



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

Índice

Índice.....	1
Resumen / Abstract.....	3
a. Resumen.....	3
b. Abstract	4
Introducción.....	5
Justificación y objetivos.....	8
Metodología.....	9
a. Animales.....	9
b. Modelos de estenosis traqueal.....	11
i. Modelo de estenosis post-intubación basado en el modelo desarrollado por Lee et al. en 2015 (Lee <i>et al.</i> , 2015).....	11
ii. Modelo de traqueomalacia basado en el modelo desarrollado por Gorostidi et al. en 2018 (Gorostidi <i>et al.</i> , 2018).	13
iii. Modelo de anastomosis basado en el modelo desarrollado por Akaki-Caballero et al. en 2015 (Akaki-Caballero, Gibrán Mar-Yáñez y Amós Amador-Zapata, 2015).	15
c. Seguimiento de los animales.....	16
i. Seguimiento del estado clínico de los animales.....	17
ii. Evaluación fluoroscópica 15 días después de la intervención.	17
iii. Evaluación fluoroscópica y endoscópica 30 días después de la intervención.	18
iv. Evaluación fluoroscópica, endoscópica, eutanasia y obtención de la pieza anatómica 88 días después de la intervención.	18
Resultados y discusión	19
a. Resultados del procedimiento quirúrgico.....	19
b. Resultados del seguimiento clínico de los conejos.	20
c. Resultados del estudio mediante fluoroscopia a D15, D30 y D88.	21
i. Evaluación fluoroscópica 15 días después de la intervención.	21
ii. Evaluación fluoroscópica 30 días después de la intervención.	23

iii. Evaluación fluoroscópica 88 días después de la intervención.	24
iv. Resumen de la evaluación fluoroscópica.	25
d. Resultados del estudio endoscópico a D30 y D88.....	26
i. Evaluación endoscópica 30 días después de la intervención.....	26
ii. Evaluación endoscópica 88 días después de la intervención.....	27
e. Resultados de anatomía patológica.	28
f. Discusión	30
Conclusiones / Conclusions.....	34
g. Conclusiones.....	34
h. Conclusions	35
Valoración personal	36
Bibliografía	37

Resumen / Abstract

a. Resumen

La estenosis traqueal es una patología de diversos orígenes que afecta a humanos y animales, pudiendo comprometer la vida del paciente. Para solucionarla se han utilizado *stents* traqueales de silicona, metálicos, cubiertos de polímeros y recuperables, pero los resultados son poco satisfactorios. Por ello, se abre una vía de investigación, como son los *stents* biodegradables. Se ha llevado a cabo una primera fase de investigación de la respuesta traqueal a estos *stents* en animales con tráqueas sanas para valorar sus efectos adversos. Esto hace necesario pasar a la segunda fase para valorar su comportamiento en un modelo animal con patología traqueal.

Los objetivos del proyecto se centran en poner a punto un modelo animal de estenosis traqueal para posteriormente evaluar el tratamiento con prótesis biodegradables, verificando la viabilidad del modelo en el conejo, comparando los tres tipos de estenosis creados según diferentes autores y valorando la posibilidad de colocar prótesis.

Para ello, se lleva a cabo un estudio experimental *in vivo* con seis conejos (*Oryctolagus cuniculus*) hembras adultas de raza neozelandesa. Se dividen en tres grupos de dos individuos cada uno, y a cada grupo se realiza un modelo diferente: modelo de estenosis post-intubación, de traqueomalacia o de anastomosis.

Posteriormente, se sigue el estado clínico del animal y se realizan evaluaciones fluoroscópicas y endoscópicas de la tráquea, seguido de la eutanasia a día 88 y el estudio anatomopatológico de la pieza anatómica.

Los conejos sobreviven sin presentar graves complicaciones. Los resultados muestran un mayor grado de estenosis en el modelo de traqueomalacia con carácter dinámico, menor en el de anastomosis y una mayor variabilidad en el de estenosis post-intubación. Por lo tanto, para estudios posteriores se elegiría el modelo de traqueomalacia en aquellos que requieran reproducir esta patología, y el de anastomosis termino-terminal en los que pretendan reproducir estenosis cicatricial.

b. Abstract

Diverse causes are able to provoke tracheal stenosis on humans and animals and compromise the life of the patient. In an attempt to treat it, silicone, metallic, covered with polymers and recoverable tracheal stent have been used with unfavorable outcomes. Work has therefore commenced to investigate biodegradable stent. The first research stage has been released to check adverse effects in animals with healthy tracheas. The next stage will evaluate the effect in animal models with tracheal pathology.

In this line of research, this study will focus on preparing an animal model of tracheal stenosis. Later on, the effects of biodegradable stents are reviewed to verifying the viability of the rabbit model and comparing the three model types made by different authors. Finally, prostheses are appraised to be used if it is possible.

The study has been developed in vivo with six female, adult, New Zealand rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). Those animals have been separated in three groups of two rabbits each. Post-intubation stenosis, tracheomalacia or anastomosis models are assigned to each group.

After that, clinical conditions are checked and fluoroscopic and endoscopic evaluations of the trachea are performed. The animals are euthanized at eighty-eighth day and tissues are sent for anatomopathological examination.

Rabbits survive without serious complications. Tracheomalacia model has shown a greater degree of stenosis and dynamic character than the others. Anastomosis model has been the least one and post-intubation's one has had the most variability. Because of this, tracheomalacia's one will be used in subsequent studies which require reproducing the pathology and end-to-end anastomosis model in scar stenosis.

Introducción

La estenosis traqueal es una patología de diversos orígenes que afecta tanto a humanos como a animales y que puede poner en peligro la vida del paciente porque la entrada del aire se puede ver comprometida. El objetivo principal del tratamiento es restablecer el correcto flujo de aire a través de la tráquea, y para ello existen diferentes alternativas según el origen de la estenosis, desde la cirugía abierta, a la colocación de prótesis endoluminales.

El uso de *stents* traqueales está ampliamente extendido para tratar estenosis malignas, siendo su uso más controvertido en las estenosis no neoplásicas por las complicaciones que pueden originar a medio - largo plazo. Los *stents* comúnmente usados en la tráquea pueden ser de silicona o metálicos, y cada tipo tiene sus ventajas y desventajas. Los *stents* de silicona requieren broncoscopia rígida y anestesia general para su inserción y se asocian a retención de secreciones con frecuente sobreinfección. Por otro lado, los *stents* metálicos se pueden introducir con relativa facilidad a través del canal de trabajo del broncoscopio flexible y luego expandirse hasta alcanzar el diámetro requerido, sin necesidad de anestesia general.

Sin embargo, la mayoría de los *stents* metálicos presentan problemas de migración, fractura por fatiga de los materiales, producción de granulomas y encapsulamiento fibroso, que impide en muchos casos su retirada (Saad *et al.*, 2003; Serrano *et al.*, 2013). Algunas de las desventajas de los *stents* metálicos se han intentado resolver con *stents* cubiertos de polímeros y *stents* recuperables, sin resultados claramente ventajosos hasta ahora (Zhou *et al.*, 2015).

Los *stents* recuperables contruidos de una doble malla de nitinol se perfilan como una alternativa terapéutica en lesiones benignas traqueobronquiales (Chen *et al.*, 2013). Los *stents* cubiertos de polímero pueden permanecer en árbol traqueobronquial durante varios meses y después se podrían recuperar con fibrobroncoscopio o broncoscopio rígido. A pesar de esto, se han descrito lesiones epiteliales en los extremos proximal y distal al *stent*, e importantes trastornos en el transporte ciliar (Rampey, Silvestri y Gillespie, 2007).

Los *stents* liberadores de drogas (*drug-eluting stents*, DES) combinan una estructura metálica con un sistema que libera gradualmente drogas anti-proliferativas y/o anti-inflamatorias en el tejido circundante, y su uso ha alcanzado gran auge en patología vascular, sobre todo coronaria (Deconinck *et al.*, 2008). Desde un punto de vista teórico, su uso sería ventajoso también en la vía aérea, especialmente para prevenir el encapsulamiento fibroso o el crecimiento intraluminal en caso de lesiones malignas (Hohenforst-Schmidt *et al.*, 2016).

En este sentido, el grupo de investigación GITMI (*Grupo de investigación en técnicas mínimamente invasivas. Grupo de Referencia B36_17R del Gobierno de Aragón*), dentro del que se enmarca el estudio que se presenta en este TFG, ha llevado a cabo un proyecto orientado a estudiar los problemas asociados al uso de *stents* metálicos en la vía aérea. En él combina un estudio *in vivo*, con implantación de tres tipos de *stents* metálicos expandibles en animal de experimentación (conejo), y otro *in vitro*, en el que esos mismos tipos de *stents* se co-cultivan con células epiteliales respiratorias y fibroblastos.

Los resultados de estas investigaciones resaltan el hallazgo de que el modelo de *stent* compuesto por una aleación de níquel y titanio (nitinol) y con liberación de paclitaxel provoca una marcada destrucción del tejido traqueal y estenosis severa en la vía aérea (Arellano Orden *et al.*, 2013; Chaure *et al.*, 2016; Serrano *et al.*, 2016). Además, los tres tipos de *stents* (especialmente el constituido por una aleación de cobalto, cromo, níquel y molibdeno) inducen un marcado grado de inflamación, con alta expresión de citoquinas proinflamatorias en lavado traqueal y en sangre periférica (Arellano-Orden *et al.*, 2017).

Estos hallazgos, poco satisfactorios para la resolución de problemas de estenosis en el árbol traqueobronquial, inducen a explorar otras vías de investigación, como son los *stents* absorbibles contruidos con polímeros biocompatibles y degradables. Estos, recubiertos o no de drogas inhibitoras de la proliferación, producirían hipotéticamente una menor reacción inflamatoria y desaparecerían de la tráquea tras remodelar su luz (Waksman y Pakala, 2011; Boland *et al.*, 2016). Se han utilizado con éxito en el territorio vascular coronario y periférico (Escárcega *et al.*, 2014; Pandya, 2016) y en la vía aérea se han testado varios polímeros biodegradables en modelos animales.

Se han utilizado *stents* de ácido poli (láctico-co-glicólico) (PLGA) (Liu *et al.*, 2011) y la policaprolactona (PCL) en la tráquea de conejos, consiguiendo buena tolerancia y leve reacción inflamatoria en estudios con seguimiento de hasta 28 semanas (Robey *et al.*, 2000). Korpela *et al.* comparan la reactividad de la mucosa traqueal en un modelo animal implantando una espiral metálica recubierta de PLGA y *stent* de silicona como control. El *stent* metálico con polímero absorbible es bien tolerado en los 10 meses de seguimiento, con recuperación parcial del epitelio ciliado (Korpela *et al.*, 1998).

La polidioxanona es otro polímero comercializado que ha mostrado muy buenos resultados tanto a nivel experimental como en humanos en otras áreas anatómicas (Novotny *et al.*, 2012; Stehlik *et al.*, 2015; Antón-Pacheco *et al.*, 2016). GITMI tiene experiencia en el uso de

polidioxanona en el tubo digestivo y en el árbol biliar (Mauri *et al.*, 2016), y observa fenómenos inflamatorios en la vía biliar tras su implantación en algunos casos.

En la actualidad se está finalizando un estudio en el que se evalúa la respuesta traqueal frente a la colocación de *stents* biodegradables. En este caso se han implantado en tráqueas sanas de conejo de raza Neozelandesa y los resultados están siendo positivos (Rodríguez-Zapater *et al.*, 2020). No obstante, el siguiente paso es probar estas prótesis en un escenario más cercano a la realidad de la patología, en un modelo animal de estenosis traqueal, motivo por el cual se realiza este estudio.

Justificación y objetivos

En estenosis benignas en humana, como es el caso de algunas estenosis traqueales post-intubación, traqueomalacia congénita en niños o estenosis tras anastomosis traqueales en cirugía traqueal o trasplante de pulmón, no está indicado colocar *stents* metálicos, porque a pesar de sus ventajas, el riesgo de complicaciones es elevado. De hecho, en 2005, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (*FDA Public Health Notification: Complications from Metallic Tracheal Stents in Patients with Benign Airway Disorders*, 2005) advirtió del peligro del uso de *stents* metálicos en las lesiones benignas. En la actualidad, la indicación es colocar *stents* de silicona aunque no están exentos de complicaciones. Se trata de un problema en el que no se ha encontrado el tratamiento ideal, y por eso continúa la investigación en este sentido.

Teniendo en cuenta los problemas relacionados con los modelos de *stents* usados actualmente en la patología traqueal, se ha planteado el desarrollo de *stents* absorbibles biodegradables para la vía aérea, que mantendrían su permeabilidad durante un tiempo pre-establecido, tras el cual desaparecerían por hidrólisis (Zhu *et al.*, 2011). Estos *stents* pueden combinarse con sistemas liberadores de drogas para prevenir la proliferación de fibroblastos, una reacción inflamatoria exagerada durante su degradación o la formación de granulomas.

Sin embargo, el patrón y ritmo de degradación de esos materiales y la inducción de marcada inflamación en el tejido traqueal constituyen todavía serios problemas que complican la seguridad de su aplicación en humanos.

Por todo ello, se ha realizado la primera fase de investigación en tráqueas sanas para valorar los efectos adversos de este tipo de prótesis, y queda justificada una segunda fase de estudio de la respuesta de estas en modelo animal de estenosis traqueal. Antes de comenzar este proyecto hay que poner a punto el modelo animal de estenosis traqueal mediante un estudio piloto.

Los objetivos que se persiguen con este proyecto son:

- Desarrollar un modelo animal de estenosis traqueal para la posterior evaluación del tratamiento con prótesis.
- Verificar la viabilidad del modelo de estenosis en conejo
- Comparar los tres tipos de estenosis creados para determinar cuál es la que más se asemeja a la patología real en pacientes.
- Evaluar la posibilidad de colocar prótesis posteriormente.

Metodología

Se trata de un estudio experimental *in vivo*. Todos los procedimientos experimentales que se han realizado cumplen la Normativa sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos publicada en el RD53/2013, que traspone la Directiva de la Unión Europea 2010/63. El código de aprobación de la Comisión ética asesora para la experimentación animal de la Universidad de Zaragoza para este estudio es PI45/19.

a. Animales.

En el estudio se emplean seis conejos (*Oryctolagus cuniculus*) hembras adultas de raza neozelandesa. La elección de esta especie es debida a la reducida variabilidad entre individuos, las características de la tráquea del conejo (gran reactividad a cuerpos extraños y semejanza histológica a la tráquea humana), experiencia del grupo de investigación y coste. Se emplean animales adultos, que ya han finalizado la etapa de crecimiento, para evitar la modificación del tamaño de la tráquea durante la duración del proyecto.

Los animales se numeran del 031 al 036 y se dividen en tres grupos de dos individuos cada uno. En cada grupo se realiza un modelo de estenosis traqueal diferente basado en la bibliografía, de tal forma que al 031 y 032 se realiza el modelo de estenosis post-intubación (Lee et al., 2015), al 033 y 034 el modelo de traqueomalacia (Gorostidi et al., 2018) y al 035 y 036 el modelo de anastomosis (Akaki-Caballero, Gibrán Mar-Yáñez y Amós Amador-Zapata, 2015).

Todos los procedimientos se realizan bajo anestesia general del animal. Los objetivos a alcanzar mediante el protocolo anestésico son los siguientes:

- Facilitar el manejo del animal y/o la realización de procedimientos quirúrgicos dolorosos.
- Proporcionar un trato digno a los animales, reduciendo al mínimo el sufrimiento asociado a dicho manejo, evitando situaciones dolorosas, de angustia o ansiedad.
- Minimizar las consecuencias negativas de la cirugía sobre la fisiología del animal.
- Permitir la realización de procedimientos imposibles de hacer con el animal consciente.
- Evitar interferencias de la anestesia en el procedimiento y en los resultados obtenidos.

Antes de comenzar a manipular al animal, o durante la preanestesia en el caso de animales nerviosos, se lleva a cabo la exploración física del paciente. El objetivo es comprobar el estado

de salud de cada individuo antes de iniciar el estudio, garantizando la buena condición física del animal.

Se valora el estado general, peso, aspecto de piel y pelo, color de las mucosas, tiempo de relleno capilar, grado de hidratación, temperatura rectal, reflejo tusígeno, palpación abdominal y de ganglios linfáticos, frecuencia y auscultación cardíaca y respiratoria.

En el estudio se administra una combinación de fármacos vía intramuscular (IM). La asociación de diferentes fármacos permite potenciar el efecto de los mismos y conseguir una anestesia mucho más eficaz. Se inyecta una asociación de medetomidina (Sedator, Eurovet Animal Health, Países Bajos) (0,5 mg/kg) y ketamina (Imalgene Merial, España) (25 mg/kg). Además, a todos los animales se les administra una dosis de oxitetraciclina dihidrato (Terramicina® L.A., Zoetis, España) (0,1 ml/kg) IM antes de la intervención y meloxicam (Metacam®, Boehringer Ingelheim, España) (0,2 mg/kg) subcutáneo (SC) durante cinco días como cobertura analgésica.

Una vez conseguida la inmovilización y decúbito lateral del animal, se cateteriza la vena marginal de la oreja mediante un catéter del tipo catéter sobre-la-aguja (Vasocan, B. Braun, Alemania) de calibre 24G, para mantener una vía permeable durante el procedimiento. El plano anestésico se mantiene mediante la administración de bolos de ketamina IM cuando se considere necesario. Únicamente ha sido necesaria la administración de más dosis de ketamina durante la intervención en los conejos 031 y 033

Para la colocación del catéter se rasura la zona, se desinfecta con alcohol y una vez colocado se fija con ayuda de esparadrapo para evitar que se mueva durante la intervención. Como fluidoterapia de mantenimiento se utiliza solución salina fisiológica 0.9% (Grifols S.A, España). Seguidamente, se deposita lubricante oftálmico en gel para evitar la formación de úlceras corneales durante la anestesia. Se coloca en decúbito dorsal y se procede a preparar el campo quirúrgico rasurando la zona ventral del cuello y realizando lavados con clorhexidina jabonosa diluida en agua a temperatura ambiente.

Se coloca en la mesa de quirófano y se procede a la oxigenación mediante una mascarilla laríngea (v-gel®, Docsinnovent, Reino Unido) conectada a un circuito abierto (T de Ayre), con posibilidad de intubación endotraqueal en caso de ser necesaria.

Posteriormente se coloca al animal en decúbito dorsal sobre una estructura de sujeción para garantizar la correcta colocación y la comodidad del animal. El cuello del animal se coloca en hiperextensión y las extremidades delanteras se colocan hacia caudal (*Figura 1*).



Figura 1: Colocación del animal en la mesa de quirófano y monitorización.

Una vez conseguida la posición adecuada, se procede a la monitorización mediante pulsioximetría, electrocardiografía, toma de presión arterial, temperatura y capnografía. Dicha monitorización permite evaluar la adecuación de la misma y el estado de las funciones fisiológicas vitales durante la anestesia.

Finalmente, se realizan tres lavados con povidona yodada alcohólica y se prepara el campo quirúrgico con paños estériles y cangrejos.

b. Modelos de estenosis traqueal.

Se van a realizar tres modelos diferentes de estenosis traqueal:

- Modelo de estenosis post-intubación basado en el modelo desarrollado por Lee *et al.* en 2015 (Lee *et al.*, 2015).
- Modelo de traqueomalacia basado en el modelo desarrollado por Gorostidi *et al.* en 2018 (Gorostidi *et al.*, 2018).
- Modelo de anastomosis basado en el modelo desarrollado por Akaki-Caballero *et al.* en 2015 (Akaki-Caballero, Gibrán Mar-Yáñez y Amós Amador-Zapata, 2015).

- i. Modelo de estenosis post-intubación basado en el modelo desarrollado por Lee *et al.* en 2015 (Lee *et al.*, 2015).

Para llevarlo a cabo se realiza una incisión longitudinal de 3 cm en la línea media del cuello ventral. Se diseca el tejido subcutáneo y el plano muscular para exponer la tráquea. Se colocan dos puntos de tracción en el quinto y sexto anillo traqueal con sutura de gliconato, 4/0 montado sobre aguja cilíndrica (monosyn®, B. Braun, España), y se realiza una incisión transversal de dos tercios de circunferencia entre los anillos 5º y 6º.

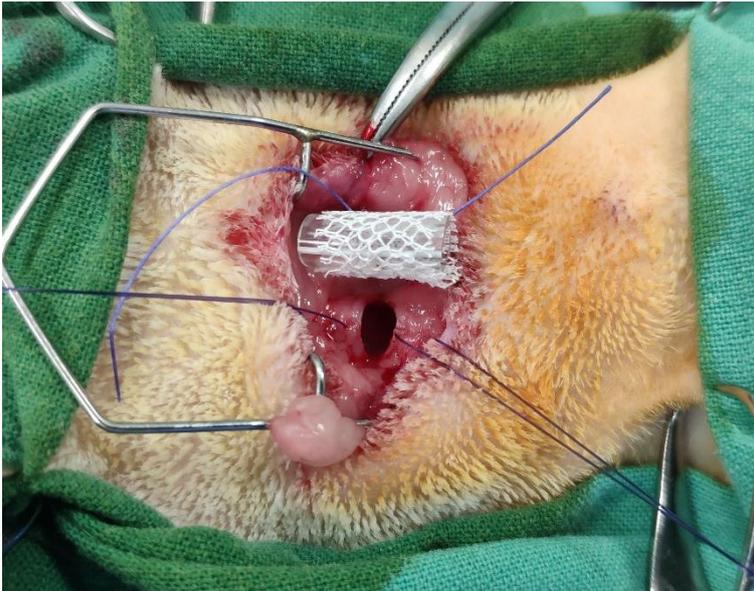


Figura 2: Fragmento de tubo endotraqueal con el hemostático absorbible y zona de incisión de la tráquea.

A continuación, a través de la traqueotomía realizada, se introduce en la luz traqueal un fragmento tubular previamente preparado. Se trata de un segmento de 1,5 cm de longitud de un tubo endotraqueal pediátrico de 2.5 mm de diámetro interno recubierto con una vuelta de un hemostático absorbible de celulosa oxidada (Cellistyp[®], B. Braun, República Checa)

(Figura 2). El hemostático absorbible se fija al fragmento de tubo endotraqueal con un punto en U con sutura quirúrgica de 90/10 poli(glicolida-co-L-lactida), trenzada, impregnada, absorbible 4/0 montado sobre aguja cilíndrica (novosyn[®], B. Braun, España). La finalidad de este hemostático absorbible es conseguir un mejor ajuste del tubo endotraqueal al diámetro de la tráquea.

Tras la introducción del tubo, se colocan los anillos traqueales en su posición anatómica. Se sutura la incisión de los anillos traqueales con novosyn[®] 4/0 montado sobre aguja cilíndrica y con un patrón de sutura en puntos sueltos, de tal forma que primero se presentan todos los puntos y finalmente se anudan (Figura 3).



Figura 3: Tráquea suturada.



Figura 4: Traqueoscopia después de la cirugía del conejo 032.

Se retiran los puntos de tracción previamente colocados y se sutura la capa muscular con un patrón continuo de avance de hilo y la piel con una sutura intradérmica, ambos con monosyn[®] 4/0 montado sobre aguja triangular.

Al finalizar la cirugía se desinfecta la zona de la incisión con povidona yodada y se realiza una traqueoscopia para comprobar la localización del tubo (Figura 4).

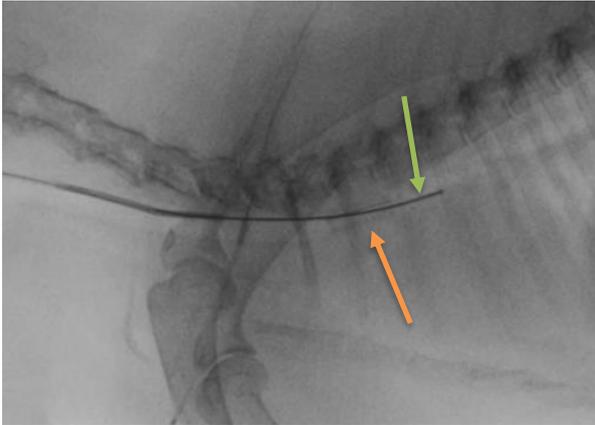


Figura 5: Guía (flecha verde) en el interior del tubo endotraqueal (flecha naranja).

Se procede a la retirada del tubo endotraqueal 9 días después de su colocación. Para ello se anestesia a los animales con una combinación de ketamina (25 mg/kg) y medetomidina (0,5 mg/kg) y se procede a su oxigenación.

Aunque en el modelo descrito en la bibliografía la retirada del tubo se lleva a cabo mediante unas pinzas, al no disponer

de canal de trabajo en el endoscopio, la retirada del tubo se realiza de otro modo. Se procede a

su retirada mediante la inserción por su

luz de un catéter balón para sujetar el tubo y tirar del mismo para extraerlo.

Para ello, bajo control fluoroscópico, se

introduce una guía hidrofílica 0.035”

(Figura 5), dándole soporte con un

catéter vertebral de 4 Fr. Sobre la guía se

avanza un catéter balón (Advance®

35LP, 4 mm x 4 cm, Cook Medical, USA).

Colocado el balón dentro del tubo, se

llena con contraste yodado y se retira de

la tráquea arrastrando consigo el tubo endotraqueal (Figura 6). Una vez retirado el tubo se

realiza una traqueoscopia para visualizar la zona de estenosis.

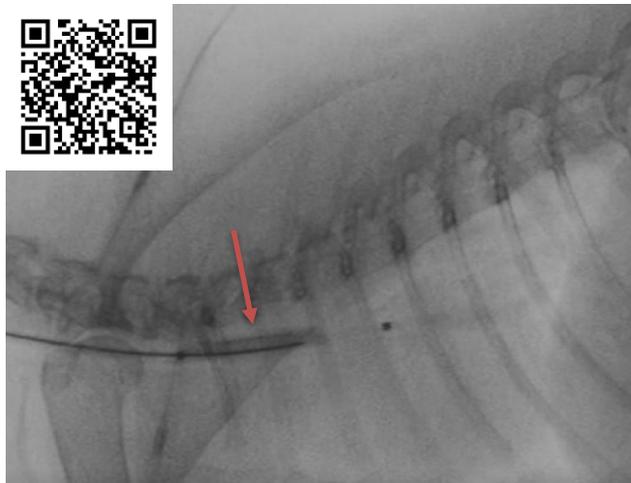


Figura 6: Balón llenado con contraste yodado (flecha roja) para proceder a la retirada del tubo endotraqueal.

- ii. Modelo de traqueomalacia basado en el modelo desarrollado por Gorostidi et al. en 2018 (Gorostidi *et al.*, 2018).

Para conseguir una traqueomalacia del segmento anterior se realiza una incisión longitudinal en la región ventral cervical. Se disecciona el tejido subcutáneo y la capa muscular que rodea a la tráquea para dejarla expuesta.

Seguidamente se realiza una incisión en H sobre 5 cartílagos traqueales consecutivos empezando por el quinto. Se lleva a cabo con un bisturí y con precaución de no incidir la mucosa traqueal. Se resecan los cartílagos de tal forma que se separan de la mucosa traqueal en un diámetro de unos 180 grados con unas tijeras de disección (Figura 7). A la hora de separar los

cartílagos se perfora la mucosa traqueal por dos zonas (Figura 8), de tal forma que se cierra el defecto con dos puntos sueltos con monosyn® 6/0 montado sobre aguja cilíndrica.

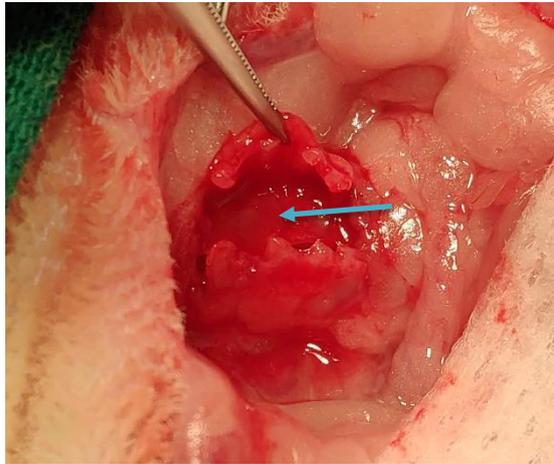


Figura 7: Incisión en forma de H en anillos traqueales y disección de la mucosa (flecha azul)

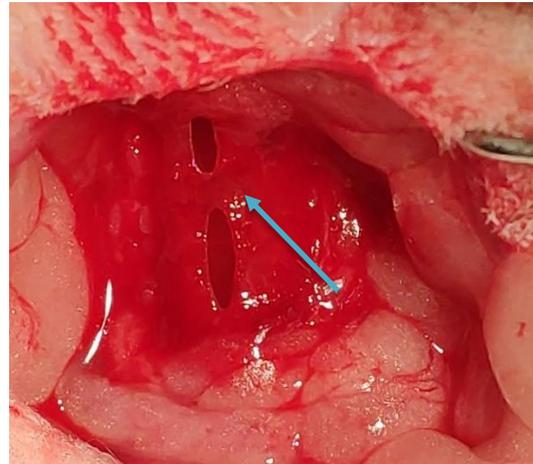


Figura 8: Defecto de anillos traqueales. Se observa mucosa traqueal (flecha azul)

Posteriormente, para evitar cualquier posibilidad de fuga de aire se sutura un parche de fascia de los músculos pretraqueales a los bordes laterales de los anillos traqueales con novosyn® 4/0 montado sobre aguja cilíndrica y un patrón de sutura en puntos sueltos (Figuras 9 y 10).

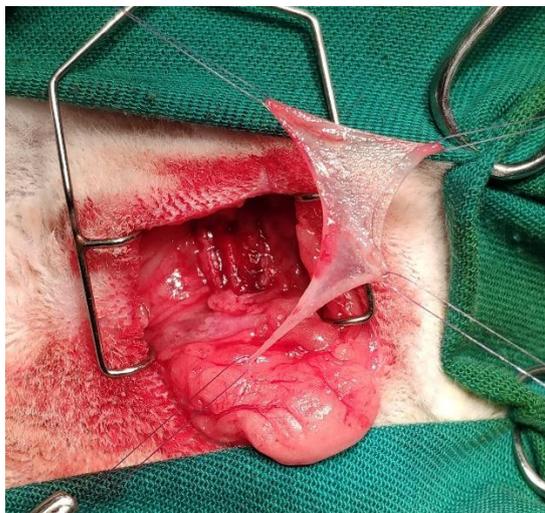


Figura 9: Presentación del parche de fascia de los músculos pretraqueales.



Figura 10: Colocación del parche de fascia de los músculos pretraqueales.

Según Gorostidi *et al.* 2018, es necesaria la colocación de una prótesis para paliar la insuficiencia respiratoria que se produce por la hipercolapsabilidad cartilaginosa. En el conejo 033 se intenta colocar una prótesis sin éxito, ya que a la hora de introducirla arrastra la mucosa traqueal, de tal forma que se decide su retirada y dejar la tráquea sin ningún tipo de prótesis, ya que a priori el animal respira con bastante normalidad.

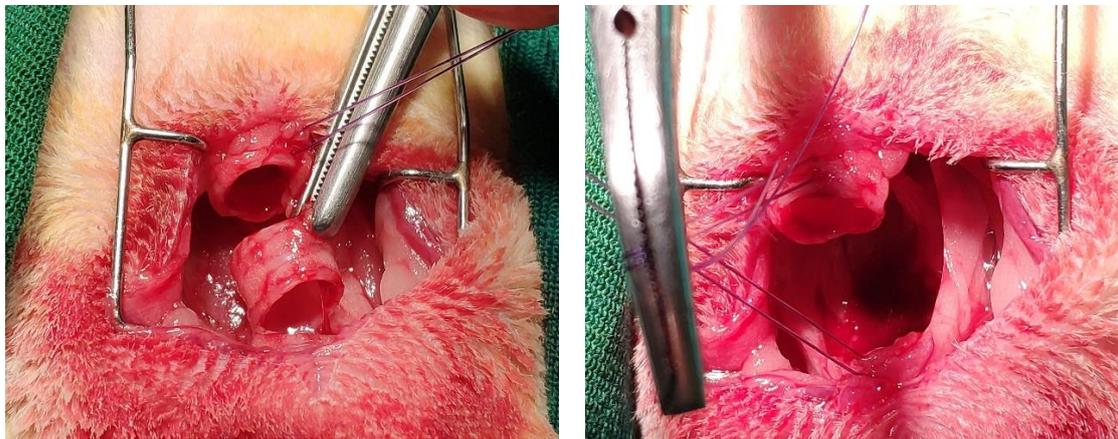
Finalmente, se suturan los músculos con una sutura continua de avance de aguja y la piel con una intradérmica. Para ambas suturas se utiliza monosyn® 4/0 montado sobre aguja triangular. Se desinfecta la incisión con povidona yodada y se realiza una traqueoscopia para valorar la traqueomalacia.

Debido a la complejidad del procedimiento y a no poder colocar la prótesis, se decide no realizar este modelo en el conejo 034, ya que se quiere esperar a ver la evolución del 033.

- iii. Modelo de anastomosis basado en el modelo desarrollado por Akaki-Caballero et al. en 2015 (Akaki-Caballero, Gibrán Mar-Yáñez y Amós Amador-Zapata, 2015).

La técnica que se lleva a cabo en este modelo es la traqueoplastia con resección y anastomosis término – terminal. Para llevarla a cabo se realiza una incisión de unos 4 cm en la línea media del cuello ventral, comenzando debajo de los cartílagos de la laringe.

Se disecciona el tejido subcutáneo y el plano muscular para exponer la tráquea. Posteriormente se disecciona la tráquea en sus 360° con ayuda de un disector de punta curva. Se dan dos puntos de tracción con monosyn® 4/0 montado sobre aguja cilíndrica, uno en el tercer cartílago traqueal y el otro en el cartílago posterior del fragmento a extraer.



Figuras 11 y 12: Resección del segmento de tráquea.

A la altura del tercer anillo traqueal se reseca un segmento de 5 mm (Figuras 11 y 12). Se realiza anastomosis término – terminal de los bordes colocando 8 puntos simples en los 360° de la tráquea con novosyn® 4/0 montado sobre aguja cilíndrica. Primero se presentan todos los puntos y después se procede a anudarlos empezando por el más dorsal (Figuras 13 y 14).

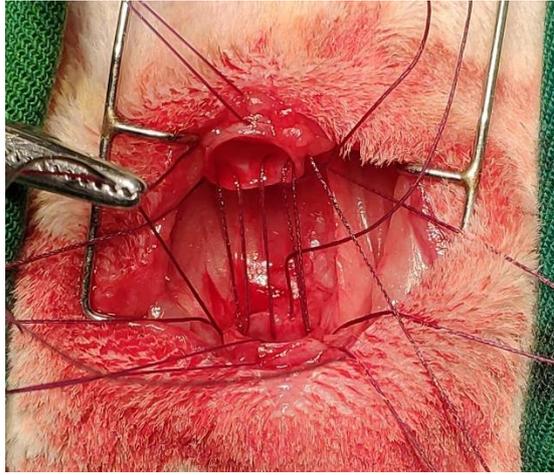


Figura 13: Anastomosis término – terminal.
Presentación de los puntos de sutura en los 360° de circunferencia traqueal.

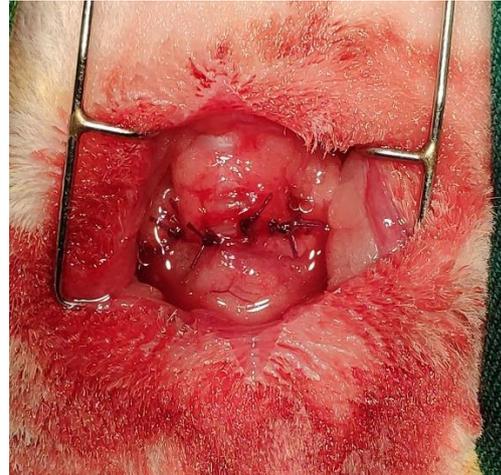


Figura 14: Anastomosis término – terminal. Puntos ya anudados.

Finalmente se sutura la capa muscular con un patrón de sutura continua de avance de hilo y la piel con una intradérmica. En ambas se utiliza monosyn® 4/0 montado sobre aguja triangular. Una vez finalizada la cirugía se aplica povidona yodada en la incisión y se realiza una traqueoscopia para visualizar la estenosis.

c. Seguimiento de los animales.

Tras realizar el modelo quirúrgico, se lleva a cabo un seguimiento mediante la revisión del estado clínico del animal, evaluación fluoroscópica y endoscópica, según el cronograma (*Tabla 1*).

Tareas	Día 0	Día 15	Día 30	Día 88	Día > 88
Creación de la estenosis quirúrgicamente	■				
Seguimiento del estado clínico del animal	■	■	■	■	
Evaluación fluoroscópica de la tráquea		■	■		
Evaluación endoscópica de la tráquea			■		
Sacrificio				■	
Obtención de la pieza anatómica				■	
Procesado y estudio anatomopatológico de la pieza					■
Análisis de resultados					■

Tabla 1: Cronograma del proyecto.

i. Seguimiento del estado clínico de los animales.

Se lleva a cabo mediante visitas diarias la primera semana después de la cirugía y en semanas posteriores en días alternos. En estas visitas se valora el grado de actividad de los animales, si ingieren la misma cantidad de alimento que antes de la intervención, si presentan ruidos respiratorios en reposo y si muestran signos físicos que indiquen distrés respiratorio.

Posteriormente, se explora a cada animal de forma individual una vez por semana, valorando si presenta signos de distrés respiratorio ante una situación de estrés, la evolución de la incisión y el estado general del animal (aspecto de piel y pelo, color de las mucosas, tiempo de relleno capilar, grado de hidratación, palpación abdominal y de ganglios linfáticos, frecuencia y auscultación cardíaca y respiratoria.)

ii. Evaluación fluoroscópica 15 días después de la intervención.

El estudio mediante fluoroscopia se realiza con el animal sedado, empleando una combinación de ketamina (12.5 mg/kg) y medetomidina (0.25 mg/kg), ya que solo se precisa su inmovilización. Se emplea además un catéter centimetrado para valorar el grado de estenosis (Figura 15).



Figura 15: Preparación del quirófano para llevar a cabo la evaluación fluoroscópica.

El grado de estenosis traqueal se valora siguiendo el sistema de clasificación de Myer-Cotton (Myer, O'Connor y Cotton, 1994). Para calcular el porcentaje de estenosis se utiliza la siguiente fórmula:

$$\% \text{ estenosis} = (S - s) / S \times 100$$

S = diámetro externo de la tráquea sin estenosis

s = diámetro interno de la zona de estenosis traqueal

Por otro lado, la clasificación del grado de estenosis es la siguiente:

- Grado I: $\leq 50\%$ de obstrucción de la luz traqueal
- Grado II: entre el 51 % y el 70 % de obstrucción de la luz traqueal
- Grado III: entre el 71 % y el 99% de obstrucción de la luz traqueal
- Grado IV: no se detecta lumen o presenta estenosis completa.

iii. Evaluación fluoroscópica y endoscópica 30 días después de la intervención.

Se procede a anestésiar a los animales con una combinación de medetomidina (0.5 mg/kg) y ketamina (25 mg/kg). Se realiza una traqueoscopia con una óptica rígida 30° de 4 mm seguido del estudio fluoroscópico de la misma manera que lo indicado previamente.

iv. Evaluación fluoroscópica, endoscópica, eutanasia y obtención de la pieza anatómica 88 días después de la intervención.

Tras realizar el estudio fluoroscópico y endoscópico de la misma manera que lo indicado previamente, se eutanasia a los animales mediante una sobredosis intravenosa de pentobarbital sódico. Una vez eutanasiado, la tráquea se extrae y se procesa para su estudio anatomopatológico.

Resultados y discusión

a. Resultados del procedimiento quirúrgico.

Respecto al modelo descrito por Lee et al en 2015 (Lee *et al.*, 2015) se detectan dos leves complicaciones. En el momento de introducir el tubo endotraqueal por la traqueotomía, el diámetro del tubo con el hemostático tal y como se indica en el artículo, es demasiado grande. Se coloca el tubo de mayor diámetro para facilitar al máximo la respiración del animal, por ello únicamente se puede recubrir con una vuelta de hemostático. La siguiente complicación se debe a la sutura novosyn®, que al ser multifilamento arrastra todo el tejido que envuelve la tráquea, de tal forma que lo hace más traumático que una sutura monofilamento.

A parte de por las complicaciones mencionadas anteriormente, el procedimiento quirúrgico se lleva a cabo de forma sencilla, sin sangrado significativo y ambos conejos sobreviven a la intervención, igual que sucede en el modelo descrito en la bibliografía (Lee *et al.*, 2015).



Figura 16: Traqueoscopia del conejo 031.

En el momento de la retirada del tubo endotraqueal se realiza una traqueoscopia al conejo 031 (*Figura 16*) y únicamente se observa mucosidad en la zona donde debería estar el tubo, pero este no se encuentra. Se realiza una fluoroscopia para comprobar la ausencia del tubo endotraqueal y ver la zona de la estenosis. La conclusión más probable es que el conejo lo ha expulsado a lo largo de los 9 días. La ausencia del tubo endotraqueal nos explica el por qué el animal no presenta ruidos respiratorios en situación de estrés en comparación con el conejo 032.

En la traqueoscopia del conejo 032 (*Figura 17*) se aprecia el tubo en su interior rodeado de mucosidad retenida y con una ligera congestión en la mucosa traqueal. A la hora de retirar el tubo endotraqueal mediante fluoroscopia, se produce la migración de este en el momento de introducir la guía por primera vez. Por ello, en los siguientes intentos de introducir la guía con el catéter por el interior del tubo se debe tener más precaución para evitar que se desplace a la carina.



Figura 17: Traqueoscopia del conejo 032.

En cuanto al modelo descrito por Gorostidi et al. en 2018 (Gorostidi *et al.*, 2018) no se presentan complicaciones durante la anestesia, pero sí en el procedimiento quirúrgico. La complicación

más leve se debe a la sutura novosyn®, igual que en el modelo anterior. Otro problema que se presenta es la perforación de la mucosa traqueal durante la resección de los cartílagos traqueales, debido a la complejidad de la técnica y a la fragilidad del tejido. Finalmente, la imposibilidad de colocar una prótesis, junto con la dificultad de la técnica, hace que no se lleve a cabo el procedimiento quirúrgico en el conejo 034 para ver la evolución y supervivencia del 033. En contraposición con en el artículo, nuestro conejo sobrevive a la intervención mostrando signos leves de dificultad respiratoria durante la misma.

Finalmente, en el modelo descrito por por Akaki-Caballero et al. en 2015 (Akaki-Caballero, Gibrán Mar-Yáñez y Amós Amador-Zapata, 2015) únicamente se presentan dos leves complicaciones. La primera debido a la sutura novosyn®, como en los dos modelos anteriores y la segunda, un leve sangrado en sábana en el conejo 036 que se soluciona con una hemostasia por presión.

Los 5 conejos sobreviven durante los procedimientos quirúrgicos y se despiertan sin ninguna complicación. En las traqueoscopias postcirugía se aprecia una congestión de la mucosa traqueal con cierto contenido sanguinolento en todos los animales derivados del procedimiento quirúrgico.

b. Resultados del seguimiento clínico de los conejos.

En el primer mes de postoperatorio no se aprecia dificultad respiratoria ni síntomas de distrés respiratorio severo en reposo. Los animales comen con normalidad, no muestran signos de dolor y su estado general es adecuado. Los conejos 031, 035 y 036 son los más activos, ya que suben a la zona alta de la jaula y muestran más movimiento a la hora de manipularlos. Las incisiones de todos los animales evolucionan adecuadamente.



Tal y como se observa en el vídeo asociado al código QR, el conejo 032, antes de la retirada del tubo endotraqueal, presenta ruidos y distrés respiratorio en situaciones de estrés. Después de la retirada de este, muestra cierta mejoría en cuanto a su actividad, desaparecen los ruidos y el distrés respiratorios y no presenta signos de dolor. El conejo 033 es el que presenta más sintomatología de distrés respiratorio, pero únicamente se aprecia en situaciones de estrés, mostrando taquipnea y ruidos respiratorios severos.

Los días previos al sacrificio los conejos 031, 035 y 036 siguen siendo los más activos sin mostrar sintomatología de distrés respiratorio y con buen estado general. El 031 ha aumentado 450 g de

peso desde el comienzo del proyecto, mientras que el 035 y 036 han disminuido 200 y 350 g respectivamente (*Tabla 2*). El conejo 033 sigue siendo el que presenta una mayor sintomatología con taquipnea y ruidos respiratorios severos, pero a pesar de ello, ha aumentado 150 g de peso (*Tabla 2*), lo cual indica que no ha tenido pérdida de apetito.

Finalmente, el conejo 032 muestra una pérdida de peso de 2.45 kg (*Tabla 2*), mal estado general con secreción nasal, ocular y vaginal, caquexia, alopecias, anorexia y apatía. Por otro lado, no presenta sintomatología respiratoria. Esto indica que presenta algún tipo de patología no relacionada con la intervención.

Conejo	Pesos (kg)	
	D0	D88
031	4.60	5.05
032	4.95	2.50
033	5.25	5.40
035	4.70	4.50
036	5.75	5.40

Tabla 2: Pesos en kg de los cinco conejos a día 0 y día 88.



En el vídeo asociado al código QR se observa el estado de los cinco conejos a día 88 y la cicatrización de las incisiones. Se observa una cicatrización adecuada, destacando únicamente el conejo 035 que muestra una alopecia focal en la zona de incisión.

c. Resultados del estudio mediante fluoroscopia a D15, D30 y D88.

i. Evaluación fluoroscópica 15 días después de la intervención.

Conejo 031: la zona de la estenosis presenta un diámetro de 0.4 cm, mientras que la zona sin patología presenta un diámetro de 0.6 cm. Por lo tanto, el porcentaje de estenosis es de 33%. La estenosis se aprecia principalmente en la región ventral de la tráquea (*Figura 18*).

Conejo 032: la zona de la estenosis presenta un diámetro de 0.3 cm, mientras que la zona sin patología presenta un diámetro de 0.5 cm. En este caso el porcentaje de estenosis es del 40%. La estenosis se aprecia en la región ventral y dorsal de la tráquea (*Figura 19*).

Conejo 033: en la fluoroscopia se aprecia un movimiento dinámico de la zona de estenosis con un diámetro de 0.3 cm con respecto al diámetro normal de la tráquea de 0.5 cm. Muestra un porcentaje de estenosis del 40% (*Figura 20*), localizado principalmente en la región ventral.

Conejo 035 y 036: no se aprecia disminución de la luz traqueal en la zona de anastomosis término - terminal (*Figuras 21 y 22*).

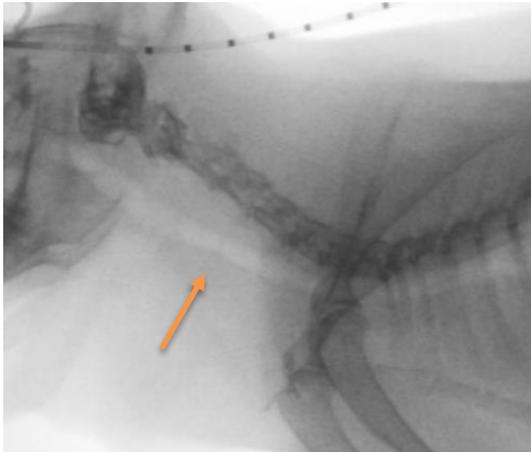


Figura 18: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 15 (conejo 031). Zona de estenosis (flecha naranja).

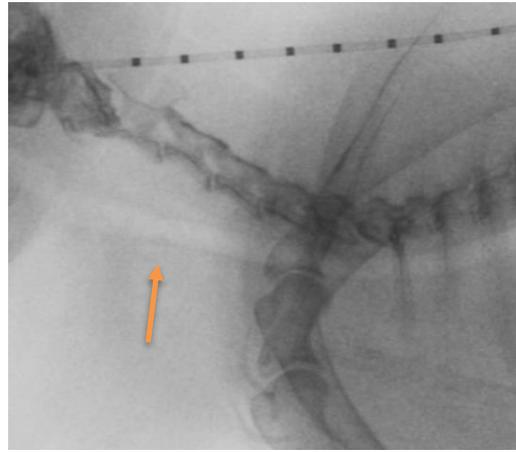


Figura 19: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 15 (conejo 032). Zona de estenosis (flecha naranja).

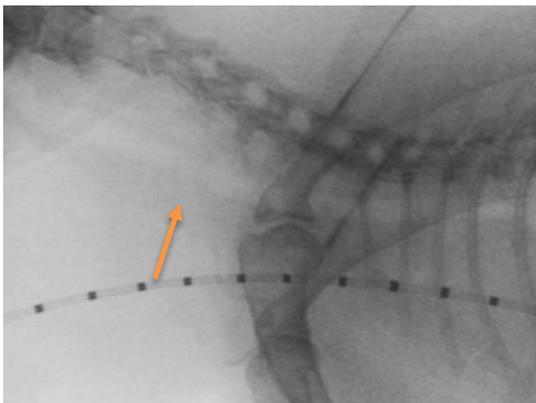


Figura 20: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 15 (conejo 033). Zona de estenosis (flecha naranja).

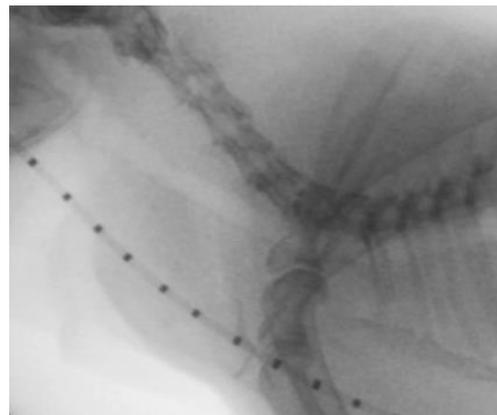


Figura 21: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 15 (conejo 035).

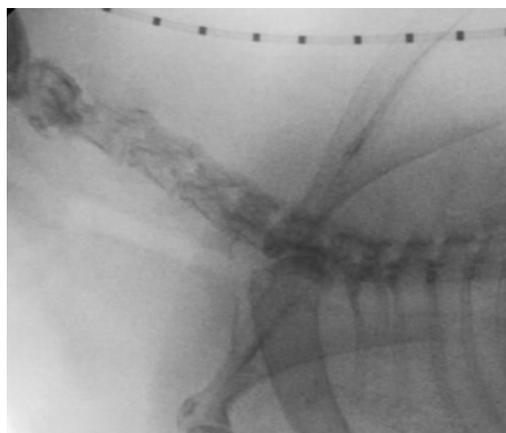


Figura 22: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 15 (conejo 036).

ii. Evaluación fluoroscópica 30 días después de la intervención.

En los conejos 031 y 032 la zona de estenosis sigue igual que hace 15 días (*Figuras 23 y 24*). En el conejo 033 el porcentaje de estenosis no ha variado en comparación con los datos anteriores. Además, se aprecia un movimiento dinámico de la región ventral de la estenosis debido a la traqueomalacia realizada, de forma que el diámetro de la luz traqueal varía en función de la fase respiratoria (*Figura 25*). Por otro lado, en los conejos 035 y 036, sigue sin apreciarse disminución de la luz traqueal (*Figuras 26 y 27*).

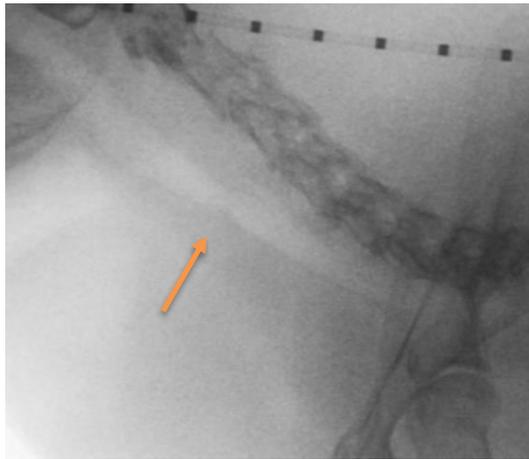


Figura 23: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 30 (conejo 031). Zona de estenosis (flecha naranja).

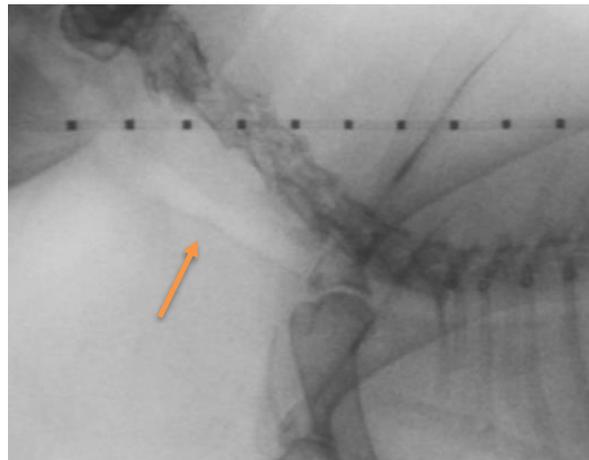


Figura 24: Evaluación fluoroscópica de la a día 30 (conejo 032). Zona de estenosis (flecha naranja).

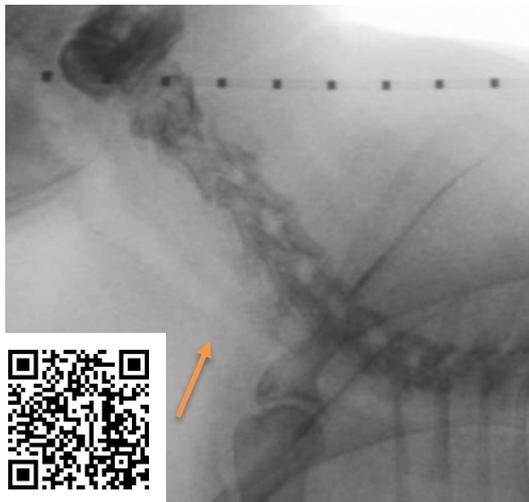


Figura 25: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 30 (conejo 033). Zona de estenosis (flecha naranja).

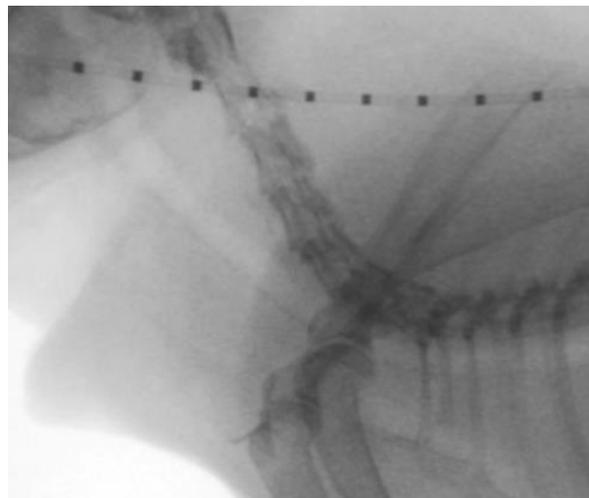


Figura 26: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 30 (conejo 035).



Figura 27: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 30 (conejo 036).

iii. Evaluación fluoroscópica 88 días después de la intervención.

En los conejos 031 y 032 el porcentaje de estenosis traqueal se mantiene con respecto a evaluaciones anteriores (*Figuras 28 y 29*). En el caso del conejo 033 se observa una disminución de la luz traqueal en la zona de la traqueomalacia, reduciendo su luz a 0.2 cm. Teniendo en cuenta que el diámetro de la luz traqueal sin patología es de 0.5 cm, el porcentaje de estenosis en este conejo es del 60% (*Figura 30*). También se observa el movimiento dinámico de la zona ventral de la tráquea en el área de estenosis, de forma que el diámetro de la luz traqueal varía en función de la fase del ciclo respiratorio en el que se encuentre el animal.

En el conejo 035 sigue sin apreciarse zona de estenosis (*Figura 31*). En el 036 se empieza a intuir un ligero estrechamiento de la luz traqueal de 0.55 cm de luz. El diámetro de la luz traqueal sin patología es de 0.6 cm y por tanto el porcentaje de estenosis es del 10% (*Figura 32*).

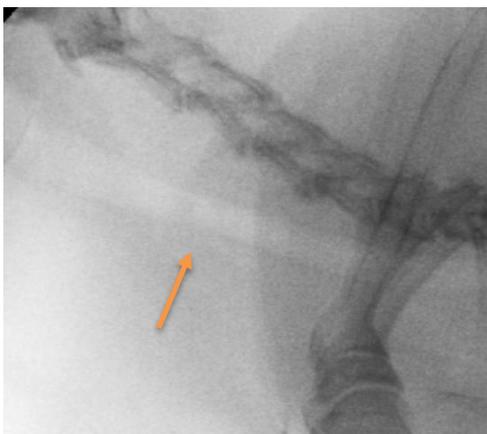


Figura 28: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 88 (conejo 031). Zona de estenosis (flecha naranja).

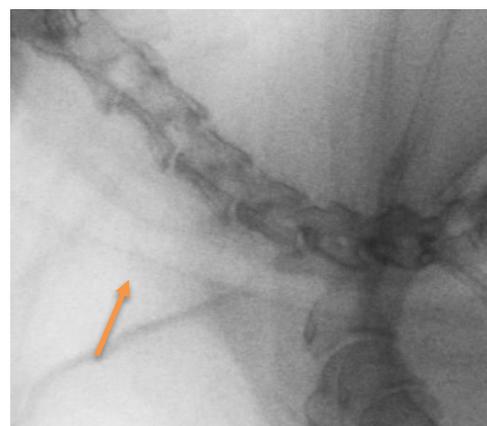


Figura 29: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 88 (conejo 032). Zona de estenosis (flecha naranja).



Figura 30: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 88 (conejo 033). Zona de estenosis (flecha naranja).

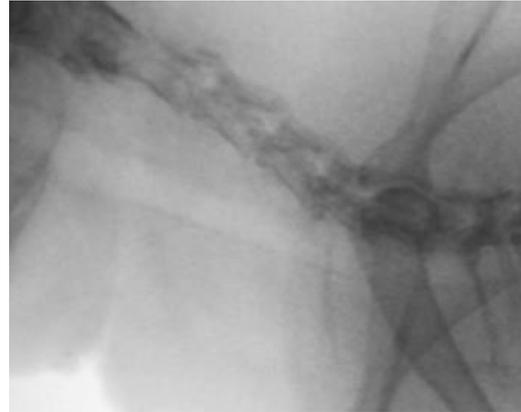


Figura 31: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 88 (conejo 035).



Figura 32: Evaluación fluoroscópica de la tráquea a día 88 (conejo 036). Zona de estenosis (flecha naranja).

iv. Resumen de la evaluación fluoroscópica.

En la tabla 3 se muestra la evolución del grado de estenosis de los diferentes animales a lo largo de 2 meses. Todos los animales presentan un grado I de estenosis traqueal, excepto el conejo 033 que presenta un grado II.

Conejos	Porcentaje de estenosis traqueal (%) ^a			Grado final de estenosis traqueal ^b
	D15	D30	D88	
031	33	33	33	Grado I
032	40	40	40	Grado I
033	40	40	60	Grado II
035	0	0	0	Grado I
036	0	0	10	Grado I

Tabla 3: Grado de estenosis traqueal. ^a Porcentaje de estenosis = $(S - s)/S \times 100\%$. ^b Grado de estenosis traqueal basado en el sistema de clasificación de Myer-Cotton.

d. Resultados del estudio endoscópico a D30 y D88.

i. Evaluación endoscópica 30 días después de la intervención.

En los animales 031 y 032 se observa un anillo fibrótico en la zona de la intervención quirúrgica que produce un ligero estrechamiento de la luz traqueal, dando lugar a una estenosis en esa región. Además, se aprecia mucosidad retenida en esa zona y una ligera congestión de la mucosa traqueal (*Figuras 33 y 34*).

En el conejo 033 se aprecia el movimiento dinámico de la mucosa traqueal en la zona de la traqueomalacia que reduce considerablemente el diámetro de la luz, llegando incluso a colapsarla en algunos momentos, tal y como se observa en el vídeo asociado al código QR. También, se observa mucosidad retenida y una leve congestión de la mucosa traqueal (*Figuras 35 y 36*).

Finalmente, en los conejos 035 y 036 se observa un estrechamiento muy leve de la luz traqueal en la zona de anastomosis término - terminal, el cual, no se ha podido detectar mediante fluoroscopia. Ese estrechamiento es debido al anillo fibrótico producido por la reacción cicatricial. Igual que en los animales anteriores, también presentan mucosidad retenida en esa zona (*Figura 37 y 38*).



Figura 33: Evaluación endoscópica de la tráquea a día 30 (conejo 031).



Figura 34: Evaluación endoscópica de la tráquea a día 30 (conejo 032).



Figuras 35 y 36: Evaluación endoscópica de la tráquea a día 30 (conejo 033). Las imágenes son momentos diferentes del ciclo respiratorio del mismo conejo (033). La figura de la izquierda (35) es en espiración y la de la derecha (36) en inspiración.

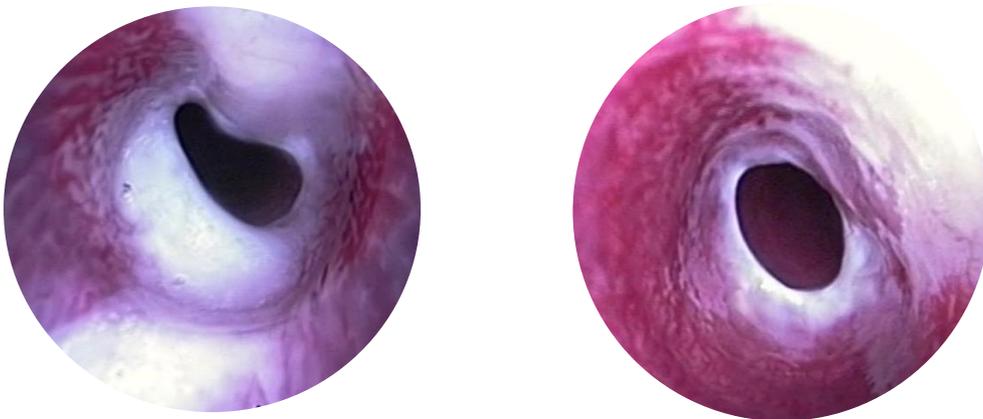


Figura 37: Evaluación endoscópica de la tráquea a día 30 (conejo 035).

Figura 38: Evaluación endoscópica de la tráquea a día 30 (conejo 036).

ii. Evaluación endoscópica 88 días después de la intervención.

Se obtienen unas imágenes similares a las del apartado anterior destacando una disminución en la retención de moco en todos los animales. En el conejo 031 y 032 se sigue observando el anillo fibrótico producido por la reacción cicatricial en la zona de la incisión que produce ese estrechamiento de la luz traqueal (*Figuras 39 y 40*).

En el conejo 033 se observa el movimiento dinámico de la mucosa traqueal, que llega a colapsar la luz traqueal en la fase inspiratoria del ciclo respiratorio (*Figuras 41 y 42*), tal y como se aprecia en el video asociado al código QR.

Finalmente, en los conejos 035 y 036 se aprecia un anillo fibrótico producido por la reacción cicatricial, siendo mayor en el conejo 036 (*Figuras 43 y 44*).



Figura 39: Evaluación endoscópica de la tráquea a día 88 (conejo 031).

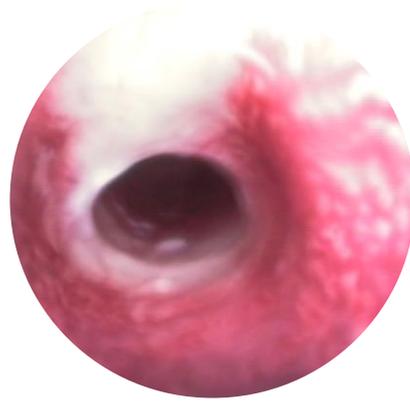
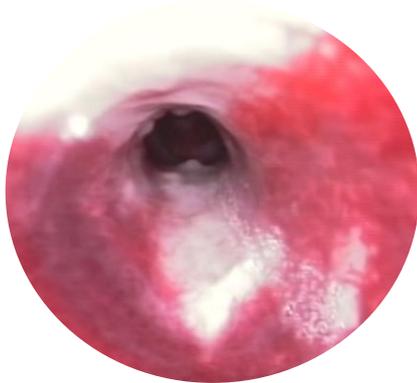


Figura 40: Evaluación endoscópica de la tráquea a día 88 (conejo 032).



Figuras 41 y 42: evaluación endoscópica de la tráquea a día 88 (conejo 033). Las imágenes son momentos diferentes del ciclo respiratorio del mismo conejo (033). La figura de la izquierda (41) es en espiración y la de la derecha (42) en inspiración.

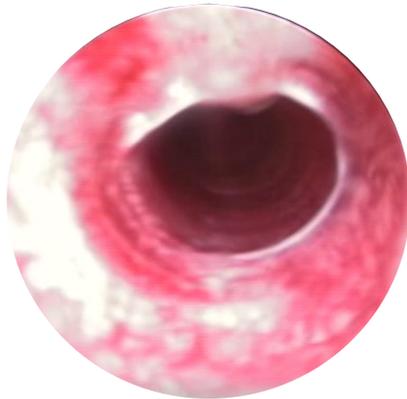


Figura 43: Evaluación endoscópica de la tráquea a día 88 (conejo 035).

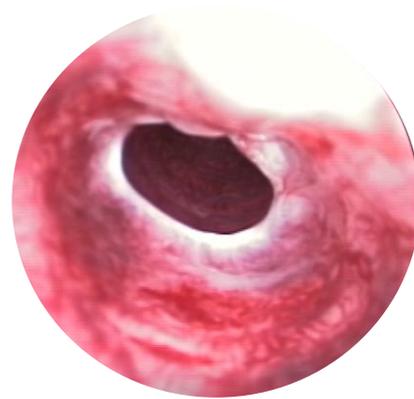


Figura 44: Evaluación endoscópica de la tráquea a día 88 (conejo 036).

e. Resultados de anatomía patológica.

Durante la disección para obtener las muestras, no se detectan zonas de adherencias ni fibrosis. La apariencia macroscópica de todas las tráqueas se mantiene sin graves alteraciones (Figuras 45, 46, 47 y 48). Cabe destacar que en el conejo 035 se aprecia una ligera zona de neoformación de vasos sanguíneos.

En el conejo 033 se observa un área cóncava, blanda, sin cartílago y con una capa blanquecina envolviéndola en la zona donde se realizó la traqueomalacia. No presenta adherencias ni neoformación de vasos sanguíneos (Figuras 49, 50 y 51).



Figura 45: Tráquea del conejo 031.



Figura 46: Tráquea del conejo 032.



Figura 47: Tráquea del conejo 035. Neovascularización (flecha verde).



Figura 48: Tráquea del conejo 036.



Figuras 49, 50 y 51: Tráquea del conejo 033. Zona cóncava (flecha verde).



Las muestras fueron fijadas en formol 10% para su posterior procesado. Los resultados de esta parte no se incluyen en este trabajo dado que el estado de alarma decretado por el COVID-19 ha retrasado el análisis de las mismas.

f. Discusión

Ten-Hallers et al. definen modelo animal como un organismo vivo con uno o más aspectos anatómicos o fisiológicos que pueden compararse con un humano sano o enfermo según la reacción a un estímulo externo (Ten Hallers *et al.*, 2004). Muchos factores influyen a la hora de la elección de la especie a utilizar como modelo animal, como la facilidad de manejo, accesibilidad, coste de adquisición, conocimiento y experiencia del grupo de investigación (Ten Hallers *et al.*, 2004). Teniendo en cuenta esos factores, la reducida variabilidad entre individuos, la gran reactividad a cuerpos extraños y semejanza histológica a la tráquea humana, se elige el conejo como protagonista de estos modelos de estenosis traqueal.

A la hora de interpretar los resultados obtenidos en este estudio, hay que tener en cuenta que el tamaño muestral es muy reducido. Sin embargo, son modelos que han sido publicados y se han contemplado los resultados de esos estudios.

La estenosis traqueal adquirida puede ser producida por diferentes factores, como la intubación endotraqueal prolongada, trauma, tumores malignos, irradiación, varias enfermedades sistémicas y por traqueotomías a largo plazo (Nakagishi *et al.*, 2005; Hillel *et al.*, 2014). Dentro de esas causas la más frecuente es la intubación endotraqueal, sobre todo en pacientes pediátricos (Cotton, 1991). Este tipo de estenosis presenta lesiones en la mucosa traqueal debido a la presión del neumotaponamiento o por ser un tubo de tamaño excesivo, lo que produce inflamación, ulceración y necrosis de la mucosa. Estas lesiones iniciales acaban en un proceso de curación con remodelación y formación de tejido cicatricial (Hillel *et al.*, 2014), que unido a una granulación excesiva, conducen a un estrechamiento de la luz traqueal (Minnigerode y Richter, 1987).

En cuanto al modelo de estenosis post-intubación basado en el modelo desarrollado por Lee *et al.* en 2015 (Lee *et al.*, 2015), el principal problema encontrado es el hecho de que los animales son capaces de expulsar el fragmento de tubo endotraqueal. Si tenemos en cuenta que la formación de la estenosis traqueal post-intubación depende de la duración de la intubación (Kumar, Ravikumar y Thanka, 2015), aquellos animales que expulsan el tubo antes del día de la retirada, van a presentar un menor grado de estenosis, tal y como se aprecia en la tabla 3. Eso es un punto en contra de este modelo, ya que dificulta la obtención de animales con el mismo grado de estenosis para poder probar en ellos las diferentes prótesis.

La formación de estenosis traqueal post-intubación también depende del tamaño del tubo endotraqueal (Sherman *et al.*, 1986; Contencin, Narcy y Holinger, 1993), el movimiento del

mismo y el reflujo gastroesofágico (Loi *et al.*, 2004). Por ello, son factores a tener en cuenta a la hora de llevar a cabo este modelo en un mayor número de animales, ya que, para valorar la eficacia de las prótesis, es necesario que la estenosis generada sea lo menos variable posible.

Hay que destacar que el grado de variabilidad obtenido coincide con la descripción de Lee *et al.* (Lee *et al.*, 2015) y Steehler *et al.* (Steehler *et al.*, 2011) y que como dicen en sus estudios, no se puede predecir con certeza la gravedad de la estenosis que se va a generar.

Por otro lado, este modelo permite obtener animales con la patología buscada sin comprometer la vida de los mismos, y por ello, pueden sobrevivir el periodo de tiempo buscado sin sufrimiento y sin mostrar sintomatología de distrés respiratorio.

La traqueomalacia puede ser congénita o adquirida, y consiste en la anormal colapsabilidad (> 50%) de las paredes traqueales, lo que resulta en una obstrucción dinámica del flujo de aire durante los ciclos respiratorios (Carden *et al.*, 2005).

En el modelo de traqueomalacia basado en el modelo desarrollado por Gorostidi *et al.* en 2018 (Gorostidi *et al.*, 2018) se produce una estenosis traqueal del mismo grado que en el conejo 032 a día 30, cuando según Carden *et al.* debería ser mayor del 50% (Carden *et al.*, 2005). A día 88 el grado de estenosis pasa a grado II con un porcentaje de estenosis del 60%. Hay que tener en cuenta que el porcentaje de estenosis se obtiene de una imagen puntual de la fluoroscopia, por lo que, al ser un proceso dinámico, el dato obtenido varía en función del momento en el que se tome la imagen. Esto no sucede en la evaluación endoscópica, donde se aprecia claramente ese carácter dinámico y como en momentos determinados se colapsa completamente la luz traqueal, factor que la acerca más a la realidad de la patología que se intenta reproducir en el caso de la traqueomalacia. Debido a ello, el animal de este modelo es el que presenta una mayor sintomatología de distrés respiratorio, lo cual hace que sea un animal más susceptible al estrés y con el que hay que tener más precaución a la hora de la manipulación.

Gorostidi *et al.* en 2018 (Gorostidi *et al.*, 2018) obtienen una mortalidad elevada debido a la hipercolapsabilidad cartilaginosa severa. En nuestro caso, el animal sobrevive a la intervención y los meses posteriores. Esta diferencia puede ser debida a la resección de cinco cartílagos traqueales, en comparación con los ocho que indica el artículo y a que el número muestral solo es uno.

La traqueoplastia con resección y anastomosis término – terminal es el tratamiento de elección para solucionar una estenosis traqueal en un segmento menor a un tercio de la tráquea. Es posible eliminar hasta el 30% de la misma, pero siempre teniendo presente que los factores

limitantes son el aporte de sangre a la tráquea y la tensión en la zona (Akaki-Caballero, Gibrán Mar-Yáñez y Amós Amador-Zapata, 2015).

Las complicaciones que presenta esta técnica de tratamiento se observan por un exceso de tensión. Esa tensión puede producir cortes en la mucosa por las suturas utilizadas, lo que origina separación de los bordes del defecto, cicatrización, fibrosis, reestenosis de la zona e incluso la muerte del animal (Acosta *et al.*, 2000).

Lo que se pretende con el modelo de anastomosis basado en el modelo desarrollado por Akaki-Caballero et al. en 2015 (Akaki-Caballero, Gibrán Mar-Yáñez y Amós Amador-Zapata, 2015) es conseguir esa cicatrización y fibrosis para originar la estenosis que se da como complicación de la técnica para el tratamiento de la patología.

La estenosis creada en este modelo es menor que en los otros dos casos, sin embargo, aunque de menor grado, sería la estenosis más similar a la que se produce en las resecciones traqueales terminales. No se aprecia área de estenosis en la fluoroscopia, y en la traqueoscopia, únicamente se ve un leve halo cicatricial con algo de fibrosis. La causa de estos resultados puede ser debida a que en el modelo desarrollado por Akaki-Caballero et al. en 2015 (Akaki-Caballero, Gibrán Mar-Yáñez y Amós Amador-Zapata, 2015) resecan 1 cm de tráquea, mientras que en este estudio únicamente se resecan 5 mm debido a la tensión excesiva que se puede producir al resecar un segmento mayor. Eso hace que la intervención sea menos traumática, respetando más la vascularización de la zona y reduciendo la posibilidad de que aparezca la estenosis como complicación de la técnica.

Si comparamos los tres modelos todos se asemejan a la patología buscada, pero cada uno presenta sus ventajas e inconvenientes a la hora de elegirlos como modelo de evaluación posterior de *stents* absorbibles.

Si tenemos en cuenta lo expuesto hasta el momento, el modelo de traqueomalacia es el que produce un mayor grado de estenosis, asemejándose en gran medida a una traqueomalacia congénita o adquirida. A la hora de elegir este modelo como base del estudio posterior de las prótesis, hay que tener en cuenta que la colocación de estas se debe realizar en el momento de la cirugía, ya que a pesar de que el conejo de este estudio piloto ha sobrevivido sin ella, no es suficiente para afirmar que vaya a ocurrir lo mismo con más animales. Las prótesis absorbibles, al ser autoexpandibles, se podrían colocar sin problema, al contrario de lo que ocurrió con la prótesis que se intentó colocar en el estudio piloto. Finalmente, en el estudio de Gorostidi *et al.* en 2018 (Gorostidi *et al.*, 2018) se obtiene una elevada tasa de mortalidad incluso en los

animales a los cuales se les coloca prótesis traqueal durante la intervención, lo cual ha de tenerse en cuenta a la hora de elegir este modelo. No obstante, es el que más se asemeja a la traqueomalacia.

En los otros dos modelos todos los animales sobreviven mostrando menos clínica que en el caso del modelo de traqueomalacia, lo cual es un punto a favor a la hora de pasar a la siguiente fase. Por otro lado, el modelo de estenosis post-intubación presenta una mayor variabilidad que el modelo de anastomosis, lo cual le hace un candidato menos apto para la evaluación de los *stents*.

Cada modelo presenta sus ventajas e inconvenientes y la elección de uno u otro dependerá del tipo de patología que se quiera simular. En el caso de querer simular traqueomalacia, el modelo de Gorostidi et al. (Gorostidi *et al.*, 2018) es el que más se asemeja. Sin embargo, en el caso de querer simular una estenosis cicatricial, tanto el modelo de Lee et al. (Lee *et al.*, 2015) como el de Akaki-Caballero et al. (Akaki-Caballero, Gibrán Mar-Yáñez y Amós Amador-Zapata, 2015) son válidos, pero el segundo presenta mayor homogeneidad de resultados, el procedimiento quirúrgico es más sencillo y se puede llevar a cabo en un solo tiempo.

Conclusiones / Conclusions

g. Conclusiones

- Los tres modelos de estenosis en conejo son viables, obteniendo buenas tasas de supervivencia sin graves complicaciones.
- El modelo de estenosis post-intubación dificulta la obtención de animales con el mismo grado de estenosis debido a la posibilidad de expulsar el tubo endotraqueal.
- El modelo de traqueomalacia reproduce la patología con gran similitud, provocando una estenosis dinámica. Se trata del modelo que genera mayor grado de estenosis traqueal.
- El modelo de anastomosis termino-terminal, permite obtener animales con el mismo grado de estenosis mediante una técnica quirúrgica sencilla y sin apenas complicaciones.
- Los modelos de estenosis post-intubación y de anastomosis termino-terminal permiten la colocación de prótesis intraluminales. La colocación de prótesis en el modelo de traqueomalacia presentó dificultades debido al arrastramiento de la mucosa traqueal, pero en el caso de *stents* absorbibles, al ser autoexpandibles se resolvería esta complicación y sería viable colocarlos.
- Para simular una estenosis cicatricial se elegiría el modelo de anastomosis termino-terminal por su sencillez y homogeneidad, mientras que, para reproducir la estenosis por traqueomalacia, el modelo de Gorostidi et al. (Gorostidi *et al.*, 2018) es el que simula con mayor cercanía la patología.

h. Conclusions

- All stenosis models are viable and have good survival rates without serious complications.
- Post-intubation stenosis model makes more difficult to obtain results on animals with similar stenosis degree due to the possibility to eject the tracheal tube.
- Tracheomalacia model reproduces the expected outcomes correctly, with dynamic character. In addition, it presents a greater degree of stenosis than the others.
- End-to-end anastomosis model allows to obtain animals with the same degree of stenosis, using an easy and no complications surgical technique.
- Post-intubation stenosis and end-to-end anastomosis models make possible to place an intraluminal prosthesis. Tracheomalacia's one has some more difficulties due to the crawling of the tracheal mucosa. Absorbable stent would not have this problem because it can be self-expandable.
- End-to-end anastomosis model would be used to simulate a scar stricture because its simplicity and homogeneity. Gorostidi et al. model (Gorostidi *et al.*, 2018) allows simulate in the best way the tracheomalacia stenosis model.

Valoración personal

La realización de este trabajo, llevado a cabo dentro del marco de una beca de colaboración, me ha brindado la oportunidad de profundizar más en el campo de la cirugía, una de mis grandes pasiones de la medicina veterinaria. He podido llevar a cabo técnicas quirúrgicas complejas y ampliar mis conocimientos en el área de la mínima invasión. También me ha servido para introducirme en el mundo de la investigación y en su amplio abanico de posibilidades.

Por otro lado, el haber podido realizar un proyecto desde el principio hasta el final con animales, me ha servido para valorar mucho más el trabajo de nuestros investigadores y la labor tan necesaria que llevan a cabo, y madurar ciertos aspectos teóricos y prácticos de la veterinaria. También me ha servido para mejorar el manejo de las herramientas de búsqueda de bibliografía, cita de documentos científicos y contrastar información.

Finalmente, agradecer a la Dra. Carolina Serrano Casorrán y a todos los integrantes del grupo de investigación GITMI por este año de nuevas experiencias lleno de cirugías apasionantes. Me habéis llenado de conocimientos muy útiles para poder seguir con la formación en el campo de la cirugía y me habéis abierto las puertas de un mundo totalmente diferente.

Bibliografía

1. Acosta, A. C. *et al.* (2000) «Tracheal stenosis: The long and the short of it», *Journal of Pediatric Surgery*, 35(11), pp. 1612-1616. doi: 10.1053/jpsu.2000.18330.
2. Akaki-Caballero, M., Gibrán Mar-Yáñez, O. y Amós Amador-Zapata, I. (2015) «Experimental study between slide vs end-to-end tracheoplasty in an animal model», 60, pp. 158-168.
3. Antón-Pacheco, J. L. *et al.* (2016) «Initial experience with a new biodegradable airway stent in children: Is this the stent we were waiting for?», *Pediatric Pulmonology*. John Wiley and Sons Inc., 51(6), pp. 607-612. doi: 10.1002/ppul.23340.
4. Arellano-Orden, E. *et al.* (2017) «Stent-induced tracheal stenosis can be predicted by IL-8 expression in rabbits», *European Journal of Clinical Investigation*. Blackwell Publishing Ltd, 47(1), pp. 84-92. doi: 10.1111/eci.12706.
5. Arellano Orden, E. *et al.* (2013) *Interacciones entre stents metálicos desnudos y liberadores de droga con fibroblastos respiratorios co-cultivados in vitro*, *Rev Esp Patol Torac*.
6. Boland, E. L. *et al.* (2016) «A Review of Material Degradation Modelling for the Analysis and Design of Bioabsorbable Stents», *Annals of Biomedical Engineering*. Springer New York LLC, pp. 341-356. doi: 10.1007/s10439-015-1413-5.
7. Carden, K. A. *et al.* (2005) «Tracheomalacia and tracheobronchomalacia in children and adults: An in-depth review», *Chest*. American College of Chest Physicians, pp. 984-1005. doi: 10.1378/chest.127.3.984.
8. Chaure, J. *et al.* (2016) «On Studying the Interaction Between Different Stent Models and Rabbit Tracheal Tissue: Numerical, Endoscopic and Histological Comparison», *Annals of Biomedical Engineering*. Springer New York LLC, 44(2), pp. 368-381. doi: 10.1007/s10439-015-1504-3.
9. Chen, G. *et al.* (2013) «Treatment of cuff-related tracheal stenosis with a fully covered retrievable expandable metallic stent», *Clinical Radiology*, 68(4), pp. 358-364. doi: 10.1016/j.crad.2012.08.022.
10. Contencin, P., Narcy, P. y Holinger, L. D. (1993) «Size of Endotracheal Tube and Neonatal Acquired Subglottic Stenosis», *Archives of Otolaryngology--Head and Neck Surgery*. American Medical Association, 119(8), pp. 815-819. doi: 10.1001/archotol.1993.01880200015002.
11. Cotton, R. T. (1991) «The Problem of Pediatric Laryngotracheal Stenosis: A Clinical and

- Experimental Study on the Efficacy of Autogenous Cartilaginous Grafts Placed Between the Vertically Divided Halves of the Posterior Lamina of the Cricoid Cartilage», *The Laryngoscope*. Wiley, 101, pp. 1-35. doi: 10.1002/lary.1991.101.s56.1.
12. Deconinck, E. *et al.* (2008) «Pharmaceutical aspects of drug eluting stents», *Journal of Pharmaceutical Sciences*. John Wiley and Sons Inc., 97(12), pp. 5047-5060. doi: 10.1002/jps.21356.
 13. Escárcega, R. O. *et al.* (2014) «Current application and bioavailability of drug-eluting stents», *Expert Opinion on Drug Delivery*. Informa Healthcare, pp. 689-709. doi: 10.1517/17425247.2014.888054.
 14. FDA Public Health Notification: Complications from Metallic Tracheal Stents in Patients with Benign Airway Disorders (2005). Disponible en: <http://www.fda.gov/medwatch/report.htm>. (Accedido: 10 de abril de 2020).
 15. Gorostidi, F. *et al.* (2018) «Extraluminal biodegradable splint to treat upper airway anterior malacia: A preclinical proof of principle», *Laryngoscope*. John Wiley and Sons Inc., 128(2), pp. E53-E58. doi: 10.1002/lary.26857.
 16. Ten Hallers, E. J. O. *et al.* (2004) «Animal models for tracheal research», *Biomaterials*, 25, pp. 1533-1543. doi: 10.1016/S0142-9612(03)00500-3.
 17. Hillel, A. T. *et al.* (2014) «An in situ, in vivo murine model for the study of laryngotracheal stenosis», *JAMA Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. American Medical Association, 140(10), pp. 961-966. doi: 10.1001/jamaoto.2014.1663.
 18. Hohenforst-Schmidt, W. *et al.* (2016) «Drug eluting stents for malignant airway obstruction: A critical review of the literature», *Journal of Cancer*. Ivyspring International Publisher, pp. 377-390. doi: 10.7150/jca.13611.
 19. Korpela, A. *et al.* (1998) «Comparison of tissue reactions in the tracheal mucosa surrounding a bioabsorbable and silicone airway stents», *Annals of Thoracic Surgery*, 66(5), pp. 1772-1776. doi: 10.1016/S0003-4975(98)00763-2.
 20. Kumar, S. P., Ravikumar, A. y Thanka, J. (2015) «An animal model for laryngotracheal injuries: An experimental study», *The Laryngoscope*. John Wiley and Sons Inc., 125(1), pp. E23-E27. doi: 10.1002/lary.24867.
 21. Lee, H. S. *et al.* (2015) «Rabbit model of tracheal stenosis induced by prolonged endotracheal intubation using a segmented tube», *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. Elsevier Ireland Ltd, 79(12), pp. 2384-2388. doi: 10.1016/j.ijporl.2015.10.049.
 22. Liu, K. S. *et al.* (2011) «Experimental absorbable stent permits airway remodeling», *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 141(2), pp. 463-468. doi:

- 10.1016/j.jtcvs.2010.08.008.
23. Loi, H. D. K. *et al.* (2004) «Neonatal post-intubation subglottic stenosis.», *The Medical journal of Malaysia*, 59(1), pp. 126-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15535351> (Accedido: 12 de abril de 2020).
 24. Mauri, G. *et al.* (2016) «Benign biliary strictures refractory to standard bilioplasty treated using polydioxanone biodegradable biliary stents: retrospective multicentric data analysis on 107 patients», *European Radiology*. Springer Verlag, 26(11), pp. 4057-4063. doi: 10.1007/s00330-016-4278-6.
 25. Minnigerode, B. y Richter, H. G. (1987) «Pathophysiology of subglottic tracheal stenosis in childhood.», *Progress in pediatric surgery*, 21, pp. 1-7. doi: 10.1007/978-3-642-71665-2_1.
 26. Myer, C. M., O'connor, D. M. y Cotton, R. T. (1994) «Proposed grading system for subglottic stenosis based on endotracheal tube sizes», *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*, 103(4), pp. 319-323. doi: 10.1177/000348949410300410.
 27. Nakagishi, Y. *et al.* (2005) «Rabbit model of airway stenosis induced by scraping of the tracheal mucosa», *Laryngoscope*, 115(6), pp. 1087-1092. doi: 10.1097/01.MLG.0000163105.86513.6D.
 28. Novotny, L. *et al.* (2012) «Novel biodegradable polydioxanone stents in a rabbit airway model», *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 143(2), pp. 437-444. doi: 10.1016/j.jtcvs.2011.08.002.
 29. Pandya, B. (2016) « Biodegradable polymer stents vs second generation drug eluting stents: A meta-analysis and systematic review of randomized controlled trials », *World Journal of Cardiology*. Baishideng Publishing Group Inc., 8(2), p. 240. doi: 10.4330/wjc.v8.i2.240.
 30. Rampey, A. M., Silvestri, G. A. y Gillespie, M. B. (2007) «Combined endoscopic and open approach to the removal of expandable metallic tracheal stents», *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 133(1), pp. 37-41. doi: 10.1001/archotol.133.1.37.
 31. Robey, T. C. *et al.* (2000) «Use of internal bioabsorbable PLGA "finger-type" stents in a rabbit tracheal reconstruction model», *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. American Medical Association, 126(8), pp. 985-991. doi: 10.1001/archotol.126.8.985.
 32. Rodriguez-Zapater, S. *et al.* (2020) «Stent traqueal biodegradable de polidioxanona. Estudio de la reactividad en conejo», *Archivos de Bronconeumología*. Elsevier BV. doi: 10.1016/j.arbres.2020.02.008.

33. Saad, C. P. *et al.* (2003) «Self-Expandable Metallic Airway Stents and Flexible Bronchoscopy: Long-term Outcomes Analysis», *Chest*. American College of Chest Physicians, 124(5), pp. 1993-1999. doi: 10.1378/chest.124.5.1993.
34. Serrano, C. *et al.* (2013) «Metallic stents for tracheobronchial pathology treatment», *CardioVascular and Interventional Radiology*, 36(6), pp. 1614-1623. doi: 10.1007/s00270-013-0602-6.
35. Serrano, C. *et al.* (2016) «Tracheal Self-Expandable Metallic Stents: A Comparative Study of Three Different Stents in a Rabbit Model», *Archivos de Bronconeumología*. Elsevier Doyma, 52(3), pp. 123-130. doi: 10.1016/j.arbr.2015.06.012.
36. Sherman, J. M. *et al.* (1986) «Factors influencing acquired subgottic stenosis in infants.», *The Journal of pediatrics*, 109(2), pp. 322-7. doi: 10.1016/s0022-3476(86)80395-x.
37. Steehler, M. K. *et al.* (2011) «Induction of tracheal stenosis in a rabbit model - Endoscopic versus open technique», *Laryngoscope*, 121(3), pp. 509-514. doi: 10.1002/lary.21407.
38. Stehlik, L. *et al.* (2015) «Biodegradable polydioxanone stents in the treatment of adult patients with tracheal narrowing», *BMC Pulmonary Medicine*. BioMed Central Ltd., 15(1). doi: 10.1186/s12890-015-0160-6.
39. Waksman, R. y Pakala, R. (2011) «Biodegradable and Bioabsorbable Stents», *Current Pharmaceutical Design*. Bentham Science Publishers Ltd., 16(36), pp. 4041-4051. doi: 10.2174/138161210794454905.
40. Zhou, G. W. *et al.* (2015) «Temporary placement of metallic stent could lead to long-term benefits for benign tracheobronchial stenosis», *Journal of Thoracic Disease*. Pioneer Bioscience Publishing, 7(Suppl 4), pp. S398-S404. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2015.12.65.
41. Zhu, G. H. *et al.* (2011) «A novel bioabsorbable drug-eluting tracheal stent», *Laryngoscope*, 121(10), pp. 2234-2239. doi: 10.1002/lary.22175.