



Niveles séricos de CD26 y marcadores fenotípicos de fibroblastos en pacientes con estenosis traqueal por intubación

Serum CD26 levels and fibroblast phenotypic markers in patients with tracheal stenosis secondary to orotracheal intubation

Luis Iván Waldo-Hernández,* Marco Antonio Iñiguez-García,* Claudia Hernández-Jiménez,* Néstor Emmanuel Díaz-Martínez,[†] Matilde Baltazares-Lipp,* Rogelio Jasso-Victoria,* Liliana Denisse Valencia-Sánchez,[§] Andrea Gloria Solares-Espinosa*

*Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, Ciudad de México, México;

[†]Laboratorio de Reprogramación Celular y Bioingeniería de Tejidos del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco; [§]Hospital Central «Dr. Ignacio Morones Prieto», San Luis Potosí, México.

RESUMEN. Introducción: la estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal es la causa más común de estenosis traqueal benigna. Es el resultado de una respuesta desregulada de cicatrización, proceso en el cual la dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4 o CD26) se ha propuesto como una de las moléculas con posible papel regulatorio. El trabajo tiene por objetivo evaluar la relación entre los niveles séricos y la expresión tisular de CD26 con la estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal y sus complicaciones, así como describir la expresión de miofibroblastos mediante inmunofluorescencia. **Material y métodos:** se realizó un estudio de casos y controles; se midieron niveles séricos y tisulares de CD26. Se compararon las características de los casos (pacientes con estenosis traqueal) versus controles (sanos), así como asociaciones entre DPP-4 sérica y las variables quirúrgicas (sangrado, complicaciones, tipo de anastomosis, etcétera); posteriormente, se realizó un modelo de regresión logística para evaluar la asociación de DPP-4-S y la presencia de estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal. Además, de manera cualitativa, se evaluó la expresión de DPP-4 y miofibroblastos en tejido traqueal. **Resultados:** se analizaron 22 casos y 22 controles. En el análisis de los casos no se encontraron diferencias entre niveles de DPP-4-S prequirúrgicos y tres meses posquirúrgicos. En el análisis de regresión logística los niveles de DPP-4-S no mostraron una adecuada sensibilidad y especificidad para discriminar estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal; la expresión de miofibroblastos en el tejido traqueal analizado por inmunofluorescencia reveló un aumento en la expresión de éstos. **Conclusiones:** bajo las condiciones de realización de este estudio, los niveles de DPP-4-S no discriminaron adecuadamente los casos de estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal,

ABSTRACT. Introduction: orotracheal intubation stenosis (OTIS) is the most common cause of benign tracheal stenosis. It is the result of a deregulated healing response, a process in which dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4 or CD26) has been proposed as one of the molecules with a possible regulatory role. This work aims to evaluate the relationship between serum levels and tissue expression of CD26 with OTIS and its complications, as well as to describe the expression of myofibroblasts by immunofluorescence. **Material and methods:** a case-control study was carried out; serum and tissue CD26 levels were measured. The characteristics of the cases (patients with tracheal stenosis) versus controls (healthy) were compared, as well as associations between serum DPP-4 and surgical variables (bleeding, complications, type of anastomosis, etc.); subsequently, a logistic regression model was performed to evaluate the association of DPP-4-S and the presence of OTIS. The expression of DPP-4 and myofibroblasts in tracheal tissue was also qualitatively evaluated. **Results:** 22 cases and 22 controls were analyzed. In the analysis of the cases, no differences were found between pre-surgical and three months post-surgical DPP-4-S levels. In the logistic regression analysis, DPP-4-S levels did not show adequate sensitivity and specificity to discriminate OTIS; the expression of myofibroblasts in the tracheal tissue analyzed by immunofluorescence revealed an increase in their expression. **Conclusions:** under the conditions of this study, DPP-4-S levels did not adequately discriminate cases of OTIS, although its expression was found to increase in tracheal tissue, and it cannot be ruled out that it may serve as a therapeutic target in the early stages of tracheal stenosis secondary to orotracheal intubation or before its formation.

Correspondencia:

Dr. Luis Iván Waldo-Hernández

Departamento de Cirugía, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, Ciudad de México.

Correo electrónico: ivanwaldo2303@hotmail.com; dr.luiswaldo@gmail.com

Recibido: 16-X-2023; aceptado: 03-III-2024.

Citar como: Waldo-Hernández LI, Iñiguez-García MA, Hernández-Jiménez C, Díaz-Martínez NE, Baltazares-Lipp M, Jasso-Victoria R et al. Niveles séricos de CD26 y marcadores fenotípicos de fibroblastos en pacientes con estenosis traqueal por intubación. Neumol Cir Torax. 2023; 82 (3):153-161. <https://dx.doi.org/10.35366/116814>

aunque su expresión se encontró incrementada en tejido traqueal; y no se descarta que pueda fungir como blanco terapéutico en etapas tempranas de la estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal o previo a su formación.

Palabras clave: estenosis traqueal, CD26, traqueoplastía, DPP-4, miofibroblastos.

Abreviaturas:

DPP-4 o CD26 = dipeptidil peptidasa-4.

DPP-4-S = dipeptidil peptidasa-4 sérica.

ETSIO = estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal.

FAP = proteína de activación de fibroblastos.

INTRODUCCIÓN

La estenosis provocada por intubación prolongada es la causa más común de estenosis traqueal benigna. Su incidencia se ha reportado entre 0.3-11% y hasta 20% de las personas sometidas a intubación traqueal en algunos estudios.^{1,2} El síndrome respiratorio agudo grave por coronavirus 2 (SARS-CoV-2) y la pandemia asociada de COVID-19 han provocado un aumento de pacientes críticos que requieren ventilación mecánica prolongada,³ con lo que se espera un incremento en la frecuencia de patologías traqueales, incluida la estenosis traqueal, en los próximos años.⁴

El tratamiento quirúrgico es el de primera elección y aunque suele ser exitoso en la mayoría de los casos, la recidiva de la enfermedad sigue siendo un obstáculo importante, lo que ha motivado gran parte de la investigación sobre la patogénesis de la estenosis traqueal. En este sentido, varios estudios han demostrado el papel de las vías de señalización de la inflamación y de procesos infecciosos en el desarrollo de la estenosis laringotraqueal.⁵ Así, se ha visto en fibroblastos murinos y fibroblastos dérmicos humanos que la dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4 o CD26) soluble activa la señalización de NF-κB y SMAD a través de PAR2, lo que conduce a la activación de fibroblastos dérmicos, por lo que se ha sugerido que niveles elevados de DPP-4 soluble circulante podrían fungir como uno de los mediadores que inducen fibrosis en pacientes.

En la actualidad no existe una clasificación universalmente validada que incluya una recomendación terapéutica específica y un pronóstico asociado, sin embargo, se ha propuesto una clasificación integrativa de la vía aérea principal que considere la causa de la estenosis, magnitud de la obstrucción, afectación de la mucosa y pared, el número de lesiones estenóticas, la presencia de fistulas, entre otras características.⁶ El presente trabajo se centra en la estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal, que es la causa más frecuente y responsable de 48 a 55% de los casos.⁷ A menudo se considera que la duración de la intubación es el factor de riesgo más importante para el desarrollo

Keywords: tracheal stenosis, CD26, tracheoplasty, DPP-4, myofibroblasts.

de la estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal (ETSIO), tanto en adultos como en niños;⁴ aunque también se ha documentado que la estenosis traqueal es común incluso en pacientes intubados por períodos cortos de tiempo.⁸ Actualmente se cree que una cicatrización aberrante conlleva la aparición de ETSIO. El proceso funcional normal de cicatrización de heridas pasa por cuatro fases programadas: hemostasia, inflamación, proliferación y epitelización o remodelación. Estas fases están sincronizadas, controladas temporalmente, e implican una compleja interacción entre diferentes tipos celulares, citocinas, mediadores y la vasculatura. Las fases 1-3 suelen durar hasta tres semanas, mientras que la fase de remodelación dura de semanas a años.⁹

Se han descrito múltiples mecanismos involucrados en la formación de la ETSIO, entre los cuales se han descrito: la superfamilia TGF-β, el trauma a la mucosa, isquemia, estrés biomecánico, translocación bacteriana y fibrosis.¹⁰ Particularmente nos centramos en el papel de los miofibroblastos y de la DPP-4. La evidencia actual demuestra que los fibroblastos experimentan un cambio hacia el fenotipo miofibrolástico en respuesta a la hipoxia que sufren los fibroblastos en la ETSIO. Esto apoya el papel de la hipoxia en la patogénesis inicial del ETSIO, que conduce a una transdiferenciación de los fibroblastos residentes en miofibroblastos contráctiles y profibróticos.¹¹

La importancia de la familia génica del CD26 en la regulación de vías bioquímicas críticas sigue haciéndose evidente. Los dos miembros más estudiados de la familia, CD26 y la proteína de activación de fibroblastos (FAP), se han investigado tanto como dianas terapéuticas de enfermedades como biomarcadores diagnósticos. Su interés como posibles biomarcadores se ha visto impulsado principalmente por la observación de perfiles de expresión alterados en enfermedades inflamatorias y cáncer. Además, la estabilidad y persistencia de estas proteínas solubles en el suero las convierten en una atractiva propuesta como marcadores serológicos.¹² Se ha observado que el inhibidor de DPP-4 linagliptina anula la expresión de proteínas fibróticas (como la elastina y a-SMA), y previene la activación de vías de señalización de factores de transcripción inducida por DPP-4.¹³

El manejo actual de los pacientes con estenosis traqueal es quirúrgico (resección traqueal con anastomosis),¹⁴ siempre que las condiciones clínicas y anatómicas del paciente

lo permitan. En caso contrario, existen otras alternativas como la resección con láser o dilatación endoscópica, colocación de stents, injertos de interposición, férulas de Montgomery y, como última opción, la traqueostomía.^{7,15} Se han empleado múltiples intervenciones médicas con el objetivo de intervenir en el proceso inflamatorio inherente a la estenosis traqueal, con el fin de disminuir el índice de reestenosis y con ello ofrecer las mejores alternativas al paciente, éstas van desde el uso de antiinflamatorios no esteroideos y esteroideos, mitomicina C, antibióticos, agonistas del receptor PPAR (como lanifibranor), entre otras terapias que se encuentran en investigación.^{7,16,17} Por lo que un mejor entendimiento de los mecanismos que subyacen el proceso inflamatorio y de cicatrización en pacientes con ETSIO es un campo relevante, por su potencial de permitir el desarrollo de terapias antiinflamatorias dirigidas. La CD26 es prometedora en distintos órganos y en varias formas de fibrosis aguda y crónica.¹⁸ Se ha visto que la inhibición de la actividad enzimática con diprotina A produce una disminución de la cicatrización, lo que convierte a DPP-4 en una molécula atractiva como potencial blanco terapéutico o biomarcador en la ETSIO.¹⁹

Este trabajo de investigación tiene por objetivo evaluar la relación entre los niveles séricos y la expresión tisular de CD26 con la ETSIO y sus complicaciones, así como describir la expresión de miofibroblastos mediante inmunofluorescencia, siendo el presente proyecto el primero en la literatura en buscar demostrar ambas relaciones. Así, la presente investigación busca abonar en la comprensión de los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de la ETSIO.

Tabla 1: Variables quirúrgicas de pacientes posoperados por estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal. N = 22.

Variables cualitativas	n (%)
Traqueostomía	
Sí	6 (27)
No	16 (73)
Tipo de anastomosis	
C-T	6 (27)
T-T	16 (73)
Presentó complicaciones	
Sí	2 (9)
No	20 (91)
Variables cuantitativas	Mediana [p25-p75]
Días de intubación	14.5 [9-18]
Número de dilataciones previas	1 [1-2]
Número de anillos traqueales resecados	4 [3-5]
Sangrado, (mL)	100 [70-120]
Tiempo quirúrgico, (min)	190 [160-210]

C-T = anastomosis crico-traqueal. T-T = anastomosis traqueo-traqueal.

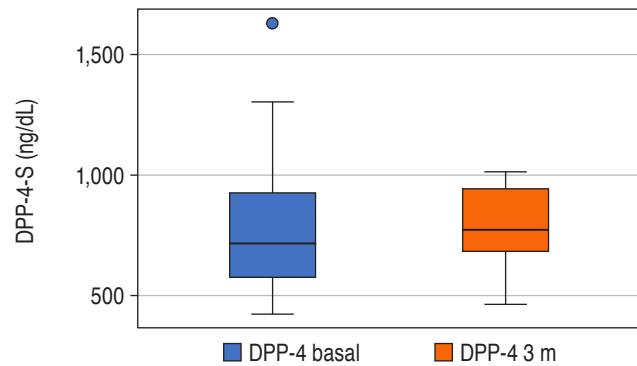


Figura 1: Niveles séricos de dipeptidil peptidasa-4 pre y posquirúrgicos en los casos (pacientes con estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal).

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio de casos y controles 1:1. Se incluyeron todos los pacientes con diagnóstico de ETSIO posoperados de traqueoplastía en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER). Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia. Se recabó información de 22 casos y 22 controles. El período de reclutamiento fue de noviembre de 2021 a marzo de 2023.

Los criterios de inclusión para los casos fueron: pacientes con diagnóstico de ETSIO, mayores de 18 años, candidatos a traqueoplastía que contaban con consentimiento informado firmado y PCR para SARS-CoV-2 negativa al ingreso. Para los controles: médicos residentes del INER o personas que acuden al Área del Banco de Sangre a donar componentes sanguíneos, mayores de 18 años y que firmaron el consentimiento informado. Los criterios de exclusión: pacientes con diagnóstico de enfermedad renal, autoinmune, hepática o cáncer en los cinco años previos a su procedimiento quirúrgico, ingesta de antibióticos, esteroides o antiinflamatorios hasta siete días antes del procedimiento quirúrgico o uso de inhibidores de DPP-4. Los criterios de eliminación: pérdida en el seguimiento, alteración en los marcadores inflamatorios iniciales (PCR > 2 mg/dL, procalcitonina > 1 ng/mL) o solicitud del paciente de retiro de la investigación.

Se realizaron los siguientes estudios de laboratorio clínico: biometría hemática completa, química sanguínea, perfil lipídico, hemoglobina glucosilada, proteína C reactiva y procalcitonina, así como medición basal de CD26 sérica en el día de ingreso hospitalario. En el procedimiento quirúrgico se tomó parte representativa de la pieza quirúrgica resecada (anillos traqueales estenóticos) para la determinación cualitativa de la tinción de CD26 membranal y la determinación de la expresión de miofibroblastos mediante inmunofluorescencia (FAP, SMA, vimentina y alfa actina de músculo liso). Se dio seguimiento a las complicaciones en

los primeros tres meses y determinación de CD26 sérica de control entre las ocho y 12 semanas posteriores al procedimiento quirúrgico.

El suero de pacientes fue obtenido en tubo sin anticoagulante, centrifugados a 1,800 rpm durante 15 minutos a 4 °C (Eppendorf 5810R); posteriormente, fueron almacenados en tubos de polipropileno a -20 °C. La cuantificación de los niveles plasmáticos de CD26 se realizó mediante *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) MyBioSource 96-well MBS2882455 (San Diego; California, United States).

Para el protocolo de inmunofluorescencia el tejido se crioprotegió con Tissue-Tek y se almacenó a -80 °C. Se realizaron secciones de 8 µm de espesor en el criostato, se fijaron con paraformaldehído al 4% y se lavaron dos veces con PBS. Se lavaron las secciones con suero bloqueador al 1% en PBS-T (PBS con Triton X-100 al 0.4%). Se bloqueó la unión no específica incubando las secciones de tejido con suero al 5% en PBS-T durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Se agregó el anticuerpo primario diluido en PBS-T de suero animal al 1% (CD26 Recombinant Rabbit Monoclonal Antibody [JM11-42], 100 µL. Invitrogen; anti-vimentin antibody [RV202] - Cytoskeleton Marker, 100 µg. Abcam; anti-alpha smooth muscle actin antibody [1A4], 100 µg y Abcam FAPA Polyclonal Antibody, 100 µL. Bioss antibodies). Se usó la dilución recomendada del anticuerpo especificada en la ficha de datos.

Se lavaron las secciones con suero PBS-T al 1%, y se agregó anticuerpo secundario diluido en suero PBS-T al 1% (Goat anti-Rabbit IgG [H+L] Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor™ 555, 1 mg. Invitrogen y Goat anti-Mouse IgG [H+L] Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor™ 488, 1 mg invitrogen), se incubó a temperatura ambiente durante una a dos horas, con la dilución recomendada del anticuerpo especificado en la hoja de datos. Despues de la aplicación de todos los anticuerpos primarios se aplicó tintes de unión al ADN DAPI y se realizó

Tabla 2: Diferencia de medianas de los valores dipeptidil peptidasa-4 sérica en variables quirúrgicas categóricas.

DPP-4-S (ng/dL)	Mediana [p25-p75]	p
Complicaciones		
Sí	791 [558-1,023]	0.6478
No	708 [528-908]	
Traqueostomía		
Sí	569 [509-722]	0.1845
No	752 [537-980]	
Tipo de anastomosis		
C-T	822 [538-937]	0.507
T-T	663 [528-841]	

C-T = anastomosis crico-traqueal. T-T = anastomosis traqueo-traqueal.

Tabla 3: Correlación valores dipeptidil peptidasa-4 sérica y variables quirúrgicas cuantitativas.

Variable	Coeficiente de correlación	p
Días de intubación	-0.2154	0.3358
Días con traqueostomía	-0.3201	0.1464
Número de dilataciones	-0.0799	0.7236
Número de anillos resecados	-0.1595	0.4784
Sangrado	0.4893	0.0208
Tiempo quirúrgico	-0.061	0.7874

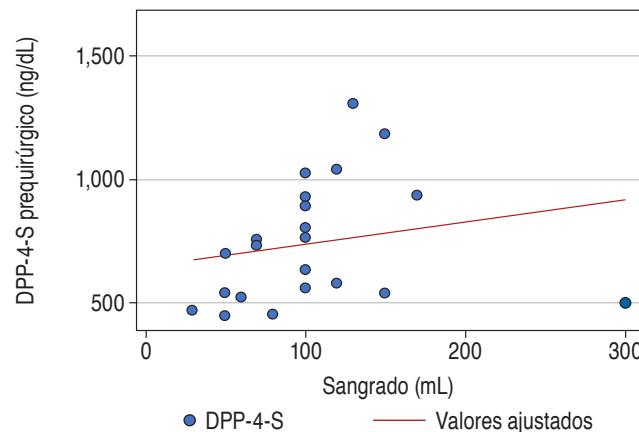


Figura 2: Niveles de dipeptidil peptidasa-4 sérica y sangrado transoperatorio.

el control en cultivo de fibroblastos. La evaluación se realizó con un microscopio ZEISS Axio Vert A1.

Se incluyeron igualmente controles sanos mayores de 18 años que firmaron consentimiento informado, se tomó muestra sanguínea para medición sérica de CD26, así como laboratorios complementarios para su estudio (biometría hemática, química sanguínea, PCR, procalcitonina, perfil lipídico y hemoglobina glucosilada).

Todos los datos fueron recabados en una hoja de cálculo de Excel. La información recolectada se analizó con el programa Stata® versión 14 para Mac. Se realizó el cálculo de frecuencias y porcentajes simples para las variables cualitativas y se calcularon medidas de tendencia central y de dispersión para variables cuantitativas. Se eligió el tipo de gráfico de acuerdo con la naturaleza de las variables según fueran cuantitativas o cualitativas.

Análisis estadístico: se analizaron diferencias en los niveles de DPP-4 de acuerdo con las diferentes variables quirúrgicas (tiempo quirúrgico, tipo de anastomosis, sangrado, complicaciones, tipo de sutura). Se realizó una descripción de las características de los controles y finalmente se realizó la comparación de las características entre los

Tabla 4: Variables cualitativas de los controles divididos por subgrupo.
N = 22.

Variable (categoría)	Residentes (N = 11) n (%)	No residentes (N = 11) n (%)	p
Género			
Mujer	2 (18)	1 (9)	
Hombre	9 (82)	10 (91)	0.99
Edad			
≤ 33	7 (64)	6 (55)	0.99
> 33	4 (36)	5 (45)	
Peso, (IMC)			0.562
Normal	5 (46)	3 (27)	
Sobrepeso	4 (36)	3 (27)	
Obesidad	2 (18)	5 (46)	
Comorbilidades*			0.476
Sí	2 (18)	0 (0)	
No	9 (82)	11 (100)	
Tabaquismo			0.99
Sí	1 (9)	0 (0)	
No	10 (91)	11 (100)	
Toma alcohol			0.04
Sí	7 (64)	2 (18)	
No	4 (36)	9 (82)	
Antecedente de COVID-19			0.002
Sí	10 (91)	2 (18)	
No	1 (9)	9 (82)	

IMC = índice de masa corporal. COVID-19 = enfermedad por coronavirus 2019.

* Incluyen: diabetes, hipertensión arterial sistémica, toxicomanías, enfermedad tiroidea, epilepsia y asma.

casos y los controles con la prueba exacta de Fisher para el caso de variables cualitativas y con las pruebas U de Mann-Whitney o Kruskal Wallis (según el número de categorías de la variable) para variables cuantitativas. Asimismo, se realizó la prueba de rango de signos de Wilcoxon para datos pareados, y se evaluó si los cambios en los niveles de DPP-4-S pre y posquirúrgicos fueron estadísticamente significativos. Adicionalmente, se realizó un modelo de regresión logística para evaluar si DPP-4-S podría ser un predictor de estenosis traqueal y se realizó un análisis de sensibilidad y especificidad de la prueba.

El estudio se aprobó por el Comité de Ética e Investigación del INER, con el número de aprobación C 14-22. Se solicitó a los pacientes y controles sanos la firma de la carta de consentimiento informado. El estudio se apegó a las normas de la Ley General de Salud para Investigación y a la Declaración de Helsinki.

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 22 casos y 22 controles en el estudio. En la *Tabla 1* se observan las características del procedimiento quirúrgico en los pacientes con tratamiento quirúrgico de la ETSIO. A cerca de 73% de los pacientes se les realizó anastomosis traqueo-traqueal y la mayoría no tuvieron complicaciones. Como parte del análisis detallado de los casos se evaluaron diferencias en los niveles de DPP-4-S pre y posquirúrgicos (*Figura 1*); no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p = 0.9738). Finalmente, se evaluó si una o más características quirúrgicas se relacionaban con los niveles

Tabla 5: Variables cuantitativas de los controles divididos por subgrupo. N = 22.

Variable	Residentes (N = 11) mediana [p25-p75]	No residentes (N = 11) mediana [p25-p75]	p
DPP-4-S (ng/dL)	677 [577-700]	927 [771-1,179]	0.3981
Leucocitos (cels/μL)	6.4 [4.9-7.3]	6.8 [5.8-8.3]	0.0956
Linfocitos (cels/μL)	2.2 [1.6-2.8]	2.4 [1.9-2.7]	0.8233
PMN (cels/μL)	2.8 [2.3-4.4]	3.1 [3.7-4.5]	0.0527
Glucosa (mg/dL)	93 [90-96]	81 [78-84]	0.1805
HbA1c (%)	5.3 [5.2-5.5]	5.5 [5.3-5.7]	0.9159
Colesterol total (mg/dL)	183 [143-215]	161 [152-200]	0.4455
Triglicéridos (mg/dL)	107 [86-144]	167 [76-211]	0.05
Índice aterogénico	3.7 [2.5-4.2]	3.5 [2.9-4.9]	0.2358
PCR (mg/L)	0.11 [0.04-0.2]	0.17 [0.1-0.2]	0.0001
Procalcitonina (ng/mL)	0.02 [0.01-0.03]	0.02 [0.01-0.02]	0.344

DPP-4-S = dipeptidil peptidasa-4 sérica. PMN = polymorfonucleares. PCR = proteína C reactiva.

Tabla 6: Variables cuantitativas de casos versus controles. N = 22.

Variables	Casos mediana [p25-p75]	Controles mediana [p25-p75]	p
DPP-4-S	708 [536-922]	503 [10-679]	0.3981
Leucocitos	6.9 [6.3-8.5]	6.5 [5.4-7.3]	0.0956
PMN	4.3 [3.7-5.1]	3.6 [2.7-4.4]	0.0527
Glucosa	93 [82-104]	87 [81-96]	0.1805
HbA1c	5.4 [5.2-5.8]	5.4 [5.2-5.6]	0.9159
Colesterol total	166 [138-190]	170 [146-200]	0.4455
Triglicéridos	187 [124-212]	121 [78-181]	0.05
Índice aterogénico	4.2 [3.1-5]	3.7 [2.7-4.6]	0.2358
PCR	0.35 [0.3-0.4]	0.115 [0.1-0.2]	0.0001
Procalcitonina	0.02 [0.01-0.03]	0.02 [0.01-0.02]	0.344

DPP-4-S = dipeptidil peptidasa-4 sérica. PMN = polimorfonucleares. PCR = proteína C reactiva.

de DPP-4. Esto se realizó tanto en variables categóricas (*Tabla 2*) como continuas (*Tabla 3*). La única variable que mostró correlación con los niveles séricos de DPP-4 fue el sangrado transoperatorio (*Figura 2*).

Dada las diferencias en el reclutamiento, en la primera parte de este trabajo de investigación,¹⁹ en la cual médicos residentes del INER fueron reclutados como controles (se reclutaron a partir de donadores del Banco de Sangre del INER), se realizó un subanálisis de los controles, comparando a residentes y no residentes en búsqueda de diferencias estadísticas que pudieran apuntar a un sesgo de selección y de información en los controles. Al analizar la variable dependiente principal, se encontraron diferencias no significativas en los niveles de DPP-4-S entre residentes y no residentes. En las *Tablas 4 y 5* se muestra la comparación de las variables categóricas.

En el análisis estadístico de casos versus controles se observa una mayor frecuencia de comorbilidades entre los pacientes posoperados por ETSIO, los cuales también mostraron niveles estadísticamente mayores de triglicéridos y proteína C reactiva (*Tabla 6*), con lo cual corroboramos la ausencia de procesos inflamatorios activos en los controles. Por el contrario, no se observaron diferencias estadísticas en los niveles séricos de DPP-4 entre los grupos (*Figura 3*).

Se realizó un modelo univariado de regresión logística para evaluar si DPP-4-S podría ser un predictor de estenosis traqueal, donde se observa un OR muy cercano a 1, y una pseudo R² de apenas 1.4%, lo que implica que prácticamente no hay diferencia en los niveles de DPP-4-S entre casos y controles, y que la probable contribución de DPP-4-S como predictor de estenosis es menor a 2%.

Niveles séricos de DPP-4 de pacientes con estenosis traqueal secundaria a intubación orotraqueal previo a cirugía versus controles sanos.

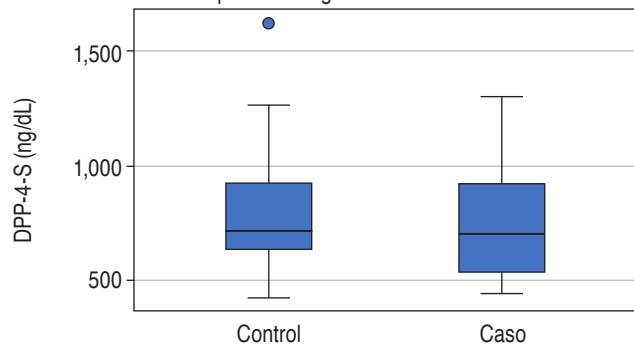


Figura 3: Niveles de dipeptidil peptidasa-4 en casos (N = 22) y controles (N = 22).

La detección de FAP- α , CD26, α -SMA y vimentina se realizó en tejido de tráquea, así como su control. Se tomaron fotografías de contraste de fases (PH-C), de los marcas de cada uno y se empalmaron las imágenes de ambos marcas (MERGE). Posteriormente, se cuantificó el área positiva a los marcas de DAPI, FAP- α (*Figura 4A*), CD26 (*Figura 4B*), α -SMA y vimentina. Se observó un incremento en el porcentaje de área de los marcadores CD26 y FAP- α , lo que sugiere formación de arquitectura del microambiente fibrótico en el tejido. El incremento en el porcentaje de área de α -SMA sugiere presencia de miofibroblastos en el tejido, células asociadas a formación de tejido fibrótico. El incremento en el porcentaje de área de vimentina sugiere la formación de andamios que promueven la migración mesenquimal asociada a fibrosis.

DISCUSIÓN

Los niveles de DPP-4-S no mostraron una adecuada sensibilidad y especificidad para discriminar la enfermedad, aunque la expresión tisular CD26 sí se encontró incrementada en los casos respecto al tejido control.

En el análisis de los casos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre niveles pre y posquirúrgicos, resultado que contrasta con lo identificado en la primera parte de este estudio,¹⁹ lo cual se puede explicar por los niveles significativamente más bajos de DPP-4 en los controles incluidos en dicho trabajo. Sin embargo,

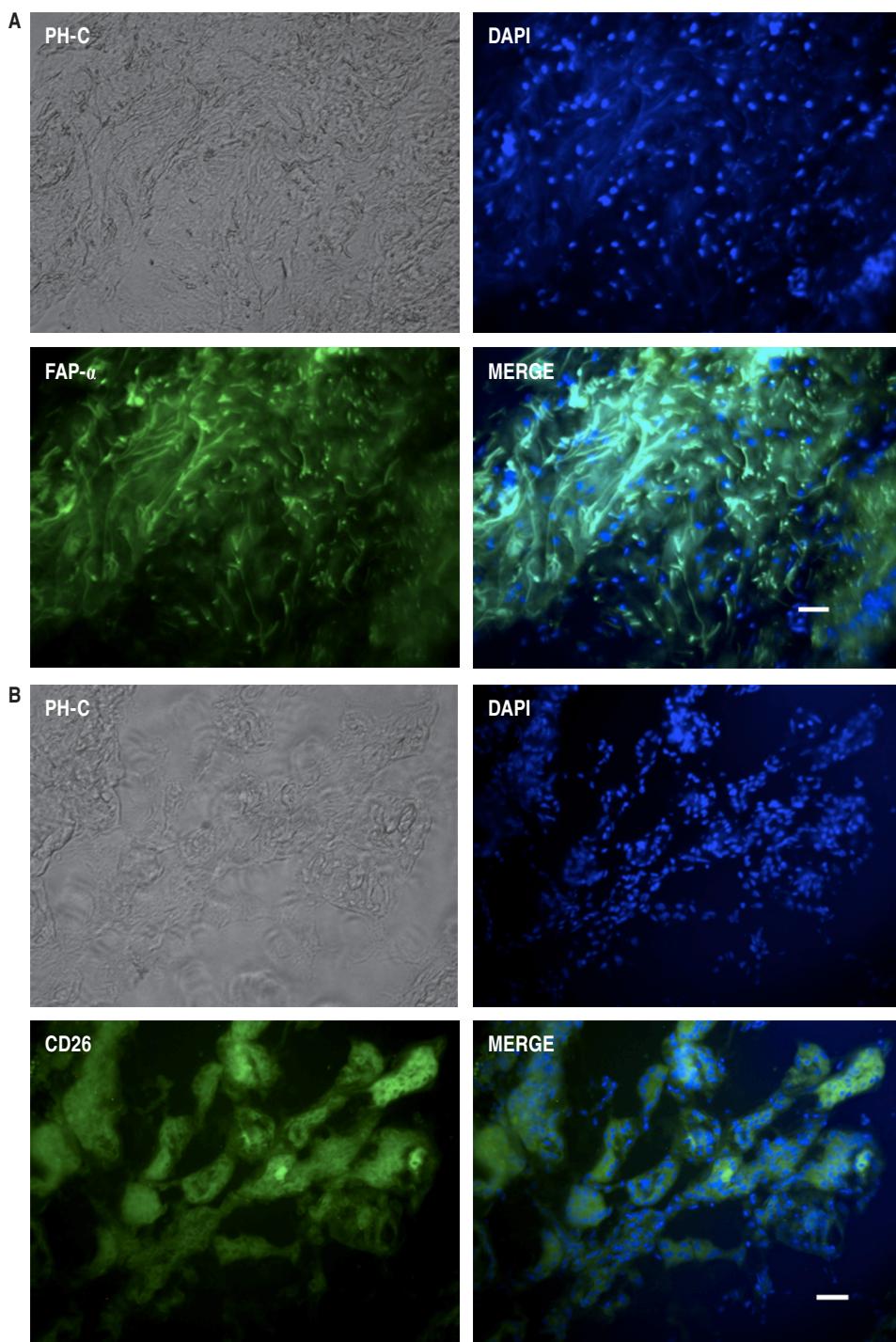


Figura 4:

- A)** Detección de FAP- α en tejido de tráquea. Barra de escala 20 μm .
- B)** Detección de CD26 en tejido de tráquea. Barra de escala 20 μm .

debemos considerar que la acción de DPP-4 es compleja e involucra múltiples vías de señalización y mecanismos que aún son poco comprendidos,¹³ mientras que los efectos de la DPP-4-S podrían ser independientes de su actividad enzimática, que también juega un papel importante en la inflamación.²⁰ Además, la estenosis traqueal es una patología de etiología muy heterogénea,²¹ en la que se ha descrito el papel de múltiples mecanismos fisiopatológicos.²² Se ha visto, por ejemplo, que la repercusión clínica puede variar dependiendo del tipo de estenosis,²³ por lo cual no podemos afirmar que los simples valores de DPP-4-S sean el único marcador de su actividad, y no descartamos su potencial utilidad en otros contextos de inflamación y cicatrización.

No es de sorprender la correlación positiva encontrada entre los niveles de DPP-4-S y el sangrado transoperatorio (*Figura 2*), dada la elevada frecuencia de expresión de DPP-4 en el endotelio y su reconocido papel en la hemostasia.¹¹ En el caso de las vías respiratorias, Johnson y colaboradores,²⁴ encontraron que varios anticuerpos monoclonales que reconocen la CD26/DPP-4-S tiñeron intensamente el endotelio de los capilares pulmonares, pero no los de otros tipos de vasos sanguíneos de gran calibre,²⁰ lo que nos lleva a pensar que la vía aérea podría tener particularidades que la hagan especialmente susceptible a procesos alterados de cicatrización, como se ha hipotetizado en la etiología de la estenosis traqueal.¹⁸

El análisis intracontroles reveló diferencias en los niveles de DPP-4-S entre residentes y no residentes. Asimismo, al comparar otras características entre ambos subgrupos, los residentes tuvieron una glucemia más elevada y mayor frecuencia de consumo de alcohol y antecedente de COVID-19 (todas con $p < 0.05$). Para explorar estos resultados, realizamos modelos exploratorios complementarios de regresión lineal, en los cuales se observó una relación inversa entre el antecedente de COVID-19 y DPP-4-S ($p < 0.001$), mientras que se perdió la significancia de la glucemia y el consumo de alcohol al controlar por otras variables.

Así, se evidencia que podría haber una relación entre la infección por SARS-CoV-2 y la actividad de DPP-4-S. Si bien esta relación no ha sido del todo dilucidada, en un estudio se observó que en pacientes infectados con MERS-CoV, la concentración de DPP-4-S en plasma disminuyó significativamente y se correlacionó con la gravedad de la enfermedad, mientras que en 2020 se informó un resultado similar en pacientes con COVID-19 grave.²⁵

Los resultados de este análisis no arrojaron diferencias significativas en las características sociodemográficas y clínicas entre casos y controles (*Tabla 6*). Tampoco se observó diferencia en la variable principal, los niveles de DPP-4-S. Sin embargo, sí se observó diferencia en expresión de CD26 en tejido traqueal. Esto podría deberse a varios factores, entre ellos la vida media de DPP-4-S,²⁰ la etapa

de la estenosis traqueal en que pudiera tener mayor repercusión (fase aguda versus crónica), o el momento en que se midieron sus niveles en los casos, lo cual se realizó previo a la cirugía, momento que no necesariamente corresponde con las etapas de formación de la estenosis.

El presente estudio tiene algunas limitaciones. En primera, dado que la mayoría de los pacientes intervenidos llegaron referidos de otras instituciones, se desconoce a ciencia cierta el intervalo entre el inicio de la patología y la realización de la cirugía, lo cual tiene implicaciones en la potencial utilidad de la detección de DPP-4 en etapas iniciales de la patogénesis de ETSIO. Finalmente, los resultados de inmunofluorescencia son descriptivos, por lo que no se pudo evaluar estadísticamente la relación entre los niveles séricos y tisulares de DPP-4.

La investigación de otras moléculas como posibles marcadores diagnósticos, pronósticos o blancos terapéuticos, especialmente en humanos, es extremadamente valioso para el progreso del conocimiento científico en este campo, aun si no hay diferencias significativas ya que, como sabemos, «la falta de evidencia, también es evidencia» y sirve de guía a futuras investigaciones, aumentando el potencial para el desarrollo de terapias inmunológicas, genómicas y proteómicas específicas para el tratamiento de padecimientos inflamatorios/fibróticos, entre ellos la ETSIO.^{10,26}

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de realización de este estudio, los niveles de DPP-4-S no discriminaron adecuadamente los casos de ETSIO, aunque su expresión se encontró incrementada en tejido traqueal, por lo que no se descarta que pueda fungir como marcador diagnóstico o blanco terapéutico en etapas tempranas de ETSIO o previo a su formación, por ejemplo, en momentos cercanos a la intubación.

El presente artículo constituye uno de los pocos estudios en humanos donde se evalúan niveles séricos y tisulares de CD26, así como la descripción de la transdiferenciación de los fibroblastos a miofibroblastos en el tejido enfermo de pacientes con ETSIO, sirviendo como precedente y realizando una aportación invaluable en el estudio de la fisiopatología de ésta, que abre camino a futuras investigaciones en la búsqueda de biomarcadores en patología traqueal.

Agradecimientos

A todos los que con su entusiasmo participaron de forma directa o indirecta en la realización del presente estudio, a todos los integrantes de la Subdirección de Cirugía y del Departamento de Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, y a los integrantes del Laboratorio de Reprogramación Celular

y Bioingeniería de Tejidos del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.

REFERENCIAS

1. Santana ÁJ, García AÁP, Quiroga MLE, Estrada BY, González BLL, Crespo GMC. Estenosis traqueal media por intubación prolongada. Arch Méd Camagüey. 2018;22(5):752-766.
2. Wain JC Jr. Postintubation tracheal stenosis. Semin Thorac Cardiovasc Surg. 2009;21(3):284-289. Available in: <https://doi.org/10.1053/j.semtcv.2009.08.001>
3. Wang X, Fan D. Post-intubation tracheal stenosis deserves attention. Asian J Surg. 2023;46(7):2909. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.asjsur.2023.01.106>
4. Dorris ER, Russell J, Murphy M. Post-intubation subglottic stenosis: aetiology at the cellular and molecular level. Eur Respir Rev. 2021;30(159):200218. Available in: <https://doi.org/10.1183/16000617.0218-2020>
5. Rosow DE, Barbarite E. Review of adult laryngotracheal stenosis: pathogenesis, management, and outcomes. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2016;24(6):489-493. Available in: <https://doi.org/10.1097/moo.0000000000000305>
6. Rosell A, Gil D. Estenosis de la vía aérea principal. Clasificaciones y sistemas de medición. Medicina Respiratoria. 2018;11(2):45-51.
7. Lina I, Tsai H, Ding D, Davis R, Motz KM, Hillel AT. Characterization of fibroblasts in iatrogenic laryngotracheal stenosis and type II diabetes mellitus. Laryngoscope. 2021;131(7):1570-1577. Available in: <https://doi.org/10.1002/lary.29026>
8. Honguero MAF, León AP, Rombolá CA, Núñez AA del R, Vizcaya SM. Estenosis traqueosubglótica postintubación. Obstrucción aguda de la vía aérea: manejo de la urgencia y tratamiento definitivo. Rev Patol Respir. 2011;14(2):61-63.
9. Carpenter DJ, Hamdi OA, Finberg AM, Daniero JJ. Laryngotracheal stenosis: Mechanistic review. Head Neck. 2022;44(8):1948-1960. Available in: <https://doi.org/10.1002/hed.27079>
10. Davis RJ, Hillel AT. Inflammatory pathways in the pathogenesis of iatrogenic laryngotracheal stenosis: what do we know? Transl Cancer Res. 2020;9(3):2108-2116. Available in: <https://doi.org/10.21037/tcr.2020.01.21>
11. Talbott HE, Mascharak S, Griffin M, Wan DC, Longaker MT. Wound healing, fibroblast heterogeneity, and fibrosis. Cell Stem Cell. 2022;29(8):1161-1180. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2022.07.006>
12. Yazbeck R, Jaenisch SE, Abbott CA. Potential disease biomarkers: dipeptidyl peptidase 4 and fibroblast activation protein. Protoplasma. 2018;255(1):375-386. Available in: <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1129-5>
13. Lee SY, Wu ST, Liang YJ, Su MJ, Huang CW, Jao YH, et al. Soluble dipeptidyl peptidase-4 induces fibroblast activation through proteinase-activated receptor-2. Front Pharmacol. 2020;11:552818. Available in: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.552818>
14. Majeed FA, Khan YS, Sheikh NA, Zafar U, Ishaque M, Muzaffar S. Outcome of post-intubation tracheal stenosis (PITS) with primary resection and anastomosis. J Coll Physicians Surg Pak. 2022;32(3):373-376. Available in: <https://doi.org/10.29271/jcpsp.2022.03.373>
15. López-Chavira A, Hernández-Bueso NA, Hernández-Abarca E, López-Montoy M, Bustos-Ruano JP, Calzada-Martínez S, et al. Traqueoplastía abierta por estenosis traqueal severa posintubación prolongada en un paciente con COVID-19 (SARS-CoV-2). An OrL Mex. 2022;67(2):174-179. Disponible en: <https://doi.org/10.24245/aorl.v67i2.5643>
16. Perepelitsyn I, Shapshay SM. Endoscopic treatment of laryngeal and tracheal stenosis-has mitomycin C improved the outcome? Otolaryngol Head Neck Surg. 2004;131(1):16-20. Available in: [https://doi.org/10.1016/s0030-509x\(04\)01136-2](https://doi.org/10.1016/s0030-509x(04)01136-2)
17. Abo M, Fujimura M, Kibe Y, Kida H, Matsuda T. Beclomethasone dipropionate inhalation as a treatment for post-intubation tracheal stenosis. Int J Clin Pract. 1999;53(3):217-218.
18. Hu MS, Longaker MT. Dipeptidyl peptidase-4, wound healing, scarring, and fibrosis. Plast Reconstr Surg. 2016;138(5):1026-1031. Available in: <https://doi.org/10.1097/prs.0000000000002634>
19. Valencia-Sánchez LD. Dipeptidil-peptidasa como marcador inflamatorio en estenosis traqueal. [Ciudad de México]: Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias; 2022. Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de Información, UNAM. Disponible en: https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/588571URVKQX5Q7TSIBP2D LG7E6T6B1I8MSY2IQQ3KX5B4HDR-21026?func=full-set-set&set_number=046476&set_entry=000002&format=999
20. Iwanaga T, Nio-Kobayashi J. Cellular expression of CD26/dipeptidyl peptidase IV. Biomed Res. 2021;42(6):229-237. Available in: <https://doi.org/10.2220/biomedres.42.229>
21. Gelbard A, Francis DO, Sandulache VC, Simmons JC, Donovan DT, Ongkasawan J. Causes and consequences of adult laryngotracheal stenosis. Laryngoscope. 2015;125(5):1137-1143. Available in: <https://doi.org/10.1002/lary.24956>
22. Hirshoren N, Eliashar R. Wound-healing modulation in upper airway stenosis-Myths and facts. Head Neck. 2009;31(1):111-126. Available in: <https://doi.org/10.1002/hed.20925>
23. Shin B, Kim K, Jeong B, Eom JS, Song WJ, Kang HK, et al. Clinical significance of differentiating post-intubation and post-tracheostomy tracheal stenosis. Respirology. 2017;22(3):513-520. Available in: <https://doi.org/10.1111/resp.12925>
24. Johnson RC, Zhu D, Augustin-Voss HG, Pauli BU. Lung endothelial dipeptidase IV is an adhesion molecule for lung-metastatic rat breast and prostate carcinoma cells. J Cell Biol. 1993;121(6):1423-1432. Available in: <https://doi.org/10.1083%2Fjcb.121.6.1423>
25. Krejner-Bienias A, Grzela K, Grzela T. DPP4 inhibitors and COVID-19-holy grail or another dead end? Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2021;69(1):1. Available in: <https://doi.org/10.1007/s00005-020-00602-5>
26. Hinz B, Lagares D. Evasion of apoptosis by myofibroblasts: a hallmark of fibrotic diseases. Nat Rev Rheumatol. 2020;16(1):11-31. Available in: <https://doi.org/10.1038/s41584-019-0324-5>

Conflictos de intereses: los autores declaran no tener conflicto de intereses.