

Veterinaria México

Volumen
Volume 36

Número
Number 2

Abril-Junio
April-June 2005

Artículo:

Cambios macroscópicos, microscópicos
y morfométricos del autotransplante
traqueal dividido y omentopexia en
perros

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

**Otras secciones de
este sitio:**

- 👉 [Índice de este número](#)
- 👉 [Más revistas](#)
- 👉 [Búsqueda](#)

***Others sections in
this web site:***

- 👉 [Contents of this number](#)
- 👉 [More journals](#)
- 👉 [Search](#)



www.Medigraphic.com

Cambios macroscópicos, microscópicos y morfométricos del autotransplante traqueal dividido y omentopexia en perros

Macroscopic, microscopic and morphometric changes of thoracic tracheal divided graft after autotransplantation and omentopexy in dogs

Raúl Olmos-Zúñiga* Arturo Ávila-Chávez** Rogelio Jasso-Victoria* Avelina Sotres-Vega*
Miguel Gaxiola-Gaxiola*** Luis Miguel Gutiérrez-Marcos* Antonio Soda-Merhy**
Patricio Santillán-Doherty†

Abstract

We evaluated scarring, revascularization, macroscopic, microscopic and morphometric changes of a thoracic tracheal graft after autotransplantation using the divided tracheal graft technique and omentopexy. Twelve dogs were operated and divided in 2 groups: Group I (n = 6) autotransplantation of thoracic trachea with the divided tracheal graft technique without omentopexy. Group II (n = 6): autotransplantation of thoracic trachea with omentopexy. The animals were evaluated clinical and radiologically every day during the first week and every 2 days during the next 3 weeks. Tracheal anastomosis was evaluated by tracheoscopy immediately after surgery and once a week until the end of the study. In group II, we performed angiographic studies and ink was injected in order to assess revascularization of the tracheal anastomosis. Finally all the animals were euthanized; and macroscopic, microscopic and morphometric evaluations were done on the tracheal grafts. All the animals survived the surgical procedure. All the animals in group II and three in group I completed the study time, with good postoperative conditions clinical and radiological. Tracheoscopy and macroscopic studies showed good tracheal graft healing and revascularization in these nine dogs. In animals from group II the angiography and ink injection showed tracheal revascularization, histologically we found inflammation and healing tissue, some of them showed neoformation vessels. Group I animals: The three survivor dogs showed inflammation and fibrosis in the cartilage and epithelium and scarce neoformation vessels. Three dogs in group I (they do not survived the length of the study) we found dehiscence, necrosis and fistulae in the medial portion of the autotransplanted graft, as well as heavy inflammation. The morphometric studies showed a thicker anastomosis in group I animals (ANOVA $P < 0.05$). We conclude that tracheal autotransplantation with omentopexy favors viability, revascularization and good healing of the autotransplanted graft.

Key words: TRACHEAL GRAFT, THORACIC TRACHEAL AUTOTRANSPLANTATION, DIVIDED TRACHEAL TRANSPLANTATION, OMENTOPEXY, HEALING, REVASCULARIZATION.

Resumen

Se evaluó la cicatrización, revascularización, cambios macroscópicos, microscópicos y morfométricos en un injerto traqueal torácico después de ser autotransplantado utilizando la técnica de transplante traqueal dividido y omentopexia. Se operaron 12 perros: Grupo I (n = 6)

Recibido el 5 de abril de 2004 y aceptado el 28 de octubre de 2004.

*Departamento de Investigación en Cirugía Experimental, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Calz. de Tlalpan 4502, Col. Sección XVI, Tlalpan, 14000, México, D.F.

**Departamento de Otorrinolaringología, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Calz. de Tlalpan 4502, Col. Sección XVI, Tlalpan, 14000, México, D.F.

***Departamento de Investigación en Morfología, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Calz. de Tlalpan 4502, Col. Sección XVI, Tlalpan, 14000, México, D.F.

†Departamento de investigación en Cirugía Experimental, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición "Salvador Subirán", Vasco de Quiroga 15, Col. Sección XVI, Tlalpan 14000, México, D.F.

Correspondencia: Dr. Rogelio Jasso Victoria, Departamento de Investigación en Cirugía Experimental, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Calz. de Tlalpan 4502, Col. Sección XVI, Tlalpan, 14000, México, D.F.

autotransplante de tráquea torácica con la técnica de transplante traqueal dividido sin omentopexia y Grupo II (n = 6) autotransplante traqueal dividido torácico y omentopexia. Los animales se evaluaron clínica y radiológicamente todos los días durante la primera semana poscirugía, y cada tercer día hasta que completaron las cuatro semanas. Con traqueoscopia se evaluó las anastomosis inmediatamente después de la cirugía y semanalmente hasta que finalizó el estudio. En el Grupo II a las cuatro semanas poscirugía se realizaron angiografías y estudios de inyección de tinta para evaluar la revascularización del injerto. Finalmente, todos los animales fueron sometidos a eutanasia y las tráqueas autotransplantadas se evaluaron macroscópica, microscópica y morfométricamente. Todos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico. Los seis perros del Grupo II y tres del Grupo I completaron el estudio con evolución clínica y radiológica satisfactoria. Traqueoscópica y macroscópicamente estos animales mostraron cicatrización y revascularización del injerto en las tres anastomosis mientras que las tráqueas de los perros del Grupo I que no concluyeron el estudio presentaron dehiscencia, necrosis y una fístula en la anastomosis medial del injerto autotransplantado. Las angiografías y la inyección de tinta mostró la revascularización de las tráqueas del Grupo II. Histológicamente en todas las anastomosis del Grupo II se observó inflamación y desarrollo de tejido cicatrizal, pero no en todas se observaron vasos de neoformación. En los animales del Grupo I que concluyeron su estudio se presentó inflamación y formación de tejido fibroso sobre el epitelio y cartílago con escasa formación de nuevos vasos, los otros tres animales mostraron inflamación severa y necrosis en la anastomosis media. Los hallazgos morfométricos mostraron mayor engrosamiento en los animales del Grupo I que en los de omentopexia (ANDEVA $P < 0.05$). Se puede concluir que el realizar un autotransplante traqueal dividido y omentopexia en la tráquea torácica favorece la viabilidad, revascularización y cicatrización del injerto autotransplantado.

Palabras clave: INJERTO TRAQUEAL, AUTOTRANSPLANTE DE TRÁQUEA TORÁCICA, TRASPLANTE TRAQUEAL DIVIDIDO, OMENTOPEXIA, CICATRIZACIÓN, REVASCULARIZACIÓN.

Introduction

The trachea is a circular tubular organ that is held by horseshoe shaped cartilaginous rings that are connected from behind by an elastic membrane; it has an endothoracic and an extra-thoracic portion. Its main function is to carry air that is inhaled either by nose or mouth towards the gaseous exchange zones.¹

There are many pathologies that can affect this organ and limit the respiratory flow causing abnormalities in the gaseous exchange and dyspnea. Noteworthy among these ailments are tracheal collapse and stenosis, either due to trauma, post-intubation or neoplasia, that require the resection of large segments of the trachea; nevertheless, occasionally this may be a big problem since the resections are sometimes so large that the rest of the tissue is not sufficient for reconstruction and it is necessary to resort to the use of a prosthesis or to perform a transplant.²⁻⁶

Different prosthetic materials have been used (titanium, polyethylene, silicon, marlex, glass and Teflon), but none has demonstrated to be the best, due to the fact that they allow the escape of air, they collapse and do not provide appropriate mobilization of secretions.⁷

Introducción

La tráquea es un órgano tubular de forma circular que se encuentra sostenida por anillos cartilaginosos en forma de herradura que se conectan por detrás mediante una membrana elástica, tiene una porción extratorácica y otra intratorácica; su función principal es llevar el aire inspirado, sea por la nariz o por la boca hacia las zonas de intercambio gaseoso.¹

Existen muchas patologías que afectan este órgano y limitan el flujo respiratorio provocando anomalías en el intercambio gaseoso y disnea. Dentro de estos padecimientos destacan los colapsos y las estenosis traqueales, sean de origen traumático, posintubación o neoplásico, que requieren de la resección de grandes segmentos de tráquea; sin embargo, en ocasiones esto último representa un gran problema, ya que las resecciones llegan a ser tan grandes que el tejido restante no es suficiente para su reconstrucción y se tiene que recurrir a la utilización de una prótesis o a la realización de un transplante.²⁻⁶

Se han utilizado diferentes materiales protésicos (titanio, polietileno, silicón, marlex, vidrio y teflón), pero ninguno ha demostrado ser el mejor, debido a que permiten el escape de aire, se colapsan y no pro-

The tracheal transplant of lesions larger than 6 cm in length (ten tracheal rings) is still a challenge to be resolved due to the conflicts that appear with the vascularization of the graft, since the trachea does not have systemic or local circulation,² and this hinders the scarring process or produces scars that occlude the tracheal lumen.⁸⁻¹²

To solve this problem different experimental models such as the use of omentum folds have been performed in order to cover the transplanted tracheal grafts (omentopexy); nevertheless, this is only successful for trachea segments smaller than 4 cm, and not for those larger than 6 cm in length where there is vascularization along the suture lines but not in the central part of the graft.¹³ Direct vascularization has also been evaluated, but it has not been demonstrated to be the ideal method, since occasionally the anastomosed vessels are obstructed and the graft becomes necrotic.^{10,14}

Yokomise *et al.*¹⁵ have recorded vascularization of the medial part of transplanted tracheal grafts using a tracheal transplant technique where the segment to be transplanted is divided through the middle and three anastomosis are performed (proximal, medial and distal).

Taking into account the above, it is possible to perform a thoracic trachea transplant, longer than 6 cm, with the divided tracheal transplant technique, combined with omentopexy in the site of the anastomosis, since it improves vascularization and scarring of the transplanted tracheal graft.

The objective of this work was the assessment of scarring, revascularization, macroscopic, microscopic and morphometric changes that the thoracic tracheal graft undergoes after being autotransplanted, using the divided trachea technique performing three anastomosis and omentopexy.

Material and methods

Experimental Animals

Twelve, healthy, mongrel dogs, between 15 and 18 kg in weight were handled according to the technical specifications for the care and use of laboratory animals established in the Mexican Official Standard¹⁶ and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.¹⁷

The animals were assigned to two study groups. In both groups, the animals were autotransplanted with a graft of ten thoracic tracheal rings with the divided tracheal transplant technique, using three anastomosis: group I (n = 6), autotransplant of thoracic trachea with the divided tracheal transplant technique without omentopexy; group II (n = 6), autotrans-

porcionan la adecuada movilización de las secreciones.⁷

El trasplante traqueal de lesiones mayores a 6 cm de largo (diez anillos traqueales) todavía es un reto sin resolver por los conflictos que se presentan con la revascularización del injerto, porque la tráquea no posee una circulación sistémica ni local,² lo que retarda su proceso de cicatrización o se producen cicatrices que ocluyen la luz de la tráquea.⁸⁻¹²

Para resolver este problema se han realizado diferentes modelos experimentales como la utilización de colgajos de omento para cubrir los injertos traqueales transplantados (omentopexia); no obstante, éste sólo es exitoso para segmentos de tráquea menores de 4 cm, pero no para mayores de 6 cm de largo en los que sí se presenta revascularización en las líneas de sutura, pero no en la porción media del injerto.¹³ También se ha evaluado la revascularización directa, pero no ha demostrado ser el método ideal, ya que en ocasiones los vasos anastomosados se obstruyen y el injerto se necrosa.^{10,14}

Yokomise *et al.*¹⁵ han registrado revascularización de la parte media de los injertos traqueales transplantados, utilizando una técnica de trasplante traqueal en la que se divide el segmento a transplantar por su porción media y se realizan tres anastomosis (proximal, medial y distal).

Con base en lo anterior, es posible que al realizar un trasplante de tráquea torácica mayor a 6 cm de largo con la técnica de trasplante traqueal dividido combinado con una omentopexia en el sitio de las anastomosis, mejora la revascularización y cicatrización del injerto traqueal transplantado.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la cicatrización, revascularización, cambios macroscópicos, microscópicos y morfométricos, que sufre un injerto traqueal torácico después de ser autotrasplantado utilizando la técnica de trasplante traqueal dividido realizando tres anastomosis y omentopexia.

Material y métodos

Animales de experimentación

Se utilizaron doce perros mestizos sanos, de entre 15 y 18 kg de peso, que fueron manejados de acuerdo con las especificaciones técnicas para el cuidado y uso de animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana¹⁶ y con la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.¹⁷

Los animales se distribuyeron en dos grupos de estudio. En ambos se realizó autotransplante de un injerto de diez anillos de tráquea torácica con la técnica de trasplante traqueal dividido, utilizando tres anastomosis: grupo I (n = 6), autotransplante de

plant of thoracic trachea with the divided tracheal transplant technique, covering the anastomosis with an omentum fold (omentopexy).

To anaesthetize the dogs, they were prepared with a 24 hour solids fast and 12 hours for liquids. All experimental animals were premedicated with atropine sulphate* (0.05 mg/kg) SC and they were anesthetized with hydrochloric xylazine** at a doses of 0.1 mg/kg and 6 mg/kg of propofol*** and immediately after dipirone† was applied at a doses of 28 mg/kg IV as an analgesic.¹⁸ The animals under general anaesthesia were placed on the surgery table in dorsal decubitus, intubated and connected to a volume ventilator,‡ after that, anaesthesia was maintained with isoflurane at 3.5%.° At the time of the anastomosis a cannula was introduced into the caudal portion of the trachea in order to maintain the animals ventilated and anesthetized.

Surgical techniques

Obtaining the omentum fold

In the animals of group II a laparotomy through the mid line was performed and a fold of omentum with blood supply from the gastroepiploic right artery was taken towards the thoracic cavity through an orifice created in the diaphragm; the omentum was passed through the diaphragmatic orifice and it was secured to the diaphragm by absorbable polyglactine sutures 910 of 3-0° and the laparotomy was closed by layers in the habitual manner.

Autotransplant

In both study groups a right lateral thoracotomy was performed at the level of the third intercostal space; the thoracic trachea was exposed and 11 tracheal rings were dissected. Before performing the autotransplant a tracheal ring was taken to use as a witness for the morphometric and histological evaluation. In both groups, after obtaining the segment to be transplanted, it was divided through the middle and anastomosed using non absorbable suture material of polypropylene 4-0 and separate stitches (Figure 1), after that the cranial anastomosis of the trachea was performed and finished with the caudal anastomosis of the trachea using separate stitches with polypropylene of 4-0.* In the experimental animals of group II the anastomosis was covered with an omentum fold (Figure 2), that was secured around the transplanted segment with separate stitches made with a 4-0 absorbable suture material, immediately after that, the thoracic cavity was closed. All the animals received a postoperative treatment with penicillin G

tráquea torácica con la técnica de transplante traqueal dividido sin omentopexia; grupo II (n = 6), autotransplante de tráquea torácica con la técnica de transplante traqueal dividido, cubriendo las anastomosis con un colgajo de omento (omentopexia).

Con el propósito de que fueran anestesiados, se preparó a los perros con 24 h de ayuno para sólidos y 12 h para líquidos. Todos los animales de experimentación fueron premedicados con sulfato de atropina* (0.05 mg/kg) SC y se anestesiaron con hidrocloreuro de xilacina** a dosis de 0.1 mg/kg y 6 mg/kg de propofol*** e inmediatamente después se les aplicó dipirona† a dosis de 28 mg/kg IV como analgésico.¹⁸ Los animales bajo anestesia general se colocaron sobre la mesa de cirugía en posición decúbito dorsal, fueron intubados y conectados a un ventilador de volumen,‡ posteriormente la anestesia se mantuvo con isoflurano a 3.5%.° Al momento de realizar las anastomosis se introdujo una cánula en la porción caudal de la tráquea con el fin de mantener ventilados y anestesiados a los animales.

Técnicas quirúrgicas

Obtención del colgajo de omento

En los animales del grupo II se realizó laparotomía media y se tomó un pedículo de omento con aporte sanguíneo de la arteria gastroepiploica derecha, el cual se llevó hacia la cavidad torácica a través de un orificio que se creó en el diafragma; el omento fue pasado por el orificio diafragmático y se fijó al diafragma con puntos separados de sutura absorbible de poliglactina 910 de 3-0° y la laparotomía se cerró por planos de la manera habitual.

Autotrasplante

En los dos grupos de estudio se realizó toracotomía lateral derecha a nivel del tercer espacio intercostal; se expuso la tráquea torácica, se disecaron y resecaron 11 anillos traqueales. Antes de realizar el autotransplante se tomó un anillo traqueal para su utilización como muestra testigo en la evaluación morfométrica e histológica. En ambos grupos, después de haber obtenido el segmento a transplantar, éste se dividió en su porción media y se anastomosó utilizando material de sutura no absorbible de polipropileno 4-0* y puntos separados (Figura 1), posteriormente

* Atropisa, Pisa, Guadalajara, México.

** Rompun, Bayer, D. F., México.

*** Recofol, PISA, Guadalajara, México.

† Metamizol sódico-Nondol-Sector Salud.

‡ Harvard Apparatus, Boston MA, USA.

° VCM Anesthesia Machine, Yorkshire, England.

°° Vycril 3-0, Ethicon, New Jersey, USA.

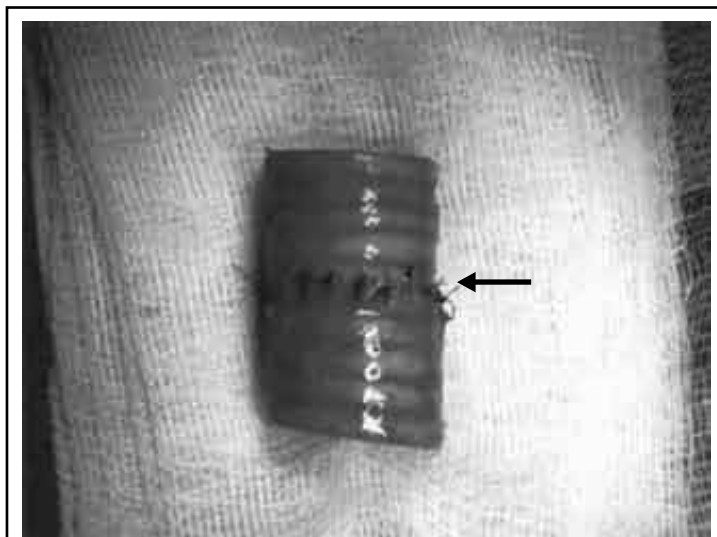


Figura 1. Muestras la anastomosis media (flecha) del injerto traqueal a autotransplantar.

Shows the medial anastomosis (arrow) of the tracheal graft to be autotransplanted.

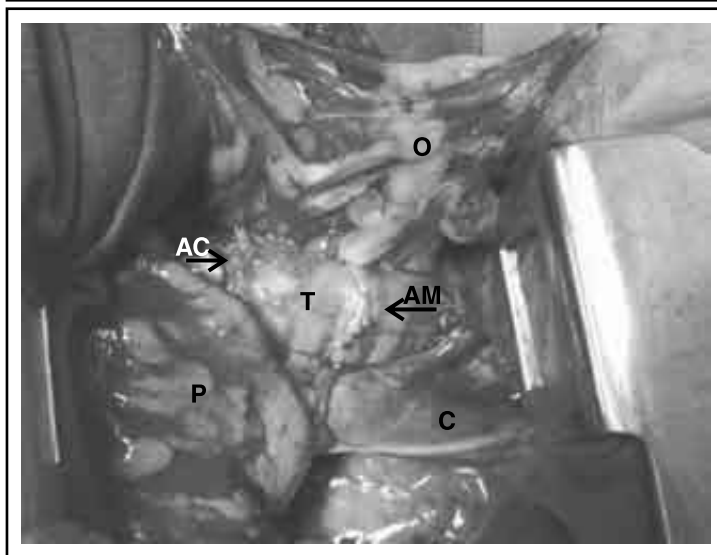


Figura 2. Se observa el pulmón (P), vena cava craneal (C) y la anastomosis medial (AM), y caudal (AC) del autotransplante terminado antes de ser cubierto con el colgajo de omento (O).

Lung (L), cranial (C) and caudal (CA) vena cava and medial anastomosis (MA) of the finished autotransplant before it is covered with the omentum fold (O).

(800 000 UI, IM) and sulphate streptomycin during a week, as well as an analgesic** (28 mg/kg of sodium metamisol).

Evaluation

The animals were evaluated during four weeks after surgery. All dogs were clinically evaluated each day during the first week and every other day during the rest of the study. The presence of stridor and dyspnea, that might suggest any complication, was evaluated according to a modified scale used by the Medical Research Council,¹⁹ that is based upon the severity of this condition: 0 = without breathing difficulties after running; 1 = difficulty breathing after running; 2 = difficulty breathing while at rest.

The degree of dyspnea was evaluated subjecting the animals to a physical stress test, that was carried

se realizó la anastomosis craneal de la tráquea y se finalizó con la anastomosis caudal, utilizando puntos separados de polipropileno de 4-0. En los animales de experimentación del grupo II se cubrieron las anastomosis con el colgajo de omento (Figura 2), que se fijó alrededor del segmento trasplantado con puntos separados de material de sutura absorbible de 4-0, inmediatamente después se cerró la cavidad torácica. Todos los animales recibieron tratamiento posoperatorio con penicilina G (800 000 UI, im) y sulfato de estreptomycin por una semana, así como analgésico** (28 mg/kg de metamizol sódico).

Evaluación

* Prolene Ethicon, New Jersey, USA.

** Metamizol sódico-Nondol-Sector Salud.

out by observing first the animals while at rest in their cages; after that, each animal walked a distance of 20 meters and finally a meatball was thrown to make them run for it (running the same distance) and immediately after, the animals were observed to see if they had difficulty breathing; respiratory and heart rates were observed listening for respiratory noise, and abdominal or thoracic breathing, as well as the color of the oral mucosa.

Lateral and ventro-dorsal x-rays of the thorax were taken after surgery and every other day until the study ended, in order to radiographically evaluate the status of the autotransplanted tracheal graft and the thoracic cavity (for the possible presence of pneumothorax).

Also, the autotransplanted tracheal segments were evaluated endoscopically (tracheoscopy), immediately after surgery and every week for the duration of the study. Thus, scarring was evaluated as well as the formation of stenosis, dehiscence presence, inflammation, infection or rejection and fistula formation in the anastomosis sites. All tracheoscopies were videotaped and the degree of stenosis produced in the tracheal anastomosis was evaluated according to the scale described by Cotton:²⁰ grade I = 0-50% obstruction of the tracheal lumen; grade II = 51-70% obstruction of the tracheal lumen; grade III = 71-99% obstruction of the tracheal lumen; and grade IV = non apparent tracheal lumen. This evaluation was done immediately after surgery and each week during the study period.

Four weeks after the surgical intervention, angiographies were performed to observe vascularization of the tracheal segment in the omentopexy group (group II), that were performed by placing a cannula in the right gastroepiploic artery and injecting contrast material* through it and then taking x-rays during the injection, thus making vessels apparent in the omentum as well as the tracheal segment placed inside of it. After that a coloring substance (methylene blue) was injected to corroborate the newly formed vessels; finally, the animals were sacrificed with an overdose of sodium pentobarbital. The autotransplanted tracheal graft was removed and evaluated macroscopically, microscopically and morphometrically.

The state of the tracheal graft anastomosis, extraluminal scarring, presence of dehiscence or rejection, infection, formation of fistulas and the presence of coloring in the blood vessels was evaluated macroscopically. To evaluate the tracheal lumen, the anastomosed segment was cut through the membranous part of the trachea and scarring of mucosa and presence of methylene blue stain were observed.

Los animales fueron evaluados durante cuatro semanas después de la cirugía. A todos los perros se les evaluó clínicamente cada día durante la primera semana, y cada tercer día el tiempo restante del estudio. Se evaluó la presencia de estridor y de disnea sugerente de alguna complicación, de acuerdo con una escala modificada a la utilizada por el Medical Research Council,¹⁹ que se basa en la severidad de ésta: 0 = sin dificultad para respirar después de correr; 1 = dificultad para respirar después de correr; 2 = dificultad para respirar en reposo.

El grado de disnea fue evaluado sometiendo a los animales a una prueba de esfuerzo, la cual se llevó a cabo primero observando a los animales en reposo dentro de su jaula, posteriormente cada animal caminó una distancia de 20 metros y finalmente se les lanzó una bola de carne para que los animales corrieran tras ella (recorriendo la misma distancia) e inmediatamente después se observó si los animales presentaban dificultad para respirar, vigilando la frecuencia cardíaca y respiratoria, escuchando los ruidos respiratorios, se observó si presentaban respiración torácica o abdominal, así como la coloración de la mucosa oral.

Se tomaron placas de rayos X laterales y ventro-dorsales de tórax después de la cirugía y cada tercer día hasta finalizar el estudio, para evaluar radiográficamente el estado del injerto traqueal autotransplantado y de la cavidad torácica (posible presencia de neumotórax).

También se llevó a cabo una evaluación endoscópica (traqueoscopia) de los segmentos traqueales autotransplantados, inmediatamente después de la cirugía y cada semana durante todo el tiempo que duró el estudio. En esta evaluación se valoró la cicatrización, formación de estenosis, presencia de dehiscencia, inflamación, infección o rechazo y formación de fistulas en los sitios de las anastomosis. Todas las traqueoscopías se videograbaron y el grado de estenosis producido en las anastomosis traqueales se evaluó de acuerdo con la escala descrita por Cotton:²⁰ grado I = 0%-50% de obstrucción de la luz traqueal; grado II = 51%-70% de obstrucción de la luz traqueal; grado III = 71%-99% de obstrucción de la luz traqueal; y grado IV = lumen traqueal no aparente. Esta evaluación se realizó inmediatamente después de la cirugía y cada semana durante todo el tiempo que duró el estudio.

Cuatro semanas después de la intervención quirúrgica, se efectuaron angiografías para observar la revascularización del segmento traqueal en el grupo de omentopexia (grupo II), que se realizaron canalizando la arteria gastroepiploica derecha e inyectando material de contraste* a través de ella y se tomaron placas radiográficas durante el momento de la inyec-

Staining of the mucosa of the autotransplanted tracheal rings was evaluated to corroborate the formation of new blood vessels, by a subjective scale described by Santillán *et al.*,²² Torres *et al.*⁷ and Gutierrez *et al.*,²¹ on the basis of the degree of coloring that is obtained: grade 0 (without coloring in the mucosa), grade 1 (coloring of up to 50% of the mucosa), grade 2 (coloring up to 80% of the mucosa) and grade 3 (coloring in 100% of the mucosa).

For the microscopic evaluation, samples were taken from three sites of the anastomosis, and were fixated in 10% formaldehyde, were imbibed in paraffin and cut at 4 μ and stained with hematoxylin-eosin and Masson's trichrome to evaluate the presence of inflammation or fibrosis, rejection, dehiscence, phagocytosis, newly formed vessels, as well as collagen fibres to observe if there was scarring and this was compared with the control samples taken before the autotransplant.

Morphometric evaluation was carried out on slides used for the microscopic evaluation, placed under a microscope connected to a computerized digital processor, for image analysis with a software system,* that allowed the observation of each anastomosis of the autotransplanted graft and facilitated the measurement of the tracheal lumen, and with this, the presence or absence of tracheal stenosis was evaluated, as well as the thickening or thinning of the cartilage of the autotransplanted graft which was compared to the control rings taken before the autotransplant. In order to evaluate stenosis, the circumference of the mucosa of each ring was measured and the software provided automatically the internal area. For the purpose of evaluating this last statement, the total area of the ring was estimated by measuring all the circumference of the cartilage (Figure 3).

The thickness of the cartilage was called cartilaginous area and it was obtained by subtracting the internal area from the total area (Figure 3). The results obtained from the measurements were recor-

ción, con lo que se hicieron aparentes los vasos tanto del omento como del segmento traqueal colocado en él. Posteriormente se infiltró colorante (azul de metileno) para corroborar los vasos de neoformación; finalmente los animales se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico, se retiró el injerto traqueal autotransplantado y se llevó a cabo evaluación macroscópica, microscópica y morfométrica.

En el aspecto macroscópico se evaluó el estado de las anastomosis del injerto traqueal, cicatrización extraluminal, presencia de dehiscencia o rechazo, infección, formación de fístulas y presencia de colorante en los vasos sanguíneos. Para evaluar la luz traqueal, el segmento anastomosado se incidió por la parte membranosa de la tráquea y se observó la cicatrización de la mucosa y la presencia de tinción con azul de metileno.

La tinción de la mucosa de los anillos traqueales autotransplantados para corroborar la formación de nuevos vasos sanguíneos, se evaluó mediante una escala subjetiva descrita por Santillán *et al.*,²² Torres *et al.*⁷ y Gutiérrez *et al.*,²¹ con base en el grado de coloración obtenido: grado 0 (sin coloración de la mucosa), grado 1 (coloración hasta 50% de la mucosa), grado 2 (coloración hasta 80% de la mucosa) y grado 3 (coloración de 100% de la mucosa).

Para la evaluación microscópica se tomaron muestras de los tres sitios de anastomosis, que se fijaron en formaldehído al 10%, se incluyeron en parafina, se cortaron a 4 μ y se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricrómica de Massón para evaluar presencia de inflamación o fibrosis, rechazo, dehiscencia, fagocitosis, vasos de neoformación, así como formación de fibras de colágena para observar si se presentó cicatrización y se compararon con las muestras testigo tomadas antes del autotransplante.

La evaluación morfométrica se llevó a cabo en las laminillas utilizadas para la evaluación microscópica,

* Conray 400.

REFERENCE DIAGRAM DURING THE MORPHOMETRIC EVALUATION

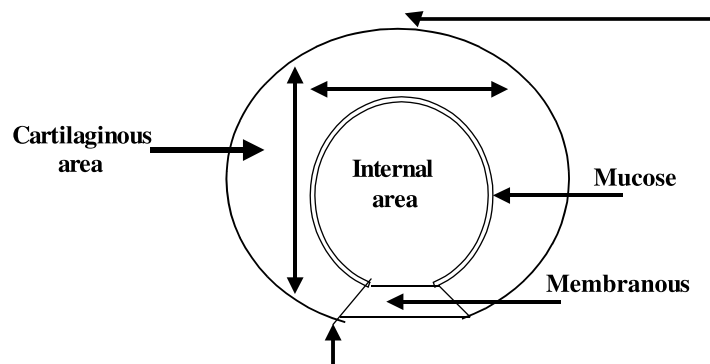


Figura 3. Diagrama de la forma en la que se calcularon las áreas interna, total y cartilaginosa de los anillos durante la evaluación morfométrica.

Diagram of the manner in which internal, total and cartilaginous areas of the tracheal rings were estimated during the morphometric evaluation.

ded in cm^2 .

The statistical analysis of the dyspnea evaluation was performed through a Chi-square test, while the values (in cm^2) obtained by morphometry were carried out by 2×3 factorial ANOVA. The values for both tests were significant ($P < 0.05$).

Results

All animals survived the surgical procedure. In group I, three animals (50%) presented complications characterized by the presence of stridor and dyspnea while at rest. (Chi-square, $P < 0.05$), therefore, they had to be euthanized at days 9, 13 and 14 after surgery. The rest of the animals in this group complete the study period with satisfactory clinical evolution (Table 1).

In group II, all the experimental animals completed their study time with satisfactory clinical evolution.

In the second week after transplant, the three dogs of group I (50%) that did not complete their study period showed severe pneumothorax. In another animal (16.6%) by radiography the presence of stenosis (less than 30%) was observed in the autotransplanted tracheal segment; nevertheless it did not compromise the life of the animal. The other two dogs (33.33%) had an evolution without changes detected by radiography during all the study period.

In group II, or omentopexy group, in all cases, the evolution by radiography did not show any complication during any of the four weeks that the study lasted.

The three dogs of group I (50%) that did not complete their study period showed by tracheoscopic evaluation during the second week after surgery, dehiscence, necrosis and formation of a fistula in the medial anastomosis of the autotransplanted tracheal graft. Good scarring was observed in the rest of the dogs of this group at day 14 after surgery and the mucosa was observed with hyperaemia and severe edema, that disappeared during the third week after the surgical procedure. On the third week after the autotransplant, one of these animals (16.6%), developed tracheal stenosis grade I (according to the Cotton scale) in the proximal anastomosis; nevertheless, it did not compromise the life of the animal since it was lax and allowed the pass of the endoscope without difficulty.

The endoscopic evaluation of all the experimental animals of group II showed totally permeable anastomosis without alterations (Figure 3). In all cases scar tissue was observed on the three borders of the anastomosis with slight hyperaemia and edema during the seven days after the autotransplant; in the second week

que se colocaron en un microscopio conectado a un procesador digital computado para análisis de imágenes con sistema software,* que permitió observar en una pantalla cada anastomosis del injerto autotransplantado y facilitó la medición de la luz traqueal con lo que se valoró la presencia o no de estenosis traqueal, así como el engrosamiento o adelgazamiento del cartílago de los anillos traqueales autotransplantados, los cuales se compararon con los anillos testigos tomados antes del autotransplante. Para la evaluación de estenosis, se midió la circunferencia de la mucosa de cada anillo traqueal y el software proporcionó automáticamente el área interna. Con el propósito de valorar esto último, se calculó el área total del anillo traqueal, que se obtuvo midiendo toda la circunferencia del cartílago (Figura 3).

El grosor del cartílago se denominó área cartilaginosa y se obtuvo restando el área interna del área total (Figura 3). Los resultados obtenidos de las mediciones se anotaron en cm^2 .

El análisis estadístico de la evaluación de la disnea se realizó mediante la prueba de Ji cuadrada, mientras que el de los valores (en cm^2) obtenidos con la morfometría se llevó a cabo por ANDEVA factorial 2×3 . Los valores de $P < 0.05$ para ambas pruebas fueron significativos.

Resultados

Todos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico. En el grupo I, tres animales (50%) presentaron complicaciones caracterizadas por presencia de estridor y disnea en reposo (Ji cuadrada, $P < 0.05$), por lo que tuvieron que ser sometidos a eutanasia durante los días nueve, 13 y 14 después de la cirugía. Los tres animales restantes de este grupo sí completaron su tiempo de estudio con evolución clínica satisfactoria (Cuadro 1).

En el grupo II, todos los animales de experimentación completaron su tiempo de estudio con evolución clínica satisfactoria.

En el aspecto radiológico, en la segunda semana después del autotransplante, los tres perros (50%) del grupo I que no completaron su tiempo de estudio mostraron neumotórax severo. En otro animal (16.6%) se observó radiográficamente en el segmento traqueal autotransplantado, presencia de estenosis menor a 30%; sin embargo, ésta no comprometió la vida del animal. Los dos perros restantes (33.33%) tuvieron evolución radiológica sin cambios durante todo el tiempo de estudio.

En el grupo II, o de omentopexia, en todos los casos la evolución radiográfica no mostró ninguna complicación durante las cuatro semanas que duró

* Imagenia 2000 Biocom, versión 2.0.

Cuadro 1

MUESTRA EL GRADO DE DISNEA QUE PRESENTARON LOS ANIMALES DE LOS DOS GRUPOS DE ESTUDIO DESPUÉS DE SER SOMETIDOS A UNA PRUEBA DE ESFUERZO, DOS SEMANAS POSTERIORES AL AUTOTRASPLANTE DE TRÁQUEA CON Y SIN OMENTOPEXIA

DEGREE OF DYSPNEA SHOWN BY THE ANIMALS OF BOTH STUDY GROUPS AFTER A PHYSICAL STRESS TEST, TWO WEEKS AFTER TRACHEAL AUTOTRANSPLANT WITH AND WITHOUT OMENTOPEXY

Grade	Dyspnea Evaluation	
	Group I (without omentopexy)	Group II (with omentopexy)
0		
Without breathing difficulties after running	3	6
1		
Breathing difficulties after running	0	0
2		
Breathing difficulties at rest	3*	0

*P < 0.005 (Chi-square).

they were completely covered with cicatricial tissue, without hyperaemia and without edema.

The angiography of all the animals in group II revealed vascularization of the autotransplanted tracheal segments, which was confirmed by tracheal mucosa coloring in 80 to 90% caused by the injection of the coloring substance.

Dehiscence and fistula were observed by macroscopic evaluation of the medial anastomosis of the autotransplanted tracheal segment in the animals of group I (without omentopexy) (50%) (n = 3), that were subjected to euthanasia. One dog of this group (16.66%) also presented infection and necrosis in this same anastomosis. The other three operated animals had good scarring with apparent development of fibrous tissues over the anastomosis with bad development of new formation vessels; one of these animals developed a cheloid type of scar that obstructed 30% of the tracheal lumen.

All the dogs of group II (n = 6) showed good scarring in the three anastomosis, characterized by the development of apparent fibrous tissue over the anastomosed tissue, with apparent development of newly formed vessels in all the anastomosis.

By histological evaluation no tracheal ring of the samples taken of both groups before surgery showed microscopic changes.

In the three animals of group I that did not complete the study, there was at the level of the cranial anastomosis, moderate to severe inflammation with destruction of cartilage and loss of epithelium around

el estudio.

En la evaluación traqueoscópica durante la segunda semana posterior a la cirugía, los tres perros (50%) del grupo I que no completaron su tiempo de estudio presentaron dehiscencia, necrosis y formación de una fístula en la anastomosis medial del injerto traqueal autotransplantado. En los perros restantes de este grupo se apreció buena cicatrización al día 14 poscirugía y la mucosa se observó con hiperemia y edema severo, que desaparecieron a la tercera semana posterior al procedimiento quirúrgico. Uno de estos animales (16.6%), en la tercera semana posterior al autotransplante, desarrolló estenosis traqueal grado I (de acuerdo con la escala de Cotton) en la anastomosis proximal; sin embargo, ésta no comprometió su vida, ya que era laxa y permitía el paso del endoscopio sin dificultad.

La valoración endoscópica de todos los animales de experimentación del grupo II mostró las anastomosis permeables en su totalidad y sin alteraciones (Figura 3). En todos los casos se observó desarrollo de tejido cicatrizal sobre los tres bordes de las anastomosis con leve hiperemia y edema durante los primeros siete días posteriores al autotransplante; en la segunda semana se observaron completamente cicatrizados, sin hiperemia y sin edema.

El estudio angiográfico en todos los animales del grupo II reveló revascularización de los segmentos traqueales autotransplantados, lo que se confirmó con la inyección de colorante, que mostró coloración del 80%-90% de la mucosa traqueal.

the suture zone, with severe haemorrhage in all the layers of the trachea; also, one animal showed calcium deposits in the muscular layer and cartilage. The medial anastomosis of these dogs also developed severe inflammation with necrosis in all the layers at the suture points; one animal showed formation of calcifications in the tracheal cartilage, while the caudal anastomosis developed inflammation and severe haemorrhage with necrosis of the cartilage and epithelium, as well as formation of calcium in all their layers (Figure 4).

The other three dogs of group I that did complete the study period, at the level of the cranial anastomosis showed minimum inflammation with epithelium loss that was substituted by fibrous tissue as well as, degeneration and ossification of cartilage. The medial anastomosis developed moderate inflammation with lymphocytes in all the layers of the trachea with substitution of the epithelium by fibrous tissue and focal calcium deposits in the cartilage. The caudal anastomosis also developed lymphocyte-based moderate inflammation in all the trachea layers, with granulomatous reaction to the suture material and moderate haemorrhage in all layers, with formation of fibrous tissues and focal calcifications on epithelium and cartilage. In the three cases there was scarce formation of new vessels.

In group II, all the cranial anastomosis developed scarce to moderate lymphocyte based inflammation with intense fibrosis in all layers and only two animals (33.33%) showed newly formed vessels in 80% of the tracheal diameter (Figure 5). Two animals (33.33%) of this group presented sub-epithelial haemorrhage and calcium formation at the muscular and cartilage layers. One anastomosis (16.66%) of this group deve-

En el aspecto macroscópico de los animales del grupo I (sin omentopexia) (50%) (n = 3), que tuvieron que ser sometidos a eutanasia, se observó dehiscencia y fístula en la anastomosis media del segmento traqueal autotransplantado. Un perro de este grupo (16.66%) también presentó infección y necrosis en esta misma anastomosis. Los otros tres animales operados presentaron buena cicatrización con aparente desarrollo de tejido fibroso sobre las anastomosis con mal desarrollo de vasos de nueva formación; en uno de estos animales se formó una cicatriz de tipo que-loide laxa que obstruía 30% de la luz traqueal.

Todos los perros del grupo II (n = 6) mostraron buena cicatrización en las tres anastomosis, caracterizada por el desarrollo de aparente tejido fibroso sobre el tejido anastomosado, con aparente desarrollo de vasos de neoformación en todas las anastomosis.

En la evaluación histológica ningún anillo traqueal de los que se tomaron antes de la cirugía presentó cambios microscópicos en ambos grupos.

En los tres animales del grupo I que no completaron el estudio, a nivel de la anastomosis craneal, se observó inflamación de moderada a severa con destrucción del cartílago y pérdida del epitelio alrededor de la zona de suturas, con hemorragia severa en todas las capas de la tráquea; además, un animal presentó depósitos de calcio en la capa muscular y el cartílago. Las anastomosis medias de estos perros también desarrollaron inflamación severa con necrosis en todas sus capas en los puntos de sutura; un animal mostró formación de calcificaciones en el cartílago traqueal, mientras que las anastomosis caudales desarrollaron inflamación y hemorragia severa con necrosis del cartílago y epitelio, así como formación de calcio en todas sus capas (Figura 4).

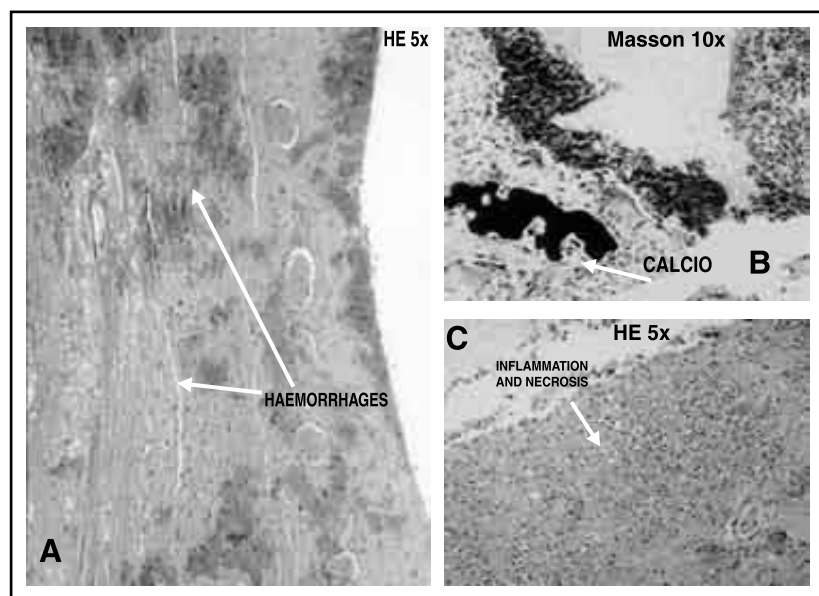


Figura 4. Fotomicrografía de un animal del Grupo I que muestra la hemorragia de las capas traqueales (A), formación de calcio en el cartilago traqueal y la inflamación y necrosis en todas las capas de la tráquea (C).

Photomicrography of an animal of group 1 that shows the haemorrhages of the tracheal layers (A), and the formation of calcium in the tracheal cartilage (B) and inflammation and necrosis in all the layers of the trachea. (C).

loped a granulomatous reaction to foreign body in the suture zone.

The medial anastomosis in all cases showed moderate lymphocyte-based inflammation and intense fibrosis in the entire trachea. Only two cases (33.33%) showed newly formed vessels in 80% of the trachea and in another two dogs (33.33%) the formation of calcium on the cartilage was observed. Also, one animal (16.66%) showed sub-epithelial haemorrhage.

In relation to the caudal anastomosis, in all the dogs a moderate inflammation by lymphocytes was observed, as well as the development of fibrous tissue in all trachea layers, and also abundant (80%-90% of the tracheal diameter) newly formed vessels in five animals (83.33%); also there were some focal calcium formations in the cartilage of two animals (33.33%). In the control rings, by morphometry there were no differences in the internal, total and cartilaginous areas, within each group and between groups. (ANOVA, $P = NS$).

At the end of the study, the total area of the cranial anastomosis was greater (ANOVA, $P = 0.030$) in the tracheal autotransplant without omentum and lesser in the cranial and caudal anastomosis of the group with omentum (Figure 6).

The cartilaginous area of the medial anastomosis of group I was significantly greater (ANOVA, $P = 0.0415$) than the medial anastomosis of the group with omentopexy (Figure 6).

Discussion

Tracheal transplants seem to be an option for the treatment of tracheal diseases that involve this organ in an extension larger than 6 cm, but performing them has been complicated by several problems, among

Los otros tres perros del grupo I que sí completaron su tiempo de estudio a nivel de la anastomosis craneal, presentaron inflamación mínima con pérdida del epitelio, que fue sustituido por tejido fibroso, así como degeneración y osificación del cartílago. Las anastomosis medias desarrollaron inflamación moderada de linfocitos en todas las capas de la tráquea con sustitución del epitelio por tejido fibroso y depósitos focales de calcio en el cartílago. Las anastomosis caudales también desarrollaron inflamación moderada a base de linfocitos en todas las capas de la tráquea, con reacción granulomatosa al material de sutura y hemorragia moderada en todas sus capas, con formación de tejido fibroso y calcificaciones focales sobre el epitelio y cartílago. En los tres casos hubo escasa formación de nuevos vasos.

En el grupo II, todas las anastomosis craneales desarrollaron inflamación de escasa a moderada a base de linfocitos con fibrosis intensa en todas sus capas y sólo dos animales (33.33%) mostraron vasos de neoformación en 80% del diámetro traqueal (Figura 5). Dos animales (33.33%) de este grupo presentaron hemorragia subepitelial y formación de calcio a nivel de la capa muscular y cartilaginosa. Una anastomosis (16.66%) de este grupo desarrolló reacción granulomatosa a cuerpo extraño en la zona de suturas.

Las anastomosis medias en todos los casos mostraron inflamación moderada también a base de linfocitos y fibrosis intensa en toda la tráquea. Sólo en dos casos (33.33%) se encontraron vasos de neoformación en 80% de la tráquea y en otros dos perros (33.33%) se observó formación focal de calcio sobre el cartílago. Además, un animal (16.66%) presentó hemorragia subepitelial.

Respecto de las anastomosis caudales, en todos los perros se observó inflamación moderada por linfocitos

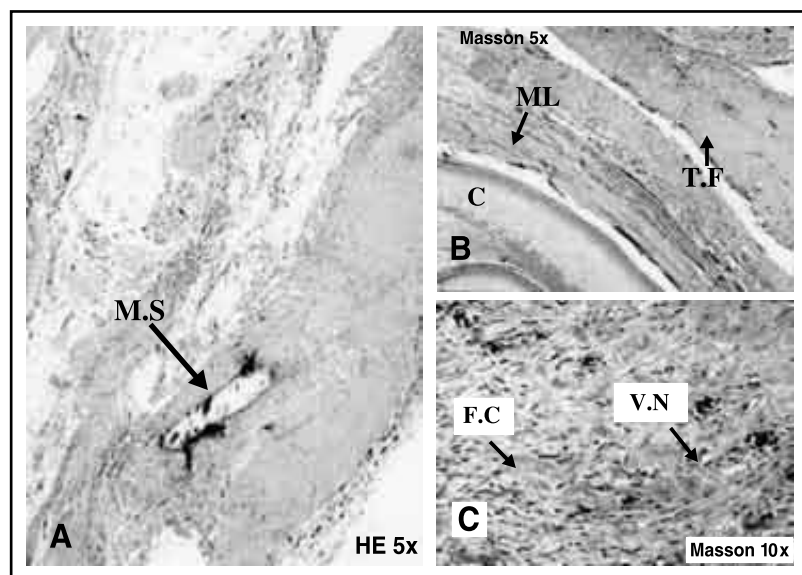
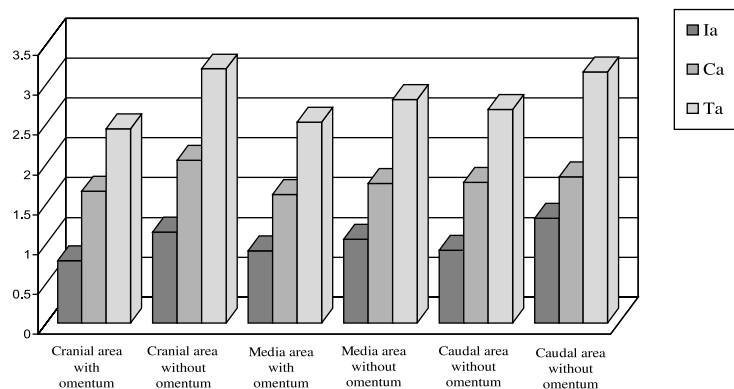


Figura 5. Microfotografía de un animal del Grupo II, en la que se observa el material de sutura (MS) (A), en el recuadro B se muestra la buena cicatrización del injerto, caracterizada por la conservación de todas las estructuras traqueales, cartilago (C), músculo liso (ML) y formación de tejido fibroso (TF). En el recuadro C se aprecia la formación de fibras de colágena (FC) y vasos neoformación (VN).

Microphotography of an animal of group II, suture material (SM) is observed (A), in the box B good scarring of the graft is shown, characterized by the preservation of the tracheal structures, cartilage (C), smooth muscle (SM) and formation of fibrous tissue (FT). In box C the formation of collagen fibres (CF) and newly formed vessels (NV) are seen.



* ANDEVA (P = 0.030)

** ANDEVA (P=0.0415)

Figura 6. Valores promedio de las áreas internas (Ia), cartilaginosa (Ca) y total (Ta) de los anillos traqueales de las anastomosis craneal, media y caudal del autotransplante traqueal con omento (C/O) y sin omento (S/O)

Average values of the internal (Ia) cartilaginous (Ca) and total areas (Ta) of the tracheal rings of the cranial, medial and caudal anastomosis after tracheal transplant with omentum or without omentum.

which vascularization of the transplanted segments is noteworthy, which is reflected in the delay of scarring, and the production of scars that occlude the tracheal lumen and in the most severe cases necrosis of the same due to ischaemia and chronic infection.^{9,10,12,14,23,24}

In this work an experimental study in dogs is described, where thoracic tracheal autotransplants were carried out using a surgical technique with three anastomosis (proximal, medial and distal), combined with the wrapping of the segment in an omentum fold, in order to increase the number of newly formed vessels and favor the formation of a proper scar of the autotransplanted tracheal segment.

In relation to the clinical evolution, in 50% of the animals of group I that showed stridor and dyspnea that were subjected to euthanasia, during the second week after surgery, when it was related with the radiological and endoscopical findings, it could be said that the first complication was caused by the inflammation of the tracheal graft that impeded the free flow of air towards the lungs, while the dyspnea that was observed was caused by the pneumothorax that was produced when dehiscence, necrosis and the formation of fistulas happened in the medial anastomosis of the autotransplanted tracheal segment. These findings coincide with those observed by Salazar *et al.*, who mentioned that whenever a tracheal transplant is carried out, the microcirculation of the anastomosis, that is given by the lateral longitudinal arteries and the intercartilaginous anterior transverse arteries is not enough and the tracheal walls become vulnerable to ischemic damage, such as dehiscence, fistulas or necrosis after the tracheal transplant.^{15,25} In the other three animals (50%) of this group and in all the animals of the omentopexy group (group II), the endoscopic studies showed the development of a good scar in the three anastomosis, and this was reflected in a good radiographic and clinical evolution without

tos y el desarrollo de tejido fibroso en todas las capas de la tráquea, además de abundantes (80%-90% del diámetro traqueal) vasos de neoformación en cinco animales (83.33%); también se encontraron algunas formaciones focales de calcio en el cartílago de dos animales (33.33%).

En la morfometría de los anillos testigo no se encontró diferencia en las áreas interna, total y cartilaginosa dentro de cada grupo y entre grupos (ANDEVA, P = NS).

Al finalizar el estudio, el área total de las anastomosis craneales fue mayor (ANDEVA, P = 0.030) en el grupo de autotrasplante de tráquea sin omento y menor en las anastomosis craneales y caudales del grupo con omento (Figura 6).

El área cartilaginosa de las anastomosis medias del grupo I fue significativamente mayor (ANDEVA, P = 0.0415) que la de las anastomosis medias del grupo con omentopexia (Figura 6).

Discusión

El transplante traqueal parece ser una opción para el tratamiento de las enfermedades traqueales que involucran a este órgano en una extensión mayor a 6 cm, pero su realización se ha complicado debido a varios problemas, entre los que sobresale la revascularización de los segmentos transplantados, que se refleja en el retraso de la cicatrización, producción de cicatrices que ocuyen la luz traqueal y en los casos más graves necrosis de éstos por isquemia e infección crónica.^{9,10,12,14,23,24}

En el presente trabajo se describe un estudio experimental en perros, en donde se llevaron a cabo autotransplantes de tráquea torácica utilizando una técnica quirúrgica con tres anastomosis (proximal, media y distal), combinada con la envoltura de este segmento en un colgajo de omento, con el fin de incrementar el número de vasos de neoformación y

respiratory ailments, since air flow towards the lungs was not impeded.

A very important event that should be mentioned is that the radiological findings found in this work served to observe the status of the thoracic cavity and not to evaluate the reduction of the tracheal diameter; they only became significant when they were compared with the findings found by endoscopy, due to the fact that radiologically it is not possible to establish a diagnosis of stenosis, unless a lineal tomography is performed.

The best evolution during the scarring process of the tracheal anastomosis observed by endoscopy in the animals of group II, indicates that in reality the omentum serves as a vascular conveyor that increments the new formation of blood vessels and promotes the development of good scar tissue on the three borders of the tracheal anastomosis and this maintains them totally permeable and without alterations. The situation was different in the animals of group I, since only two animals showed scarring without alterations. These findings coincide with the ones described by other authors, who have studied tracheal scarring in experimental transplants,¹⁰ as well as the bronchial cicatrization and the role of omentopexy in pulmonary transplants.^{24,26}

At the time of euthanasia, when relating endoscopic with macroscopic findings, it was confirmed that in the dogs that showed dehiscence, necrosis, formation of fistulas and stenosis (group I) it was due to lack of vascular supply, which was different from the animals of group II where there was good scarring and even an apparent formation of new blood vessels, as has been observed by other researchers.^{9,15,16}

In relation to the angiographical study, the injection of the dye and its relationship with the newly formed vessels that were observed during the macroscopical examination, confirms the fact that in reality new blood vessels were developed. These findings coincide with those reported by Deleare,^{10,12} who performed tracheal orthotopic autotransplants in rabbits, wrapped in a thoracic fascia fold, and then a silicon dye was injected through the lateral thoracic artery whereby the presence of coloring in 90% of the tracheal circumference was observed, as well as the blood vessels of the fascia. These findings also have similarity to the ones described by Torres⁴ and Gutiérrez,²¹ who placed cryopreserved tracheal segments in the epiploon and after that injected India ink through the right gastroepiploic artery and observed coloring in the tracheal mucosa and the epiploon vessels.

Microscopic evaluation in all the survivor animals during this study (group I, n = 3 and group II, n = 6) gives evidence to the fact that in both groups there was scarring characterized by the development

favorecer la formación de una cicatriz adecuada del segmento traqueal autotransplantado.

Respecto de la evolución clínica, en 50% de los animales del grupo I que mostraron estridor y disnea que fueron sometidos a eutanasia durante la segunda semana después de la cirugía, al relacionarlos con los hallazgos radiológicos y endoscópicos, se puede pensar que la primera complicación fue ocasionada por la inflamación del injerto traqueal que impedía el paso libre de aire hacia los pulmones, mientras que la disnea que se observó fue provocada por el neumotórax que se produjo al presentarse dehiscencia, necrosis y formación de la fístula en la anastomosis medial del segmento traqueal autotransplantado. Estos hallazgos coinciden con los observados por Salazar *et al.*, quienes mencionan que cuando se lleva a cabo un trasplante traqueal, la microcirculación de las anastomosis, que se da por las arterias longitudinales laterales y las arterias transversas anteriores intercartilaginosas, no es suficiente y las paredes traqueales se vuelven vulnerables al daño isquémico, como dehiscencia, fístulas o necrosis después del trasplante traqueal.^{15,25} En los otros tres animales (50%) de este grupo y en todos los animales del grupo de omentopexia (grupo II), los estudios endoscópicos mostraron el desarrollo de una buena cicatriz en las tres anastomosis, lo que se reflejó en una buena evolución radiográfica y clínica sin trastornos respiratorios, ya que no se impedía el paso adecuado de aire hacia los pulmones.

Un suceso importante de mencionar es que los hallazgos radiológicos encontrados en este trabajo sirvieron para observar el estado de la cavidad torácica y no para evaluar la disminución del diámetro traqueal; sólo fueron significativos cuando se compararon con los hallazgos observados mediante la endoscopia, debido a que radiológicamente no se puede establecer un diagnóstico de estenosis, a menos que se realice una tomografía lineal.

La mejor evolución durante el proceso de cicatrización de las anastomosis traqueales observada endoscópicamente en los animales del grupo II, indica que en realidad el omento actúa como acarreador vascular, incrementa la neoformación de vasos sanguíneos y favorece el desarrollo de un buen tejido cicatrizal sobre los tres bordes de la anastomosis traqueal, lo que las mantiene permeables en su totalidad y sin alteraciones. A diferencia de los animales del grupo I, en el que sólo dos animales mostraron cicatrización sin alteraciones. Estos hallazgos coinciden con los descritos por otros autores, quienes han estudiado la cicatrización traqueal en trasplantes experimentales,¹⁰ así como la cicatrización bronquial y el papel de la omentopexia en el trasplante pulmonar.^{24,26}

En el momento de la eutanasia, al correlacionar

of new fibers of collagen. Nevertheless, scarce to moderate lymphocyte inflammation was present in all the layers of the trachea in all the cases, that was due to a chronic inflammatory process whereby the lymphocytes are present because of the effect of the pro-inflammatory cytokines such as platelet derived growth factor, growth transformation factor β ,²⁷ but this type of chronic inflammation always end in a cicatricial process (even if this may be with deformity).²⁸⁻³⁰

The presence of foreign body giant cells in the sutures zones of the three animals of group I that survived the whole study period and one animal of group II represents a granulomatous chronic inflammation response type where the suture material acted as an irritant that was difficult to digest by the macrophages, provoking the fusion of them and the formation of foreign body giant cells.^{29,31}

In relation to the formation of new vessels, in all the animals of group II there was abundant development, which was different from the animals in group I that survived during the study period, since in them, the formation of new vessels was scarce, and this suggests that the omentum favours the formation of new vessels. These findings coincide with those observed by Albes *et al.*, who performed tracheal transplants using omentum folds and stated that the omentum does help to maintain the internal vascular growth and avoids the effects provoked by ischaemia.³²

The substitution of the tracheal epithelium by fibrous tissue and cartilage degeneration in the animals of group I indicate that even though the tracheal graft was maintained viable, the formation of new vessels was not enough to maintain integrity of the tracheal layers, and this coincides with what has been described by Deleare *et al.*^{10,12} and Albes *et al.*³²

Severe necrosis in all the layers of the trachea at the suture points was found in the three animals of group I that did not complete the study period. This was caused mainly because of ischaemia.

There were no changes in relation to the presence of stenosis in both groups by morphometric examination, but when the percentage of thickness of the cartilaginous area of the tracheal rings was compared, it was greater in the tracheal transplant without omentopexy and less in the segments of the group with omentopexy. Nevertheless, this result could have been due to inflammation or fibrosis that was produced in the anastomosis sites.

In this study, it is concluded that thoracic tracheal autotransplant is viable with the divided tracheal transplant technique, by performing three anastomosis and omentopexy, to promote vascularization and scarring in the transplanted graft suture areas

los hallazgos endoscópicos con los macroscópicos, se confirmó que en los perros en los que se presentó dehiscencia, necrosis, formación de fístula y estenosis (grupo I), fue por la falta de un aporte vascular, a diferencia de los animales del grupo II en los que sí se presentó buena cicatrización e incluso era aparente la formación de nuevos vasos sanguíneos, como lo han observado otros investigadores.^{9,15,16}

Respecto del estudio angiográfico, la inyección de tinta y su relación con los vasos de neoformación observados en el examen macroscópico, se confirma que en realidad se desarrollaron nuevos vasos sanguíneos. Estos hallazgos coinciden con los observados por Deleare,^{10,12} quien realizó en conejos autotransplantes ortotópicos traqueales, envueltos en un colgajo de fascia torácica, posteriormente se inyectó colorante de silicón a través de la arteria torácica lateral y se observó que hubo presencia de coloración en 90% de la circunferencia traqueal, así como en los vasos sanguíneos de la fascia. Estos hallazgos también tienen similitud con los descritos por Torres⁴ y Gutiérrez,²¹ quienes colocaron segmentos traqueales criopreservados en el epiplón y después de inyectar tinta china por la arteria gastroepiploica derecha observaron coloración de la mucosa traqueal y en los vasos del epiplón.

La evaluación microscópica en todos los animales que sobrevivieron al tiempo de estudio (grupo I, n = 3 y grupo II, n = 6) en este trabajo, proporciona evidencia de que en ambos grupos se presentó cicatrización, caracterizada por el desarrollo de nuevas fibras de colágena. Sin embargo, en todos los casos se presentó inflamación de escasa a moderada de linfocitos en todas las capas de la tráquea, la cual se debió a un proceso inflamatorio crónico en el que los linfocitos se presentan por efecto de citocinas pro-inflamatorias, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor β de transformación del crecimiento,²⁷ pero este tipo de inflamación crónica siempre termina en un proceso cicatricial (aunque ésta puede ser con deformidades).²⁸⁻³⁰

La presencia de células gigantes a cuerpo extraño en la zona de las suturas en los tres animales del grupo I, que sobrevivieron al tiempo de estudio, y en un animal del grupo II, es una respuesta de inflamación crónica granulomatosa, en la que el material de sutura actuó como irritante difícil de digerir por los macrófagos, provocando la fusión de éstos y formación de células gigantes a cuerpo extraño.^{29,31}

En cuanto a la neoformación de vasos, en todos los animales del grupo II hubo desarrollo abundante, a diferencia de los animales del grupo I, que sobrevivieron al tiempo de estudio, en los que la neoformación de vasos fue escasa, lo cual sugiere que el omento sí favorece la nueva formación de vasos

especialmente en la porción central. No obstante, más estudios deben ser realizados en autotrasplantes que usen la misma técnica para ver si el efecto inmunosupresor no afecta la formación de nuevos vasos sanguíneos.

Referencias

Netter FH. Colección Ciba de ilustraciones sobre anatomía

1. y embriología, fisiología, anatomía patológica, síntomas clínicos y tratamiento de enfermedades. Sistema Respiratorio. Barcelona España: Salvat Editores, S.A. 1984.
2. Kunachak S, Kulapaditharom B, Vajradul V, Rochanawutanon M. Cryopreserved, irradiated tracheal homograft transplantation for laryngotracheal reconstruction in human beings. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 122: 911-916.
3. Tojo T, Niwaya K, Sawabata N, Nezu K, Kawachi K, Kitamura S. Tracheal allogenic immunoresponse is reduced by cryopreservation canine experiment. *Transplant Proc* 1996; 28: 1814-1815.
4. Torres T, Santillán P, Salazar M, Villalba J, Olmos R, Lezama M, *et al.* Resección y doble anastomosis traqueal (estudio experimental). *Rev Inst Nac Enf Resp* 1991; 4: 9-14.
5. Shaari CM, Farber D, Brandwein, Gannon P, Urken MI. Characterizing the antigenic profile of the human trachea: implications for tracheal transplantation. *Head Neck* 1998; 20: 522-527.
6. Yokomise H, Inui K, Wada H, Ueda M, Hitomi S. Tracheal transplantation in dogs for future clinical application. *Transp Proc* 1996; 28: 1763-1764.
7. Torres T, Santillán P, Gaxiola M, Jasso R, Olmos R, Villalba J, *et al.* Criopreservación de Tráquea. Estudio Experimental. *Neumología y cirugía de tórax*. 1991; 1: 8-14.
8. Davies OG, Edmiston JM, Mc Corkle HC. The repair of experimental tracheal defects with fresh and preserved homologous tracheal grafts. *J Thorac Surg* 1952; 23: 367-376.
9. Salmeron J, Gannon PJ, Blackwell KE, Shaari CM, Urken ML. Tracheal transplantation: superior and inferior thyroid artery perfusion territory. *Laryngoscope* 1998; 108: 849-853.
10. Deleare P, Ziyang L, Feenstra L. Tracheal autograft revascularization and transplantation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 120: 1130-1136.
11. Rose KG, Sesterhenn K, Wustrow F. Tracheal allograft transplantation in man. *Lancet*. 1979; 1: 433-436.
12. Deleare P, Ziyang L, Hermans R, Sciort R, Feenstra L. Experimental tracheal allograft revascularization and transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110: 728-737.
13. Park YS, Lee DY, Paik HC, Bae KM, Cho SH. The role of omentopexy in tracheal transplantation in dogs. *Yonsei Med J* 1996; 37: 118-124.
14. Lenot B, Macchiarini P, Dartevelle P. Tracheal trans-

sanguíneos. Estos hallazgos coinciden con los observados por Albes *et al.*, quienes realizaron trasplantes traqueales utilizando colgajos de omento y afirman que el omento sí ayuda a mantener el crecimiento vascular interno y evita los efectos provocados por la isquemia.³²

La sustitución del epitelio traqueal por tejido fibroso y degeneración del cartílago en los animales del grupo I, indican que si bien el injerto traqueal se mantuvo viable, la formación de nuevos vasos no fue suficiente para mantener íntegras estas capas traqueales, lo que coincide con lo descrito por Deleare *et al.*^{10,12} y Albes *et al.*³²

En los tres animales del grupo I que no completaron su tiempo de estudio se presentó necrosis severa en todas las capas de la tráquea en los puntos de sutura, lo que se debió principalmente al daño provocado por la isquemia.

Respecto del examen morfométrico, no hubo cambios en cuanto a la presencia de estenosis en ambos grupos, pero al correlacionar el porcentaje de grosor del área cartilaginosa de los anillos traqueales, éste fue mayor en el grupo de autotrasplante de tráquea sin omentopexia y menor en los segmentos del grupo con omentopexia. Sin embargo, este resultado pudo deberse a la inflamación o fibrosis que se produjo en los sitios de las anastomosis.

En este estudio se concluye que es viable realizar un autotrasplante de tráquea torácica con la técnica de trasplante traqueal dividido, realizando tres anastomosis y omentopexia, para favorecer la revascularización y cicatrización en las áreas de sutura del injerto transplantado, sobre todo en su porción central; sin embargo, se tienen que realizar más estudios con autotrasplantes utilizando la misma técnica, para ver si el efecto de los inmunosupresores no afecta la formación de nuevos vasos sanguíneos.

-
14. plantation: An experimental technique with revascularisation and venous drainage. *Transplant Proc* 1995; 27: 1684-1685.

Yokomise H, Inui K, Wada H, Ueda M, Hitomi S, Itoh H. Split transplantation of the trachea: A new operative procedure for extended tracheal resection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 112: 314-318.

Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso

- de animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos. AFIA 6 dic de 1999.
- Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health U.S.A. Guía para el cuidado y uso de los Animales de laboratorio. Edición mexicana. Academia Nacional de Medicina 2002.
- Academy of Surgical Research. Course of Animal Anesthesia and Models. Memories of the Course of Animal Anesthesia and Models of the 12th Annual Meeting and 1st International Conference of the Academy of Surgical Research; October 1996: Muenster, Germany. Academy of Surgical Research, 1996.
- American Thoracic Society. Task Group on Screening for Respiratory Disease in Occupational Settings. Surveillance for respiratory hazards in the occupational setting. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126: 952-956.
- Cotton RT, Connor DM, Myer CM. Proposed grading system for subglottic stenosis based on endotracheal tube sizes. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1994; 108: 319-323.
- Gutiérrez LM. Transplante Heterotópico Segmentario de Tráquea en Abdomen, con y sin Inmunosupresión. Estudio Experimental en Perros (tesis de especialidad). México, D. F.: Facultad de Medicina, UNAM, 1997.
- Santillán-Doherty P, Jasso-Victoria R, Gaxiola M, Villaba-Caloca J. Protección de la anastomosis bronquial con colgajo de omento en el transplante pulmonar unilateral. *Rev Invest Clín del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"* 1989; 41: 117-122.
- Soda MA, Delgado A, Morales J. Manejo quirúrgico de las estenosis traqueales. *Gac Med de Méx* 1994; 130: 386-389.
- Morgan E, Lima O, Ferdman A, Luk SK, Cooper JD. Successful revascularization of totally ischemic bronchial autografts with omental pedicle flaps in dogs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982; 84: 204-210.
- Salaza JR, Pearson BW, Payne WP. Gross and microscopical blood supply of the trachea. *Ann Thorac Surg* 1977; 24:100-107.
- Shennib H, Massard G. Airway complications in lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1994; 57:506-511.
- Krummel TM, Michna BA, Thomas BL, Sporn MB, Nelson JF, Salzberg AM, *et al.* Transforming growth factor beta (TGF- β) induces fibrosis in a fetal wound model. *J Pediatr Surg* 1988; 23: 645-652.
- Angell WW, Angell JD, Kosek JC. Twelve years experience with glutaraldehyde preserved porcine xenografts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982; 87: 845-855.
- Peacock EE. Control of wound healing and scar formation in surgical patients. *Arch Surg* 1981; 116: 1325-1329.
- Rubin E, Farber JL. Patología Fundamentos. México, D. F.: Medica Panamericana S. A. de C.V. 1992: 37-51.
- Ruiz López VM. Efecto de los inmunosupresores en la cicatrización bronquial en un modelo de autotrasplante pulmonar (tesis de licenciatura). México, D. F.: Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, UNAM, 1996.
- Albes J, Klenzer T, Kotzerke J, Thiedemann K, Schaffers HJ, Borts HG. Improvement of tracheal autograft revascularization by means of fibroblast growth factor. *Ann Thorac Surg* 1994; 57: 444-449.