

Modelos quirúrgicos experimentales para el desarrollo de traqueomalacia

Dres. G. Falke, A. Atala

Laboratory for Tissue Engineering and Cellular Therapeutics, Department of Urology, Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, Estados Unidos.

Resumen

En pacientes pediátricos la traqueo-broncomalacia se asocia a una significativa morbimortalidad; la progresiva dificultad respiratoria que produce, pone en riesgo la vida de los pacientes. En el intento de buscar alternativas terapéuticas se creó un doble modelo

quirúrgico experimental, buscando reproducir las variables clínicas que presenta la traqueomalacia. El estudio se efectuó con conejos del tipo New Zeland Blanco, desarrollando dos modelos: la cirugía del modelo "leve", consistió en la sección completa de 6 cartílagos traqueales (3 al 8 inclusive) en tres zonas: anterior y ambos laterales, manteniendo la mucosa traqueal intacta. En el modelo "grave" se realizó similar procedimiento más la exéresis del segmento anterior de 2 anillos traqueales (4 y 5). Otros animales que no fueron operados actuaron como control. Se evaluaron en todos los grupos: edad, peso al ingreso y curva de crecimiento. La evolución clínica de los mismos se realizó diariamente. Se realizaron radioscopia y gases arteriales en sangre al momento de la cirugía, a los 7, 14, 21 y 56 días del postoperatorio. La fibrobroncoscopia se realizó en todos los animales previo al sacrificio. En nuestros resultados el modelo "leve" mostró debilidad traqueal inspiratoria sin afectar significativamente la evolución clínica del animal. En el modelo "grave" la pared traqueal se colapsó fácilmente, lo que produjo severa dificultad respiratoria en todos los animales sometidos a este procedimiento. Dos de ellos murieron a los 5 y 20 días respectivamente, debido a una severa obstrucción de la luz traqueal. Este estudio muestra que es posible la inducción experimental de traqueomalacia en varios niveles de severidad.

Palabras clave: Traqueomalacia - Cirugía experimental - Conejos.

Summary

The Surgical management of infants and children with tracheo-bronchomalacia is associated with significant morbidity and mortality. Progressive respiratory distress may lead to a fatal outcome. The use of an animal model that could

replicate the different clinical categories of tracheomalacia would be important in understanding the pathophysiology and possible treatment outcomes of this disease. The aim of this study was to create a reproducible animal model of tracheomalacia. Two types of tracheal defects were created in rabbits: moderate and severe. To create a moderate tracheomalacia defect, tracheal incisions were performed from rings three to eight in the anterior and bilateral aspects, leaving the posterior tracheal wall and entire mucosa intact. To create the severe defects, identical incisions were performed as for the moderate group, and in addition, two tracheal rings (four and 5) were excised. Normal uninstrumented rabbits served as controls. Radiographic studies and arterial blood gas analysis were performed preoperatively and on days 7, 14, 21 and 56. Growth and weight parameters were charted daily. Bronchoscopy was performed in all the animals before sacrifice. The moderate tracheomalacia animals showed inspiratory weakness, without any significant adverse clinical effects. The severe tracheomalacia animals had a very weak tracheal wall, which collapsed easily during inspiration. These animals had severe respiratory insufficiency. Two animals in this group died at days five and 20, due to severe tracheal stenosis. This study

shows that the experimental induction of tracheomalacia with varying degrees of severity can be reproducibly achieved in an animal model.

Index words: Tracheomalacia - Experimental surgery - Rabbit.

Resumo

Em pacientes pediátricos a traqueo-broncomalacia associa-se a uma significativa morbimortalidade; a progressiva dificuldade respiratória que produz põe em risco a vida dos pacientes. Com o objetivo de buscar alternativas terapêuticas, criou-se um duplo modelo cirúrgico experimental, buscando reproduzir as variáveis clínicas apresentadas pela traqueomalácia. O estudo foi realizado e com coelhos do tipo New Zeland Blanco, desenvolvendo-se dois modelos: a cirurgia do modelo "leve", consistiu na secção completa de 6 cartilagens traqueais (3 a 8 inclusive) em três zonas: anterior e ambas as laterais, mantendo a mucosa traqueal intacta. No modelo "grave" realizou-se similar procedimento mais a exêrese do segmento anterior de dois anéis traqueais (4 e 5). Outros animais que não foram operados atuaram como controle. Foram avaliados em todos os grupos: idade, peso ao internar e curva de crescimento. A evolução clínica dos mesmos foi realizada diariamente. Realizou-se radioscopia e medida dos gases arteriais no sangue no momento da cirurgia, nos dias 7, 14, 21 e 56 dias de pós-operatório. A fibrobroncoscopia foi realizada em todos os animais antes do sacrifício. Nos nossos resultados o modelo "leve" mostrou debilidade traqueal inspiratória sem afetar significativamente a evolução clínica do animal. No modelo "grave" a parede traqueal colapsou se facilmente, o que produziu severa dificuldade respiratória em todos os animais submetidos a este procedimento. Dois deles morreram no 5º e 2º dias respectivamente devido a uma severa obstrução da luz traqueal. Este estudo mostrou que é possível a indução experimental de traqueomalácia em vários níveis de gravidade.

Palavras chave: Traqueomalacia - Cirurgia experimental - Coelhos.

Introducción

La traqueo-broncomalacia se asocia con significativa morbimortalidad; la progresiva dificultad respiratoria que provoca pone en grave riesgo la vida de los pacientes. La anomalía estructural subyacente de la enfermedad, es desconocida, fundamentalmente debido a la dificultad de obtener material de los pacientes clínicamente afectados, por lo tanto la creación de un modelo experimental para su estudio brindaría una importante herramienta para comprender e interpretar la etiopatogenia de la anomalía, como así también ensayar diversos modelos quirúrgicos para su corrección.

Material y método

Se realizaron dos modelos independientes entre sí para el estudio de la traqueomalacia intentando reproducir un modelo de defecto leve y un modelo grave. Los procedimientos realizados

fueron aprobados previamente por ARCH (Animal Resource Children's Hospital). Los animales fueron ingresados 24 hs antes en el área de investigación donde permanecieron bajo control veterinario, albergados en jaulas individuales y sometidos a consecutivos ciclos de 12 hs de luz y 12 hs de oscuridad.

Se estudiaron 8 conejos del tipo New Zeland Blanco, cuatro animales en cada grupo. A seis conejos se le creó el defecto de traqueomalacia; dos animales, no operados, sirvieron como control.

La anestesia consistió en inducción con ketamina (Phoenix Pharmaceutical, MO, USA) a 25 mg/kg, acepromacina (Fermenta Animals Health CO, MO, USA) a 0,2mg/kg e isoflurane (Ohmeda Caribe Inc, NJ, USA) al 2%, intubación con tubo endotraqueal número 3, mantenimiento con isoflurane al 0,5-1%, y vía venosa para infusión con solución fisiológica hasta el final del procedimiento quirúrgico. Los animales recibieron cefalosporina (Apothecom, NJ, USA) previo al

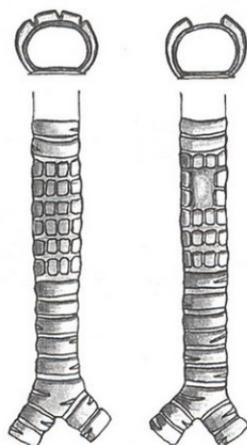


Fig. 1: esquema de los modelos quirúrgicos de traqueomalacia "leve" y "grave"

acto quirúrgico y por los siguientes dos días (50 mg/kg). Durante los dos días posteriores a la cirugía fueron suministrados analgésicos.

En el modelo quirúrgico *leve*, se realizó cervicotomía transversa y luego de disección de los músculos cervicales se realizó sección completa de 6 cartílagos traqueales (3 al 8 inclusive) en tres zonas: anterior y ambos laterales, manteniendo la mucosa traqueal intacta. Una vez constatada la inestabilidad traqueal se procedió al cierre de los músculos cervicales hacia la línea media con Vycril 6/0 y cierre de la cervicotomía con Vycril 4/0. (Fig. 1)

En el modelo quirúrgico *grave*, se realizó igual abordaje y sección completa de 6 cartílagos traqueales (3 al 8 inclusive) en tres zonas: anterior y ambos laterales, manteniendo la mucosa traqueal intacta. Para agravar la condición de este modelo se procedió a la exéresis del segmento anterior de 2 anillos traqueales. Esto mostró una mayor inestabilidad traqueal inicial; se procedió al cierre de los músculos cervicales hacia la línea media con Vycril 5/0 y cierre de la cervicotomía con Vycril 3/0 (Fig. 1).

El tiempo establecido para la realización de este estudio fue de 8 semanas para ambos grupos. Se eva-

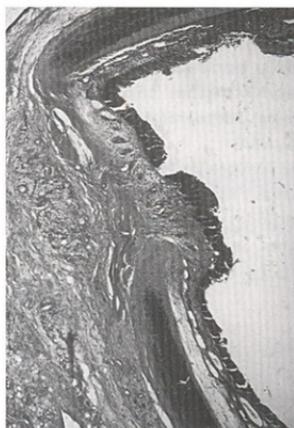


Fig. 2: histología del defecto traqueal grave. Tinción con hematoxilina & eosina (Reduccion100X).

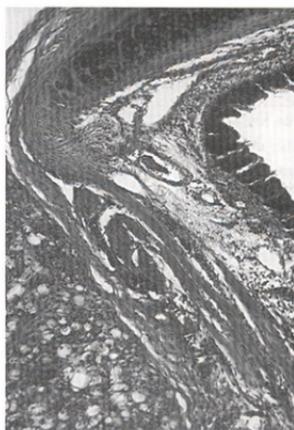


Fig. 3: histología del defecto traqueal grave. Tinción con hematoxilina & eosina (Reduccion250X).

luaron en ambos: edad, peso al ingreso y curva de crecimiento. La evolución clínica de los mismos se realizó diariamente. Se realizaron radioscopia y gases arteriales en sangre al momento de la cirugía, a los 7, 14, 21 y 56 días posteriores. Se realizó fibrobroncos-

copia en todos los animales previo al sacrificio.

Los estudios radioscópicos, broncoscópicos, como así también la extracción de sangre para gases arteriales fueron realizados bajo inducción anestésica con ketamina, Acetopromazine y Hidroclorotiazida (Bayer, MO, USA)

Una vez sacrificados los conejos, las traqueas fueron extirpadas y fijadas en formol por 24 a 48 hs, procesadas, incluidas en parafina y seccionadas en cortes de 5 micrones. Se utilizó hematoxilina /eosina para su tinción (Fig. 2 y 3).

Resultados

Modelo Leve: Todos los animales toleraron el procedimiento quirúrgico sin complicaciones. La evolución clínica en los primeros días mostró leve disnea y moderado incremento de la frecuencia respiratoria, que cedió luego del quinto día. La saturación de oxígeno durante el procedimiento quirúrgico fue de 97%, a los siete días de 92%, a los 21 días de 84%, mejorando levemente al concluir el estudio (89%). Estos valores fueron obtenidos sin sedación previa de los animales (Tabla 1).

Sat. O2	cirugía	7 días	21 días	56 días
Promedio de los tres animales del modelo leve	97%	92%	84%	89%
Control	97%	98%	98%	98%

Tabla 1: la saturación promedio de los animales del grupo leve en diferentes

Gases arteriales en sangre	14 días	21 días	56 días
PO2 (promedio de 3 animales)	63mmhg	67mmhg	79mmhg
PCO2 (promedio de 3 animales)	39mmhg	38mmhg	36mmhg
Control PO2	95mmhg	96mmhg	95mmhg
Control PCO2	30mmhg	30mmhg	31mmhg

Tabla 2: estudio que muestra los gases arteriales durante el estudio en el grupo leve en comparación con el control.

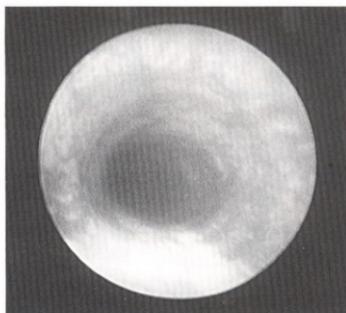


Fig. 4: Fibroscoopia. Leve estenosis de la luz traqueal. Modelo quirúrgico leve a los 56 días de evolución. Notese a la mucosa traqueal indemne.



Fig. 5: radioscopia traqueal estenosis severa de la luz traqueal en el modelo grave a los 5 días de evolución.

La PO2 arterial aumentó durante el estudio en un promedio de 63 mm Hg en la segunda semana, 67 mm Hg en la tercera y 76 mm Hg al finalizar el estudio a las 8 semanas. La PCO2 arterial alcanzó 39 mm Hg en la segunda semana, 38 mm Hg en la tercera y 36 mmHg al concluir el estudio (Tabla 2). Se requirió mínima sedación para la obtención de la muestra sanguínea en los animales.

Los animales operados aumentaron 45 gr por día en las primeras tres semanas en comparación con el



Fig. 6: histología del defecto traqueal grave a los 5 días de evolución. Note se la isquemia del tejido cartilaginoso. Tinción con Hematoxilina & eosina (Reduccion 400X).



Fig. 7: histología del modelo de traqueo-malacia grave a los 56 días de evolución. Note se la reconstitución del tejido cartilaginoso. Tinción con Hematoxilina & eosina (Reduccion 250X).

control que aumento 53gr por día. La radioscopia mostró una leve constricción traqueal en el área de la cirugía en el día 7, la que mejoró parcialmente hacia la 3er semana, logrando una mejoría completa al con-

cluir el estudio a las 8 semanas. La broncoscopia mostró mucosa traqueal indemne (Figura 4). Los cortes histológicos post-mortem teñidos con hematoxilina/eosina, mostraron una escasa regeneración de los bordes de los segmentos seccionados del cartilago traqueal en todos los animales. La fibrosis reemplazó los segmentos libres de cartilago de la pared traqueal. *

Modelo grave: No hubo complicaciones anestésicas ni quirúrgicas en este grupo. La evolución clínica de los animales mostró moderada a severa disnea en los primeros días postoperatorios y marcado estridor que se agravaba ante la mínima situación de estrés del animal. Episodios de tos fueron observados en dos animales.

Todos los animales operados disminuyeron su peso en un promedio de 27 g, con respecto al peso previo a la cirugía. El animal control aumentó 140 g al concluir el estudio. Dos de los animales de este grupo evolucionaron con signos de severa dificultad respiratoria a los 5 y 20 días, respectivamente, por lo cual debieron ser sacrificados previa realización de radioscopia, la que mostró severa obstrucción de la luz traqueal (Fig. 5). La saturación de oxígeno previa al sacrificio de ambos animales fue de 71% y 72% respectivamente (Tabla 2). La fibrobroncoscopia confirmó los hallazgos radioscópicos y permitió visualizar la mucosa traqueal sana. En la histología de estos animales no pudo comprobarse una regeneración temprana de los bordes del cartilago traqueal seccionado pero mostró la isquemia del segmento cartilaginoso seccionado (Fig. 6) y muy escasos signos de fibrosis local en las zonas de mayor lesión traqueal.

El restante animal, sacrificado al concluir el estudio, presentó una PO₂ arterial de 55 mm Hg y la PCO₂ de 48 mm Hg, la saturación de oxígeno al 80% y en la radioscopia mostró oclusión de la luz traqueal de un 40%. La fibrobroncoscopia confirmó dichos hallazgos y mostró mucosa traqueal indemne. En la histología había una completa regeneración del segmento cartilaginoso dañado debido al crecimiento del cartilago y el reemplazo del segmento dañado por tejido fibroso (Fig. 7).

Discusión

El diagnóstico de traqueo-malacia se realiza mediante la valoración de signos clínicos, radioscópicos, exámenes de función respiratoria y con la broncoscopia¹.

Los pacientes en asistencia respiratoria por largos períodos pueden presentar un variado número de injurias del tracto respiratorio superior, árbol respiratorio o pulmones. Las mismas incluyen: neumotórax, enfisema pulmonar intersticial y el desarrollo de displasia broncopulmonar. Otras injurias secundarias a intubación endotraqueal prolongada son: estenosis laríngea, subglótica o traqueales y traqueitis¹.

Algunas anomalías anatómicas que compriman la traquea, también pueden ocasionar traqueomalacia. Entre otras se han referido en malformaciones cardiovasculares tales como doble arco aórtico y anomalías en la arteria innominada, duplicaciones quísticas, teratomas, abscesos, higroma quístico y hemangiomas². El 26 % de los pacientes con atresia de esófago y fistula traqueoesofágica se asocia con traqueomalacia³, posiblemente influyendo en las complicaciones respiratorias que presentan estos pacientes en el primer año de vida.

Wittenborg y colaboradores estudiaron la dinámica traqueal y comprobaron en neonatos normales, una variación del diámetro antero-posterior de la luz traqueal de un 20% a 50% durante inspiración forzada o esfuerzos espiratorios⁴. En neonatos anormales, con estridor u otros signos de distres respiratorio los cambios en el diámetro de la luz traqueal son todavía mayores, logrando demostrar colapso traqueal inspiratorio y espiratorio en los casos más severos^{1,3}.

Actualmente existen diversos criterios en el manejo de esta patología, debido a los grados variables de gravedad que producen. Se han intentado diferentes modelos quirúrgicos para reproducir y comprender el mecanismo de la traqueomalacia. Filler y colaboradores lograron reproducir la debilidad traqueal en estudios experimentales en cerdos, resecaando el 50% del segmento posterior de 8 cartilagos de la traquea intratorácica, dejando la mucosa traqueal intacta⁵. Johnston y colaboradores desarrollaron similares experimentos⁶. Un modelo en caninos ha sido muy utilizado para la reproducción experimental de esta patología^{7, 8, 9}. Se han descrito también modelos de traqueomalacia en ratas del tipo Wistar en tanto que muy pocos autores han utilizado conejos como modelo de experimentación^{10, 11}.

Estudios recientes de inducción de atresia de esófago en ratas, clarificaron algunos de los aspectos de esta patología y mostraron ciertos factores que posi-

blemente influyen en el desarrollo de la traqueomalacia. Este modelo sugiere que factores determinantes de atresia de esófago también podrían afectar el desarrollo embrionario traqueal, y que además vasos anómalos e hipoplásicos podrían exacerbar la severidad local de la traqueomalacia¹².

Nuestro doble modelo quirúrgico intenta reproducir dos variables clínicas en una misma patología. Nuestro enfoque experimental se diferencia de otros porque está diseñado específicamente para el estudio de la fisiopatología pura de la traqueomalacia, sin sugerir métodos de corrección de la patología creada. El modelo elegido permite una fácil reproducción experimental a corto plazo y obtener manifestaciones clínicas leves o severas según el modelo. Las ventajas del conejo como modelo experimental son su bajo costo, su tamaño corporal reducido y su mínimo requerimiento de control veterinario.

Al final de las ocho semanas, el modelo leve mostró debilidad traqueal inspiratoria sin afectar significativamente la evolución clínica del animal. Este modelo servirá principalmente para estudiar la evolución clínica a largo plazo de la traqueomalacia. La histología en este modelo mostró una regeneración inicial de los bordes de los segmentos seccionados del cartilago traqueal en todos los animales y la fibrosis secundaria, que logró reemplazar los segmentos libres de cartilago de la pared traqueal, reforzando secundariamente la traquea dañada. Esto explicaría la aparente mejoría de los parámetros respiratorios y radiológicos en los animales de este modelo al finalizar el estudio.

En el modelo grave la pared traqueal quedó con fácil tendencia al colapso luego de la remoción de los cartilagos traqueales, lo que repercutió clínicamente produciendo severa dificultad respiratoria en todos los animales. Dos de ellos murieron a los 5 y 20 días. Los efectos histológicos en este modelo no mostraron regeneración cartilaginosa temprana, seguramente debido al escaso tiempo de sobrevida de dos de los animales. El tercero de éstos mostró escasos signos de fibrosis local en las zonas de mayor lesión traqueal a los 56 días. Este modelo será de mayor utilidad para valorar distintas conductas quirúrgicas tendientes a estabilizar la traquea ya sea a través de stents intratraqueales, fijación externa traqueal o ingeniería tisular.

Este estudio demuestra que es posible la inducción experimental de traqueomalacia en conejos. El daño fabricado en el cartilago traqueal es transitorio y evoluciona hacia la regeneración-cicatrización. Esto permite al modelo ser dinámico, ofreciendo mayor similitud con la evolución natural de esta patología. Este modelo de traqueomalacia permitirá buscar distintas técnicas de corrección quirúrgica en el futuro.

Referencias

1. Duncan S, Eid N: Tracheomalacia and bronchopulmonary dysplasia. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 100:856-858, 1991
2. Cotton R, and Richardson MA: Congenital laryngeal anomalies. Symposium on congenital disorders in otolaryngology. *Otolaryngologic Clinics of North America* 14 (1): 203-218, 1981.
3. De Lorimier A, Harrison M, Adzick S, et al: Tracheobronchial obstructions in infants and children. Experience with 45 cases. *Ann Surg* 212 (3): 277-289, 1990
4. Wittenborg MH, Gyepes MT, Crocker D. Tracheal dynamics in infants with respiratory distress, stridor, and collapsing trachea. *Radiology*, 88 (4):653-62, 1967
5. Vinograd I, Filler RM, England SJ, et al: Tracheomalacia: an experimental animal model for a new surgical approach. *J. Surg Res* 42, 597-604, 1987
6. Johnston MR, Loeber N, Hillyer P, et al: External stent for the repair of secondary tracheomalacia. *Ann Thorac Surg* 30: 291, 1980
7. Shaha AR, Burnett C, DiMaio T, and Jaffe BM: An experimental model for surgical correction of tracheomalacia. *Am J Surg* 162 (4): 417-420, 1991
8. Hanawa T, Ikeda S, Funatsu T, et al: An experimental study on surgical treatment of tracheomalacia-methods for making models of tracheomalacia and development of a new operative method. *Nippon Geka* 90 (7): 1072-1080, 1989
9. Shaha A, Burnett C, DiMaio T, Jaffe BM: Subtotal submucosal cricoid resection: an experimental study. *J Surg Oncol* 48 (3): 171-175, 1991
10. Lochbihler H, Hoelzl J, Dietz H-G: Tissue compatibility and Biodegradation of a new absorbable stents for tracheal stabilization: an experimental study. *J Pediatr Surg* 32 (5):717-720, 1997
11. Tsugawa C, Nishijima E, Muraji T, et al: A shape memory airway stent for tacheobronchomalacia in children: an experimental and clinical study. *J Pediatr Surg* 32 (1): 50-53, 1997
12. Bao Quan Qi, Merel J, Farmer P, et al: Tracheomalacia with esophageal atresia and tracheoesophageal fistula in fetal rats. *J Pediatr Surg* 32 (11): 1575-1579, 1997

Trabajo aceptado para su publicación en Diciembre de 1999.

Dr. Germán Falke
Children's Hospital
Harvard Medical School
300 Longwood Av. EN: 450-4
Boston, MA 02115
USA