

*Alma Mater Studiorum – Università di Bologna*

**DOTTORATO DI RICERCA IN**

Scienze Chirurgiche

Progetto “Allotrapianto di trachea”

Ciclo 28

Settore concorsuale di afferenza: 06/E2

Settore Scientifico disciplinare: MED 19

**ALLOTRAPIANTO DI TRACHEA: STUDIO  
ANATOMICO SULL'UTILIZZO DEL LEMBO  
FASCIALE ANTEROLATERALE DI  
COSCIA NELL'ALLESTIMENTO DEL  
TRAPIANTO COMPOSITO**

**Presentata da: Dott. Luca Negosanti**

**Coordinatore Dottorato**

**Prof. Mauro Gargiulo**

**Relatore**

**Prof. Paolo G.Morselli**

**Esame finale anno 2016**

**INDICE**

1. Introduzione	2
2. Stato dell'arte sulla ricostruzione tracheale	10
3. Allotrapianto di trachea	21
4. Studio anatomico sul lembo composito di trachea e di lembo fasciale anterolaterale di coscia	29
5. Materiali e metodi	30
6. Risultati	38
7. Discussione e conclusione	40
8. Bibliografia	43

## **1. INTRODUZIONE**

La chirurgia della trachea è sempre stata una sfida per il chirurgo in considerazione delle notevoli difficoltà nel ripristinare la anatomia e la funzione dell'organo. Molti disturbi tracheali spesso richiedono una resezione completa della circonferenza dell'organo ed il ripristino della continuità delle vie aeree superiori è ovviamente prioritario dopo tali demolizioni. La tecnica di scelta è la anastomosi termino terminale dei monconi tracheali, ma tale procedura è possibile solo per difetti inferiori al 50% della lunghezza complessiva dell'organo, ovvero fino a 5 cm. In caso di difetti più lunghi la ricostruzione è resa complessa dalla fissità propria della trachea, dalla mancanza di elasticità longitudinale e dalla vascolarizzazione precaria [1,2].

In caso impossibilità di confezionare una ricostruzione, l'assenza di lunghi segmenti di trachea può portare a una tracheostomia mediastinica, che è una procedura con frequenti complicazioni a lungo termine, come infezioni o emorragie.

Attualmente il trapianto di trachea umano rivascolarizzato non è stato ancora realizzato, principalmente a causa della mancanza di un peduncolo vascolare tracheale noto [3-5].

Nel 2008 l'otorinolaringoiatra belga Paul Delaere ha descritto una tecnica di trapianto di trachea da cadavere mediante il confezionamento di un lembo composito [6,7]. Ad oggi sono stati riportati i risultati nei primi 6 casi di allotrapianto [8].

La tecnica descritta da Delaere consiste in una prima fase in cui la trachea prelevata da cadavere viene impiantata a livello dell'avambraccio del ricevente ed avvolta con la fascia antibrachiale. Nella seconda fase, a 3 mesi di distanza, la trachea rivascolarizzata viene prelevata come lembo composito basato sull'arteria radiale e utilizzata per riparare il difetto eseguendo la rivascolarizzazione sui vasi del collo.

Ad oggi il gruppo belga ha definito l'iter chirurgico e la terapia immunosoppressiva postoperatoria, basandosi sui risultati dei primi 6 casi.

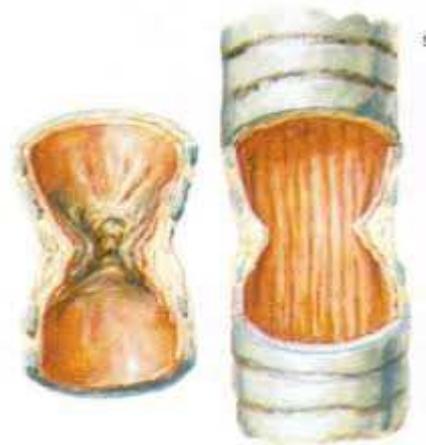
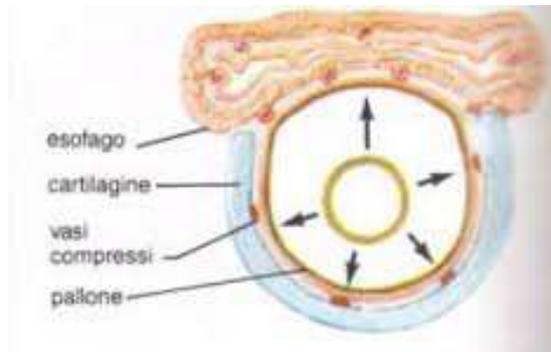
Il lembo antibrachiale utilizzato è una ottima alternativa, ma oggi sono più utilizzati i lembi perforanti rispetto ai lembi assiali, in base a una serie di vantaggi ben noti. La nostra ipotesi è quella di utilizzare il lembo perforante anterolaterale di coscia al posto del lembo “cinese” come base per il trapianto composito.

#### **a- Indicazioni al trapianto di trachea**

Il trapianto di trachea trova indicazione in tutte quelle condizioni che comportano una demolizione dell'organo superiore alla sua metà in lunghezza nell'adulto e a un terzo nei bambini [9].

La causa più frequente è rappresentata dalle stenosi benigne o maligne, post traumatiche o secondarie a intubazione prolungata. Tutte queste condizioni comportano infezioni ricorrenti e frequenti ospedalizzazioni.

La stenosi post traumatica è causata da una eccessiva reazione cicatriziale a livello della sede del trauma che porta ad una progressiva ostruzione del lume. Le stenosi tracheali post-intubazione sono invece causate dall'ischemia della parete data dal decubito della cuffia del tubo endotracheale. Infatti una pressione superiore a quella capillare (20-40 mmHg) comporta una occlusione vascolare con ischemia e ulcerazione mucosa e/o cartilaginea su cui possono instaurarsi dei fenomeni flogistici conseguenti ad infezioni locali. La conseguenza finale di questo processo è una progressiva malacia degli anelli tracheali.



Fisiopatologia della stenosi da intubazione e quadro clinico.

La maggior parte dei pazienti che sviluppano una stenosi tracheale diventano sintomatici entro le prime 5 settimane dall'estubazione, anche se l'evenienza può manifestarsi in acuto entro le prime 24 ore dal respiro spontaneo. La sintomatologia da insufficienza respiratoria si manifesta per stenosi superiori al 60% del lume tracheale.

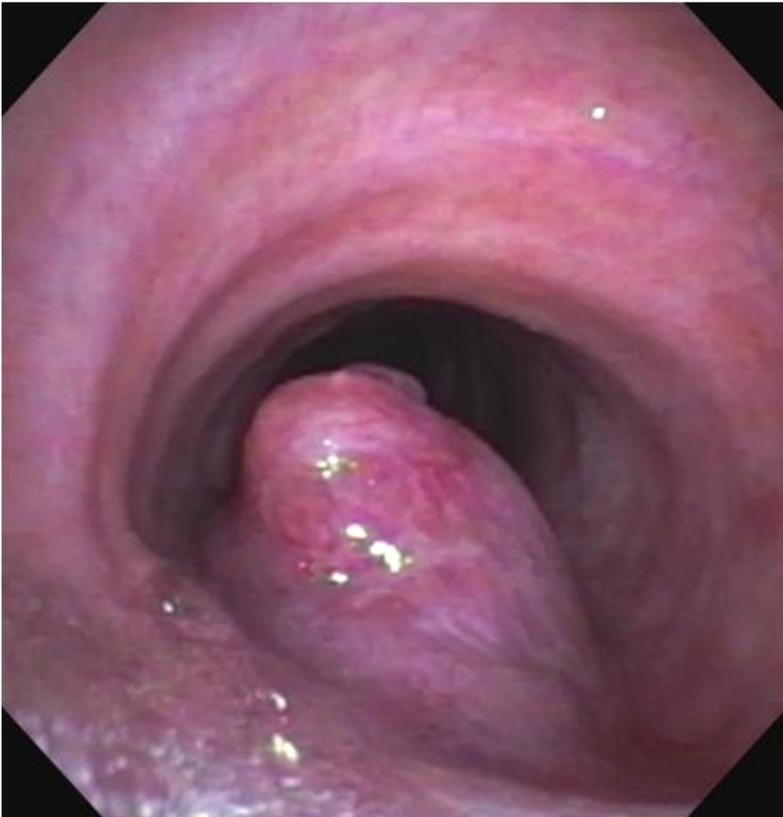


Quadro endoscopico delle stenosi tracheali da intubazione.

Cause meno frequenti di stenosi tracheali acquisite sono le fistole esofago-tracheali benigne e le malattie infiammatorie croniche, quali la Granulomatosi di Wegener, la

policondrite recidivante, le tracheobroncopatie osteocondroplatiche e l'amiloidosi. Queste patologie sono a carattere autoimmune con compromissione diretta dell'impalcatura tracheale o mediata dall'alterazione del microcircolo.

Tra le stenosi tracheali acquisite vi sono inoltre le patologie neoplastiche, quali i tumori a "bassa malignità" come i cilindromi, i carcinoidi ed i tumori mucoepidermoidi.

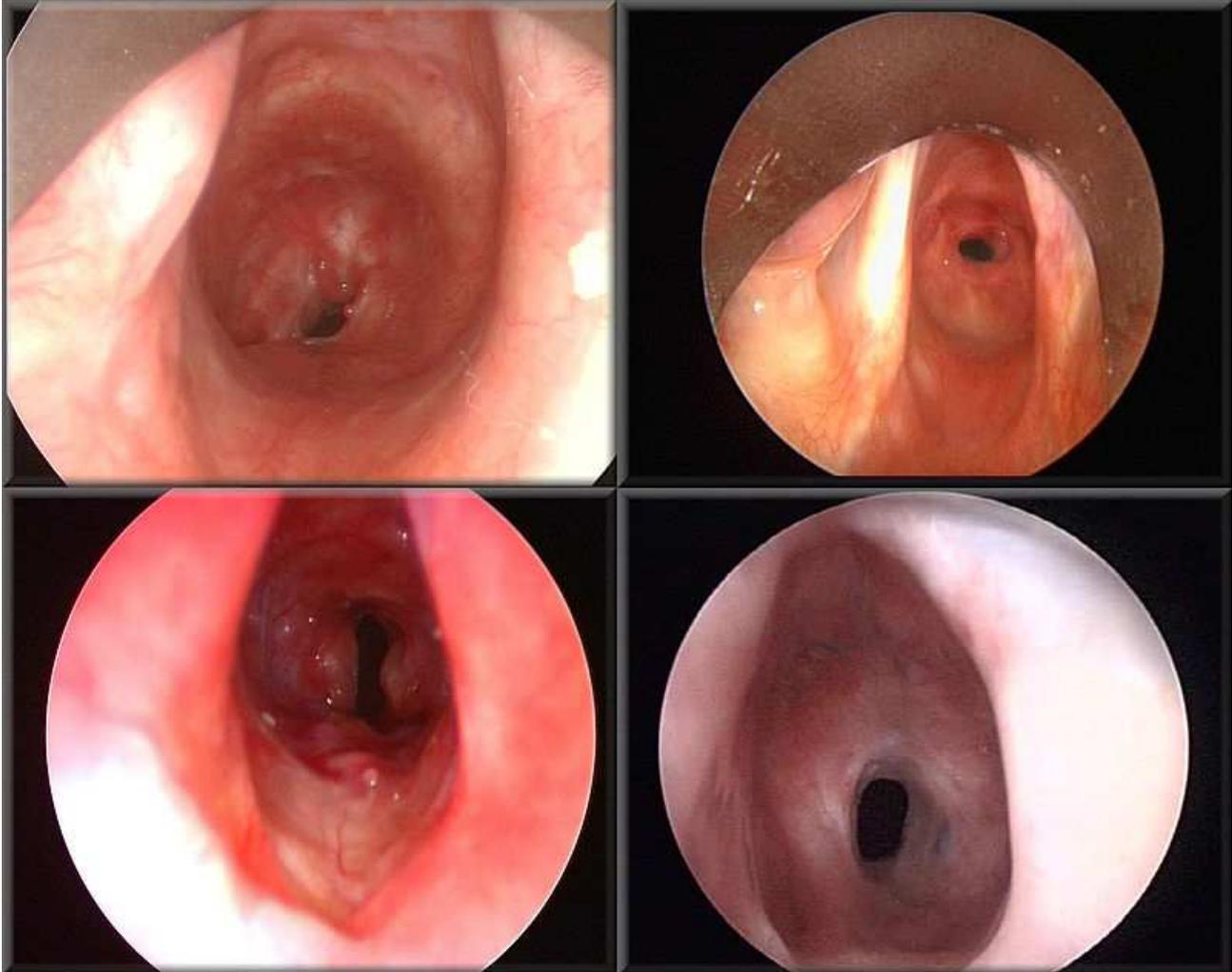


Quadro endoscopico di neoplasica della parete posteriore della trachea.

Altre possibili indicazioni sono le patologie congenite, tra cui le stenosi congenite e le tracheobroncomalacie presentano una incidenza significativa, mentre la agenesia tracheale e la tracheobroncomegalia sono di riscontro eccezionale.

Le stenosi tracheali congenite hanno un'incidenza pari a 1/40000 nati e sono caratterizzate da anomalie intrinseche degli anelli tracheali che si manifestano con un loro collasso durante gli atti respiratori. Vengono tipicamente classificate in tre gruppi: stenosi segmentarie, fusiformi e ipoplasie tracheali generalizzate.

La più frequente è sicuramente la stenosi tracheale segmentaria dovuta a una compressione vascolare (arteria anonima aberrante, ramo sinistro dell'arteria polmonare in sede retrotracheale, duplicazione dell'arco aortico).



Stenosi tracheali congenite.

La tracheobroncomalacia è una patologia congenita caratterizzata da un processo di disorganizzazione dell'armatura muscolo-elastica dovuta da una degenerazione mucoide della sostanza fondamentale degli anelli cartilaginei, che si manifesta con una dispnea a predominanza inspiratoria.

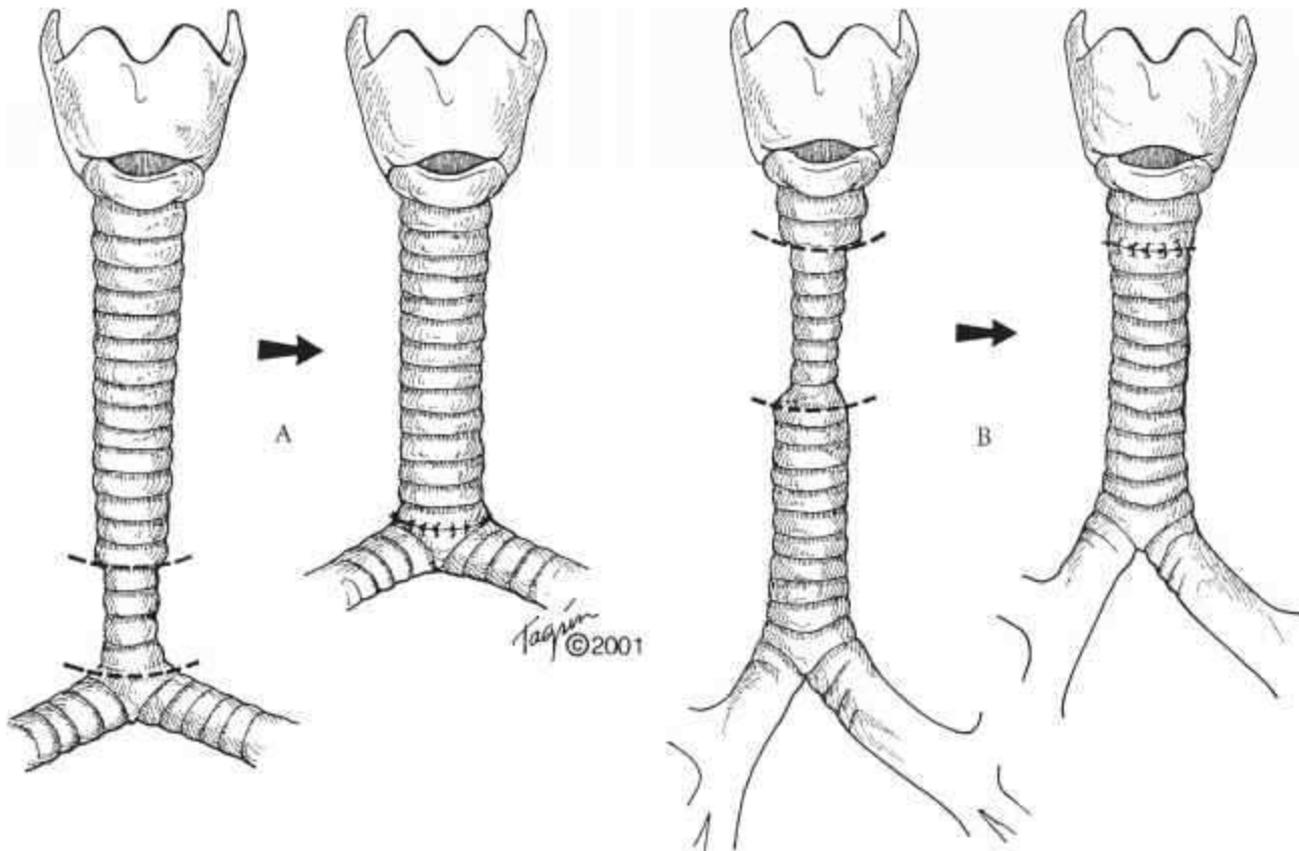


Quadro endoscopico di tracheomalacia.

#### **b- Trattamento**

La resezione tracheale rappresenta il trattamento di scelta per tutte le forme di stenosi tracheale sia nell'adulto che nel bambino. Il riparo mediante anastomosi diretta dei monconi è possibile ha patto di tenere conto di evitare una eccessiva tensione dell'anastomosi, di conservare la vascolarizzazione tracheale e di prevenire l'insorgenza di fenomeni flogistici e infettivi.

Tutto ciò è valido se la stenosi non supera il 50-60% della lunghezza della trachea, nell'adulto, e se il coinvolgimento non supera quattro anelli tracheali, nel bambino.



Resezione tracheale con tracheoplastica per anastomosi diretta.

Il razionale del trapianto trae base proprio dai casi in cui le peculiarità anatomiche e/o l'estensione della stenosi non permettano un trattamento ricostruttivo mediante anastomosi diretta.

Le possibilità ricostruttive sono attualmente ampie, grazie all'utilizzo di materiale sintetico o alle più recenti scoperte sui tessuti ottenuti con tecniche di bioingegneria [9]. Queste metodiche sono sicuramente promettenti ma presentano risultati ancora non ben definiti e costi estremamente elevati.

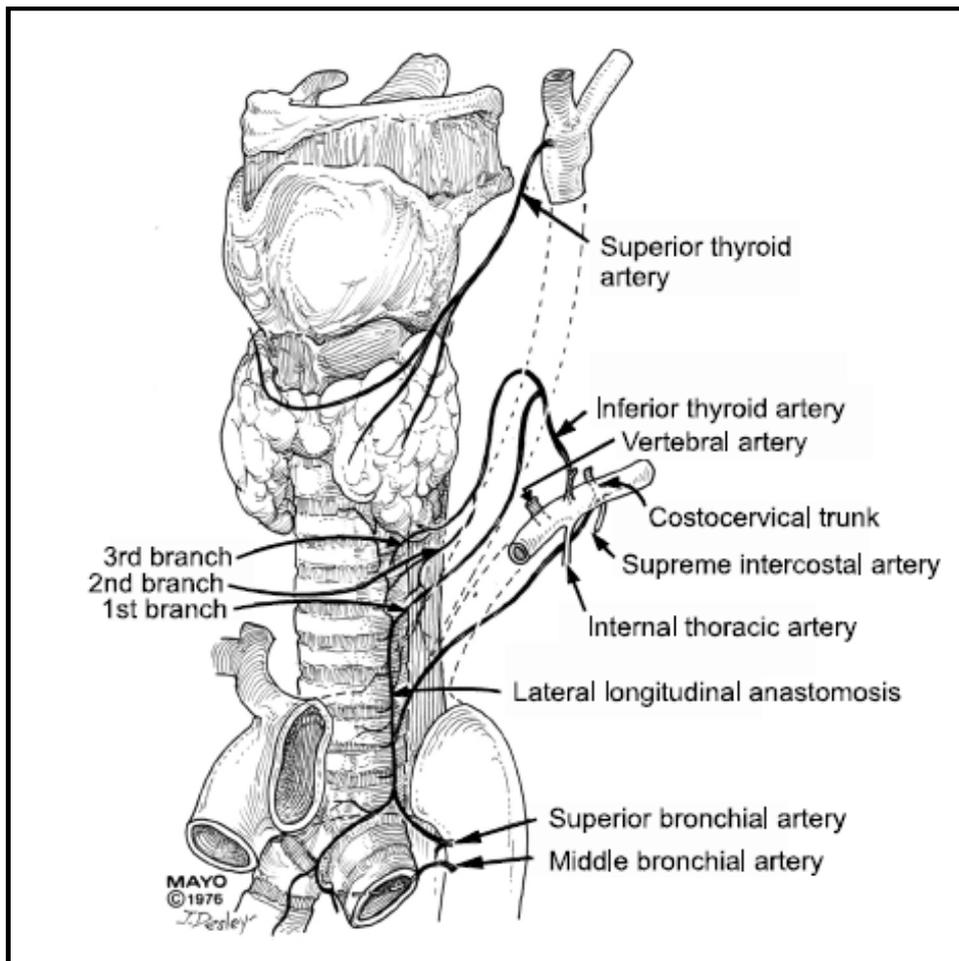
La possibilità di utilizzare un organo prelevato da cadavere aumenterebbe sicuramente le possibilità ricostruttive e la particolare struttura della trachea rende minimali gli effetti collaterali correlati alla terapia immunosoppressiva. Infatti, essendo composta fondamentalmente da cartilagine avascolare, la trachea è un di organo il cui trapianto non

richiede la somministrazione di terapia immunosoppressiva a lungo termine. Questo è sicuramente uno dei principali vantaggi di questa tecnica chirurgica ricostruttiva.

## 2. STATO DELL'ARTE SULLA RICOSTRUZIONE TRACHEALE

La ricostruzione tracheale è sempre stata oggetto di studio vista l'importanza dell'organo e le sue peculiarità anatomiche e funzionali. Un importante fattore limitante è sempre stata la peculiare vascolarizzazione che, al contrario di altri organi, non si basa su singoli peduncoli vascolari noti, ma su un insieme di interconnessioni tra molteplici vasi che, singolarmente, non sono in grado di assicurare la vitalità dell'intera struttura.

La vascolarizzazione trae infatti origine dai vasi tiroidei inferiori, sottoclaveari, intercostali, mammari interni, innominati, bronchiali ed esofagei. Tutti questi peduncoli formano un ricco plesso lungo le pareti laterali della trachea da cui nascono delle anastomosi longitudinali [1].



Vascolarizzazione arteriosa della trachea.

Una ricostruzione adeguata deve fornire una struttura lateralmente rigida ma longitudinalmente flessibile, con una superficie interna coperta di epitelio respiratorio ciliato, ovviamente biocompatibile, non tossica, non immunogenica e non cancerogena; inoltre non deve dislocarsi o erodersi nel tempo, impedire l'accumulo di secrezioni o colonizzazione batterica. La ricostruzione tracheale si è sempre avvalsa principalmente di stents e protesi sintetiche, eventualmente associate a tessuti autologhi. Le più recenti innovazioni in tema di ricostruzione della trachea sono rivolte verso l'allotrapianto e l'ingegneria tissutale.

Ricostruzione tracheale con stents – protesi – tessuto non vitale [2]:

	VANTAGGI	SVANTAGGI
<b>STENTS</b>		
<b>Silicone</b>	Rimovibile Inerte Modellabile	Difficile posizionamento Dislocazione Non riepitelizzazione con rischio di ostruzione
<b>Metalli</b>	Facile posizionamento Buon calibro Minore ostruzione	Permanente Difficile modellamento o rimozione
<b>Assorbibili</b>	Riepitelizzazione Rigidi	Modellamento a lungo termine indefinito
<b>PROTESI SINTETICHE E SCAFFOLD</b>		
<b>Solide:</b>		Ostruzione Erosione Richiedono ampie resezioni
- Acciaio		
- Silicone		
- Teflon		
- Polietilene		
- Idrossiapatite		
<b>Porose:</b>		Reazione cicatriziale Stenosi
- Meshes supportate da materiale estraneo, tessuto autologo o biopolimeri		
<b>Tessuto non vitale da cadavere</b>	Inerte	Cicatrizzazione Necrosi cartilaginea e epiteliale

Ricostruzione tracheale con tessuto autologo associato a materiali sintetici [2]:

	<b>MATERIALE</b>	<b>RISULTATI</b>
<b>Innesti</b>	Fascia	Il pericondrio innestato su lembi fasciali porta alla formazione di cartilagine, riepitelizzazione ma rischio di stenosi.
	Cartilagine	
	Derma	
	Pericardio	
	Omento	
	Periostio	La cartilagine nasale viene riassorbita.
	Pericondrio	
	Mucosa buccale cartilagine auricolare	+ La mucosa vescicale porta a edema con ostruzione.
	Dura madre	Buoni risultati con innesti di cartilagine costale o pericardio nelle stenosi congenite; ma la cartilagine può essere riassorbita e il pericardio convertito in tessuto cicatriziale con riduzione della crescita tracheale.
	Mucosa vescicale	
Digiuno		
<b>Lembi vascolarizzati</b>	Latissimus dorsi	Pochi report con ridotto follow up
	Trapezio	
	Periostio	
	Mucosa buccale	
<b>Ricostruzioni tubulari</b>	Lembi peduncolati	Interventi multipli con rischio elevato di complicanze infettive
	Anelli di polipropilene avvolti da derma e platisma	
	Emianelli di cartilagine costale	
	Aorta	
	Esofago	

a. Innesti non vascolarizzati

1- Innesti autologhi [3-7]

La ricostruzione immediata con autoinnesti ortotopici di tessuto fresco spesso falliscono a causa di un ritardo nella rivascolarizzazione, ovviamente in base alle dimensioni dell'innesto. In caso di innesti di lunghe dimensioni il rischio di necrosi ischemica comporta lo sviluppo di fibrosi con stenosi ostruttiva. Anche in caso di innesti cartilaginei di piccole dimensioni resta il rischio di riassorbimento con sviluppo di fibrosi. Una recente innovazione, seppur ancora con ridotto follow up, è l'utilizzo di lembi compositi di cute cervicale e cartilagine.

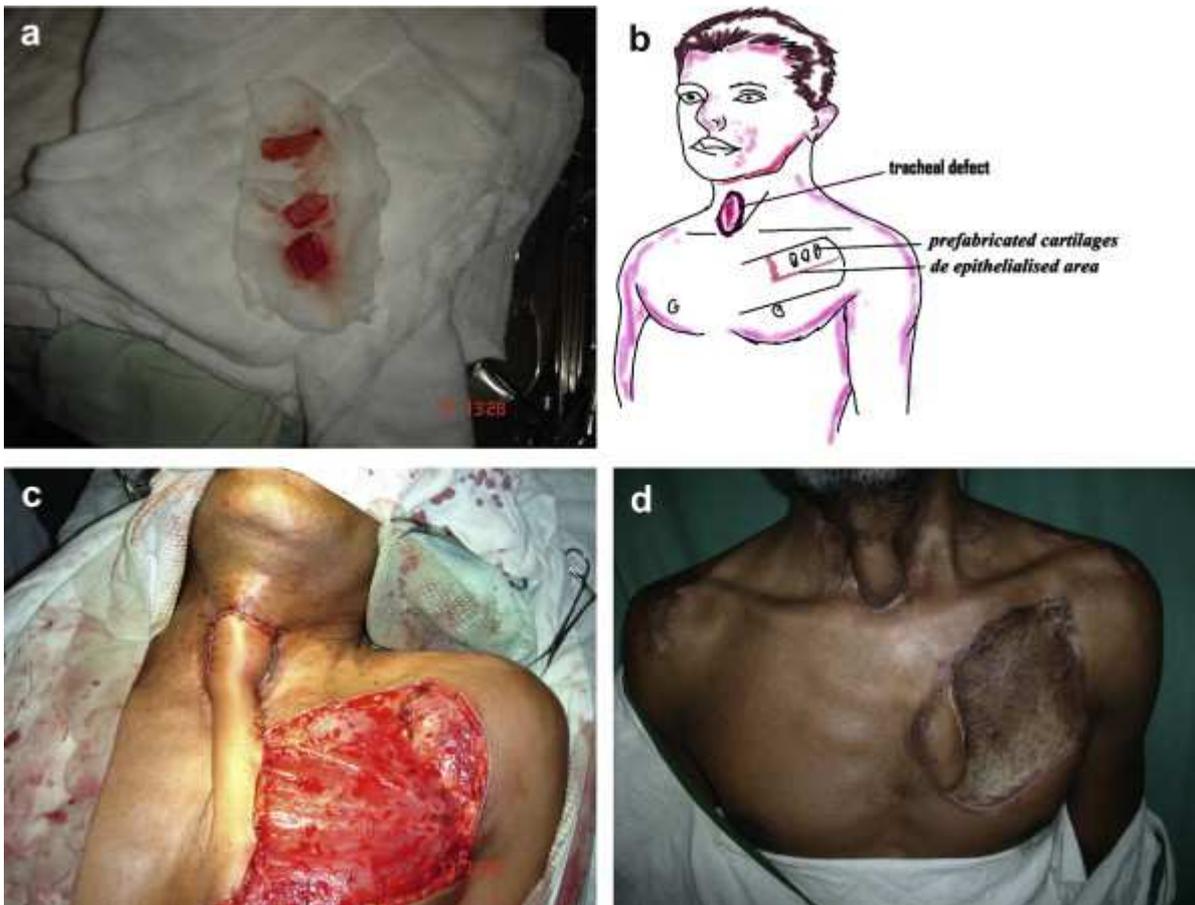
2- Alloinnesti [8-12]

Gli alloinnesti richiedono due presupposti fondamentali: terapia immunosoppressiva e possibilità di rivascolarizzazione. Il rischio reale in caso di mancato attecchimento è sempre rappresentato dalla necrosi con riassorbimento, sostituzione con tessuto fibroso e sviluppo di stenosi. Gli innesti crioperservati si sono dimostrati in grado di riepitelizzarsi ma non danno buoni risultati nel lungo periodo.

b. Innesti vascolarizzati

1- Autoinnesti [13-21]

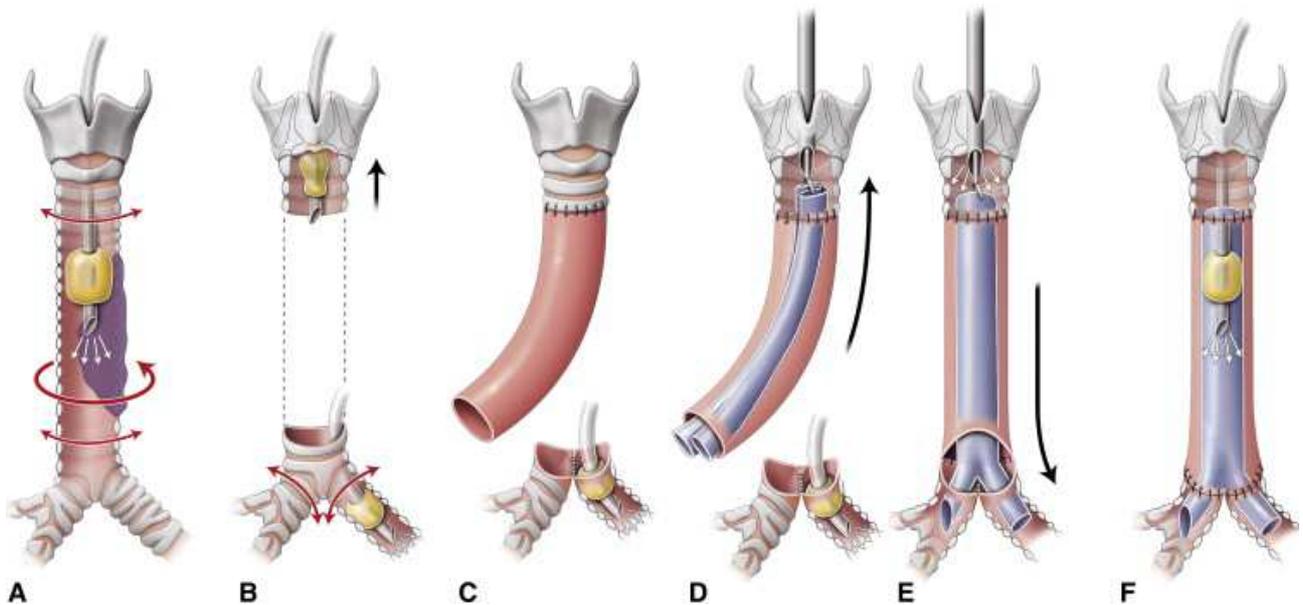
La rivascolarizzazione di autoinnesti freschi di piccole dimensioni è stata eseguita con omento, tessuto muscolare, cartilagine, lembi condromucosi o muscolofasciali. I risultati migliori sono stati ottenuti con il preliminare impianto all'interno di tessuto vascolarizzato e successivo trasferimento ortotopico.



Lembo composito deltopettorale associato a innesto di cartilagine per la ricostruzione della trachea [17].

## 2- Alloinnesti [22-26]

Gli alloinnesti non richiedono terapia immunosoppressiva e non portano a reazioni di rigetto nella maggioranza dei casi. Va sottolineato che gli innesti di aorta non si sono dimostrati efficienti in quanto richiedono il posizionamento di stent nel lungo periodo. Nel 1979 venne eseguito il primo allotrapianto di trachea impiantata eterotopicamente al di sotto del muscolo sternocleidomastoideo e poi trasposta in sede ortotopica dopo 3 settimane. Successivamente venne utilizzato come sede ricevente eterotopica l'omento con risultati scoraggianti.



Schema di ricostruzione tracheale con innesto di aorta associato al posizionamento di uno stent [22].

### 3- Innesti rivascolarizzati [27,28]

La particolare vascolarizzazione della trachea rende difficoltosa una diretta rivascolarizzazione dell'organo. Per ovviare a questo problema sono stati utilizzati dei lembi liberi per permettere la rivascolarizzazione di auto e alloinnesti. Nel 2010 è stato eseguito il primo allotrapianto di trachea prelevata da cadavere utilizzando il lembo libero radiale come sede ricevente per ottenerne la rivascolarizzazione. La procedura verrà descritta in seguito in quanto oggetto del progetto di ricerca.

#### c. Ingegneria tissutale

I rischi correlati alla immunosoppressione cronica e la controindicazione alla sua somministrazione in caso di patologie maligne hanno portato ad un interesse sempre maggiore nei confronti dell'applicazione dell'ingegneria tissutale nella ricostruzione della trachea. Le componenti necessarie sono le cellule, gli scaffolds e i bioreattori.

## 1- Cellule

Le cellule epiteliali possono essere isolate, coltivate ed isolate in vitro. Cellule esogene di origine non tracheale che possono essere utilizzate per la riepitelizzazione derivano dalle staminali embrionali, staminali pluripotenti e cellule di origine mesenchimale [29-33].

La rigenerazione cartilaginea può essere ottenuta in diversi modi. Si può stimolare in vivo utilizzando una base associata al fattore di crescita fibroblastico basico e la proteina ossea morfogenetica-2; questo metodo porta a una struttura fibrosa. I condrociti prelevati dalle cartilagini nasali, costali o auricolari, espansi in vitro in una struttura tridimensionale portano a una neotrachea vascolarizzata ma con una bassa resistenza meccanica. Un'alternativa di maggiore sicurezza sembrano essere le cellule staminali di origine mesenchimale [34-43].

## 2- Scaffolds [44-46]

Gli scaffolds sintetici possono essere modellati come forma e dimensione e possono essere formati per ottenere le giuste proprietà di resistenza, tempo di degradazione, porosità e microstruttura. Le molecole derivanti dall'acido poliglicolico inducono un pH acido che stimola una intensa risposta infiammatoria. Gli idrogel hanno un lungo tempo di degradazione con una risposta biologica incontrollata nel lungo termine. Il rimodellamento e il risultato a lungo termine di queste tecniche non sono ancora noti.



Scaffold sintetico elaborato dal Prof. Macchiarini nel 2011 in Svezia.

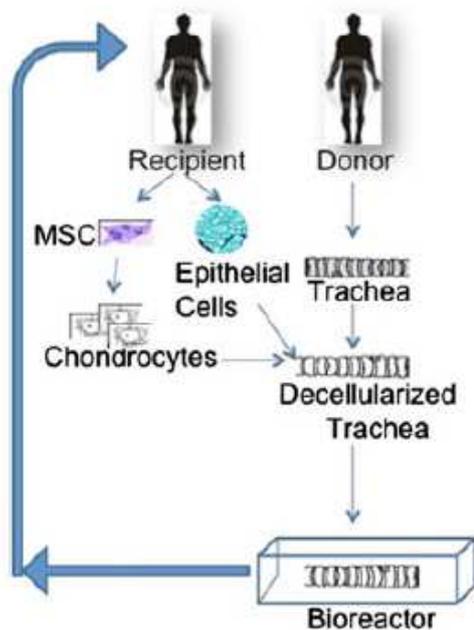
Gli scaffolds di origine naturale e decellularizzati appaiono più vantaggiosi in quanto favoriscono l'adesione, la proliferazione e la differenziazione di diversi tipi di cellule. Sono composti di componenti della matrice extracellulare, quali fibrina, acido ialuronico e altri glicosaminoglicani. I loro limiti sono la ridotta consistenza, modellabilità e biodegradabilità. I risultati fino ad oggi hanno riportato casi di collasso del trapianto a lungo termine.

### 3- Bioreattori [47-50]

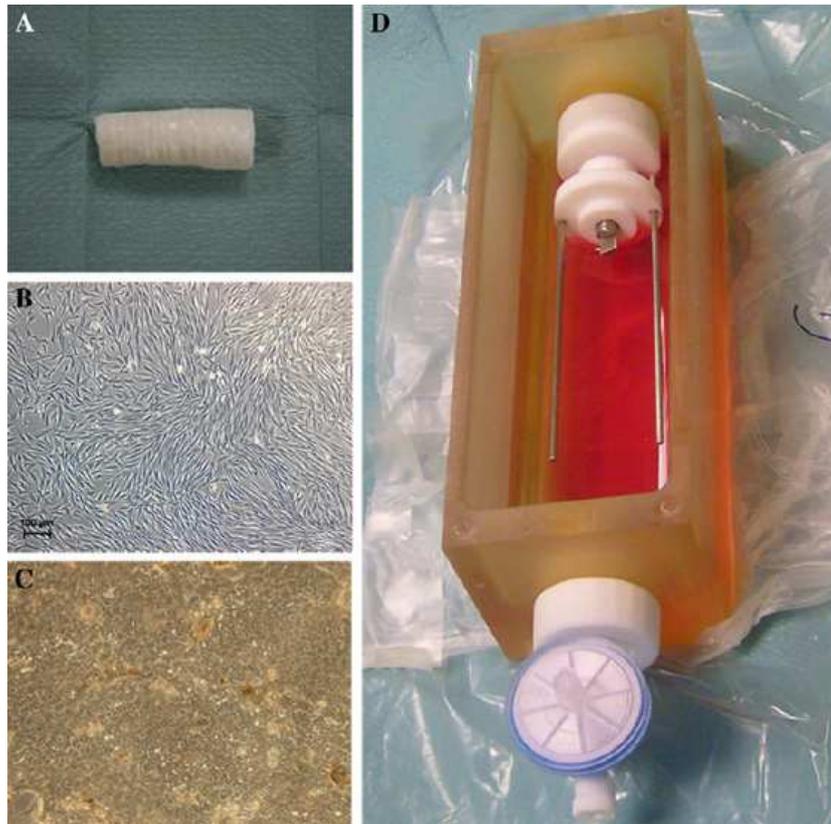
I bioreattori sono strumenti da laboratorio per culture cellulari, che inducono un ambiente idoneo per lo sviluppo delle cellule e la creazione di strutture tridimensionali. Creano un ambiente fisiologico idoneo per la adesione, proliferazione e differenziazione controllata delle culture cellulari grazie a stimoli chimici e meccanici idonei.



Scaffold decellularizzato e allestimento del bioreattore.



Metodo per la realizzazione di scaffold decellularizzati di trachea.



Elementi necessari per la realizzazione dello scaffold:

A: trachea umana da donatore decellularizzata.

B: condrociti di derivazione da cellule staminali mesenchimali.

C: cellule epiteliali.

D: bioreattore.

### **3. ALLOTRAPIANTO DI TRACHEA**

L'allotrapianto di trachea è stato a lungo ignorato come tecnica chirurgica ricostruttiva in quanto non è ben nota la vascolarizzazione della trachea. Il principale problema appare correlato all'assenza di un peduncolo vascolare noto in grado di vascolarizzare l'intero organo permettendo quindi un trapianto basato su tali vasi.

Per ovviare a questo problema il gruppo belga guidato da Deleare ha ideato una tecnica chirurgica di allestimento di un lembo composto da una trachea prelevata da cadavere e avvolto all'interno della fascia antibrachiale il cui peduncolo vascolare è noto ed è rappresentato dall'arteria radiale e dalle sue due vene comitanti.

La tecnica proposta prevede diversi tempi chirurgici.

Durante l'espianco viene eseguita una cervicotomia per accedere alla loggia tracheale. Viene quindi isolato il segmento necessario di trachea sezionandolo prossimalmente e distalmente e isolandolo dall'esofago sulla sua faccia posteriore. Il segmento prelevato viene quindi a banco privato della fascia tracheale lungo la faccia esterna della pars cartilaginea e della pars membranosa. Il residuo composto dagli anelli cartilaginei e dalla mucosa interna viene quindi impiantato a livello dell'avambraccio del ricevente. Delle piccole incisioni vengono eseguite lungo i legamenti intercartilaginei per favorire la rivascolarizzazione della faccia interna.



Il lembo cervicale di cute e SMAS viene sollevato esponendo la loggia tracheale.



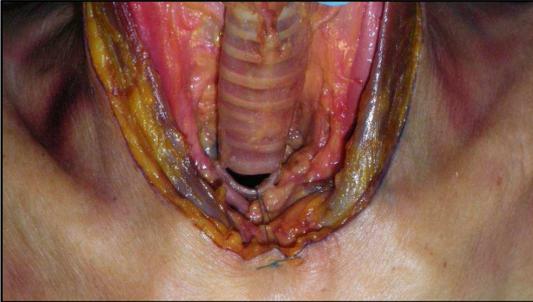
I muscoli pretracheali vengono aperti sulla linea mediana per esporre la trachea.



I muscoli vengono sezionati per esporre la trachea.



La trachea viene isolata dall'esofago sulla sua faccia posteriore.



La sezione distale viene eseguita in base alla lunghezza necessaria del segmento da trapiantare.



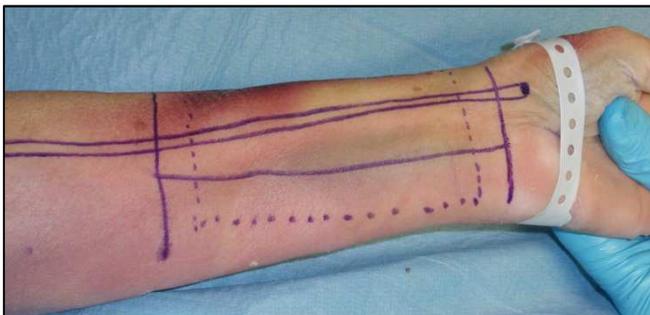
La trachea viene quindi sollevata in senso caudo craniale fino a sezionarla al di sotto della cricoide.





A banco viene asportata la fascia tracheale e la pars membranacea.

Il lembo fasciale viene allestito mediante una incisione a livello della faccia volare dell'avambraccio estesa fino al piano fasciale che viene isolato dal sottocute. Viene quindi incisa la fascia isolando un rettangolo di dimensioni adeguate al segmento da impiantare. La fascia viene scollata sulla sua faccia profonda dal piano muscolo tendineo e mantenuta inserita solo lungo il decorso del peduncolo radiale.



A livello della faccia volare dell'avambraccio viene disegnato il lembo fasciale e la arteria radiale.



La fascia antibrachiale viene esposta.



Scollamento della fascia dal piano muscolo tendineo.



La fascia viene sollevata mantenendola inserita a livello del peduncolo radiale.

La trachea viene quindi alloggiata a livello dell'avambraccio mantenendo la pars cartilaginea adesa al piano fasciale. Il lembo fasciale avvolge quindi l'organo e viene suturato ai margini della trachea. La cute viene quindi anch'essa suturata ai margini della trachea e viene quindi mantenuta esposta la mucosa interna.



La trachea viene alloggiata sulla fascia antibrachiale.



La fascia avvolge l'organo e viene suturato ai suoi margini.



La cute antibrachiale viene quindi anch'essa suturata a i margini dell'organo.



Vengono allestiti due lembi cutanei per ricostruire la parete posteriore.



I due lembi vengono suturati sulla linea mediana.



Il peduncolo radiale viene sezionato distalmente.



Il lembo composito viene isolato mantenendolo vascolarizzato dal peduncolo radiale.



La zona viene mantenuta medicata per 3 mesi durante i quali si sviluppa una progressiva necrosi della mucosa interna, di origine del donatore, associata alla contemporanea crescita di tessuto di granulazione a partenza dalla fascia antibrachiale del ricevente. A distanza di 3 mesi viene quindi eseguito un innesto di mucosa buccale per indurre la crescita di mucosa sulla faccia interna dell'organo.

Terminata questa fase viene quindi prelevato l'organo per l'impianto ortotopico. Innanzitutto viene ricreata la parete posteriore della trachea mediante dei lembi cutanei che vengono ribaltati e suturati sulla linea mediana. Viene quindi isolato il lembo composito sezionando distalmente il peduncolo radiale e isolandolo prossimalmente fino alla piega del gomito. Il lembo così può essere impiantato a livello cervicale e rivascolarizzato mediante anastomosi microchirurgiche tra il peduncolo radiali e i vasi del collo.

#### **4.1. STUDIO ANATOMICO SUL LEMBO COMPOSITO DI TRACHEA E DI LEMBO FASCIALE ANTEROLATERALE DI COSCIA**

##### **a- Descrizione del progetto**

Lo scopo della nostra ricerca è quello di determinare se il lembo fasciale anterolaterale di coscia può rappresentare una valida alternativa al lembo libero cinese nell'allestimento del trapianto composito.

Lo studio è stato svolto in collaborazione e con il supporto logistico del dipartimento di anatomia umana del CHU di Liegi con la supervisione del Prof. Philip Nicolas Blondeel dell'Università di Gent. Per lo studio sono stati utilizzati 10 cadaveri freschi.

Infine è stata prodotta la documentazione necessaria per ottenere la approvazione a realizzare il trapianto sull'uomo.

##### **b- Obiettivi**

L'obiettivo principale era quello di acquisire le conoscenze tecniche e definire la reale possibilità di utilizzare il lembo fasciale anterolaterale di coscia.

In particolare si è mirato a:

- Acquisire le conoscenze e la capacità tecnica per eseguire il trapianto secondo la tecnica descritta da Deleare
- Utilizzare il lembo fasciale anterolaterale di coscia come sostituto del lembo cinese
- Valutare la vascolarizzazione della fascia antibrachiale e della fascia anterolaterale di coscia

## **4.2. MATERIALI E METODI**

Lo studio è stato eseguito presso la sala settoria del Dipartimento di Anatomia Umana del CHU di Liegi. Sono stati utilizzati 10 cadaveri freschi, di cui 8 uomini e 2 donne. Tutti i cadaveri presentavano preservate le regioni della coscia e dell'avambraccio, bilateralmente. Sono state quindi eseguite 20 dissezioni per ogni lembo utilizzato (10 lembi antibrachiali e 10 lembi anterolaterali).

La dissezione a livello del lembo di avambraccio è stata eseguita come sopradescritto, seguendo la tecnica originale di Deleare [1,2].

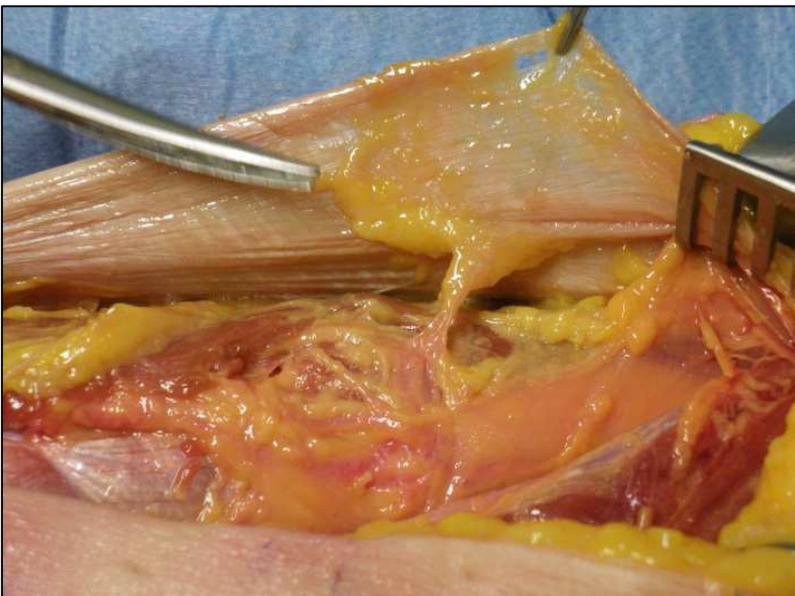
A livello della coscia sono state utilizzate due diverse metodiche. Inizialmente la dissezione e preparazione del lembo è stata eseguita isolando la fascia della coscia e staccando un rettangolo di fascia vascolarizzata da un perforante della branca discendente della circonflessa laterale del femore. La trachea è stata quindi avvolta con questa fascia e quindi isolato il lembo composito basato sul peduncolo del lembo ALT.



Isolamento della fascia profonda.



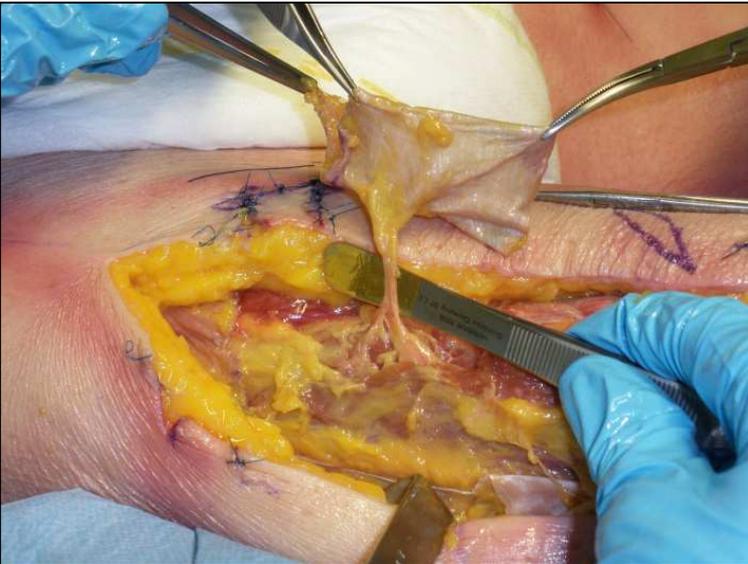
La fascia viene sollevata e viene visualizzato il setto intermuscolare ove decorre il peduncolo.



Viene visualizzata la perforante che vascolarizza la fascia.



Disegno del rettangolo di fascia.



La fascia viene sollevata mantenuta attaccata al peduncolo vascolare

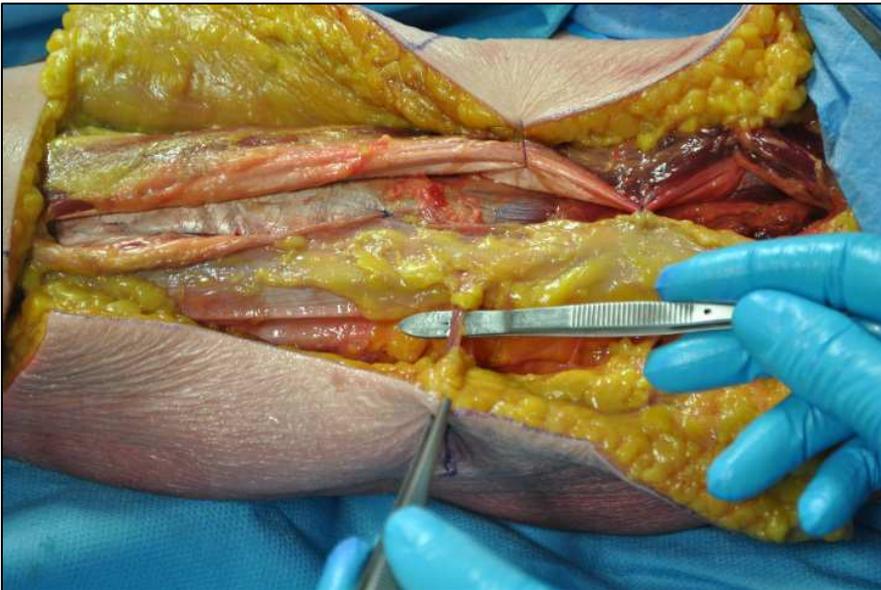


La trachea viene poggiata sulla fascia.



Lembo composito isolato e prelevato.

Dopo aver eseguito tale intervento eseguito sui primi 3 casi sono insorti alcuni dubbi correlati alla natura perforante di questo lembo. Il fatto che il lembo composito resti ancorato solamente al perforante mette a rischio il mantenimento della integrità della vascolarizzazione. Per tale motivo abbiamo ipotizzato alcuni espedienti per ridurre i rischi di torsione o tensione sul peduncolo.



Viene identificato il vaso perforante.



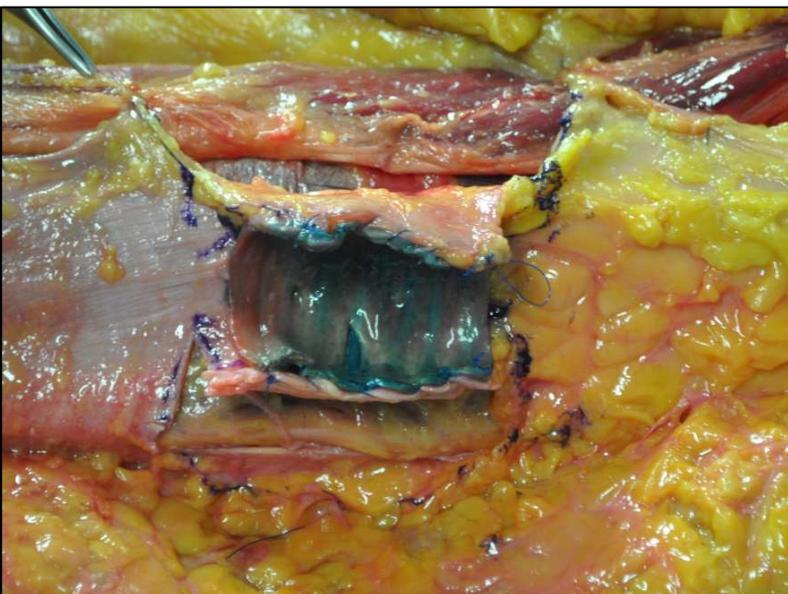
Centrando il disegno sul perforante viene segnata la fascia necessaria per allestire il lembo composito.



Viene quindi eseguito il disegno considerando di mantenere la fascia inserita lungo l'asse centrale.



Vengono quindi incise le parti laterali del lembo.



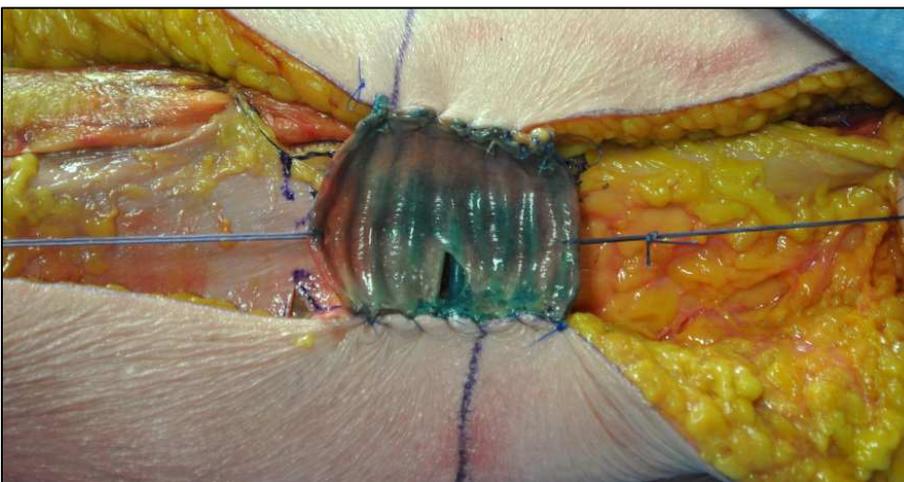
La trachea viene quindi avvolta col lembo di fascia.



La fascia viene mantenuta inserita.



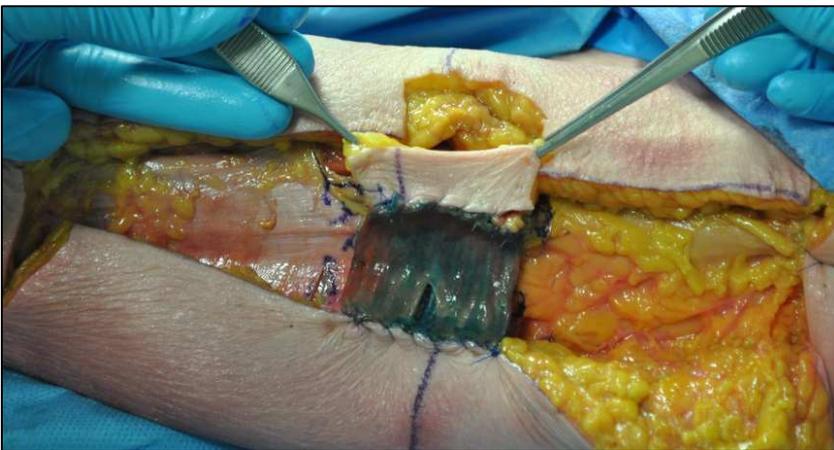
Dei punti di trazione vengono inseriti tra trachea e cute sui due lati per mantenere la lunghezza della trachea e mantenerla ferma.



Viene quindi suturata la cute ai bordi del lembo.

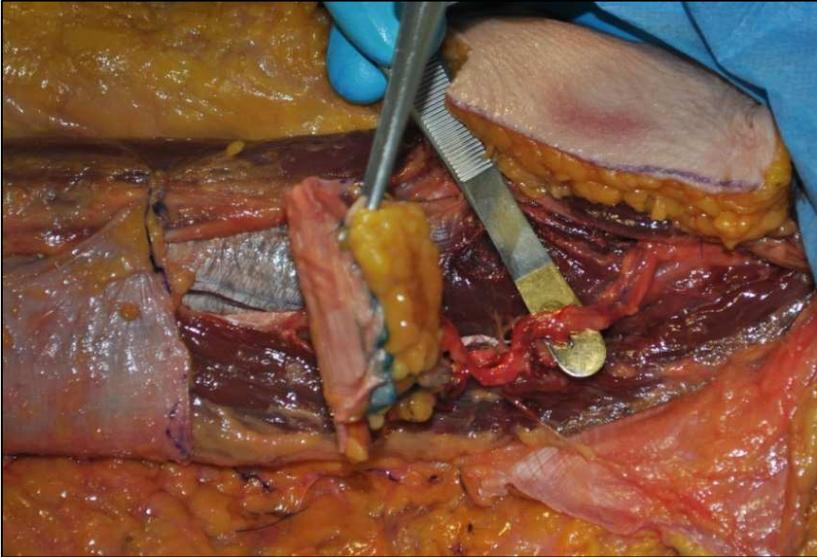


Viene suturata l'incisione della coscia.

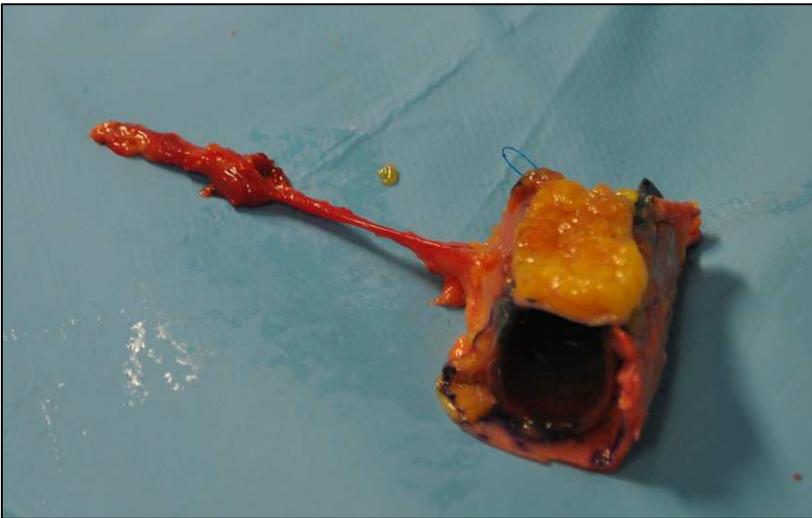


Viene quindi allestito il lembo cutaneo per ricostruire la parete posteriore.





Solamente prima di staccare il lembo composito viene disseccato il peduncolo.



Il lembo composito viene prelevato.

Questi accorgimenti tecnici permettono di garantire una migliore stabilità del lembo evitando scivolamenti della fascia che porterebbero ad un rischio di torsione o tensione sul vaso perforante.

L'ultima fase dello studio è stato un confronto nella vascolarizzazione della fascia antibrachiale rispetto alla fascia del lembo ALT. Questa fase è stata eseguita iniettando delle colle tinte di blu di metilene all'interno dell'arteria radiale, per quanto riguarda il lembo cinese, e del vaso perforante della branca discendente della arteria circonflessa laterale del femore, per quanto riguarda la fascia del lembo ALT. Sono state utilizzate 8 fasce di lembo cinese e 8 fasce di lembo ALT.

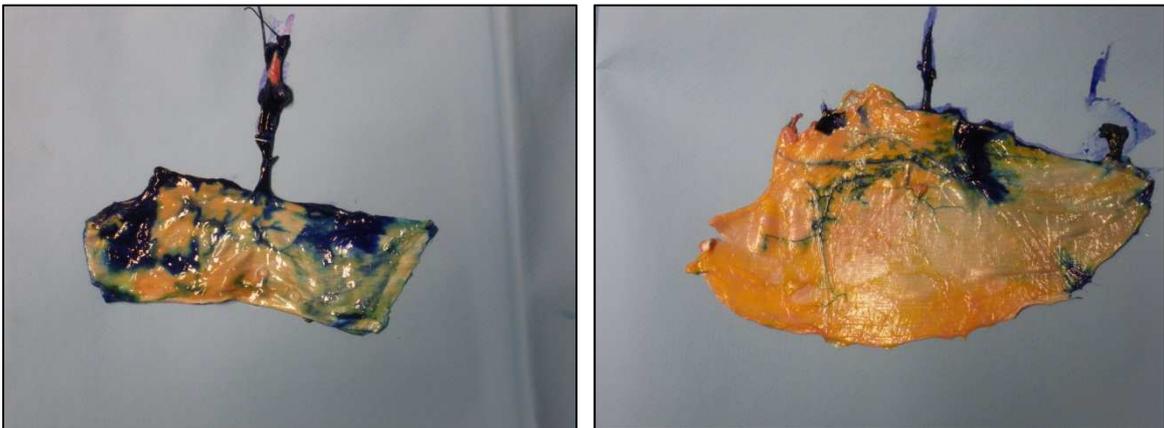
### **4.3. RISULTATI**

I risultati dello studio anatomico eseguito hanno riportato che il tempo chirurgico necessario per allestire i due lembi compositi è assolutamente comparabile, il lembo antibrachiale richiede in media 3 ore e 30 minuti, mentre il lembo anterolaterale di coscia richiede 4 ore di media. La complessità nell'allestire i due lembi è risultata, secondo la nostra esperienza, superiore nel caso del lembo cinese, in quanto la fascia antibrachiale si presenta più difficile da isolare a causa della sua maggiore aderenza ai piani profondi, in particolare in corrispondenza del tendine del muscolo palmare lungo. Entrambi i siti donatori sono stati chiusi, in tutti i casi, per sutura diretta.

Lo studio della vascolarizzazione dei due lembi fasciali ha riportato la presenza di una vascolarizzazione prevalente a livello del decorso del peduncolo nel caso del lembo cinese, mentre, nel caso del lembo anterolaterale di coscia, la vascolarizzazione è diffusa lungo tutta la fascia.



L'iniezione di blu di metilene dimostra una vascolarizzazione prevalente lungo il decorso del peduncolo radiale con segmentari vasi che da questo si staccano per irrorare la fascia antibrachiale.



A livello della fascia del lembo anterolaterale di coscia l'iniezione di blu di metilene, eseguita attraverso il perforante, dimostra una più diffusa presenza di vascolarizzazione a livello della rete fasciale, seppur prevalente nel punto di ingresso del perforante.

## **5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI**

Il gruppo del prof. Delaere ha notevolmente ampliato la chirurgia ricostruttiva del torace.

L'innovativa tecnica di allotrapianto di trachea rappresenta la migliore metodica ricostruttiva basata su tessuti autologhi.

La trachea presenta una particolare vascolarizzazione tale da non permettere un sicuro trapianto dell'organo in toto rivascolarizzato nel sito ricevente. Questa caratteristica ha portato a studiare tecniche alternative di ricostruzione. I tessuti utilizzati fino ad oggi come sostegno si sono rivelati poco sicuri nel lungo periodo in termini di mantenimento della pervietà della via aerea. L'uso di innesti cartilaginei o ossei associati a lembi locali o locoregionali non ha permesso quindi di codificare un intervento efficace, sicuro e ripetibile.

D'altro canto le più recenti tecniche di bioingegneria tissutale offrono sicuramente ottimi risultati ma comportano notevoli costi e necessitano di strumenti non ovunque disponibili.

La possibilità di utilizzare l'organo prelevato da cadavere, sfruttando la naturale caratteristica della cartilagine di non stimolare reazione autoimmuni, riduce notevolmente i costi rispetto alle tecniche di bioingegneria e rende questa metodica disponibile in ogni centro trapianti.

La tecnica di Delaere utilizza il lembo libero radiale [1] come sede di impianto della trachea prelevata da cadavere. In questa sede l'organo viene rivascolarizzato a partire dai vasi della fascia antibrachiale. Durante la fase di integrazione della trachea, i tessuti molli di origine dal donatore vanno progressivamente in necrosi e residua solamente il tessuto fibrocartilagineo. Nel secondo tempo chirurgico il lembo composito di trachea integrata nella fascia antibrachiale viene sollevato basandolo sul solo peduncolo radiale composto dall'arteria radiale e dalle sue due vene comitanti; questo può quindi essere trasposto a

livello cervicale a ricostruire il difetto e rivascolarizzato anastomizzando il peduncolo ai vasi del collo.

La metodica offre quindi un ottimo risultato in termini di ricostruzione funzionale e anatomica.

Partendo dalla tecnica di Delaere abbiamo ipotizzato di utilizzare il lembo anterolaterale di coscia [2] come base del lembo composito in sostituzione del lembo cinese. L'idea nasce per sfruttare i vantaggi del lembo perforante [3] rispetto al lembo assiale.

Il prelievo del lembo cinese prevede il sacrificio di un peduncolo principale a livello dell'avambraccio e non è sempre possibile; infatti, nel caso di presenza di una arteria radiale dominante rispetto all'ulnare, il sacrificio di questo vaso mette a rischio la vascolarizzazione della mano. Inoltre una eventuale complicanza infettiva o necrotica durante la fase di impianto eterotopico potrebbe avere conseguenze destruenti a carico dell'avambraccio con importanti sequele funzionali e/o estetiche a carico dell'avambraccio.

L'utilizzo del lembo anterolaterale di coscia non comporta il sacrificio di un peduncolo vascolare principale, in quanto viene semplicemente isolata la branca discendente dell'arteria circonflessa laterale del femore. Una eventuale complicanza può essere più facilmente trattata vista la maggiore quantità di tessuti generalmente presenti in questa sede rispetto alla faccia volare dell'avambraccio e i rischi di sequele funzionali sono sicuramente inferiori in quanto non vengono esposte strutture tendinee o vascolari durante la fase di allestimento del lembo. Inoltre, seppur meno rilevante, un eventuale esito esteticamente non soddisfacente viene sicuramente meglio accettato a livello della coscia rispetto all'avambraccio.

I tempi di allestimento dei due lembi sono assolutamente comparabili in mano a chirurghi che hanno dimestichezza nella preparazione di lembi perforanti. La maggiore facilità di allestimento del lembo anterolaterale di coscia nasce dalla minore aderenza di questa fascia con i piani profondi, rispetto alla fascia antibrachiale. Questo, insieme alle

caratteristiche anatomiche della fascia stessa, permette di ottenere un lembo di tessuto resistente e ben vascolarizzato, che difficilmente viene lesionato durante la fase di allestimento.

I rischi di lesioni a carico del vaso perforante vengono ridotti fissando adeguatamente la fascia isolata nella sede ricevente la trachea con punti di trazione che la collegano alla cute circostante e non eseguendo il completo isolamento del peduncolo durante il primo tempo chirurgico. Questi espedienti tecnici limitano le possibili torsioni o tensioni che possono agire sul vaso perforante.

Un'altra possibile critica al lembo anterolaterale di coscia è la ben nota variabilità anatomica [4-6] può essere risolta mediante l'esecuzione di indagini radiologiche preoperatorie quali la angio- TAC per definire la presenza e la sede del vaso perforante [7].

In merito alla vascolarizzazione dei due lembi il confronto basato sull'iniezione di colorante nel peduncolo principale ha comunque evidenziato una vascolarizzazione diffusa su tutta la fascia sia nel caso del cinese che nel lembo ALT. Pur non potendo concludere con dati significativi che la vascolarizzazione è ottimale in entrambi i casi possiamo affermarlo in considerazione del loro abituale utilizzo in campo clinico [8]. Lo studio da noi eseguito su questo parametro non permette di dare giudizi conclusivi, vista la ridotta numerosità del campione e la non completa affidabilità della tecnica utilizzata.

## 6. BIBLIOGRAFIA

### CAP 1

- 1- Grillo HC, Donahue HD, Mathisen JD, Wain CJ, Wright CD. Postintubation tracheal stenosis: treatment and results. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;109:486-93.
- 2- Wright CD, Grillo HC, Wain JC, et al. Anastomotic complications after tracheal resection: prognostic factors and management. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 128:731-9.
- 3- Getty R. Anatomy of the neck. In: Grossman SA, ed. *Anatomy of domestic animals*. Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1975: 416-620.
- 4- Salassa JR, Pearson BW, Payne WS. Gross and microscopical blood supply of the trachea. *Ann Thorac Surg* 1977;24:100-107.
- 5- Gannon PJ, Costantino PD, Lueg EA, et al. Use of the peritracheal fold in the dog tracheal transplantation model. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 125:959-63.
- 6- Delaere PR, Liu ZY, Hermans R, Sciote R, Feenstra L. Experimental tracheal allograft revascularization and transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;110:728-37.
- 7- Delaere P, Vranckx J, Verleden G, et al. Tracheal allotransplantation after withdrawal of immunosuppressive therapy. *N Eng J Med* 2010; 362:138-45.
- 8- Delaere PR, Vranckx J, Meulemans J, et al. Learning curve in tracheal allotransplantation. *American Journal of Transplantation*. Doi: 10.1111/j. 1600-6143.2012.04125.x.
- 9- Haykal S, Salna M, Waddell TK, Hofer SO. Advances in tracheal reconstruction. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2014 Aug 7;2(7):e178.

CAP 2

- 1- Salassa JR, Pearson BW, Payne WS. Gross and microscopical blood supply of the trachea. *Ann Thorac Surg.* 1977;24:100–107.
- 2- Haykal S, Salna M, Waddell TK, Hofer SO. Advances in tracheal reconstruction. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2014 Aug 7;2(7):e178.
- 3- Borrie J, Redshaw NR. Prosthetic tracheal replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1970;60:829–835.
- 4- Strandness DE Jr, Gustafson IJ, Payne JT. Surgical resection of the thoracic trachea: an experimental study in dogs. *J Thorac Surg.* 1957;34:269–277.
- 5- Neville WE, Bolanowski PJ, Soltanzadeh H. Homograft replacement of the trachea using immunosuppression. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1976;72:596–601.
- 6- Nakanishi R, Shirakusa T, Takachi T. Omentopexy for tracheal autografts. *Ann Thorac Surg.* 1994;57:841–845.
- 7- Aronstam EM, Nims RM, Winn DF Jr. Studies in segmental replacement of the thoracic trachea. *J Surg Res.* 1961;1:108–110.
- 8- Beigel A, Steffens-Knutzen R, Müller B, et al. Tracheal transplantation. III. Demonstration of transplantation antigens on the tracheal mucosa of inbred rat strains. *Arch Otorhinolaryngol.* 1984;241:1–8.
- 9- Pacheco CR, Rivero O, Porter JK. Experimental reconstructive surgery of the trachea. *J Thorac Surg.* 1954;27: 554–564.
- 10- Jackson TL, O'Brien EJ, Tuttle W, et al. The experimental use of homogenous tracheal transplants in the restoration of continuity of the tracheobronchial tree. *J Thorac Surg.* 1950;20:598–612; passim.

- 11-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.
- 12-Lenot B, Macchiarini P, Dulmet E, et al. Tracheal allograft replacement. An unsuccessful method. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1993;7:648–652.
- 13-Hirata T, Yamazaki F, Fukuse T, et al. Omentopexy for revascularization of free tracheal grafts in rats. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1992;40:178–181.
- 14-Messineo A, Filler RM, Bahoric B, et al. Successful tracheal autotransplantation with a vascularized omental flap. *J Pediatr Surg.* 1991;26:1296–1300.
- 15-Borro JM, Chirivella M, Vila C, et al. Successful revascularization of large isolated tracheal segments. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1992;6:621–623; discussion 624.
- 16-Fell SC, Mollenkopf FP, Montefusco CM, et al. Revascularization of ischemic bronchial anastomoses by an intercostal pedicle flap. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1985;90:172–178.
- 17-Kumaran S, Nambi GI, Kingsly Paul M, et al. Postelectrical- burn tracheal-defect reconstruction with pre-fabricated deltopectoral flap—a case report. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009;62:e93–e94.
- 18-He J, Xu X, Chen M, et al. Novel method to repair tracheal defect by pectoralis major myocutaneous flap. *Ann Thorac Surg.* 2009;88:288–291.
- 19-Nakahira M, Nakatani H, Takeuchi S, et al. Safe reconstruction of a large cervico-mediastinal tracheal defect with a pectoralis major myocutaneous flap and free costal cartilage grafts. *Auris Nasus Larynx* 2006;33:203–206.
- 20-Guerrissi JO, Guerrissi JA, Miranda MG. Functional reconstruction of the trachea: prelaminated chondromuscular flap. *J Craniofac Surg.* 2009;20:868–871.
- 21-Masuda M, Kamizono K, Ejima M, et al. Tracheal reconstruction with a modified infrahyoid myocutaneous flap. *Laryngoscope* 2012;122:992–996.

- 22-Surgical technique and results of tracheal and carinal replacement with aortic allografts for salivary gland-type carcinoma. Wurtz A, Porte H, Conti M, Dusson C, Desbordes J, Copin MC, Marquette CH. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010 Aug;140(2):387-393.e2.
- 23-Tsukada H, Ernst A, Gangadharan S, et al. Tracheal replacement with a silicone-stented, fresh aortic allograft in sheep. *Ann Thorac Surg.* 2010;89:253–258.
- 24-Wurtz A, Hysi I, Zawadzki C, et al. Construction of a tubeshaped tracheal substitute using fascial flap-wrapped revascularized allogenic aorta. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2012;41:663–668.
- 25-Rose KG, Sesterhenn K, Wustrow F. Tracheal allotransplantation in man. *Lancet* 1979;1:433.
- 26-Levashov YuN, Yablonsky PK, Cherny SM, et al. Onestage allotransplantation of thoracic segment of the trachea in a patient with idiopathic fibrosing mediastinitis and marked tracheal stenosis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1993;7:383–386.
- 27-Yu P, Clayman GL, Walsh GL. Long-term outcomes of microsurgical reconstruction for large tracheal defects. *Cancer* 2011;117:802–808.
- 28-Delaere P, Vranckx J, Verleden G, et al; Leuven Tracheal Transplant Group. Tracheal allotransplantation after withdrawal of immunosuppressive therapy. *N Engl J Med.* 2010;362:138–145.
- 29-Yamaya M, Finkbeiner WE, Chun SY, et al. Differentiated structure and function of cultures from human tracheal epithelium. *Am J Physiol.* 1992;262(6, Part 1): L713–L724.
- 30-Gray TE, Guzman K, Davis CW, et al. Mucociliary differentiation of serially passaged normal human tracheobronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1996;14:104–112.

- 31-Yoon JH, Kim KS, Kim SS, et al. Secretory differentiation of serially passaged normal human nasal epithelial cells by retinoic acid: expression of mucin and lysozyme. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2000;109:594–601.
- 32-Sachs LA, Finkbeiner WE, Widdicombe JH. Effects of media on differentiation of cultured human tracheal epithelium. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2003;39:56–62.
- 33-Chistiakov DA. Endogenous and exogenous stem cells: a role in lung repair and use in airway tissue engineering and transplantation. *J Biomed Sci.* 2010;17:92.
- 34-Igai H, Yamamoto Y, Chang SS, et al. Tracheal cartilage regeneration by slow release of basic fibroblast growth factor from a gelatin sponge. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2007;134:170–175.
- 35-Igai H, Chang SS, Gotoh M, et al. Regeneration of canine tracheal cartilage by slow release of basic fibroblast growth factor from gelatin sponge. *ASAIO J.* 2006;52:86–91.
- 36-Igai H, Chang SS, Gotoh M, et al. Tracheal cartilage regeneration and new bone formation by slow release of bone morphogenetic protein (BMP)-2. *ASAIO J.* 2008;54:104–108.
- 37-Okamoto T, Yamamoto Y, Gotoh M, et al. Slow release of bone morphogenetic protein 2 from a gelatin sponge to promote regeneration of tracheal cartilage in a canine model. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;127:329–334.
- 38-Gong YY, Xue JX, Zhang WJ, et al. A sandwich model for engineering cartilage with acellular cartilage sheets and chondrocytes. *Biomaterials* 2011;32:2265–2273.
- 39-Hong HJ, Lee JS, Choi JW, et al. Transplantation of autologous chondrocytes seeded on a fibrin/hyaluronan composite gel into tracheal cartilage defects in rabbits: preliminary results. *Artif Organs* 2012;36:998–1006.

- 40-Komura M, Komura H, Kanamori Y, et al. An animal model study for tissue-engineered trachea fabricated from a biodegradable scaffold using chondrocytes to augment repair of tracheal stenosis. *J Pediatr Surg*. 2008;43:2141–2146.
- 41-Walles T, Giere B, Macchiarini P, et al. Expansion of chondrocytes in a three-dimensional matrix for tracheal tissue engineering. *Ann Thorac Surg*. 2004;78:444–448; discussion 448–449.
- 42-Weidenbecher M, Tucker HM, Awadallah A, et al. Fabrication of a neotrachea using engineered cartilage. *Laryngoscope* 2008;118:593–598.
- 43-Imaizumi M, Nomoto Y, Sato Y, et al. Evaluation of the use of induced pluripotent stem cells (iPSCs) for the regeneration of tracheal cartilage. *Cell Transplant*. 2013;22:341–353.
- 44-Britt JC, Park SS. Autogenous tissue-engineered cartilage: evaluation as an implant material. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998;124:671–677.
- 45-Temenoff JS, Mikos AG. Injectable biodegradable materials for orthopedic tissue engineering. *Biomaterials* 2000;21:2405–2412.
- 46-Sutherland RS, Baskin LS, Hayward SW, et al. Regeneration of bladder urothelium, smooth muscle, blood vessels and nerves into an acellular tissue matrix. *J Urol*. 1996;156(2, Part 2):571–577.
- 47-Freed LE, Guilak F, Guo XE, et al. Advanced tools for tissue engineering: scaffolds, bioreactors, and signaling. *Tissue Eng*. 2006;12:3285–3305.
- 48-Tan Q, Steiner R, Hoerstrup SP, et al. Tissue-engineered trachea: history, problems and the future. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006;30:782–786.
- 49-Pörtner R, Nagel-Heyer S, Goepfert C, et al. Bioreactor design for tissue engineering. *J Biosci Bioeng*. 2005;100: 235–245.
- 50-Badylak SF, Weiss DJ, Caplan A, et al. Engineered whole organs and complex tissues. *Lancet* 2012;379:943–952.
-

## CAP 3

- 1- 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 Aug; 112(2):314-8.
- 2- Murakami S, Sato H, Uno Y, Ishikawa et al . Tracheal reconstruction after lower tracheal resection using the inverted right bronchus-an experimental study. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1993 Dec;41(6):335-9.
- 3- Backer CL, Mavroudis C, Gerber ME, Holinger LD. Tracheal surgery in children: an 18-year review of four techniques. *Eur J Cardiothorac Surg.*2001;19:777-84.
- 4- Van Veenendaal MB, Liem KD, Marres HA. Congenital absence of the trachea. *Eur J Pediatr.* 2000;159:8-13.
- 5- Birchall M. Human laryngeal allograft: shift of emphasis in transplantation. *Lancet.* 1998;351:539-40.
- 6- Macchiarini P. Tracheal transplantation: beyond the replacement of a simple conduit. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1998;14:621-3.
- 7- Moriyama H, Sasajima T, Hirata S, Yamazaki K, Yatsuyanagi E, Kubo Y. Revascularization of canine cryopreserved tracheal allografts. *Ann Thorac Surg.* 2000; 69:1701-6.
- 8- Martinod E, Zegdi R, Zakine G, Aupeple B, Fornes P, D'audiffret A, et al. A novel approach to tracheal replacement: the use of an aortic graft. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2001;122:197-8.
- 9- Vacanti CA, Paige KT, Kim WS, Sakata J, Upton J, Vacanti JP. Experimental tracheal replacement using tissue-engineered cartilage. *J Pediatr Surg.* 1994;29:201-5.
- 10-Nakanishi R, Shirakusa T, Takachi T. Omentopexy for tracheal autografts. *Ann Thorac Surg.* 1994;57:841-5.44

- 11-Baile EM, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, Selman-Lama M, Villalba J, Arreola JL, et al. Tracheobronchial blood flow after a modified canine lung autotransplant: effect of omental wrapping. *Transplant Proc.* 1992;24:2024-9.
- 12-Mukaida T, Shimizu N, Aoe M, Andou A, Date H, Moriyama S. Origin of regenerated epithelium in cryopreserved tracheal allotransplantation. *Ann Thorac Surg.* 1998;66:205-8.
- 13-Neville WE, Bolanowski PJP, Soltanzadeh H. Homograft replacement of the trachea using immunosuppression. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1976;72:596-601.
- 14-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;108:1066-75.
- 15-Salassa JR, Pearson BW, Payne WS. Gross and microscopical blood supply of the trachea. *Ann Thorac Surg.* 1977;24:100-7.
- 16-Patterson GA, Todd TR, Cooper JD, Pearson FG, Winton TL, Maurer J. Airway complications after double lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1990;99:14-20.
- 17-Salmeron J, Gannon PJ, Blackwell KE, Shaari CM, Urken ML. Tracheal transplantation: superior and inferior thyroid artery perfusion territory. *Laryngoscope.* 1998;108:849-53.
- 18-Deffebach ME, Charan NB, Lakshminarayan S, Butler J. The bronchial circulation. Small, but a vital attribute of the lung. *Am Rev Respir Dis.* 1987;135:463-81.
- 19-Schreinemakers HH, Weder W, Miyoshi S, Harper BD, Shimokawa S, Egan TM, et al. Direct revascularization of bronchial arteries for lung transplantation: an anatomical study. *Ann Thorac Surg.* 1990;49:44-54.
- 20-Metras H. Note preliminaire sur la greffe totale du poumon chez le chien. *Proc Acad Sci.* 1950;231:1176-7.

- 21-Mills NL, Boyd AD, Gheranpong C. The significance of bronchial circulation in lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1970; 60:866-74.
- 22-Laks H, Louie HW, Haas GS, Drinkwater DC, Lewis W, Permut LC, et al. New technique of vascularization of the trachea and bronchus for lung transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 1991;10:280-7.
- 23-Couraud L, Baudet E, Martigne C, Roques X, Velly JF, Laborde N, et al. Bronchial revascularization in double-lung transplantation: a series of 8 patients. *Ann Thorac Surg.* 1992;53:88-94.
- 24-Daly RC, Tadjkarimi S, Khaghani A, Banner NR, Yacoub MH. Successful double-lung transplantation with direct bronchial artery revascularization. *Ann Thorac Surg.* 1993;56:885-92.
- 25-Norgaard MA, Efsen F, Andersen CB, Svendsen UG, Pettersson G. Medium-term patency and anatomic changes after direct bronchial artery revascularization in lung and heart-lung transplantation with the internal thoracic artery conduit. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1997;114: 326-31.
- 26-Norgaard MA, Olsen PS, Svendsen UG, Pettersson G. Revascularization of the bronchial arteries in lung transplantation: an overview. *Ann Thorac Surg.* 1996;62:1215-21.
- 27-Marelli D, Paul A, Nguyen DM, Shennib H, King M, Wang NS, et al. The reversibility of impaired mucociliary function after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1991;102:908-12.
- 28-Nakanishi R, Hashimoto M, Muranaka H, Yasumoto K. Effect of cryopreservation period on rat tracheal allografts. *J Heart Lung Transplant.* 2001;20:1010-5.
- 29-Liu Y, Nakamura T, Shimizu Y, Ueda H, Yoshitani M, Toba T, et al. Tracheal allotransplantation in beagle dogs without immunosuppressants. *Ann Thorac Surg.* 2001;72:1190-4.

- 30-Bujia J, Wilmes E, Hammer C, Kastenbauer E. Tracheal transplantation: demonstration of HLA class II subregion gene products on human trachea. *Acta Otolaryngol.* 1990;110:149-54.
- 31-Tobin CE. The bronchial arteries and their connections with other vessels in the human lung. *Surg Gynecol Obstet.* 1952;95:741-50. 46
- 32-Fadel E, Mazmanian GM, Chapelier A, Baudet B, Detruit H, de Montpreville V, et al. Lung reperfusion injury after chronic or acute unilateral pulmonary artery occlusion. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157:1294-300.
- 33-Donahue DM, Grillo HC, Wain J, Wright CD, Mathisen DJ. Reoperative tracheal resection and reconstruction for unsuccessful repair of postintubation stenosis. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1997;114:934-9.

#### CAP. 4

- 1- Delaere P, Vranckx J, Verleden G, et al. Tracheal allontransplantation after withdrawal of immunosuppressive therapy. *N Eng J Med* 2010; 362:138-45.
- 2- Delaere PR, Vranckx J, Meulemans J, et al. Learning curve in tracheal allotransplantation. *American Journal of Transplantation.* Doi: 10.1111/j. 1600-6143.2012.04125.x.

#### CAP. 5

- 1- Song R, Gao Y, Song Y, Yu Y, Song Y. The forearm flap. *Clin Plast Surg* 1982;9:21-6.
- 2- Song YG, Chen GZ, Song YL. The free thigh flap: a new free flap concept based on the septocutaneous artery. *Br J Plast Surg.* 1984; 37: 149-159.
- 3- Kimata Y, Uchiyama K, Ebihara S, et al. Anterolateral thigh flap donor-site complications and morbidity. *Plast Reconstr Surg.* 2000; 106: 584-589.

- 4- Kimata, Y., Uchiyama, K., Ebihara, S., Nakatsuka, T., and Harii, K. Anatomic variations and technical problems of the anterolateral thigh flap: A report of 74 cases. *Plast. Reconstr. Surg.* 102: 1517, 1998.
- 5- Kawai K, Imanishi N, Nakajima H, Aiso S, Kakibuchi M, Hosokawa K. Vascular anatomy of the anterolateral thigh flap. *Plast Reconstr Surg.* 2004; 144: 1108-1117.
- 6- Koshima, I., Fukuda, H., Utunomiya, R., and Soeda, S. The anterolateral thigh flap: Variations in its vascular pedicle. *Br. J. Plast. Surg.* 42: 260, 1989.
- 7- Angio computed tomography preoperative evaluation for anterolateral thigh flap harvesting. Ribuffo D, Atzeni M, Saba L, Milia A, Guerra M, Mallarini G. *Ann Plast Surg.* 2009 Apr;62(4):368-71.
- 8- Kimata Y, Uchiyama K, Ebihara S, Yoshizumi T, Asai M, Saikawa M, Hayashi R, Jitsuiki Y, Majima K, Ohyama W, Haneda T, Nakatsuka T, Harii L. Versatility of free anterolateral thigh flap for reconstruction of head and neck defects. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 123:1325–1331; 1997.