.-Michelson E, Solomon R, Maun L, Ramírez J. Experiments in tracheal reconstruction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1961; 41 (6): 748–59.

52.-Christides C, Daussy M, Abelanet R. Remplacement expérimental de la trachée cervicale chez le chien par une prothèse en silastic. *Ann Chir Thorac Cardiovasc* 1973; 12 (2): 187-93.

53.-Neville WE, Bolanowski JP, Kotia GG. Clinical experience with the silicone tracheal prosthesis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 99 (4): 604-12.

54.-Ekeström S, Carlens E. Teflon prosthesis in tracheal defects in man. *Acta Chir Scand Suppl* 1959; 245 (Suppl):71-5.

55.-Daniel RA Jr: The regeneration of defects of the trachea and bronchi. An experimental study. *J Thorac Surg* 1948; 17: 335-349.

56.-Tsukada H, Osada H. Experimental study of a new tracheal prosthesis: pored Dacron tube. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 127 (3): 877-84.

57.-Okumura N, Nakamura T, Natsume T, Tomihata K, Ikada Y, Shimizu Y. Experimental study on a new tracheal prosthesis made from collagen-conjugated mesh. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108 (2): 337-45.

58.-González Piñera J, Pérez Martínez A, Marco Macián A, Iñiguez DE, Onzoño L, Atiénzar Tobarra M et al. Estudio experimental de la eficacia de injertos de politetrafluoroetileno en cirugía traqueal. *Cir Pediatr* 1996; 9 (4): 141-8.

59.-Yanagi M, Kishida A, Shimotakahara T, Matsumoto H, Nishijima H, Akashi M et al. Experimental study of bioactive polyurethane sponge as an artificial trachea. *ASAIO J* 1994; 40 (3): M412-8.

60.-Triglia JM, Scheiner C, Gouvernet J, Cannoni M. Hydroxyapatite in experimental laryngotracheal reconstruction. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1993; 119 (1): 87-91.

61.-Pearson SE, Rimell F, Stelow EB, Pernell K. Tracheal reconstruction with a synthetic material in a porcine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001; 110 (8): 718-22.

62.-Beattie EJ Jr, Blades B, Keshishian JM. Tracheal reconstruction. *J Thorac Surg* 1956; 32 (6): 707-25.

63.-Cahan WG. Carcinoma of intrathoracic trachea: excision and repair by tantalum gauze-fascia lata graft; report of a case. *J Thorac Surg* 1952; 23 (5): 513-27.

64.-Pearson FG, Henderson RD, Gross AE, Ginsberg RJ, Stone RM. The reconstruction of circumferential tracheal defects with a porous prosthesis. An experimental and clinical study using heavy Marlex mesh. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1968; 55 (5): 605-16.

65.-Scherer MA, Ascherl R, Geißdörfer K, Mang W, Blümel G, Lichti H et al. Experimental bioprosthetic reconstruction of the trachea. *Arch Otorhinolaryngol* 1986; 243 (4): 215-23.

66.-Pressman JJ, Simon MB. Tracheal stretching and metaplasia of the tracheal rings from cartilage to bone following the use of aortic homografts. *Am Surg* 1959; 25: 850-6.

67.-Uhlschmid GK. New experimental method for the repair of tracheal defects. *Eur Surg Res* 1986; 18 (3-4): 271-6.

68.-Moussa SA, French DA. Microsurgical reconstruction of the trachea in rats (an experimental study). *J Laryngol Otol* 1985; 99 (1): 61-71.

69.-Hubbell RN, Zalzal G, Cotton RT, Mcadams AJ. Irradiated costal cartilage graft in experimental laryngotracheal reconstruction. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1988; 15 (1): 67-72.

70.-Dal T, Demirhan B. Reconstruction of tracheal defects with dehydrated human costal cartilage: an experimental study in rats. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 123 (5): 607-12.

71.-Latteri F, Abela M, Russello D, Cavallaro V, Licata A, Puleo S et al. L'impiego di dura madre liofilizada nelle plastiche della trachea ricerche sperimentali. *Chir Patol Sper* 1978; 26 (3): 137-46.



72.-Sabás AA, Uez JB, Rojas O, Iñones A, Aranguren JA. Replacement of the trachea with dura mater. Experimental work. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1977; 74 (5): 761-5.

73.-Lobe TE, Gore DC, Linares H, Tencer A. The application of solvent-processed human dura in experimental tracheal reconstruction. *J Pediatr Surg* 1991; 26 (9): 1104-6.

74.-Bujia J, Pitzke P, Krombach F. Immunological behavior of preserved human tracheal allografts. *Clin Transplant.* 1991;5:376-380.

75.-Jacobs JP, Elliott MJ, Haw MP, Bailey CM, Herberhold C. Pediatric tracheal homograft reconstruction: a novel approach to complex tracheal stenoses in children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112 (6):1549-58.

76.-Aletras H, Katsohis C, Anguridakis C. A new method of repairing extensive tubular tracheal defects. Experimental work. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 1982; 16 (2): 191-5.

77.-Quisling RW. Experimental tracheal reconstruction with external ear canal autografts. *Arch Otolaryngol* 1978; 104 (6): 311-2.

78.-Heatley DG, Clary RA, Garner FT, Lusk RP. Auricular cartilage versus costal cartilage as a grafting material in experimental laryngotracheal reconstruction. *Laryngoscope* 1995; 105 (9 Pt 1): 983-7.

79.-Kufaas T. Tracheal reconstruction with free periosteal grafts. An experimental study on rabbits. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 1981; 31: 1-63.

80.-Ike O, Shimizu Y, Okada T, Ikada Y, Hitomi S. Experimental studies on an artificial trachea of collagen-coated poly(L-lactic acid) mesh or unwoven cloth combined with a periosteal graft. *ASAIO Trans* 1991; 37 (1): 24-6.

81.-Martinod E, Seguin A, Pfeuty K, Fornes P, Kambouchner M, Azorin JF et al. Long-term evaluation of the replacement of the trachea with an autologous aortic graft. *Ann Thorac Surg* 2003; 75 (5): 1572-8.

82.-Löfgren LA, Lindholm CE, Jansson B. The autogenous mucosal cyst procedure. Experimental reconstructive surgery of the airway with a new composite graft technique. *Acta Otolaryngol* 1985; 99 (1-2): 179-92.

83.-MacHale SJ. A new technique for repairing the major air passages. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1972; 64 (1): 6-10.

84.-Gebauer PW. Further experiences with dermal grafts for healed tuberculous stenosis of the bronchi and trachea. *J Thorac Surg* 1950; 20 (4): 628-67.

85.-Crafoord C, Lindgren AGH. Mucous and salivary gland tumours in the bronchi and trachea. *Acta Chir Scand* 1945; 92: 481-506.

86.-Caputo V, Consiglio V. The use of patient's own auricular cartilage to repair deficiency of the tracheal wall. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1961; 41: 594-6.

87.-Papp C, Mccraw JB, Arnold PG. Experimental reconstruction of the trachea with autogenous materials. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 90 (1): 13-20.

88.-Fujita H, Kawahara H, Hidaka M, Yoshimatsu H. The latissimus dorsi muscle flap is useful for the repair of tracheal defects. An experimental study. *Jpn J Surg* 1987; 17 (2): 91-8.

89.-Krespi YP, Biller HF, Baek SM. Tracheal reconstruction with a pleuroperiosteal flap. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1983; 91 (6): 610-4.

90.-Murakami S, Sato H, Uno Y, Ishikawa N, Hayashi Y, Shimizu J et al. Tracheal reconstruction after lower tracheal resection using the inverted right bronchus. An experimental study. *Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 41 (6): 335-9.

91.-Whited RE. Experimental and clinical reconstructive surgery of the larynx and trachea. *Arch Otolaryngol* 1984; 110 (5): 315-7.

92.-Nowakowski K. Beitrag zur tracheoplastik. *Arch Klin Chir* 1909; 90: 847-61.

93.-Narodick BG, Pemberton AH, Worman LW. Tracheoplasty by means of a periosteal pedicle graft. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1964; 47: 572-6

94.-Westaby S, Shepherd MP, Nohl-Oser HC. The use of diaphragmatic pedicle grafts for reconstructive procedures in the esophagus and tracheobronchial tree. *Ann Thorac Surg* 1982; 33 (5): 486-90.

95.-Grillo HC, Dignan EF, Miura T. Extensive resection and reconstruction of mediastinal trachea without prosthesis or graft: an anatomical study in man. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1964; 48 (5): 741-9.

96.-Delaere PR, Liu ZY, Feenstra L. Experimental tracheal tube created with vascularized fascia. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1993; 102 (12): 935-40.

97.-Kato R, Eguchi K, Izumi Y, Kakizaki T, Hangai N, Sawafuji M, et al. Experimental tracheal replacement using the esophagus and an expandable metallic stent. *Surg Today* 1995; 25 (9): 806-10.

98.-Vacanti CA, Paige KT, Kim WS, Sakata J, Upton J, Vacanti JP. Experimental tracheal replacement using tissue-engineered cartilage. *J Pediatr Surg* 1994; 29 (2): 201-4.

99.-Burkert WC. Transplantation of the trachea. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1918; 29: 35-40.

100.-Albes JM, Klenzner T, Kotzerke J, Thiedemann KU, Schafers HJ, Borst HG. Improvement of tracheal autograft revascularization by means of fibroblast growth factor. *Ann Thorac Surg* 1994; 57 (2): 444-9.

101.-Neville WE, Bolanowski PJ, Soltanzadeh H. Homograft replacement of the trachea using immunosuppression. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1976; 72 (4): 596-601.

102.-Bujia J, Wilmes E, Hammer C, Kastenbauer E. Tracheal transplantation: demonstration of HLA class II subregion gene products on human trachea. *Acta Otolaryngol* 1990; 110 (1-2): 149-54.

103.-Jackson TI, O'brien EJ, Tuttle W, Meyer J. The experimental use of homogenous tracheal transplants in the restoration of continuity of the tracheobronchial tree. *J Thorac Surg* 1950; 20 (4): 598-612.

104.-Gaafar H, Hamza A, Hisham M, Helal S, Gaafar A, Reda M. Segmental tracheal replacement in mongrel dogs. *Acta Otolaryngol* 2003; 123 (2): 283-7.

105.-Borro JM, Chirivella M, Vila C, Galan G, Prieto M, París F. Successful revascularization of large isolated tracheal segments. *Eur J Cardiothorac Surg* 1992; 6 (11): 621-3.

106.-Moriyama S, Shimizu N, Teramoto S. Experimental tracheal allotransplantation using omentopexy. *Transplant Proc* 1989; 21 (1 Pt 3): 2596-600.

107.-Mukaida T, Shimizu N, Aoe M, Andou A, Date H, Moriyama S. Origin of regenerated epithelium in cryopreserved tracheal allotransplantation. *Ann Thorac Surg* 1998; 66 (1): 205-8.

108.-Deschamps C, Trastek VF, Ferguson JL, Martin WJ, Colby TV, Pairolero PC, Payne WS. Cryopreservation of canine trachea: functional and histological changes. *Ann Thorac Surg* 1989; 47 (2): 208-12.

109.-Liu Y, Nakamura T, Yamamoto Y, Matsumoto K, Sekine T, Ueda H, Shimizu Y. Immunosuppressant-free allotransplantation of the trachea: the antigenicity of tracheal grafts can be reduced by removing the epithelium and mixed glands from the graft by detergent treatment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 120 (1):108-14.

110.-Davreux CJ, Chu NH, Waddell TK, Mayer E, Patterson GA. Improved tracheal allograft viability in immunosuppressed rats. *Ann Thorac Surg* 1993; 55 (1):131-4.

111.-Delaere PR, Liu ZY, Hermans R, Sciort R, Feenstra L. Experimental tracheal allograft revascularization and transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110 (3): 728-37.

112.-Rose KG, Sesterhenn K, Wustrow F. Tracheal allotransplantation in man. *Lancet* 1979; 1 (8113): 433.

113.-Khalil-Marzouk JF. Allograft replacement of the trachea. Experimental synchronous revascularization of composite thyrotracheal transplant. *J Thorac Surg* 1993; 105 (2): 242-6.

114.-Lenot B, Macchiarini P, Darteville P. Tracheal transplantation: an experimental technique with revascularisation and venous drainage. *Transplant Proc* 1995; 27 (2): 1684-5.

115.-Macchiarini P, Mazmanian GM, De Montpreville V, Dulmet E, Fattal M, Lenot B et al. Experimental tracheal and tracheoesophageal allotransplantation. Paris-Sud University Lung Transplantation Group. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110 (4 Pt 1): 1037-46.

116.-Couraud L, Baudet E, Martigne C, Roques X, Velly JF, Laborde N et al. Bronchial revascularization in double-lung transplantation: a series of 8 patients. *Ann Thorac Surg* 1992; 53 (1): 88-94.

117.-Strome M, Stein J, Esclamado R, Hicks D, Lorenz RR, Braun W et al. Laryngeal transplantation and 40-month follow-up. *N Engl J Med* 2001; 344 (22): 1676-9.

118.-Rovee DT, Miller CA. Epidermal role in the breaking strength of wounds. *Arch Surg* 1968; 96 (1): 43-52.

119.-Levenson SM, Geever EF, Crowley LV, Oates JF 3rd, Berard CW, Rosen H. The healing of rat skin wounds. *Ann Surg* 1965; 161: 293-308.

120.-Wang Z, Pankratov MM, Gleich LL, Rebeiz EE, Shapshay SM. New technique for laryngotracheal mucosa transplantation. 'Stamp' welding using indocyanine green dye and albumin interaction with diode laser. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1995; 121 (7): 773-7.

121.-Björkerud S, Ekedahl C, Hansson PG, Jeppsson PH, Lindström J. Experimental tracheal wall injury. *Acta Otolaryngol* 1973; 75 (4): 387-8.

122.-Olmos-Zúñiga JR, Santos-Cordero JA, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Gaxiola-Gaxiola MO, Mora Fol JR et al. Efecto del ácido hialurónico sobre la cicatrización traqueal en un modelo experimental canino. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2004; 55 (2): 81-7.

123.-Heiss WH. The use of synthetic polymeric materials as suture substitutes and their place in pediatric surgery. *Prog Pediatr Surg* 1970;1: 99-150.

124.-Coover HW, Joyner FB, Sheareer NH, Wicner TH. Chemistry and performance of cyanoacrylate adhesive. *J Soc Plast Eng* 1959; 15: 413-417.

125.-Maw J, Quinn J. Cyanoacrylate Tissue Adhesives. *Am J Cosmetic Surg* 1997 ; 14( 4): 413-6.

126.-Trott AT. Cyanoacrylate tissue adhesive. An advanced in wound care. *JAMA* 1997; 277 (19): 1559-60.

127.-Papatheofanis FJ. Prothrombotic cytotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesive. *J Surg Res* 1989; 47 (4): 309-12.

128.-Toriumi DM, Raslan WF, Friedman M, Tardy ME. Histotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesive. A comparative study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1990; 116 (5): 546-50.

129.-Ciapetti G, Stea S, Cenni E, Sudanese A, Marraro D, Toni A et al. Cytotoxicity testing cyanoacrylates using direct contact assay on cell cultures. *Biomaterials* 1994; 15 (1): 63-67.

130.-Henderson AM, Stephenson M. 3-Methoxy-butyl-cyanoacrylate: evaluation of biocompatibility and bioresorption. *Biomaterials* 1992; 13(15): 1077-84.

131.-Matsumoto T. Carcinogenesis and cyanoacrylate adhesives. *JAMA* 1967; 202 (11): 1057-62.

132.-Quinn JV, Osmond MH, Yurack JA, Moir PJ. N-2-butylcyanoacrylate: risk of bacterial contamination with an appraisal of its antimicrobial effects. *J Emerg Med* 1995; 13 (4): 581-5.

133.-Quinn JV, Drzewiecki A, Li MM, Stiell IG, Sutcliffe T, Elmslie TJ et al. A randomized controlled trial comparing a tissue adhesive with suturing in the repair of pediatric facial lacerations. *Ann Emerg Med* 1993; 22 (7): 1130-5.

134.-Maw JL, Quinn JV, Wells GA, Ducic Y, Odell PF, Lamothe A et al. A prospective comparison of octylcyanoacrylate tissue adhesive and suture for the closure of head and neck incisions. *J Otolaryngol* 1997; 26 (1): 26-30.

135.-Toriumi DM, O'Grady K, Desai D, Bagal A. Use of Octyl-2-Cyanoacrylate for skin closure in facial plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102 (6): 2209-19.

136.-Tejera A, Zayas OP, Alvarez R, Esteriz N. Uso de la sutura química para el cierre de heridas quirúrgicas. *Medisan* 2002; 6 (2): 90-4.

137.-Tebala GD, Ceriati F, Ceriati E, Vecchioli A, Nori S. The use of cyanoacrylate tissue adhesive in high-risk intestinal anastomoses. *Surg Today* 1995; 25 (12): 1069-72.



138.-Weerda H, Weisner G. Cyano-Acrylat-Kleber in der trachealchirurgie. (Eine tierexperimentale studie). *Laryngol Rhinol Otol* (Stuttg) 1975; 54 (2): 119-23.

139.-Cañizares MA, Carral JM. Empleo del alquilcianoacrilatos en suturas quirúrgicas. *Rev Cub Med Mil* 2001; 30 (1): 15-20.

140.-Erdik O, Isitmangil T, Toker A, Cermik H, Ozturk Y. A new graft: cyanoacrylate covered trachea. *Eur Respir J* 2003; 22 (Suppl. 45): 507s.

141.-Hirata T, Ogawa E, Takenaka K, Uwokawa R, Fujisawa I. Endobronchial closure of postoperative bronchopleural fistula using vascular occluding coils and n-butyl-2-cyanoacrylate. *Ann Thorac Surg* 2002; 74 (6): 2174-6.

142.-Saltz R, Sierra D, Feldeman D, Saltz MB, Dimick A, Vasconez LO. Experimental and clinical applications of fibrin glue. *Plast Reconstr Surg* 1991; 88 (6): 1005-15.

143.-Kjaergard HK, Weis-Fogh US, Sorensen H, Thiis J, Rygg I. Autologous fibrin glue preparation and clinical use in thoracic surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 1992; 6 (1): 52-4.

144.-Dickneite G, Metzner HJ, Kroeze M, Hein B, Nicolay U. The importance of factor XIII as a component of fibrin sealants. *J Surg Res* 2002; 107 (2): 186-95.

145.-Pipan CM, Glasheen WP, Matthew TL, Gonias SL, Hwang LJ, Jane JA et al. Effects of antifibrinolytic agents on the life span of fibrin sealant. *J Surg Res* 1992; 53 (4): 402-7.

146.-Hedelin H, Lundholm K, Teger-Nilsson AC, Peterson HI, Pettersson S. Influence of local fibrin deposition on granulation tissue formation. A biochemical study in the rat. *Eur Surg Res* 1983; 15 (6): 312-6.

147.-Romanos GE, Strub JR. Effect of Tissucol on connective tissue matrix during wound healing: an immunohistochemical study in rat skin. *J Biomed Mater Res* 1998; 39 (3): 462-8.

148.-Byrne DJ, Hardy J, Wood RAB, McIntosh R, Cuschieri A. Effect of fibrin glues on the mechanical properties of healing wounds. *Br J Surg* 1991; 78 (7): 841-3.

149.-Hino M, Ishiko O, Honda KI, Yamane T, Ohta K, Takubo T et al. Transmission of symptomatic parvovirus B19 infection by fibrin seal used during surgery. *Br J Haematol* 2000; 108 (1): 194-5.

150.-Houston KA, Rotstein OD. Fibrin sealant in high-risk colonic anastomoses. *Arch Surg* 1988; 123 (2): 230-4.

151.-Eckersberger F, Müller MR, Wolner E. Fibrin Sealant in Tracheobronchial Surgery. En: *Fibrin Sealing in Surgical and Nonsurgical Fields: Cardiovascular Surgery, Thoracic Surgery - Vol. 6*. Primera edición. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg. New York. G. Schlag, E. Wolner, F. Eckersberger (eds.); 1995. p. 101-7.

152.-Kram HB, Hino ST, Harley DP, Fleming AW, Shoemaker WC. Use of concentrated fibrinogen in experimental tracheal repair. *J Biomed Mater Res* 1986; 20 (5): 579-87.

153.-Kedra H. Zastosowanie kleju fibrynowego w chirurgii tchawicy. *Badania doswiadczone*. *Polim Med* 1986; 16 (1-2): 31-43.

154.-Ussia G, Giardino R, Farruggia F, Salerno A, Feldmann D, Galletti M et al. Anastomosi tracheali con colla di fibrina (Tissucol). Studio sperimentale. *Minerva Chir* 1987; 42 (5): 353-7.

155.-Bassi N, Callegari P, Perini M. Validità applicative della colla di fibrina umana (Tissucol) nelle ricostruzioni tracheali. *Minerva Chir* 1989; 44 (17): 1927-31.

156.-Takagi M, Akiba T, Yamazaki Y, Nariai K, Iwaki T. The wound-healing effect of fibrin glue for tracheal anastomosis in experimental pulmonary surgery. *Surg Today* 2001; 31 (9): 845-7.

157.-Kacker A, Huo J. Reinforcement of a end to end tracheal resection anastomoses with fibrin glue: a case report. *Ear Nose Throat J* 2001; 80 (4): 234 – 8.

158.-Kram HB, Shoemaker WC, Hino ST, Chiang HS, Harley DP, Fleming AW. Tracheal repair with fibrin glue. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 90 (5): 771-5.

159.-Waclawiczek HW, Chmelizek F, Koller I. Endoscopic sealing of infected bronchus stump fistulae with fibrin following lung resections. *Surg Endosc* 1987; 1 (2): 99-102.

160.-Torre M, Chiesa G, Ravini M, Vercelloni M, Belloni PA. Endoscopic gluing of bronchopleural fistula. *Ann Thorac Surg* 1994; 58: 901-2.

161.-Herget GW, Kassa M, Riede UN, Lu Y, Brethner L, Hasse J. Experimental use of an albumin-glutaraldehyde tissue adhesive for sealing pulmonary parenchyma and bronchial anastomoses. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001; 19 (1): 4-9.

162.-Herget GW, Riede UN, Kassa M, Brethner L, Hasse J. Experimental use of an albumin-glutaraldehyde tissue adhesive for sealing tracheal anastomoses. *J Cardiovasc Surg* 2003; 44 (1): 109-13.

163.-Zaugg Y, Cuffel C, Monnier P. Releasing tension on a tracheal anastomosis: an ex vivo study on a sheep model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006; 115 (5): 398-402.

164.-Lai MH, Storey DW, Hughes CF. Repair of major airway injury using albumin–glutaraldehyde glue. *ANZ J Surg* 2001; 71 (9): 555-6.

165.-Foroulis CN, Simeoforidou M, Michaloudis D, Hatzitheofilou K. Pericardial patch repair of an extensive longitudinal iatrogenic rupture of the intrathoracic membranous trachea. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2003; 2 (4): 595-7.

166.-Passage J, Tam R, Windsor M, O'Brien M. Bioglu; A review of the use of this new surgical adhesive in thoracic surgery. *ANZ J Surg* 2005; 75 (5): 315–8.

167.-Wain JC, Kaiser LR, Johnstone DN, Yang SC, Wright CD, Friedberg JS. Trial of a novel synthetic sealant in preventing air leaks after lung resection. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 1623-9.

168.-Wallace DG, Cruise GM, Rhee WM, Schroeder JA, Prior JJ, Ju J et al. A tissue sealant based on reactive multifunctional polyethylene glycol. *J Biomed Mater Res* 2001; 58 (5): 545-55.

169.-Vaquero C, González-Perea J, Rodríguez-Toves LA, Diago MV, Verrier A. La rata como animal de experimentación. En: *Manual de Microcirugía Experimental en la rata*. 1ª edición. Valladolid: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid; 1988. p.21-49.

170.-Martínez Parente J. La rata de laboratorio y el bioterio de la unidad sur del Cinvestav. *Avance y Perspectiva* 2004; 23 (3): 43-5.

171.-Greene EC. Thoracic viscera. En: *Anatomy of the rat*. 1ª edición. New York, USA: Hafner Publishing Company; 1963.p.89.

172.-Martín-Lacave I. Cartílago hialino (Tráquea, rata, HE). En: *Atlas práctico de histología*. 2ª edición. Madrid: Ediciones Díaz de Santos; 2005. p.4.

173.- Vaquero C, González-Perea J, Rodríguez-Toves LA, Diago MV, Verrier A. Material de microcirugía. En: *Manual de Microcirugía Experimental en la rata*. 1ª edición. Valladolid: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid; 1988. p.51-75.

174.-Vaquero C. Técnica quirúrgica. En: *Conceptos básicos en Medicina y Cirugía Experimental*. 1ª edición. Valladolid: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid; 1998. p. 65-90.

175.-Hancock NJ, Samuel AW. Use of Dermabond tissue adhesive in hand surgery. *J Wound Care* 2007; 16 (10): 441-3.

176.-Silvestri A, Brandi C, Grimaldi L, Nisi G, Brafa A, Calabrò M et al. Octyl-2-cyanoacrylate adhesive for skin closure and prevention of infection in plastic surgery. *Aesthetic Plast Surg* 2006 ; 30 (6): 695-9.

177.-Nitsch A, Pabyk A, Honig JF, Verheggen R, Merten HA. Cellular, histomorphologic, and clinical characteristics of a new octyl-2-cyanoacrylate skin adhesive. *Aesthetic Plast Surg* 2005; 29 (1): 53-8.

178.-Romeo G. Applications of Tissucol in larynx, trachea and neck surgery. *Revue Laryngo* 1989; 110 (1): 121-2.

179.-Jessen C, Sharma P. Use of fibrin glue in thoracic surgery. *Ann Thorac Surg* 1985; 39 (6): 521-4.

180.-Spotnitz WD. As originally published in 1990: Four years' experience with fibrin sealant in thoracic and cardiovascular surgery. Updated in 1998. *Ann Thorac Surg* 1998; 65 (2): 592-3.

181.-Hruby G, Marruffo F, Durak E, Collins S, Herron A, Landman J. Comparison of BioGlue reinforced and standard running sutured vesicourethral anastomoses. *Urology* 2006; 68 (6): 1355-9.

182.-Fisher WE, Chai C, Hodges SE, Wu MF, Hilsenbeck SG, Brunicaardi FC. Effect of BioGlue on the incidence of pancreatic fistula following pancreas resection. *Gastrointest Surg* 2008; 12 (5): 882-90.

183.-Zehr KJ. Use of bovine albumin-glutaraldehyde glue in cardiovascular surgery. *Ann Thorac Surg* 2007; 84 (3): 1048-52.

184.-Buskens E, Meijboom MJ, Kooijman H, Van Hout BA. The use of a surgical sealant (CoSeal) in cardiac and vascular reconstructive surgery: an economic analysis. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2006; 47 (2): 161-70.

185.-Venuta F, Diso D, De Giacomo T, Anile M, Rendina EA, Coloni GF. Use of a polymeric sealant to reduce air leaks after lobectomy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 132 (2): 422-3.

186.-Directiva 2003/65/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de julio de 2003 por la que se modifica la Directiva 86/609/CEE del Consejo relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. (D.O.U.E., L 230, de 16-9-2003).

187.-Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. (B.O.E., nº 252, de 21-10-2005).

188.-Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. (B.O.E., nº 268, de 8-11-2007).

189.-Vaquero C, González-Perea J, Rodríguez-Toves LA, Diago MV, Verrier A. Anestesia en la rata. En: Manual de Microcirugía Experimental en la rata. 1ª edición. Valladolid: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid; 1988. p.81-99.

190.-Vaquero C, González-Perea J, Rodríguez-Toves LA, Diago MV, Verrier A. Disección de los principales ejes vasculares en la rata. En: Manual de Microcirugía Experimental en la rata. 1ª edición. Valladolid: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid; 1988. p.101-103.

191.-Gil-Carcedo E, Vallejo LA, Gutiérrez V, Gil-Carcedo LM, Vaquero C. Traqueotomía y laringectomía en el animal de experimentación. Span J Surg Res 2000; III (1): 21-4.

192.-Vaquero C, González-Perea J, Rodríguez-Toves LA, Diago MV, Verrier A. El laboratorio de microcirugía experimental. En: Manual de Microcirugía Experimental en la rata. 1ª edición. Valladolid: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid; 1988. p.15-20.

193.-Vaquero C. El laboratorio en Medicina y Cirugía Experimental. En: Conceptos básicos en Medicina y Cirugía Experimental. 1ª edición. Valladolid: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid; 1998. p. 53-63.

194.-Vaquero C. Técnicas morfológicas En: Conceptos básicos en Medicina y Cirugía Experimental. 1ª edición. Valladolid: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid; 1998. p. 131-58.

195.-Maeda M, Grillo HC. Effect of tension on tracheal growth after resection and anastomosis in puppies. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1973; 65 (4): 658–68.

196.-Kotake Y, Grillo HC. Reduction of tension at the anastomosis following tracheal resection in puppies. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1976; 71 (4): 600–4.

197.-Kubota I, Shibata K, Onitsuka T, Koga Y. Growth of tracheal autografts in puppies. *Surg Today* 1997; 27 (4): 321-9.

198.-Murphy DA, Dunn GL, Poirier N, Martin M. Growth of tracheal anastomoses. An experimental study in weanling pigs. *Ann Thorac Surg* 1973; 16 (2): 158-62.

199.-Waclawiczek HW, Chmelizek F. Endoscopic treatment of bronchus stump fistulae following pneumectomy with fibrin sealant in domestic pigs. *Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 33 (6): 344-6.

200.-Friedman E, Pérez-Atayde AR, Silvera M, Jonas RA. Growth of tracheal anastomoses in lambs: comparison of PDS and Vicryl suture material and interrupted and continuous techniques. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 100 (2): 188–93.

201.-Behrend M, Kluge E, Schuttler W, Klempnauer J. A. Comparison of interrupted and continuous sutures for tracheal anastomoses in sheep. *Eur J Surg* 2002; 168 (2): 101-6.



202.-Behrend M, Kluge E, Schuttler W, Klemptner J. The mechanical stability under load of tracheal anastomoses after various phases in vivo. *Laryngoscope* 2002; 112 (2): 364-9.

203.-Urschel JD. Comparison of anastomotic suturing techniques in the rat trachea. *J Surg Oncol* 1996; 63 (4): 249-50.

204.-Hyytinen T, Paavonen T, Inkinen K, Ahonen J, Mattila S. Airway anastomotic healing in the rat tracheal autograft. *Eur Surg Res* 1999; 31 (2): 155-61.

205.-Lazard DS, Sebah M, Legagneux J, Vignes JL, Masquelet AC, Chabolle F. Anastomose trachéale: fil monofilament résorbable versus non resorbable. Etude expérimentale chez la rat. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac* 2004; 121 (3): 156-60.

206.-Abenia Ingalaturre JM, La Hoz Zamarro T, Valles Varela H. Homotrasplantes en tráquea cervical: resultados clínicos e histopatológicos. *Acta Otorrinolaringol Esp* 1992; 43 (6): 431-8.

207.-Genden EM, Boros P, Liu J, Bromberg JS, Mayer L. Orthotopic tracheal transplantation in the murine model. *Transplantation* 2002; 73 (9): 1420-5.

208.-Genden EM, Iskander AJ, Bromberg JS, Mayer L. Orthotopic tracheal allografts undergo reepithelialization with recipient-derived epithelium. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129 (1): 118-23.

209.-Farinon AM, Zannoni M, Lampugnani R, De Franco S, Freddi M. In tema di anatomia chirurgica dell'aparato tracheo-bronco-polmonare nei piú comuni animali da esperimento. *Chir Patol Sper* 1981; 29 (1): 1-13.

210.-Rea F, Calabrò F, Busetto A, Fassina A, Sartori F. Confronto tra monofilamento riassorbibile e non riassorbibile nelle suture tracheali. Studio sperimentale sul ratto. *Minerva Chir* 1988; 43 (6): 515-8.

211.-Sasano Y, Mizoguchi I, Furusawa M, Aiba N, Ohtani E, Iwamatsu Y, Kagayama M. The process of calcification during development of the rat tracheal cartilage characterized by distribution of alkaline phosphatase activity and immunolocalization of types I and II collagens and glycosaminoglycans of proteoglycans. *Anat Embryol (Berl)* 1993; 188 (1): 31-9.

212.-Grillo HC. Tracheostomy, minitracheostomy and closure of persistent stoma. En: Grillo HC. *Surgery of the trachea and bronchi*. Primera edición. Hamilton, Ontario: BC Decker Inc; 2004. p. 499-506.

213.-Friedberg SA, Griffith TE, Hass GM. Histologic changes in the trachea following tracheostomy. *Ann Otol Rhinol Laringol* 1965; 74 (3): 785-98.

214.-Galil KA, Schofield ID, Wright GZ. Detection of cyanoacrylate tissue adhesive in histological sections. *J Biomed Mater Res* 1984; 18 (6): 609-16.

215.-Doolin EJ, Strande LF, Sheng X, Hewitt CW. Engineering a composite neotrachea with surgical adhesives. *J Pediatr Surg* 2002; 37 (7): 1034-7.

216.-Kang DR, Leong H, Foss R, Martin P, Brooker CR, Seid AB. Sutureless cartilage graft laryngotracheal reconstruction using fibrin sealant. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 124 (6): 665-70.

217.-Kobayashi H, Sekine T, Nakamura T, Shimizu Y. In vivo evaluation of a new sealant material on a rat lung air leak model. J Biomed Mater Res 2001; 58 (6): 658-65.



**ANEXO.**



## ÍNDICE DE TABLAS.

<b>Tabla I.-</b>	Peso de los animales de experimentación .....	75
<b>Tabla II.-</b>	Fórmula del formol tamponado al 10% .....	107
<b>Tabla III.-</b>	Proceso de inclusión automática .....	108
<b>Tabla IV.-</b>	Proceso de desparafinación .....	110
<b>Tabla V.-</b>	Proceso de aclaramiento .....	112
<b>Tabla VI.-</b>	Éxitus intraoperatorios y en postoperatorio inmediato .....	115
<b>Tabla VII.-</b>	Éxitus en período postoperatorio .....	118
<b>Tabla VIII.-</b>	Hallazgos histológicos en cada grupo .....	138

## ÍNDICE DE FIGURAS.

<b>Figura 1.-</b>	Fórmula del alquil-2-cianoacrilato.....	47
<b>Figura 2.-</b>	Mecanismo de toxicidad del cianoacrilato.....	48
<b>Figura 3.-</b>	Anatomía cervical de la rata .....	65
<b>Figura 4.-</b>	Histología traqueal de la rata .....	66
<b>Figura 5.-</b>	Biopsy Punch de Stiefel .....	77
<b>Figura 6.-</b>	Fórmula del octil-2-cianoacrilato.....	80
<b>Figura 7.-</b>	Sellante Dermabond® .....	81
<b>Figura 8.-</b>	Sellante Tissucol®.....	83
<b>Figura 9.-</b>	Mecanismo de reacción del Bioglue®.....	85
<b>Figura 10.-</b>	Sellante Bioglue® .....	87
<b>Figura 11.-</b>	Estructura del 4S-PEG y del 4T-PEG .....	88
<b>Figura 12.-</b>	Sellante Coseal® .....	90
<b>Figura 13.-</b>	Posición del animal en el tablero de disección.....	94
<b>Figura 14.-</b>	Incisión cervical cutánea longitudinal .....	95
<b>Figura 15.-</b>	Disección de las glándulas submandibulares .....	95
<b>Figura 16.-</b>	Disección de la musculatura pretraqueal .....	96
<b>Figura 17.-</b>	Disección de los tejidos peritraqueales .....	97
<b>Figura 18.-</b>	Realización de la traqueotomía en la rata.....	98
<b>Figura 19.-</b>	Aplicación del sellante Dermabond® .....	99
<b>Figura 20.-</b>	Aplicación del sellante Tissucol® .....	99
<b>Figura 21.-</b>	Aplicación del sellante Bioglue® .....	100
<b>Figura 22.-</b>	Aplicación del sellante Coseal® .....	100
<b>Figura 23.-</b>	Sutura de la glándula submandibular .....	101
<b>Figura 24.-</b>	Sutura cutánea .....	101
<b>Figura 25.-</b>	Autopsia y extracción del bloque de estudio.....	105
<b>Figura 26.-</b>	Molde traqueal de Dermabond® .....	116
<b>Figura 27.-</b>	Molde traqueal postmortem de Coseal® .....	117
<b>Figura 28.-</b>	Preparación grupo Control mostrando cartílago, mucosa y pericondrio normales.....	122
<b>Figura 29.-</b>	Preparación grupo Control mostrando cartílago, tejido fibroso regular y músculo.....	123
<b>Figura 30.-</b>	Preparación grupo Control mostrando cartílago, pericondrio y necrosis mucosa .....	124
<b>Figura 31.-</b>	Preparación grupo Control mostrando estructuras glandulares normales .....	124



---

<b>Figura 32.-</b>	Preparación grupo Testigo mostrando tejido fibroso, cartílago y vasos .....	125
<b>Figura 33.-</b>	Preparación grupo Testigo mostrando glándulas con estructura normal .....	126
<b>Figura 34.-</b>	Preparación grupo Testigo mostrando tejido fibroso y estructuras glandulares .....	127
<b>Figura 35.-</b>	Preparación grupo Dermabond® mostrando tejido fibroso denso e inflamación linfocitaria.....	128
<b>Figura 36.-</b>	Preparación grupo Dermabond® mostrando glándulas quísticas e inflamación.....	129
<b>Figura 37.-</b>	Preparación grupo Dermabond® mostrando acúmulos linfocitos e inflamación linfocitaria .....	130
<b>Figura 38.-</b>	Preparación grupo Tissucol® mostrando glándulas dilatadas y células inflamatorias.....	132
<b>Figura 39.-</b>	Preparación grupo Tissucol® mostrando epitelio escamoso y congestión vascular.....	133
<b>Figura 40.-</b>	Preparación grupo Bioglue® mostrando glándulas dilatadas e inflamación con eosinófilos .....	134
<b>Figura 41.-</b>	Preparación grupo Bioglue® mostrando cartílago, glándulas e inflamación.....	135
<b>Figura 42.-</b>	Preparación grupo Coseal® mostrando tejido fibroso estructurado.....	136
<b>Figura 43.-</b>	Preparación grupo Coseal® mostrando mucosa traqueal con glándulas normales.....	137

## ABREVIATURAS.

<b>BOE</b>	Boletín Oficial del Estado.
<b>EFG</b>	Factor de crecimiento epidérmico.
<b>FGF</b>	Factor de crecimiento de los fibroblastos.
<b>IFN</b>	Interferón.
<b>IGF-1</b>	Factor de crecimiento insulín-like 1.
<b>IL-1</b>	Interleukina 1.
<b>IL-2</b>	Interleukina 2.
<b>KGF</b>	Factor de crecimiento de los queratinocitos.
<b>LCR</b>	Líquido cefalorraquídeo.
<b>PDGF</b>	Factor de crecimiento derivado de plaquetas.
<b>PEG</b>	Polietilenglicol.
<b>4S-PEG</b>	Pentaeritritol PEG éter tetrasuccinimidil glutarato.
<b>4T-PEG</b>	Pentaeritritol PEG éter tetratiol.
<b>PGE<math>\alpha</math></b>	Prostaglandina E $\alpha$ .
<b>PGF2<math>\alpha</math></b>	Prostaglandina F2 $\alpha$ .
<b>PGI2</b>	Prostaglandina I2.
<b>TGF <math>\alpha</math></b>	Transforming growth factor $\alpha$ .
<b>TGF <math>\beta</math></b>	Transforming growth factor $\beta$ .
<b>TNF <math>\alpha</math></b>	Factor de necrosis tumoral $\alpha$ .
<b>TXA2</b>	Tromboxano A2.