

La perfusión tisular del donante mejora la conservación del injerto en el trasplante traqueal heterotópico

M.F. Jiménez, A. Gómez-Alonso^a, G. Varela, M.D. Ludeña^b y J. García-Criado^a

Sección de Cirugía Torácica. ^aDepartamento de Cirugía. ^bDepartamento de Biología Celular y Patología. Hospital Universitario y Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.

El objetivo de este estudio ha sido valorar el efecto de la perfusión con solución de Collins de los tejidos peritraqueales del donante antes de la extracción y la inmunosupresión del receptor sobre la conservación de la tráquea trasplantada.

Se realizó un estudio experimental en 36 conejos albinos con injertos traqueales en situación heterotópica cervical revascularizados con epiplón. Los animales se dividieron en 4 grupos: a los del grupo I (n = 9) y III (n = 9) se les trasplantó un injerto traqueal de donante no perfundido y a los animales de los grupos II (n = 9) y IV (n = 9) se les trasplantó un injerto de donante perfundido con solución de Collins. Se realizó terapia inmunosupresora con esteroides y ciclosporina durante 21 días en los grupos III y IV. Se evaluó mediante microscopía óptica el grado de inflamación o necrosis de la circunferencia traqueal en la porción medial y se estableció una gradación de la lesión traqueal de 0 a 9, mediante la suma del grado de lesión en mucosa, submucosa y cartilago.

El grupo IV presentó una valoración media de la lesión traqueal, inferior a la del resto de los grupos, con una probabilidad de azar menor del 5%.

La perfusión con solución de Collins de los tejidos peritraqueales del donante junto a la terapia inmunosupresora disminuye la lesión de la tráquea trasplantada.

Palabras clave: *Trasplante traqueal. Solución de Collins. Inmunosupresión.*

Arch Bronconeumol 1997; 33: 572-576

Introducción

Para resolver de forma eficaz las lesiones traqueales extensas se han intentado numerosos métodos. El trasplante traqueal es el que podría solucionar mejor los problemas de los pacientes con lesiones extensas no neoplásicas de la vía aérea, ya que representaría una solución definitiva y sin necesidad de prótesis.

Correspondencia: Dr. M.F. Jiménez.
Sección de Cirugía Torácica. Hospital Universitario.
P.º San Vicente, 58-182. 37007 Salamanca.

Esta investigación se ha financiado en parte por un Premio SEPAR 1995.

Recibido: 17-3-97; aceptado para su publicación: 8-7-97.

Donor tissue perfusion improves graft preservation in heterotopic tracheal transplantation

To assess the effect on tracheal graft preservation of perfusion of donor tissue with a Collins solution before extraction and immunosuppression of the recipient.

An experimental study was performed in 36 albino rabbits with revascularized heterotopic cervical reconstruction of the trachea with omentum. The animals were distributed in four groups. Groups I (n = 9) and III (n = 9) were transplanted with non perfused donor tissue. Animals in groups II (n = 9) and IV (n = 9) received grafts perfused with Collins solution. Immunosuppression with steroids and cyclosporin was continued for 21 days in groups III and IV. In a mid portion of the trachea viewed under optical microscope, the degree of inflammation or circumferential necrosis was assessed on a scale of 0 to 9 by adding the scores for mucosa, submucosa and cartilage.

The mean score for tracheal lesion was lower in group IV, with a likelihood of random difference of less than 5%.

Perfusion of peritracheal tissues with Collins solution in the donor, in addition to immunosuppression decreases the extent of tissue damage in the tracheal graft.

Key words: *Tracheal transplantation. Collins solution. Immunosuppression.*

Se han realizado múltiples estudios para encontrar un sustituto traqueal protésico. Numerosos autores¹⁻³ han experimentado una gran variedad de materiales para reparar grandes defectos traqueales, pero ninguno cumple los requisitos fundamentales de permitir la reepitelización, evitar la formación en exceso de tejido de granulación, la necrosis y dehiscencia y, por último, ser resistente contra la infección. En la mayoría de los modelos experimentales se produce infección crónica, formación de tejido de granulación que obstruye la luz traqueal y disrupción de la anastomosis o erosión de grandes vasos⁴.

También se ha intentado la sustitución traqueal con tejidos autólogos no pediculados: esófago⁵, intestino⁶, cartilago auricular⁷, periostio⁸, pericondrio⁹. Casi todas

estas técnicas son experimentales y su uso clínico ha sido excepcional y con dudosos resultados.

La mayoría de grupos que trabajan en trasplante traqueal experimental coinciden en la importancia de la revascularización del injerto¹⁰⁻¹². Especial importancia tiene también la utilización de inmunosupresión en el receptor¹⁰⁻¹³.

Hemos estudiado el efecto de la perfusión de los tejidos del donante con solución de cristaloides sobre el mantenimiento del injerto traqueal, aspecto sobre el que no hemos encontrado publicaciones.

Material y método

Se han empleado 54 conejos adultos, de ambos sexos, albinos de Nueva Zelanda con pesos comprendidos entre 2.500-4.500 g, 36 fueron utilizados como receptores y los 18 restantes como donantes. Se han observado en todo momento las normas de protección de animales de experimentación (Directiva del Consejo 86/609 de la Unión Europea, recogidas en el Real Decreto 223/1988 de 14 de marzo).

Grupo I: Grupo control constituido por 9 animales. Éstos son sometidos a trasplante alogénico heterotópico de tráquea de un donante al que no se ha realizado perfusión con solución de Collins. No se le pauta al receptor terapia inmunosupresora.

Grupo II: Los 9 animales de este grupo reciben tráquea de donante perfundido con solución de Collins, pero no terapia inmunosupresora.

Grupo III: En este grupo los 9 animales reciben tráquea de donante no perfundido y se efectúa tratamiento inmunosupresor con metilprednisolona mediante un bolo intraoperatorio de 100 mg i.v. y ciclosporina 10 mg/kg/día vía subcutánea durante 21 días.

Grupo IV: Este grupo de 9 animales reciben tráquea de donante perfundido con solución de Collins y se realiza tratamiento inmunosupresor con metilprednisolona, un bolo de 100 mg. i.v. intraoperatorio y ciclosporina 10 mg/kg/día vía subcutánea durante 21 días.

Procedimiento en los donantes

Donantes con perfusión. Todos los donantes fueron premedicados con atropina sulfato (0,10 mg/kg) i.m., ketamina 35 mg/kg i.m. y diazepam 2 mg/kg i.v. El mantenimiento de la anestesia se realizó con pentobarbital sódico 40 mg/kg i.v. Se realizó esternotomía media, apertura del pericardio y disección de la aorta torácica. A continuación se clampó la aorta descendente (a unos milímetros de la salida de la subclavia izquierda) e inmediatamente se introdujo un catéter venoso de calibre 14-G en el tronco de la arteria pulmonar. Seguidamente se inyectaron, a través de la arteria pulmonar, 500 U/kg i.v. de heparina sódica y en ese momento se inició la perfusión de solución de Collins a temperatura entre 0 y 4 °C. Se utilizaron 250 ml a una presión de 100 cmH₂O. Se seccionó la orejuela derecha para drenar el líquido de perfusión.

Una vez realizada la perfusión del donante, se disecó la tráquea y se extirparon 8-10 anillos (4-5 cm). Esta pieza se dividió en dos partes iguales (2-2,5 cm) que se introdujeron en un recipiente estéril con solución de Collins a temperatura entre 0 y 4 °C. El tiempo de isquemia del injerto en ningún caso superó los 30 min.

Donantes sin perfusión. La técnica anestésica fue igual que en el apartado anterior. Una vez anestesiado, el animal era sacrificado con inyección i.v. de pentotal sódico. En el cadáver se

obtuvo el injerto traqueal, también 8-10 anillos mediante cervicotomía. El injerto se dividió igualmente en dos y se conservó entre 0 y 4 °C en suero salino.

Procedimiento en los receptores

Quince minutos antes de comenzar la anestesia, se administraron 200 mg de cefazolina i.m. La técnica anestésica fue igual que en el donante. Se realizó una incisión en la línea media abdominal para extracción del epiplón. A continuación se practicó una cervicotomía media transversal de 2 cm y se tunelizó el tejido subcutáneo hasta conectar esta incisión con la laparotomía. El epiplón se deslizó subcutáneamente hasta la incisión cervical.

Una vez preparado el epiplón, se tomó el injerto de tráquea del donante, que comprendía 4-5 anillos y se le introdujo una sonda estéril de silicona de igual longitud y un calibre algo inferior a la sección traqueal, a modo de tutor¹⁴. El injerto se envolvió en epiplón y se cerraron los extremos con puntos sueltos de Vicryl 3/0.

Se suturó la laparotomía teniendo la precaución de no es-trangular el pedículo del epiplón. Posteriormente se suturó la cervicotomía.

Se administraron cefazolina 400 mg/día i.m. y buprenorfina 0,15 mg/día s.c. durante los 2 días siguientes a la intervención.

Pasados 21 días, los animales que sobrevivieron se anestesiaron de igual forma y se reintervinieron mediante cervicotomía. Se extirparon los injertos traqueales, con el epiplón que los envolvía y se incluyeron en formaldehído tamponado al 10%.

En los grupos III y IV se llevó a cabo inmunosupresión con metilprednisolona, un bolo de 100 mg i.v. intraoperatorio y ciclosporina 10 mg/kg/día por vía subcutánea, hasta el sacrificio del animal. Se realizaron determinaciones basales de ciclosporina los días 7 y 14 postrasplante. La determinación de ciclosporinemia se realizó mediante técnica de inmunoanálisis de polarización fluorescente. Hemos considerado niveles terapéuticos entre 150-200 ng/ml.

Estudio histológico

En todos los casos se tallaron muestras de la porción media, 2 o 3 anillos traqueales completos, siguiendo el eje perpendicular al eje mayor de la tráquea. Una vez efectuados los bloques, se realizaron cortes de 5 µ. Dichos cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina según la técnica convencional utilizada en los laboratorios de anatomía patológica. Tras la tinción, se llevó a cabo el estudio con microscopía óptica valorando la ulceración del epitelio, la necrosis y/o inflamación de la submucosa y la necrosis del cartílago. Hemos seguido la valoración microscópica propuesta por Olech et al¹⁵, que analiza el porcentaje de lesión observada en el epitelio, submucosa y cartílago, según la escala que se muestra en la tabla I.

Una vez obtenida la graduación de la lesión en cada estructura, se obtuvo –sumando los valores de cada variable– el valor total del grado de necrosis de todo el segmento traqueal. De esta manera, un valor total cercano a 0 indicaría normalidad histológica.

TABLA I
Valoración del grado de lesión traqueal¹⁵

Epitelio	Submucosa	Cartílago
0 Intacto	0 Histología normal	0 Histología normal
1 1-33% necrosis	1 1-33% necrosis	1 1-3% necrosis
2 34-67% necrosis	2 34-67% necrosis	2 34-67% necrosis
3 68-100% necrosis	3 68-100% necrosis	3 68-100% necrosis

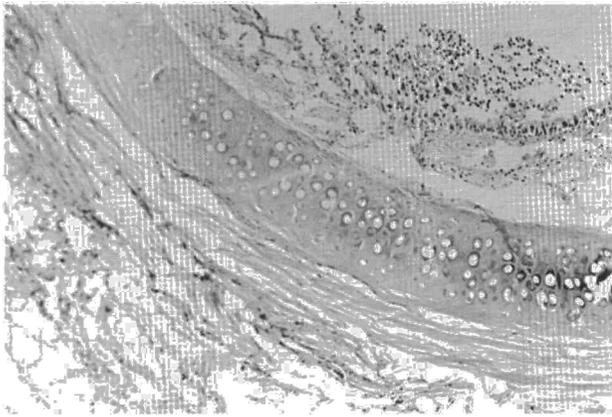


Fig. 1. Microscopia óptica de anillo traqueal que muestra restos de células epiteliales de revestimiento en su luz representativa de los grupos I y II. (H-E, × 300).

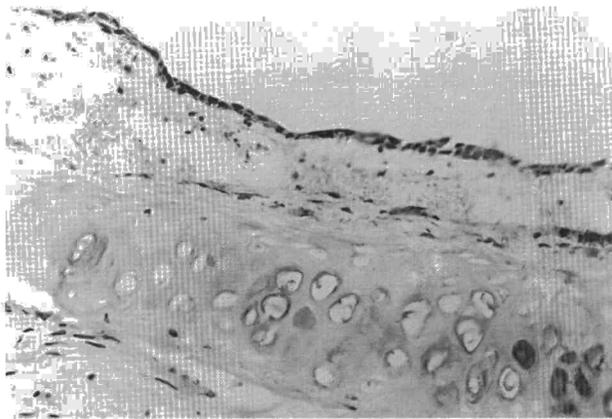


Fig. 2. Microscopia óptica de anillo traqueal que representa un epitelio plano monoestratificado representativa del grupo III. (H-E, × 850).

Análisis estadístico

Se ha comparado la media aritmética del grado de lesión en cada grupo de animales mediante el test de Duncan de rango múltiple para varianzas. Para el procesamiento matemático de los datos se ha utilizado el programa estadístico SPSS 7.0 para Windows 95.

Resultados

De los 36 receptores, fueron excluidos 11, cuatro por muerte postoperatoria (un animal en cada grupo) y siete por infección del injerto (2 animales en cada uno de los grupos I, II y III y un animal en el grupo IV). Los grupos quedaron finalmente representados por 6 animales en los grupos I, II y III y 7 en el grupo IV.

En la tabla II presentamos en resumen los resultados del estudio. En los grupos I y II encontramos una necrosis de la mayor parte de la mucosa y submucosa en todos los animales, que se corresponde con el grado 3 (fig. 1). En el grupo III la media del grado de lesión tanto en mucosa como en submucosa es de 2,1 (fig. 2) lo que supone un grado moderado. En el grupo IV la media del grado de lesión mucosa es 0,7 y de submucosa 1,4, esto indica una estructura traqueal prácticamente normal (fig. 3).

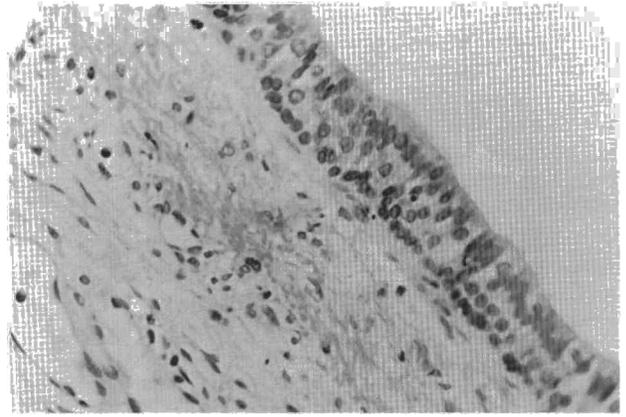


Fig. 3. Detalle de células con microscopia de células de revestimiento poliestratificado y ciliado focalmente, grupo IV. (H-E, × 850).

TABLA II
Resumen de los resultados del estudio

Caso	Grupo	Mucosa	Submucosa	Cartílago	Total	Ciclo 1	Ciclo 2
1	I	3	3	1	7	-	-
2	I	3	3	1	7	-	-
3	I	3	3	1	7	-	-
4	I	3	3	1	7	-	-
5	I	3	3	0	6	-	-
6	I	3	3	0	6	-	-
7	II	3	3	1	7	-	-
8	II	3	3	1	7	-	-
9	II	3	3	1	7	-	-
10	II	3	3	1	7	-	-
11	II	3	3	1	7	-	-
12	II	3	3	1	7	-	-
13	III	3	3	1	7	724	230
14	III	3	3	1	7	740	583
15	III	3	3	1	7	1086	301
16	III	1	1	1	3	660	248
17	III	1	1	1	3	334	256
18	III	2	2	1	5	842	472
19	IV	1	2	1	4	265	165
20	IV	0	1	1	2	801	346
21	IV	0	1	1	2	886	340
22	IV	2	3	2	7	709	106
23	IV	0	1	1	2	788	261
24	IV	1	1	0	2	166	235
25	IV	1	1	0	2	175	326

Ciclo 1: niveles de ciclosporina en el séptimo día postoperatorio, en ng/ml; Ciclo 2: en el 14 postoperatorio.

Los resultados del análisis estadístico se resumen en la tabla III. Cuando comparamos las medias del grado de lesión de mucosa y submucosa encontramos una diferencia no achacable al azar entre los grupos I y II respecto al grupo III y IV y a su vez entre el grupo III y IV entre sí. Sin embargo, al comparar el grado total de lesión sólo encontramos diferencias significativas entre el grupo IV y el resto (fig. 4).

Discusión

La cirugía de resección traqueal se encuentra limitada por la imposibilidad de realizar anastomosis terminoterminal cuando la resección excede del 50% de la

longitud traqueal¹⁶. El porcentaje es todavía menor en caso de tratamiento previo con radioterapia o en pacientes ancianos¹⁷.

La solución quirúrgica definitiva para las lesiones traqueales del adulto que no pueden corregirse mediante resección y anastomosis terminoterminal se puede plantear por tres procedimientos: el implante de una endoprótesis, la sustitución total mediante prótesis traqueal y el trasplante.

El uso de endoprótesis es más bien, en nuestra opinión, una solución paliativa en casos de invasión traqueal tumoral no tratable por otros métodos¹⁸.

La solución de perfusión tisular utilizada en el donante de órganos sólidos¹⁹ persigue los siguientes objetivos: disminuir el edema celular producido por la hipotermia, prevenir la acidosis intracelular, prevenir el edema intersticial, prevenir la lesión por radicales libres (especialmente producida durante la reperfusión) y proporcionar sustratos para regenerar el ATP durante la reperfusión. Aunque en la actualidad existen otros tipos de soluciones que parecen prolongar la preservación del injerto en el trasplante pulmonar, hemos creído adecuado emplear en este estudio la solución de Collins por dos razones. En primer lugar, por ser una solución ampliamente utilizada tanto en clínica como en experimentación animal con la que se tiene, por lo tanto, una gran experiencia. En segundo lugar, porque no era objeto de este trabajo comparar la calidad de la preservación tisular con diferentes tipos de solución de perfusión, por lo que elegimos una fácilmente asequible (otro tipo de soluciones no se encuentran como preparados comerciales y tienen un precio más elevado).

En nuestro modelo hemos realizado la perfusión a través de la arteria pulmonar y el drenaje por la orejuela derecha con el objeto de perfundir el tejido traqueal tanto por vía sistémica como por la circulación pulmonar.

La inmunosupresión con ciclosporina en el trasplante traqueal experimental, tal como se ha publicado recientemente¹⁰⁻¹², disminuye los fenómenos de isquemia y necrosis de la tráquea trasplantada. El protocolo de inmunosupresión empleado en nuestro modelo experimental es ampliamente utilizado en trasplante de órganos sólidos, especialmente torácicos²⁰.

Aunque algunos autores rechazan la vía subcutánea para la administración de ciclosporina²¹, apoyados en experiencias previas¹⁰⁻¹², hemos conseguido niveles terapéuticos utilizando dosis de ciclosporina de 10 mg/kg/día, que son inferiores a las recomendadas por López-Rivero et al¹⁰. Aunque los niveles de ciclosporina son variables,

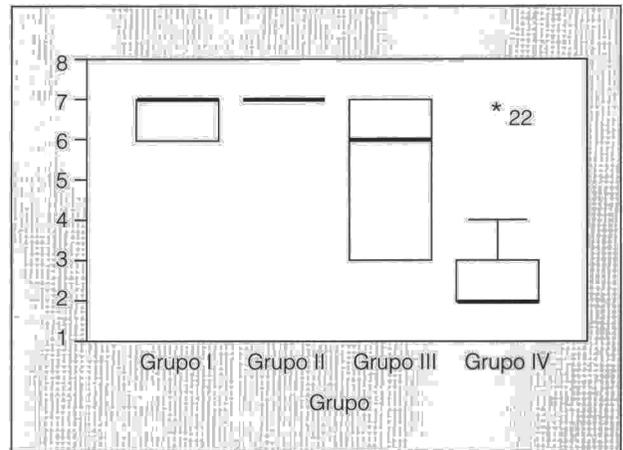


Fig. 4. Representación del grado total de lesión de cada grupo en boxplot. El asterisco junto al número 22 nos indica que el caso 22 presenta un “valor extremo”, que en gráficos de boxplot son los valores que se encuentran tres veces por encima o por debajo del tamaño de la caja (ésta incluye todos los valores contenidos entre el percentil 25 y 75), en nuestro caso por encima del percentil 75.

se encuentran por encima del rango terapéutico, con lo que el efecto inmunosupresor está garantizado. La infusión intravenosa e incluso la administración oral presenta unas dificultades técnicas importantes.

No hemos encontrado efectos secundarios debidos a la inmunosupresión, ya que el número de animales excluidos en cada grupo por infección del injerto es similar.

En nuestro modelo experimental, hemos preferido el trasplante heterotópico, en situación cervical, antes que el ortotópico debido fundamentalmente a que el grupo control –de animales sin inmunosupresión ni perfusión tisular– previsiblemente no tendría una supervivencia mayor de una semana –a causa de la dehiscencia y obstrucción del injerto– y no sería posible comparar, con los otros grupos experimentales, la conservación del tejido trasplantado a las 3 semanas²². Además, la situación cervical de la tráquea trasplantada tal vez permitirá –en un estudio futuro– su colocación en situación ortotópica si se consigue una conservación adecuada.

Para algunos autores como Nakanishi et al²³ existe un límite de 4 cm de longitud de tráquea trasplantable, mientras que Borro et al¹⁴ tienen éxito con segmentos de hasta 7 cm. En nuestro experimento hemos utilizado animales de pequeño tamaño y por tanto de tráquea de pequeña dimensión; creemos que la longitud del in-

TABLA III
Resultados del estudio histológico

Grupo	Mucosa (\bar{X})	Submucosa (\bar{X})	Cartilago (\bar{X})	Total (\bar{X})
I	3,000 ^{a,b}	3,000 ^{a,b}		6,667 ^b
II	3,000 ^{a,b}	3,000 ^{a,b}		7,000 ^b
III	2,166 ^b	2,166 ^b		5,333 ^b
IV	0,7143	1,4286		3,000
Comparación	F = 19,5701 p < 0,00001	F = 9,1823 p < 0,0004	F = 0,7509 p = 0,5340	F = 10,7188 p < 0,0002

^aEl grado de lesión es diferente de los grupos III y IV.

^bEl grado de lesión es distinto del grupo IV.

jerto traqueal no tienen relación con nuestros resultados. Por otra parte, en caso de resección traqueal extensa el tamaño del injerto no debe ser el de la tráquea reseçada, sino el necesario para reconstruirla sin tensión excesiva.

De los resultados descritos, parece deducirse que en el grupo experimental, en el que los animales donantes han sido sometidos a perfusión con solución de Collins y los receptores a inmunosupresión (grupo IV), el estudio histológico de las tráqueas trasplantadas demuestra menos fenómenos de necrosis que en los otros tres grupos. En los grupos I y II hemos encontrado signos de necrosis avanzada de la pared traqueal —especialmente de la mucosa y submucosa— y en el grupo III un tejido más conservado pero significativamente peor que el del grupo IV. Los resultados confirman también los hallazgos de otros autores acerca de la eficacia de la ciclosporina en el trasplante traqueal.

Como se ve en nuestros resultados, la perfusión del donante, por sí sola, no previene el rechazo del órgano trasplantado pero sí facilita la conservación del injerto cuando se realiza, además, inmunosupresión del receptor.

Agradecimientos

Queremos expresar nuestro agradecimiento al Laboratorio de Farmacia del Hospital Universitario de Salamanca y de forma especial la colaboración de la doctora Victoria Calvo Hernández.

También queremos agradecer a Sandoz Pharma su apoyo para la adquisición de ciclosporina (Sandimmun®).

BIBLIOGRAFÍA

- Moghissi K. Tracheal reconstruction with a prosthesis of marlex mesh and pericardium. *J. Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 69: 499-506.
- Guijarro R, Sánchez-Palencia A, Cueto A, Martí F, De Vega MG, Paris F. Experimental study of a new porous tracheal prosthesis. *Ann Thorac Surg* 1990; 50: 281-287.
- Pearson FG, Henderson RD, Gross AE, Ginsberg RJ, Stone RM. The reconstruction of circumferential tracheal defect with porous prosthesis: an experimental and clinical study using heavy Marlex mesh. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1968; 55: 605-616.
- Grillo HC, Zannini P, Michelass F. Complications of tracheal reconstruction. Incidence, treatment and prevention. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986; 91: 322-328.
- Kato TO, Onuki AS, Watanabe M, Hashizume T, Kamaura M, Kituchi K et al. Tracheal reconstruction by esophageal interposition: an experimental study. *Ann Thorac Surg* 1990; 49: 951-954.
- Letang E, Sánchez-Lloret J, Gimferrer JM, Ramírez MD, Vincens A. Experimental reconstruction of the canine trachea with a free revascularized small bowel graft. *Ann Thorac Surg* 1990; 49: 955-958.
- Quisling RW. Experimental tracheal reconstruction with external ear canal autografts. *Arch Otolaryngol* 1978; 104: 311-312.
- Ritsila VA, Santavirta S, Alhopuro S, Poussa M, Jaroma H, Rubak JM et al. Periosteal and perichondral grafting in reconstructive surgery. *Clin Orthop* 1994; 302: 259-265.
- Eckersberger F, Moritz E, Wolner E. Circumferential tracheal replacement with costal cartilage. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 94: 175-180.
- López-Rivero L, Quevedo S, Freixenet J, De Castro FR, Liminana M, Salvatierra A et al. Experimental tracheal revascularization with omentum. *Eur J Cardiothorac Surg* 1993; 7: 540-542.
- Macchiarini P, Lenot B, De Montpreville V, Dulmet E, Mazmanian GM, Fattal M et al. Heterotopic pig model for direct revascularization and venous drainage of tracheal allografts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108: 1.066-1.075.
- Delaere PR, Liu ZY, Hermans R, Sciort R, Feenstra L. Experimental tracheal allograft revascularization and transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110: 728-737.
- Strome M, Strome S, Darrell J, Wu J, Brodsky G. The effects of cyclosporin A on trasplanted rat allografts. *Laryngoscope* 1993; 103: 394-398.
- Borro JM, Chirivella M, Vila C, Galán G, Prieto M, Paris F. Successful revascularization of large isolated tracheal segments. *Eur J Cardiothorac Surg* 1992; 6: 621-623.
- Olech VM, Keshavjee SH, Chamberlain DW, Slutsky AS, Patterson GA. Role of basic fibroblast growth factor in revascularization of rabbit tracheal autografts. *Ann Thorac Surg* 1991; 52: 258-264.
- Grillo HC, Donahue DH, Mathisen DJ, Wain JC, Wright CD. Post-intubation tracheal stenosis. Treatment and results. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 109: 486-493.
- Pearson FG, Andrew MJ. Detection and management of tracheal stenosis following cuffed tube tracheostomy. *Ann Thorac Surg* 1971; 12: 359-365.
- Cooper JD, Pearson FG, Patterson GA, Todd TRJ. Use of silicone stents in the management of airway problems. *Ann Thorac Surg* 1989; 47: 371-378.
- MacKnight ADC, Leaf A. Regulation of cellular volume. *Physiol. Rev* 1977; 57: 510-573.
- Khalil-Marzouk JF. Allograft replacement of the trachea. Experimental synchronous revascularization of composite thyrotracheal transplant. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105: 242-246.
- Kahan BD. Individualization of cyclosporine therapy using pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *Transplantation* 1985; 40: 457-476.
- Delaere PR, Liu ZY, Feenstra L. Tracheal autograft revascularization and transplantation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 120: 1.130-1.136.
- Nakanishi R, Shirakusa T, Mitsudomi T. Maximum length of tracheal autografts in dogs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106: 1.081-1.087.