

RECONSTRUCCIÓN DE LA VÍA AÉREA PRINCIPAL MEDIANTE EL USO DE PRÓTESIS SINTÉTICAS INTEGRABLES

J.L. López Villalobos¹, N. Moreno Mata¹, L. Arrollo Pareja¹, L. Gómez Izquierdo², F. García Gómez¹, S. Pardo Prieto¹, R. Barroso Peñalver¹, F.J. de la Cruz Lozano¹, A.I. Blanco Orozco¹.

¹Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias, Cirugía Torácica. Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla). ²Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla).

Proyecto financiado con Beca Fundación Neumosur P8/2009

Resumen

Uno de los principales problemas que plantea el tratamiento quirúrgico de las lesiones traqueales es la limitación existente en la longitud del segmento que es posible resear. Actualmente, se puede extirpar con seguridad el 50% de la tráquea como máximo. Lesiones más extensas no se pueden beneficiar de este tratamiento y es necesario utilizar técnicas alternativas, en la mayoría de los casos paliativas. Una posible solución a este problema es la interposición de algún elemento que sustituya el segmento traqueal reseado.

Se ha realizado un estudio experimental en animales, sustituyendo segmentos traqueales de distinta longitud por prótesis cilíndricas de politetrafluoroetileno. Posteriormente, se ha realizado un seguimiento y sacrificio de los animales estudiando los cambios histológicos.

Los resultados obtenidos muestran la posibilidad técnica de la sustitución de la vía aérea por segmentos de material protésico. En el seguimiento evolutivo de los animales, parece existir una relación directa entre la longitud del implante y la aparición de estenosis traqueal a dicho nivel, tanto en los estudios morfológicos macroscópicos como en los estudios realizados con microscopía óptica.

Sin embargo, por el momento, la mortalidad perioperatoria es elevada y, si bien se puede atribuir a la curva de aprendizaje, la traslación de los resultados a una posible práctica clínica no es recomendable.

Palabras clave: Estenosis traqueal, prótesis traqueal, prótesis vascular, resección traqueal, estudio experimental.

RECONSTRUCTION OF THE MAIN AIRWAY THROUGH THE USE OF INTEGRABLE SYNTHETIC PROSTHESIS

Abstract:

One of the main problems arising from the surgical treatment of tracheal lesions is the existing limitation in the length of segment that can be resected. Currently, a maximum of 50% of the trachea can be safely removed. More extensive lesions cannot benefit from this treatment and alternative techniques must be used, which are palliative in most cases. The interposition of an element which substitutes the segment of resected trachea is a possible solution for this problem.

An experimental animal study has been conducted, substituting tracheal segments varying in length with cylindrical polytetrafluoroethylene prostheses. Later, a follow-up was done and the animals were sacrificed to study histological changes.

The results show the technical possibility of substituting the airway with segments of prosthetic material. In the monitoring of the animals, there seems to be a direct relationship between the length of the implant and the appearance of tracheal stenosis at the implant site, both in the macroscopic morphological studies and the studies completed with optical microscopy.

However, for the time being, perioperative mortality is high and, although it can be attributed to the learning curve, applying the results to possible clinical practice is not recommended.

Key words: tracheal stenosis, tracheal prosthesis, vascular prosthesis, tracheal resection, experimental study.

Recibido: 11 de diciembre de 2015. Aceptado: 11 de mayo de 2017.

José Luis López Villalobos
jose.l.lopez.villalobos.sspa@juntadeandalucia.es

INTRODUCCIÓN

En gran cantidad de afectaciones de la tráquea, tanto por patología maligna como benigna, el tratamiento de elección es la cirugía de resección traqueal con posterior anastomosis término-terminal.

Desde sus comienzos, en los años 50, esta cirugía ha experimentado un sensible avance, tanto en lo que respecta a las técnicas. Aún así, actualmente, lesiones que ocupen más del 50% de la extensión traqueal en adultos no pueden ser resecadas y posteriormente reconstruidas con seguridad. En estos casos, el tratamiento únicamente puede ser paliativo, mediante el uso de endoprótesis traqueales o quimio-radioterapia en el caso de la patología maligna. A pesar de los numerosos tejidos y materiales que han sido investigados para la sustitución de segmentos traqueales, aún no existe ninguno que permita el reemplazo seguro de esta, aparentemente, simple estructura.

Los intentos en los trasplantes traqueales, al contrario que los de órganos más complejos como el corazón, el hígado o los pulmones, han sido infructuosos, produciéndose la necrosis o la estenosis del injerto^{1,2}.

Estudios en animales utilizando prótesis de materiales sintéticos, recubiertos en su interior por algún tipo de epitelio (yeyuno o esófago), mostraron resultados aceptables, con buenos resultados funcionales y adecuada integración de los tejidos injertados^{3,4}. Con el mismo objetivo y resultados se han utilizado homoinjertos de segmentos de aorta torácica⁵⁻⁷. No obstante, las dificultades técnicas existentes en la obtención del injerto y las potenciales complicaciones que pueden derivarse del proceso, hacen que su aplicabilidad clínica sea muy limitada.

En los últimos años, el desarrollo de la ingeniería tisular ha permitido la creación de armazones o esqueletos que se impregnan en un segundo tiempo de diversos tipos de células para conseguir sustitutos biológicos de la vía aérea. Presentan el inconveniente de ser muy complejos de realizar y muy costosos⁸⁻¹⁰.

El uso de materiales exógenos sintéticos aislados, sin recubrimiento celular o tisular, es una solución mucho más sencilla y económica. Sin embargo, los estudios realizados no han mostrado resultados satisfactorios y, al contrario, sí numerosas complicaciones^{11,12}. No obstante, se trata de estudios antiguos y el desarrollo de nuevos tipos materiales ha motivado que se replantee su utilización. Actualmente, se dispone de prótesis cilíndricas vasculares con un interior liso mínimamente adherente y con gran capacidad de integración tisular, siendo rápidamente colonizadas por fibroblastos e incluso llegando a

recubrirse por de endotelio¹³.

Conseguir utilizarlas de forma segura en la vía aérea supondría un importante avance en el tratamiento de las lesiones extensas de la misma, permitiendo el tratamiento quirúrgico curativo en casos en los que actualmente es imposible.

MATERIAL Y MÉTODO

Animal de experimentación.

Se ha utilizado al conejo neozelandés macho de 12 a 13 semanas de vida, con un peso entre 2.500 y 3.000 gramos (g). El calibre de su tráquea, de entre 6 y 8 milímetros (mm), así como su disposición anatómica, lo hacen idóneo para este tipo de estudios.

Los animales fueron transportados desde la empresa suministradora, Isoquinen S.A., (Barcelona) en cajas individuales. A su llegada, fueron estabulados en el animalario del Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS), mantenidos en ciclos de 12/12h de luz/oscuridad, a una temperatura ambiente de 24°C, una humedad relativa del 60% y alimentados "ad libitum". La estancia preoperatoria fue de, al menos, dos días para su acondicionamiento al medio. En el momento de la intervención fueron trasladados a quirófano en jaulas individuales.

Material sintético.

Como material sintético para la sustitución del segmento traqueal, se seleccionó la prótesis Gore Propanten Vascular Graft® de la casa comercial Gore (W.L. Gore & Associates Inc, Flagstaff, AZ, EEUU), constituida por un tubo de politetrafluoroetileno que dispone de una superficie interna regular y lisa que dificulta la adherencia de las secreciones. Se han utilizado prótesis de calibres comprendidos entre 6 y 8 mm, según el diámetro traqueal del animal de experimentación.

Grupos de estudio.

Los animales fueron divididos en cuatro grupos, en función de la longitud del segmento de vía aérea sustituido (de 5 y 10 mm) y del tiempo de mantenimiento del animal tras la implantación (45 y 90 días). De este modo, se establecieron 4 grupos: el 1 con 5 mm sustituidos y 45 días de mantenimiento, el 2 con 10 mm y 45 días, el 3 con 5 mm y 90 días y, finalmente, el 4 con 10 mm y 90 días.

El estudio de las distintas longitudes se realizó para establecer si la ca-

pacidad de integración de la prótesis en los tejidos está influenciada por la longitud de ésta. Los tiempos de implantación se seleccionaron para estudiar la evolución de la integración y la sustitución de los fenómenos inflamatorios por los cicatriciales.

Inicialmente, se asignaron 5 animales a cada grupo. No obstante, fallecimientos perioperatorios, durante el seguimiento y varias pérdidas de muestras motivaron que se designasen animales adicionales a los grupos afectados. De este modo, finalmente, se intervino un total de 25 conejos para conseguir un número suficiente en cada grupo.

Anestesia y técnica quirúrgica seleccionada.

La anestesia administrada a los animales de experimentación fue seleccionada de forma acorde con la información existente en la literatura y la experiencia previa. Como fármacos, se utilizaron la Ketamina y la Xilacina, ambas vía intramuscular a una dosis de 35 y 5 mg/kg respectivamente. Esta dosificación permite la respiración espontánea del animal, evitando los problemas derivados de la manipulación de la vía aérea y disminuyendo el tiempo de recuperación postanestésica.

La técnica quirúrgica prevista fue similar a la realizada en humanos. Tras extirpar un segmento de tráquea del animal de experimentación, se realizó una sutura, con puntos sueltos de material reabsorbible del 4/0, de ambos extremos de la tráquea a los bordes superior e inferior de la prótesis sintética.

Mantenimiento y seguimiento postoperatorio de los animales de experimentación.

Tras la intervención quirúrgica, los animales fueron devueltos a sus jaulas de almacenamiento. La primera semana tras la intervención se les administró analgesia con Meloxicam a dosis de 0,2 mg/kg a intervalos de 12 horas. Esta pauta analgésica se modificó, administrando medicación adicional (morfina 2 - 5 mg/kg de forma puntual) en los casos en los que apreciaron signos de dolor o estrés.

Durante todo el tiempo de almacenamiento se les realizaron inspecciones visuales del estado de confort y bienestar de los animales al menos dos veces al día.

Sacrificio de los animales.

A los 35 y 90 días tras el implante de la prótesis, según los plazos establecidos y con el animal previamente sedado, para evitar cualquier tipo de estrés. Se

utilizaron xilacina y ketamina intravenosa al doble de la dosis anestésica, según peso.

Aquellos animales en los que se apreciaron signos de estrés, como disminución o cese de la alimentación, letargo o estridor, fueron sacrificados de inmediato, sin esperar a completar el periodo correspondiente al grupo al que pertenecieran. Se registró el motivo por el que fue preciso su sacrificio.

Obtención, examen y conservación de las muestras tisulares.

Tras el sacrificio del animal, se extrajo el segmento traqueal que contiene la prótesis, junto con al menos 5 mm de tráquea proximal y distal a la misma. Una vez extraída, se examinó y fotografió para realizar la evaluación macroscópica del calibre de vía aérea residual. Posteriormente, se introdujeron en recipientes con una solución de formaldehído al 10% y fueron entregados a anatomía patológica para su estudio.

Los animales que fueron éxitos inesperados antes del periodo previsto de sacrificio fueron congelados en el momento en que se advirtió la muerte para evitar el deterioro excesivo de los tejidos.

Estudio anatómico-patológico de las muestras.

El objetivo del examen histológico fue determinar la variación de la luz en la zona de la endoprótesis y de la celularidad en la región de la unión de la prótesis con la tráquea normal. Las muestras fueron incluidas en parafina, cortadas con microtomo en secciones de 5 micrómetros (5 µm) y teñidas con hematoxilina-eosina. Las secciones realizadas se han realizado en sentido longitudinal de la tráquea para ilustrar los cambios en la zona anterior, en la de transición y en la prótesis.

El componente inflamatorio se valoró según el tipo de células existentes (polimorfonucleares, eosinófilos, células linfoplasmocitarias y células gigantes) y la celularidad en la pared de la vía aérea ha sido evaluada de acuerdo a la escala semicuantitativa: 0 = ausencia, 1 = leve, 2 = moderada, 3 = intensa.

Los resultados se han interpretado teniendo en cuenta las distintas fases de cicatrización de una herida, distinguiéndose tres fases claramente diferenciadas: inflamación, aparición de tejido de granulación y fibrosis. Igualmente, se ha prestado atención a la aparición de lesiones tipo granulomatosas o ulcerativas y a la aparición de epitelio.

Las imágenes han sido fotografiadas con la cámara Olympus SC20® (Olympus Corporation) y su análisis se ha realizado con programas de imagen Analysis

GetlT® y Cell B® de la misma empresa.

Medida de la luz traqueal.

Inmediatamente tras la obtención de las muestras, se realizó una inspección visual de la luz de la vía aérea, fotografiado de las mismas y, sobre las imágenes, la determinación del calibre a nivel de la endoprótesis. Para esto se utilizó el software Adobe Photoshop CC (*Adobe Systems Software Ltd, Ireland*). Puesto que se trata de un examen visual, los valores de la luz residual de la vía aérea se redondearon para simplificar los resultados.

Al haberse realizado los cortes histológicos en sentido longitudinal, no fue posible la medida directa de la reducción de calibre de la tráquea por no disponer de la circunferencia completa. El cálculo se ha realizado de forma indirecta, midiendo el espesor de la pared traqueal de la zona inmediatamente proximal a la prótesis y comparando con el espesor de la pared en la zona central de la prótesis. La diferencia entre estas dos magnitudes es el aumento de grosor de la pared en la zona de la prótesis.

Asumiendo que el calibre interno de la tráquea de los conejos de la especie y tamaño utilizados mide en promedio 6 mm, a este calibre se le ha restado el doble del valor calculado tras el examen histológico. Utilizando como base la clasificación usada en un estudio similar¹⁴ se ha considerado la existencia de una luz normal (6 mm), estenosis leve (4 - 6 mm), estenosis moderada (2 - 4 mm) y grave (luz menor a 2 mm).

Aspectos Éticos y legales.

El presente proyecto contaba con la aprobación del Comité Ético del Hospital Universitario Virgen del Rocío y el cuidado y manipulación de los animales se realizó de acuerdo con la normativa expresada en el Real Decreto 1201/2005 sobre protección de los animales utilizados para experimentación y regulada por la ley 32/2007 para el cuidado de los animales, su explotación, transporte, experimentación y sacrificio.

Análisis estadístico.

Se trata de un estudio descriptivo. El bajo número de animales por cada grupo de estudio hizo imposible estudios estadísticos potentes. Para ilustrar los resultados se utilizaron los datos numéricos directos y el cálculo simple de porcentajes.

RESULTADOS

Proceso quirúrgico y seguimiento postoperatorio.

La implantación de la prótesis sintética fue realizada en los 25 animales del modo en que estaba previsto en el diseño del estudio. Los aspectos técnicos del procedimiento se muestran en la figura 1.

En la tabla 1 se detallan los datos del procedimiento y seguimiento de los animales de experimentación.

Es preciso destacar que, de los conejos intervenidos, 5 fallecieron en el momento de la intervención o en los minutos inmediatamente posteriores. En dos de ellos no fue posible determinar la causa (la ventilación fue adecuada, aparentemente, durante toda la intervención y no se produjeron hemorragias significativas). En los otros tres observamos la aparición de líquido y burbujas rosadas a través del extremo distal de la tráquea. Los fallecimientos relacionados con la intervención quirúrgica se concentran en el grupo 1, con cuatro animales.

Durante el periodo de seguimiento, seis de los animales fallecieron de forma inesperada. La mayoría en los grupos 2 y 3.

En un caso (R3) fue preciso sacrificar al animal antes del periodo previsto al detectar signos de estrés (letargo, inmovilidad y ausencia de alimentación).

Evaluación macroscópica de las muestras.

La tráquea fue extirpada en bloque, junto con el tejido muscular circundante, desde la laringe hasta la entrada en el tórax (figura 2). Posteriormente, se retiró el tejido no perteneciente a la tráquea para facilitar el estudio histológico.

Se recuperaron las muestras de todos los animales. No obstante, tres de ellas estaban demasiado degradadas como para conseguir resultados anatómopatológicos fiables. De este modo, finalmente se obtuvieron 18 muestras válidas.

Una vez preparadas las muestras, se realizó el examen macroscópico del calibre de la vía aérea a nivel de la prótesis, comparándolo con el calibre de la zona inmediatamente previa a la misma. Los resultados detallados se muestran en la tabla 1. Se observó que el calibre de la vía aérea a nivel de la prótesis en los animales del grupo 1 era, en valor medio, el 85% del calibre de la tráquea normal, con un rango entre el 80 y el 90%. En el grupo 2 del 67,3% (65 - 80%). En el grupo 3 era del 78,7% (70 - 85%). Y en el grupo 4 del 39% (15 - 60%).

En ningún caso se apreció la presencia de dehiscencia de las suturas o lesiones inflamatorias excrecentes, como granulomas.

En los casos en los que existía reducción del calibre, esta parecía debida al crecimiento de tejido de aspecto fibroso-cicatricial en el interior de la vía aérea.

De los animales que fallecieron de forma inesperada, en tres existía una estenosis significativa de la vía aérea, en uno no se pudo determinar la causa del fallecimiento (R16) y en los dos restantes no se pudo hacer un examen de la vía aérea por deterioro de las muestras.

Un animal (R3) fue sacrificado por disnea. En el estudio de la vía aérea se encontró una estenosis significativa de la luz, siendo muy similar al del resto de animales.

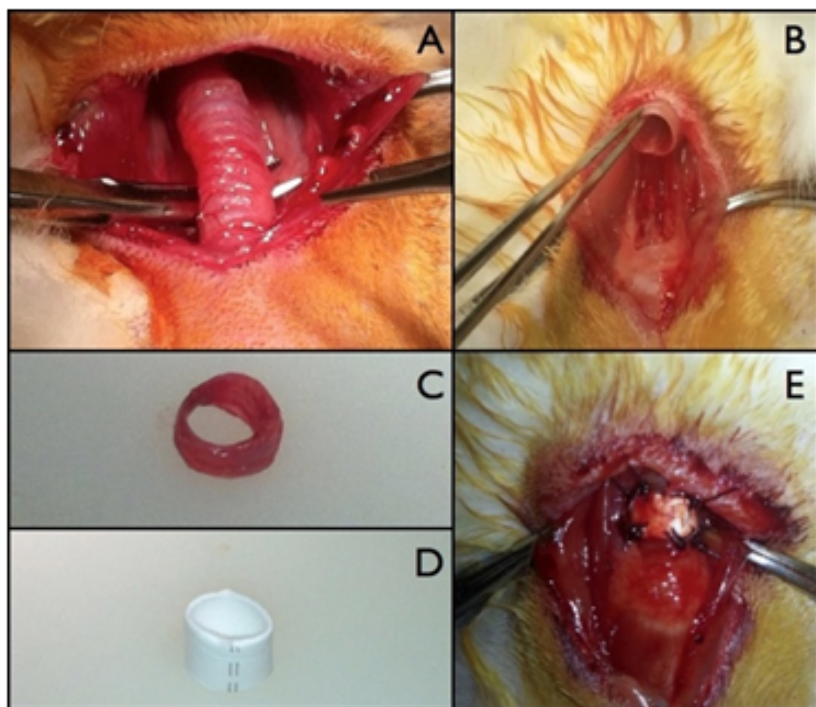


Figura 1. Tráquea del animal de experimentación completamente disecada (A) y una vez resecaado un segmento (B). Segmento resecaado (C) y prótesis de la misma longitud para sustituirlo (D). Anastomosis finalizada. Se aprecia que se ha restituido la continuidad d la vía aérea con la endoprótesis (E).

Tabla 1. Resumen de los resultados inmediatos y a largo plazo del implante. Se muestran los conejos numerados en orden de intervención. Grupo al que pertenecían, comentarios del seguimiento (seguimiento), tiempo de total de implantación y el porcentaje de luz de la vía aérea a nivel de la prótesis comparándolo con el calibre de la tráquea normal.

Conejo	Grupo	Seguimiento	Seguimiento (días)	Calibre macro
R1	1	Exitus en quirófano.	-	-
R2	1	Exitus inesperado. Muestras deterioradas.	-	-
R3	1	Sacrificio precoz. Disnea.	27	85%
R4	1	Exitus en quirófano.	-	-
R5	1	Exitus en quirófano.	-	-
R6	1	Sacrificio programado.	45	85%
R7	1	Sacrificio programado.	45	80%
R8	1	Sacrificio programado.	45	85%
R9	1	Sacrificio programado.	45	90%
R10	2	Sacrificio programado.	45	80%
R11	2	Exitus en quirófano.	-	-
R12	2	Sacrificio programado.	45	70%
R13	2	Sacrificio programado.	45	40%
R14	2	Exitus en quirófano.	-	-
R15	2	Sacrificio programado.	45	65%
R16	3	Exitus inesperado.	24	80%
R17	3	Sacrificio programado.	90	80%
R18	3	Sacrificio programado.	90	70%
R19	3	Sacrificio programado.	90	85%
R20	3	Exitus inesperado. Muestras deterioradas.	-	-
R21	4	Sacrificio programado.	90	60%
R22	4	Sacrificio programado.	90	60%
R23	4	Exitus inesperado.	63	30%
R24	4	Exitus inesperado.	56	30%
R25	4	Exitus inesperado.	81	15%

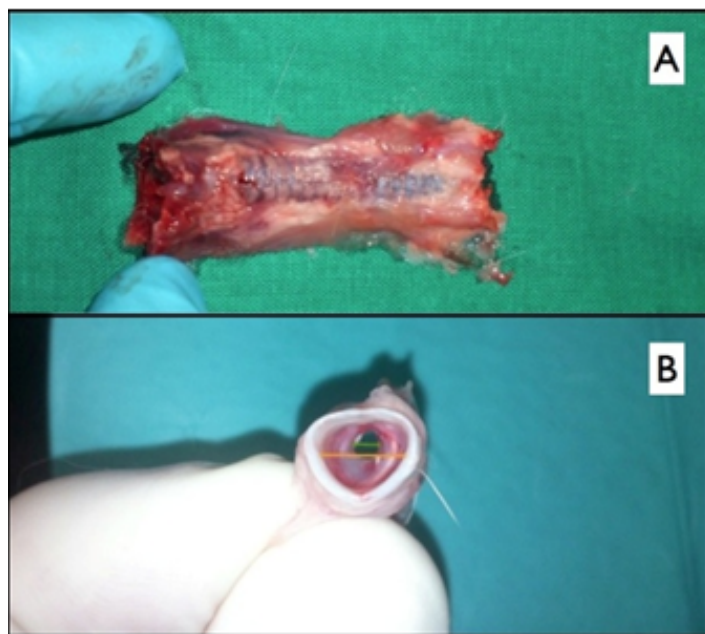


Figura 2. Extracción traqueal en bloque (A). Se pueden ver los anillos traqueales rodeados de tejido. La prótesis, algo más amarillenta, en la zona central. A la izquierda está la laringe y el extremo distal traqueal a la derecha. Toma de medidas macroscópicas (B). Comparación de la luz traqueal en el segmento traqueal inmediatamente antes de la prótesis (línea naranja) y en la prótesis (línea verde).

Estudio de las modificaciones histológicas de las muestras.

Tras la inclusión en parafina, corte y tinción de las muestras obtenidas (imagen 3), se realizó un examen de la celularidad para evaluar el grado de integración de la prótesis y la colonización celular. En la tabla 2 se recogen los datos obtenidos del análisis anato-mopatológico de cada una de las muestras, puntuando cada grupo celular de acuerdo a la escala propuesta.

Tres de las muestras (R15, R18 y R25) se degradaron en el proceso de fijación y corte al desprenderse la prótesis de la pared, por lo que no fue posible evaluar los resultados.

La pérdida de muestras y los fallecimientos prematuros en los distintos grupos hace complicada la interpretación. Sin embargo, los datos obtenidos parecen indicar que en el grupo 1, con menor extensión de prótesis y corta duración temporal, predominan los fenómenos inflamatorios. En el grupo

2, con misma duración y prótesis larga, se aprecian signos de granulación y fibrosis. En el grupo 3 solo dos animales concluyeron el periodo de estudio, pero sus muestras parecen mostrar inflamación en fases avanzadas y fibrosis. Finalmente, en el grupo 4, con implante largo y duración prolongada, el hallazgo fundamental es la fibrosis. En este último grupo, dos de los animales fallecieron antes del periodo previsto (a los 63 y 56 días del implante). No obstante, el examen his-tológico mostró similares resultados que en los animales que fueron sacrificados a los 90 días.

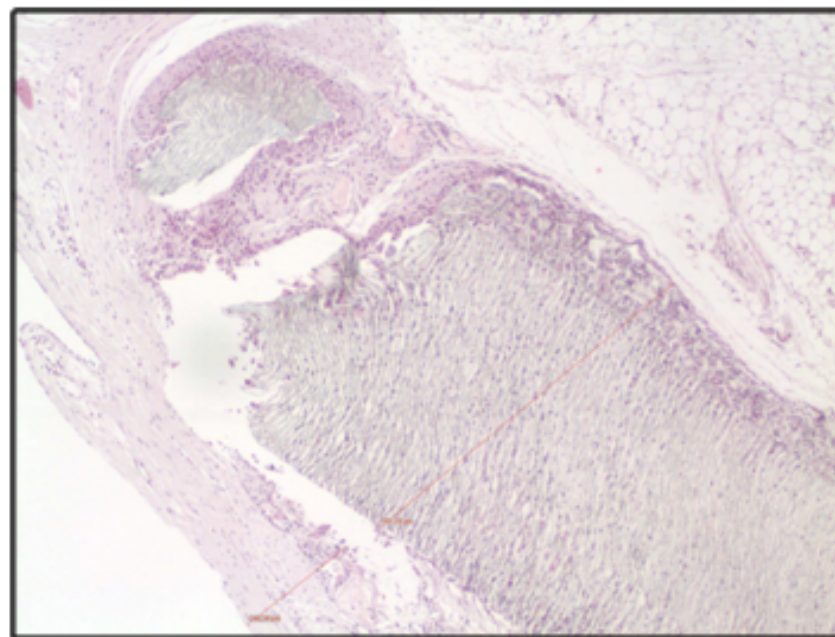


Figura 3. Estudio histológico con microscopía óptica de la prótesis y el tejido de la vía aérea. Se aprecia celularidad rodeando y en el seno de la prótesis (grisácea). En rojo están las medidas para valorar, posteriormente, la reducción de calibre de la vía aérea.

Tabla 2. Evaluación de la celularidad presente en las muestras. Evaluación según la escala propuesta para el estudio (0 - celularidad ausente, 1 - leve, 2 - moderado, 3 - intensa). Se realiza una interpretación histológica correlacionando los hallazgos celulares con las diferentes fases de la cicatrización.

	Grupo	PMN	Eosinóf	Linfopl	C. Gig	Fibrosis	Úlcera	Interpretación Histológica
R3	1	0	0	0	1	2	0	Tej. Granulac. Fibrosis mod.
R6	1	0	0	1	0	2	0	Fibrosis inicial.
R7	1	2	1	0	0	0	0	Inflamación moderada.
R8	1	0	0	1	0	1	1	Tej. Granulac. Fibrosis inicial.
R9	1	0	0	1	0	1	2	Tej. Granulac. Fibrosis inicial.
R10	2	0	0	2	1	2	0	Tej. Granulac. Fibrosis mod.
R12	2	1	1	1	0	0	0	Inflamación moderada.
R13	2	0	0	0	0	3	0	Fibrosis severa.
R15	2	-	-	-	-	-	-	
R16	3	3	3	1	0	1	3	Inflamación intensa.
R17	3	0	0	1	2	2	0	Tejido granulac.
R18	3	-	-	-	-	-	-	
R19	3	0	0	0	0	3	0	Fibrosis severa.
R21	4	0	0	1	1	1	1	Tej. Granulac. Fibrosis inicial.
R22	4	0	0	0	0	3	0	Fibrosis severa.
R23	4	0	0	0	0	2	0	Fibrosis moderada.
R24	4	0	0	0	1	2	0	Fibrosis moderada.
R25	4	-	-	-	-	-	-	

Estudio del calibre de la luz traqueal en la zona de implantación de la prótesis.

Como se muestra en la imagen 3, se han tomado medidas sobre las fotografías de mi-croscopía óptica del espesor de la pared de la vía aérea, tanto normal como en la zona de la implantación de la prótesis.

En la tabla 3 se detallan las medidas tomadas, así como la reducción de calibre en valores numéricos y su expresión en la escala de estenosis utilizada.

No fue posible realizar las determinaciones en las muestras degradadas en el proceso de fijación, tinción y corte.

Al examinar las muestras válidas, se apreciaron unos medidas bastante heterogéneas en el espesor de la pared de la tráquea normal, a pesar de ser animales de la misma raza y peso similar, con un valor medio de 285,4 μ m y un rango

entre 200 y 436 μ m.

Los valores a nivel de la prótesis también fueron muy variables (entre 601 y 1.007 μ m) y sin diferencias entre los distintos grupos.

La diferencia entre el calibre normal y en la zona de la prótesis se sitúa entre los 309 y 604 μ m, igualmente sin variación entre los grupos.

Sin embargo, a pesar de la gran variabilidad en las medidas e independientemente del tiempo o la longitud en todos los casos, el aumento de grosor de la pared traqueal atribuido a los fenómenos inflamatorios o cicatriciales atribuibles al implante fue igual o inferior al milímetro. Estos datos no coinciden con los del análisis macroscópico de la luz de la vía aérea, pero es preciso señalar que reflejan únicamente la determinación del grosor de la pared, sin tener en cuenta la deformación que sufre globalmente el implante que, durante su integración en el tejido, se retrae parcialmente disminuyendo su calibre.

Tabla 3. calibres determinados en las muestras tisulares. Grosor de la pared de la tráquea normal (T), grosor de la prótesis y tejido periprotésico (Prótesis), diferencia entre ambos (Dif = Prótesis - T). Reducción del calibre (Dif x 2) y grado de estenosis considerando un calibre normal de 6 mm.

	T (μ m)	Prótesis (μ m)	Dif. (μ m)	Red. calibre(mm)	Grado Estenosis
R3	235	630	395	0.79	Leve
R6	230	680	450	0.9	Leve
R7	200	601	401	0.8	Leve
R8	286	677	391	0.78	Leve
R9	281	693	412	0.82	Leve
R10	375	866	491	0.98	Leve
R12	201	639	438	0.87	Leve
R13	224	628	404	0.8	Leve
R15	-	-	-	-	-
R16	314	920	606	1.21	Leve
R17	241	701	460	0.92	Leve
R18	-	-	-	-	-
R19	397	706	309	0.62	Leve
R21	270	689	419	0.84	Leve
R22	239	674	435	0.87	Leve
R23	358	962	604	1.2	Leve
R24	436	1007	571	1.14	Leve
R25	-	-	-	-	-

DISCUSIÓN

Respecto a los aspectos puramente técnicos de la técnica quirúrgica, la intervención fue realizada de una forma muy similar a como se realizan las resecciones traqueales en humanos con la diferencia que, en vez de realizar una anastomosis término-terminal tras la resección, se interpuso una prótesis sintética. Es una técnica quirúrgica que se puede llevar a cabo sin grandes problemas en estos animales de experimentación, con una metodología fácil de reproducir.

Cinco de los animales fallecieron durante la intervención quirúrgica o en los minutos inmediatamente posteriores. En dos de ellos no fue posible esclarecer la causa de la muerte. Sin embargo, las burbujas rosadas a través de la tráquea observadas en los otros tres son compatibles con el desarrollo de edema pulmonar relacionado, en algunos casos, con el uso de anestésicos o con el propio estrés ocasionado por la agresión quirúrgica. Cuatro de estos fallecimientos se produjeron en los primeros 5 animales del estudio, de forma que la elevada mortalidad inicial se pueden atribuir directamente a las curvas de aprendizaje tanto de la técnica quirúrgica como la anestésica.

A pesar del estrecho seguimiento al que fueron sometidos los animales, siete fallecieron de forma inesperada y, al extraer las muestras, tres estaban demasiado deterioradas para poder realizar estudios fiables. Al revisar el proceso, la única causa plausible para la pérdida de las muestras es un fallo en el sistema de refrigeración de los cadáveres. Al examinar la vía aérea de los otros cuatro animales, observamos que en tres de ellos existía una estenosis importante (superior al 30%) y, sin embargo, no existieron signos de estrés que orientasen a algún problema concreto. La ausencia de síntomas probablemente fue debida a la escasa actividad física que tienen los animales estabulados. En futuros estudios realizados en condiciones similares, probablemente sea necesario añadir alguna técnica de imagen o estudio endoscópico para el seguimiento postoperatorio.

Uno de los animales (R8) fue sacrificado antes de la fecha prevista al notar signos de estrés (inmovilidad, no alimentación y estridor). No obstante, el examen de la vía aérea no mostró estenosis ni otros problemas locales que justificasen las manifestaciones clínicas. De la misma forma que existen curvas de aprendizaje en las técnicas anestésicas y quirúrgicas, es preciso habituarse a las expresiones clínicas del periodo postoperatorio para interpretarlas correctamente.

La elevada mortalidad experimentada, atribuible a las causas mencionadas,

hacen impensable la traslación directa a la práctica clínica. No obstante, gran parte de los fenómenos que han conducido a la muerte de los animales de experimentación son controlables o evitables, lo que facilitará futuras investigaciones en este campo.

En el examen macroscópico de las muestras obtenidas tras el sacrificio de los animales, no se han apreciado complicaciones técnicas postoperatorias, como dehiscencias o granulomas. Se observó un buen grado de adhesión de la prótesis en el tejido cervical, sin infección aparente o colecciones líquidas periprotésicas.

La luz de la vía aérea se mantiene con buen calibre en los animales en los que se sustituyeron 5 mm de vía aérea (grupos 1 y 3), con un 85% de media de luz residual en el grupo de 45 días y 78,7% en el grupo de 90 días. Al sustituir 10 mm el porcentaje de luz residual disminuye de forma llamativa al 67% en el grupo 2. Al mantener la prótesis más tiempo se agrava la estenosis, con una luz del 39% en el grupo 4. Esto puede explicarse que fuese en este grupo donde existiesen más fallecimientos inesperados.

Aunque el número de animales es pequeño, parece haber una clara relación entre la longitud de la vía aérea sustituida y la luz final de la vía aérea de forma que, cuanto mayor es la longitud sustituida, menor es el calibre traqueal final. El tiempo también parece influir en la aparición de un mayor grado de estenosis, siendo la luz traqueal menor en los grupos en los que se mantuvo 90 días, frente a los grupos de 45 días. Este efecto temporal, probablemente, es debido a los cambios histológicos con la aparición de fibrosis y retracción de la prótesis.

Así pues, la sustitución de segmentos cortos de la vía aérea por prótesis sintéticas parece ser más segura y con mejores resultados en cuanto a calibre final. No siéndolo en segmentos largos, donde se producen estenosis significativas.

En el examen histológico se apreció que los rangos temporales establecidos para el sacrificio de los animales se corresponden bastante bien con las etapas de la cicatrización. Así, los animales sacrificados antes de los 45 días muestran signos inflamatorios claros, a los 45 presentan, de forma predominante, tejido de granulación y a los 90 días el tejido que más destaca es el fibrociatricial. No obstante, por los diversos motivos expuestos, ha existido una gran pérdida de muestras, con lo que el número final por grupo ha sido muy limitado, así que esta apreciación necesita ser confirmada aumentando el número de animales del estudio.

Existen varios trabajos en la literatura que apoyan la hipótesis de que la presencia de fibrosis actúa como base para el posterior crecimiento de epitelio respiratorio funcional¹⁵⁻¹⁹. Sin embargo, en ninguno de los animales se ha observado la aparición de epitelio respiratorio sobre el tejido fibroso formado en el interior de la prótesis.

Al estudiar la variación de calibre mediante microscopía óptica es llamativo que, en todos los casos, la disminución atribuible al aumento de grosor de la pared ocasionado por la prótesis y el tejido periprotésico fue de alrededor de un milímetro en todos los casos. Asumiendo una vía aérea de 6 mm, supone únicamente un 16,7% de reducción, lo que no se correlaciona con los hallazgos macroscópicos. Esto es debido a que únicamente se dispuso de una sección longitudinal de la pared de la tráquea y no de la circunferencia concreta. De este modo, no se han tenido en cuenta los cambios estructurales de la prótesis producidos por el colapso de la pared, al tener menor consistencia que la de la vía aérea y a la contracción o retracción del material sintético, observada ampliamente en otros tipos de implantes^{20, 21}. El conjunto de estos tres fenómenos (fibrosis, colapso estructural y retracción) es lo que produce la estenosis observada de forma macroscópica. No obstante, los resultados del examen microscópico son muy alentadores ya que la estenosis debida a la reacción tisular al material de la prótesis es mínima.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hisamatsu C, Maeda K, Tanaka H et al. Transplantation of the cryopreserved tracheal allograft in growing rabbits: effect of immunosuppressant. *Pediatr Surg Int* 2006; 22 (11): 881-885.
2. Schrepfer S, Deuse T, Sydow K et al. Tracheal allograft transplantation in rats: the role of different immunosuppressants on preservation of respiratory epithelium. *Transplant Proc* 2006; 38 (3): 741-744.
3. Gubbels SP, Richardson M, Trune D et al. Tracheal reconstruction with porcine small intestine submucosa in a rabbit model. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006; 134 (6): 1028-1035.
4. Okumus A, Cizmeci O, Kabakas F et al. Circumferential trachea reconstruction with a prefabricated axial bio-synthetic flap: experimental study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2005; 69 (3): 335-344.
5. Martinod E, Seguina A, Pfeuty K et al. Long-term evaluation of the replacement of the trachea with an autologous aortic graft. *Ann Thorac Surg* 2003; 75 (5): 1572-1578.
6. Azorin JF, Bertin F, Martinod E et al. Tracheal replacement with an aortic autograft. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006; 29 (2): 261-263.
7. Feito BA, Rath AM, Kambouchner M et al. Replacement of a Tracheal Segment by a Mixed Graft (Aorta and Prosthesis): an Experimental Study in Rabbits. *Eur J Surg* 1999; 165: 1175-1181.
8. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet* 2008; 13 (372): 2023-2030.
9. Shin YS, Choi JW, Park JK et al. Tissue-engineered tracheal reconstruction using mesenchymal stem cells seeded on a porcine cartilage powder scaffold. *Ann Biomed Eng* 2015; 43 (4): 1003-1013.
10. Dikina AD, Strobel HA, Lai BP et al. Engineered cartilaginous tubes for tracheal tissue replacement via self-assembly and fusion of human mesenchymal stem cell constructs. *Biomaterials* 2015; 52: 452-462.
11. Schultz P, Vaultier D, Charpiot A et al. Development of tracheal prostheses made of porous titanium: a study on sheep. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007; 264 (4): 433-438.
12. Sotres-Vega A, Villalba-Caloca J, Jasso-Victoria R et al. Cryopreserved tracheal grafts: a review of the literature. *J Invest Surg* 2006; 19 (2): 125-135.
13. Walluscheck KP, Bierkandt S, Brandt M et al. Infrainguinal ePTFE vascular graft with bioactive surface heparin bonding- first clinical results. *Journal of Cardiovascular Surgery* 2005; 46 (4): 425-430.
14. Muñoz JA, Barbeito J, De los Ríos F et al. ¿Es viable un segmento traqueal autoinjertado sin pedículo vascular? Modelo experimental en conejos. *Rev HUcba* 2007; I (3): 7-13.
15. Muñoz JA, Barbeito J, De los Ríos F et al. ¿Es viable un segmento traqueal autoinjertado sin pedículo vascular? Modelo experimental en conejos. *Rev HUcba* 2007; I (3): 7-13.
16. Acocella F, Brizzola S, Valtolina C et al. Prefabricated tracheal prosthesis with partial biodegradable materials: a surgical and tissue engineering evaluation in vivo." *Journal of biomaterials science. Polymer edition* 18.5 (2007): 579.
17. Chopra D P, Kern R C, Mathieu P A et al. Successful in vitro growth of human respiratory epithelium on a tracheal prosthesis. *The Laryngoscope* 1992; 102 (5): 528.
18. Sittinger M, Reitzel D, Hierlemann H et al. Reabsorbable polyesters in cartilage engineering: affinity and biocompatibility of polymer fiber structures to chondrocytes. *Biomed Mater Res* 1996; 33 (2): 57-63.
19. Hickey M J, Wilson Y, Hurley J V et al. Mode of vascularization of control and basic fibroblast growth factor-stimulated prefabricated skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1998; 101 (5): 1296 - 1304.
20. González R, Fugate K, McCluskey D 3rd et al. Relationship between tissue in-growth and mesh contraction. *World J Surg* 2005; 29 (8): 1038 -1043.
21. Klinge U, Park JK, Klosterhalfen B. "The ideal mesh?". *Pathobiology* 2013; 80 (4): 169 -175.