

Utilidad de la aplicación tópica de mitomicina C al 2% para la prevención de estenosis subglótica en un modelo canino

Mayor M.C. Edgar **López Virgen**,* Tte. Cor. M.C. Mario **Navarrete Arellano**,**
Tte. Cor. M.C. Héctor D. **Tejeda Tapia**,*** Mayor M.C. Claudia Esther **Rodríguez Montes******

Escuela Militar de Graduados de Sanidad-Hospital Central Militar. Ciudad de México

RESUMEN

Antecedentes. La aplicación tópica de mitomicina previene la formación de estenosis en cirugía oftalmológica, existiendo algunos reportes en estenosis subglótica.

Objetivo. Determinar la utilidad de la aplicación tópica de mitomicina C al 2% para la prevención de estenosis subglótica en un modelo canino.

Método. Diseño experimental con ocho perros mestizos de 10 kg cada uno, en dos grupos de estudio: al grupo control (n = 4) se le realizó una lesión en la región subglótica con cauterio y microtijeras, dejándose a libre evolución. Al grupo experimental (n = 4), además de lo anterior, se le aplicó inmediatamente 1 mL de mitomicina C al 2% en forma tópica sobre el área lesionada. Se hizo endoscopia a las tres semanas y se repitió la lesión con la aplicación del medicamento. Al término de seis semanas se realizó nueva endoscopia, sacrificio de los perros y laringectomía con cortes axiales.

Resultados. No se demostró estenosis subglótica. La endoscopia demostró cambios inflamatorios superficiales en la mucosa lesionada en ambos grupos experimentales. Histológicamente, en el grupo control, se encontró metaplasia escamosa del epitelio respiratorio, con edema y fibrosis, cambios que se acentuaron con la aplicación de la mitomicina C. Las mediciones de los diámetros anteroposterior y transversal no demostraron diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio.

Conclusiones. La mitomicina C al 2% aplicada en forma tópica sobre el lumen laringotraqueal del perro no mostró disminución de la fibrosis ni disminución en la proliferación de fibroblastos, acentuándose los cambios metaplásicos en el epitelio respiratorio en respuesta a la lesión provocada.

Palabras clave: estenosis, mitomicina C, metaplasia.

Utility of the topic application of mitomycin C 2% to prevent subglottic stenosis in a canine model

SUMMARY

Background. Topic application of mitomycin C avoid stenosis in ophthalmic surgery and there are some reports regarding subglottic stenosis.

Objective. To determine the utility of topic mitomycin C 2% to prevent subglottic stenosis in a canine model.

Method. An experimental model was performed with 8 mongrel dogs of 10 kg each one, divided in two study groups: A subglottic injury with cautery and scissors, leaved to free evolution, was done to the control group (n = 4) and to the experimental group (n = 4) with the application of 1 mL of topic mitomycin 2% in the last group at the injured area. An endoscopy, repeated injury and mitomycin application was done at three weeks and six weeks later, and finally sacrifice of dogs and laryngectomy with axial cuts.

Results. There was not subglottic stenosis. Endoscopy proves superficial inflammatory changes in the injured mucosa in both experimental groups. Histologically, in control group, it found scamous metaplasia of respiratory epithelium, with edema and fibrosis, changes marked with application of mitomycin C. Measures of anteroposterior and transversal diameters did not prove statistically significance between study groups.

Conclusions. Topic application of mitomycin C 2% on laryngotracheal lumen of dog did not prove reduction of fibrosis neither reduction proliferation of fibroblasts, increasing metaplastic changes in respiratory epithelium in response to provoked injury.

Key words: Stenosis, mitomycin C, metaplasia.

* Cirujano Pediatra, egresado de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad, actualmente adscrito al Hospital Regional Militar de Monterrey, Nuevo León. ** Jefe del Área de Pediatría del H.C.M. y Jefe del Curso de Especialización y Residencia en Cirugía Pediátrica de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad. *** Cirujano Pediatra adscrito al Departamento de Cirugía Pediátrica del H.C.M. **** Patóloga adscrita al Departamento de Patología del H.C.M.

Correspondencia:

Mayor M.C. Edgar López Virgen

Hospital Militar Regional. Av. Alfonso Reyes s/n, Ciudad Militar, C.P. 6400, Monterrey, Nuevo León. México. Correo electrónico: edgarlv@yahoo.com

Recibido: Enero 21, 2003.

Aceptado: Marzo 16, 2003.

Introducción

La estenosis laringotraqueal puede ser congénita o adquirida, afectando la glotis, subglotis, tráquea o más frecuentemente múltiples sitios de la vía aérea. La estenosis glótica adquirida puede ser anterior, posterior o completa. La estenosis glótica anterior es generalmente consecuencia de procedimientos endoscópicos involucrando las cuerdas vocales verdaderas en una lesión, formando una membrana cuando dos bordes de la lesión se afrontan y cicatrizan juntos.^{1,2} El trauma laríngeo externo puede resultar en severa estenosis glótica anterior que, a menudo, involucra también las estructuras supraglóticas. La estenosis glótica posterior es generalmente consecuencia de una intubación endotraqueal prolongada.

La compresión de la mucosa que recubre el proceso vocal de los cartílagos aritenoides resulta en una necrosis por presión, seguida de ulceración y formación de tejido de granulación. La ulceración y el tejido de granulación involucran el área interaritenoides y puede evolucionar hacia una escara fibrosa, causando anquilosis de la unión cricoaritenoides. Frecuentemente, la estenosis glótica posterior es seguida de estenosis de la subglotis posterior.¹⁻³ La estenosis glótica completa rara vez ocurre aislada y es generalmente acompañada de estenosis supraglótica o subglótica; en adultos resulta de trauma laríngeo externo y en niños ocurre como secuela de intubación orotraqueal. La estenosis glótica congénita es secundaria a una inadecuada recanalización del lumen laríngeo en el final del tercer mes de gestación; puede ser dada por membranas o atresia dependiendo del grado de recanalización.

La causa más común de estenosis laringotraqueal adquirida es la intubación endotraqueal, explicando 90% de las estenosis laríngeas.¹ Los estudios histopatológicos de la vía aérea han mostrado que aun breves periodos de intubación endotraqueal pueden causar daño del epitelio respiratorio de la subglotis.^{1,3-5} El tejido aerolar laxo de la submucosa rápidamente desarrolla edema, que puede dar lugar a compromiso de la vía aérea. La subglotis es la región más estrecha de la vía aérea en los niños y el cartílago cricoides es el único anillo circunferencial completo de la vía aérea. Por consiguiente, el edema de la mucosa se extiende hacia adentro a expensas del lumen de la vía aérea más que hacia afuera.

La estenosis subglótica es un estrechamiento del espacio subglótico arriba del nivel del margen inferior del cartílago cricoides y por debajo de la apertura glótica. El diámetro normal en un recién nacido sano es de 4.5 a 5 mm, un diámetro subglótico de 4 mm o menos en un recién nacido de término es considerado como estrecho. La incidencia reportada de estenosis laringotraqueal en pacientes intubados es de aproximadamente 1 a 5%.³ En los 60, la intubación endotraqueal prolongada en los neonatos llegó a ser ampliamente aceptada con una alternativa a la traqueostomía. Durante este tiempo, la incidencia de estenosis laringotraqueal fue de 12 a 20%.

La disminución aparente en la incidencia actualmente es debida a una mejor educación de médicos y enfermeras en el

cuidado de los pacientes intubados. La exacta incidencia, sin embargo, es desconocida, debido a que los criterios para diagnosticar estenosis laringotraqueal no han sido uniformes. Muchos niños son inicialmente asintomáticos y no son diagnosticados hasta una etapa posterior de la vida, cuando son referidos para la realización de un procedimiento endoscópico. Además, niños críticamente enfermos pueden morir de su enfermedad de base antes de que la estenosis laringotraqueal sea reconocida.¹⁻⁴

La presencia de un tubo endotraqueal puede dar lugar a compresión de la mucosa por el tubo, si la presión del tubo excede la presión capilar de la mucosa, resultando en edema, isquemia y ulceración. La interrupción del flujo mucociliar normal da lugar a infección del pericondrio (pericondritis), extendiéndose hasta el cartílago. El cartílago se puede necrosar y colapsar manifestándose como traqueomalacia o colapso de la vía aérea durante la inspiración. La cicatrización ocurre de segunda intención con proliferación de tejido de granulación y fibroblastos, así como depósito de tejido fibroso. El resultado final es un cartílago debilitado y una escara estrechando el lumen de la vía aérea. El factor de riesgo más importante para el desarrollo de estenosis laringotraqueal es la duración de la intubación.^{2,3} Aunque cinco a diez días de intubación generalmente son considerados aceptables en adultos, debe hacerse notar que no hay un periodo definitivo "seguro" para el desarrollo de estenosis post-intubación.

Severos daños a la mucosa han sido reportados en periodos de hasta 17 horas en adultos y de una semana en neonatos. En términos generales, el recién nacido prematuro puede permanecer intubado por largos periodos debido a que los cartílagos de la vía aérea en neonatos son más blandos y flexibles que en los adultos. La traqueostomía debe ser considerada después de 50 días de intubación en neonatos. Otros padecimientos sistémicos o enfermedades crónicas debilitantes influyen en el desarrollo de estenosis laringotraqueal, tales como infecciones sistémicas, reflujo gastroesofágico o desnutrición. El desarrollo de sepsis neonatal incrementa el riesgo de infección local y la disminución de la presión sanguínea sistémica disminuye la perfusión de los tejidos aumentando el riesgo de necrosis de los tejidos.¹⁻⁴

Las opciones de tratamiento de la estenosis laringotraqueal dependen de la severidad del cuadro, siendo para los casos leves manejo médico (epinefrina racémica, esteroides), excisión endoscópica con láser, división del cricoides anterior, reconstrucción laringotraqueal hasta la traqueostomía, cirugía de expansión laringotraqueal y resección de la estenosis y anastomosis término terminal para los casos severos. En los últimos años se ha reportado el uso de la mitomicina C en aplicación tópica para prevenir la formación de reestenosis, tanto en modelos animales de experimentación como en estudios clínicos en humanos, con resultados prometedores.^{1,5-9}

La mitomicina es un antibiótico aislado del cultivo de *Streptomyces caespitosus*, usado como antibiótico antineoplásico que actúa como un agente alquilante por inhibición de la síntesis de ADN y proteínas. Puede inhibir la división celular, síntesis de proteínas y proliferación de fibroblastos.

En las últimas décadas, la mitomicina ha sido exitosamente usada para la prevención de estenosis en cirugía de glaucoma, dacriocistorrinostomía y recurrencia del pterigión. La población de fibroblastos y la formación de colágeno se incrementan durante la respuesta a la cicatrización de las heridas que sigue a una lesión de la mucosa, como sucede en los procedimientos quirúrgicos o en intubación traqueal prolongada. En estudios previos, tanto en animales como en humanos, se ha observado que la aplicación tópica de mitomicina C en dosis que han ido desde 0.2 mg/mL hasta 10 mg/mL ha alterado favorablemente la progresión de la estenosis subglótica, inhibiendo la proliferación de fibroblastos con disminución de la formación de colágeno mejorando por consiguiente la permeabilidad de la vía aérea.⁶⁻¹⁴

Objetivo

Determinar la utilidad de la aplicación tópica de mitomicina C al 2% para la prevención de estenosis subglótica en un modelo canino

Método

Para el estudio se utilizaron ocho perros mestizos de 10 kg cada uno, los cuales fueron previamente ambientados (20 días de cuarentena), desparasitados y vacunados. Se utilizó un frasco de mitomicina C (Mitocin -C, Bristol-Myers Squibb de México, S.A. de C.V.), el cual fue mantenido a temperatura ambiente. Cada perro fue tranquilizado antes del procedimiento con propionilpromacina, posteriormente anestesiados con pentobarbital sódico (10-20 mg/kg). Se colocó al animal en posición supina, se elevó la lengua con una gasa, se visualizó la epiglotis, la cual fue levantada y se introdujo un laparoscopio de 10 mm con lente de cero grados conectado a un monitor y a una videocasetera, se avanzó el laparoscopio hasta identificar la región subglótica.

Los perros fueron divididos en dos grupos de cuatro perros cada uno. Al grupo control se le procedió a efectuar una lesión localizada en la mucosa laringotraqueal de la región subglótica (radio de las 12) con electrocauterio calibrado a una potencia de 25, posteriormente se lesionó con microtijeras hasta visualizar mucosa sangrante, llevándose a cabo el mismo procedimiento con el grupo experimental, pero con aplicación inmediata en forma tópica de 1 mL de mitomicina C al 2% (20 mg/mL) sobre el área afectada (aplicada con una torunda).

Los perros fueron dejados a libre evolución. Tres semanas después se llevó a cabo una endoscopia de control, documentándose los hallazgos en video. En dicha sesión se procedió a realizar nueva lesión de la mucosa en la región subglótica con microtijeras y electrocauterio, con aplicación de la misma dosis de mitomicina C al grupo experimental.

Al término de seis semanas, los perros fueron sacrificados, previa realización de endoscopia con documentación de hallazgos en video. Después del sacrificio de los animales se realizó laringectomía, depositando las muestras en formaldehído al 10% enviándose posteriormente al estudio histopatológico.

En el Servicio de Patología se efectuaron cortes axiales a nivel de la zona en estudio, los cuales fueron teñidos con hematoxilina y eosina, así como tinción tricrómica de Masson. Se hicieron mediciones con micrómetro de los diámetros AP y transversales del lumen laringotraqueal en cada una de las muestras.

Finalmente, se realizó un análisis estadístico comparativo de los diámetros con la ayuda de la prueba t de Student para muestras apareadas y del programa SPSS para computadora, con un nivel de significancia de 0.05.

Resultados

Todos los perros incluidos en el estudio sobrevivieron el tiempo que duró el mismo, ninguno presentó dificultad respiratoria ni estridor, ni tampoco se observó complicaciones con el uso de la mitomicina C. El examen endoscópico llevado a cabo a las tres semanas de la lesión inicial no demostró la presencia de estenosis laringotraqueal, apreciándose cambios superficiales a nivel de la mucosa lesionada consistentes en una zona de escaso tejido de granulación, la cual fue más notoria en el grupo que recibió la aplicación de mitomicina C; citados cambios endoscópicos se mantuvieron hasta el término del estudio. En el estudio histopatológico de los cortes de la región subglótica de los perros del grupo control se logró apreciar metaplasia escamosa del epitelio respiratorio, edema de submucosa, fibrosis moderada con leve infiltrado inflamatorio, con algunas zonas de ulceración focal (*Figuras 1 y 2*). Por otra parte, en el estudio de los cortes histológicos del grupo experimental, al que se le aplicó mitomicina C después de la lesión, se encontró con la presencia de una metaplasia escamosa muy acentuada, con zonas de mayor fibrosis y edema de la submucosa (*Figuras 3 y 4*).

Cuadro 1. Grupo control (n = 4). Con lesión en la región subglótica, sin aplicación de mitomicina C.

Perro	*Diámetro AB (cm)	**Diámetro CD (cm)
1	2.0	0.7
2	2.3	0.7
3	1.7	1.0
4	1.9	1.2
	***1.9 ± 0.25	***0.9 ± 0.24

* Diámetro anteroposterior. ** Diámetro transversal. *** Media ± DE.

Cuadro 2. Grupo experimental (n = 4). Con lesión en la región subglótica, con aplicación de mitomicina C.

Perro	*Diámetro AB (cm)	**Diámetro CD (cm)
5	2.1	0.6
6	1.7	0.8
7	1.9	1.2
8	2.1	0.7
	***1.9 ± 0.19	***0.82 ± 0.26

* Diámetro anteroposterior. ** Diámetro transversal. ***Media ± DE.

Cuadro 3. Comparación de diámetros anteroposteriores y transversales.

	Sin mitomicina Media $\pm$ DE	Con mitomicina Media $\pm$ DE	Valor de P*
Diámetro AB (cm)	1.9 $\pm$ 0.25	1.09 $\pm$ 0.19	NS
Diámetro CD (cm)	0.9 $\pm$ 0.24	0.82 $\pm$ 0.26	NS

* t de Student para muestras apareadas. DE: Desviación estándar. NS: No significativo.

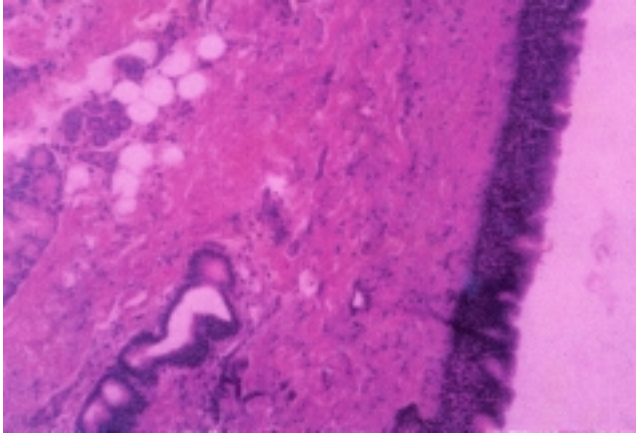


Figura 1. Tinción con hematoxilina y eosina 20X. Corte histológico de laringe de perro sin la aplicación de mitomicina C.

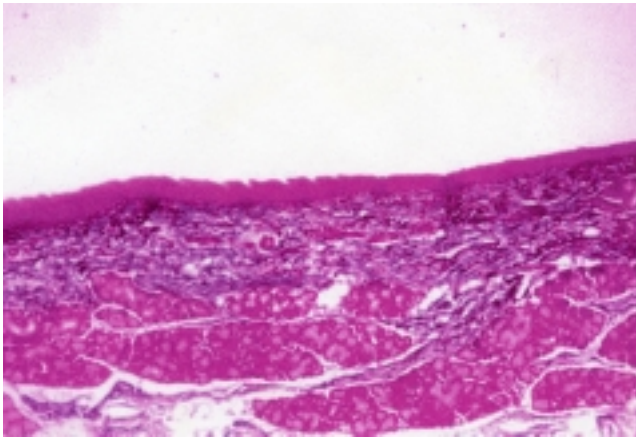


Figura 2. Tinción tricrómica de Masson 10X. Corte histológico de laringe de perro sin la aplicación de mitomicina C. Nótese las áreas de fibrosis (azul).

Finalmente, se llevaron a cabo mediciones de los diámetros anteroposterior y transversales de los cortes histológicos del lumen laringotraqueal tanto del grupo control como del grupo experimental a nivel de la zona de lesión, designándolos como diámetros AB (anteroposterior) y CD (transversal), obteniéndose las mediciones que se muestran en los cuadros 1 y 2. Se realizó un análisis estadístico comparando los diámetros AB y CD entre el grupo control y el grupo experimental utilizando la prueba t de Student para muestras apareadas (Cuadro 3) sin encontrar en ambos grupos una diferencia estadística.

ticamente significativa en cuanto a los diámetros de la región subglótica: diámetro AB $p < 0.478$ y diámetro CD $p < 0.661$. En la figura 5 se muestra una discreta disminución del diámetro anteroposterior con el uso de la mitomicina C, sin llegar a ser estadísticamente significativo. En la figura 6 ambos diámetros se mantienen prácticamente sin cambios y, de la misma manera, no llega a tener una significancia estadística.

Discusión

El manejo de la estenosis subglótica ha sido durante muchos años motivo de controversia, requiriendo de un diagnóstico certero y un adecuado plan de tratamiento. El objetivo final ha sido la restauración del lumen laringotraqueal, lo que ha llevado a múltiples estudios clínicos, estableciéndose opciones de tratamiento médico tales como el uso de esteroides y epinefrina racémica llegando hasta avanzadas técnicas quirúrgicas y endoscópicas con uso de láser de CO₂, microcauterización y criocirugía, con tasas de éxito en diferentes estudios que van desde 44 a 66%.^{1,7,9}

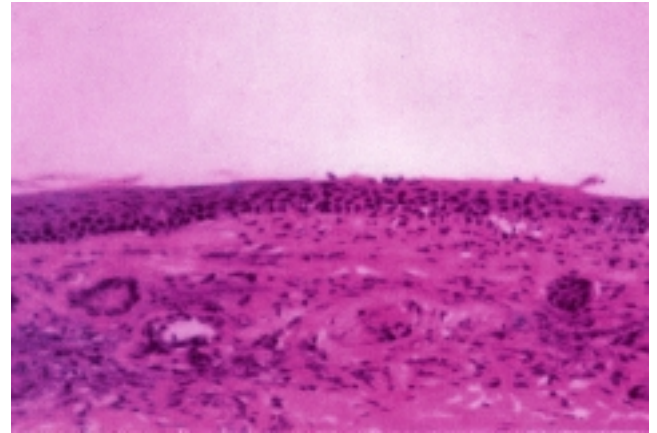


Figura 3. Tinción de hematoxilina y eosina 20X. Corte histológico de laringe de perro después de la aplicación de mitomicina C.

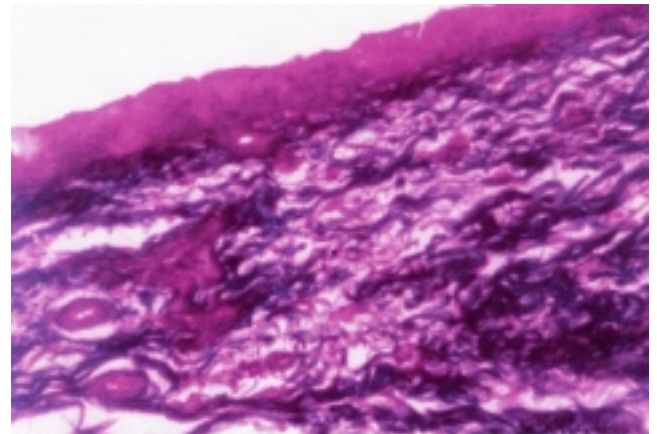


Figura 4. Tinción tricrómica de Masson 20X. Corte histológico de laringe de perro después de la aplicación de mitomicina C. Se observan zonas de fibrosis muy acentuadas (azul).

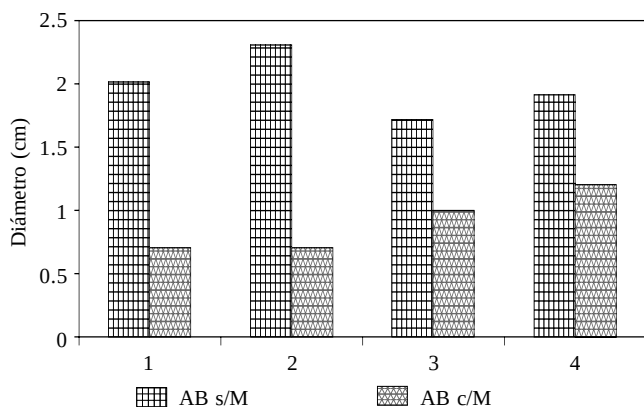


Figura 5. Diámetros anteroposteriores del lumen laringotraqueal sin mitomicina (s/M) y con mitomicina (c/M) $p < 0.478$.

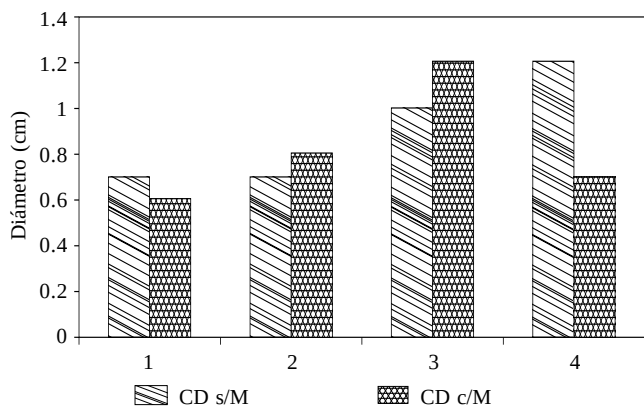


Figura 6. Diámetros transversales del lumen laringotraqueal sin mitomicina (s/M) y con mitomicina (c/M) $p < 0.661$.

Aunque el éxito del manejo de la estenosis subglótica ha dependido de las características de cada paciente (tiempo de estenosis, severidad, tipo de estenosis), la reestenosis con formación de tejido de granulación y la subsecuente escara ha sido el motivo principal de fallas.¹ La gran proliferación de fibroblastos y la formación de colágena incrementa el daño previamente establecido en los casos de estenosis laringotraqueal, por lo que la modulación de la respuesta en la cicatrización de las heridas quirúrgicas ha jugado un papel importante en el éxito de todo tratamiento quirúrgico. En pasadas décadas, agentes farmacológicos como el 5-fluoracilo y el β -aminopropionitrilo demostraron inhibición en la formación de colágena disminuyendo la formación de la escara.^{7,15} Kunitomo y Mori, en 1963, presentaron el primer uso clínico de la mitomicina C en la prevención y tratamiento de la formación de escara en la cirugía de pterigión. Más tarde, Palmer y colaboradores reportaron su uso para la prevención de reestenosis en la cirugía de glaucoma.^{7,11,16}

La mitomicina C es un antibiótico producido por *Streptomyces caespitosus*, con propiedades antineoplásicas y antiproliferativas; inhibe la síntesis de ADN y proteínas. Por sus propiedades antiproliferativas actúa como un agente que puede inhibir la actividad de los fibroblastos suprimiendo la

fibrosis y la formación de la escara.^{6-9,15,16} La mitomicina se ha usado con mucho éxito en el campo de la oftalmología para la prevención de estenosis en la cirugía de glaucoma, dacriocistorrinostomía y recurrencia de pterigión.^{10-12,14,16,17}

En el presente estudio se utilizó mitomicina C al 2% (20 mg/mL) aplicada en forma tópica sobre una mucosa subglótica previamente lesionada en un grupo de cuatro perros; dosis superior a la utilizada en modelos experimentales previos.^{5,9} Nuestros resultados demostraron que esta dosis de mitomicina C no influyó en la baja de la proliferación de fibroblastos ni en la disminución de la fibrosis y formación de colágena, lo que se hizo evidente endoscópicamente al no haber estenosis subglótica y, por el contrario, los cambios metaplásicos en el epitelio laringotraqueal se vieron sustancialmente incrementados; este hecho se contrapone a lo expuesto en los experimentos previos, en los que se suponía que dosis cada vez mayores de mitomicina C podrían inhibir con mayor efectividad y rapidez la proliferación de fibroblastos, al modular con ello la respuesta a la cicatrización a nivel del lumen laringotraqueal.⁶

Referencias

1. Lesperance MM, Zalzar GH. Assessment and management of laryngotracheal stenosis. *Ped Clin North Am* 1996; 43(6): 1413-27.
2. Alexander KC, Leung MB. Diagnosis of stridor in children. *Am Fam Phy* 1999; 60(8): 2289-96.
3. Cotton RT. Management of subglottic stenosis. *Otol Clin of North Am* 2000; 33(1): 111-30.
4. Choi SS. Changing trends in neonatal subglottic stenosis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 122(1): 61-3.
5. Marshak G, Doyle WJ, Bluestone CD. Canine model of subglottic stenosis secondary to prolonged endotracheal intubation. *Laryngoscope* 1982; 92: 805-9.
6. Eliazhar R, Esclamado R, Gramlich T. Can topical mitomycin prevent laryngotracheal stenosis? *Laryngoscope* 1999; 109(10): 1594-600.
7. Rahbar R. Mitomycin: effects on laryngeal and tracheal stenosis, benefits, and complications. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001; 110(1): 1-6.
8. Rahbar R. Preliminary results of intraoperative mitomycin-C in the treatment and prevention of glottic and subglottic stenosis. *J Voice* 2000; 14(2): 282-6.
9. Correa AJ. Inhibition of subglottic stenosis with mitomycin-C in the canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1999; 108(11 Pt): 1053-60.
10. Fruncht-Pery J, Siganos ChS, Ilisar M. Intraoperative application of topical mitomycin C for pterygium surgery. *Ophthalmology* 1996; 103: 674-7.
11. Palmer SS. Mitomycin as adjunct chemotherapy with trabeculectomy. *Ophthalmology* 1991; 98: 317-21.
12. Jampel HD. Effect of brief exposure to mitomycin C on viability and proliferation of cultured human Tenon's capsule fibroblasts. *Ophthalmology* 1992; 99: 1471-6.
13. Mahar PS. Role of mitomycin C in pterygium surgery. *Br J Ophthalmol* 1993; 77(7): 433-5.
14. Singh G, Wilson MR, Foster CS. Mitomycin eye drops as treatment for pterygium. *Ophthalmology* 1998; 95: 813-21.
15. Doolin EJ, Strande LF, Tsuno K. Pharmacologic inhibition of collagen in an experimental model of subglottic stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1998; 107: 275-9.
16. Katz GJ, Higginbotham EJ, Lichter PR. Mitomycin C versus 5-fluorouracil in high-risk glaucoma filtering surgery: Extended follow-up. *Ophthalmology* 1995; 102: 1263-9.
17. Reynolds AC, Skuta GL. Clinical perspectives on glaucoma-filtering surgery. Antiproliferative agents. *Ophthalmol Clin North Am* 2000; 13(3): 501-15.