

**В.М. СВИСТУШКИН**, д.м.н., профессор, **С.В. СТАРОСТИНА**, д.м.н., **Л.В. СЕЛЕЗНЕВА**  
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

# ОПЫТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПЛАСТИКЕ ДЕФЕКТОВ ГОРТАНИ И ТРАХЕИ

## (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР И СОБСТВЕННЫЙ ОПЫТ)

В статье приведен литературный обзор и анализ современных экспериментальных исследований, посвященных проблеме пластики дефектов гортани и трахеи. Представлено собственное экспериментальное исследование.

**Ключевые слова:** хронические стенозы гортани, пластика ларинготрахеальных дефектов, экспериментальные исследования.

**V.M. SVISTUSHKIN, MD, Prof., S.V. STAROSTINA, MD, L.V. SELEZNEVA**

Sechenov First Moscow State Medical University

**AN EXPERIMENTAL STUDIES IN THE PLASTIC DEFECTS OF LARYNX AND TRACHEA (the literature review and own experience)**

This article describes the literature review and analysis of present international experimental studies in plastic of larynx and tracheal defects. Search of new solutions in laryngotracheal defect plastics of patients with combined stenosis is determined by relevance of the problem. Also represented our own experimental study.

**Keywords:** chronic stenosis of larynx, plastic of larynx and tracheal defects, an experimental studies.

**М**ногоэтапная реконструктивная хирургия в сочетании с протезированием гортани и трахеи является наиболее перспективным методом, позволяющим восстанавливать анатомическую целостность органа и его функций у больных с хроническими сочетанными стенозами гортани. Однако после таких вмешательств часто остаются обширные ларинготрахеальные дефекты [1, 2].

На сегодняшний день существует множество способов пластики дефектов передней стенки гортани и трахеи с использованием биологических ауто- и аллотрансплантатов (хрящи, мышцы, кожные лоскуты) и искусственных материалов (никелид титана, марлекс, силикон, танталовые и капроновые сетки и др.), которые не всегда отвечают необходимым требованиям пластики по своим биоинертным свойствам и неспособности восстанавливать форму полых органов [3].

Продолжающиеся множественные экспериментальные исследования, направленные на поиск опорных имплантационных материалов для восстановления каркаса передней стенки гортани и трахеи, свидетельствуют об отсутствии в наше время стандартизированного подхода в пластике ларинготрахеостом. В представленной статье проведен анализ современных экспериментальных исследований с выявлением положительных и отрицательных сторон предложенных методик.

В 2000 г. Jeannine M. Stein и соавт. (США) провели серию экспериментов на 17 собаках с искусственно эндоскопически спровоцированным стенозом подскладкового отдела гортани, которые были подвергнуты ларинготрахеопластике с аллопластическими материалами. В первой (контрольной) группе ушивание ларинготрахеостомы проводилось традиционным способом, во второй – с исполь-

зованием титанового протеза, в третьей – с использованием пористого полиэтиленового импланта, в четвертой – инъекцией гидроксиапатита цемента. Авторы пришли к выводу, что вспомогательные опорные материалы искусственного происхождения не обеспечивают стабильность конструкции, а так же повышают заболеваемость и смертность животных [4].

Следующая группа ученых из Кореи в 2009 г. в своих экспериментальных исследованиях на 6 лабораторных кроликах использовала специальный гель, состоящий из фибрина и гиалуроновой кислоты. В ходе эксперимента проводили посев хондроцитов из хряща трахеи кролика в чашки для культивирования со средой высокой плотности. Для формирования механически устойчивого аллотрансплантата хрящ пропитывали фибрино-гиалуроновым гелем. Выполнялся продольный разрез кожи шеи кролика, выделялась трахея и с помощью скальпеля искусственно создавался прямоугольный дефект размером 1 × 0,5 см. В область дефекта имплантировали подготовленный вышеуказанный аллотрансплантат, содержащий соединение фибрина и гиалуроновой кислоты. Композитный материал фиксировался на дефект границы с помощью клея Тиссукол (Baxter International, Deerfield, IL). В послеоперационном периоде состояние вновь сформированной трахеи животных оценивали эндоскопически, гистологически, рентгенологически и функционально [5].

Эндоскопическая картина показала, что имплантированные каркасы во всех случаях были полностью покрыты слизистой оболочкой без образования грануляций и явлений стенозирования просвета дыхательных путей. Гистологические данные выявили наличие регенерации мерцательного эпителия в области операции через 2

месяца после хирургического вмешательства. Частота биения клеток мерцательного эпителия в области трансплантата соответствовала частоте биения мерцательного эпителия на неповрежденной слизистой дыхательных путей. По данным компьютерной томографии трахеи также определялась состоятельность каркаса трахеи в области трансплантата. Таким образом, в данной работе показана состоятельность каркаса трахеи и функционального состояния эпителия. Отсутствие отторжения трансплантата и воспаления свидетельствуют о перспективах пластики трахеальных дефектов при применении аллогенных имплантатов с хондроцитами, культивированными с использованием фибрино-гиалуронового геля [5].

В 2010 г. нидерландские ученые в своих экспериментальных исследованиях на 22 лабораторных кроликах использовали в пластике дефекта стенки трахеи композиты из пористого титана, покрытого слизистой щęki, кровоснабженной фасцией. В результате исследования у 20 кроликов произошла реэпителизация, у 2 произошло смещение композита. Исследователи считают, что реконструкция дефекта стенки гортани кролика с использованием композиционных материалов из пористого титана и слизистой оболочки является перспективным методом. Пористый титан представляет собой инертный биоматериал, в который легко проникают кровеносные сосуды, что обеспечивает его жизнеспособность. В эксперименте было отмечено, что морфологическое строение слизистой оболочки композита было сохранено. В своей работе авторы показали, что использование такого композита-трансплантата имеет перспективы для клинического применения, особенно при больших и циркулярных дефектах гортани и трахеи [6].

Группа японских авторов в 2013 г. исследовала соединение между собственным гиалиновым хрящом и смоделированными хрящевыми пластинами, которые были созданы с помощью ушных хондроцитов для формирования каркаса дыхательных путей. Исследование проводилось на новозеландских кроликах [7].

В первой группе реберный хрящ извлекали и имплантировали в область искусственно созданного дефекта в шейном отделе трахеи животного. Во второй группе проводили посев хондроцитов из ушных хрящей кроликов на рассасывающиеся каркасы. Эти конструкции имплантировались в подкожное пространство. После прохождения контрольного периода в течение 4 недель, трансплантаты извлекались и подвергались гистологическому исследованию. В первой группе морфологическая картина показала наличие хондрогенной ткани в месте перехода собственного гиалинового хряща и имплантированного реберного хряща в 4 анастомозах из 10 рассмотренных. Во второй группе соединение между собственной трахеей и моделированным хрящом показало наличие молодых хондроцитов в 9 анастомозах из 10. Авторы пришли к выводу, что моделированный хрящ может использоваться для формирования каркаса дыхательных путей [7].

В работе Роговой О.С. (2012), проведенной на 10 лабораторных кроликах, в качестве импланта был использо-

ван живой эквивалент кожи на базе полимерной основы, коллагенового геля с фибробластами и аллогенными кератиноцитами кролика. Имплант был подшит к кивательной мышце кролика. На 14-е сутки после имплантации проводилось гистологическое исследование трансплантата. Иммуногистохимический анализ на общие кератины показал присутствие эпителиальных клеток в мышце, а наличие большого количества сосудов микроциркуляторного русла свидетельствовало о жизнеспособности полученного трансплантата. В результате префабрикации авторами был получен эпителизированный мышечный лоскут, который обладает достаточной механической прочностью, необходимой для реконструкции участка трахеи в дальнейшем. Проведенные морфологические исследования выявили сохранность аллогенного живого эквивалента кожи на мышечной ткани через две недели после имплантации [8].

Успехи в создании эндоскопической техники, появление новых ареактивных шовных материалов, эндопротезов, ультразвуковых, криогенных и лазерных хирургических аппаратов способствовали более успешному развитию ларинготрахеальной хирургии [9]. Эффекты взаимодействия излучения хирургических лазеров с различными длинами волн с биологическими объектами изучены достаточно хорошо. Одним из ключевых эффектов энергии лазера является изменение свойств упругости хрящевой ткани, что позволяет запланировано и неоднократно изменять форму биологического объекта [10]. Данная возможность моделирования хрящевой ткани открыла перспективу нового направления в развитии современной оториноларингологии. Применение способа лазерного изменения формы хрящевой ткани представляется актуальным при проведении реконструктивно-восстановительных операций у больных сочетанными стенозами гортани.

Нами в 2015–2016 гг. было проведено экспериментальное исследование лазерного формообразования хрящевой ткани на 10 лабораторных кроликах породы шиншилла. Исследование проводилось в виварии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова совместно с сотрудниками Института Фотонных Технологий Федерального Научно-Исследовательского Центра «Кристаллография и фотоника» РАН. Была разработана новая технология лечения больных стенозом гортани и трахеи на заключительном этапе реабилитации, основанная на использовании в качестве имплантов пластин реберного хряща, которым предварительно с помощью лазерного воздействия придавалась форма полукольца, повторяющая форму полых органов шеи. В работе использован многолетний опыт запланированного неинвазивного изменения формы хрящевой ткани под действием лазерного излучения, накопленный в результате целой серии экспериментальных и клинических исследований коллектива авторов [11, 12].

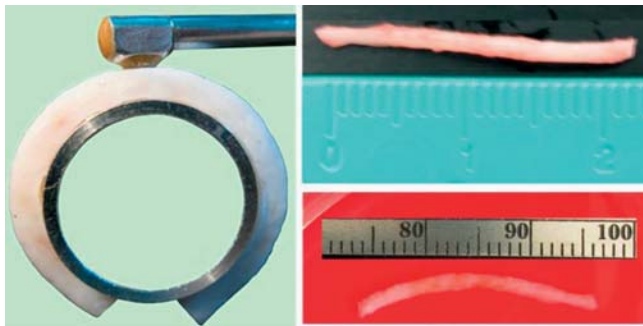
Изготовление хрящевых имплантов в данной работе проводили с помощью Ег-волоконного лазера с  $\lambda = 1,56$  мкм, снабженного контактором с сапфировым наконечником диаметром 3 мм. Процедура включала в себя извлечение реберного хряща у кролика-донора, предва-

рительную фиксацию хрящевых пластин на специальных кольцевых держателях, лазерное облучение и погружение в физиологическую среду до достижения хрящевой пластиной стабильной изогнутой формы (рис. 1). После чего проводили имплантацию реберного хряща в грудную клетку кролика-реципиента.

В ходе экспериментального исследования были найдены оптимальные режимы лазерного воздействия, позволяющие добиться заданной кривизны без существенного нарушения структуры реберного хряща. Контроль безопасности используемых режимов осуществляли с помощью проведения анализа дифференциальной сканирующей калориметрии и установления степени разрушения коллагена в хряще, которая в случае выбранных режимов оказалась в пределах погрешности измерения [13]. Стабильность полученных имплантированных кроликам хрящей исследовалась в течение трех месяцев, после чего производилась биопсия изучаемого фрагмента реберного хряща и его патоморфологическое исследование. По данным гистологического исследования в микропрепаратах отмечалось наличие многочисленных лакун с незрелыми хондроцитами, что свидетельствует о росте молодой хрящевой ткани, как ранее наблюдалось для суставного хряща кролика (рис. 2). В исследовании было показано, что в условиях физиологической среды

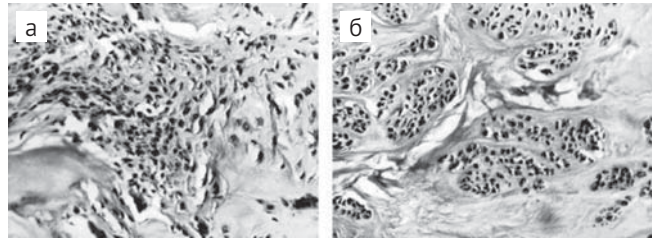
### Рисунок 1. Изготовление хрящевых имплантов

Слева: кольцевой держатель реберного хряща в процессе изменения формы при воздействии лазерного контактора [11]. Справа: реберный хрящ кролика (вверху) до и (внизу) после лазерного изменения формы



### Рисунок 2. Данные гистологического исследования

(а) Рост фиброзно-грануляционной ткани, замещающей некротизированный хрящ (б). Некротизированная ткань замещается новообразованным гиалиновым хрящом с большим количеством многоклеточных изогенных групп. Окраска гематоксилином и эозином; увеличение  $\times 320$  (а),  $\times 250$  (б) [10: рис.4.24 и рис. 4.25]



новая смоделированная Ег-лазером форма хряща является стабильной и не претерпевает изменений со временем. Ранее был выявлен эффект лазерно-индуцированного неаддитивного термомеханического поведения хрящевой ткани [11], который заключается в различной степени изменения кривизны при двустороннем облучении хрящевой пластины в разных последовательностях: при облучении сперва сжатой, затем растянутой поверхности хрящевого полукольца результирующий радиус кривизны оказывался всегда меньше, чем в случае обратного порядка облучения. Это свойство хрящевой ткани должно учитываться при планировании геометрических параметров лазерно-модифицированных имплантов. Тогда как изготовление хрящевых имплантов методом простого вырезания нужной формы из имеющегося донорского хряща является малоперспективным, поскольку высок риск сохранения в таком импланте остаточных напряжений, приводящих к плохой предсказуемости его поведения после имплантации в гортань и трахею.

Таким образом, разрабатываемый нами метод лазерного моделирования хрящевой ткани позволит создать новый каркасный материал для пластики дефектов гортани и трахеи, восстановить анатомическую целостность дыхательных путей, надежную герметизацию просвета гортани и трахеи и высокую функциональную состоятельность этих органов, предотвратить процесс рубцевания и избыточный лизис подлежащей ткани в послеоперационном периоде.



### ЛИТЕРАТУРА

1. Зенгер В.Г., Наседкин А.Н. Повреждения гортани и трахеи. М.: Медицина. 1991, 221.
2. Паршин В.Д. Хирургия рубцовых стенозов трахеи. М.: Медицина. 2003, 152.
3. Симонов С.В. Пластика зияющих дефектов трахеи на заключительном этапе хирургической реабилитации больных хроническими стенозами гортани и трахеи. Автореф. дис. канд. мед. наук. Санкт-Петербург, 2012.
4. Stein JM, Eliashar R, Eliachar I, Strome M. Effect of mechanical reinforcement on stability of the rotary door flap. *Laryngotracheal reconstruction: a canine study. Laryngoscope*, 2000, 1: 2135-2143.
5. Dong YK, MD, PhD; Jung HP, Jae WC. Tissue-engineered allograft tracheal cartilage using fibrin/hyaluronan composite gel and its in vivo implantation. *Laryngoscope*, 2009, 120(1): 30-38.
6. Janssen LM, Gerjo JYM van Osch, Li JP, Kops N, Klaas de Groot, Johannes WH, Fenestra L, Hardillo AU. Tracheal reconstruction: mucosal survival on porous titanium. *Arch Otolaryngol Head and Neck Surgery*, 2009, 135(5): 472-478.
7. Makoto K, MD, Hiroko K, Yushi O, Yutaka K, Tadasha I. The junction between hyaline cartilage and engineered cartilage in rabbits. *Laryngoscope*, 2013, 123(6): 1547-1551.
8. Роговая О.С. Реконструкция эпителиальных дефектов уретры и трахеи кролика с помощью живого эквивалента кожи. Автореф. дис. канд. биол. наук. Москва, 2013.
9. Паршин В.Д., Гудовский Л.М., Русаков М.А. Лечение рубцовых стенозов трахеи. *Хирургия*, 2002, 3: 25-32.
10. Басков А.В., Борщенко И.А., Баграташвили В.Н., Соболь Э.Н., Шехтер А.Б., Овчинников Ю.М., Свистушкин В.М. Лазерная инженерия хрящей. М.: Физматлит, 2006.
11. Baum OI, Soshnikova YuM, Sobol EN, Korneychuk Ayu, Obrezkova MV, Svistushkin VM. Laser reshaping of costal cartilage transplantation. *Lasers in surgery and medicine*, 2011, 43(6): 511-515.
12. Sviridov A, Sobol E, Bagratashvili V, Omelchenko A, Ovchinnikov Yu, Shekhter A, Svistushkin V, Shinaev A, Nikiforova G. In vivo study and histological examination of laser reshaping of cartilage. An abstract book: *Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering Proceedings of the 1999. Lasers in Surgery: Advanced Characterization, Therapeutics, and Systems IX*. sponsors: SPIE, IBOS. San Jose, CA, USA. *Proceedings of SPIE*, 199(3590): 222-228.
13. Shields TW, LoCicero J, Reed CE, Feins RH. *General thoracic surgery*. Seventh Edition. Lippincott: Williams & Wilkins, 2009.