

Trasplante experimental de tráquea cervical combinado con la aplicación de factor de crecimiento de fibroblastos

J. RAÚL OLMOS-ZÚÑIGA*
VÍCTOR EGUIZA-RUBÍ*
ROGELIO JASSO-VICTORIA*
AVELINA SOTRES-VEGA*
MIGUEL GAXIOLA-GAXIOLA*
J. ALFREDO SANTIBÁÑEZ-SALGADO*
MATILDE BALTAZARES-LIPP*
PATRICIO SANTILLÁN-DOHERTY†
JAIME VILLALBA-CALOCA*

* Departamento de Cirugía Experimental, INER Ismael Cosío Villegas.

† Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición "Salvador Zubirán".

Trabajo recibido: 05-VI-2006; aceptado: 07-VIII-2006

172

RESUMEN

Antecedentes: El trasplante traqueal de longitudes mayores a 6 cm de longitud ha fallado por complicaciones isquémicas del injerto. Experimentalmente se han utilizado factores de crecimiento y diferentes técnicas quirúrgicas, como la de trasplante traqueal dividido para favorecer la neoformación

Palabras clave: de vasos sanguíneos.

Alotrasplante de tráquea cervical, factor básico de crecimiento de fibroblastos.

Key words: Cervical tracheal allotransplant, basic fibroblast growth factor.

Objetivo: Evaluar la viabilidad, cambios macroscópicos y microscópicos del trasplante de tráquea cervical en perros al utilizar la técnica quirúrgica de trasplante traqueal dividido, combinando la aplicación del factor básico de crecimiento para fibroblastos en los sitios de las anastomosis.

Material y métodos: Se operaron 24 perros que fueron divididos en 4 grupos de estudio: Grupo I (n = 6): Trasplante de 9 anillos de tráquea cervical con la técnica convencional (TTCC); Grupo II (n = 6): TTCC e instilación tópica de factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF) en los sitios de anastomosis; Grupo III (n = 6): Trasplante con la técnica de trasplante dividido (TTCD) y Grupo IV (n = 6): TTCD y aplicación de bFGF. Los animales recibieron triple inmu-

ABSTRACT

Background: Tracheal transplantation of lesions larger than 6 cm fails due to ischemic complications. Growth factors and different surgical techniques, including the divided tracheal graft technique, have been used experimentally to stimulate the neoformation of blood vessels.

Objective: Assessment of the viability and macroscopic and microscopic changes of the cervical transplanted trachea in dogs, using the divided tracheal graft technique, combined with the application of basic fibroblast growth factor (bFGF) on the anastomotic site.

Material and methods: Twenty four mongrel dogs were divided in 4 study groups: Group I (n = 6): Transplantation of 9 cervical tracheal rings with the conventional surgical technique (TCTC). Group II (n = 6): TCTC combined with topical instillation of bFGF at on the anastomotic line. Group III (n = 6): Transplantation of cervical trachea using the divided tracheal graft technique (TCTD), and Group IV (n = 6): TCTD with topical application of bFGF. The animals received triple immunotherapy (azathioprine, methylprednisolone, cyclosporine) and were to have clinical, radiological and endoscopic eva-

nosupresión (azatioprina, metilprednisolona, ciclosporina). Se planearon evaluaciones clínica, radiológica y traqueoscópica durante 4 semanas. Al final del estudio los injertos trasplantados se evaluaron macroscópicamente y microscópicamente.

Resultados: Ningún animal concluyó su tiempo de estudio por disnea grave durante la primera semana del estudio. Macroscópicamente todos los injertos desarrollaron fistulas y necrosis. Microscópicamente mostraron necrosis, inflamación, vasculitis, hemorragia y destrucción del cartilago.

Conclusión: En este estudio encontramos que el trasplante de tráquea cervical mayor a 6 cm, tiene malos resultados con la técnica quirúrgica convencional o dividida e inmunosupresión, así como con y sin la aplicación de bFGF en los sitios de anastomosis.

luation during 4 weeks. At the end of the study, macroscopic and microscopic evaluations of the transplanted grafts were done.

Results: No animal completed the study time due to severe dyspnea during the first postoperative week. Macroscopically all grafts showed necrosis and fistulae formation. Microscopically we observed necrosis, inflammation, vasculitis, hemorrhage and destruction of cartilage in all the grafts.

Conclusion: In this study, tracheal allotransplantation longer than 6 cm with either surgical technique, with immunosuppression, with or without bFGF, is unsuccessful.

INTRODUCCIÓN

El tratamiento de las enfermedades traqueales puede requerir de resección; sin embargo, esto representa un problema ya que si el segmento resecado es largo, puede no haber tejido suficiente para la reconstrucción y se tiene que utilizar una prótesis o realizar un trasplante¹⁻⁶.

Se han utilizado prótesis de titanio, polietileno, silicón, marlex y teflón, sin el buen éxito deseado debido a que permiten fugas de aire, se colapsan y/o no permiten movilizar las secreciones bronquiales⁷.

El trasplante traqueal se ha dificultado por tres causas: preservación, inmunosupresión y revascularización de injerto, esta última, porque al llevar a cabo el trasplante se suprime el aporte sanguíneo originado por plexos y se altera el proceso de cicatrización de la tráquea.

Experimentalmente se ha observado que la máxima longitud traqueal que se puede resecar sin complicaciones son 4 cm (4 ó 5 anillos), pero el trasplante de injertos mayores a 6 cm de largo (8-10 anillos) muestra necrosis, retraso de la cicatrización, estenosis o malacias por isquemia⁸⁻¹². Para tratar de resolver este problema se han utilizado, experimentalmente, colgajos de omento para cubrir los injertos traqueales trasplantados (omentopexia), pero no ha funcionado para trasplantes mayores de 6 cm, debido a que sólo se revascularizan las líneas de sutura, pero no la porción media del injerto¹³. También se ha evaluado

la revascularización directa sin buenos resultados, ya que los vasos anastomosados se obstruyen y el injerto se necrosa^{10,14}.

Yokomise reportó buenos resultados al realizar trasplantes traqueales de segmentos de 10 anillos, utilizando la técnica quirúrgica de trasplante traqueal dividido combinado con omentopexia, la cual consiste en dividir el injerto por trasplantar en dos segmentos a través de su porción media para estimular los *vasa vasorum* y, posteriormente, realizar tres anastomosis de manera convencional (proximal, media y distal) insertando un colgajo de epiplón en la porción media y las dos anastomosis terminales queden envueltas en éste¹⁵.

Otros estudios mencionan que la adición de factores de crecimiento en la zona de las anastomosis tienen buenos resultados, debido a que éstos son potentes promotores de la angiogénesis y su aplicación incrementa la revascularización del injerto^{16,17}.

Con base en lo anterior se pensó en realizar trasplante de tráquea cervical mayor a 6 cm con la técnica de trasplante traqueal dividido, combinado con la aplicación tópica del factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF) para mejorar la viabilidad del injerto.

Objetivo. Evaluar la viabilidad, cambios macroscópicos y microscópicos del trasplante de nueve anillos de tráquea cervical en perros al utilizar la técnica quirúrgica de trasplante traqueal dividido, combinando la aplicación del bFGF en los sitios de las anastomosis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales de experimentación

Se utilizaron 24 perros mestizos de 15 a 18 kg que fueron manejados de acuerdo con las Especificaciones Técnicas para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana¹⁸ y la *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* de Estados Unidos¹⁹.

Grupos de estudio

Los animales fueron divididos en cuatro grupos:

- *Grupo I* (n= 6): trasplante de tráquea cervical con la técnica convencional de trasplante traqueal (anastomosis término-terminal).
- *Grupo II* (n= 6): trasplante de tráquea cervical convencional; se instiló bFGF en los sitios de anastomosis.
- *Grupo III* (n= 6): trasplante de tráquea cervical con la técnica de trasplante dividido (anastomosis término-terminal y medial).
- *Grupo IV* (n= 6): trasplante traqueal cervical dividido, con aplicación de bFGF en los sitios de anastomosis.

Técnicas quirúrgicas

Se operaron simultáneamente dos animales a los que se les practicó trasplante traqueal; se procuró un segmento de 10 anillos en los dos animales, y se trasplantó un segmento de nueve anillos a cada uno de ellos.

Anestesia

Todos los animales se sometieron a anestesia general con 0.1 mg/kg de hidrocloreto de xilacina (Rompun; Bayer, Leverkusen, Alemania) y 6 mg/kg de propofol (Diprivan; Astra Zeneca, Estado de México, México) vía intravenosa (i.v) e inmediatamente después se les aplicaron 28 mg/kg i.v de dipirona (Alnex; Pisa, Hidalgo, México) como analgésico^{20,21}. Se colocaron sobre la mesa de cirugía en posición decúbito dorsal y se intubaron con una sonda orotraqueal (Endotracheal tube; Rush, Kamunting, Malasia); la anestesia se

mantuvo con isoflurano al 1.5% (Dorin; Halocarbon, Augusta, EU). Al momento de estar realizando las anastomosis se introdujo otra cánula en la porción distal de la tráquea para mantener la ventilación y anestesia.

Obtención del segmento traqueal

Se realizó una incisión media en la región cervical ventral, se disecó el tejido celular subcutáneo, platismo y planos musculares hasta llegar a la tráquea. Ésta se disecó en toda su circunferencia y se le resecó un segmento de diez anillos, los cuales se sumergieron en solución salina fisiológica y se procedió a trasplantarlos, previa toma de un anillo traqueal como control en la evaluación microscópica.

Trasplante

En los cuatro grupos de estudio se llevó a cabo la misma técnica de procuración. En el grupo I y II se anastomosó el segmento con los nueve anillos restantes con puntos separados de sutura absorbible de polidioxanona 4-0 (PDS; Ethicon, New Jersey, EU), primero la anastomosis proximal y luego la distal (Figura 1a).

En los grupos III y IV (trasplante dividido), el segmento procurado se dividió en su porción media y se anastomosó *ex vivo*; concluida ésta, se inició con la anastomosis proximal y finalizó con la porción distal de la tráquea, utilizando puntos separados y el mismo material de sutura que en los grupos I y II (Figura 1b). Se realizó cierre convencional en los cuatro grupos finalizado el alo-trasplante.

En el postoperatorio, a todos los animales les fue administrado analgésico (dipirona 28 mg/kg, Alnex; Pisa, Hidalgo, México) y antibiótico (5 mg/kg vía i.m enrofloxacin, Baytril; Bayer, Shawnee, KS, EU) por siete días^{20,21}.

Aplicación del factor de crecimiento de fibroblastos

Se administró por traqueoscopia bajo anestesia general, inmediatamente después de la cirugía y cada siete días hasta la cuarta semana. El bFGF (basic fibroblast growth factor from bovine pitui-

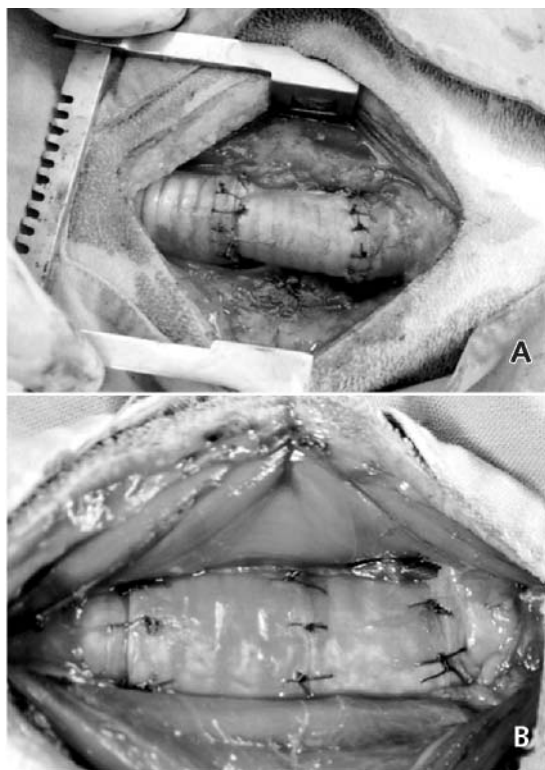


Figura 1. Alotrasplante de tráquea cervical con la técnica quirúrgica convencional (A) y con la técnica de trasplante traqueal dividido (B).

tary glands; Sigma St Louis, MS, EU) se instiló en cada anastomosis a dosis de $2.5 \mu\text{g}$ diluidos en 1 mL de solución salina fisiológica (SSF), dosis utilizada en trasplantes¹⁶.

Inmunosupresión

Todos los animales deberían recibir 2 mg/kg/día de azatioprina (Imuran; Glaxo Smith Kline, Londres, Inglaterra), 2 mg/kg/día de metilprednisolona (Meticorten; Schering-Plough, DF., México), más 15 mg/kg/día de ciclosporina A (Sandimmun Neoral; Novartis, Basilea, Suiza) durante las cuatro semanas del estudio^{8,22,23}.

Evaluación clínica

Se realizó diariamente durante la primera semana postoperatoria y cada tercer día el tiempo res-

tante del estudio. Se evaluó la presencia de estridor, infección, sangrado de la herida cervical y disnea, de acuerdo con una escala modificada a la utilizada por la Medical Research Council²⁴, según la severidad de ésta: 0= sin disnea después de correr; 1= disnea después de correr; 2= disnea en reposo.

Evaluación radiográfica

Se tomaron radiografías laterales de cuello antes, e inmediatamente después de la cirugía, diariamente la primera semana postrasplante y cada semana hasta que finalizó el estudio para valorar la continuidad e integridad del injerto traqueal trasplantado.

Evaluación traqueoscópica

Se realizó traqueoscopia, antes y después de cirugía a diario durante la primera semana postcirugía, cada tercer día en la segunda semana postrasplante y cada siete días al aplicar el tratamiento el resto del estudio, evaluando cicatrización, dehiscencia, infección y formación de fístulas o estenosis. Los procedimientos se videograbaron y compararon con los de las traqueoscopías control. La estenosis se valoró de acuerdo con la escala descrita por Cotton²⁵.

Macroscópica: Al finalizar el estudio los animales se sometieron a eutanasia con sobredosis de pentobarbital sódico (Anestesia; Pfizer, Toluca, México)²¹, y se realizó evaluación macroscópica y microscópica. Macroscópicamente se revisó por dentro y por fuera de la luz traqueal el estado de las anastomosis, cicatrización, dehiscencia, infección, necrosis y formación de fístulas. **Microscópica:** Se tomaron muestras de los sitios de anastomosis y porción media del injerto, se fijaron en formaldehído al 10%, se incluyeron en parafina, se cortaron a 4μ y se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricrómica de Mason. Por microscopia de luz se evaluó la presencia de inflamación, fibrosis, rechazo, fagocitosis, vasos de neoformación, así como la formación de fibras de colágena (para valorar la cicatrización) y se compararon con las muestras control tomadas antes del trasplante.

Análisis estadístico. Se realizó mediante las pruebas de ANDEVA y Kruskal-Wallis. Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados como significativos.

RESULTADOS

Todos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico, pero no al tiempo de estudio establecido. En los cuatro grupos de estudio el promedio de sobrevida fue de 6.6 días con un rango de 5 a 10 días.

Evaluación clínica

Todos los animales (100%) mostraron estridor al tercer día postrasplante. El 100% de los perros presentaron disnea grado 1 al quinto día, que evolucionó a grado 2 entre el sexto y séptimo día postoperatorio; sólo 1 animal del grupo I mostró este cuadro clínico al décimo día postquirúrgico. Al comparar el grado de disnea dentro de cada grupo y entre grupos, ésta no fue significativa (ANDEVA, Kruskal-Wallis $p = NS$).

Al quinto día postrasplante, el 100% de los animales mostró enfisema subcutáneo, exudado purulento en la herida quirúrgica y halitosis severa, con excepción del animal del grupo I que sobrevivió más tiempo y mostró este cuadro clínico al día 8 postoperatorio. Todos los animales se sometieron a eutanasia el día que presentaron disnea grado 2.

Evaluación radiográfica

En todos los grupos, las radiografías de cuello tomadas inmediatamente después del procedimiento quirúrgico, mostraron continuidad y permeabilidad del segmento traqueal trasplantado. Al tercer día se observó disminución de la luz traqueal en el 100%, a excepción del animal del grupo I que sobrevivió 10 días, el cual mostró esta disminución al día 6 postoperatorio.

Veintitrés (95.8%) de los perros operados, presentaron pérdida de la continuidad de la tráquea y enfisema subcutáneo cervical entre el día 5 y 7 postoperatorio. El animal del grupo I con más sobrevida mostró pérdida de la continuidad del injerto al día 10.

Evaluación traqueoscópica

Todas las anastomosis traqueales se observaron permeables y sin anomalías (Figura 2a). Al tercer día, el 100% de las tráqueas trasplantadas presentaron isquemia (Figura 2b).

Al cuarto día, el 95.8%²³ mostró inflamación severa de las anastomosis proximal y distal. En los grupos en los que se llevó a cabo el trasplante con la técnica de trasplante traqueal dividido, las anastomosis medias se observaron normales (Figura 2c).

En todos los animales se observó exudado purulento y formación de fístulas en la porción membranosa de la tráquea a la mitad del injerto trasplantado (Figura 2d) entre el día 5 y 7 postrasplante. En el animal del grupo I con mayor sobrevida, estos hallazgos se observaron al día 10 postcirugía.

Evaluación macroscópica

En todos los perros se observaron necrosis, formación de fístulas en la porción media del injerto traqueal, desprendimiento de los anillos y acumulación de exudado purulento.

Evaluación microscópica. En todos se observaron necrosis, pérdida del epitelio, inflamación con infiltración de linfocitos, vasculitis, hemorragia y destrucción del cartílago (Figura 3).

DISCUSIÓN

El trasplante traqueal puede ser una opción para el tratamiento de las enfermedades traqueales que ameritan resección mayor a 6 cm, pero su realización se ha complicado debido a algunos problemas entre los que sobresale la isquemia del injerto que se refleja en mala cicatrización y, en los casos más graves, necrosis e infección crónica^{9,10,12,14,26,27}. Para resolver este problema realizamos trasplante traqueal dividido combinado con la aplicación de 2.5 μ g de bFGF, diluidos en 1 mL de SSF en los sitios de anastomosis con el fin de incrementar el número de vasos de neoformación y favorecer la viabilidad del injerto traqueal trasplantado.

El estridor que presentaron todos los animales al día tres postcirugía, pensamos que fue ocasionado

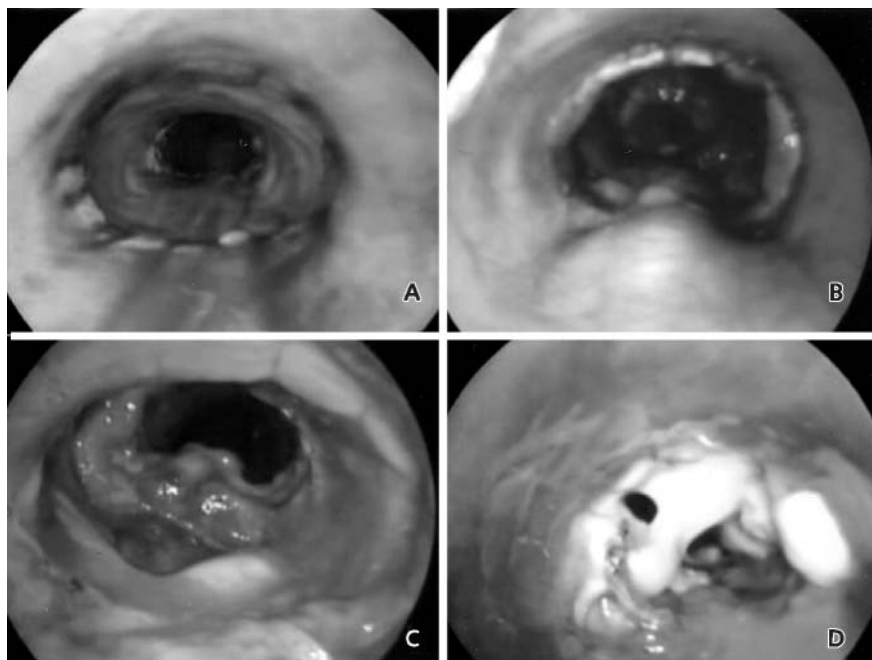


Figura 2. Traqueoscopia de un animal del grupo II en la que se observa: (A) injerto completamente permeable inmediatamente del postrasplante, (B) injerto isquémico al tercer día postoperatorio, (C) inflamación severa al cuarto día postcirugía y (D) necrosis y fistula en el injerto trasplantado al día seis postrasplante.

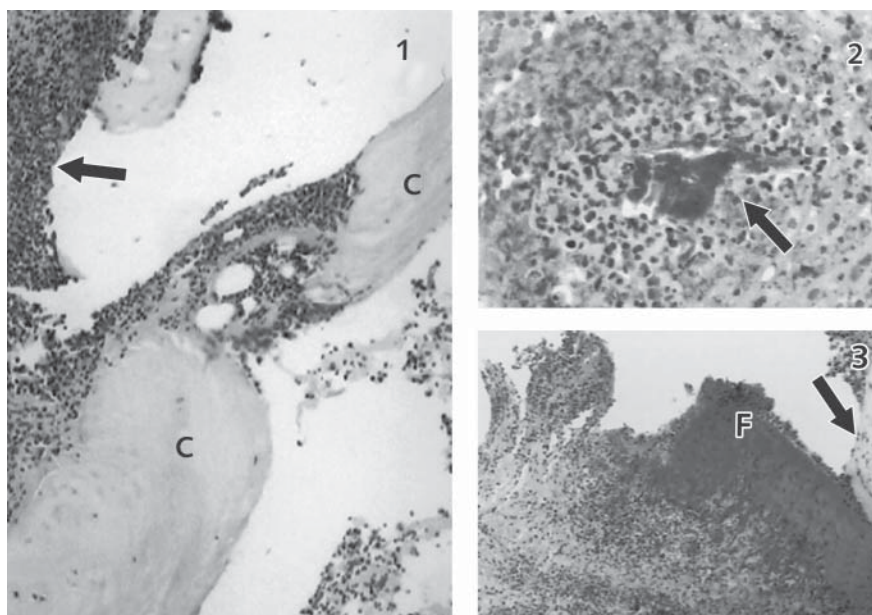


Figura 3. Fotomicrografía de un animal del grupo III que muestra: (1) cartilago destruido y sin condrocitos (C) con abundantes neutrófilos (flecha) (H-e, 10x); (2) vaso central (flecha) con infiltrado linfocitario, necrosis y hemorragia (H-e, 40x) y (3) pericondrio (flecha), fibrina (F), abundantes neutrófilos y hemorragia (H-e, 10x).

nado por la inflamación del injerto que impedía el paso libre de aire hacia los pulmones. La disnea grado 2 que se observó en el 100% de los perros y que condujo a su eutanasia entre el día 5 y 7 después de la cirugía, al correlacionarla con

los hallazgos radiológicos y traqueoscópicos, se puede pensar que se produjo por la necrosis y fistulas en la porción media del segmento traqueal trasplantado. Estos hallazgos coinciden con los que mencionan que la microcirculación de las anastomo-

sis, suministrada por las arterias longitudinales laterales y transversas anteriores intercartilaginosas, no es suficiente y las paredes traqueales se vuelven vulnerables al daño isquémico, lo que desemboca en dehiscencia, fistulas o necrosis después del trasplante traqueal^{28,29}.

Al correlacionar los hallazgos traqueoscópicos, macroscópicos y microscópicos en el momento de la eutanasia, se confirmó que la necrosis y formación de fístula en los cuatro grupos de estudio fue por la falta de un aporte vascular; sin embargo, se ha realizado aplicación tópica del bFGF en autoinjertos traqueales colocados en el tejido subcutáneo, observando incremento de la vascularización y mejoría de la preservación de epitelio^{16,30}. Lo observado en este trabajo tampoco coincide con lo descrito por otros autores, que han estudiado la cicatrización traqueal y rechazo en trasplantes experimentales¹⁰, así como la cicatrización bronquial y el papel de la omentopexia en el trasplante pulmonar^{27,31} observando adecuada revascularización y cicatrización de los injertos.

Los hallazgos observados en nuestro estudio pueden deberse: a) se realizó alotrasplante, b) dosis empleada de bFGF, c) vehículo utilizado para su aplicación y d) uso de inmunosupresión, ya que otros autores describieron que la administración de 5 a 10 µg de bFGF aplicados en conjunto con pegamento de fibrina en un modelo de autotrasplante traqueal sin inmunosupresión, favorece la revascularización y reepitelización de los injertos³².

CONCLUSIONES

En este estudio, parte de una línea de investigación en trasplante traqueal, se concluye que no es viable realizar el trasplante inmediato de tráquea cervical con la técnica de trasplante traqueal dividido realizando tres anastomosis, combinada con la aplicación del bFGF en los sitios de anastomosis a las dosis de 2.5 µg para favorecer la revascularización y cicatrización en las áreas de sutura del injerto trasplantado, sobre todo en su porción central.

Se tienen que realizar más estudios con alotrasplantes utilizando la misma técnica y diferentes dosis de bFGF hasta encontrar la dosis óptima, además de valorar si los inmunosupresores afectan su actividad.

REFERENCIAS

1. **Netter FH.** *Colección Ciba de ilustraciones sobre anatomía y embriología, fisiología, anatomía patológica, síntomas clínicos y tratamiento de enfermedades.* Sistema Respiratorio. Barcelona España: Salvat Editores;1984. p.117-118.
2. **Kunachak S, Kulapaditharom B, Vajaradul Y, Rochanawutanon M.** *Cryopreserved, irradiated tracheal homograft transplantation for laryngotracheal reconstruction in human beings.* *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;122:911-916.
3. **Tojo T, Niwaya K, Sawabata N, Nezu K, Kawachi K, Kitamura S.** *Tracheal allogenic immunoresponse is reduced by cryopreservation: canine experiment.* *Transplant Proc* 1996;28:1814-1815.
4. **Torres TRS, Santillán DP, Salazar FM, et al.** *Resección y doble anastomosis traqueal. Estudio experimental.* *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 1991;4:9-14.
5. **Shaari CM, Farber D, Brandwein MS, Gannon P, Urken ML.** *Characterizing the antigenic profile of the human trachea: implications for tracheal transplantation.* *Head Neck* 1998;20:522-527.
6. **Yokomise H, Inui K, Wada H, Ueda M, Hitomi S.** *Tracheal transplantation in dogs for future clinical application.* *Transplant Proc* 1996;28:1763-1764.
7. **Torres T, Santillán P, Sotres A, et al.** *Criopreservación de tráquea. Estudio Experimental.* *Neumol Cir Torax Mex* 1991;1:8-14.
8. **Davies OG, Edmiston JM, McCorkle HJ.** *The repair of experimental tracheal defects with fresh and preserved homologous tracheal grafts.* *J Thorac Surg* 1952;23:367-376.
9. **Salmeron J, Gannon PJ, Blackwell KE, Shaari CM, Urken ML.** *Tracheal transplantation: superior and inferior thyroid artery perfusion territory.* *Laryngoscope* 1998;108:849-853.
10. **Delaere PR, Liu Z, Feenstra L.** *Tracheal autograft revascularization and transplantation.* *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;120:1130-1136.
11. **Rose KG, Sesterhenn K, Wustrow F.** *Tracheal allotransplantation in man.* *Lancet* 1979;1:433-436.
12. **Delaere PR, Liu ZY, Hermans R, Sciort R, Feenstra L.** *Experimental tracheal allograft revascularization and transplantation.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;110:728-737.
13. **Park YS, Lee DY, Paik HC, Bae KM, Cho SH.** *The role of omentopexy in tracheal transplantation in dogs.* *Yonsei Med J* 1996;37:118-124.
14. **Lenot B, Macchiarini P, Darteville P.** *Tracheal transplantation: an experimental technique with revascularization and venous drainage.* *Transplant Proc* 1995;27:1684-1685.
15. **Yokomise H, Inui K, Wada H, Ueda M, Hitomi S, Itoh H.** *Split transplantation of the trachea: a new operative procedure for extended tracheal resection.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112:314-318.
16. **Albes JM, Klenzner T, Kotzerke J, Thiedemann KU, Schafers HJ, Borst HG.** *Improvement of tracheal autograft revascularization by means of fibroblast growth factor.* *Ann Thorac Surg* 1994;57:444-449.

17. **Gospodarowicz D, Neufeld G, Schweigerer L.** *Fibroblast growth factor: structural and biological properties.* J Cell Physiol Suppl 1987; Suppl 5:15-26.
18. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.* Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos. AFÍA 6 diciembre, 1999.
19. **National Institutes of Health USA.** *Guía Para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio.* Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health USA. Edición mexicana auspiciada por la Academia Nacional de Medicina. México, DF., 2002.
20. **Insel P.** *Analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios, y fármacos antigotosos.* En: **Goodman A, editor.** *Las bases farmacológicas de la terapéutica.* México: McGraw-Hill; 1996. p.661-705.
21. **Academy of Surgical Research.** *Course of Animal Anesthesia and Models.* Memories of the Course of Animal Anesthesia and Models of the 12 th Annual Meeting and 1st International Conference of the Academy of Surgical Research; October 1996: Münster, Germany. Academy of Surgical Research, 1996.
22. **Santillán-Doherty P, Jasso-Victoria R, Gaxiola M, et al.** *Protección de la anastomosis bronquial con colgajo de omento en el trasplante pulmonar unilateral.* Rev Invest Clin 1989;41:117-122.
23. **Santillan-Doherty P, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, et al.** *Pulmonary perfusion during lung transplant rejection and experimental pneumonia.* Transplantation 1992;53:533-535.
24. **American Thoracic Society.** *Task Group on Screening For Respiratory Disease in Occupational Settings.* Am Rev Respir Dis 1982;126:952-956.
25. **Myer CM 3rd, O'Connor DM, Cotton RT.** *Proposed grading system for subglottic stenosis based on endotracheal tube sizes.* Ann Otol Rhinol Laryngol 1994;103(4 Pt 1):319-323.
26. **Soda MA, Delgado A, Morales J.** *Manejo quirúrgico de las estenosis traqueales.* Gac Med Mex 1994; 130:386-389.
27. **Morgan E, Lima O, Goldberg M, Ferdman A, Luk SK, Cooper JD.** *Successful revascularization of totally ischemic bronchial autografts with omental pedicle flaps in dogs.* J Thorac Cardiovasc Surg 1982; 84:204-210.
28. **Yokomise H, Inui K, Wada H, Ueda M, Hitomi S, Itoh H.** *Split transplantation of the trachea: a new operative procedure for extended tracheal resection.* J Thorac Cardiovasc Surg 1996;112:314-318.
29. **Salassa JR, Pearson BW, Payne WS.** *Gross and microscopical blood supply of the trachea.* Ann Thorac Surg 1977;24:100-107.
30. **Dodge-Khatami A, Backer CL, Holinger LD, Mavroudis C, Cook KE, Crawford SE.** *Healing of a free tracheal autograft is enhanced by topical vascular endothelial growth factor in an experimental rabbit model.* J Thorac Cardiovasc Surg 2001;122:554-561.
31. **Shennib H, Massard G.** *Airway complications in lung transplantation.* Ann Thorac Surg 1994;57:506-511.
32. **Nakanishi R, Nagaya N, Yoshimatsu T, Hanagiri T, Yasumoto K.** *Optimal dose of basic fibroblast growth factor for long-segment orthotopic tracheal autografts.* J Thorac Cardiovasc Surg 1997;113:26-36.

Correspondencia:

MC. J. Raúl Olmos-Zúñiga. Departamento de Investigación en Cirugía Experimental, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas. Calzada de Tlalpan 4502, colonia Sección XVI. México, DF., 14080. Teléfono (52)(55) 56 664539 extensión 180; fax: (52)(55) 56668352
 Correo electrónico: raolzu@yahoo.com

