

ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA UTILIZACION DE AUTOINJERTOS PERIOSTICOS LIBRES EN LA SOLUCION DE PERDIDAS DE SUSTANCIA PARIETALES EN LA TRAQUEA

R. Guijarro Jorge, A. Cueto Ladrón de Guevara, A. Sánchez-Palencia Ramos, F. Martí Huedo, S. Zilbermann Morales* y F. París Romeu**

Unidad de Cirugía Torácica y

* Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Virgen de las Nieves. Granada.

** Servicio de Cirugía Torácica. Hospital La Fe. Valencia.

De entre todas las procedencias tisulares de injertos usados en cirugía torácica para solucionar defectos por pérdida de sustancia parietal en la tráquea, es el periostio, sin duda, el más utilizado.

Con el fin de establecer la procedencia y orientación idónea de dichos injertos en el campo quirúrgico, se utilizan 30 ratas Wistar en las que se usa periostio procedente de tibia (osificación endocondral) y de calota (osificación membranosa) y se implantan con la cara osteogénica hacia la luz traqueal o hacia los tejidos circundantes.

Se realizan estudios radiológicos y anatomopatológicos de las 4-8 semanas postintervención, concluyendo que son los injertos tibiales orientados hacia la luz traqueal los que producen más hueso y más precozmente.

Arch Bronconeumol 1989, 25:49-55

Experimental study of the use of free periosteal autografts for the management of parietal losses of substance in the trachea

Among all tissues used in thoracic surgery for the management of defects caused by parietal loss of substance in the trachea, certainly the periosteum is the most commonly chosen.

To establish the origin and adequate orientation of these grafts in the surgical field, in 30 Wistar rats periosteum from the tibia (endochondral ossification) and the skull (membranous ossification) was implanted with the osteogenic side towards the tracheal lumen or the surrounding tissues.

Radiological and pathological studies were carried out 4-8 weeks after the operation, and it was concluded that the tibial grafts oriented towards the tracheal lumen are those which produce a greater amount of bone at a greater speed.

Introducción

La reparación de defectos traqueales por pérdida de sustancia parietal al resear tumores que invaden la vía aérea principal o como resultado de traumatismos, plantea difíciles soluciones desde el punto de vista quirúrgico, ya que esta estructura por sus peculiaridades anatómo-fisiológicas (movilidad de algunas de sus zonas con la deglución, existencia de un medio séptico en su interior y el estar sujeta a las variaciones presivas del ciclo respiratorio) presenta graves dificultades cicatriciales.

En la solución de defectos traqueales con autoinjertos se han utilizado múltiples localizaciones tisulares, como se aprecia en la tabla I. De todos ellos, es sin duda el perióstico el más empleado actualmente en cirugía traqueal porque presenta claras ventajas, según observamos en la tabla II.

En la reparación de defectos traqueales con periostio, primeramente se usaron pediculados¹⁻⁶. Nardick, Worman y Pemberton, 1965⁷, utilizaron injertos pediculados de periostio costal para cubrir defectos después de efectuar incisiones en los espacios intercartilagosos. Sperling, 1968⁸, usó injertos osteo-periósticos pediculados del esternón en las incisiones dilatadoras de estenosis subglóticas anteriores. Los primeros en utilizar autoinjertos periósticos libres en la reconstrucción traqueal fueron Kufas y Pasila, 1979⁹.

En nuestro país, trabajos del Servicio de Cirugía Torácica del Hospital La Fe¹⁰ contribuyeron a difundir y reafirmar el interés del periostio para aportar rigidez en la tráquea.

El presente trabajo experimental compara autoinjertos periósticos precedentes de dos localizaciones genéricas de osificación: membranosa (calota craneal) y haversiana (tibia), intentando clarificar los siguientes interrogantes:

Recibido el 6-9-1987 y aceptado el 16-11-1988.

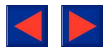


TABLA I
Reparación de defectos traqueales mediante injertos tisulares no traqueales

<p>* Fascia: Homeier 1911; Taffel 1940; Daniel 1948; Pacheco 1957; Tala & Maamies 1968.</p> <p>* Placenta: Natellis 1952; Cautiero & Minardi 1959.</p> <p>* Cartílago sólo o con su pericondrio:</p> <p>1. Injertos libres:</p> <ul style="list-style-type: none"> — Cartílago costal: Keshishian et al 1956; Sato et al 1957; Donald 1984. — Cartílago auricular con su piel: Flemming & Hommerich 1968; Horgenstein 1972; Brown et al 1947. — Cartílago nasal con su mucosa: Drettner & Lindholm 1970; Furtoss & Toohill 1973. — Cartílago preformado con mucosa bucal: Calvet & Lacombe 1961; Consiglio 1969; Farmer et al 1971. <p>2. Injertos pediculados: Lapidot et al 1968; Ariyan 1980; Watson 1983.</p> <p>* Hueso sólo o periostio:</p> <p>1. Hueso sólo:</p> <ul style="list-style-type: none"> — Sato et al 1957; Bailey & Kosoy 1970; Labayle 1980; Thawley 1981. <p>2. Periostio: pediculizado:</p> <ul style="list-style-type: none"> — Penton & Brantigan 1951 y 1952; Ross 1956; Narodick, Worman & Pemberton 1964; Krespi 1979 y 1983. <p>3. Libres:</p> <ul style="list-style-type: none"> — Ritsila et al 1972; Kufaas & Pasila 1974. <p>* Otros injertos pediculados armados como sustitutos traqueales: Esófago armado con periostio: Uhlschmid 1972. Colon armado con periostio: Padilla et al 1981.</p>

TABLA II

<p>Condiciones que ha de reunir el injerto «ideal» en el medio traqueal</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Debe causar mínima reacción a cuerpo extraño. 2. Debe bioincorporarse como parte del tejido del huésped. 3. Debe constituir un cierre inmediato, con perfecta aerostasia. <p>Ventajas del injerto perióstico libre en defectos traqueales</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Es un tejido blando, fácilmente moldeable. 2. Se bioincorpora mediante rápida revascularización. 3. Causa mínima reacción a cuerpo extraño (autoinjerto). 4. Da cierre inmediato y rigidez precoz. Aerostasia perfecta. 5. El periostio es un tejido mesenquimatoso y por tanto no descama y carece de glándulas secretoras y folículos pilosos. 6. Es fácil de obtener.

1) ¿Son los injertos periósticos libres capaces de formar cartílago cuando se trasplantan en la vecindad de la tráquea o es la cicatrización tráqueal principalmente debida a las propiedades proliferativas del pericondrio traqueal?

2) ¿La posición de la línea osteogénica del injerto perióstico hacia el lumen traqueal o hacia los tejidos circundantes influye en la capacidad osteogénica?

3) ¿Los injertos periósticos de diferentes localizaciones dan diferentes resultados en la cicatrización traqueal?

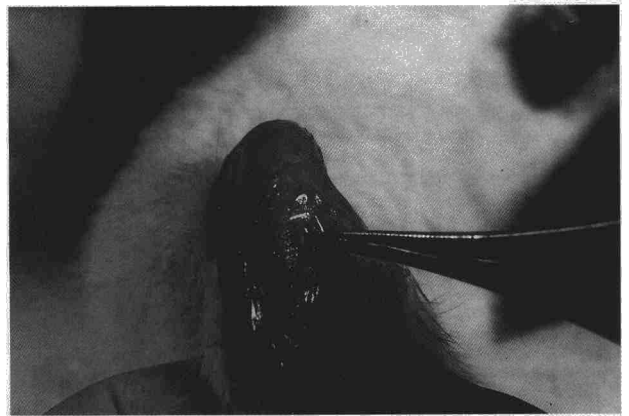


Fig. 1. Macrofotografía: Extracción del injerto perióstico tibial.

4) ¿La calidad del hueso producido por el injerto depende del tipo de periostio que lo origina, o es influenciado por el tejido al que es injertado?

Como es evidente, de clarificar estos puntos depende el lograr una estabilidad más precoz de la zona injertada, la cual voletea hasta que adquiere rigidez, por ello en cirugía traqueal, la solución de estos interrogantes aporta importantes ventajas de orden técnico (procedencia y orientación del injerto a implantar) y de orden clínico (menor proporción de complicaciones).

Material y métodos

Se han utilizado 30 ratas Wistar procedentes del estabulario del Departamento de Anatomía Humana de la Universidad de Valencia con un peso de unos 265 g; 19 eran hembras y 11 machos.

En las experiencias preliminares se usaron cinco animales en los que se ensayó la técnica quirúrgica a emplear y sirvieron así de entrenamiento al cirujano para conseguir la homogeneidad del acto quirúrgico. Otros seis animales murieron con estridor respiratorio intenso antes del tiempo programado para su sacrificio. Todos estos no fueron incluidos en la serie.

Los animales fueron divididos en los siguientes grupos de estudio:

	Número de animales
Injertos periósticos tibiales con cara osteogénica hacia dentro del defecto traqueal (TD)	10
Injertos periósticos tibiales con cara osteogénica hacia fuera del defecto traqueal (TF)	10
Injertos periósticos de calota con cara osteogénica hacia dentro del defecto traqueal (CD)	10

Los animales fueron sacrificados en número de dos de cada grupo por semana de la cuarta a la octava de la intervención, por entender que durante este tiempo es cuando transcurren los cambios más interesantes relacionados con la producción de hueso por el injerto².

Anestesia y preparación preoperatoria:

Fue usado como anestésico éter etílico, siendo los animales introducidos en una campana con vapores de éste y se mantuvo la anestesia mediante inyección intraperitoneal de una solución de hidrato de

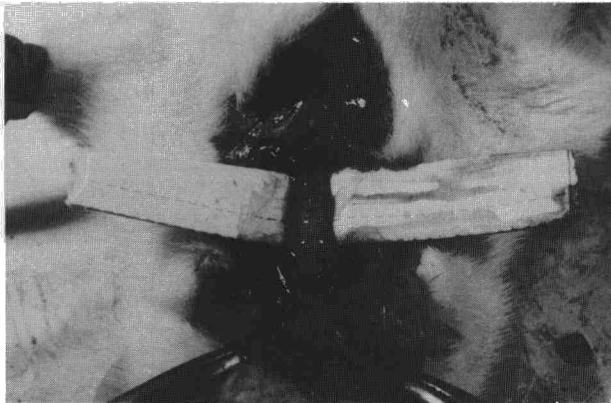
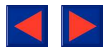


Fig. 2. Macrofotografía: Creación del defecto parietal traqueal. Banda de cartonaje entre tráquea y esófago con el fin de conseguir mejor aislamiento y exposición.

cloral al 10 % y uretano al 3 % disueltos en 100 cc de suero fisiológico e inyectándose a dosis de 0,4 cc/100 g de peso del animal.

No se usó asepsia ni antisepsia de ningún tipo, salvo limpieza de las zonas a operar con povidona yodada al 10 % (Betadine[®]).

Experiencias preliminares:

Se usaron cinco animales en las experiencias preliminares, que luego fueron desechados de la serie.

Un primer problema fue el manejo de las finas láminas de periostio que con frecuencia se doblaban y eran en muchas ocasiones difíciles de distinguir de fascias y aponeurosis.

Pensamos en dar rigidez a los injertos con diversos cementos sintéticos, pero al igual que Kufaa, 1981¹¹, encontramos que éstos eran reabsorbidos, probablemente por aislamiento de los mismos del lecho capilar, por lo que nos acostumbramos a utilizarlos tal cual.

En cuanto a la distinción entre fascias y aponeurosis del periostio, bajo microscopio quirúrgico y utilizando una fina hoja de bisturí triangular, fuimos retirando láminas de tejido hasta que una de ellas dejaba al descubierto el sistema haversiano oscular; ésta última era el periostio (fig. 1).

Se tuvo especial cuidado en obtener sólo periostio y no hueso, lo que pudiera conducirnos a una falsa osificación precoz y llevarnos así a resultados erróneos.

Técnica quirúrgica

Preparación de los injertos periósticos. Se obtuvo periostio de la superficie craneal y/o tibial usando una fina hoja de bisturí triangular. Este injerto fue almacenado en solución salina fisiológica mientras la tráquea era disecada. Se intentó trasplantar aproximadamente la misma superficie de periostio a cada animal con el fin de homogeneizar los resultados.

Preparación de la tráquea: tipos de injertos. La tráquea cervical fue disecada mediante un abordaje por cervicotomía media.

Una vez expuesta la tráquea, se creó un defecto traqueal total con electrobisturí, tras coagulación de la fina red capilar superficial, siendo siempre el defecto de forma circular y aproximadamente de la misma extensión (3 mm²) (fig. 2).

Los injertos periósticos fueron implantados con la línea osteogénica hacia fuera o hacia dentro según la serie considerada, suturándose con ácido poligaláctico (Polyglactin 910-VICRYL) 6/0 y con un número de puntos tal que aseguraban una perfecta aerostasia.

Metodología de los estudios realizados

Estudios clínicos. No se efectuaron estudios clínicos comparativos con este grupo de animales puesto que los injertos fueron perfectamente tolerados.

Estudios radiológicos. A partir de la segunda semana del acto quirúrgico, se efectuaron estudios radiológicos semanales de los animales bajo anestesia con éter etílico.

Las características radiológicas fueron: 40 Kv, 300 mA, 0,5 s en un aparato Agnost M[®] (Philips), usando película Kodak[®] en placas sin hojas de refuerzo.

Los animales fueron radiografiados con el cuello en hiper-extensión para evidenciar así mejor las áreas de calcificación precoz e impedir la superposición de la cintura escapular.

Los resultados fueron evaluados con el siguiente código:

0 = No calcificación.

1 = Presencia de tenue calcificación.

2 = Calcificación clara con puntos densos.

Estudios anatomopatológicos. Las piezas obtenidas fueron fijadas en formalina neutra tamponada y los especímenes fueron descalcificados durante 4 horas con ácido nítrico al 10 %.

Los cortes se hicieron de 3 micras de grosor a intervalos de 20 micras, deshidratados e incluidos en parafina y teñidos alternativamente con tricrómico de Masson y hematoxilina-eosina.

El grado morfológico de proliferación ósea fue clasificado usando la tabla de Kufaa, 1981¹¹, modificada ligeramente por nosotros en:

Observación histológica	Código histológico	Puntuación histológica
Fibras de colágeno cubren el defecto	—	0
Pequeños islotes de cartilago regenerado cubren el defecto	(c)	1
Cartilago posición central en pequeñas proporciones	c	2
Grandes islotes de cartilago central	c	3
Osificación membranosa	EC	4

Resultados

No se efectuaron estudios clínicos con este grupo de animales, puesto que los injertos fueron perfectamente tolerados, presentando una muy baja incidencia de infección (2 animales = 6,6 %) y de enfisema subcutáneo (1 animal = 3,3 %). Seis animales tuvieron estridor en reposo (10 %) y un 30 % de ellos presentaron en algún momento del postoperatorio estridor al esfuerzo, cediendo en la mayoría espontáneamente.

Tras la intervención, hubo una pérdida de peso en las dos series que fue máxima al octavo día (61 ± 30 g), a partir del cual la curva ponderal siguió un trayecto ascendente hasta normalizarse a las 6,5 semanas (fig. 3).

Los primeros signos de callo perióstico se observaron en la quinta semana. Gradualmente éste se hizo más visible y a partir de la séptima semana pudo visualizarse claramente el comienzo de la osificación en las radiografías practicadas (tabla III).

En la figura 4 se aprecian los pasos radiológicos seguidos en el proceso de cicatrización hasta la formación de claros núcleos de hueso.

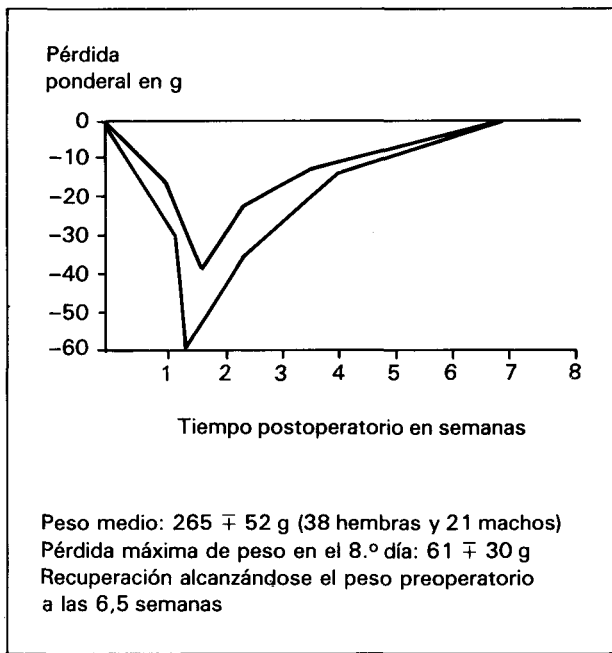
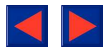


Fig. 3. Curva ponderal postoperatoria (n = 30). Empleo de injertos periostícos libres.

TABLA III
Estudios radiológicos (n = 30)

Parámetro a testar	Puntuación según código radiológico	Número de animales en los que se encontró
4 semanas	0	(6/6)
5 semanas	0	(5/6)
6 semanas	1	(5/6)
7 semanas	1	(4/6)
8 semanas	2	(5/6)

Código: 0 = No calcificación.

1 = Presencia de tenue calcificación.

2 = Calcificación clara con puntos densos.

Dos animales sacrificados cada semana en cada uno de los tres grupos (total: 6 animales/semana).

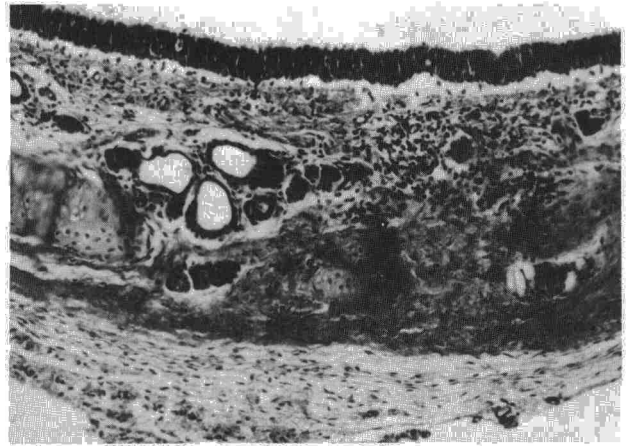


Fig. 5. Diferenciación a células cartilaginosas (tricromico).

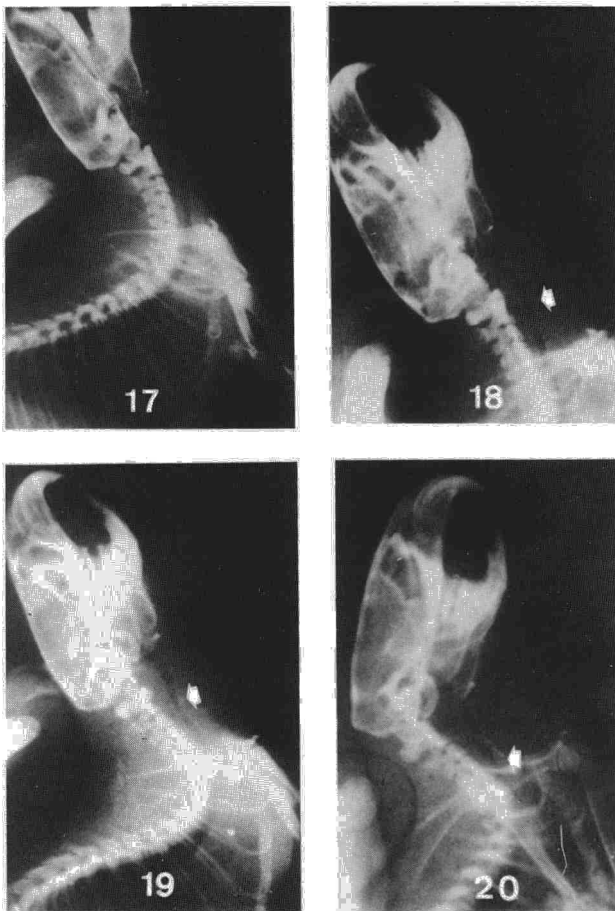


Fig. 4. Evolución radiológica de los injertos hasta producir claros núcleos de hueso.

En los animales sacrificados a las cuatro semanas de la experiencia se observó que los tejidos blandos del cuello se adherían firmemente a los defectos y éstos aparecían rellenos de tejido de granulación. Las áreas injertadas podían ser fácilmente palpadas a través de los tejidos blandos del cuello cuando éste se situaba en hiperextensión.

Todas las incisiones cerraron por primera intención.

En los casos sacrificados tardíamente (a partir de la séptima semana), el defecto interiormente estaba epitelizado.

Durante las primeras semanas, el tejido conectivo relleno el defecto creado en la pared traqueal existiendo una intensa infiltración de células redondas. A partir de la quinta semana, las células fibroblásticas se diferenciaron en típicas células cartilaginosas (fig. 5).

La aparición de elementos cartilagosos se apreciaron como pequeños islotes de cartilago en la submucosa de los defectos, más acusados primero en las zonas periféricas.

Pequeños islotes de cartilago en el grupo TID fueron vistos a la cuarta semana. En los grupos TF y CD, la aparición histológica de elementos cartilagosos fue vista a la quinta semana. A la semana aproximadamente de la aparición de los elementos primordiales cartilagosos, fueron sustituidos poco a poco por hueso (fig. 6).

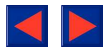


TABLA IV
Estudios histopatológicos
(Puntuación de acuerdo con el código histológico empleado)

Parámetro a testar	Injertos tibiales con cara osteogénica hacia dentro (TD)	Injertos tibiales con cara osteogénica hacia fuera (TF)	Injertos de calota con cara osteogénica hacia dentro (CD)
4 semanas	1	0	0
5 semanas	1	1	0
6 semanas	2	1	1
7 semanas	3	2	1
8 semanas	4	3	2

Código histológico:

- 0 = Fibras de colágeno cubren el defecto.
- 1 = Pequeños islotes de cartílago regenerado cubren en el defecto.
- 2 = Cartílago regenerado en posición central en pequeñas proporciones.
- 3 = Grandes islotes de cartílago central.
- 4 = Osificación membranosa.

Dos animales sacrificados cada semana por grupo (total: 6 animales /semana).

El hueso neoformado siempre fue membranoso y estaba rodeado por una fina capa de tejido fibroso.

A partir de la séptima semana, los defectos epiteliales fueron tapizados interiormente por epitelio cuboidal ciliado, que creció desde los bordes normales.

En la tabla IV y la figura 7, puede observarse la distribución de los diferentes grupos de acuerdo con el código histológico empleado y la evolución del proceso en el tiempo.

En la figura 7, se observa como los injertos tibiales producen 5-6 veces más hueso que los procedentes de calota y como de entre los primeros, el injerto orientado hacia la luz traqueal es más eficaz en producir hueso que si se orienta al revés.

En la figura 7 observamos que la producción de hueso fue más intensa entre la cuarta y sexta semana, para posteriormente hacer una meseta.

Discusión

El potencial osteogénico del periostio en individuos jóvenes es usado en la restauración ósea en diversas circunstancias clínicas, tales como: defectos maxilares tipo labio leporino^{12,13}, en la fusión espinal en la escoliosis¹⁴, corrección de pseudoartrosis en huesos largos⁵ y también en el tema que nos ocupa, la reconstrucción traqueal⁹.

En la tráquea, de todos los tipos de injertos utilizados, que ya se detallaron en la tabla I, el más usado actualmente en cirugía es sin duda el perióstico.

Un primer punto de controversia surge sobre la mejor orientación de la lámina perióstica en los defectos traqueales. Algunos autores^{1,16,17} orientan la lámina osteogénica del injerto hacia fuera del lumen traqueal en la creencia de que la proliferación del injerto pudiera comprometer la luz. Otros¹⁷⁻¹⁹ lo orientan hacia la luz traqueal, esperando que la fuerte lámina perióstica interna detenga la extensión de posibles infecciones provenientes del medio séptico que constituye el lumen traqueal.

La membrana perióstica tiene una lámina fibrosa externa compuesta de fibras de colágeno diseminadas

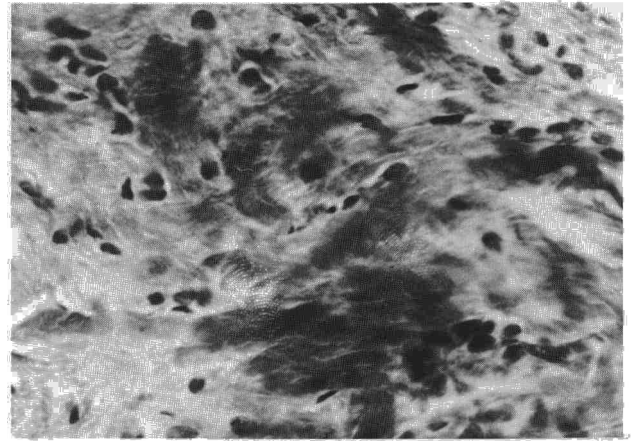
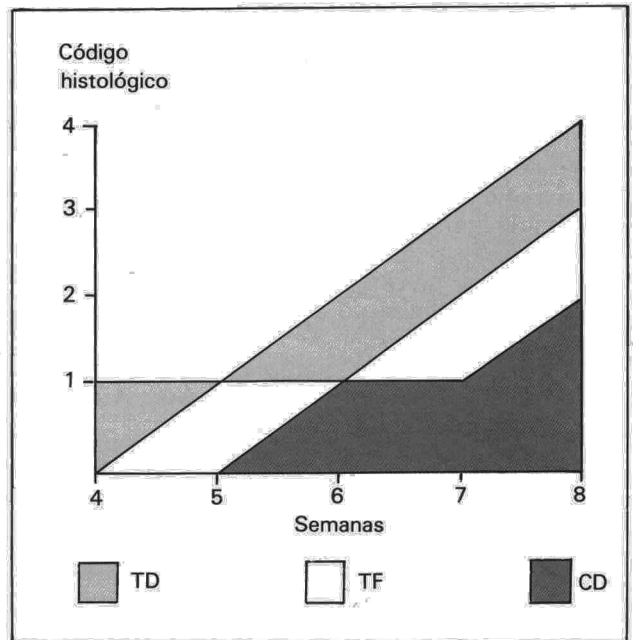


Fig. 6. Depósito de material osteoide en el seno de la matriz cartilaginosa (tricrómico).

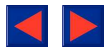


- TD = Injertos periósticos tibiales con cara osteogénica hacia dentro del defecto traqueal
- TF = Injertos periósticos tibiales con cara osteogénica hacia fuera del defecto traqueal
- CD = Injertos periósticos de calota con cara osteogénica hacia dentro del defecto traqueal

Código histológico

- 0 = Fibras de colágeno cubren el defecto
- 1 = Pequeños islotes de cartílago regenerado cubren el defecto
- 2 = Cartílago regenerado en posición central en pequeñas proporciones
- 3 = Grandes islotes de cartílago central
- 4 = Osificación membranosa

Fig. 7. Evolución de los cambios histopatológicos en el tiempo.



con abundantes fibroblastos y una lámina osteogénica interna compuesta por una mezcla de células osteogénicas y osteoblastos y responsables de la formación de nueva matriz ósea.

Diversos estudios han demostrado que el máximo de proliferación celular responsable de la nueva formación de hueso se debe a la lámina osteogénica interna¹⁴. Esta lámina parece estar compuesta de *stem cells*, que a través de diversos caminos de diferenciación, se transforman en osteoblastos y condroblastos.

La vía osteogénica se favorece con una adecuada tensión de oxígeno, mientras que la condrogénesis se favorece por hipoxia²⁰⁻²³. La tensión de oxígeno depende en gran medida de la vascularización del entorno^{24,25}.

Se obtuvieron mucho mejores resultados cuando la línea osteogénica del injerto estaba vuelta hacia el defecto que la viceversa. Ello pudiera deberse al contacto directo del injerto con los tejidos traqueales, mientras que si se vuelve el injerto hacia fuera, la capa fibrosa del periostio, hasta cierto punto, aísla la línea osteogénica del tejido traqueal. Estos hallazgos concuerdan con Narodick et al⁴, que usaron periostio costal en defectos traqueales de perros y con Kufas, 1981¹¹, en conejos. El cartílago y hueso formado se limitaba sólo al defecto y remedaba hasta cierto punto la forma de la tráquea.

Los injertos periósticos tibiales regeneraron cartílago y hueso mucho antes que los craneales, ello concuerda con las experiencias de Ritsila y Alhopuro, 1973¹⁹ y Kufas, 1981¹¹.

Nuestros hallazgos en cuanto a la calidad de hueso producida coinciden con los de Ritsila y Alhopuro, 1973¹⁹, que demostraron que el periostio del calvarium produce hueso membranoso, mientras que el tibial produce hueso endocondral. Sin embargo, cuando el periostio tibial se trasplanta a defectos traqueales experimentales, produce hueso membranoso. Ello sugiere que el hueso, que el periostio forma, pudiera estar también determinado por el medio ambiente más que por el mensaje genético de las células osteogénicas trasplantadas.

Cuanto más grande es la vascularización del lecho en contacto con el injerto, más grande será la revascularización y menor la destrucción celular y atrofia. En las experiencias realizadas por nosotros, se ha observado mejor revascularización cuando la línea osteogénica del injerto se encaraba hacia el defecto traqueal. Ello probablemente se debe a una mejor oxigenación de la línea del injerto en contacto con estas áreas.

La proliferación observada en los injertos comienza primero en los bordes del mismo, donde la línea osteogénica está en contacto con la vascularización traqueal y no en el centro, donde hay una disminución del riego.

Cuando la línea osteogénica del injerto se vuelve hacia fuera de la luz traqueal, aparece una peor revascularización, ya que la parte fibrosa de esta línea es menos permeable a los vasos. En muchos casos, la regla es la atrofia.

Con respecto a los injertos pediculados, Blair, 1958¹⁶, afirma que la vascularización propia de los mismos sólo ayuda en las primeras fases de la cicatrización. Esto se interpreta como que el injerto tendrá conexiones vasculares hasta que se desarrolla el lecho vascular local y el pedículo ya no es necesario para la nutrición (Zetterlund, 1967)²⁶.

Por último, destaquemos que por regla general se observó que la condrogénesis u osificación se realizaba más precozmente en los animales jóvenes.

Conclusiones

1) Se confirma la facultad de los injertos periósticos libres para producir hueso o cartílago cuando se trasplanta a un defecto traqueal. La cicatrización del defecto se debe a la proliferación del injerto y no al crecimiento del pericondrio traqueal.

2) Es más útil el injerto perióstico procedente de la tibia que el de calota craneal, pues produce 5-6 veces más hueso el primero que el segundo, confirmándose en los estudios radiológicos e histológicos efectuados.

3) Es importante la orientación del injerto, puesto que en aquellos implantados con la cara osteogénica de la lámina perióstica hacia dentro de la luz traqueal, se produce más y mejor calidad de hueso que en los orientados al revés.

4) La proliferación de la membrana perióstica muestra poca diferencia cuando se trasplanta a animales jóvenes o adultos, aunque es ligeramente mejor en los animales jóvenes.

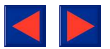
5) Estas experiencias reafirman el gran interés que tiene el uso de injertos periósticos libres en la solución de defectos de sustancia traqueal generando cartílago o hueso antes de que la contracción de la cicatriz traqueal tenga lugar.

Estos injertos pueden solucionar la cirugía traqueal de estenosis congénitas y yatrogénicas en el adulto cuando el origen de éstas se deba primariamente a defectos de sustancia anterolaterales.

Igualmente, su uso es de interés en la solución de estenosis malácica al servir de soporte para la formación de una neotráquea con mejor luz.

BIBLIOGRAFIA

1. Penton RS, Brantigan OC. A viable pedicle graft for repairing intrathoracic structures. A preliminary report on tracheal defects. *Bull Sch Med Maryland* 1951; 36:152-155.
2. Penton RS, Brantigan OC. The use of viable pedicle graft for repairing an extensive tracheobronchial defect. *Ann Surg* 1952; 135:709-714.
3. Narodick B, Pemberton AM, Worman LW. Tracheoplasty by means of a periosteal pedicle graft. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1964; 47:572-576.
4. Krespi YP, Baek SM, Marovitz WF, Biller MF. Revascularized free pleuroperiosteal flap to correct full thickness tracheal defects. *Bull N y Acad Med* 1979; 55:939-947.



5. Krespi YP. Tracheal reconstruction with a pleuroperiosteal flap. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1983; 91:610-614.
6. Lejeune FE. Tracheal stenosis with laryngeal involvement. *Chir Thor Cardiovasc* 1981; 35:615-611.
7. Narodick BG, Worman LW, Pemberton AH. Relaxation technique for tracheal reconstructions. *Ann Thorac Surg* 1965; 1:190-196.
8. Sperling E. Zur operativen Behandlung langerer organischer Trachealstenosen. *Thoraxchirurgie* 1968; 16:91-96.
9. Kufaas T, Pasila M. Free periosteal transplants in tracheal reconstruction. Report of three cases. *Z Kinderchir* 1974; 15:371-387.
10. Padilla J, Tarazona V, Paris F, Camanas A, Borro JM. Comportment biologique et mecanique de greffons libres de perichondre et de perioste implantes sur la paroi intestinal du chien. *Chir Thor Cardiovasc* 1981; 35:643-664.
11. Kufaas T. Tracheal reconstruction with free periosteal grafts. An experimental study on rabbits. *Scand J Thorax Cardiovasc Sur* 1981; 31 (suppl):1-63.
12. Skoog T. The use of periosteal flaps in the repair of the primary palate. *Cleft Palate J* 1965; 332-337.
13. Ritsila V, Alhopuro S, Gylling U, Rintala A. The use of free periosteum for bone formation in congenital clefts on the maxilla; a preliminary report. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1972; 6:57-60.
14. Snellman O, Osterman K, Ritsila V. Spinal fusion of idiopathic scoliosis with free periosteal grafts: a preliminary report. *Acta Orthop Scand* 1977; 48:339.
15. Ritsila V, Alhopuro S, Rintala A. Bone formation with free periosteum. An experimental study. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1972; 6:51-56.
16. Blair E. Study of the viable intercostal pedicle graft in tracheobronchial surgery. *J Thorac Surg* 1957; 36:869-878.
17. Fonkalsrud EW, Plested WG, Mulder DG. Tracheobronchial reconstruction with autologous periosteum. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1966; 52:666-674.
18. Worman LW, Starr C, Narodick BG. Reconstruction after extensive tracheal resection. *Marquette Med Rev* 1966; 32:2-3.
19. Ritsila V, Alhopuro S. Reconstruction of experimental tracheal cartilage defects with free periosteum. A preliminary report. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1973; 7:116-119.
20. Basset CA & Herrmann I. Influence of oxygen concentration and mechanical factors on differentiation of connective tissues in vitro. *Nature* 1961; 190:460-461.
21. Hadhazy C, Olag EH, Krompecher S. Adaptive shift of tissue metabolism in local hypoxia resulting in higher mucopolysaccharide. *Acta Biol Acad Sci Hung* 1963; 14:67-75.
22. Hall BK. Hypoxia and differentiation of cartilage and bone from common germinal cells in vitro. *Life Sci* 1969; 8:553-558.
23. Hall BK. Histogenesis and morphogenesis of bone. *Clin Orthop* 1971; 74:249-268.
24. Cohen J, Lacroix P. Bone and cartilage formation by periosteum. *J Bone Joint Surg* 1955; 37:717-730.
25. Poticha SM, Lewis RJ. Tracheal replacement with autogenous grafts of supported fibrocollagenous tissue. *Ann experimental study. Surg Forum* 1962; 13:91-93.
26. Zetterlund CG. Behaviour and fate of a buried graft of small intestine. An experimental study. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1967; 1 (suppl):1-54.