



El Colegio de Chihuahua

Trasplante experimental de tráquea en cerdos

Tesis presentada por

Rubén E. Garrido Cardona

para obtener el grado de

DOCTOR EN INVESTIGACIÓN

Ciudad Juárez, Chihuahua, mayo, 2019



El Colegio de Chihuahua

Trasplante experimental de tráquea en cerdos

Tesis presentada por

Rubén E. Garrido Cardona

para cumplir con los requisitos parciales para obtener el grado de

DOCTOR EN INVESTIGACIÓN

Director de Tesis

Dra. Edna Rico Escobar

Comité de Tesis

Dr. Alejandro Martínez Martínez

Dr. Bonifacio Alvarado Tenorio

Ciudad Juárez, Chihuahua, mayo, 2019

Se autoriza el uso del contenido de esta tesis, siempre y cuando sea sin fines de lucro o para usos estrictamente académicos, citando invariablemente la fuente sin alteración del contenido y dando los créditos autorales.

Se recomienda citar esta tesis de la siguiente manera:

Garrido Cardona Rubén E. (2019). Trasplante experimental de tráquea en cerdos (Tesis doctoral).

Recuperada de <http://www.colech.edu.mx/cont/tesis/.pdf>



Sínodo de tesis

Nombre de la persona

Presidente

Nombre de la persona

Secretario

Nombre de la persona

Vocal

Nombre de la persona

Vocal

Nombre de la persona

Vocal

Dedicatoria

A la memoria de mi padre el Dr. Rubén Garrido Hayne

A Elisa y mis hijas

Agradecimientos

No hay obra o proyecto del todo original, siempre hay trabajos previos, comentarios, ideas y apoyos que participan en su construcción y realización.

Este trabajo no es la excepción y como autor me debo a mucha gente, especialmente agradezco a la Dra. Elisa Barrera R. quién me impulsó y convenció para llevar a cabo esta empresa, sin la cual no lo hubiera logrado.

A mi asesora la Dra. Edna Rico Escobar por su sabiduría y paciencia.

Al Dr. Alejandro Martínez, dueño del entusiasmo por la investigación científica que contagia inevitablemente.

Que decir del Dr. Genaro Tamayo quien tuvo a bien acompañarme en gran parte del camino.

Al Colegio de Chihuahua que abrió este espacio e hizo posible este proyecto.

A la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez por permitirme realizar mi trabajo en el Departamento de Cirugía Experimental de ICB y agradeciendo la colaboración del Dr. Alfredo Hernández.

Resumen

El tratamiento de la obstrucción traqueal consiste en la resección de los anillos traqueales afectados con anastomosis termino-terminal. Cuando la porción de la afección traqueal es extensa y es necesario resecar 5 o 6 cm, la anastomosis no es viable ya que es sometida a tensión. En estos casos se ha planteado el trasplante traqueal como opción terapéutica, pero sin obtener buenos resultados debido a la dificultad en relación a la disponibilidad del órgano, la histocompatibilidad, el alto grado de complejidad del procedimiento quirúrgico así como a las características histológicas y anatómicas vasculares de la tráquea, predisponiendo a la necrosis del implante o a la re-estenosis. Recientemente se ha implementado el trasplante por medio de injertos generados por ingeniería tisular con resultados alentadores. El objetivo de este trabajo es evaluar la viabilidad del trasplante de tráquea en cerdos utilizando injertos procesados por bioingeniería. Se utilizaron cinco cerdos Yorkshire para realizar los trasplantes con la técnica convencional y sin inmunosupresión. Dos trasplantes con injertos descelularizados, uno con injerto alogénico nativo criopreservado, otro con un injerto descelularizado reforzado con un polímero y sembrado con células de la mucosa nasal y prostaglandinas y otro autólogo. Los primeros cuatro injertos fueron obtenidos de cerdos sacrificados con otros propósitos y fueron acondicionados en el epiplón de los cerdos y el último del mismo cerdo receptor. Se evaluó la supervivencia de los trasplantes y las características histológicas de los injertos pre y post-trasplante. Los cinco animales fallecieron en los primeros ocho días pos-trasplante presentando disnea grave. En los cinco injertos la herida quirúrgica y la anastomosis estaban completamente cicatrizadas y sin presentar fistulas. Los injertos previo al trasplante mostraron diferentes características anatómicas en relación a la tráquea control, los descelularizados y el criopreservado estaban reblandecidos. El descelularizado reforzado presentó gran rigidez, reacción inflamatoria y desprendimiento del polímero, y el autólogo mostró características nativas normales. En la evaluación histológica, a pesar de la presencia de epitelio (no respiratorio) y formación de vasos había presencia de alteraciones en la arquitectura. El criopresevado presentó inflamación con infiltración de leucocitos y formación de tejido de reparación en la luz. En el reforzado no se encontró epitelio con infiltración de células

mononucleares y el polímero desprendido. Los injertos a la evaluación post-mortem perdieron rigidez, y el injerto autólogo presentó necrosis y re-estenosis.

El proceso de bioingeniería redujo la inmunogenicidad facilitó la revascularización pero por la alteración mecánica se colapsaron. La tráquea criopreservada conservó sus cualidades estructurales pero se estenósó debido a la respuesta inmune frente al tejido. En el caso del injerto descelularizado reforzado con un polímero presentó inflamación, necrosis como rechazo al mismo. En el trasplante autólogo hubo reblandecimiento y necrosis y el epitelio se conservó en mejores condiciones. El fracaso del autólogo demuestra que aún queda sin resolver la revascularización y regeneración del epitelio respiratorio y no dependen de las condiciones del injerto previo al trasplante.

Palabras clave: Trasplante de tráquea, estenosis traqueal, injertos.

Abstract

The treatment of tracheal obstruction consists in the resection of the affected tracheal rings with terminoterminal anastomosis. When the portion of the tracheal condition is extensive and it is necessary to resect 5 or 6 cm, the anastomosis is not viable since it is under tension. In these cases, the tracheal transplant has been proposed as a therapeutic option, but without obtaining good results due to difficulties such as organ availability, histocompatibility, the high complexity of the surgical procedure, as well as the histological and anatomical vascular characteristics of the trachea, which predispose implant necrosis or re-stenosis. Transplant has recently been implemented through grafts generated through tissue engineering with encouraging results. The objective of this work is to evaluate the viability of trachea transplantation in pigs using grafts processed with bioengineering. Five Yorkshire pigs were used to perform the transplants with the conventional technique and without immunosuppression. Two transplants with decellularized grafts, one with cryopreserved native allogeneic graft, another with a decellularized graft reinforced with a polymer and planted with nasal mucosa and prostaglandin cells and another autologous. The first four grafts were obtained from pigs slaughtered for other purposes and were conditioned in the omentum of the pigs and the last of the same recipient pig. The survival of the transplants and the histological characteristics of the pre- and post-transplant grafts were evaluated. All five animals died in the first eight days post-transplant showing severe dyspnea. In the five grafts the surgical wound and the anastomosis were completely healed and without fistulas. The grafts prior to the transplant showed different anatomical characteristics in relation to the control trachea, the decellularized and the cryopreserved were softened. The

decellularized reinforced presented great rigidity, inflammatory reaction and detachment of the polymer, and the autologous showed normal native characteristics. In the histological evaluation, despite the presence of epithelium (non-respiratory) and vessel formation, there were alterations in the architecture. The cryopreserved graft presented inflammation with infiltration of leukocytes and formation of repair tissue in the lumen. In the reinforced no epithelium with infiltration of mononuclear cells and detached polymer was found. The grafts to the post-mortem evaluation lost rigidity, and the autologous graft presented necrosis and re-stenosis.

The process of bioengineering reduced the immunogenicity and facilitated the revascularization but, due to the mechanical alteration, they collapsed. The cryopreserved trachea retained its structural qualities but was stenosed due to the immune response against the tissue. In the case of the decellularized graft reinforced with a polymer, it presented inflammation, necrosis as a rejection thereof. In the autologous transplant, there was softening and necrosis and the epithelium was preserved under better conditions. The failure of the autologous demonstrates that the revascularization and regeneration of the respiratory epithelium is still not resolved and does not depend on the graft conditions prior to transplantation.

Keywords: Transplant trachea, tracheal stenosis, grafts

Índice

1. Introducción	1
2. Marco Teórico.....	2
2.1 Tráquea	2
2.1.1 Anatomía	2
2.1.2 Embriología	9
2.1.3 Histología.....	10
2.1.4 Fisiología	12
2.2 Estenosis traqueal	14
2.2.1 Frecuencia.....	14
2.2.2 Etiología y clasificación	14
2.2.3 Manifestaciones clínicas	18
2.2.4 Diagnóstico	18
2.2.5 Tratamiento.....	23
2.3 Trasplante de tráquea.....	28
2.3.1 Trasplante en México	30
2.3.2 Tipos de injertos	30
2.3.3 Técnica quirúrgica del trasplante de tráquea	34
3. Metodología	42
3.1 Diseño de la investigación.....	42
3.2 Descripción de los procedimientos metodológicos	42
3.3 Animales de experimentación	42

3.4 Infraestructura.....	43
3.5 Material quirúrgico.....	43
3.6 Obtención de los injertos.....	44
3.7 Trasplante de tráquea con técnica convencional sin inmunosupresión.....	46
3.8 Evaluación de la evolución de los trasplantes.....	48
3.8.1 Trasoperatorio.....	48
3.8.2 Postoperatorio inmediato, mediano y tardío.....	48
3.9 Evaluación del tiempo de supervivencia de los trasplantes.....	49
3.10 Evaluación histológica pre-trasplante y post-mortem.....	49
3.10.1 Macroscópica.....	49
3.10.2 Microscópica.....	50
3.11 Análisis de resultados.....	51
4. Resultados.....	51
4.1 Implementación de la técnica quirúrgica de trasplante traqueal.....	51
4.1.1 Informe quirúrgico trasplante 1: Injerto alogénico descelularizado (IAD).....	52
4.1.2 Informe quirúrgico trasplante 2: Injerto alogénico descelularizado (IAD).....	52
4.1.3 Informe quirúrgico trasplante 3: Injerto alogénico nativo criopreservado (IANC).....	53
4.1.4 Informe quirúrgico trasplante 4: Injerto alogénico descelularizado reforzado (IADR).....	53
4.1.5 Informe quirúrgico trasplante 5: Injerto autólogo (IAUT).....	53
4.2 Evaluación de la evolución de los trasplantes.....	53

4.2.1	Transoperatorio.....	54
4.2.2	Postoperatorio inmediato primeras 24 horas	54
4.2.3	Postoperatorio mediato de 24 a 72 horas.....	55
4.2.4	Postoperatorio tardío a partir de 72 horas	55
4.3	Evaluación del tiempo de sobrevida de los trasplantes	57
4.4	Evaluación histológica pre-trasplante y post-mortem	58
4.4.1	Evaluación histológica pre-trasplante.....	58
4.4.2	Evaluación histológica post-mortem	60
4.5	Análisis de los resultados	62
4.5.1	Trasplante 1	63
4.5.2	Trasplante 2	65
4.5.3	Trasplante 3	67
4.5.4	Trasplante 4	69
4.5.5	Trasplante 5	71
4.5.6	Relación entre las características histológicas de los injertos y la sobrevida de los trasplantes.....	73
4.5.7	Relación entre el tiempo de acondicionamiento de los injertos y la sobrevida de los trasplantes	78
5.	Conclusiones.....	79
5.1	Implementación del procedimiento quirúrgico del trasplante de tráquea en cerdos.....	79
5.2	Injertos	79

5.3 Evaluación de la evolución del trasplante en relación con las características del injerto y el tiempo de sobrevida.....	80
5.3.1 Trasplante 1	80
5.3.2 Trasplante 2	81
5.3.3 Trasplante 3	82
5.3.4 Trasplante 4	82
5.3.5 Trasplante 5	83
5.4 Consideraciones finales	83
6. Referencias bibliográficas	85
Anexos	101
Anexo I. Modelo para valorar las características macroscópicas de los injertos traqueales	101
Anexo II. Modelo para valorar las características microscópicas de los injertos traqueales	101
Anexo III. Ponencias	103
Anexo IV. Artículos Publicados	103

Índice

Figuras, cuadros y gráficas

Figuras

Figura 1. Anatomía del árbol traqueobronquial del cerdo.....	3
Figura 2. Árbol traqueobronquial humano	7
Figura 3. Resección traqueal	35
Figura 4. Implantación del injerto y sutura de la anastomosis proximal y distal	36
Figura 5. Trasplante con la técnica quirúrgica convencional	51
Figura 6. Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 1.....	63
Figura 7. Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 1.....	64
Figura 8. Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 2.....	65
Figura 9. Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 2.....	66
Figura 10. Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 3.....	67

Figura 11. Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 3.....	68
Figura 12. Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 4.....	69
Figura 13. Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 4.....	70
Figura 14. Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 5.....	71
Figura 15. Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 5.....	72

Cuadros

Cuadro 1. Manifestaciones clínicas de insuficiencia respiratoria.....	18
Cuadro 2. Escala Taussig.....	19
Cuadro 3. Clasificación de la estenosis traqueal	22
Cuadro 4. Complicaciones del tratamiento quirúrgico.....	27
Cuadro 5. Criterios de extubación	37
Cuadro 6. Animales de experimentación.....	43
Cuadro 7. Instrumental quirúrgico.....	43
Cuadro 8. Injertos utilizados en los trasplantes	46

Cuadro 9. Modelo de evaluación histológica macroscópica de los injertos.....	49
Cuadro 10. Modelo de evaluación histológica microscópica de los injertos.....	50
Cuadro 11. Evaluación del transoperatorio	54
Cuadro 12. Evaluación de la herida en el postoperatorio inmediato	55
Cuadro 13. Evaluación clínica en el postoperatorio inmediato	55
Cuadro 14. Evaluación de la herida en el postoperatorio mediato	56
Cuadro 15. Evaluación clínica en el postoperatorio mediato	55
Cuadro 16. Evaluación de la herida en el postoperatorio tardío.....	56
Cuadro 17. Evaluación clínica en el postoperatorio tardío.....	57
Cuadro 18. Tiempo de vida de los trasplantes.....	57
Cuadro 19. Evaluación histológica macroscópica del injerto pre-trasplante.....	58
Cuadro 20. Evaluación histológica microscópica del injerto pre-trasplante	59
Cuadro 21. Evaluación histológica macroscópica del injerto pre-trasplante.....	60
Cuadro 22. Evaluación histológica microscópica del injerto post-mortem.....	62
Cuadro 23. Evaluación histológica macroscópica comparativa entre el injerto pre-trasplante y post-mortem en relación a la sobrevida del trasplante	73
Cuadro 24. Evaluación histológica microscópica comparativa entre el injerto pre-trasplante y post-mortem en relación a la sobrevida del trasplante	75

Gráficas

Gráfica 1. Evaluación histológica macroscópica comparativa entre el injerto pre-trasplante y post-mortem en relación a la sobrevida del trasplante	74
Gráfica 2. Evaluación histológica microscópica comparativa entre el injerto pre-trasplante y post-mortem en relación a la sobrevida del trasplante	76
Gráfica 3. Relación entre el tiempo de acondicionamiento de los injertos y la sobrevida de los trasplantes.....	78

1. Introducción

El trasplante de tráquea como opción terapéutica se plantea cuando la resección del segmento traqueal supera una extensión de 5 a 6 cm, ya que la anastomosis termino-terminal queda muy tirante produciendo re-estenosis. La resección traqueal es necesaria en casos de obstrucción de la vía aérea por estenosis, esta es consecuencia de la lesión por intubación oro-traqueal prolongada cuando es necesaria la ventilación asistida, existiendo otras causas menos frecuentes como son las de origen traumático, infeccioso, tumoral, etc. Como una opción paliativa en estenosis extensa y debido a la dificultad para realizar el trasplante se ofrecen diversos procedimientos terapéuticos como la traqueostomía, terapia con laser, tratamientos con electrocauterización y colocación de endoprótesis de diversos materiales, todos estos tratamientos con una elevada morbimortalidad (Delaere P, 2016).

El trasplante traqueal con injertos alógenicos presenta múltiples inconvenientes como la disponibilidad del órgano, la histocompatibilidad, las características histológicas y anatómicas de la tráquea ya que es un tejido que cuenta con un sistema vascular complejo. Estos factores predisponen a la necrosis del implante o a la re-estenosis, además de lo complicado del procedimiento quirúrgico. Con el fin de resolver estos planteamientos, recientemente se ha implementado el trasplante utilizando injertos generados con matrices biológicas o sintéticas procesadas por ingeniería tisular y regenerados con células madre con resultados realmente alentadores (Udelsman B, 2018).

El objetivo de este proyecto es implementar y desarrollar el procedimiento quirúrgico de trasplante de tráquea en cerdos y evaluar su viabilidad utilizando injertos procesados por bioingeniería, con el propósito de ser menos inmunogénicos y facilitar la revascularización y reepitelialización. Se ha elegido al cerdo como modelo animal, ya que las características de la tráquea son muy similares al del humano principalmente su tamaño, con la finalidad de transferir posteriormente el procedimiento quirúrgico y aplicarlo a la práctica clínica. La cirugía de tráquea es un procedimiento complejo que necesita un entrenamiento especializado y debido a lo frecuente de la patología es imperativo el entrenamiento quirúrgico de quién trata dicha patología en los hospitales regionales.

2. Marco Teórico

2.1 Tráquea

La tráquea es un órgano que pertenece al aparato respiratorio como una vía aérea encargada de conducir el aire hasta el pulmón para llevar a cabo el intercambio gaseoso.

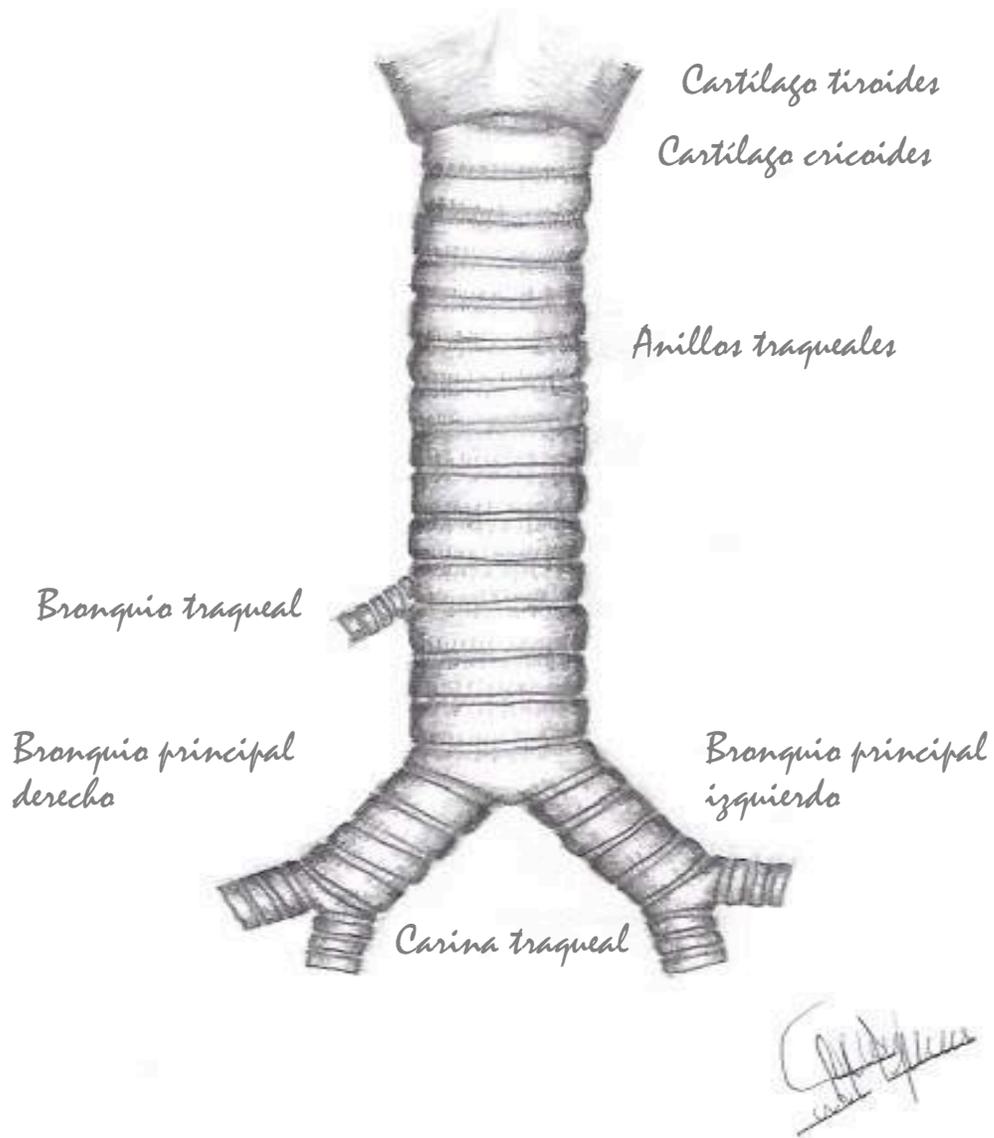
2.1.1 Anatomía

Tráquea porcina

La tráquea es órgano hueco, de 15 a 20 cm con forma de tubo membranoso, flexible revestido de mucosa que descansa en cartílago formando 32 a 35 anillos, las extremidades de los anillos cabalgan entre si formando anillos completos o incompletos dorsalmente unidos por un ligamento anular además de musculo traqueal. Es cubierta por una adventicia en el cuello o una serosa en el tórax, se unen al diafragma a través del ligamento pulmonar y al tejido conectivo mediastinal.

Se extiende desde la laringe, a nivel de las vértebras C4-C5 hasta la T5, aquí se divide en los bronquios principales izquierdo y derecho. Sobre el lado derecho a nivel del tercer espacio intercostal sale un bronquio llamado bronquio traqueal al lóbulo superior del pulmón derecho (Figura 1). A lo largo del mediastino superior y medio se relaciona por delante y por detrás con los vasos, nervios, linfáticos, mediastínicos. La irrigación arterial de la tráquea se realiza por ramas de la arteria carótida y broncoesofágica. El drenaje venoso por las venas yugulares interna y externa así como por la vena ácigos izquierda. Los linfáticos drenan a los ganglio linfáticos cervicales profundos, mediastínico y traqueobronquial. La inervación simpática proviene del ganglio cervical medio y tronco simpático, y la parasimpática de los nervios laríngeo recurrente y vago.

Figura 1. Anatomía del árbol traqueobronquial del cerdo



Esquema de la anatomía de la tráquea de cerdo, la cual presenta un bronquio traqueal (lobar superior derecho) independiente, que no se encuentra en la tráquea humana.

Tráquea humana

La tráquea es un conducto impar y medial, que comienza en la laringe y termina en el tórax, dando dos ramas de bifurcación, los bronquios. Se extiende desde el borde inferior de la sexta vertebra cervical hasta la cuarta vertebra torácica en el adulto. Es un tubo flexible y elástico, que sigue a la laringe en sus movimientos y se deja desviar más o menos a la izquierda o a la derecha.

Tiene forma de tubo cilíndrico aplanado en su parte posterior. La curvatura cilíndrica no es regular, esta aplanada transversalmente en su parte superior y antero posteriormente en su parte inferior. Presenta depresiones más o menos marcadas, de las cuales dos son constantes. Una situada a la izquierda, denominada impresión o marca aórtica correspondiente al cayado de la aorta por encima de su bifurcación y la segunda, a la izquierda pero en la parte superior, que corresponde a una compresión ejercida sobre la tráquea por el lóbulo izquierdo del cuerpo de la tiroides a nivel del segundo al quinto anillo traqueal y que recibe el nombre de impresión tiroidea. Al nivel de esta depresión los anillos son aplanados en su mitad izquierda, y el resto de la tráquea posee forma más convexa.

Puede existir en la cara anterior de la tráquea una tercera depresión correspondiente al tronco arterial braquiocefálico.

En lo que se refiere a la configuración general de la tráquea su diámetro aumenta gradualmente de arriba abajo, por tanto no es un verdadero cilindro, sino que es en realidad una especie de cono truncado, muy prolongado cuya base corresponde a su extremo inferior.

Desciende oblicuamente hacia abajo y hacia atrás, siguiendo la línea media apartándose de la superficie cutánea. Por esta dirección de la tráquea, en su porción cervical se encuentra a 18 mm de los tegumentos y a 45 mm en la horquilla esternal y de 7 cm en su extremo inferior. Desde su origen hacia su bifurcación, la tráquea sigue un trayecto bastante rectilíneo, que en ciertos individuos con una tráquea más curva se corrige con la hiperextensión.

Su longitud es de 12 cm en el hombre adulto y 11 cm en la mujer, pero no tiene una longitud

absolutamente fija; sino que se prolonga cuando la laringe se eleva o cuando la columna cervical se inclina hacia atrás. La diferencia que se observa entre su longitud máxima y mínima es de 3 o 4 cm, esto gracias a la membrana que separa los anillos traqueales (Figura 2).

El calibre traqueal es de alrededor de 12 mm en el hombre adulto vivo, más estrecho en el sujeto vivo que en el cadáver y varía según la edad y el sexo (Minnich D.J, 2007). También cambia según la tonicidad del músculo traqueal. Normalmente, las fibras musculares de la tráquea están en contracción; por lo que las extremidades de los anillos cartilagosos llegan a ponerse en contacto y el segmento posterior o segmento blando se dobla.

La tráquea del recién nacido es blanda y es 6 veces más distensible que la del adulto. En estudios de la pared traqueal las fibras musculares transversas son uniformes, pero el músculo longitudinal varía a lo largo de todo el órgano. Dicho músculo está presente en el tercio inferior de la tráquea, donde preserva la estabilidad de la luz.

El crecimiento traqueal progresa de la niñez a la pubertad, el largo de la tráquea cambia de 4 cm en el neonato a 12 cm. aproximadamente en el adulto. En el neonato, la laringe está localizada en una posición alta y el cuerpo del hueso hioides está situado aproximadamente a nivel del disco intervertebral de la tercera y cuarta vértebras cervicales. A medida que crece el lactante la glotis se mueve caudalmente. La posición alta de la epiglotis y la laringe permite que el lactante respire y degluta simultáneamente. En el lactante la dirección de la tráquea es caudal y posterior, mientras que en el adulto es medial y recta, consecuentemente, en el niño la aplicación de presión en el cartílago cricoides es más efectiva y mejora la visión de la glotis. En el niño, la distancia entre la carina y las cuerdas vocales es de tan sólo 4 a 5 cm. (Figura 2). Tras la pubertad los cartílagos en herradura no se expanden y el crecimiento resulta de los músculos y ligamentos. No existen diferencias entre hombres y mujeres y el diámetro permanece constante a todo lo largo de la luz traqueal.

La tráquea esta rodeada en toda su extensión por una capa de tejido celular laxo muy abundante, que favorece sus movimientos funcionando como una membrana serosa.

La porción cervical es relativamente superficial y esta contenida en un compartimiento visceral relacionándose por delante con el istmo del cuerpo tiroideo que cubre el segundo, tercero y cuarto anillo traqueal; más abajo con la arteria tiroidea de Neubauer cuando ésta existe; con las venas tiroideas inferiores, que son muy voluminosas y forman una red anastomótica que desciende a nivel de la horquilla esternal y se unen con el tronco braquiocefálico izquierdo y con los músculos infrahioideos. Los músculos esternotiroideo y esternohioideo están separados del contralateral por la línea blanca infrahioidea, que es cubierta por la aponeurosis cervical media, aponeurosis cervical superficial, tejido celular subcutáneo y piel.

Hacia atrás la pared membranosa de la tráquea se une estrechamente con el esófago con un tejido celular laxo.

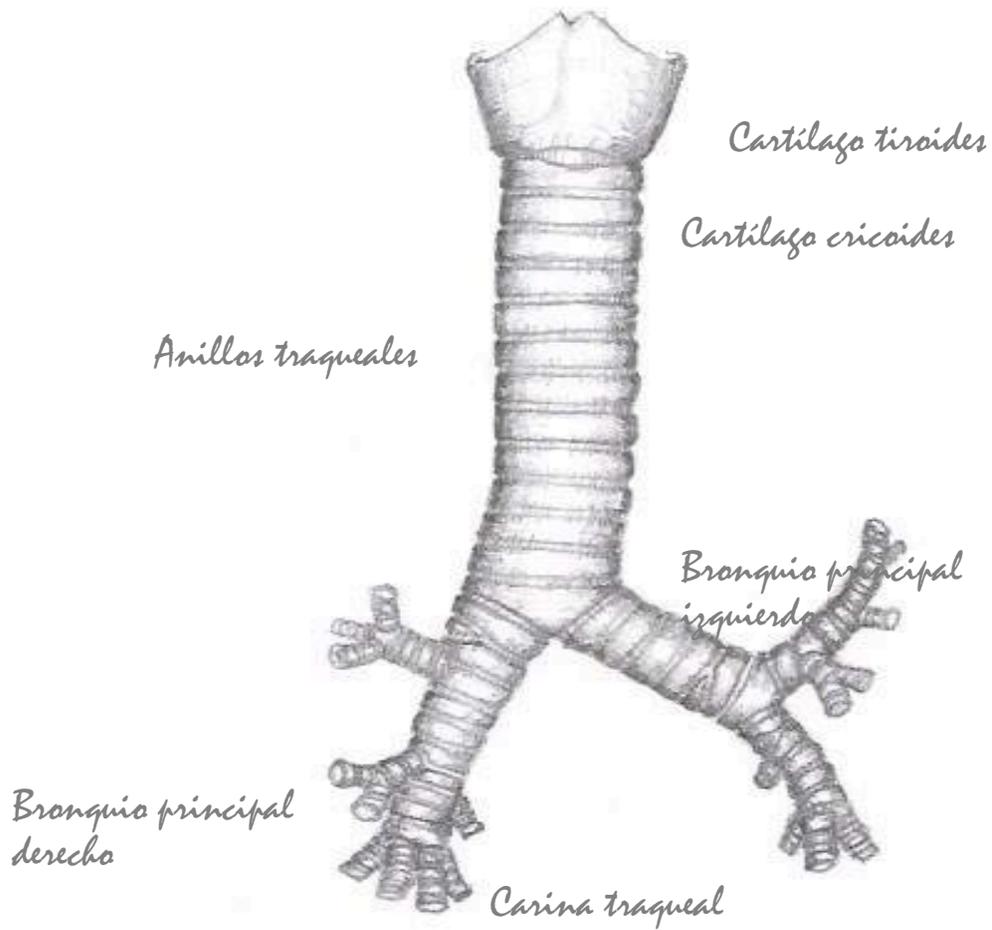
Lateralmente esta en relación con los lóbulos laterales tiroideos que se adhieren fuertemente al primer anillo traqueal, con el paquete vasculonervioso del cuello más abajo, con las arterias tiroideas inferiores, con los nervios recurrentes que avanzan, el de la derecha, sobre la cara posterior de la tráquea y el de la izquierda, por el ángulo que forman la tráquea y el esófago; y con los ganglios de la cadena recurrential.

La porción torácica se relaciona por delante en su parte superior con el tronco venoso braquiocefálico izquierdo, y en un plano más superficial con el timo (en el recién nacido). En un plano más inferior, con el tronco arterial braquiocefálico que la cruza y se dirige hacia arriba y a la derecha; con la arteria carótida primitiva, y con el cayado aórtico que se sitúa en su cara antero lateral izquierda dejando en la tráquea la impresión aórtica. Por detrás continúa con su estrecha relación con el esófago.

Por los lados en relación con las pleuras mediastínicas, en la derecha con la vena cava superior y la vena ácigos, y en la izquierda con el nervio recurrente y el cayado aórtico.

En su bifurcación está relacionada con el pericardio y los atrios del corazón y rodeada tanto en su parte posterior como anterior por un amplio plexo del nervio vago y del gran simpático, y ganglios linfáticos muy numerosos.

Figura 2. Árbol traqueobronquial humano



Esquema de la anatomía del árbol traqueobronquial humano, donde la tráquea que inicia en la laringe y termina en el tórax, dando dos ramas de bifurcación, bronquios derecho e izquierdo.

La estructura de la tráquea esta constituida por dos tunicas:

-La túnica externa o fibrocartilaginosa. Formada por una vaina fibroelástica que envuelve y une entre sí a los cartílagos y por una capa de fibras musculares lisas que junto con fibras transversas forman la cara posterior de la tráquea conocida como pars membranosa. Los anillos son cartilagosos, formados por tejido hialino, en número de 16 a 20, los cuales son incompletos en su parte posterior. Su altura varía de 2 a 5 mm, los cartílagos no son regulares y dos de ellos, el primero y el último presentan una disposición peculiar. El primero es más alto y se une al cartílago cricoides por medio de dos apófisis. El último forma una especie de espolón que al dividirse en su parte media da lugar a la carina traqueal (Furlow, P.W, 2018).

-La túnica interna cuenta con glándulas tubulares compuestas que poseen células mucíparas y células serosas las cuales secretan la mayor parte del moco que se produce en la tráquea. Está tapizada por un epitelio pseudoestratificado que aparenta tener varias capas aunque todas las células llegan a la membrana basal. La mayoría de las células son ciliadas pero existen células caliciformes, así como células basales que no llegan a la superficie, que son precursoras y que se diferencian para formar las células mas especializadas del epitelio traqueobronquial. (Arce Martinez)

La tráquea se nutre en su porción cervical principalmente de las arterias tiroideas inferiores que a la vez son ramas de la arteria subclavia, mientras que la porción torácica es muy variable, recibiendo ramos de las arterias tímicas, de las mamarias internas (también provenientes de la subclavia), de las bronquiales (ramas de la aorta torácica) y de la tiroidea inferior de Neubauer.

La microvascularización arterial traqueal se forma de arcos anastomóticos laterotraqueales. En los espacios intercartilaginosos existen las arterias intercartilaginosas transversas, anastomosándose en la parte anterior de la línea media de las arcadas laterales. Las arteriolas forman un rico plexo capilar submucoso, cuyas mallas poligonales están situadas debajo de la membrana basal.

Todas las arterias traqueales son de tipo terminal.

Pequeñas venas salen de la red submucosa y de las glándulas y corren de delante a atrás por los intervalos de los anillos cartilagosos. Al llegar a la pared posterior desembocan en unos pequeños troncos colectores submucosos, y de ahí a las venas esofágicas y las tiroideas inferiores.

La inervación de la tráquea tiene dos orígenes: el nervio vago, también conocido como neumogástrico y el gran simpático. Los ramos nerviosos del vago proceden del plexo pulmonar, del laríngeo superior, y en parte de los recurrentes. Los ramos del simpático emanan de los ganglios cervicales y de los dos o tres primeros ganglios torácicos.

Los vasos linfáticos nacidos de las redes mucosas y submucosas se vierten en los ganglios de las cadenas recurrentes hacia arriba y en los ganglios peritraqueobronquiales hacia abajo. (Arce, Libro virtual de formación en ORL)

2.1.2 Embriología

Como consecuencia del plegamiento céfalo caudal y lateral del embrión, una porción de la cavidad del saco vitelino que se encuentra revestida por endodermo, se incorpora al embrión para formar el intestino primitivo. Las otras dos porciones, saco vitelino y alantoides quedan en posición extraembrionaria. El intestino primitivo forma un tubo ciego, y queda dividido en cuatro partes:

1. Intestino faríngeo: desde la membrana bucofaríngeo hasta el divertículo traqueobronquial.
2. Intestino anterior: caudal al faríngeo y que llega hasta el esbozo hepático.
3. Intestino medio: a continuación del anterior.
4. Intestino posterior.

La formación del esófago y de la tráquea provienen de un divertículo ventral del intestino anterior que dará origen en su porción ventral, a la tráquea; y en su porción dorsal, al esófago. Esto ocurre al rededor de las cuatro semanas de edad del embrión, donde el divertículo respiratorio (esbozo pulmonar) en la pared ventral del intestino anterior. Cuando se extiende en

dirección caudal, queda separado por la aparición de dos rebordes longitudinales, los rebordes traqueoesofágicos, que al fusionarse más tarde formarán el tabique traqueoesofágico.

En el curso de su separación del intestino anterior, el esbozo pulmonar forma la tráquea y dos evaginaciones laterales, los esbozos bronquiales. Una vez separado el primordio pulmonar del esófago, sigue comunicado con la faringe a través del orificio laríngeo, formado por tejido de los arcos faríngeos cuarto y sexto. El esbozo pulmonar se desarrolla en dos bronquios principales derecho e izquierdo que más tarde formaran los bronquios secundarios y la cavidad pleural y pulmones. En tanto que se forman estas subdivisiones, los pulmones adoptan una posición más caudal y en el momento del nacimiento la bifurcación de la tráquea se encuentra a la altura de la cuarta vértebra torácica.

2.1.3 Histología

Como hemos mencionado anteriormente, la tráquea es una estructura cilíndrica, aplanada de la parte posterior, que tiene unos 10 a 12 cm de longitud y 1.5 a 2 cm de diámetro que va desde el cartílago cricoides de la laringe hasta su zona de bifurcación en los dos bronquios principales. Esta forma de la tráquea se debe a la presencia en su pared de 15 a 20 cartílagos traqueales en forma de C, dispuestos horizontalmente y abiertos hacia atrás, que le dan la rigidez necesaria para impedir que se colapse su luz.

En la pared traqueal se distinguen tres capas: la mucosa, la submucosa y la adventicia.

Capa mucosa

La capa mucosa traqueal está formada por el epitelio de revestimiento y la lamina propia, separados por una lámina basal mas gruesa de lo habitual.

Este epitelio de revestimiento respiratorio es el que tapiza toda la porción conductora del aparato respiratorio, desde la cavidad nasal hasta los bronquiolos, con la excepción de la mucosa olfatoria y de alguna zona de la laringe. Es un epitelio cilíndrico pseudoestratificado ciliado de unas 30 micras de espesor y que contiene diversos tipos celulares:

- Células ciliadas (30%). Son prismáticas altas con el núcleo en la mitad inferior de la célula, en su polo apical tiene unos 100 a 200 cilios móviles de 5 a 7 micras que batan hacia nasofaringe, hacia la que desplazan la capa de moco superficial, también hay algunas microvellosidades. La porción apical del citoplasma tiene abundantes mitocondrias.
- Células caliciformes (30%). Son similares a las que hay en otras localizaciones, el moco que producen (junto con el que producen las células mucosas de las glándulas seromucosas de la submucosa) atrapa las partículas de suciedad inspiradas.
- Células basales (30%). Son las células precursoras del resto de las células del epitelio (salvo las endócrinas), son células mas bajas: su superficie apical no alcanza la luz traqueal.
- Células endocrinas (3-4%). Son similares al resto de las células del sistema endocrino difuso del que forman parte, son células bajas similares en tamaño a las células basales (no se distinguen con las tinciones convencionales de microscopia óptica). Parece haber dos tipos diferentes de células: unas producen hormonas y otras producen catecolaminas que, en ambos casos, se almacenan en gránulos secretorios visibles con el M. E. Algunas veces estas células están agrupadas y están inervadas por terminales nerviosos colinérgicos formando cuerpos neuroepiteliales: son quimiorreceptores sensibles al oxígeno.
- Células intermedias. Son células de aspecto piramidal que, como las células basales y endocrinas no alcanzan la superficie, parecen células inmaduras que acabaran transformándose en células ciliadas o en células caliciformes.
- Células serosas. Son células similares a las células serosas que se encuentran en los acinos de las glándulas compuestas de la capa mucosa-submucosa. En la zona apical contienen gránulos secretorios electrodensos.
- Células en cepillo. Son células prismáticas delgadas con microvellosidades en su superficie apical, contienen gránulos secretorios pequeños de tipo mucoso, no se conoce su significado funcional pero pueden ser: células caliciformes que han vaciado su contenido o células provenientes de la proliferación y diferenciación de células basales que todavía no han alcanzado la madurez. Como a veces se asocian con terminales nerviosas pueden tener una función sensorial.
- Células no residentes : se pueden encontrar células del sistema inmunitario como linfocitos dispersos entre las células del epitelio respiratorio (Furlow, P.W, 2018).

Lámina propia. Esta formada por tejido conectivo laxo rico en fibras elásticas, tejido linfóide (nódulos linfoides, linfocitos), algunas glándulas compuestas seromucosas y una lamina elástica con una densa capa de fibras elásticas que delimita la mucosa de la submucosa.

Capa submucosa (capa fibromusculocartilaginosa)

La submucosa traqueal está formada por un tejido conectivo rico en fibras elásticas y con gran cantidad de glándulas compuestas seromucosas. En esta capa se distinguen dos zonas: zona cartilaginosa y zona membranosa.

- La zona cartilaginosa comprende la porción anterior y las laterales de la pared traqueal ocupada por 15 a 20 cartílagos hialinos en forma de herradura, dispuestos horizontalmente y equidistantes uno del otro. Los cartílagos vecinos están unidos entre sí por una membrana fibroelástica (ligamento anular) que se inserta en el pericondrio de los bordes del cartílago. El espacio que queda entre las piezas de cartílago está ocupado por glándulas seromucosas.

- La zona membranosa forma la pared posterior de la tráquea donde se encuentra el músculo traqueal, con una capa transversal interna de músculo liso que une los dos extremos del cartílago traqueal y por fuera se sitúan fascículos musculares longitudinales de músculo liso entre los cuales se encuentran abundantes glándulas traqueales (compuestos seromucosos).

Capa adventicia

La capa más externa de la pared traqueal está formada por un tejido conectivo laxo que se continua con el tejido conectivo de las regiones vecinas. (Furlow, P.W, 2018)

2.1.4 Fisiología

Función aérea y biomecánica

La tráquea es un conducto permeable al aire durante todo el ciclo respiratorio, la circulación de aire endoluminal permite la hematosis sanguínea y la fonación.

Circulación aérea en las vías respiratorias

El aire luego de pasar por la nariz y faringe se distribuye hacia los pulmones por la tráquea, bronquios y bronquiolos.

A la tráquea se le llama vía respiratoria de primera generación.

Una de las funciones de las vías respiratorias es conservarla abierta para el pasaje de aire al alveolo para evitar que la tráquea se colapse por medio de los cartílagos anulares.

El diámetro de la tráquea clásica disminuye un 50% en la espiración y se deforma su pared posterior musculofibrosa. Durante la inspiración el fenómeno es inverso, el diámetro de la tráquea torácica aumenta y el de la tráquea cervical disminuye.

La tráquea junto con la cavidad nasal constituyen un eficiente sistema acondicionador del aire que asegura que éste llegue al pulmón a la temperatura corporal y con una buena saturación de vapor de agua. Además, en el cerdo el aparato respiratorio tiene la función de termorregulación al eliminar el exceso de calor por evaporación (polipnea térmica) ya que no tienen las glándulas sudoríporas desarrolladas.

Cuando se produce la tos, la tráquea se convierte en una hendidura semilunar debido a que la porción membranosa posterior se invagina dentro del anillo cartilaginoso, produciendo un estrechamiento de la luz que a la vez provoca que el flujo aéreo se acelere significativamente, permitiendo que el aire limpie la mucosa al salir.

El epitelio de la vía aérea se encuentra protegido por el manto mucociliar. Los cilios que tapizan la luz traqueal se mueven rítmicamente a una frecuencia de 160 a 1500 veces por minuto, arrastrando la túnica del moco, junto con materiales extraños a una velocidad de 16 mm por minuto. Ciertas situaciones afectan la acción ciliar, como la hipoxia, la hiperoxia y el habito de fumar deteniendo esta acción ciliar, importante en la depuración y limpieza de partículas inhaladas (Furlow PW, 2018).

2.2 Estenosis traqueal

La estenosis traqueal es un padecimiento frecuente que se define como la disminución anormal del calibre de la tráquea por retracción cicatricial o aposición de tejido patológico. Es una patología grave que cuando fallan las alternativas terapéuticas puede ser mortal. (Grillo, 2002)

2.2.1 Frecuencia

Es la principal causa de obstrucción crónica de la vía aérea y se calcula que se produce en el 5-20% de los pacientes intubados o traqueostomizados y en el 0,5 y 2% llevan a una disfunción respiratoria severa que requiere tratamiento quirúrgico, con una mortalidad del 10% (Fernández Vaquero MA, 2009).

Esta frecuencia probablemente se ha reducido por la introducción de tubos endotraqueales de baja presión para no inducir isquemia, ulceración y estenosis sobre la pared traqueal.

Se han reportado que después de una traqueostomía se desarrollará estenosis en un 65% y en un 19% por intubaciones orotraqueales (Stauffer JL, 1981).

En un estudio prospectivo y controlado de incidencia se reportó una estenosis mayor del 50% de la luz por traqueostomías en un 12% y por intubaciones un 17% (Rumbak MJ, 2004).

2.2.2 Etiología y clasificación

Las causas de obstrucción por estenosis traqueal se debe al daño ocasionado por la ventilación mecánica prologada por el uso de sondas orotraqueales, nasotraqueales, cánulas de traqueostomía o por procedimientos endoscópicos. En el 5-20% de los casos, también puede ser secundaria a cirugía traqueal cuando se realiza una resección de más del 50 % de su longitud por tensión excesiva en la sutura anastomótica o disección de la tráquea con desvascularización, otros factores importantes son el tipo de sutura o la dehiscencia de la anastomosis (Vera Cruz P, 2003; Wain JC, 2003).

Este tipo de estenosis está causada por la cicatrización excesiva en la zona donde se ha producido una lesión transmural, es circunferencial y puede ocurrir a diferentes niveles

1) Traqueal

Por lesión del balón del tubo endotraqueal o cánula de traqueostomía

2) Estroma traqueal

Por traqueostomía

3) Subglótica

En la región del cricoides por el tubo endotraqueal

4) Glotis

Por la lesión en la comisura posterior de las cuerdas vocales

(Bhatia G, et al 2012)

Los factores que contribuyen son el tamaño de la cánula, la duración de la intubación o la reintubación y el movimiento del paciente ya que la presión ejercida sobre las paredes de la tráquea, causan la disminución de la perfusión y flujo sanguíneo con daño a la mucosa traqueal (traqueítis). Con la ventilación mecánica en una situación hemodinámica normal y sin infección, si la presión del balón del tubo excede 50 mmHg, durante las primeras 24 horas genera edema con interrupción del flujo capilar, después de 48 horas hay áreas de isquemia epitelial y necrosis. A las 72 horas se produce denudación de submucosa y cartílago y después de 5 días hay necrosis cartilaginosa, cuando todo este proceso es en la circunferencia de la tráquea hay una probabilidad del 90% de estenosis. Los tipos de lesión que se pueden encontrar son en forma de granulomas, como una reacción inflamatoria hipertrófica en la mucosa como tejido de granulación y pueden ser únicos, múltiples, sésiles o pediculados.

Las estenosis por traqueostomía se ubican cercana a esta, independientemente de su tamaño y localización. Se pueden presentar como membranas fibrosas llamadas diafragmas por ser circulares y pueden tener una perforación central o periférica, también pueden ser helicoidales o en media luna, o simular una pseudo cuerda vocal y todas pueden variar en su grosor. Son la consecuencia de la reacción inflamatoria crónica con reparación fibrosa en la mucosa y

submucosa. Las estenosis postraqueotomía se puede producir en cuatro localizaciones como complicación a su colocación, si se erosiona la pared anterior con una traqueostomía alta la estenosis es proximal, cuando es causada por el balón se localiza a 1 a 1.5 centímetros por debajo del estoma y afecta a 1.5-2 cm de pared traqueal y cuando es distal al tubo endotraqueal es por el movimiento o presión excesiva del tubo.

Las lesiones cartilaginosas que afectan la estructura rígida de la tráquea comprenden fracturas, condritis y necrosis de los cartílagos, las fracturas pueden deberse a traumatismos externos, internos (intubación, dilatación) o quirúrgicos (traqueostomía). El cartílago fracturado protruye a la luz cubierto de mucosa, cuando es por intubación la necrosis de la mucosa y la ulceración deja descubierto el cartílago que sufre infección y sobreponen lesiones de condritis y necrosis que son sustituidas por fibrosis retráctil, que se visualizan como anillos cartilaginosos denudados en la luz traqueal.

También puede ocurrir un colapso esclerocicatrizal con disminución del diámetro interno y externo de la tráquea como consecuencia de una cirugía en donde hubo una hiperinsuflación del globo de la sonda de intubación con necrosis de los anillos y el tejido es remplazado por fibrosis que puede manifestarse al principio como malacia y evolucionar a una contracción retráctil de las capas de la tráquea (Pineyro L, 2009).

En la traqueostomía las infecciones y el uso material reesterilizado con óxido de etileno generan irritación y pueden contribuir con el daño al estroma.

Otras causas son de origen infeccioso como la tuberculosis que afecta la tráquea distal y/o bronquios principales y la estenosis es circunferencial por fibrosis submucosa dejando intactos los cartílagos, para su tratamiento quirúrgico la infección debe estar controlada sin presencia de bacilos. La histoplasmosis puede generar fibrosis mediastínica afectando la tráquea distal, carina y bronquios principales (BP) por compresión extrínseca y fibrosis interna y la tráquea se puede perforar. La difteria genera fibrosis de larga evolución presentándose la estenosis años después de la infección. La murcomicosis necrotizante de la tráquea es frecuente en diabéticos e inmunodeprimidos por diversas causas. En todos estos casos se debe controlar el proceso

infeccioso y resección quirúrgica de la estenosis.

El origen inflamatorio por enfermedades autoinmunes como la sarcoidosis, Granulomatosis de Wegener, policondritis recidivante, poliarteritis y esclerodermia o por inhalación de sustancias tóxicas, otras causas pueden ser neoplasias benignas o malignas ya sean intrínsecas (amiloidosis) o extrínsecas, exposición a radiaciones ionizantes accidentales o terapéuticas, reflujo gastroesofágico o enfermedades congénitas como traqueomalacia e idiopáticas (Walner DL, 1998; Koufman JA, 1991).

Cuando se desconoce la causa es una estenosis idiopática y se presentan en mujeres entre 20 a 60 años con inflamación en la submucosa de la tráquea en su tercio superior o región subglótica y que continúa con cicatrización y estenosis circunferencial, presentan disnea ligera de larga evolución con sibilancias o estridor confundiéndose frecuentemente con asma, se ha postulado la influencia de los estrógenos en esta patología (Grillo HC, 2003; García et al., 2004; Jordá C, 2007).

La historia natural de la enfermedad se desconoce y su evolución no puede predecirse. La estenosis puede progresar, estabilizarse o incluso regresar a una situación de normalidad y todas se acompañan de cierto grado de traqueomalacia.

A todas estas causas se puede añadir la administración de esteroides.

2.2.3 Manifestaciones clínicas

La sintomatología por los diversos tipos de estenosis dependen del grado de obstrucción, si es debida a una intubación endotraqueal o traqueotomía y se manifiesta clínicamente 1 a 2 años después del procedimiento. Las manifestaciones clínicas son disnea inspiratoria, respiración ruda con estridor traqueal, tiros intercostales, taquipnea, retención de secreciones y neumonías. Si dichas lesiones producen obstrucción total puede conducir a la asfixia, por lo que su diagnóstico y tratamiento es urgente (Corona Mancebo SB 2003; Rocabado JL, 2007; Delgado Pecellín JP, 2008; Fernández Vaquero MA, 2009).

El proceso obstructivo genera una insuficiencia respiratoria con la sintomatología mostrada en el siguiente cuadro (Cuadro 1).

Cuadro 1. Manifestaciones clínicas de insuficiencia respiratoria.

Manifestaciones clínicas relacionadas con la insuficiencia respiratoria	
Alteraciones mentales	Somnolencia o excitación
Aumento del trabajo respiratorio	Aleteo nasal, Tiro intercostal, supraesternal, supraclavicular Uso de los músculos respiratorios accesorios Taquipnea Respiración paradójica no sincrónica
Cianosis	Membranas mucosas (cavidad oral, lengua) Lechos ungueales.
Estrés	Diaforesis Taquicardia Hipertensión

(Casas Quiroga IC, 2008)

2.2.4 Diagnóstico

Manifestaciones Clínicas

Se basa en las manifestaciones clínicas valorando los signos y síntomas que indican obstrucción de la vía aérea e insuficiencia respiratoria corroborando con estudios de imagen como radiografía, tomografía axial computada o TC helicoidal con reconstrucción 3D. La espirometría permite medir el flujo/volumen para poner en evidencia la obstrucción y es importante realizar una exploración con videofibrobroncoscopio para visualizar el tamaño, tipo

y sitio de la estenosis (Cabezalí Barbancho D, 2007).

Las manifestaciones clínicas que indican obstrucción de la vía aérea son la disnea inspiratoria, respiración ruda con estridor traqueal, tiros intercostales, taquipnea, tos, retención de secreciones y neumonías. Dicha sintomatología puede confundirse frecuentemente con cuadros asmáticos o con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Hyo Yeong A, 2015).

La disnea es un síntoma subjetivo, con sensación de dificultad para respirar, falta de aire o ahogo de intensidad variable. Se genera ante el desequilibrio entre el impulso motor central y la respuesta mecánica obtenida del sistema respiratorio de ventilación, resultando en un sensación de esfuerzo ventilatorio que se intensifica cuando aumenta el impulso central o demanda ventilatoria, la carga muscular (impedimentos mecánicos a la contracción) o la relación entre la presión ejercida por los músculos y su capacidad máxima para generar presión (P/Pmáx) (American Thoracic Society, 1999; Scano G, 2002).

Durante el ejercicio se incrementan las demandas ventilatorias y con ella la intensidad de la disnea, en caso de estenosis se incrementa la resistencia de la vía aérea y el impulso central. La intensidad de la disnea se puede clasificar según la escala de Taussig en leve moderada o severa (Cuadro 2).

Cuadro 2. Escala de Taussig.

	0	1	2	3
Estridor	No	Leve	Moderada	Severo
Tiraje	No	Leve	Moderada	Severo
Ventilación a la auscultación	Normal	Poco disminuida	Moderada disminución	Marcada disminución
Coloración de la piel	Normal	Normal	Subcianosis	Cianosis
Nivel de conciencia	Normal	Irritable al explorarlo	Ansioso	Depresión del sensorio

La escala de Taussig clasifica la intensidad de la disnea como, crisis leve con 6 puntos o menos, con 7 a 8 puntos crisis moderada, con 9 o más puntos crisis severa.

Neumonías recurrente

La presencia de dos o más episodios de neumonía en un año o más de tres neumonías en cualquier tiempo y debe haber normalización radiológica entre los episodios. Es una neumonía que aparece en la misma localización radiológica debido a la obstrucción y son infecciosas con presencia de fiebre, mal estado general (Andrés Martín A, 2017).

Espirometría

Es la principal prueba de función pulmonar necesaria en las enfermedades respiratorias, se recomienda en personas con algún síntoma respiratorio, se tolera bien, existen pocas limitaciones para su realización, sin embargo existen contraindicaciones absolutas y relativas cuando existen otras comorbilidades que hay que tener en cuenta. Debe realizarse sin la utilización de broncodilatadores, la estenosis produce aumento de la resistencia de la vía aérea con disminución del flujo en la espiración, dependiendo de la severidad se pueden encontrar signos de atrapamiento de aire, por aumento del volumen residual (VR), de la capacidad pulmonar total (CPT), del volumen de gas intratorácico (VGIT) y de las relaciones VR/CPT y VGIT/CPT. Cuando hay atrapamiento de aire importante (aumento de VR, CPT, VGIT) puede encontrarse en la espirometría o en la curva de flujo / volumen, disminución de la capacidad vital (CV).

La obstrucción desvía la curva presión volumen a la izquierda reflejando los cambios de volumen que se requieren para generar cambios grandes de presión por la distensibilidad disminuida (García Río F, 2013).

Gasometría

Permite interpretar el estado metabólico y/o respiratorio del intercambio gaseoso (oxigenación, ventilación y equilibrio ácido-básico) de sangre arterial, para analizar la necesidad de oxígeno

suplementario o ventilación no invasiva en caso de insuficiencia respiratoria.

La gasometría mide los gases disueltos en la sangre, cuantificando pH, presión parcial de dióxido de carbono ($p\text{CO}_2$), presión parcial de oxígeno (PaO_2) saturación arterial de oxígeno (SaO_2) bicarbonato sérico (HCO_3^-), lactato y electrolitos séricos como sodio (Na), potasio (K) y cloro (Cl).

Cuando se habla de insuficiencia respiratoria es un concepto gasométrico, en el caso de estenosis traqueal se interfiere con el intercambio gaseoso por falta de volumen corriente debido a la resistencia aumentando la frecuencia respiratoria en forma compensatoria, la primera alteración es la hipercapnia seguida de hipoxemia, puede ser aguda o crónica, con las manifestaciones clínicas (Cuadro 2).

La insuficiencia respiratoria se define como una hipoxemia arterial (PaO_2 entre 60 y 80 mmHg), en reposo, a nivel del mar y respirando aire ambiental, acompañado o no de hipercapnia (PaCO_2 mayor de 45 mmHg).

La pulsoximetría se basa en las características espectrofotométricas de la hemoglobina según su estado y las diferencias de absorción de luz de diversas longitudes de onda, es el método para valorar la hipoxemia, detecta precozmente la hipoventilación durante el postoperatorio inmediato en pacientes que se encuentran respirando espontáneamente sin oxígeno suplementario

Cuando los valores de saturación de oxígeno con pulsometría son de 90% a 95% estos equivalen a una PaO_2 de 60 a 80 mmHg indicando hipoxemia y si es de 90% equivale a una PaO_2 de 60 mmHg reflejando insuficiencia respiratoria (Vázquez-García JC, 2000; Halstead D, 2001; Davis MD, 2013).

La videofibroendoscopia

Utilizando el endoscopio rígido y flexible bajo anestesia general permite visualizar y clasificar la estenosis de acuerdo a su morfología, longitud, número, localización y su asociación con

acalacia (Cuadro 3). Deben valorarse las cuerdas vocales (móviles o paralíticas), si existen úlceras, granulomas o cicatrices en la comisura posterior y si existe luxación de aritenoides en la luz glótica o faldones mucosos. Esta evaluación permite decidir el tratamiento adecuado que puede realizarse en el mismo evento quirúrgico dilatando y permeabilizando la vía aérea, con la aspiración de las secreciones (Bocca Ruiz X, 2010).

Cuadro 3. Clasificación de la estenosis traqueal

Tipo de estenosis	Morfología	Longitud	Número	Localización
Tipo I	Granulomatosa o diafragmática que no destruyen la pared traqueal	<1 cm	Únicas	Variable
Tipo II	Difusa Lesión en cuello de botella con destrucción de anillos traqueales con hundimiento de la pared	< 3 cm compromete varios anillos	Únicas	Variable o cartílago cricoides
Tipo III	Difusa Traqueomalacia Fístulas	> 3 cm más de 6 anillos traqueales	Múltiples	Variable

Clasificación de las estenosis traqueales según Rocabado (Rocabado JL, 2007).

Los estudios de imagen con TAC helicoidal, reconstrucción 3D permiten clasificar la estenosis traqueal (Cuadro 3), evaluando la extensión y localización de la estenosis, longitud de la tráquea sana y estudiar la relación con los órganos vecinos. Se pueden identificar los engrosamientos o adelgazamientos de la pared traqueal, fibrosis de la submucosa o destrucción de anillos traqueales, pueden mostrar calcificaciones, y demostrar el estado de aritenoides y cricoides, con la finalidad de tomar decisiones en el tratamiento (Godoy M, 2014).

2.2.5 Tratamiento

La elección del procedimiento para tratar la obstrucción depende del tipo, forma, número, tamaño, extensión, localización y grado de estenosis. El tratamiento definitivo consiste en la resección traqueal con anastomosis termino-terminal siempre y cuando la estenosis abarque menos de 6 cm de extensión, el fracaso de este tratamiento se ha reportado en un 5 a 15% de los casos, y la mortalidad es del 1,8 a 5% (Tarrazona V, 1988; Grillo HC, 1992).

La primera resección traqueal la realizó Kuester en 1884 y el primer trabajo reportado en América fue por Fairchail y se presentó en la Sociedad de Cirugía de Norteamérica en 1927. Bhatia y Andrews, han sido los precursores del conocimiento patogénico de esta afección y su tratamiento (Andrews MJ, 1971; Blank VF, 1974; Fairchild M, 1985; Peña García JF, 1994; Bhatia G, 2012).

Cuando la longitud de la estenosis, la presencia de malacia, y las comorbilidades (cardiológicas, respiratorias, neurológicas), impiden la cirugía, se indican terapias paliativas con laser, dilataciones neumáticas periódicas o colocación de endoprótesis, estos procedimientos son agresivos y repetitivos que contribuyen a extender el área afectada, no ayudan y pueden complicar una reparación quirúrgica (Sheski FD 1998; Bricchet A, 1999; Corona Mancebo SB, 2000; Ashiku SK, 2004).

Estas terapias se realizan con intervenciones endobronquiales endoscópicas con broncoscopio rígido, que aporta el apoyo ventilatorio y un acceso estable a la vía aérea al introducir el broncoscopio flexible y aplicar ya sea terapias térmicas con el electrocauterio, coagulación con plasma de argón o laser y terapias mecánicas como la traqueoplastia, dilatación neumática o colocación de endoprótesis. Estos tratamientos paliativos se pueden combinar, como la resección endoscópica y vaporización por ablación térmica de tejido de granulación o cicatriz obstructiva y tener una vía de mínima resistencia para realizar dilataciones.

Cuando hay una contra indicación a la cirugía y en una estenosis idiopática tipo membrana de localización subglótica o es proximal se introduce por fibroendoscopia un balón para dilatar la

estenosis, con balones graduados que se inflan por encima del quintuple de la presión atmosférica, se pueden realizar periódicamente, y tienen baja morbimortalidad.

El láser de Neodimio, Yitrio, Aluminio Granate (Nd:YAG) vaporiza el tejido y penetra profundamente porque es mal absorbido por el agua y la hemoglobina, con el riesgo de perforación, incendio o lesión que causa obstrucción permanente, no está indicado en traqueomalacia (García Estrada I, 2012).

El electrocauterio (diatermia), utiliza el flujo de electrones a través del tejido generando calor y debido a la alta resistencia dentro del tejido puede tratar y extirpar pólipos y granulomas evitando la vaporización sin peligro de incendio, la profundidad de la penetración de la lesión térmica depende del tiempo de contacto con el tejido. La coagulación con plasma de argón utiliza este gas ionizado para llevar los electrones al tejido, es el mismo tratamiento que el anterior pero sin contacto, el gas fluye libremente viajando no linealmente hasta la diana y los tejidos aumentan su resistencia a medida que se coagulan lo que redirige el haz de argón a tejidos adyacentes y es apropiado para lesiones muy superficiales (Bollinger C, 2006.)

Las formas más complejas como cicatriz asimétrica, más densa, con malacia o más larga y que tienden a la reestenosis no se resuelven con estos métodos ya que pueden complicarse con rotura de la vía aérea (Sheski FD, 1998, Mayse ML, 2004).

La rotura se produce debido a que la parte membranosa es el punto de mínima resistencia. En estos casos sobre todo en presencia de malacia está indicada la colocación de endoprótesis, que sostienen las estructuras pero provocan complicaciones relacionadas con su migración, (con oclusión y asfixia), impactación mucosa, formación de tejido de granulación o reacción de cuerpo extraño. Se pueden desplegar como tratamiento primario en malacias o como adyuvante después de una ablación, los más adecuados son las endoprótesis de silicona.

Endoprótesis

Son útiles para mantener la vía aérea permeable como una medida paliativa y mejorar su calidad de vida las más utilizadas son de silicona, prótesis de Dumon y tubo en T de

Montgomery también existen prótesis metálicas fenestradas de Gianturco, tipo Wall-Stent, Ultraflex o Poliflex.

El uso de endoprótesis traqueales está ampliamente extendido para tratar estenosis malignas, y su uso es más controvertido en las estenosis benignas. Las de silicona requieren broncoscopia rígida y anestesia general para su inserción y se debe medir la vía aérea con TAC 3D para elegir su tamaño. La administración de corticoesteroides es importante para inhibir el broncoespasmo y los mucolíticos por nebulización facilitan la expectoración de las secreciones para evitar su retención y la sobreinfección. Las endoprótesis metálicas se pueden introducir con relativa facilidad a través del canal de trabajo con el broncoscopio flexible y luego expandirse hasta alcanzar el diámetro requerido, sin embargo, tienen problemas de migración, fractura por fatiga de los materiales, producción de granulomas y encapsulamiento por fibrosis que impide su retiro, para evitar sus complicaciones se han cubierto de polímeros, como las recuperables construidas con doble malla de nitinol son una alternativa terapéutica en lesiones benignas traqueales ya que les permite permanecer en árbol traqueobronquial por varios meses y recuperarse con fibrobroncoscopio rígido, se han descrito lesiones epiteliales en los extremos proximal y distal e importantes trastornos en el transporte ciliar (Dumon F.A. 1990; Murthy SC 2004; Schweinfurth JM, 2006; Rampey AM, 2007; Serrano C, 2013; Chen G, 2013; Zhou GW, 2015).

La traqueostomía se puede colocar por debajo de la estenosis como una urgencia, pero suele agravar y dificultar la solución quirúrgica posterior, aún colocándola un experto. Si es permanente tiene múltiples complicaciones como las infecciones, fonación y socialización.

La solución de las estenosis traqueal consiste en reseca la zona afectada o evitar la obstrucción de la luz, sin embargo los buenos resultados dependen de un diagnóstico correcto, precoz para una preparación quirúrgica y realizando una cirugía impecable, con seguimiento adecuado del postoperatorio. Los tratamientos paliativos pueden en ocasiones resolver la obstrucción pero en la mayoría de los casos presentan altos índices de morbimortalidad. En estos casos sería útil el trasplante para sustituir la porción afectada y restituir la función del órgano (Delaere PR, 2012).

Tratamiento médico

El tratamiento médico en los pacientes con estenosis traqueal, es multidisciplinario, ya que se basa en mejorar las condiciones generales del paciente tratando las comorbilidades antes de ser sometido a cirugía y mejorar la permeabilidad de la vía aérea. Sobre todo está enfocado en tratar la insuficiencia respiratoria con el aporte adicional de oxígeno, administrado por medio de diferentes dispositivos como cánula nasal o mascarillas, la efectividad de cada uno está determinado por su capacidad de proveer la cantidad de oxígeno requerido de acuerdo al patrón respiratorio (gasometría y pulsoximetría) y lograr la saturación de oxígeno por encima de 93%, manteniendo el bienestar cardiovascular y mental. También se puede utilizar la ventilación mecánica no invasiva con presión positiva con máscara (CPAP) en insuficiencia respiratoria reduce el trabajo y la fatiga respiratoria por incremento del volumen corriente, tiene sus indicaciones y contraindicaciones muy definidas (Moretti M, 2000; Snow V, 2001).

La utilización de corticoesteroides es controvertido, ya que son útiles para disminuir el proceso inflamatorio, pero después de realizar la cirugía terapéutica pueden retrasar el proceso de cicatrización. Es importante prevenir infecciones y facilitar la expectoración de las secreciones por medio de antibióticos y nebulizaciones (Branson R, 2004; Fu E, 2004).

Tratamiento quirúrgico

Resección traqueal con anastomosis termino terminal

Se administra anestesia general, y premedicacion sin deprimir la ventilación, intubando con cánula adecuada (5 o 6) si el paciente tiene traqueostomía se cambia la cánula por un flexmetálico. La vía de abordaje quirúrgico puede ser cervical para acceder a laringe y tráquea cérvico-torácica o abordaje cervical con esternotomía parcial para tráquea torácica baja y toracotomía derecha para las estenosis en carina traqueal.

Se localiza la estenosis y se libera la tráquea cerca de la pared para evitar lesionar los nervios recurrentes. Se continúa con la sección de la tráquea por debajo de la estenosis con intubación para mantener la ventilación con jet y posteriormente con la sección de la tráquea por arriba de

la estenosis y aproximación de los extremos con sutura reabsorbible, y sutura continua en la pars membranosa y con puntos sueltos en el resto. Cuando se anudan los puntos de la cara anterior se flexiona la cabeza del paciente para disminuir la tensión de la sutura. Se protege la línea de sutura sobreponiendo la tiroides y/o el timo, se pueden colocar drenajes Redon o Blake (Finlayson G 2009; Slinger PD, 2010).

En el pos-operatorio se deben administrar antiinflamatorios esteroideos para evitar el edema, los analgésicos para disminuir el dolor, y para reducir la posibilidad de broncoaspiración se recomienda alimentación por sonda nasogástrica por 8 o 10 días. Se debe favorecer la eliminación de las secreciones con nebulizaciones y disminuir la tensión excesiva en la sutura traqueal con flexión cervical durante 7-15 días. Los antibióticos se deja bajo el criterio del cirujano, no se aconseja realizar fibrobronoscopias, a menos que se produzcan atelectasias o sospecha de dehiscencia de la sutura y como control al mes de la intervención.

Las complicaciones más frecuentes se exponen en el siguiente cuadro, sus causas, síntomas y tratamiento. La mortalidad se presenta entre un 2,4 - 4,5%, la principal causa es la dehiscencia de la sutura y las mediastinitis con o sin fístula traqueoarterial y otras complicaciones generales (Cuadro 4).

Cuadro 4. Complicaciones del tratamiento quirúrgico

Complicación	Etiología	Síntomas	Tratamiento
Edema en la sutura, edema subglótico	Trauma quirúrgico	Disnea	Corticoterapia Intubación temporal
Granulomas	Trauma quirúrgico Reacción a la sutura Hipoperfusión sanguínea	Disnea	Extirpación de los puntos Terapia laser Dilatación
Dehiscencias	Infección Tensión de la sutura	Estridor y enfisema cérvico mediastínico	Antibioticoterapia Cirugía urgente

Fistula traqueo-arterial (tronco braquiocefálico)	Dehiscencia pequeña e infección	Espustos hemoptoicos y hemoptisis masiva	Antibioticoterapia Insuflación con balón Cirugía
Reestenosis	Necrosis inflamación, infección, tensión, en la sutura, dehiscencia	Disnea, estridor	Antibioticoterapia Terapia laser Dilatación Cirugía
Disfunciones Laríngeas	Parálisis del recurrente uni o bilateral, temporal o permanente Broncoaspiración Aplastamiento laríngeo y luxación de aritenoides	Disfonía Tos	Intubación, Traqueostomía temporal Tubo en T Alimentación SNG Intubación Nasotraqueal

2.3 Trasplante de tráquea

El tratamiento definitivo en estenosis traqueal extensa es el reemplazo del segmento afectado o trasplante de tráquea, el trasplante alogénico no ha tenido éxito (Boglione et al., 1997), debido a que repetidamente se ha trasplantado en forma convencional como si fuera un órgano único y avascular, lo cual ha llevado inevitablemente a la necrosis del tejido injertado (Delaere, 2010), aún con el uso de promotores del crecimiento y de la vascularización (Olmos et al., 2006). El trasplante de tráquea debe ser considerado un trasplante de tejido compuesto, con reparación de tejidos complejos, lo cual implica reparar la irrigación sanguínea y el manejo de inmunosupresores (Delaere, 2010). Aún considerando lo anterior, la revascularización de la tráquea envuelta en tejido vascularizado no es posible debido a la movilidad permanente del órgano y la exposición directa de la vía aérea al medio ambiente (Salmeron et al., 1998).

Se demostró, que la única forma de lograr revascularización de la tráquea es colocándola inmersa en un tejido vascularizado inmóvil de un huésped adecuadamente inmunosuprimido (Genden et al., 2002). Esto implica tomar una tráquea de donante alógrafa, implantarla en la fascia del antebrazo de receptor previamente inmunosuprimido, implantar células de la lengua en forma periódica en la mucosa de la porción de tráquea implantada, y cuatro meses después se traslada el injerto a la región cervical. De esta manera el procedimiento descrito por Deleare es muy complicado e implica un largo período de tiempo con consecuencias en el pronóstico (Deleare, 2010).

Recientemente se ha logrado el trasplante de tráquea por medio de la ingeniería de tejidos, utilizando tráquea de donante descelularizada y células madre del receptor. Este procedimiento ha revolucionado los conceptos existentes, aportando una opción viable en el tratamiento de la estenosis traqueal extensa (Birchall et al., 2008).

Se han implementado tecnologías en ingeniería de tejidos que ya han generado replazos de distintos órganos (Schenke-Layland et al., 2011) y tejidos, por medio de las cuales se obtienen matrices biológicas o artificiales para ser utilizadas como andamiaje para crecimiento y revestimiento de células madre del receptor (Atala et al., 2006). La ingeniería de tejidos debe conservar las características originales anatómicas y funcionales de los órganos generados en caso de la tráquea debe ser rígida en sus paredes laterales, flexible (Neville et al., 1990), también tiene que ser hermética y que no colapse durante los cambios de presión ejercidos durante la ventilación y que cuente con su epitelio ciliado.

En la década de los 90 se usaron materiales sintéticos poliméricos o de hidrogel para crear cartílago, con malos resultados preclínicos ya que inducen una potente respuesta inflamatoria (Britt et al., 1998). Se implantó una estructura compuesta de un stent tubular de silicio envuelto con un injerto epitelial obtenido de la mucosa interna de la oreja, una malla de polipropileno para sustituir el cartílago traqueal y fascia torácica lateral como suministro vascular con buenos resultados en las primeras 2 semanas, sin embargo, se presentaron complicaciones a largo plazo con el desarrollo de estenosis, crecimiento de glándulas, y la acumulación de secreciones mucosas debido a la falta de función mucociliar (Okumus et al., 2005). Se ha propuesto

(Kanzaki et al.,2006).

2.3.1 Trasplante en México

En estos momentos en México diversos centros hospitalarios son capaces de tratar la estenosis traqueal con resección y anastomosis con mucho éxito pero aun así la extensión y densidad poblacional requiere que se atienda esta patología en otras regiones del país. A pesar del desarrollo en estos hospitales la estenosis traqueal extensa sigue sin solución y no existen evidencias en los últimos años del desarrollo de las nuevas tecnologías en ingeniería de tejido para generar injertos viables para trasplante en esta patología de las vías respiratorias, probablemente este silencio se debe a la implementación de esta tecnología en estudios experimentales en el área, para posteriormente pasar a su aplicación clínica (Garrido-Cardona RE, 2015).

En el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de Nutrición Salvador Zubirán los Doctores Jaime Villalba y Patricio Santillán Doherty junto con los investigadores Rogelio Jasso Victoria, J. Raúl Olmos (Olmos et al., 2004) Zúñiga, J. Alfredo Santibáñez Salgado, Avelina Sotres Vega, (Sotres et al., 2006) Miguel Gaxiola Gaxiola y Matilde Baltazares Lipp, han formado un equipo y han realizado contribuciones en la promoción de la cicatrización con el uso de moduladores para la cicatrización, y preservación de injertos en trasplante traqueal (Olmos et al., 2007).

2.3.2 Tipos de injertos

Autoinjertos

Son los injertos obtenidos del mismo individuo colocándolo en el mismo sitio o implantándolos en otro sitio o nicho.

En trasplante traqueal se han utilizado tejidos autólogos, como sustitutos pero la complicación más común es la recidiva de la estenosis. Con injertos de cartílago de las costillas y parche pericárdico no se ha logrado restaurar la tráquea funcional estable (Jacobs JR. 1988; Birchall

M, 2008).

Otros injertos se han construido con tejidos como colgajos miocutáneos en el que se insertaron cuatro eslingas de condrocárilago cada 2 cm subdérmicamente, este colgajo se colocó alrededor de una prótesis traqueal de silicona en forma de Y (Novatech), sustituyendo un segmento reseado de 12 cm. se colocó una traqueotomía en la unión entre la tráquea nativa y la nueva tráquea y la endoprótesis se eliminó al día nueve. La aspiración del árbol traqueobronquial fue necesaria durante seis semanas para prevenir la obstrucción bronquial y la neumonía debido a la descamación de la piel y la falta de aclaramiento endoluminal. La traqueotomía se mantuvo por dos años. Se formó una estenosis en la unión entre el colgajo y la tráquea nativa requiriendo la extracción del primer anillo de cárilago traqueal con reanastomosis, el paciente no ha necesitado endoprotesis, inmunosupresión o traqueotomía, pero si es indispensable la fisioterapia debido a la falta del revestimiento luminal y la resistencia de los anillos de cárilago (Brichet A, 1999; Acosta L, 2004; Grillo HC, 2009; Leboulanger N, 2018).

Aloinjertos

Son los órganos, tejidos, células obtenidos de un individuo genéticamente diferente pero de la misma especie. Es importante en estos casos la compatibilidad del grupo sanguíneo y de las moléculas HLA, debido a que no pueden ser iguales al 100 %, en estos caso es indispensable la terapia inmunosupresora.

La antigenicidad de los injertos traqueales no está clara se han realizado trasplantes alogénicos histocompatibles sin inmunosupresores con cierto éxito (Liu Y, 2001).

Otros investigadores reportan en trasplantes alogénicos poco éxito en injertos de nueve anillos traqueales con el desarrollo de inflamación, estenosis, vasculitis, necrosis, fistulas, hemorragia y destrucción del cárilago con insuficiencia respiratoria y la muerte del animal (Kushibe K,2001; Olmos JR, 2006).

Materiales sintéticos

Se ha intentado el reemplazo del segmento traqueal con múltiples materiales sintéticos pero inducen infección, extrusión o estenosis.

Se utilizó un stent tubular de silicio revestido en la porción interna con mucosa de la oreja, y la superficie externa envuelta con una malla de polipropileno para sustituir el cartílago traqueal, cubierto con fascia torácica lateral como suministro vascular, con buena evolución durante las primeras semanas, presentándose complicaciones a largo plazo por el desarrollo de estenosis, crecimiento de glándulas, y la acumulación de secreciones debido a la falta de función mucociliar (Okumus et al., 2005). Con la finalidad de reestructurar el epitelio traqueal se han implantado sobre mallas artificiales células de epitelio respiratorio de conejos, logrando su proliferación en las zonas cercanas a la sutura de anastomosis, pero no en la parte central del injerto (Kanzaki et al., 2006).

Injertos generados por bioingeniería

La bioingeniería genera injertos funcionales de distintos órganos y tejidos sin respuesta inmunológica, utilizando matrices biológicas o artificiales que funcionan como estructura o andamio para el crecimiento de células del receptor, en trasplantes (Atala et al., 2006; Schenke-Layland et al., 2011). Los injertos producidos deben preservar las características anatómicas y fisiológicas de los órganos nativos. En el caso del injerto traqueal este debe conservar su rigidez en las paredes laterales y ser flexible longitudinalmente para no colapsar durante la ventilación, debe ser hermético y contar en el lumen con un epitelio cilíndrico ciliado pseudoestratificado. Los materiales utilizados deben ser biocompatibles, no tóxicos, no antigénicos y sus características estructurales han de evitar la colonización bacteriana y facilitar su implantación quirúrgica (Neville et al., 1990; Barrera-Ramírez E, 2016).

Las matrices son una red tridimensional con porosidad y microambiente adecuado para permitir la implantación, adhesión, crecimiento y diferenciación de las células del receptor para su regeneración. Pueden ser biológicas de un donador de la misma especie (matrices alogénicas), de un donador de diferente especie (matrices xenogénicas), sintéticas o combinadas (Conconi MT, 2005).

Las matrices biológicas son obtenidas de un tejido traqueal donado, eliminando las células para no desencadenar una respuesta inmune y de rechazo, debido a que la descelularización no es completa se puede montar el rechazo en algunos casos (Bayrak A, 2010; Badylak SF, 2012).

Durante el proceso de eliminación celular se pueden dañar las estructuras de colágena, las fibras elásticas, los proteoglicanos y glucosaminoglicanos perdiendo sus características de resistencia y rigidez (Schenke-Layland K 2003; Baiguera S, 2010; Schaefer L, 2010; Hinderer S, 2012).

Los injertos deben esterilizarse antes de implantarse y preservarse en congelación teniendo en consideración el deterioro de su estructura por la proteólisis activada a 4⁰C. Las matrices son regeneradas en biorreactores, como dispositivos necesarios para la interacción con células y moléculas, en las condiciones ideales, controlables y reproducibles. Es uno de los factores determinantes en la distribución de las células en el andamio, el suministro de nutrientes y la eliminación de productos de excreción. También provee de fuerzas de tensión que contribuyen en el desarrollo y diferenciación del tejido (epitelio y función ciliar), angiogénesis y actividad metabólica. El éxito en la regeneración o acondicionamiento depende de los tipos de células utilizadas, las condiciones en el biorreactor y las propiedades de la matriz. Las células madre de médula ósea, sangre periférica y tejido graso son las más útiles en estos procesos ya que tienen una gran capacidad de diferenciación. Los condrocitos para regenerar el cartílago se obtienen del cartílago auricular, costal, del tabique nasal, hueso y articulaciones. Para la regeneración de las células epiteliales de las vías respiratorias se obtienen células de la mucosa traqueal o nasal, ya que es indispensable como barrera física para evitar la proliferación bacteriana y mantener las funciones metabólicas y reguladoras de la vía respiratoria, ya se ha logrado construir injertos traqueales por medio de esta tecnología (Vacanti CA, 1994; Walles T, 2004; Pfenninger C, 2007; Go T, 2010).

Se han realizado injertos con matrices que nos son traqueales como segmentos de yeyuno porcino descelularizados y sembrados con células musculares y fibroblastos humanos para reemplazar el tejido conectivo con ausencia de rechazo (Jungebluth P, 2009). También se han utilizado matrices de aorta y endoprótesis hasta su regeneración (Martinod E, 2018).

Las matrices sintéticas construidas con diferentes biomateriales como polímeros o hidrogeles se han utilizado para crear cartílago, con malos resultados preclínicos ya que inducen una potente respuesta inflamatoria (Britt et al., 1998). Frente a estos inconvenientes se han propuesto materiales alternativos como polipropileno monofilamentoso reforzado con Dacron (polímeros sensibles a la temperatura) que facilitan la adherencia de las células epiteliales a la luz del injerto traqueal (Kanzaki M, 2006).

Las matrices biológicas frente a las sintéticas tienen amplias ventajas como su composición anatómica natural, no liberan productos tóxicos, y desempeñan un papel activo en la función de la proliferación, migración y diferenciación celular (Kim BS, 2000; Schmidt CE, 2000).

Actualmente se fusionan matrices biológicas con materiales sintéticos (biopolímero de poly- ϵ -caprolactona) para fortalecer los injertos, sembradas con células madre autólogas, aplicando factor transformador del crecimiento β para generar injertos y tratar estenosis traqueal congénita realizando un seguimiento clínico durante dos años sin complicaciones (Sato T, 2008; Elliott MJ, 2012).

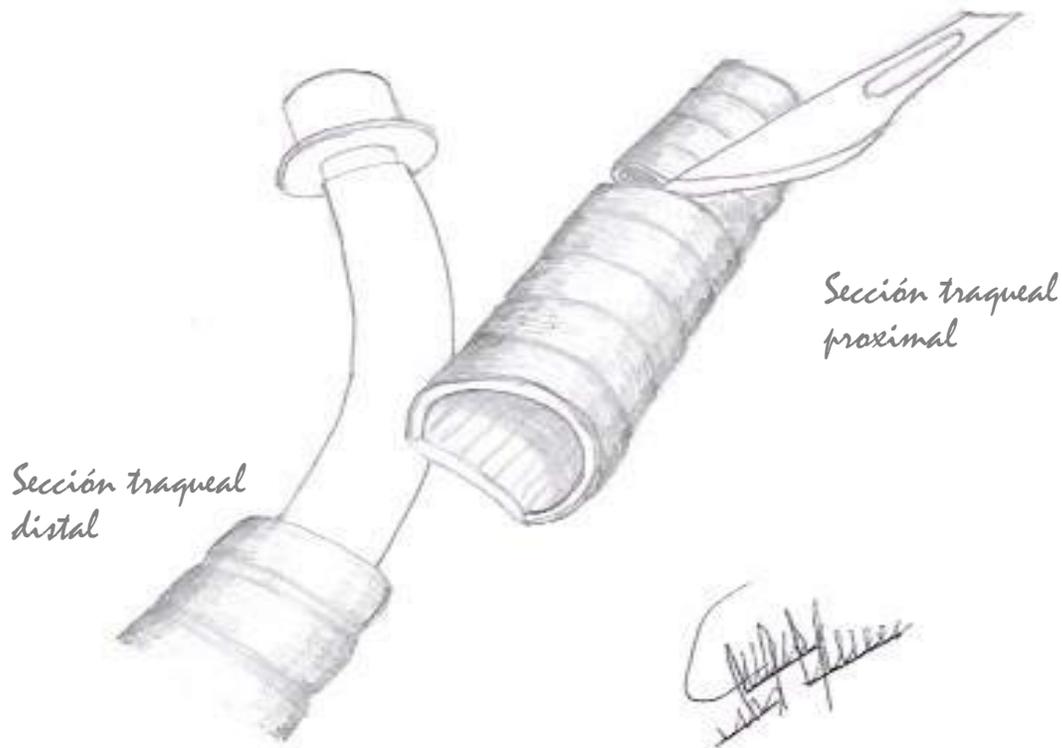
2.3.3 Técnica quirúrgica del trasplante de tráquea

Se administra anestesia general previa premedicación con el objetivo de permeabilizar la vía aérea, interfiriendo lo menos posible con la actividad quirúrgica. Dependiendo del grado de estenosis se pueden utilizar varias técnicas, como la intubación por encima de la estenosis con ventilación jet de baja frecuencia, la intubación retrógrada a nivel del cartílago cricotiroido o la cricotiroidotomía percutánea por dilatación. Si la vía aérea aun es permeable se intuba a través del estoma introduciendo el fibrobroncoscopio para pasar una guía metálica atraumática de 0.98 mm, por la obstrucción traqueal (funciona como conductor para intercambiar posteriormente los tubos) colocando un tubo orotraqueal 6.0 hasta el segmento distal por encima de la carina.

Se realiza la resección del segmento traqueal con estenosis, se retira el tubo orotraqueal hasta las cuerdas vocales, se coloca un tubo orotraqueal 5.0 con balón de 30 cm a través del injerto

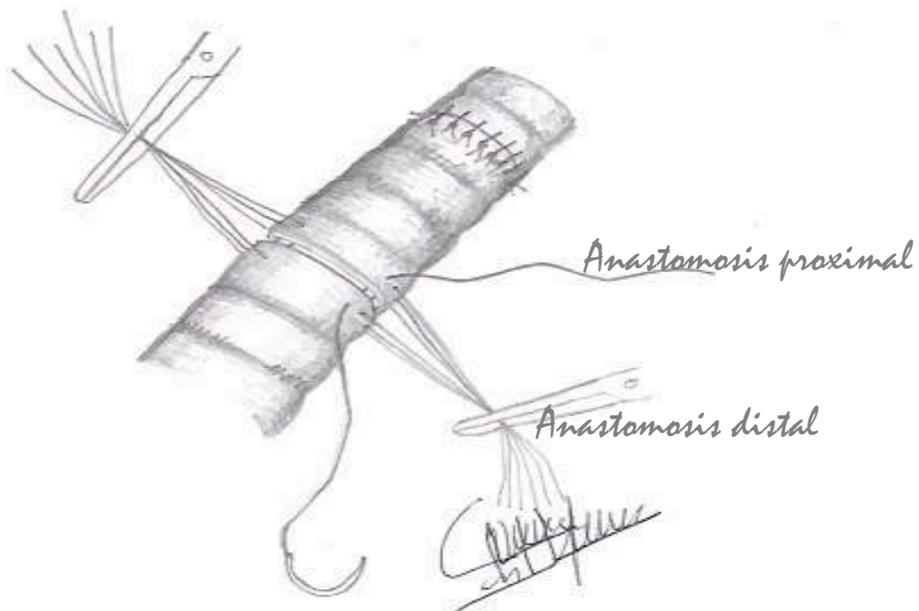
donado y se intuba el segmento traqueal distal para ventilación y para su anastomosis junto con los troncos arteriales y venosos de cuello y tórax (Figura 3). Se continúa con la sutura del segmento proximal de la tráquea, avanzando el tubo orotraqueal que estaba en las cuerdas vocales al segmento trasplantado con cuidado de no lesionar la sutura distal, habiendo retirado el anterior (Figura 4).

Figura 3. Resección traqueal



El esquema muestra la resección del segmento traqueal afectado y la colocación del tubo orotraqueal para conservar la ventilación.

Figura 4. Implantación de injerto y sutura de anastomosis proximal y distal



El esquema muestra la sutura proximal con puntos separados del injerto traqueal y las suturas de referencia que indican los extremos para realizar la anastomosis distal del injerto.

Al finalizar se procede a la extubación en quirófano el paciente debe respirar espontáneamente, por el riesgo de isquemia y reestenosis de la tráquea trasplantada, cumpliendo con los criterios de extubación (Cuadro 5), evaluando los gases arteriales, volumen corriente, frecuencia respiratoria y presiones en la vía aérea. Se deja un intercambiador de tubos o guía metálica en la vía aérea, para facilitar su permeabilización en caso de ser necesario en el posoperatorio retirándose después de 24 horas (Ihra G, 2000; Mentzelpoulos SD, 2002).

Cuadro 5. Criterios de Extubación

Criterios de extubación	
Estabilidad hemodinámica	PAM mayor de 70 mmHg FC menor de 100 latidos/min (sin vasopresores)
Paciente consciente	Evitar la broncoaspiración
Frecuencia respiratoria	< 20/min
Gases arteriales	PIP >15 cmH ₂ O PEEP < 5 cmH ₂ O
Fuga aérea	Fibroscopia ausencia de edema y fuga

(Rivera EG, 2006)

Se debe pasar al paciente a terapia intensiva, es importante vigilar los líquidos para no generar edema y obstrucción de la vía aérea y la integridad de la sutura (Hautmann H, 2000; Brodsky JB, 2001).

La revascularización

La revascularización del injerto traqueal es un elemento indispensable para el éxito de la cirugía ya que cuando no es adecuada promueve la reestenosis y se puede utilizar la manera directa e indirecta (Nakanishi R, 1993; Delaere PR, 1995).

En la vascularidad del injerto traqueal de manera directa la arteria tiroidea superior proporciona el 80% de la irrigación, nutre 13 anillos traqueales y es suficiente para la supervivencia del

tejido. La parte distal del injerto depende de la arteria subclavia, intercostal, mamaria interna y bronquiales (Khalil-Marzouk JF, 1993).

La irrigación de la tráquea es en segmentos penetrando los pequeños vasos entre los cartílagos por lo que una transferencia microvascular no es posible, para promover la irrigación de la tráquea trasplantada se puede recurrir a la forma indirecta (Hondt MD, 2016).

Por este motivo para mejorar la revascularización de manera indirecta en este trabajo se implementó el acondicionamiento del injerto, colocándolo en un lecho vascular como el epiplón del cerdo receptor para transferirlo sin manipular el suministro de sangre, mediante el crecimiento de capilares en la fascia del receptor que se unen con los de la adventicia del injerto (Yao ST 1982; Pribaz JJ. 1994).

En algunos casos se ha reportado un buen resultado en trasplantes realizados sin el suministro sanguíneo directo o indirecto y sin administrar terapia inmunosupresora (Yun L, 1993; Delaere P, 2016).

Se ha implementado una técnica quirúrgica llamada trasplante dividido de la tráquea dividiendo el injerto traqueal en su porción media, facilitando el crecimiento de los vasos sanguíneos sin presentar isquemia o estenosis después de 2 meses (Grillo HE, 1983; Yokomise H, 1996).

Para mejorar la irrigación del tejido en diversas patologías y en otros trasplantes, se promueve la vasodilatación, utilizando la administración de PGD E1. En trasplante de tráquea no hay reportes de su aplicación sin embargo en este trabajo se aplicará sobre la capa interna de uno de los injertos para mejorar la irrigación y mejorar la supervivencia de las células reduciendo su apoptosis (Zeng K, 2015; Bharathan VK 2016; Gezinci-Oktayoglu S, 2016; Maida K, 2016).

PGD E1

Las prostaglandinas son productos del ácido araquidónico (ácidos grasos esenciales de 20 carbonos), llamados eicosanoides que se sintetizan y liberan localmente con una vida media corta, no se almacenan, siempre se sintetizan de novo, y son degradados rápidamente en

hígado, pulmón o riñón. El ácido araquidónico se almacena formando parte de los fosfolípidos de la membrana celular y se obtienen de la dieta o derivan del metabolismo del ácido linoleico con muy pequeña concentración libre en la célula. Con estímulos físicos, químicos o mecánicos son metabolizados por la ciclooxigenasa, obteniendo prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina (prostanoides), por las lipoxigenasas, se producen leucotrienos y lipoxinas y la citocromo P-450, origina los productos de la vía epoxigenasa.

Las prostaglandinas de las series 1,2,3 difieren en la cantidad de las uniones dobles (3,4,5) en la cadena lateral de sus carbonos. En el ser humano predomina la serie 2. La 1 y 3 son importantes en animales marítimos, y son abundantes en esquimales, por el tipo de alimentación (Funds Dissemination Committee 1995, Frölich JC, 1997).

Existen isoformas de la enzima ciclooxigenasa, la 1 (COX-1), 2 (COX-2) y 3(COX-3). La COX-1 está presente en la mayoría de las células del organismo y media las funciones basales, como la citoprotección gástrica frente a irritantes exógenos y endógenos, su inhibición ocasiona daño de la mucosa. En cambio, la expresión de la COX-2 es inducida por citocinas, factores de crecimiento y otros producidos en procesos inflamatorios. Su síntesis puede inhibirse por glucocorticoides y antiinflamatorios no esteroideos (Goodman and Gilman's, 2012; Clark WG, 1993).

El catabolismo de las prostaglandinas por omegahidroxilación en tejido pulmonar es muy rápido y un solo paso basta para inactivar el 90% de una dosis exógena de PGE1, PGE2 o PGF2. La deshidrogenación en el riñón, pulmón y útero en C15 es el mecanismo fisiológico más rápido e importante en la inactivación de las prostaglandinas; en tanto, la PGI2 es la única que pasa por la circulación pulmonar sin inactivarse (Melmon KL, 1992).

Las poderosas acciones biológicas de las prostaglandinas (biológicas o sintéticas) son aprovechadas terapéuticamente en diversas patologías como citoprotectores gástricos, vasodilatadores y promotores de la constricción del musculo liso (dilatación del conducto arterial en el recién nacidos, inducción del parto, expulsión del feto muerto, inducción de aborto, circulación extracorpórea (derivación, diálisis, hemoperfusión) en isquemia de los

miembros inferiores y embolia pulmonar (Herschman HR. 1996; Fernández Duharte J, 2015).

La PGE1 favorece la vasodilatación prolongada y por tanto aumenta el flujo sanguíneo en la microcirculación, y potencia la acción de otros mediadores, como la bradicinina y serotonina, capaces de incrementar aún más la permeabilidad vascular y activar las terminaciones nerviosas (Rang HP, 1992).

La prostaglandina E1 o alprostadil (prostavasin) se utiliza para fines terapéuticos en las enfermedades oclusivas graves de las arterias periféricas. La dosis inicial ordinaria es de 50-100 ng/kg/min en infusión intravenosa (IV), y a continuación se reduce lo más posible la dosis, pero se mantienen los efectos deseados. Las reacciones adversas más frecuentes son rubor, apnea, hipotensión, bradicardias o taquicardias, fiebre y convulsiones. También se han descrito paros cardíacos, edema, diarrea, coagulación intravascular diseminada y trastornos motores de origen nervioso. Estos efectos desaparecen con rapidez al suspender el tratamiento. También es útil en la enfermedad de Raynaud con infusiones de 0,1 g/kg/min. (Pérez Hernández BG, 2002).

Reinervación

La reinervación del injerto traqueal implica múltiples dificultades, y se puede recuperar la sensibilidad logrando la inervación simpática y parasimpática que siguen a los grandes vasos recobrándose después de tres meses el tono en los pliegues del tejido.

La reinervación implica la reanastomosis de los nervios laríngeos recurrentes seccionados sitio donde se forma un neuroma con pérdida de fibras nerviosas y unidades motoras, incluso se produce una mala dirección de las fibras que se regeneran y aunque se recuperen parcialmente sus funciones, su actividad es disinérgica (Rose KG, 1979; Balderman SC, 1987).

Inmunosupresión

Se utilizan inmunosupresores, en trasplantes traqueales con injertos alogénicos para evitar el rechazo, principalmente el tacrolimus asociado a esteroides y micofenolato de mofetilo. En

algunos casos se utilizan anticuerpos monoclonales o policlonales (Khalil-Marzouk JF, 1993; Grillo HC, 1995).

Complicaciones

El rechazo del injerto en el trasplante traqueal puede generar un proceso inflamatorio mediado por la respuesta inmune, ocluyendo la vía aérea ameritando la intubación guiada por fibroendoscopia para conservar el flujo aéreo sin lesionar la suturas. La reestenosis es frecuente y es necesario mantener la vía aérea permeable por medio de la colocación de endoprotesis (Natalini G et al, 2000; Biro P et al., 2000; David I, et al., 2001).

La dehiscencia de las suturas hace casi imposible recuperar la vía aérea, la isquemia y necrosis también impide la sobrevivencia del injerto y es necesario realizar como medida de rescate la colocación de una traqueostomía permanente. El sangrado de las anastomosis arteriales de la arteria carótida, innominada y/o mamaria o de las venosas hace complicada la introducción del fibrobroncoscopio debido a que la sangre inunda el campo visual y el paciente entra en choque hipovolémico y paro cardiorrespiratorio requiriendo la reintervención quirúrgica inmediata. Otras situaciones que pueden complicar la evolución son las infecciones acumulación de secreciones y broncoespasmo (Grillo HC, 1990; Arroyave Páramo HD, 2008; Baiguera et al., 2010).

3. Metodología

3.1 Diseño de la investigación

Investigación experimental, correlacional

3.2 Descripción de los procedimientos metodológicos

Para realizar el trasplante se obtuvieron los injertos de tráqueas de cerdos sacrificados con otros propósitos. Las tráqueas se entregaron al laboratorio de ingeniería tisular así como células epiteliales de mucosa nasal para obtener los injertos y realizar los siguientes trasplantes sin inmunosupresión:

Trasplante 1: injerto alogénico descelularizado acondicionado (IAD)

Trasplante 2: injerto alogénico descelularizado acondicionado (IAD)

Trasplante 3: injerto alogénico nativo criopreservado acondicionado (IANC)

Trasplante 4: injerto alogénico descelularizado reforzado acondicionado (IADR)

Trasplante 5: injerto autólogo (IAUT)

El trasplante se realizó sin dañar a los animales cumpliendo con la norma NOM-0062-ZOO99 para su manejo, así como la autorización por el comité de Bioética del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Después de realizar el trasplante se evaluó la evolución, sobrevivencia y características de los injertos.

3.3 Animales de experimentación

Cinco cerdos Yorkshire, (peso aproximado de 23 a 35 kg) de ambos sexos y entre 4 y 5 meses de edad, asignados al azar y que se utilizaron como receptores de los injertos de tráquea, los cuales recibieron todos los cuidados en el aérea de la unidad de cirugía experimental cumpliendo con los espacios y cuidados reglamentarios de acuerdo a la norma NOM-0062-ZOO99 (Cuadro 6). Los cerdos son el modelo mas apropiado debido a que el tamaño y las características de la tráquea son las más parecidas a las del humano.

Cuadro 6. Animales de experimentación

Animales	Sexo	Peso	Edad
Cerdo 1	M	23.8 kg	4 meses
Cerdo 2	M	35 kg	5 meses
Cerdo 3	M	33.8 kg	4 meses
Cerdo 4	H	31.2 kg	4 meses
Cerdo 5	M	27.8 kg	4 meses

3.4 Infraestructura

El procedimiento se realizó en el quirófano de la Unidad de Cirugía Experimental del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

3.5 Material quirúrgico

Se utilizó un paquete quirúrgico (ropa e instrumental) para cirugía mayor (Cuadro 7).

Cuadro 7. Instrumental quirúrgico

Material	
Mango de bisturí núm. 3 (hojas 11 y 15)	Pinzas de disección con dientes (15 cm)
Tijeras Littauer (14 cm)	Pinzas Allis (15 cm)
Tijeras Lister (14 cm) o tijeras Bergmann (23 cm)	Pinzas Foerster (18 cm)
Tijeras Mayo rectas (15 cm)	Portaagujas Hegar-Mayo (16 cm)
Tijeras Metzemaum	Riñón o bandeja rectangular metálico

Pinzas Kelly (14 cm)	Pinzas herinas,
Pinzas Halsted curvas (12.5 cm)	Separadores Farabeuf.
Pinzas Rochester-Pean (14 cm)	Jeringa Asepto
Pinzas de disección sin dientes (15 cm)	
Suturas	Otros
Vicryl 3-0	Jeringas desechables 5ml
Vicril 2-0	Tubo endotraqueal 4Fr
Nylon 3-0 (monofilamento)	

3.6 Obtención de los injertos

Las cuatro tráqueas utilizadas como injertos se obtuvieron de cerdos sacrificados con otros propósitos, se retiró todo el tejido hasta dejar las tráqueas limpias y se entregaron al laboratorio de ingeniería tisular para su procesamiento. Las tráqueas fueron descelularizadas y acondicionadas.

El proceso de descelularización se llevó a cabo en una tráquea con el método de tritón 100x y con dos tráqueas se utilizó el método enzimático con desoxicolato, una de estas fue reforzada con un polímero de caprolactona por la superficie externa y revestido en la superficie interna con células del epitelio nasal del cerdo receptor (Manchen G, 2017). Una tráquea no fue tratada y sólo fue preservada en congelación. Estos tejidos fueron esterilizados y criopreservados a -80°C antes del acondicionamiento.

Acondicionamiento

El acondicionamiento consistió en colocar las tráqueas descelularizadas y la nativa criopreservada previamente descongeladas en el epiplón abdominal del cerdo receptor del injerto (Klepetko W, 2004).

En todos los casos, se realizó el mismo procedimiento en el quirófano, el cerdo 1 recibió el injerto alogénico descelularizado con tritón 100x, el cerdo 2 el injerto alogénico

descelularizado con desoxicolato, el cerdo 3 el injerto alogénico nativo criopreservado y el cerdo 4 el injerto alogénico descelularizado y reforzado.

Se premedicó a los cerdos con Clorohidrato de ketamina 3.5 mg/kg (Anesket, PiSA), Clorohidrato de xilacina a 5 mg/kg (Rompun, Bayer) I.M y fueron canalizados con solución Hartman (500 mL). Se anestesiaron con propofol 1.9 mg/kg (Recofol 200mg/20 mL PiSA), y se vigiló el volumen de líquidos y la oxigenación. Se colocaron en posición decúbito supino, se realizó asepsia y antisepsia de la región abdominal, colocando los campos quirúrgicos estériles delimitando el abdomen. Se practicó una incisión longitudinal media, disecando hasta llegar a la cavidad abdominal se localizando el epiplón envolviendo el injerto fijándolo con puntos de sutura de vycril 3-0 y se procedió al cierre de la pared, suturando la aponeurosis con vycril 3-0 y piel con puntos de Sarnoff con nylon monofilamento 3-0, cubriendo la herida pasando a los animales a recuperación bajo vigilancia estrecha hasta salir de la anestesia. Se aplicaron 1.5 mL de moxifloxacino intramuscular (Avelox sol 400 mg amp 250 mL, Bayer lot BX68221 oct 2015) 10 mg de prednisona cada 12 hrs vía oral (Meticorten tab 5 mg, Schering-Plough), y analgésico carprofeno 5% 1.2 mL intramuscular cada 24 horas por dos días (Centrovét, 100 mL/5g, Ehlinger) y caprofeno vía oral 1 tab cada 24 hrs (Carprobay 50 mg Bayer) hasta su siguiente procedimiento, aplicando moxifloxcino diariamente intramuscular (Avelox sol 400 mg amp 250 mL, Bayer lot BX68221 oct 2015) (Remlinger, 2010). Vigilando diariamente los signos vitales y la herida en el área de cirugía experimental en condiciones y espacio adecuados. Transcurridos 15 días en el cerdo 1 se obtuvo el injerto y en los cerdos 2, 3 y 4 se retiró después de 8 días para finalizar el acondicionamiento y realizar el trasplante (Martinod, 2013).

Biopsia mucosa nasal

En el quirófano de la unidad de cirugía experimental bajo anestesia general, se aplica antiséptico local, solución de superóxido (Microdacyn, More Pharma) y se toma una muestra de la mucosa nasal colocándola en un tubo de 5ml, se canaliza con solución fisiológica al cerdo receptor del injerto, y se coloca en la posición adecuada para tomar un biopsia de mucosa nasal y se proporciona al laboratorio de ingeniería tisular para su procesamiento (Conconi et al.,

2005). Se utilizaron las células para colocarlas en la porción interna del injerto durante su proceso de acondicionamiento para favorecer la reepitelización durante su implante.

3.7 Trasplante de tráquea con técnica convencional sin inmunosupresión

Para realizar los trasplantes se obtienen los injertos acondicionados del epiplón de cada cerdo para utilizarlo en los trasplantes utilizando el mismo método en cada caso (Cuadro 8).

Cuadro 8. Injertos utilizados en los trasplantes

Trasplante	Animales	Injertos	Tiempo de acondicionamiento
Trasplante 1	Cerdo 1	Injerto alogénico descelularizado acondicionado (IAD)	8 días
Trasplante 2	Cerdo 2	Injerto alogénico descelularizado acondicionado (IAD)	8 días
Trasplante 3	Cerdo 3	Injerto alogénico nativo criopreservado acondicionado (IANC)	8 días
Trasplante 4	Cerdo 4	Injerto alogénico descelularizado reforzado acondicionado (IADR)	15 días
Trasplante 5	Cerdo 5	Injerto autólogo (IAUT)	0 días

Obtención del injerto acondicionado

En el quirófano, se pre medicaron a los cerdos y fueron canalizados con solución Hartman (500 mL). Se anestesiaron con propofol 1.9 mg/kg (Diprivan 200mg/20 mL al 1% Astra Zeneca), vigilando el volumen de líquidos y la oxigenación. Se colocaron en posición decúbito supino con hiperextensión cervical, se colocó sonda endotraqueal número 4 se realizó asepsia y antisepsia en la región cervical y abdominal, colocando los campos quirúrgicos estériles

delimitando el abdomen. Se practicó incisión longitudinal media, disecando hasta llegar a la cavidad abdominal, para obtener el injerto acondicionado cortando los puntos que lo fijaban despegando cuidadosamente el tejido para liberarlo, posteriormente se lava y se deja en solución fisiológica y se procede a cerrar la pared abdominal, a continuación se colocaron campos nuevos en la región cervical para proceder con el trasplante.

Trasplantes

En el mismo tiempo quirúrgico-anestésico y después de obtener los injertos, se colocan los campos quirúrgicos a la región cervical con previa asepsia y antisepsia realizando una incisión transversa en región anterior del cuello, disecando tejido celular subcutáneo, planos musculares, hasta la región anterior de tráquea y caras laterales con disección roma de la cara posterior, separando la pars membranosa de la cara anterior del esófago con una extensión de 6 cm., se coloca un penrose número 18 rodeando la tráquea, se ponen puntos laterales de referencia con vicryl 2.0 (Gauria, 2006). Se procedió a seccionar la tráquea a 7 cm por debajo del cartílago cricoides y se introduce cánula traqueal para ventilación en la porción distal cambiando la ventilación con ambú a dicha cánula y se continuó con la sección la porción proximal de la tráquea a 1 cm del cartílago cricoides, extrayendo la porción traqueal disecada. Después de la extracción traqueal, se procede a implantar el injerto. En el caso del autotrasplante solo se retiró el segmento resecado, se lavó en solución fisiológica y transcurridos 5 min se volvió a colocar. Al injerto reforzado antes de su implante se infiltró con PGE1 con 5 ml de Prostavasin (Alprostadil 20 mcg Reg 057M201 ucB) aplicando sobre toda la superficie con una aguja y jeringa, con la finalidad de aumentar el riego sanguíneo (Scheffler P, 1989).

En todos los casos se practicó anastomosis de la porción proximal con el injerto por medio de puntos simples con separación de 1 mm entre punto y punto con sutura absorbible tipo vicryl 3-0. Se retira la cánula de la porción distal y se desplaza la cánula orotraqueal a lo largo de la luz del injerto y de la tráquea distal suturando la porción distal del injerto con la porción distal de la tráquea del receptor con puntos simples separados 1mm con sutura absorbible tipo vicryl 3-0 corroborando aerostacia después de lo cual se procede al cierre quirúrgico por planos con el cierre del plano muscular hasta piel, cubriendo la herida con gasa estériles.

Los animales trasplantados se pasaron a recuperación bajo vigilancia estrecha hasta salir de la anestesia. Durante los siguientes 10 días se administraron antibióticos de amplio espectro y analgésicos y antiinflamatorios como sigue: Ciprofloxacino 400 mg solución 0,2% I.V (Ciproxina Bayer Schering Pharma lote XB1047F cad oct 2014) 10 mg de prednisona cada 12 hrs vía oral (Meticorten, tab 5 mg Schering-Plough), analgésico carprofeno 5% 1.2 mL intramuscular cada 24 horas por dos días (Centrovet, 100 mL/5g, Ehlinger) y caprofeno vía oral 1 tab cada 24 hrs (Carprobay 50 mg Bayer) vigilando diariamente sus condiciones generales. La herida se cura y cubre diariamente con apósitos estériles en el área de cirugía experimental, en las condiciones y espacio referido en la norma NOM-0062-ZOO99. Transcurridos 7 días se retiraron los puntos (Delaere PR, 2012).

3.8 Evaluación de la evolución de los trasplantes

En cada trasplante se registró el procedimiento realizando un informe quirúrgico y fueron evaluadas las condiciones de la herida de los cerdos trasplantados y su evolución clínica durante el transoperatorio, el postoperatorio inmediato, mediano y tardío.

3.8.1 Transoperatorio

En todos los trasplantes se evaluaron las condiciones de la anastomosis, la presencia de fuga aérea, sangrado, compromiso vascular, ventilación, recuperación de la anestesia de los cerdos trasplantados.

3.8.2 Postoperatorio inmediato (24 horas), mediano (24 a 72 horas) y tardío (después de 72 horas)

Se observaron diariamente las condiciones de la herida quirúrgica evaluando en todos los casos la presencia de enfisema subcutáneo, sangrado, infección, inflamación, sutura y necrosis. Se registró la evolución clínica de los cinco cerdos, con la presencia o ausencia de disnea, estridor, secreciones y las condiciones generales (capacidad de ponerse en pie, comer).

3.9 Evaluación del tiempo de sobrevida de los trasplantes

Se registro el tiempo de sobrevida del animal en horas o días.

3.10 Evaluación histológica pre-trasplante y post-mortem

3.10.1 Macroscópica

Se realiza una evaluación histológica macroscópica de cada injerto a temperatura ambiente observando la condiciones de la superficie interna, específicamente la luz traqueal asignando +++++ a las dimensiones de la luz traqueal nativa, disminuyendo si se restringe la luz. De la superficie externa del injerto, se observa su integridad, los vasos sanguíneos presentes tomando como control una tráquea nativa con +++++ , si disminuyen, también decrecen las cruces y la presencia de necrosis en cualquier zona del injerto (Cuadro 9).

Cuadro 9. Modelo de evaluación histológica macroscópica de los injertos

Tráquea	Luz traqueal	Necrosis	Vasos sanguíneos
Control	+++++	-	+++++
	100 %	0 %	100 %
	++++	+	++++
	80 %	4 %	80 %
	+++	++	+++
	60 %	8 %	60 %
	++	+++	++
	40 %	12 %	40 %
	+	++++	+
	20 %	16 %	20 %
	-	+++++	-
	0 %	20 %	0 %

El cuadro muestra los valores asignados en cruces y el porcentaje equivalente en relación a la tráquea nativa como control que tiene la luz traqueal totalmente permeable asignando +++++ que equivale al 100%, el tejido control no presenta necrosis asignando un 0% y con los vasos sanguíneos adecuados se asignan +++++ con un 100%.

3.10.2 Microscópica

Se realiza la evaluación microscópica tomando una biopsia de cada injerto y colocándola en formol para posteriormente embeberla en parafina y realizar los cortes, fijación en laminillas y tinción con eosina y hematoxilina para observarlos en microscopio óptico (10x). La evaluación microscópica consiste en registrar las condiciones de la superficie interna, (mucosa, presencia de epitelio respiratorio), las condiciones de la submucosa, el cartílago, los vasos sanguíneos, la presencia de inflamación, fibrosis y necrosis en cruces tomando como referencia la tráquea nativa. De la superficie externa interesa la presencia de tejido adiposo o inflamatorio y la integración de tejidos ya que los injertos se generaron por ingeniería tisular. Para la evaluación más objetiva se utilizó la siguiente valoración (Cuadro 10).

Cuadro 10. Modelo de evaluación histológica microscópica de los injertos

Tráquea	Epitelio	Cartilago	Vasos sanguíneos	Inflamación	Fibrosis	Necrosis
Control	+++++ 100 %	+++++ 100 %	+++++ 100 %	- 0 %	- 0 %	- 0 %
	++++ 80 %	++++ 80 %	++++ 80 %	+ 20 %	+ 20 %	+ 4 %
	+++ 60 %	+++ 60 %	+++ 60 %	++ 40 %	++ 40 %	++ 8 %
	++ 40 %	++ 40 %	++ 40 %	+++ 60 %	+++ 60 %	+++ 12 %
	+ 20 %	+ 20 %	+ 20 %	++++ 80 %	++++ 80 %	++++ 16 %
	- 0 %	- 0 %	- 0 %	+++++ 100 %	+++++ 100 %	+++++ 20 %

El cuadro muestra los valores asignados en cruces y el porcentaje equivalente en relación a la tráquea nativa como control si está presente el epitelio en toda la superficie interna de la tráquea se le asignan +++++ que equivale al 100%, el cartílago si se encuentra íntegro es el 100 %, la presencia de los vasos en el tejido nativo (+++++). En la tráquea control no hay inflamación, fibrosis y necrosis 0%, si están presentes se asigna un valor en cruces y porcentaje.

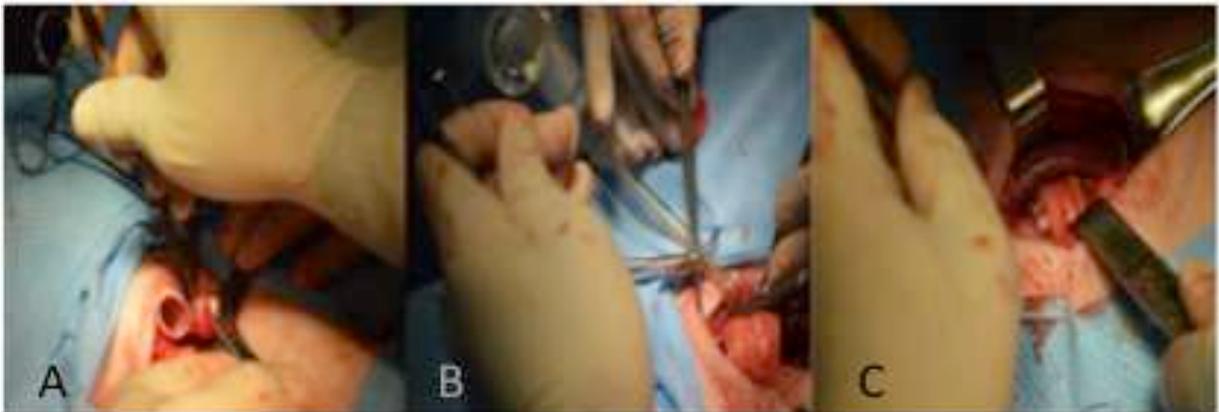
3.11 Análisis de los resultados

Se realizó el análisis casuístico correlacionando la sobrevivencia en tiempo y condiciones clínicas de los trasplantes con los diferentes tipos de injertos.

4. Resultados

4.1 Implementación de la técnica quirúrgica de trasplante traqueal

Figura 5. Trasplante con la técnica quirúrgica convencional



En la fotografía A se muestra el corte en la porción superior de la tráquea, y la B muestra la sutura proximal del implante y en la C se observa el injerto trasplantado.

4.1.1 Informe quirúrgico trasplante 1: Injerto alogénico descelularizado (IAD)

Bajo anestesia general con intubación oro-traqueal, en posición de decúbito supino y hiperextensión cervical, previa asepsia, antisepsia y colocación de campos estériles, se practica incisión transversa en región anterior e inferior del cuello de 10 cm de longitud, disecando por planos dérmico, subcutáneo y muscular hasta llegar a la región anterior de la tráquea, liberando en forma roma las caras laterales y separando la pars membranosa que corresponde a la pared posterior de la tráquea de la cara anterior del esófago en su tercio superior, teniendo estricto cuidado en que la porción disecada corresponda a la porción de tráquea que se extirpó, cortando el extremo superior a nivel del tercer cartílago traqueal con bisturí. Al igual que el extremo inferior a nivel del octavo cartílago traqueal extrayendo la porción de tráquea disecada intubando la porción distal de la tráquea para mantener la ventilación. Se procede a preparar el injerto traqueal alogénico descelularizado, observando que las paredes están reblandecidas, por lo que se procede a efectuar la anastomosis proximal telescopada con puntos separados de vicryl 3-0 (polyglactin 910), buscando disminuir el colapso de la porción central del injerto, con separación de 1 mm entre cada punto para evitar fuga aérea entre los puntos de sutura. Se utilizó la misma técnica en la anastomosis distal, debiendo retirar la cánula de ventilación colocada en la porción distal de la tráquea, y desplazando distalmente la cánula oro-traqueal más allá de la zona de anastomosis distal. Se corrobora hemostasia y aerostasia después de lo cual se procede a realizar cierre de la herida quirúrgica por planos hasta piel con sutura absorbible de vicryl 3-0 para planos muscular y subcutáneo, y piel con puntos separados de Zarnoff con nylon monofilamento de 3-0, dando por terminado el procedimiento sin complicaciones. La recuperación de la anestesia se lleva a cabo de manera apropiada.

4.1.2 Informe quirúrgico trasplante 2: Injerto alogénico descelularizado (IAD)

Se somete al segundo cerdo a anestesia general con intubación oro-traqueal en posición de decúbito supino con hiperextensión cervical, efectuando asepsia, antisepsia y colocación de campos estériles, incidiendo con escalpelo sobre la cara anterior y tercio distal del cuello, disecando por planos hasta la cara anterior de la tráquea, disecando en forma roma las caras laterales y posterior de la misma. Se procede a extirpar cinco anillos traqueales del tercio

superior, intubando la porción distal de la tráquea para su asistencia ventilatoria, realizando anastomosis telescopada proximal y distal por observar el mismo reblandecimiento de las paredes de la tráquea alogénica descelularizada, las cuales se suturan con puntos separados de vicryl 3-0 (polyglactin 910) a 1 mm de separación entre los puntos. Se realiza hemostasia y se corrobora que no se presente fuga aérea y se procede a efectuar cierre de herida quirúrgica por planos hasta piel. No se presentaron complicaciones transoperatorias, por lo que se da por terminado el procedimiento quirúrgico.

4.1.3 Informe quirúrgico trasplante 3: Injerto alogénico nativo criopreservado (IANC)

El tercer trasplante se lleva a cabo con la técnica elegida, descrita en los dos casos anteriores, con anestesia general, en decúbito supino y hiperextensión cervical, utilizando un injerto de tráquea alogénico nativo criopreservado finalizando sin complicaciones.

4.1.4 Informe quirúrgico trasplante 4: Injerto alogénico descelularizado reforzado (IADR)

En el cuarto trasplante se lleva a cabo con la técnica descrita anteriormente, utilizando un injerto de tráquea reforzada con polímero y sembrada con células epiteliales nasales durante el proceso de regeneración por bioingeniería. Antes de su implantación se realiza la aplicación de PGDE para favorecer la revascularización. Durante la anastomosis del injerto no hubo necesidad de realizar el telecopamiento ya que el diámetro de la tráquea receptora y del implante coincidieron.

4.1.5 Informe quirúrgico Trasplante 5: injerto autólogo (IAUT)

Durante el trasplante del injerto autoólogo se llevó a cabo la resección de la tráquea, descrita con la técnica mencionada en los casos anteriores, pero el segmento resecado se lavó en solución fisiológica y se procedió a su implantación sin telecopamiento.

4.2 Evaluación de la evolución de los trasplantes

4.2.1 Transoperatorio

Todos los animales sobrevivieron a la cirugía en todos los casos no presentaron alteraciones en la anastomosis, no hubo fuga aérea sangrado o compromiso vascular. La ventilación fue adecuada durante el procedimiento y todos los cerdos se recuperaron de la anestesia (Cuadro 11).

Cuadro 11. Evaluación del transoperatorio

Trasplante	Anastomosis	Fuga aérea	Sangrado	Compromiso vascular	Ventilación	Recuperación Anestesia
1 IAD	Sin tensión	No	No	No	Adecuada	Adecuada
2 IAD	Sin tensión	No	No	No	Adecuada	Adecuada
3 IANC	Sin tensión	No	No	No	Adecuada	Adecuada
4 IADR	Sin tensión	No	No	No	Adecuada	Adecuada
5 IAUT	Sin tensión	No	No	No	Adecuada	Adecuada

Durante los procedimientos quirúrgicos de los trasplantes las anastomosis no presentaron tensión ya que los extremos se aproximaron con facilidad, no hubo fuga aérea verificando la presencia de burbujas al irrigar con solución fisiológica el tejido, tampoco hubo hemorragia profusa y al final de la cirugía la coloración de los injertos era adecuada y sin compromiso vascular. Durante los procedimientos la ventilación se mantuvo sin problemas y los cerdos se recuperaron bien de la anestesia incorporándose entre 3 a 4 horas después.

4.2.2 Postoperatorio inmediato primeras 24 horas

Durante el postoperatorio inmediato ningún animal presentó enfisema subcutáneo (acumulación de aire debajo de la piel), sangrado, infección o inflamación con enrojecimiento de la herida, la sutura estaba íntegra y no hubo necrosis (Cuadro 12). La evolución clínica de todos los cerdos trasplantados hasta las 24 horas fue buena sin presentar disnea, estridor secreciones y presentaron buenas condiciones generales ya que toleraban la dieta y se podían incorporar (Cuadro 13).

Cuadro 12. Evaluación de la herida en el postoperatorio inmediato

Trasplante	Enfisema subcutáneo	Sangrado	Infección	Inflamación	Sutura	Necrosis
1 IAD	No	No	No	Ligera	Íntegra	No
2 IAD	No	No	No	Ligera	Íntegra	No
3 IANC	No	No	No	Ligera	Íntegra	No
4 IADR	No	No	No	Ligera	Íntegra	No
5 IAUT	No	No	No	Ligera	Íntegra	No

A las 24 horas después de los trasplantes las heridas no presentaron datos de anomalía, la inflamación era ligera dentro de lo esperado.

Cuadro 13. Evaluación clínica en el postoperatorio inmediato

Trasplante	Disnea	Cianosis	Estridor	Secreciones	Condiciones Generales
1 IAD	No	No	No	No	Buenas
2 IAD	No	No	No	No	Buenas
3 IANC	No	No	No	No	Buenas
4 IADR	No	No	No	No	Buenas
5 IAUT	No	No	No	No	Buenas

A las 24 horas ninguno de los animales presentaron datos de insuficiencia respiratoria como disnea, cianosis, estridor o secreciones. Las condiciones generales fueron buenas en todos los casos toleraron bien la dieta, los cerdos se incorporaban, con micción evacuaciones normales (American Thoracic Society, 1982; Olmos Zuniga J.R, 2006).

4.2.3 Postoperatorio mediato de 24 a 72 horas

En el postoperatorio mediato ningún cerdo presentó cambios en la herida, no hubo enfisema subcutáneo, sangrado, infección, inflamación, necrosis y la sutura estaba íntegra (Cuadro 14). A las 48 horas el cerdo al que se le realizó el primer trasplante IAD tuvo disnea, cianosis y estridor, las condiciones generales se deterioraron, no toleraba la dieta y se ponía de pie con dificultad hasta que falleció a las 48 horas. El cerdo que tuvo el trasplante 4 a las 48 horas

presentó disnea y estridor leve y las condiciones generales del animal eran buenas, toleraba bien la dieta y se incorporaba sin dificultad (Cuadro 15).

Cuadro 14. Evaluación de la herida en el postoperatorio mediato

Trasplante	Enfisema subcutáneo	Sangrado	Infección	Inflamación	Sutura	Necrosis
1 IAD	No	No	No	Ligera	Íntegra	No
2 IAD	No	No	No	Ligera	Íntegra	No
3 IANC	No	No	No	Ligera	Íntegra	No
4 IADR	No	No	No	Ligera	Íntegra	No
5 IAUT	No	No	No	Ligera	Íntegra	No

Cuadro 15. Evaluación clínica en el postoperatorio mediato

Trasplante	Disnea	Cianosis	Estridor	Secreciones	Condiciones Generales
1 IAD 48 hrs	Severa	Severo	No	No	Muerte
2 IAD	No	No	No	No	Buenas
3 IANC	No	No	No	No	Buenas
4 IADR 48 hrs	Leve	Leve	No	No	Buenas
5 IAUT	No	No	No	No	Buenas

El cerdo del trasplante 1 a las 48 horas presentó disnea y estridor severo (se evaluó de acuerdo a la escala modificada como leve, disnea con esfuerzos moderados, la moderada, disnea con esfuerzos leves, y la severa, disnea en reposo) no había secreciones y presentó cianosis antes de morir. Las condiciones generales de los trasplantes 2 y 3 eran buenas (dieta bien tolerada, el cerdo estaba incorporado, con micción y evacuaciones normales). El trasplante 4 presentó a las 48 horas disnea y cianosis leve sin estridor o secreciones, con buenas condiciones generales.

4.2.4 Postoperatorio tardío a partir de 72 horas

Las condiciones de la herida quirúrgica en todos los cerdos era normal excepto en el que se realizó el trasplante autólogo presentando ligera inflamación en la herida (Cuadro 16). En el postoperatorio tardío, al quinto día del trasplante 2 (IADA) y el del autólogo los cerdos

iniciaron con disnea, estridor y cianosis, falleciendo. Al octavo día el cerdo con el injerto IANCA tuvo la misma evolución y también falleció. El cerdo con el trasplante 4 al sexto día presentó dificultad para respirar con estridor que lo llevó a la muerte (Cuadro17). Todos murieron el mismo día que iniciaron con las alteraciones respiratorias.

Cuadro 16. Evaluación de la herida en el postoperatorio tardío

Trasplante	Enfisema subcutáneo	Sangrado	Infección	Inflamación	Sutura	Necrosis
1 IAD						
2 IAD día 5	No	No	No	Ligera	Íntegra	No
3 IANC día 8	No	No	No	Ligera	Íntegra	No
4 IADR día 6	No	No	No	Ligera	Íntegra	No
5 IAUT día 5	No	No	No	Ligera	Íntegra	No

Cuadro 17. Evaluación clínica en el postoperatorio tardío

Trasplante	Disnea	Cianosis	Estridor	Secreciones	Condiciones Generales
1 IAD					
2 IAD día 5	Severa	Severa	Severo	No	Muerte
3 IANC día 8	Severa	Severa	Severo	No	Muerte
4 IADR día 6	Severa	Severa	Severo	No	Muerte
5 IAUT día 5	Severa	Severa	Severo	No	Muerte

Los cerdos en el postoperatorio tardío presentaron disnea y estridor severo con cianosis no había secreciones y los animales murieron.

4.3 Evaluación del tiempo de sobrevida de los trasplantes

Cuadro 18. Tiempo de vida de los trasplantes

Trasplantes	Tiempo de sobrevida
Trasplante 1 IAD	2 días
Trasplante 2 IAD	5 días
Trasplante 3 IANC	8 días
Trasplante 4 IADR	6 días
Trasplante 5 IAUT	5 días

Los cerdos trasplantados no sobrevivieron mas de 8 días (Cuadro 18).

4.4 Evaluación histológica pre-trasplante y post-mortem

4.4.1 Evaluación histológica pre-trasplante

Macroscópica

En la evaluación macroscópica pre-trasplante todos los injertos acondicionados conservaron la luz traqueal y vasos sanguíneos con las diferencias mostradas en el siguiente cuadro. Presentaron remodelación (forma diferente al control) y neo formación (presencia de tejido nuevo en la superficie interna y externa) sin fístulas y necrosis, no se encontraron datos de infección en relación a una tráquea control (Cuadro 19).

Cuadro 19. Evaluación histológica macroscópica del injerto pre-trasplante

Trasplante	Luz traqueal	Vasos sanguíneos	Necrosis
Control	100	100	0
1 IAD	60	20	0
2 IAD	40	40	0
3 IANC	80	60	0
4 IADR	60	20	0
5 IAUT	100	100	0

El injerto del trasplante 1 (IAD) presentaba epitelio en el centro de la luz traqueal con presencia de membrana basal de tejido conectivo laxo, tejido de reparación, tejido adiposo e inflamación, la submucosa tenía fibrosis con proliferación de fibroblastos, el cartílago con pérdida de condrocitos menos denso, con vasculogénesis y en la superficie externa tejido adiposo e inflamación. El trasplante 2 (IAD) presentaba células alargadas de un epitelio no típico en la luz y tejido conectivo laxo con tejido de reparación y tejido adiposo, en lugar de la submucosa había fibrosis, el cartílago estaba conservado, la formación de vasos era mas evidente y en la porción externa había tejido adiposo e inflamación. En el trasplante 3 (IANC) el injerto en la porción interna el epitelio estaba presente en ciertas zonas, tejido de reparación y tejido adiposo, en la submucosa había presencia de glándulas con cartílago preservado con formación de fibrosis y vasos y en la porción externa con tejido adiposo e inflamación. El injerto del trasplante 4 (IADR) no tenía epitelio, y en la luz había tejido de reparación y tejido adiposo, la submucosa estaba ausente con el cartílago conservado con ligera fibrosis y formación de vasos, en la porción externa el polímero sin buena integración, con tejido adiposo e inflamatorio. En el trasplante 5 autólogo (IAUT) se utilizó la misma tráquea del cerdo con todas las características de una tráquea nativa (Cuadro 20).

Cuadro 20. Evaluación histológica microscópica del injerto pre-trasplante

Trasplante	Epitelio	Cartílago	Vasos sanguíneos	Inflamación	Fibrosis	Necrosis
Control	100 %	100%	100 %	0 %	0 %	0 %
1 IAD	20	60	20	20	0	0
2 IAD	20	60	40	40	40	0
3 IANC	0	80	20	60	40	0
4 IADR	0	40	20	40	20	0
5 IAUT	100	100	100	0	0	0

4.4.2 Evaluación histológica post-mortem

Macroscópica

Pos mortem en los trasplantes 1, 2, 3 y 5 los injertos durante la necropsia la anastomosis estaban completamente cicatrizadas, sin presentar necrosis, fistulas o estenosis. Los injertos (IAD) después de disecarlas y resecarlas estaban reblandecidas, perdiendo totalmente la luz traqueal. La tráquea (IANC) criopreservada presentó reducción de la luz por reestenosis con un anillo fibrótico en la porción media del injerto. El injerto (IADR) reforzado el polímero del trasplante 4 se encontró desprendido en la zona de anastomosis con gran fibrosis alrededor de toda la tráquea (muy endurecida) y tejido inflamatorio. El injerto autólogo se encontraba con paredes flácidas, liquido inflamatorio rodeando el tejido y en ninguno había datos de infección. Las características de los injertos post-mortem como la luz traqueal, necrosis, vasos sanguíneos y la superficie externa (Cuadro 21).

Cuadro 21. Evaluación histológica macroscópica del injerto post-mortem

Trasplante	Luz traqueal	Vasos sanguíneos	Necrosis
Control	100	100	0
1 IAD	20	40	0
2 IAD	20	20	8
3 IANC	20	20	12
4 IADR	20	20	20
5 IAUT	20	40	8

Microscópica

La evaluación del injerto (IAD) del primer trasplante presentaba epitelio escamoso en los extremos con ausencia en el centro, con infiltración de polimorfonucleares y células mononucleares y tejido adiposo. La submucosa presentaba glándulas y células mononucleares, había inflamación en el pericondrio y fibrosis a ambos lados del cartílago el cual estaba conservado los vasos estaban congestivos, presencia de hemorragias y vasculogénesis ligera y en la porción externa tejido conectivo mixoide, sin presencia de músculo.

El injerto del trasplante 2 (IAD) había zonas con epitelio y necrosis, en la submucosa formación de glándulas, en el cartílago depósito de calcio en algunas zonas e inflamación periférica, la fibrosis abundante con poca generación de vasos y en la superficie externa con inflamación y tejido adiposo. El implante utilizado en el trasplante 3 (IANC) no presentaba epitelio, en la submucosa había glándulas, el cartílago estaba infiltrado con células mononucleares con menos fibrosis y vasos y en la superficie externa con mucha inflamación y necrosis. En el trasplante 4 se utilizó un injerto reforzado (IADR) con epitelio ausente, necrosis en la superficie interna e inflamación, la submucosa sin glándulas y sustituida por fibrosis, con restos de cartílago y pocos vasos sanguíneos con mucha inflamación externa y el polímero despendido. El injerto autólogo presentaba epitelio, con fibrosis y poca vasculogénesis y necrosis (Cuadro 22).

Cuadro 22. Evaluación histológica microscópica del injerto post-mortem

Trasplante	Epitelio	Cartílago	Vasos Sanguíneos	Inflamación	Fibrosis	Necrosis
Control	100	100	100	0	0	0
1 IAD	20	40	40	40	40	0
2 IAD	0	40	20	40	80	8
3 IANC	0	40	20	40	60	12
4 IADR	0	20	20	60	20	16
5 IAUT	80	40	40	40	20	16

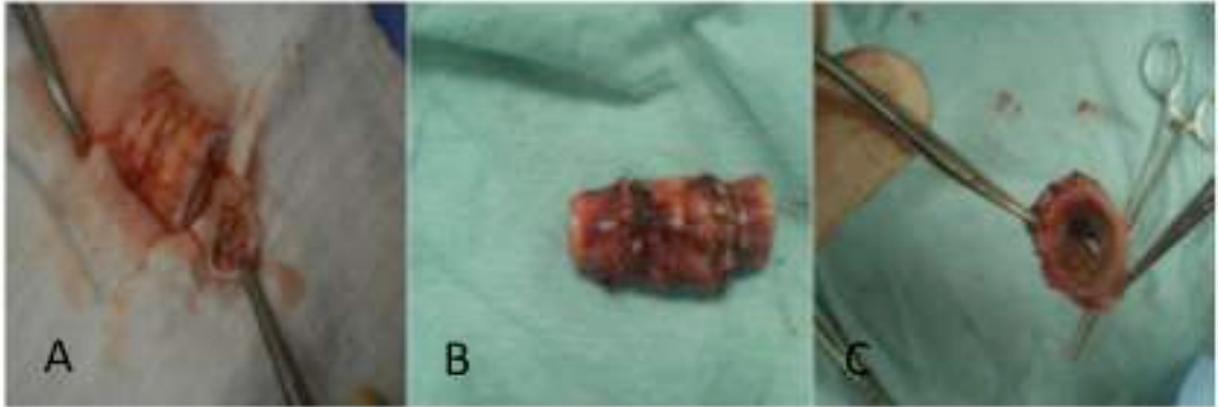
4.5 Análisis de los resultados

Correlación entre las características histológicas macroscópicas y microscópicas pre-trasplante y post-mortem de los 5 trasplantes en relación con la sobrevida de cada uno.

4.5.1 Trasplante 1

Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem

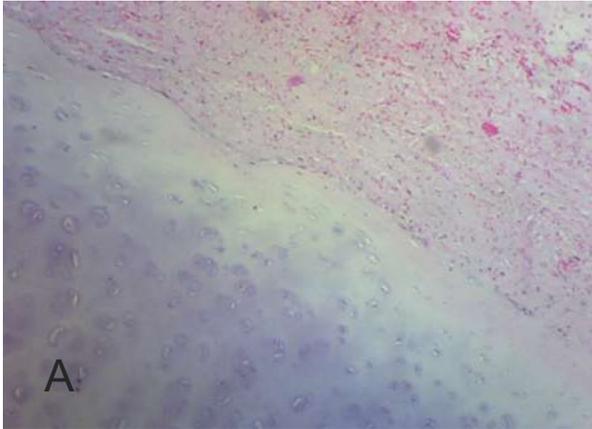
Figura 6. Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 1



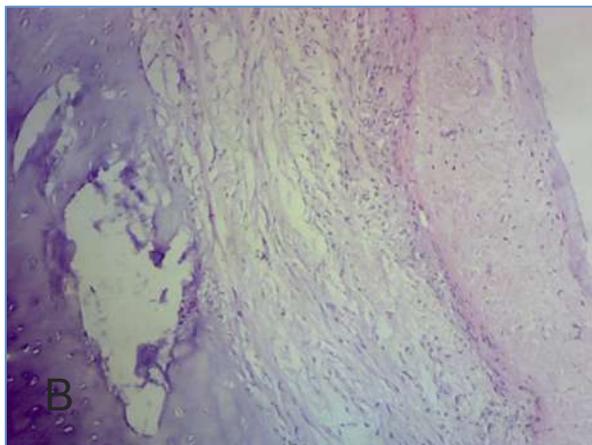
En la figura, A se muestra el injerto IAD pre-trasplante acondicionado durante 15 días, con los anillos traqueales bien definidos y con presencia de vasos de sanguíneos neoformados en la superficie externa, con la luz traqueal permeable. En la figura B se muestra el injerto post mortem con las suturas íntegras, sin presencia de fistulas o necrosis, el tejido colapsó la luz por la disminución en su rigidez. En la figura C se muestra el mismo injerto con el colapso del tejido por las alteraciones en su rigidez, sin presencia de necrosis o re-estenosis por fibrosis.

Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem

Figura 7. Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 1



En la figura A se muestra el corte histológico (10x) del injerto acondicionado IAD utilizado en el trasplante 1, muestra un epitelio no respiratorio con membrana basal, fibrosis, vasculogénesis y pérdida de condrocitos en el cartílago con inflamación.



En la figura B se muestra el corte del injerto post mortem después de 48 horas del trasplante, con un epitelio escamoso, inflamación y pérdida de cartílago.

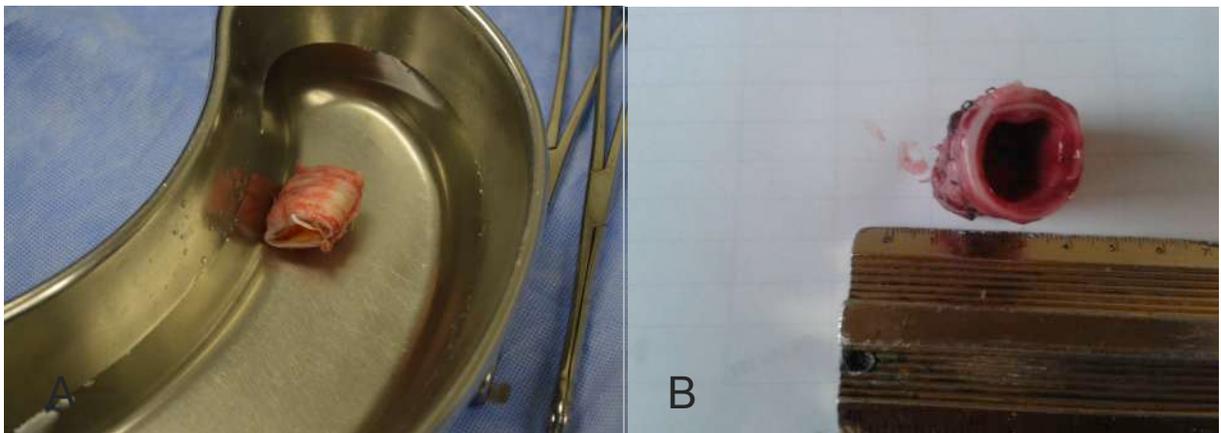
En la figura A se muestra el corte histológico (10x) del injerto IAD acondicionado 8 días y utilizado en el trasplante 1. El epitelio no es respiratorio con presencia de membrana basal y tejido conectivo laxo, en lugar de la submucosa se observa fibrosis y proliferación de fibroblastos con vasculogénesis (+) el cartílago se observa con pérdida de condrocitos, tejido de reparación, tejido adiposo en la porción interna y externa e inflamación. En la figura B se muestra el corte del injerto post mortem después de 48 horas del trasplante, con un cambio del epitelio a escamoso en la porción central con membrana basal e infiltración de polimorfonucleares, mononucleares (+++) y tejido adiposo. En la submucosa hay presencia de

glándulas y células mononucleares, con inflamación en el pericondrio y fibrosis a ambos lados del cartílago, el cual se encontraba con pérdida de condrocitos. Los vasos estaban congestivos con presencia de hemorragias y vasculogénesis (++) y en la porción externa había tejido conectivo mixoide, sin presencia de músculo.

4.5.2 Trasplante 2

Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem

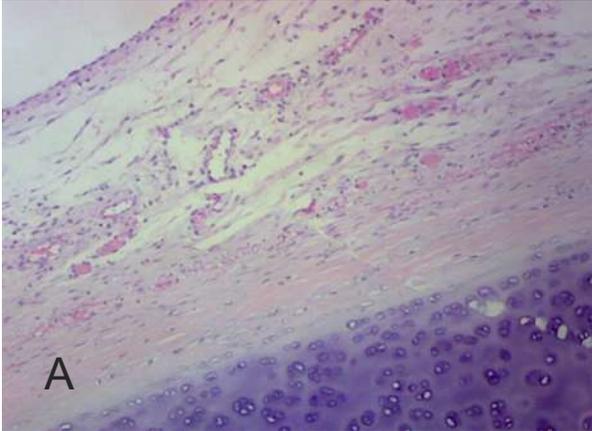
Figura 8. Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 2



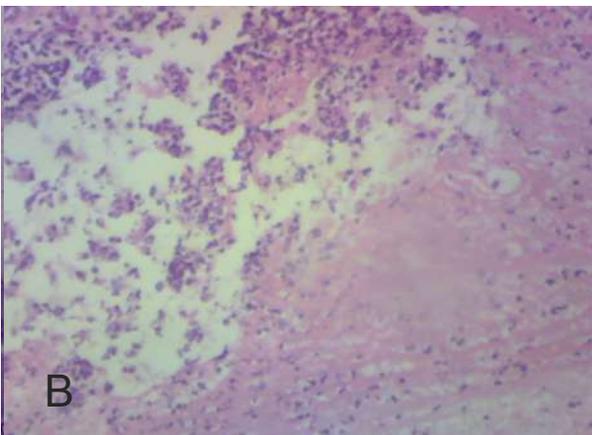
En la imagen A se observa el injerto IAD acondicionado 8 días en el epiplón del cerdo receptor y utilizado en el trasplante 2. Mostró poca rigidez y el colapso de la luz traqueal, con los anillos traqueales no bien definidos y evidencia de vasos sanguíneos en la superficie externa. En la figura B se muestra el injerto post mortem después de 5 días de la implantación conservando la luz traqueal pero con falta de rigidez, sin presencia de estenosis por fibrosis, fistulas en las suturas o necrosis.

Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem

Figura 9. Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 2



En la figura A se muestra el corte histológico (10x) del injerto IAD acondicionado, utilizado en el trasplante 2, con presencia de células epiteliales alargadas, vasos en la submucosa y fibrosis, con el cartílago conservado.

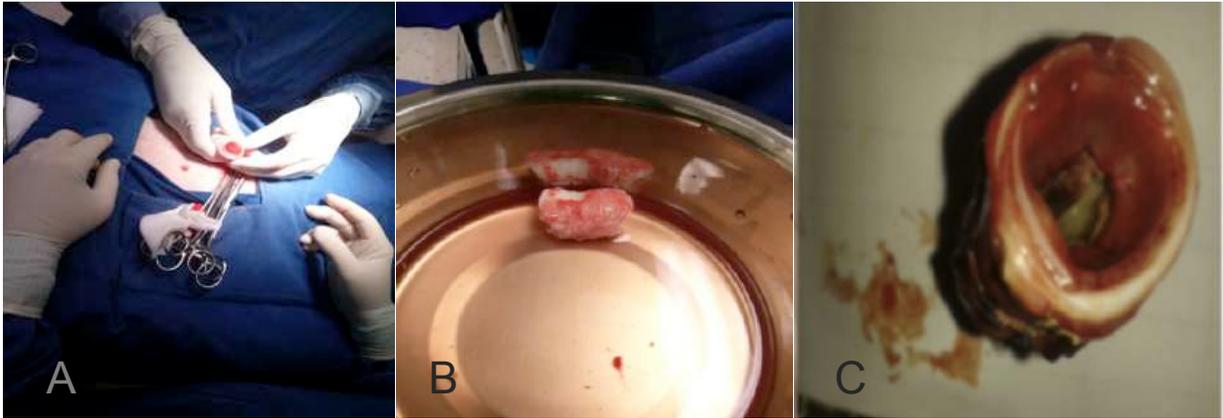


En la figura B se muestra el corte del injerto post mortem después de 5 días del trasplante sin presencia de epitelio, fibrosis, formación de glándulas en la submucosa, con inflamación, con poca vasculogénesis y destrucción del tejido.

En la figura A se visualiza el corte histológico (10x) del injerto IAD utilizado en el trasplante 2 acondicionado por 8 días, presentó un epitelio de células alargadas y tejido conectivo laxo y en lugar de la submucosa tejido fibrótico, con vasculogénesis (++), el cartílago estaba conservado con tejido de reparación y tejido adiposo en la porción interna, con infiltrado inflamatorio (++). La figura B muestra el corte histológico del injerto post-mortem, después de 5 días del trasplante, con un epitelio no respiratorio y zonas de necrosis en la submucosa con formación de glándulas, fibrosis y epitelio cúbico simple. En el cartílago hay depósito de calcio en algunas zonas e inflamación periférica (+++), la fibrosis es abundante con poca generación de vasos (+) y con áreas de destrucción de tejido.

4.5.3 Trasplante 3

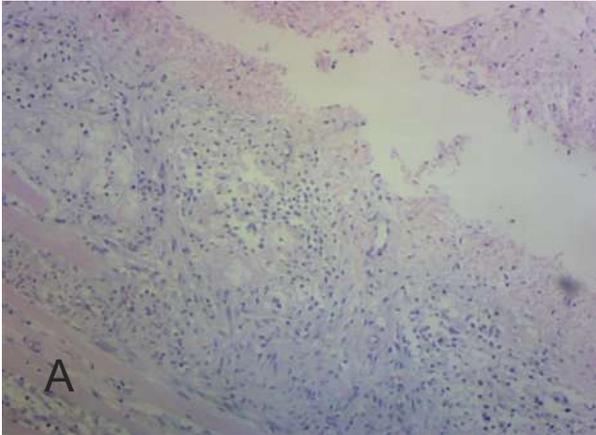
Figura 10. Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 3



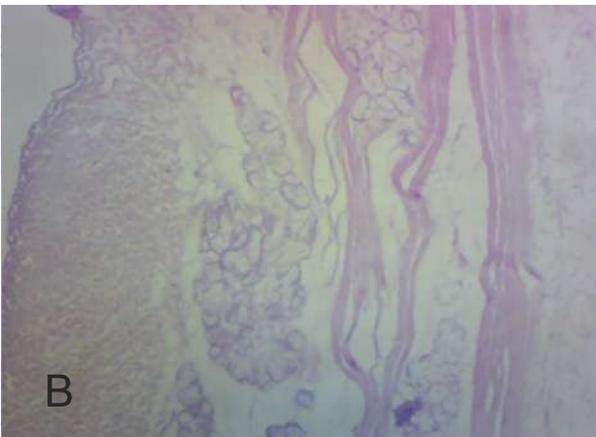
En la imagen A se muestra el injerto criopreservado (IANC) acondicionado 8 días, obtenido del epiplón del cerdo receptor. En la imagen B, el injerto previo al trasplante 3 presentaba alteraciones en la rigidez del tejido, sin definición de los anillos traqueales y con presencia de vasos sanguíneos noformados en la superficie externa. En la imagen C es el mismo injerto obtenido post mortem después de 8 días de la realización del trasplante, con presencia de estenosis por fibrosis en la luz traqueal y falta de rigidez de las paredes de la tráquea que colapsaba el tejido, con necrosis en algunas zonas del tejido, sin presencia de fistulas y con las suturas íntegras.

Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem

Figura 11. Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 3



En la figura A se muestra el corte histológico (10x) del injerto IANC acondicionado 8 días utilizado en el trasplante 3, No se observa epitelio, con células inflamatoria en la submucosa y formación de vasos, con destrucción del cartílago.



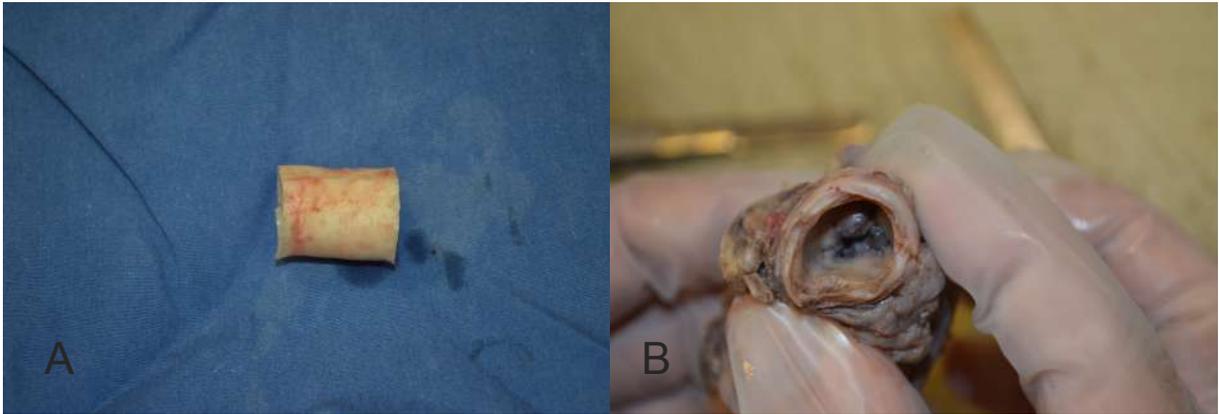
En la figura B se muestra el corte del injerto post-mortem después de 8 días del trasplante, sin epitelio y destrucción del tejido, fibrosis y necrosis por falta de formación de vasos sanguíneos.

En la figura A se muestra el corte histológico (10x) del injerto IANC pre-trasplante, acondicionado por 8 días, sin presencia de epitelio respiratorio y con un proceso de inflamación (+++), formación de vasos sanguíneos (++). El cartílago no se encuentra preservado y en la porción externa había tejido adiposo. En la figura B se muestra el corte histológico del mismo injerto después de 8 días del fallecimiento del cerdo receptor, no se observa epitelio, con destrucción del tejido y necrosis. El proceso inflamatorio (++) fue sustituido por fibrosis en muchas zonas.

4.5.4 Trasplante 4

Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem

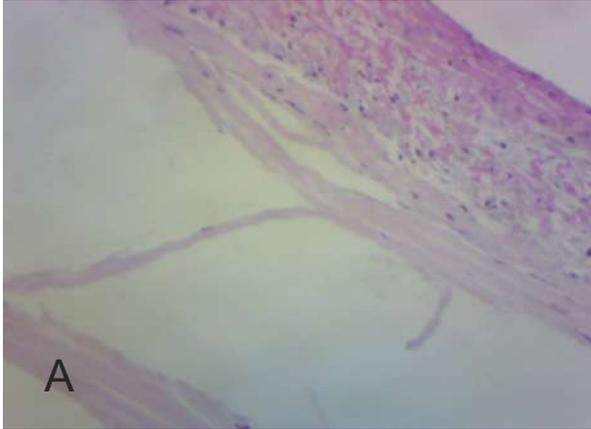
Figura 12. Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 4



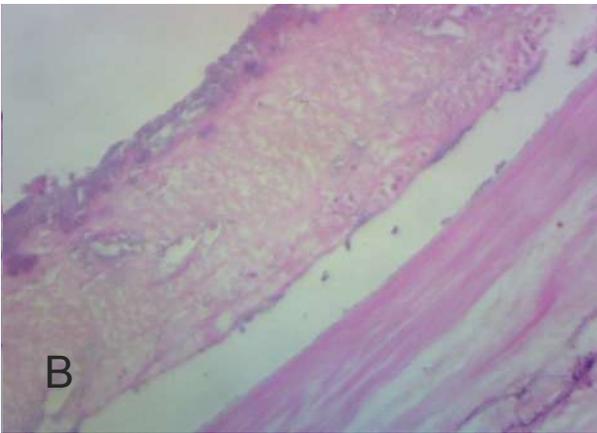
En la imagen A se muestra el injerto IADR acondicionado por 15 días en el omentum del cerdo receptor. Se observa en la superficie externa el polímero de caprolactona con desprendimientos en algunas partes de la tráquea, sin definición de los cartílagos y sin formación de vasos sanguíneos en la porción externa, con la luz conservada debido a la rigidez del polímero. En la imagen B se observa el mismo injerto post-mortem después de 6 días de haber realizado el implante, el polímero estaba desprendido en algunas partes del tejido y con formación de gran cantidad de tejido inflamatorio que llega a obstruir la luz de la tráquea, había zonas de necrosis con muy poca vasculogénesis.

Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem

Figura 13. Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 4



En la figura A se muestra el corte histológico (10x) del injerto IADR acondicionado 15 días, no se observa epitelio, con pocos vasos sanguíneos, células inflamatorias, y el polímero desprendido del tejido.



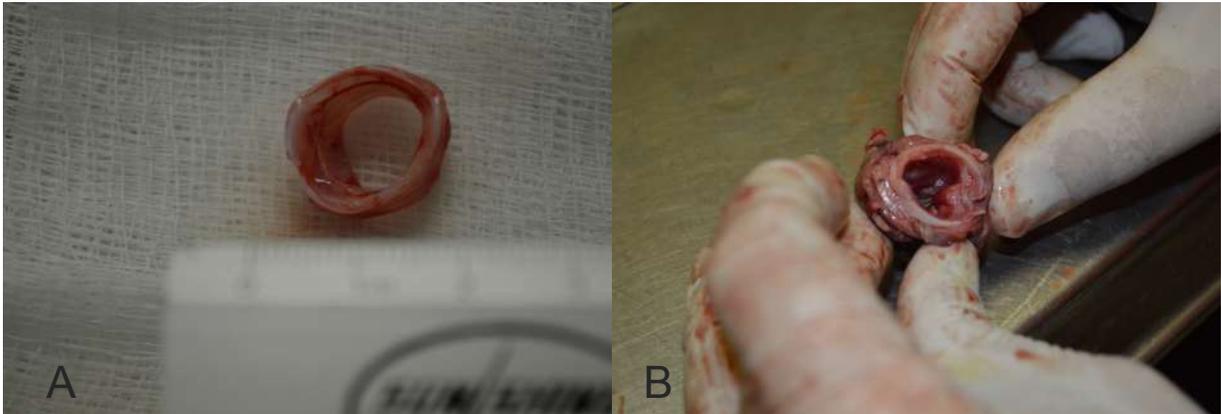
En la figura B se muestra el corte del mismo injerto post-mortem, después de 8 días del trasplante. Sin presencia de epitelio, con presencia de fibrosis y sin vasculogénesis.

En la imagen A se muestran las características del corte histológico (10x) del injerto IADR, sin observarse presencia de epitelio con pocos vasos sanguíneos (+), y necrosis con presencia de inflamación (++), el polímero se encuentra desprendido del tejido y no se conserva el cartílago. En la imagen B se muestra el corte histológico del mismo injerto post-mortem después de 6 días del trasplante, seguía sin presentar epitelio, la inflamación fué sustituida por fibrosis en muchas zonas y había formación de tejido inflamatorio en otras con pocos vasos sanguíneos (+) y el polímero estaba desprendido en la superficie externa.

4.5.5 Trasplante 5

Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem

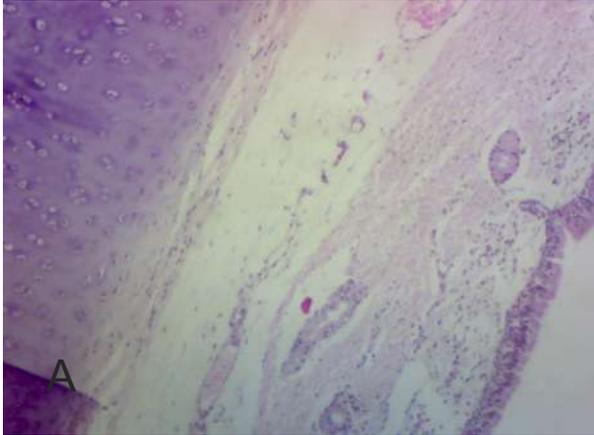
Figura 14. Diferencias histológicas macroscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 5



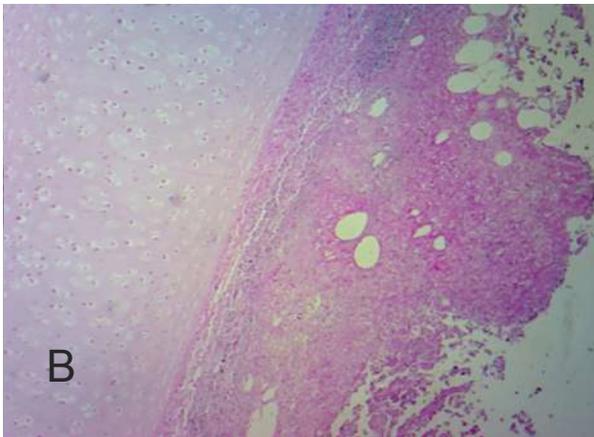
En la imagen A se muestra el autoinjerto (IAUT) antes de su implante, con las características normales del tejido traqueal, con presencia de vasos sanguíneos (+++++) y luz traqueal (+++++) con los anillos cartilagosos bien definidos. En la imagen B se observa el injerto 5 días después del trasplante, con la sutura íntegra sin presencia de fistulas, con pérdida de la rigidez colapsando la luz traqueal y estenosis por tejido fibroso.

Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem

Figura 15. Diferencias histológicas microscópicas pre-trasplante y post-mortem del trasplante 5



En la figura A se muestra el corte histológico (10x) del autoinjerto IAUT utilizado en el trasplante 5, mostrando las características normales del tejido traqueal, con epitelio respiratorio, submucosa y cartílago.



En la figura B se muestra el corte del injerto post mortem después de 5 días del trasplante. Se perdió epitelio, con inflamación en la submucosa y el cartílago con pérdida de condrocitos.

En la imagen A se muestra el corte histológico (10x) del autoinjerto IAUT utilizado en el trasplante 5 mostrando las características normales del tejido traqueal, con presencia de epitelio respiratorio, submucosa, vasos sanguíneos y cartílago. En la imagen B se muestra el corte histológico del mismo injerto 5 días después del trasplante, con epitelio presente infiltración de linfocitos y plasmocitos con muy poca formación capilar (++) y trombosis, la serosa engrosada, con presencia de microabscesos e inflamación (++) . Se observa necrosis y alteraciones en el cartílago.

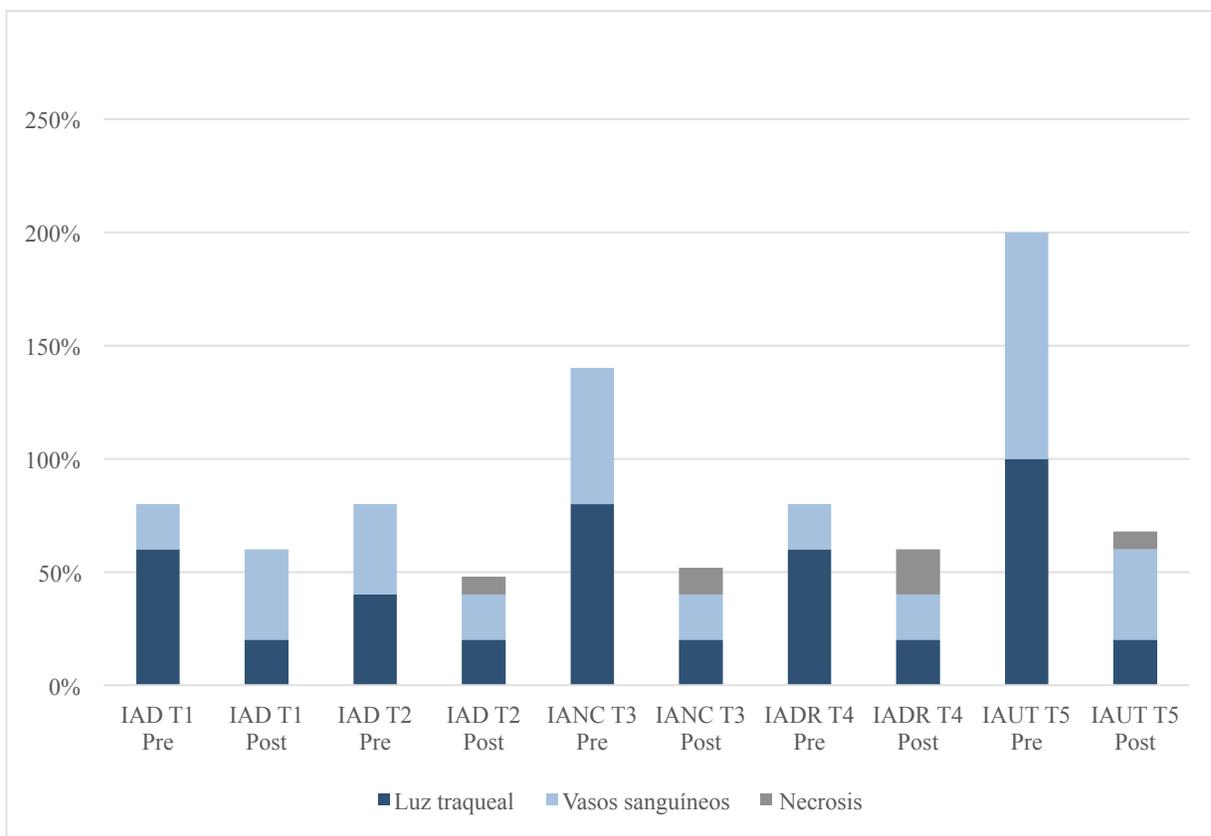
4.5.6 Relación entre las características histológicas de los injertos y la sobrevida de los trasplantes

En todos los casos macroscópicamente la luz traqueal disminuyó sin relación al tiempo de vida del injerto y antes del trasplante todos los injertos, excepto el autólogo ya presentaban una reducción de la luz. Los vasos sanguíneos en los injertos no eran iguales a los del control y aumentaron en un 20% en el IAD y disminuyeron mas del 20% en todos los demás sin relación con el tiempo de sobrevida. La necrosis no se presentó en el IAD del primer trasplante, y en los demás se generó en distintos porcentajes sin relación al tiempo de sobrevida (Cuadro 23).

Cuadro 23. Evaluación histológica macroscópica comparativa entre el injerto pre-trasplante y post-mortem en relación a la sobrevida del trasplante

Trasplante	Luz traqueal		Vasos sanguíneos		Necrosis		Sobrevida Días
	Pre-trasplante	Post-mortem	Pre-trasplante	Post-mortem	Pre-trasplante	Post Mortem	
Control	100		100		0		-
1 IAD	60	20	20	40	0	0	2
2 IAD	40	20	40	20	0	8	5
3 IANC	80	20	60	20	0	12	8
4 IADR	60	20	20	20	0	20	6
5 IAUT	100	20	100	40	0	8	5

Gráfica 1. Evaluación histológica macroscópica comparativa entre el injerto pre-trasplante y post-mortem en relación a la sobrevida del trasplante.



La gráfica 1 muestra la evaluación de las características macroscópicas de forma comparativa entre el injerto previo al trasplante y post-mortem en relación de la sobrevida del injerto. El IAD utilizado en el primer trasplante presentó un 60% de luz traqueal y disminuyó un 20 % la presencia de vasos sanguíneos mejoró en un 20% y el tejido no sufrió necrosis y solo sobrevivió 2 días. El injerto IAD del segundo trasplante disminuyó su luz en un 20% al igual que los vasos sanguíneos y tuvo necrosis en un 8% y sobrevivió 5 días. El injerto IANC redujo su luz en un 20% y en un 40% los vasos, con necrosis del 12% con sobrevida de 8 días. El injerto IADR tenía una luz pre-trasplante del 60% y se redujo en un 40%, los vasos se encontraron en la misma proporción y la necrosis se presentó en un 20% después del trasplante

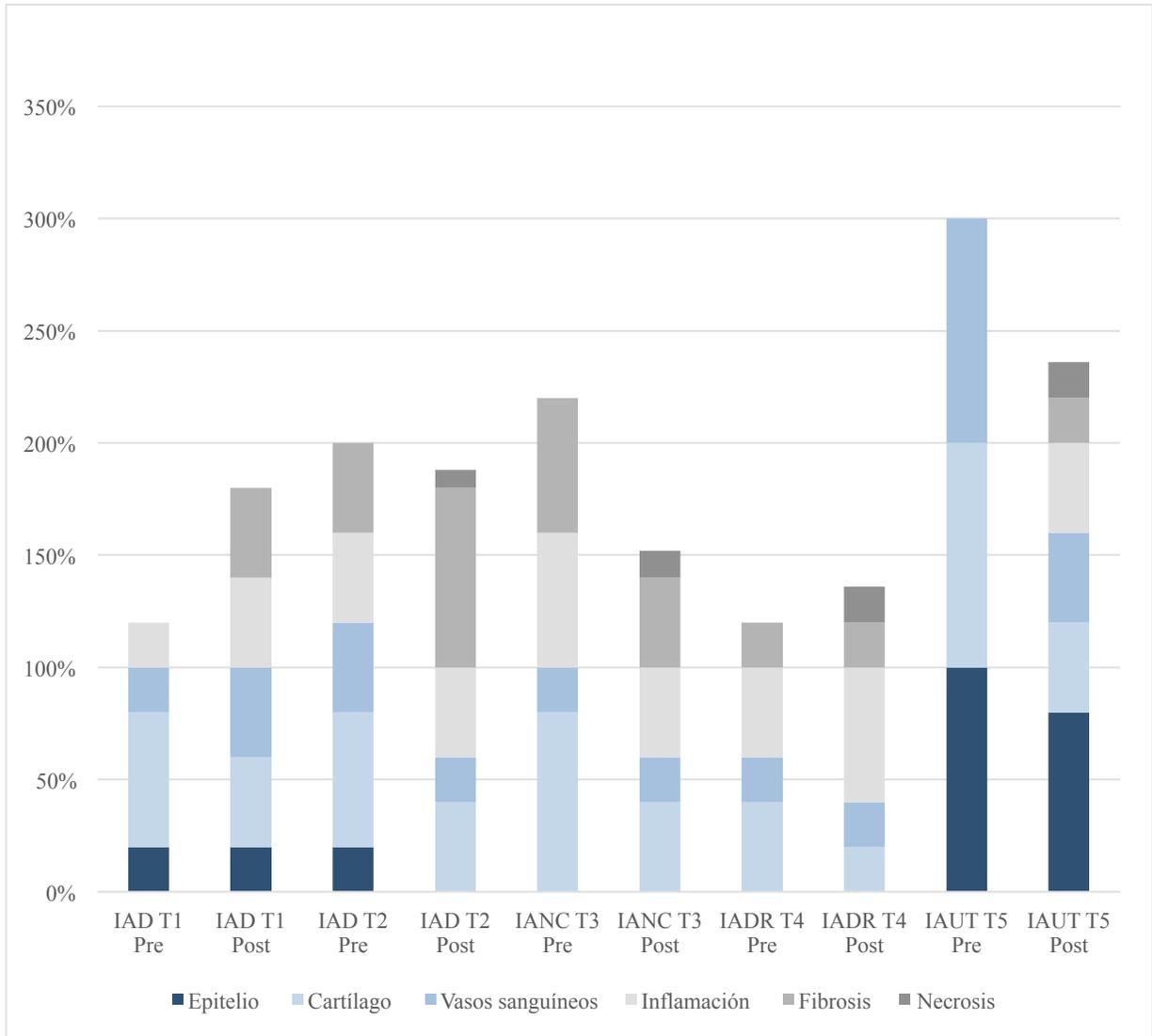
sobreviviendo 6 días. El Autoinjerto se trasplantó con una luz igual a la del control del 100% y disminuyó hasta el 20% y los vasos llegaron a un 40%, presentando necrosis en un 8% con sobrevida de 5 días.

Cuadro 24. Evaluación histológica microscópica comparativa entre el injerto pre-trasplante y post-mortem en relación a la sobrevida del trasplante.

Trasplante	Epitelio		Cartílago		Vasos sanguíneos		Inflamación		Fibrosis		Necrosis		Sobrevida Días
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	
Control	100%		100%		100 %		0 %		0 %		0 %		-
1 IAD	20	20	60	40	20	40	20	40	0	40	0	0	2
2 IAD	20	0	60	40	40	20	40	40	40	80	0	8	5
3 IANC	0	0	80	40	20	20	60	40	60	40	0	12	8
4 IADR	0	0	40	20	20	20	40	60	20	20	0	16	6
5 IAUT	100	80	100	40	100	40	0	40	0	20	0	16	5

El cuadro relaciona las características microscópicas de los injertos pre y post-mortem en relación a la sobrevida del trasplante, como la presencia de epitelio, integridad del epitelio, vasos sanguíneos, inflamación, fibrosis y necrosis.

Gráfica 2. Evaluación histológica microscópica comparativa entre el injerto pre-trasplante y post-mortem en relación a la sobrevida del trasplante



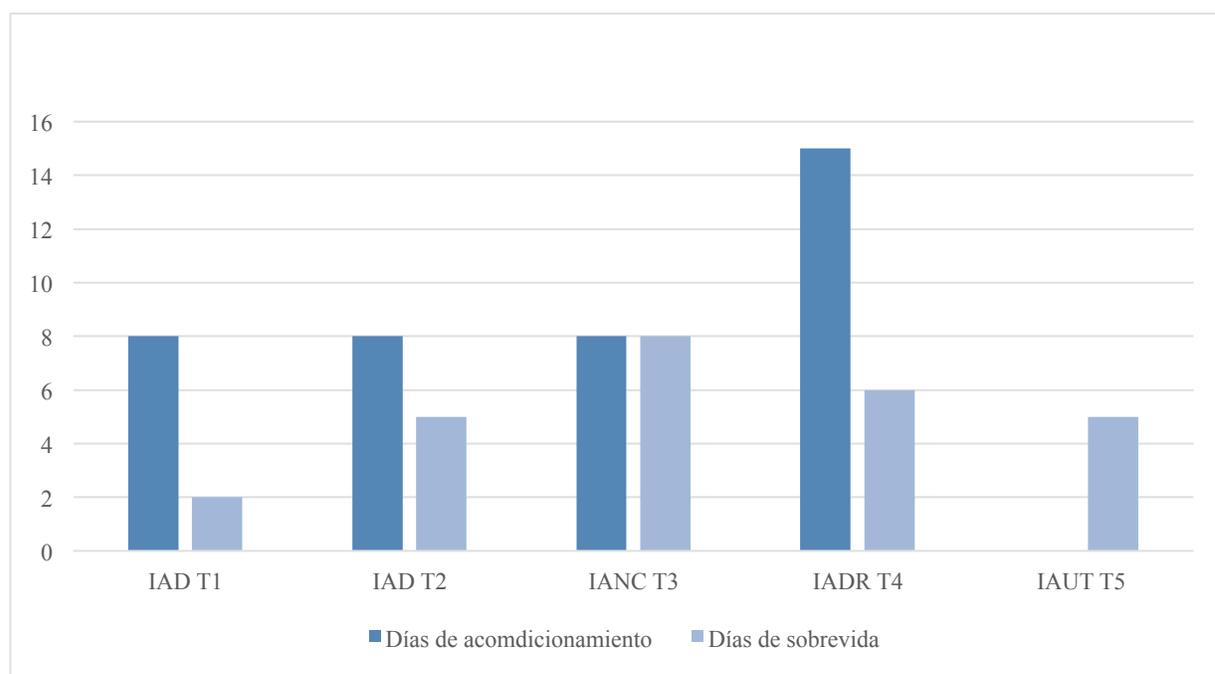
La gráfica 2 correlaciona las características microscópicas de los injertos pre-trasplante y post-mortem y su tiempo de vida. El injerto IAD del primer trasplante conservó su epitelio antes y después del trasplante en un 20% el cartílago estaba conservado en un 60% antes del trasplante y se dañó 20% más del tejido, los vasos sanguíneos mejoraron en un 20% con presencia de inflamación aumentando del 20 al 40% con fibrosis del 40% sin necrosis sobreviviendo 2 días. El injerto IAD utilizado en el segundo trasplante presentaba epitelio en un 20% previo al

trasplante y no se presentó post-mortem, el cartílago se deterioró en un 20% los vasos sanguíneos disminuyeron en un 20%, ya existía inflamación en el mismo porcentaje y la fibrosis que también ya estaba en el injerto aumentó 40% y la necrosis en un 8% y no existía previamente. El injerto IANC al momento del trasplante no presentaba epitelio y tampoco post-mortem, el cartílago se dañó un 40%, los vasos permanecieron en el mismo porcentaje, la inflamación disminuyó 20% y la fibrosis se incrementó en un 20% observándose necrosis en un 12%, con sobrevida de 8 días. El injerto IADR antes del trasplante ya no presentaba epitelio y se encontraba el cartílago preservado en un 40% reduciéndose después del trasplante un 20% los vasos se encontraron en el mismo porcentaje, la inflamación aumentó un 20% la fibrosis también permaneció en 20% generándose necrosis del 16% con sobrevida del 6 días. El trasplante autólogo antes del procedimiento presentó las características histológicas iguales al control, post-mortem el epitelio solo se presentó en un 80%, el cartílago se deterioró en un 60% al igual que los vasos, se presentó inflamación en un 40%, fibrosis del 20% y necrosis del 16% con sobrevida de 5 días.

4.5.7 Relación entre el tiempo de acondicionamiento de los injertos y la sobrevida de los trasplantes

Los injertos que se utilizaron fueron acondicionados en el epiplón de los cerdos receptores del trasplante, con la finalidad de promover la vascularización y la tolerancia. En la siguiente gráfica se muestra la relación entre el tiempo que permanecieron en acondicionamiento y la sobrevida de los trasplantes (Gráfica 3).

Gráfica 3. Relación entre el tiempo de acondicionamiento de los injertos y la sobrevida de los trasplantes.



El injerto IAD utilizado en el trasplante 1, el IAD del trasplante 2 y el IANC del 3, con características diferentes tanto macroscópicas como microscópicas fueron acondicionados por 8 días, y la sobrevida del primero fue de 2 días, del segundo de 5 días, y el IANC de 8 días, indicando que hay otros factores implicados en la permanencia del injerto. La gráfica muestra que el injerto IANC con acondicionamiento de 8 días es el que mejor sobrevida tuvo. El IADR con acondicionamiento de 15 días permanenció 6 días. El IAUT sin acondicionamiento con características ideales solo sobrevivió 5 días.

5. Conclusiones

5.1 Implementación del procedimiento quirúrgico del trasplante de tráquea en cerdos

El trasplante de tráquea se ha planteado como una opción en el tratamiento de patologías que ameritan una resección mayor a 6 cm, pero su realización ha presentado múltiples complicaciones, como la isquemia que lleva a la mala cicatrización y necrosis así como infección crónica (Birchall, M 2008; Baiguera S, 2010; Delaere P, 2016).

El objetivo general del proyecto se cumplió al implementar y desarrollar el procedimiento quirúrgico convencional del trasplante de tráquea en cinco cerdos utilizando injertos procesados por ingeniería tisular y evaluar su evolución y viabilidad, en ningún caso se presentaron complicaciones debido al procedimiento quirúrgico.

5.2 Injertos

Intentando resolver los problemas planteados en el trasplante de tráquea alógena convencional como la isquemia, necrosis, infección e histocompatibilidad se utilizaron tres injertos procesados por bioingeniería. El procesamiento por bioingeniería del tejido traqueal consistió en reducir la inmunogenicidad al eliminar las células y la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad con la finalidad de no utilizar inmunosupresión durante el trasplante (Reza E, 2018). Se mantuvo una tráquea sin tratamiento solo en criopreservación ya que se ha reportado que reduce la inmunogenicidad, pero fue sometida al acondicionamiento para mejorar la revascularización y como control se utilizó un autoinjerto

Los injertos fueron acondicionados colocándose en el epiplón abdominal de los cerdos receptores antes del trasplante con el propósito de inducir tolerancia y promover la vascularización para reducir la isquemia durante el trasplante y favorecer su viabilidad (Liu Y, 2000; Klepetko W, 2004; Nakanishi R, 2007; Delaere PR, 2012; Heng WL, 2013; Hyunjo K, 2013). Se implementó en el epiplón ya que es un tejido ricamente vascularizado, los injertos acondicionados antes del trasplante presentaban formación de nuevos vasos y tejido pero estaban reblandecidos excepto el reforzado con el polímero que además se encontraba muy

rígido, en ninguno había epitelio respiratorio. Se generó tolerancia al injerto ya que no hubo ningún dato de rechazo o infección durante el acondicionamiento.

5.3 Evaluación de la evolución del trasplante en relación con las características del injerto y el tiempo de sobrevida

Durante el transoperatorio la evolución de los animales fue satisfactoria, todos los animales sobrevivieron no presentaron alteraciones en la anastomosis, no hubo fuga aérea sangrado o compromiso vascular. La ventilación fue adecuada durante el procedimiento y todos los cerdos se recuperaron de la anestesia. En las primeras el 24 horas después de la cirugía en el postoperatorio inmediato ningún animal presentó enfisema subcutáneo, sangrado, infección, inflamación con la sutura íntegra. Ninguno presentó disnea, estridor, secreciones y estaban en buenas condiciones tolerando bien la dieta y se podían incorporar, indicando que la técnica quirúrgica y la anestesia fue adecuada independientemente del tipo de injerto. Las complicaciones se presentaron durante el postoperatorio tardío relacionado con las características del injerto, rechazo y vasculogénesis.

5.3.1 Trasplante 1

El cerdo que recibió el injerto IAD tuvo a las 48 horas disnea, cianosis y estridor, las condiciones generales se deterioraron, no toleraba la dieta y se ponía de pie con dificultad falleciendo por insuficiencia respiratoria. La disnea en una fase tan temprana se debió a la falta de rigidez del injerto encontrándose colapsado durante la autopsia, la anastomosis estaba completamente cicatrizada sin fístulas, necrosis o estenosis. El injerto antes de su implantación para el acondicionamiento ya presentaba alteraciones en su rigidez disminuyendo la luz traqueal con presencia de vasos que evitaron la necrosis en las primeras horas. Histológicamente presentaba antes del trasplante epitelio en la porción central de la tráquea, el cual desapareció y se generó epitelio escamoso en los extremos con presencia de polimorfonucleares, células mononucleares y tejido adiposo sin observarse fibrosis o estenosis. La membrana basal fue conservada y se regeneró la submucosa con glándulas y células mononucleares, en donde previamente había tejido fibroso. El cartílago presentaba pérdida de

condrocitos antes del trasplante y después del trasplante presentaba inflamación en el pericondrio y fibrosis en ambos lados. Post mortem se encontró vasculogénesis pero los vasos estaban congestivos con presencia de hemorragias y en la porción externa se generó tejido conectivo mixoide. El tiempo de evolución fue muy corto para valorar la formación de estenosis, pero ya se insinuaba el proceso de fibrosis e inflamación y el mayor inconveniente fue el colapso del tejido durante la respiración.

5.3.2 Trasplante 2

El cerdo que recibió el injerto IAD presentó muy buenas condiciones generales y de la herida, sanando completamente hasta el quinto día en el que falleció, en la autopsia se encontró la tráquea sin rigidez colapsando durante la respiración provocando la disnea, el estridor y la cianosis con la muerte del animal por insuficiencia respiratoria (Partington L, 2013; Sun F, 2015).

Las alteraciones mecánicas previas al trasplante se debieron probablemente al proceso de bioingeniería. Previo al trasplante la luz traqueal del injerto era reducida y la vascularización era menor en relación al control. Presentaba células alargadas de un epitelio no típico en la mucosa y tejido conectivo laxo con tejido de reparación, tejido adiposo y en lugar de la submucosa había fibrosis, el cartílago estaba conservado, y en la porción externa había tejido adiposo e inflamación. Post mortem la anastomosis estaba completamente cicatrizada, sin presentar fístulas o estenosis, había zonas con epitelio y necrosis, en la submucosa formación de glándulas, en el cartílago depósito de calcio en algunas zonas e inflamación periférica, la fibrosis abundante con poca generación de vasos y en la superficie externa con inflamación y tejido adiposo. Sin embargo fueron menos inmunogénicos que el injerto criopreservado o el reforzado no presentando un proceso inflamatorio tan intenso. El injerto sobrevivió más tiempo presentando un colapso más tardío a pesar de su falta de rigidez debido probablemente a la regeneración parcial de la submucosa, o ha las mejores condiciones del cartílago y a su calcificación o a la fibrosis que se presentó en la porción mas externa del tejido. El fracaso de la revascularización del injerto se hizo evidente con las zonas de necrosis y esto no favoreció la re-epitelialización aunque si la hubo parcialmente pero no por epitelio respiratorio.

5.3.3 Trasplante 3

En este trasplante se realizó el implante del injerto alogénico criopreservado, al octavo día se presentó disnea, estridor y cianosis, con la muerte del cerdo. El injerto pre-trasplante conservaba la luz traqueal mejor que los otros injertos, pero con menos presencia de vascularización, el epitelio estaba presente en algunas zonas, con tejido de reparación y tejido adiposo, en la submucosa había presencia de glándulas con el cartílago preservado con formación de fibrosis y en la porción externa con tejido adiposo e inflamación pero también estaba reblandecido, el injerto postmortem presentó reducción de la luz por reestenosis con un anillo fibrótico en la porción media del injerto con paredes flácidas, líquido inflamatorio rodeando el tejido, no presentaba epitelio, en la submucosa había glándulas, el cartílago estaba infiltrado con células mononucleares con menos fibrosis y vasos y en la superficie externa con mucha inflamación y necrosis. La disminución de la irrigación llevó a la necrosis, la infiltración de células mononucleares refleja inflamación y la falta de epitelio demuestran el rechazo inmunológico al tejido con destrucción y fibrosis con la subsecuente reestenosis traqueal, a pesar de lo anterior es el cerdo que sobrevivió más tiempo, ya que la muerte se debió a la asfixia por la estenosis. El injerto es la versión de un trasplante alogénico criopreservado, que se ha sugerido que disminuye su inmunogenicidad, este se mantuvo acondicionado 8 días para mejorar la vascularización e inducir tolerancia y a pesar de los cambios de rigidez del tejido después de este proceso, fue el que mejor sobrevivió. En un siguiente trabajo se puede implementar el acondicionamiento para mejorar la vascularización de manera que no se pierdan las características mecánicas y se debe ayudar a reducir la inmunogenicidad, con inmunosupresores.

5.3.4 Trasplante 4

El trasplante se realizó con el injerto IADR, a las 48 horas presentó disnea y estridor leve y las condiciones generales del animal eran buenas, toleraba bien la dieta y se incorporaba sin dificultad pero al sexto día se incrementaron los síntomas falleciendo por insuficiencia respiratoria. Al momento del trasplante el injerto presentaba una adecuada luz sin epitelio a pesar de la implantación de células epiteliales antes del acondicionamiento, con tejido de

reparación y adiposo, la submucosa estaba ausente con el cartílago conservado con ligera fibrosis con presencia de vasos escasos en la superficie externa y se encontraba recubierta con el polímero sin buena integración, con tejido adiposo e inflamatorio. Postmortem el injerto continuó sin epitelio sin su regeneración, tampoco se encontró la neoformación de vasos provocando necrosis, a pesar de la aplicación de PGD E para promoverla, la inflamación puso en evidencia el rechazo al polímero con destrucción del cartílago, que inició de forma temprana por la sintomatología a las 48 horas y continuó con la formación de tejido fibrótico sobretudo en la zona de anastomosis con reestenosis reduciendo el flujo de aire y disnea que le llevó a la muerte. En la superficie externa había tejido fibrótico como reacción a cuerpo extraño desencadenada por el polímero, por lo mismo nunca se integró a los tejidos.

5.3.5 Trasplante 5

Consistió en un autotrasplante utilizando la misma tráquea del animal, seccionándola totalmente y lavándola en solución fisiológica antes de la reanastomosis. Las características histológicas eran totalmente adecuadas, al obtener el injerto se cortó totalmente la irrigación y después de realizar la anastomosis superior e inferior no fue restablecida la irrigación sanguínea debido a que no es posible la anastomosis de los vasos ya que es un plexo de vasos pequeños. Debido a la falta de vasculogénesis el injerto sufrió reestenosis por fibrosis con necrosis, y el cerdo murió por insuficiencia respiratoria al 5 día, y el epitelio se conservó en mejores condiciones.

5.4 Consideraciones finales

Los trasplantes no sobrevivieron más de 8 días, en el trasplante 1 y 2 (IAD) la tráquea se colapsó durante la respiración provocando la disnea y la muerte del animal debido a que no tenían las características mecánicas adecuadas antes de implantarlos en el trasplante, debido al proceso que se utilizó en ingeniería tisular, o al acondicionamiento (Partington, L et al., 2013; Sun F et al., 2015). Bajo estas condiciones sería útil el uso de endoprótesis para conservar la luz y permitir la permanencia del injerto para su regeneración y revascularización (Elliott MJ, 2017). Esta técnica de acondicionamiento buscaba la tolerancia, reducir la inmunogenicidad y

promover la vascularización. No se presentó un proceso inflamatorio importante y se logró la vascularización pero no la reepitelialización, condición indispensable para evitar la reestenosis y la colonización bacteriana (García J et al. 2004).

En el trasplante 3 (IANC) con el injerto criopreservado no hubo colapso debido a que preservó mejor sus características mecánicas y estructurales antes de su implantación pero se estenósó debido a la respuesta inmune frente al epitelio que se conservó a pesar del acondicionamiento para generar tolerancia (Qu N, 2015).

En el trasplante 4 el injerto reforzado con un polímero, células epiteliales nasales y aplicación de PGD E (IADR) no presentó colapso y conservó su rigidez, pero por la presencia del polímero no hubo revascularización y reepitelialización generando una gran respuesta inflamatoria y de rechazo al material sintético (Manchen G, 2017; Ikonen TS, 2000).

En el trasplante 5 autólogo el injerto se fibrosó y necrosó debido a la falta de revascularización, problema que aún queda sin resolver, condición fundamental para el éxito del trasplante ya que al extraer el segmento de tráquea se interrumpe toda su irrigación, y no puede sobrevivir, incluso si es colocada nuevamente y de manera inmediata (Delaere P 2018).

Al implementar un método indirecto para mejorar el suministro de sangre por medio del acondicionamiento en el epiplón de los cerdos receptores por diferentes tiempos no influyó significativamente en la sobrevivencia de los injertos pero provocó la disminución de su rigidez, colpsando la vía aérea durante la respiración.

En el siguiente proyecto se diseñará una endoprótesis reabsorbible que se colocará en los injertos para mejorar la rigidez hasta lograr la permanencia y tolerancia del tejido.

La técnica quirúrgica del trasplante de tráquea fue implementado con éxito y puede ser transferido a la práctica clínica, también ha sido útil como entrenamiento en cirugía de tráquea para realizar en pacientes la resección y anastomosis termino-terminal en casos necesarios.

6. Referencias bibliográficas

Acosta L, Cruz PV, Zagalo C, Santiago N. (2004) Iatrogenic tracheal stenosis following endotracheal intubation: a study of 20 clinical cases. *Acta Otorrinol Esp.* 54(3):202-10.

American Thoracic Society. (1992) Task Group on Screening for Respiratory Disease in Occupational Settings. *Am Rev Respir Dis.* 126:952-956.

American Thoracic Society. (1999) Dyspnea: mechanisms, assessment, and management: a consensus statement. *Am J Respir Crit Care Med.* 159:321-40.

Andrés Martín A, Navarro Merino M, Pérez Pérez G. (2017) Neumonía persistente y neumonía recurrente. *Protoc diagn ter pediatr.* 1:157-187.

Andrews MJ, Pearson FG. (1971) The incidence and pathogenesis of tracheal injury following cuffed tube tracheostomy with assisted ventilation: analisis of two year prospective study. *Ann Surg.* 32:249-63.

Arce Martínez R, Iniesta Turpin JM, Embriología y anatomía de la tráquea y el esófago. Capítulo 134. Libro virtual de formación en ORL.

Arroyave Páramo HD. (2008) Trasplante de tráquea: papel del anestesiólogo. *IATREIA* 21:1.

Ashiku SK, Kuzucu A, Grillo HC, Wright CD, Wain JC, Lo B, et al. (2004) Idiopathic laryngotracheal stenosis: effective definitive treatment with laryngotracheal resection. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 127:99-107.

Baiguera S, Birchall MA, Macchiarini P. (2010) Tissue-engineered tracheal transplantation. *Transplantation.* 89(5):485–491.

Barrera Ramírez E, Rico Escobar E, Garrido Cardona RE. (2016) Ingeniería tisular aplicada a la tráquea como injerto. *Gac Med Mex.* 152:120-3.

- Badylak SF, Weiss DJ, Caplan A, Macchiarini P. (2012) Engineered whole organs and complex tissues. *Lancet*. 379(9819):943-52.
- Balderman SC, Weinblatt G. (1987) Tracheal autograft revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 94: 434-441.
- Bayrak A, Tyralla M, Ladhoff J, et al. (2010) Human immune responses to porcine xenogeneic matrices and their extracellular matrix constituents in vitro. *Biomaterials*. 31(14):3793-803.
- Bharathan VK, Chandran B, Gopalakrishnan U, Varghese CT, Menon RN, Balakrishnan D, Sudheer OV, Dhar P, Surendran S. (2016) Perioperative prostaglandin e1 infusion in living donor liver transplantation: A double-blind, placebo-controlled randomized trial. *Liver Transpl*. 22(8):1067-74.
- Bhatia G, Abraham V, Louis L. (2012) Tracheal granulation as a cause of unrecognized airway narrowing. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 28(2):235-8.
- Birchall M, Macchiarini P. (2008) Airway transplantation: a debate worth having? *Transplantation*. 85(8):1075-80.
- Biro P, Layer M, Becher HD, Herth F, Weidemann K, Seifert B, et al. (2000) Influence of airway-occluding instruments on airway pressure during rigid bronchoscopy. *Br J Anesth*. 85: 462-465.
- Blank VF. (1974) The complications of tracheal intubation. A new classification with a review of the literature. *Anesth Anal*. 57:796-9.
- Bocca Ruiz X. (2010) Manejo de la estenosis traqueal post- intubación: tratamiento endoscopico. *Med Crit*. 2(2):
- Boglione M, Asprea M. (1997) Presentación de un modelo experimental de trasplante de tráquea. *Rev de Cir Inf*.;7:1.

- Bollinger C, Sutedja T, Strausz J, Freitag L. (2006) Therapeutic bronchoscopy with immediate effect: Laser, electrocautery, argón plasma coagulation, and stents. *Eur Respir J.* 27:1258-71.
- Branson R, Manheimer P. (2004) Forehead oximetry in critically ill patients: the case for a new monitoring site. *Resp Care Clin.* 10: 359-367.
- Brichet A, Verkindre C, Dupont J, et al. (1999) Multidisciplinary approach to management of postintubation tracheal stenoses. *J Eur Respir.* 13(4):888-93.
- Britt JC, Park SS. (1998) Autogenous tissue-engineered cartilage: Evaluation as an implant material. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 124: 671.
- Brodsky JB, Fitzmaurice B. (2001) Modern anesthetic techniques for thoracic operations. *World J Surg.* 25: 162-166.
- Cabezalí Barbancho D, Antón-Pacheco J, López Díaz M, Tejedor Sánchez R, Cuadros García J, Gómez Fraile A. (2007) Estenosis traqueal adquirida: estrategia diagnóstica y terapéutica. *Cir Pediatr.* 20:19-24.
- Casas Quiroga IC, Contreras Zúñiga E, Zuluaga Martínez SX. (2008) Diagnóstico y manejo de la insuficiencia respiratoria aguda. *Neumología y cirugía de tórax.* 67(1): 24-33.
- Clark WG, Brater GD, Johnson AR. (1993) *Farmacología Médica.* Saint Louis: Mosby
- Conconi MT, De Coppi P, Di Liddo R, Vigolo S, Zanon GF, Parnigotto PP, Nussdorfer GG. (2005) Tracheal matrices, obtained by a detergent-enzymatic method, support in vitro the adhesion of chondrocytes and tracheal epithelial cells. *Transpl Int.* 18(6):727-34
- Corona Mancebo SB, Fuentes Valdés E, Gómez Hernández MM, Fernández Cortez E, Vallongo Menéndez MB. (2000) Estenosis Traqueal isquémica. Resultados del tratamiento quirúrgico. *Rev Cubana de Cirugía.* 39(1):29-37
- Corona Mancebo SB, Fuentes Valdés E. (2003) Tubo en T de Montgomery. Indicaciones y

técnica. Rev Cubana Cir. 42(3).

Contamina Gonzalvo P, Parra Gerona P. Histología. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.

Chen G, Wang Z, Liang X, Wang Y, Wang Y, Wang Z, et al. (2013) Treatment of cuff-related tracheal stenosis with a fully covered retrievable expandable metallic stent. Clin Radiol. 68(4):358-64

David I, Marel M, Pipkova R, Marel M, Najbrt J, Vychodil P, et al. (2001) Jet ventilation for fiberoptic bronchoscopy. Anesthesiology 94: 930-931.

Davis MD, Walsh BK, Sittig SE, Restrepo RD. (2013) AARC clinical practice guideline: blood gas analysis and hemoximetry. Respir Care 58(10):1694-1703.

Delaere PR, et al. (1995) Experimental tracheal allograft revascularization and transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg. (3) 110 .

Delaere P et al. (2010) Tracheal allotransplantation after with drawal of immunosuppressive therapy. N Engl J Med. 362:2.

Delaere PR. (2012) Tracheal transplantation. Curr Opin Pulm Med. 18(4):313-20

Delaere PR, Vranckx JJ, Meulemans J, Vander Poorten V, Segers K, Van Raemdonck D, De Leyn P, Decaluwé H, Doooms C, Verleden G. (2012) Learning curve in tracheal allotransplantation. Am J Transplant. 12(9):2538-45.

Delaere P, Raemdonck DV. (2016) Tracheal Replacement. J Thorac Dis. (2):186-196.

Delaere P. (2018) Tracheal replacement: state of the art and novel perspectives. J Vis Surg 2018;4:168.

Delgado Pecellín JP, González Valencia M, Machuca Contreras M. (2008) Clínica Diagnóstico

y tratamiento de las estenosis traqueales. *Anales de Pediatría*.70:443-8.

Demirbag B1, Huri PY, Kose GT, Buyuksungur A, Hasirci V. (2011) Advanced cell therapies with and without scaffolds. *Biotechnol J*. 6 (12):1437-53.

De Peuter S, Van Diest I, Lemaigre V, Verleden G, Demedts M, Van den Bergh O. (2004) Dyspnea: the role of psychological processes. *Clinical Psychology review*. 24: 557-81.

Dumon F.A. Dedicated tracheobronchial stent. (1990) *Chest*. 97: 328-332.

Elliott, MJ.; De Coppi, P.; Spegginorin, S.; et al. (2012) Stem-cell-based, tissue engineered Tracheal replacement in a child: a 2-year follow-up study. *Lancet*. 380 (9846):994–1000.

Elliott MJ, Butler CR, Varanou-Jenkins A et al. (2017) Tracheal Replacement Therapy with a Stem Cell-Seeded Graft: Lessons from Compassionate Use Application of a GMP-Compliant Tissue-Engineered Medicine. *Stem Cells Transl Med*. 6(6):1458-1464.

Fairchild M. (1985) Management of acute and chronic disorder of the trachea and subglottis. *Br Am J Surg*. 150:24-31.

Fernández Vaquero MA, Bartolomé Cela E, Villegas Fernández FR. (2009) Revisión de las estenosis traqueales tras intubación: a propósito de un caso. *Med. Intensiva* 33(6)301-305.

Fernández Duharte J, Zapata Blanco E, Santiesteban Sauqué X, Lescay Bell O Rosell Torres L (2015) Uso y abuso de las prostaglandinas. *MEDISAN* (19)1.

Funds Dissemination Committee. (1995) FDC Reports. *The Pink Sheet*. 57: 16.

Fu E, Downs J, Schweiger J, Migrel R, Smith R. (2004) Supplemental oxygen impairs detection of hypoventilation by pulse oximetry. *Chest*. 126: 1552-1558.

Frölich JC. (1997) A classification of NSAIDs according to the relative inhibition of cyclooxygenase isoenzymes. *Trends Pharmacol Sci*.18(1): 30-4.

Finlayson G, Lohser J, Brodsky JB, Jaffe RA, Samuels SI, Schmiesing CA, Golianu B, (2009) Anesthesiologist's Manual of Surgical Procedures, 4th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 295-302.

Furlow, P.W, Mathisen. D.J (2018) Surgical anatomy of the trachea. *Ann Cardiothorac Surg* 7(2):255-260

García Estrada I, Jiménez González W, Machín González VV, Madrigal G. (2012) Tratamiento de la estenosis traqueal isquémica con Nd-YAG láser *Revista Cubana de Cirugía*.51(4) 318-325

García Río F, Calle M, Burgos F, Casan P, Del Campo F, Galdiz JB, Giner J, González-Mangado N, Ortega F, Puente Maestu L, (2013) Espirometria. *ArchBronconeumol*. 49(9):388–401.

García J et al. (2004) Patología traqueal diagnosticada por fibrobroncoscopia: experiencia en 111 casos. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex*. 17: 67-72

Garrido Cardona RE, Rico Escobar Edna, Barrera Ramírez E. (2015) Historia y avances en trasplante de tráquea en México. *Gac Med Mex*.151:553-6

Gezginci-Oktayoglu S, Orhan N, Bolkent S. (2016) Prostaglandin-E1 has a protective effect on renal ischemia/reperfusion-induced oxidative stress and inflammation mediated gastric damage in rats. *Int Immunopharmacol*. 36:142-150.

Grillo HE. (1983) Tracheal surgery. *Scand J Thor Cardiovasc Surg*. 17: 67-77.

Grillo HC. (1990) Tracheal replacement (editorial). *Ann Thorac Surg*. 49: 864-865.

Grillo HC, Mathisen DJ, Wain JC. (1992) Laryngotracheal resection and reconstruction for subglottic stenosis. *Ann Thorac Surg*. 53: 54.

Grillo HC, Donahue OM, Mathisen OJ, Wain JC, Wright CD. (1995) Postintubation tracheal stenosis: treatment and results. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 109: 486-493.

Grillo HC. (2002) Tracheal replacement: a critical review. *Ann Thorac Surg.* 73:1995–2004.

Grillo HC. (2003) Development of tracheal surgery: a historical review. Part 1. Techniques of tracheal surgery. *Ann Thorac Surg.* 75:610-9.

Godoy M, Saldana DA , Rao P, Vlahos I, Naidich D. (2014) Multidetector CT evaluation of airway stents: what the radiologist should know. *Radiographics.* 34(7): 1793-1806.

Goodman and Gilman's (2012) las bases farmacológicas de la terapéutica. 12 ed. México, D.F.: McGraw-Hill Interamericana; 601-6.

Go T, Jungebluth P, Baiguero S, et al. (2010) Both epithelial cells and mesenchymal stem cell derived chondrocytes contribute to the survival of tissue-engineered airway transplants in pigs. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 139(2): 437-43.

Halstead, D. (2001) Progress in pulse oximetry a powerful tool for EMS providers. *JEMS,* 55-66.

Hautmann H, Gamarra F, Henke M, Diehms S, Huber RM. (2000) High frequency jet ventilation in interventional fiberoptic bronchoscopy. *Anesth Analg.* 90: 1436-1440.

Heng WL, Ong BN, Lim YP, Lim CH. (2013) Human Tracheal Allograft Banking: A Singapore Experience and Review on Recent Progress. *J Transplant Technol Res* 3:123

Herschman HR. (1996) Prostaglandin synthase 2. *Biochim Biophys Acta.* 1299(1): 125-140.

Hyo Yeong Ahn, Jeong Su Cho, Yeong Dae Kim, and Hoseok I, (2015) Surgical Outcomes of Post Intubational or Post Tracheostomy Tracheal Stenosis: Report of 18 Cases in Single Institution *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 21:14–17.

Hondt MD, Vanaudenaerde BM, Delaere P, Vranckx JJ. (2016) Twenty years of experience with the rabbit model, a versatile model for tracheal transplantation research. *Plast Aesthet Res* 3:223-30.

Hyunjo Kim. (2013) Influence of Mesenchymal Stem Cells on Cryopreserved Tracheal Allografts in Rabbits. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg.* 46(5): 328–339.

Hinderer S, Schesny M, Bayrak A, et al. (2012) Engineering of fibrillardecorin matrices for a tissue-engineered trachea. *Biomaterials.* 33(21): 5259-66.

Ikonen TS, Brazelton TR, Berry GJ, Shorthouse RS, Morris RE. (2000) Epithelial re-growth is associated with inhibition of obliterative airway disease in orthotopic tracheal allografts in non-immunosuppressed rats. *Transplantation.* 70(6):857-63.

Ihra G, Gockner G, Kashanipour A, Aloy A. (2000) Highfrequency jet ventilation in European and North American institutions: developments and clinical practice. *Eur J Anesthesiol.* 17: 418-430.

Jacobs JR. (1988) Investigations into tracheal prosthetic reconstruction. *Laryngoscope.* 98(11):1239-45.

Jordá C, Peñalver JC, Escrivá J, Cerón J, Padilla J. (2007) Dilatación traqueal neumática en el tratamiento de la estenosis traqueal idiopática. Vol. 43. *Archivos de bronconeumología.* 12: 643-699.

Jungebluth P, Go T, Asnaghi A, Bellini S, Martorell J, Calore C, Urbani L, Ostertag H, Mantero S, Conconi MT, Macchiarini P. (2009) Structural and morphologic evaluation of a novel detergent-enzymatic tissue-engineered tracheal tubular matrix. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 138(3):586-593.

Kanzaki M, Yamato M, Hatakeyama H, et al. (2006) Tissue engineered epithelial cell sheets for the creation of a bioartificial trachea. *Tissue Eng.*12(5):1275-83.

Khalil-Marzouk JF, Cooper JD. (1993) Allograft replacement of the trachea. Experimental synchronous revascularization of composite thyro tracheal transplant. *J Thorac Cardiovasc Surg.*105: 242-6.

Kim BS, Baez CE, Atala A. (2000) Biomaterials for tissue engineering. *World J Urol.* 18(1):2-9.

Koufman JA. (1991) The otolaryngologic manifestations of gastroesophageal reflux disease (GERD): a clinical investigation of 225 patients using ambulatory 24-hour pH monitoring and an experimental investigation of the role of acid and pepsin in the development of laryngeal injury. *Laryngoscope*, 101:1-78.

Klepetko W, Marta GM, Wissner W, Melis E, Kocher A, Seebacher G, Aigner C, Mazhar S. (2004) Heterotopic tracheal transplantation with omentum wrapping in the abdominal position preserves functional and structural integrity of a human tracheal allograft. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 127(3):862-7.

Kushibe K, Nezu K, Nishizaki K, Takahama M, Taniguchi S. (2001) Tracheal allotransplantation maintaining cartilage viability with long-term cryopreserved allografts. *Ann Thorac Surg.* 71: 1666-9.

Leboulanger, N (2018) 4-Year Follow-up in a Child with a Total Autologous Tracheal Replacement *N Engl J Med.* 378:1355-1357.

Leyva SM, Montero WR, Reula FR, Otorrinoweb.com. 70.1^a.03 Fisiología de la tráquea.

Liu Y, Nakamura T, Yamamoto Y, et al. (2000) Immunosuppressant free allotransplantation of the trachea: the antigenicity of tracheal grafts can be reduced by removing the epithelium and mixed glands from the graft by detergent treatment. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 120:108–114.

Liu Y, et al. (2001) Tracheal allotransplantation in Beagle dogs without immunosuppressants. *Ann Thorac Surg.* 72:1190-4.

Munguía Canales DA, Ibarra Pérez C. (2008) Reseña de la cirugía traqueal en México. *Neumol Cir Tórax.* 67(2):92-98.

Martinod E, Seguin A, Radu DM, Boddaert G, Chouahnia K, Fialaire-Legendre A, Dutau H,

Vénissac N, Marquette CH, Baillard C, Valeyre D, Carpentier A; French Group for Airway Transplantation (FREGAT). (2013) Airway transplantation: a challenge for regenerative medicine. *Eur J Med Res.* 29;18-25.

Maida K, Akamatsu Y, Hara Y, Tokodai K, Miyagi S, Kashiwadata T, Miyazawa K, Kawagishi N, Ohuchi N. (2016) Short Oxygenated Warm Perfusion With Prostaglandin E1 Administration Before Cold Preservation as a Novel Resuscitation Method for Liver Grafts From Donors After Cardiac Death in a Rat In Vivo Model. *Transplantation.* 100(5):1052-8

Mayse ML, Greenheck J, Friedman M, Kovitz KL. (2004) Successful bronchoscopic balloon dilation of nonmalignant tracheobronchial obstruction without fluoroscopy. *Chest,* 126: 634-7.

Manchen G, Hengyi Z, Wei D, Jie B, Botao G, Dekai X, Bei F, Maolin C, Xiaomin H, Meng Y, Zhiwei X, Nevin W, Wei F, Jinghao Z. (2017) Tissue-engineered trachea from a 3D-printed scaffold enhances whole-segment tracheal repair. *Nature Scientific Reports* (7) 5246:1-12.

Martinod E, Chouahnia K, Radu D, Joudiou P, Uzunhan Y, et al., (2018) Feasibility of Bioengineered Tracheal and Bronchial Reconstruction Using Stented Aortic Matrices. *JAMA* 319 (21) 2213-2222.

Melmon KL, Morrelli H, Hoffman BB, Neirenberg D. (1992) Melmon and Morrelli's Clinical Pharmacology: Basic Principles of Therapeutics. 3 ed. New York: McGraw-Hill Professional.

Mentzelpoulos SD, Tzoufi MJ. (2002) Anesthesia for tracheal and endobronchial interventions. *Curr Opin Anesthesiol.* 15: 85-94.

Minnich D.J, Mathisen D.J. (2007) Anatomy of the Trachea, Carina, and Bronchi. *Thoracic Surgery Clinics.* 17(4): 571-585.

Moretti M, Cilione C, Tampieri A, Fracchia C, Marchioni A, Nava S. (2000) Incidence and causes of non-invasive mechanical ventilation failure after initial success. *Thorax.* 55: 819-25.

Murthy SC, Gildea TR, Mehta AC. (2004) Removal of self-expandable metallic stents: Is it

posible? *Semin Respir Crit Care Med* 25:381-5.

Natalini G, Cavaliere S, Seramondi V, Focolli P, Vitacca M, Ambrosino N, et al. (2000) Negative pressure ventilation vs. external high-frequency oscillation during rigid bronchoscopy. A controlled randomized trial. *Chest*. 118: 18-23.

Nakanishi R. Revascularization of trachea in lung and tracheal transplantation. (2007) *Clin Transplant*. 21(5):668-74

Nakanishi R, Shirakusa T, Mitsudomi T, (1993) Maximum length of tracheal autografts in dogs. *J Thorac Cardiovasc Surg*.106:1081-7.

Okumus, A, Cizmeci, O, Kabakas, F, et al. (2005) Circumferential trachea Reconstruction with a prefabricated axial bio-synthetic flap: Experimental study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 69: 335.

Olmos-Zúñiga JR, Hernández-Jiménez C, Díaz-Martínez E, et al. (2007) Wound healing modulators in a tracheo- plasty canine model. *J Invest Surg*. 20(6): 333-8.

Olmos Zuniga J.R (2006) Trasplante experimental de tráquea cervical combinado con la aplicación de factor de crecimiento de fibroblastos, *Rev Inst Enf Resp Mex*.19(3) 172 179.

Partington L, Mordan NJ, Mason C, Knowles JC, Kim HW, Lowdell MW, Birchall MA, Wall IB. (2013) Biochemical changes caused by decellularization may compromise mechanical integrity of tracheal scaffolds. *Acta Biomater*. 9(2):5251-61.

Peña García JF. (1994) Experiencia en el tratamiento de 122 casos de estenosis traqueal. *An Otorryn Laryngol Mex*. 39:135-41.

Pérez Hernández BG. (2002) Reacciones adversas a los medicamentos y adicción a otras sustancias. En: Morón Rodríguez FG, Levy Rodríguez M. *Farmacología General*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 70-89.

Pfenninger C, Leinhase I, Endres M, et al. (2007) Tracheal remodeling: comparison of different composite cultures consisting of human respiratory epithelial cells and human chondrocytes. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.*3(1):28-36.

Pineyro L. (2009) Estenosis traqueal. *Rev Colm de Neum Medicina intensiva* 33(6):301-305.

Pribaz JJ. (1994) Prelamination: defining the prefabricated flap-a case report and review. *Microsurgery.* 15: 618-23.

Pulido-Abreu JTR, BrachetIze O, Llamas-Macías FJ, Ramos-López R, Montes de Oca J, Gómez -Lara M. (2004) Anastomosis traqueal con ácido poliglicólico: reporte de 16 casos. En: *Resúmenes del 64 Congreso. Neumol Cir Tórax* 63:13-14.

Qu N, de Vos P, Schelfhorst M, de Haan A, (2015) Timens W, Prop J. Integrity of airway epithelium is essential against obliterative airway disease in transplanted rat tracheas. *J Heart Lung Transplant.* 24(7):882-90.

Rang HP, Dale MM. (1992) *Farmacología.* New York: Churchill Livingstone.

Remlinger NT, Czajka CA, Juhas ME, Vorp DA, Stolz DB, Badylak SF, Gilbert S, Gilbert TW. (2010) Hydrated xenogeneic decellularized tracheal matrix as a scaffold for tracheal reconstruction. *Biomaterials.* 31(13):3520-3526.

Roman PE1, Battafarano RJ, Grigore AM. (2013) Anesthesia for tracheal reconstruction and transplantation. *Curr Opin Anaesthesiol.* 26 (1):1-5.

Rocabado JL, Roldan R, De Rosas C, Zuleta Hurtado G. (2007) Manejo de la estenosis traqueal *Rev. Chilena de Cirugía.* 59- 6: 408-416.

Rose KG, Sesterhenn K, Wustrow F. (1979) Tracheal allotransplantation in man. *Lancet* 1: 433-435.

Rumbak MJ, newton M, Truncate T, Schwartz SW, Adams JW, Hazard PB. (2004) A

prospective, randomized, study comparing early percutaneous dilational tracheotomy to prolonged translaryngeal intubation/delayed tracheotomy) in critically ill medical patients. *crit care Med.* 32:1689-94.

Rampey AM, Silvestri GA, Gillespie MB. (2007) Combined endoscopic and open approach to the removal of expandable metallic tracheal stents. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 133(1):37-41.

Reza E, Mohamadbagher R, Siavash J, Siamak R. (2018) Transplantation of the decellularized tracheal allograft in animal model (rabbit). *Asian Journal of Surgery* 41:328-332.

Rivera EG, Tintinago LF; Villa Velásquez, Arroyave Páramo H, Marín Gaviria J.D, Arango Ramírez G (2006) Manejo de la vía aérea en trasplante de tráquea. *Rev. Colomb. Anestesiología.* 34 (2) 75-81.

Sato T, Tao H, Araki M, Ueda H, Omori K, Nakamura T. (2008) Replacement of the left main bronchus with a tissue-engineered prosthesis in a canine model. *Ann Thorac Surg.* 86(2):422-8.

Salmeron J et al. (1998) Tracheal transplantation: superior and inferior thyroid artery perfusión territory. *Laryngoscope.* 108: 849-853.

Sotres-Vega A, Villalba-Caloca J, Jasso-Victoria R, (2006) Cryopreserved tracheal grafts: a review of the literature. *J Invest Surg* 19(2):125-35.

Schmidt CE, Baier JM. (2000) Acellular vascular tissues: Natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. *Biomaterials.* 21(22): 2215-31.

Schenke-Layland K, Vasilevski O, Opitz F, et al. (2003) Impact of decellularization of xenogeneic tissue on extracellular matrix integrity for tissue engineering of heart valves. *J Struct Biol.* 143(3):201-8.

Schaefer L, Schaefer RM. (2010) Proteoglycans:from structural compounds to signaling molecules. *Cell Tissue Res.* 339(1):237-46.

Scheffler P, de la Hamette D, Leipnitz G. (1989) Therapeutic efficacy of intravenously applied prostaglandin E1. *Vassa* 28:19-25.

Schweinfurth JM. (2006) Endoscopic treatment of severe tracheal stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 115:30-4.

Snow V, Lascher S, Mottur-Pilson Ch, for the Joint Expert Panel on Chronic Obstructive Pulmonary Disease of the American College of Chest Physicians and the American College of Physicians-American Society of Internal Medicine. (2001) Evidence Based for Management of acute Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N Intern Med*. 134: 595-599.

Sun F, Pan S, Shi HC, Zhang FB, Zhang WD, Ye G, Liu XC, Zhang SQ, Zhong CH, Yuan XL. (2015) Structural integrity, immunogenicity and biomechanical evaluation of rabbit decellularized tracheal matrix. *J Biomed Mater Res A*. 103(4):1509-19.

Santiago RJE, Rojas CZR, Mora FR, Zaldívar CJA, Aguilar NME. (2004) Factores que influyen en la estenosis laringotraqueal adquirida. Estudio experimental. *Rev Mex Cir Ped* 11: 17-25.

Scano G, Ambrosino N. (2002) Pathophysiology of dyspnea. *Lung*. 180: 131-48.

Serrano C, Laborda A, Lozano JM, Caballero H, Sebastián A, Lopera J, et al. (2013) Metallic stents for tracheobronchial pathology treatment. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 36(6):1614-23.

Stauffer JL, Olson DE, Pretty TL. (1981) Complications and consequences of endotracheal intubation and tracheotomy. A prospective study of 150 critically ill adult patients. *Am J Med*. 70: 65-76.

Sheski FD, Mathur PN. (1998) Long-term results of fiberoptic bronchoscopic balloon dilation in the management of benign tracheobronchial stenosis. *Chest*, 114:796-800.

Slinger PD, Campos JH. (2010) Anesthesia for Thoracic Surgery. In: Miller R, editor. *Miller's anesthesia. Expert Consult*. San Francisco, California: Elsevier 1864-1866.

Tarrazona V, Paris F. (1988) Cirugía de la tráquea. En: Tratado de Cirugía. Barcelona: Balibrea Cantero, 133: 1-42.

Treviño-González M, Morales-Silva CH, Magaña-Delgado A, et al. (2004) Reconstrucción quirúrgica de la tráquea en el manejo de la estenosis traqueal. En: Resúmenes del 64 Congreso. Neumol Cir Tórax. 63:13-14.

Udelsman B, Mathisen DJ, Ott HC (2018) A reassessment of tracheal substitutes a systematic review. *Ann Cardiothorac Surg* 7(2):175-182.

Vera Cruz P, Zagalo C, Acosta L. (2003) Estenosis traqueal yatrógena por intubación N, endotraqueal: Estudio de 20 casos clínicos. *Acta otorrinolaringológica española*. 1;54(3).

Vacanti CA, Paige KT, Kim WS, Sakata J, Upton J, Vacanti JP. (1994) Experimental tracheal replacement using tissue-engineered cartilage. *J Pediatr Surg*. 29(2):201-5.

Vázquez-García JC, Pérez-Padilla R. (2000) Valores gasométricos estimados para las principales poblaciones y sitios a mayor altitud en México. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 13(1):6-13.

Wain JC. (2003) Postintubation tracheal stenosis. *Chest Surg Clin N Am*.13:231-246.

Walner DL, Stern Y, Gerber ME, Rudolph C, Baldwin CY, Cotton RT.(1998) Gastroesophageal reflux in patients with subglottic stenosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 124:551-5.

Wallis T, Gierke B, Hofmann M, et al. (2004) Experimental generation of a tissue-engineered functional and vascularized trachea. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 128(6):900-6.

Yao ST. (1982) Microvascular transplantation of prefabricated free thigh flap. *Plast reconstr Surg*. 69: 668.

Yokomise H, et al. (1996) Split transplantation of the trachea: a new operative procedure for

extended tracheal resection. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 112: 314-8.

Yun L, et al. (1993) One stage allotransplantation of thoracic segment of the trachea in a patient with idiopathic fibrosing mediastinitis and tracheal stenosis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 7: 383-6.

Zeng K, Deng BP, Jiang HQ, Wang M, Hua P, Zhang HW, Deng YB, Yang YQ. (2015) Prostaglandin E₁ protects bone marrow-derived mesenchymal stem cells against serum deprivation-induced apoptosis. *Mol Med Rep.*12(4):5723-9.

Zhou GW, Huang HD, Sun QY, Xiong Y, Li Q, Dong YC, Zhang W. (2015) Temporary placement of metallic stent could lead to longterm benefits for benign tracheobronchial stenosis. *J Thorac Dis.* 7(4):S398-40.

Anexos

Anexo I. Modelo para valorar las características macroscópicas de los injertos traqueales

Se desarrolló un modelo de evaluación histológica macroscópica de los injertos

Tráquea	Luz traqueal	Necrosis	Vasos sanguíneos
Control	+++++	-	+++++
	100 %	0 %	100 %
	++++	+	++++
	80 %	4 %	80 %
	+++	++	+++
	60 %	8 %	60 %
	++	+++	++
	40 %	12 %	40 %
	+	++++	+
	20 %	16 %	20 %
	-	+++++	-
	0 %	20 %	0 %

El cuadro muestra los valores asignados en cruces y el porcentaje equivalente en relación a la tráquea nativa como control que tiene la luz traqueal totalmente permeable asignando +++++ que equivale al 100%, el tejido control no presenta necrosis asignando un 0% y con los vasos sanguíneos adecuados se asignan +++++ con un 100%.

Anexo II. Modelo para valorar las características microscópicas de los injertos traqueales

Se desarrolló un modelo de evaluación histológica microscópica de los injertos

Tráquea	Epitelio	Cartilago	Vasos sanguíneos	Inflamación	Fibrosis	Necrosis
Control	+++++ 100 %	+++++ 100 %	+++++ 100 %	- 0 %	- 0 %	- 0 %
	++++ 80 %	++++ 80 %	++++ 80 %	+ 20 %	+ 20 %	+ 4 %
	+++ 60 %	+++ 60 %	+++ 60 %	++ 40 %	++ 40 %	++ 8 %
	++ 40 %	++ 40 %	++ 40 %	+++ 60 %	+++ 60 %	+++ 12 %
	+ 20 %	+ 20 %	+ 20 %	++++ 80 %	++++ 80 %	++++ 16 %
	- 0 %	- 0 %	- 0 %	+++++ 100 %	+++++ 100 %	+++++ 20 %

El cuadro muestra los valores asignados en cruces y el porcentaje equivalente en relación a la tráquea nativa como control si está presente el epitelio en toda la superficie interna de la tráquea se le asignan +++++ que equivale al 100%, el cartilago si se encuentra íntegro es el 100 %, la presencia de los vasos en el tejido nativo (+++++). En la tráquea control no hay inflamación, fibrosis y necrosis 0%, si están presentes se asigna un valor en cruces y porcentaje.

Anexo III. Ponencias

Tracheal resection as stenosis treatment, 16 years experience in Juarez City, Mexico, European Respiratory Society, Barcelona, España, Septiembre 7, 2013.

Rubén E. Garrido Cardona. Trasplante experimental de tráquea de cerdo. Jornadas de Investigación 2014. Ciudad Juárez Chih., Agosto 22, 2014.

Rubén Efraín Garrido Cardona. Trasplante experimental de tráquea. 3er. Coloquio de Doctorado en Investigación. Ciudad Juárez Chih., Abril 29, 2015.

Rubén E. Garrido Cardona. Trasplante experimental de tráquea en cerdos. Jornadas de Investigación 2015. Ciudad Juárez Chih., Septiembre 17,18, 2015.

Rubén Efraín Garrido Cardona. Trasplante experimental de tráquea. Congreso Internacional de Cirugía Torácica General. Valle de Guadalupe, B.C., Septiembre 23, 2015.

Anexo IV. Artículos Publicados

Barrera Ramírez E, Rico-Escobar E, **Garrido-Cardona RE**. Ingeniería tisular aplicada a la tráquea como injerto. Gac Med Mex. 2016;152:120-3.

R.E. Garrido-Cardona, et al., Historia y avances en trasplante de tráquea en México Gac Med Mex. 2015;151:553-6.