

Caracterización histológica en uretroplastias experimentales de mucosa oral

HISTOLOGICAL CHARACTERIZATION OF EXPERIMENTAL URETHROPLASTIES WITH ORAL MUCOSA

F. Martín Cano (1), C. Marañés Gálvez (1), E. Liceras Liceras (1), M. García Gómez (1), E. Díaz Moreno (1), A.M. Ruiz Montes (1), I. Garzón Bello (2), R. Fernández Valadés (1)

1) Servicio de cirugía pediátrica. Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada.
2) Departamento de histología. Facultad de Medicina, Universidad de Granada.

Resumen

Introducción: Diferentes técnicas quirúrgicas se han utilizado para la reconstrucción uretral, entre ellas la utilización de injertos de mucosa oral. El objetivo del trabajo es estudiar las modificaciones estructurales y ultraestructurales en los tejidos injertados sometidos a condiciones ambientales diferentes a las del tejido original.

Material y métodos: 20 ratas Wistar macho de 300 g sometidas a anestesia general. Al grupo control se seccionó longitudinalmente la uretra peneana suturándola posteriormente. Grupos estudio, se realizó uretroplastia con injertos de mucosa oral autóloga y análisis (fijación con formaldehído y tinción H&E) tras sacrificio a los 7, 14 y 30 días.

Resultados: La técnica empleada fue factible. El análisis de los tejidos orales implantados mostró adecuada integración, que fue completa a los 30 días presentando 5-6 capas de células planas estructura semejante al epitelio uretral.

Conclusiones: La mucosa oral como injerto heterotópico se diferencia de forma adecuada generando un tejido estructuralmente similar a la uretra nativa.

Palabras Clave: Uretroplastia, injerto mucosa oral, cirugía experimental, análisis histológico, rata.

Abstract

Introduction: Several surgical techniques have been used for urethral reconstruction. In this context, oral mucosa grafts are currently required. The aim of this study was to analyze the structural and ultrastructural modifications of grafted tissues exposed to different environmental conditions.

Material and methods: 20 male Wistar rats under general anesthesia were used. Control group was set, and groups of study were set, and underwent an urethroplasty with oral mucosa graft analyzed at 7, 14 and 30 days.

Results: The technique used was feasible. The analysis in oral grafted tissues showed an adequate integration level, with a shrinking interphase formation between the oral and urethral mucosa. At 30 days, the integration was completed and the oral mucosa showed 5-6 flat cell layers, with a similar structure to the urethral epithelium.

Conclusions: The oral mucosa used as heterologous graft was able to differentiate in an adequate way to generate a structurally similar tissue to the native urethra.

Key words: Urethroplasty, oral mucosa graft, experimental surgery, histological analysis, rat.

1. Introducción

La uretra es el conducto por el que se elimina hacia el exterior la orina almacenada en la vejiga urinaria. Además de su función excretora en ambos sexos, la uretra cumple

una función reproductiva en el hombre, al permitir el paso del contenido seminal desde las vesículas seminales durante la eyaculación.

Son múltiples las afecciones congénitas (hipospadias y epispadias principalmente) o adquiridas (traumatismos, estenosis, etc.) que afectan a su integridad funcional y que precisan que sea sustituida en mayor o menor extensión, para conseguir restablecer su función normal (1,2). Histológicamente, la uretra está revestida internamente por un epitelio estratificado columnar y no queratinizado que se transforma en un epitelio transicional a nivel de la uretra membranosa y prostática. En el espesor de este epitelio se localizan numerosas glándulas productoras de moco que protegen a la uretra de los efectos perniciosos del paso de la orina. El tejido submucoso consiste en una capa vascular eréctil rodeada de una capa de fibras musculares lisas, dispuestas en una capa longitudinal interna y otra capa circular externa, mucho más aparentes en las secciones uretrales a nivel prostático y membranoso (3).

La mucosa oral ha sido utilizada para la reparación de diferentes tipos de defectos anatómicos congénitos y adquiridos (4). En concreto, la utilización de injertos de mucosa oral es una técnica descrita en la literatura para la reconstrucción de la uretra (5,6), así como y para el cierre de distintos tipos de defectos de la lengua, la mejilla y la conjuntiva ocular (7). La primera técnica descrita para la reconstrucción uretral mediante injertos de mucosa oral fue la uretroplastia de Humby (1941). Esta técnica presentó numerosos problemas y complicaciones, por lo que dejó de utilizarse. Posteriormente, en 1986, el grupo de Duckett utiliza de nuevo la mucosa oral para reemplazar la porción media de la uretra en el tiempo peneano de la cirugía del complejo extrofia vesical – epispadias, con resultados prometedores. Unos años más tarde, Burger recurre a los injertos orales para la reparación uretral en niños afectados de hipospadias, tanto para la reconstrucción de la uretra completa como para la ampliación uretral mediante parches de mucosa oral (8). Sin embargo, sería a partir de los trabajos de Dessanti cuando se extendería el uso de la mucosa oral en el tratamiento del hipospadias medio y proximal, así como en el manejo de sus complicaciones (9,10).

Desde un punto de vista quirúrgico, la zona donante más frecuentemente utilizada para la obtención de la mucosa oral es la cara interna de los labios. Por un lado, es más fácil de extraer que la mucosa de la mejilla, es más fina y, por tanto, más elástica. La zona

donante suele reepitelizar fácilmente sin precisar ningún tipo de sutura, mientras que el injerto, al tener menor grosor, tiende a integrarse en la zona receptora de forma adecuada. La mucosa labial está probado que sirve para reemplazar la uretra, es elástica, resistente y técnicamente fácil de resecar, constituyendo un material adecuado para la reparación de estenosis o fístulas rebeldes al tratamiento, sustitución parcial de la uretra (11) y para efectuar uretroplastias (8) de forma completa o parcial asociada a otros materiales como la bandeleta uretral. En este contexto, es bien sabido que la implantación heterotópica de tejidos se asocia a modificaciones histológicas y moleculares a nivel de los tejidos implantados, incluyendo metaplasias, epitelización heterotípica, litiasis e incluso displasias y neoplasias. Sin embargo, las modificaciones estructurales que aparecen en los injertos orales implantados a nivel uretral aún no han sido descritas.

2. Materiales y métodos

1. Animales de laboratorio. Las muestras de tejido oral se obtuvieron a partir de ratas Wistar macho de aproximadamente 300 gramos de peso. La obtención de los tejidos se realizó en ratas preanestesiadas con vapor de éter y anestesiadas mediante inyección intraperitoneal de ketamina, acepromacina y atropina. Se extrajo el injerto de la mucosa oral de la mejilla de la rata suturando el defecto con sutura continua de ácido poliglicólico de 7/0. Los animales fueron mantenidos en la Unidad de Experimentación del Hospital Universitario Virgen de las nieves (FIBAO), en cuyos quirófanos se llevaron a cabo las intervenciones y los cuidados pre y postoperatorios de los ejemplares del estudio. Los análisis histológicos se realizaron en el Departamento de Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

2. Implante del injerto en la uretra de la rata. Durante el mismo acto quirúrgico en el que se extrajo la mucosa oral, se procedió a su implante en la uretra del animal. Para ello, se desnudó el pene de la rata y se expuso la uretra. A continuación, fue realizada una incisión longitudinal en la uretra, donde se implantó el injerto, suturándola con ácido poliglicólico de 7/0, los cuatro extremos del injerto se marcaron con puntos de prolene de 7/0 para identificar la zona en los análisis histológicos. Posteriormente, se cubrió de

nuevo el pene con la piel y se suturó con ácido poliglicólico de 7/0. Tras la intervención los animales permanecieron 48 horas en una jaula metabólica, y recibieron tratamiento antibiótico oral con gentamicina.

Los animales intervenidos se sacrificaron a los 7, 14 y 30 días para análisis de las variables que se muestran a continuación.

3. Evaluación clínico-funcional en los animales de laboratorio. En este trabajo, se recogieron los siguientes datos y variables:

Supervivencia de los animales después de la cirugía y después del implante tisular.

Presencia de necrosis, infección u otros signos de rechazo de los injertos implantados. Viabilidad in vivo de los injertos. Anatomía estructural de los tejidos implantados.

Integridad de los tejidos implantados. Para ello, se observaron los tejidos con microscopía tras el sacrificio del animal, valorándose la aparición de micronecrosis, reacciones de cuerpo extraño, inflamación o infección. Microvascularización. Examen histológico de la cicatriz.

Aparición de estenosis y/o fístulas.

4. Evaluación histológica de los injertos implantados en los animales de laboratorio. Los tejidos a estudiar se fijaron en formaldehído 4% tamponado, fueron fijadas en parafina y cortadas en microtomo. Para el examen óptico de las muestras, éstas se tiñeron con hematoxilina-eosina y se analizaron utilizando un microscopio Leica Laborlux 12.

3. Resultados

1. Evaluación clínico-funcional. Todos los animales evolucionaron satisfactoriamente después de la cirugía. En el momento del sacrificio se realizó sondaje uretral y disección de la uretra peneana, comprobando que no aparecieron fístulas ni estenosis. La zona donante oral cicatrizó sin presentar alteraciones funcionales bucales ni cicatrices retráctiles, permitiendo alimentación normal de los animales.

2. Evaluación histológica. El análisis histológico de los injertos de mucosa oral realizados a nivel de la uretra demostró la adecuada biointegración del tejido oral en la uretra. En primer lugar, las muestras analizadas a la semana del injerto revelaron

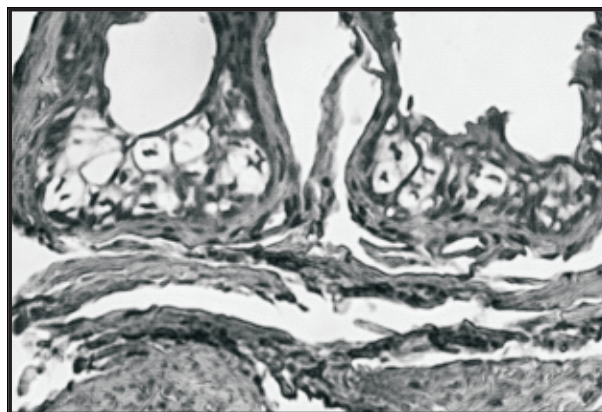


Figura 1.

la adecuada integración del mismo, con un pequeño porcentaje de células epiteliales en diferentes estadios apoptóticos (Figura 1), con leves signos inflamatorios en el estroma y pérdida de algunas capas celulares en el epitelio.

En segundo lugar, las muestras analizadas a las dos semanas mostraron adecuados niveles de integración en todas sus capas, con un estroma rico en fibras de colágena y fibroblastos y abundantes vasos sanguíneos y un epitelio escamoso estratificado histológicamente similar a la mucosa oral (Figura 2). No existían signos de apoptosis o muerte celular en este estadio.

Finalmente, las muestras analizadas a los 30 días mostraron la adecuada integración de los injertos, con un estroma bien estructurado y un epitelio cúbico estratificado similar al existente en la uretra control (Figura 3).

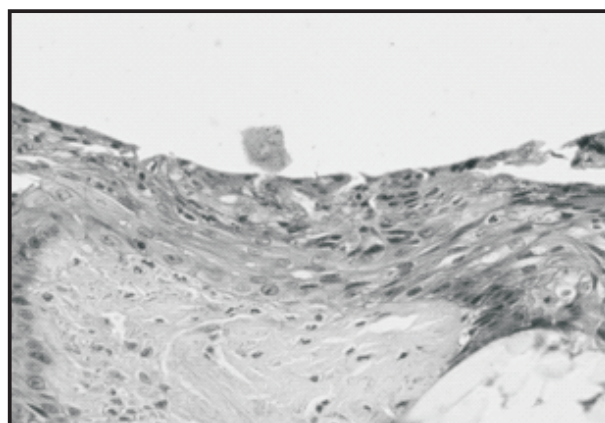


Figura 2.

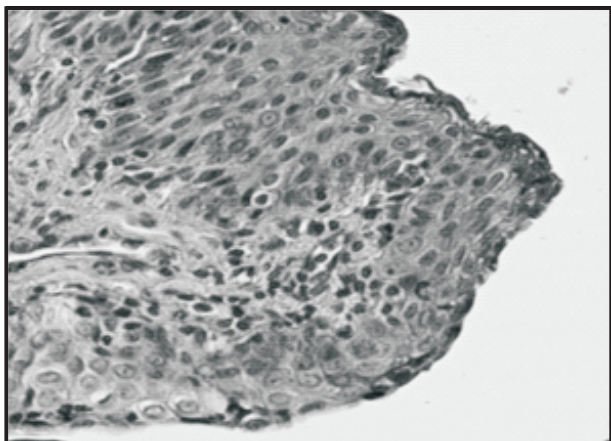


Figura 3.

4. Discusión

Diferentes técnicas se han descrito hasta el momento para el tratamiento de la patología uretral. Desde hace tiempo, el injerto de mucosa oral se ha propuesto como alternativa a la reparación de lesiones uretrales, especialmente hipospadias proximales, con resultados variables. Aunque los resultados funcionales suelen ser positivos y la micción suele ser normal, las modificaciones estructurales que ocurren en estos injertos orales una vez implantados en la uretra receptora son desconocidas. Tras analizar los resultados de este trabajo, hemos comprobado los cambios que ocurren en el tejido injertado, demostrando que la mucosa oral presenta adecuados niveles de biointegración en la zona receptora, con una adaptación progresiva a la uretra. Inicialmente, el análisis a corto plazo mostró la presencia de un leve infiltrado inflamatorio en el estroma de la mucosa oral injertada. Este hecho probablemente se debe al trauma quirúrgico al que se somete a la uretra durante la intervención, y al proceso de integración y revascularización de la mucosa oral implantada en la uretra, y no es de esperar que influya negativamente sobre la integración de la misma. Al mismo tiempo, el análisis reveló la pérdida inicial de algunas capas de epitelio oral tras el implante, con signos de apoptosis en algunas de las células del mismo, aunque todo ello se recupera posteriormente a las dos semanas. Estos resultados sugieren que el injerto implantado en la vía urinaria presenta adecuada viabilidad, lo cual le

permite integrarse y regenerarse tras unos días de la intervención. Existen trabajos que analizan la inmunohistoquímica de la mucosa oral tras ser implantada en vejiga, comparada con la inserción de injertos libres de piel (12); en este trabajo concluyen que los injertos de mucosa oral mostraron menores hallazgos patológicos que los injertos de piel tras largo tiempo expuestos a la orina.

Cuando los injertos se mantuvieron durante dos semanas en la vía urinaria, se pudo apreciar una integración total de los tejidos, con cambios morfológicos que conducen a la adecuada cicatrización de la mucosa oral. De igual modo, el epitelio se regeneró de forma adecuada, aunque las células epiteliales continuaron mostrando un fenotipo similar al existente en la mucosa oral, con queratinocitos en varias capas formando un epitelio escamoso estratificado. Finalmente, el análisis a medio/largo plazo (30 días) mostró una uretra cuya integración con la mucosa oral implantada es completa, presentando un número de capas celulares similar al de la uretra nativa y cuya estructura se asemeja a la del epitelio uretral, siendo difícil apreciar la interfase injerto-uretra receptora. No se apreció ningún signo de degeneración, transformación maligna o litiasis. Hallazgos similares se han encontrado en otros trabajos (13), aunque no se han realizado en uretra, sino con injertos de mucosa oral en vejiga.

Por otra parte, respecto a la zona donante, en nuestro caso no encontramos alteración funcional, ni se presentó ningún proceso cicatricial patológico. Pero están descritos diversos problemas derivados de la extracción del injerto, como son defectos neurosensoriales periorales, anomalía estética del labio o cambios en la salivación (14). Todos estos resultados sugieren que los tejidos orales implantados a nivel uretral son histocompatibles con la uretra nativa, y confirman la utilidad de estos tejidos para el tratamiento de los problemas congénitos o adquiridos de la uretra, sin que se puedan esperar alteraciones estructurales a largo plazo que contraindiquen su utilización. Será necesario comprobar estos resultados

a más largo plazo aún para determinar la persistencia en el tiempo de la estabilidad del tejido injertado; también sería necesario hacer estudios con técnicas de inmunohistoquímica para determinar mejor la viabilidad de los injertos.

Financiado por: FIS expediente P 1070619

Referencias

1. Baird, A.D., R.I. Mathews, and J.P. Gearhart, The use of combined bladder and epispadias repair in boys with classic bladder exstrophy: outcomes, complications and consequences. *J Urol*, 2005. 174(4 Pt 1): p. 1421-4.
2. Persichetti, P., et al., Triple intercalated flaps in perineal urethral replacement: an efficient technique to prevent circumferential urethral stenosis. *Plast Reconstr Surg*, 2006. 117(2): p. 708-10.
3. Michael H. Ross, W.P., Aparato urinario, in *Histología. Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular* M. Panamericana, Editor. 2004. p. 724-725.
4. Castañón M., G.C., Muñoz ME., García A., Morales L., Tratamiento de los hipospadias escrotales graves mediante uretroplastia tipo onlay con mucosa oral. *Cir Pediatr* 1999. 12: p. 90-93.
5. Belman AB, E.-K.A., Noweir AM, El-Halaby MR, Zakaria W, El-Beialy MH, The use of buccal mucosa patch graft in the management of anterior urethral structures. *J Urol* 1993. 149: p. 276-278.
6. Xu, Y.M., et al., Oral mucosal grafts urethroplasty for the treatment of long segmented anterior urethral strictures. *World J Urol*, 2009.
7. Ito, R., M. Fujiwara, and R. Nagasako, Hard palate mucoperiosteal graft for posterior lamellar reconstruction of the upper eyelid: histologic rationale. *J Craniofac Surg*, 2007. 18(3): p. 684-90.
8. Ahmed Sand Guugh, D., Buccal mucosal graft for secondary hypospadias repair and urethral replacement. 1997. 80(2): p. 328-330.
9. Dessanti, A., et al., Autologous buccal mucosa graft for hypospadias repair: an initial report. *J Urol*, 1992. 147(4): p. 1081-3; discussion 1083-4.
10. Dessanti, A., et al., Labial mucosa and combined labial/bladder mucosa free graft for urethral reconstruction. *J Pediatr Surg*, 1995. 30(11): p. 1554-6.
11. Nahas, B.W. and W.B. Nahas, The use of a buccal mucosa patch graft in the management of a large urethrocutaneous fistula. *Br J Urol*, 1994. 74(5): p. 679-81. Filipas, D., et al., The histology and immunohistochemistry of free buccal mucosa and full-skin grafts after exposure to urine. *BJU Int*, 1999. 84(1): p. 108-11.
13. Xu, Y.M., et al., Histopathological changes of free buccal mucosa and colonic mucosa grafts after translation to dog bladder. *Chin Med J (Engl)*, 2005. 118(4): p. 337-9.
14. Markiewicz, M.R., et al., Morbidity associated with oral mucosa harvest for urological reconstruction: an overview. *J Oral Maxillofac Surg*, 2008. 66(4): p. 739-44.