

КОМБИНИРОВАННЫЕ МАТРИЦЫ И ТКАНЕВЫЕ ИНЖЕНЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ ИЗ БИОПОЛИМЕРОВ В РЕКОНСТРУКТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ХИРУРГИИ ЛОР-ОРГАНОВ

Н. А. Дайхес¹, Х. М. Диаб¹, Д. Н. Назарян¹, В. В. Виноградов¹, С. С. Решульский^{1✉}, А. С. Мачалов¹, С. Ш. Каршиева², С. В. Жирнов^{2,3}, Е. О. Осидак⁴, А. В. Ковалев⁵, Ю. Д. Хесуани⁶

¹ Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

² Национальный исследовательский технологический университет Московский институт стали и сплавов, Москва, Россия

³ Общество с ограниченной ответственностью «ТриОнова», Москва, Россия

⁴ Общество с ограниченной ответственностью фирмы «Имтек», Москва, Россия

⁵ Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н. Н. Приорова Министерства здравоохранения, Москва, Россия

⁶ Лаборатория биотехнологических исследований «3Д Биопринтинг Солюшенс», Москва, Россия

Микротия — это врожденный комбинированный порок, встречается с частотой один случай на 10 000–15 000 новорожденных и составляет 50% всех врожденных пороков. Лечение микротии — сложная задача, предложено множество вариантов ее решения, однако ни один из них не гарантирует высоких функциональных и эстетических результатов. Большие надежды в решении проблемы возлагаются на достижения регенеративной медицины. Целью исследования было определить возможность применения современных биосовместимых эндопротезов, изготовленных с помощью технологий тканевой инженерии. Двум близкородственным самцам-минипигам двухлетнего возраста породы *Sus salvanus* под височную фасцию были имплантированы биоинженерные импланты, изготовленные методом комбинированной трехмерной биопечати с нанесением на них раствора коллагена с аутогенными клетками хрящевой ткани. Через 3 месяца образцы были изъятые. По результатам их гистологического и иммуногистохимического исследования, в 100% случаев имплантированный эндопротез инициировал развитие соединительнотканых регенератов и формирование собственной сосудистой сети, тем самым обеспечивая жизнеспособность клеток и сохранность биологических структур, при этом отторжения и явлений резорбции эндопротеза не выявлено. Сделан вывод, что разработанный метод изготовления имплантатов перспективен и может послужить основой для создания отечественных пористых ушных имплантатов на основе биосовместимых полимерных материалов, гидрогелей и аутологичного клеточного материала. Необходима дальнейшая апробация импланта ушной раковины на биологических моделях.

Ключевые слова: реконструкция наружного уха, клеточная инженерия, хрящевая ткань, минипиги

Вклад авторов: Н. А. Дайхес — идея, планирование эксперимента, руководство, редактирование рукописи; Х. М. Диаб — подготовка рукописи, предоставление данных; Д. Н. Назарян — хирургический этап эксперимента, редактирование рукописи; В. В. Виноградов, С. С. Решульский — подготовка рукописи, сбор данных; А. С. Мачалов — планирование эксперимента, сбор данных, редактирование рукописи; С. Ш. Каршиева — создание эндопротеза, ведение клеточных культур; С. В. Жирнов — создание эндопротеза, печать подложки; Е. О. Осидак — создание эндопротеза, разработка гидрогеля; А. В. Ковалев — проведение гистологических исследований; Ю. Д. Хесуани — создание итоговой тканеинженерной конструкции.

Соблюдение этических стандартов: все манипуляции с животными были проведены в соответствии с едиными этическими нормами Базельской декларации.

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Сергеевич Решульский
Волоколамское шоссе, 30/2, г. Москва, 123182, Россия; RSS05@mail.ru

Статья получена: 20.12.2023 **Статья принята к печати:** 14.02.2024 **Опубликована онлайн:** 25.03.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.007

COMBINED MATRICES AND TISSUE-ENGINEERED CONSTRUCTS MADE OF BIOPOLYMERS IN RECONSTRUCTIVE SURGERY OF ENT ORGANS

Daikhes NA¹, Diab KhM¹, Nazaryan DN¹, Vinogradov VV¹, Reshulskiy SS^{1✉}, Machalov AS¹, Karshieva SSh², Zhirnov SV^{2,3}, Osidak EO⁴, Kovalev AV⁵, Hesuan YuD⁶

¹ National Medical Research Center for Otorhinolaryngology of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

² National University of Science and Technology MISIS, Moscow, Russia

³ TrioNova LLC, Moscow, Russia

⁴ Imtek LLC, Moscow, Russia

⁵ Priorov National Medical Research Center of Traumatology and Orthopaedics, Moscow, Russia

⁶ 3D Bioprinting Solutions, Moscow, Russia

Microtia is a combined congenital malformation with the prevalence of one case per 10,000–15,000 newborns, which accounts for 50% of all congenital malformations. Treatment of microtia is a challenging task. Numerous solutions have been proposed, however, none of these options guarantee good functional and aesthetic outcome. High hopes for solving the problem are placed on advances in reconstructive surgery. The study was aimed to determine the possibility of using advanced biocompatible endoprostheses manufactured using the tissue engineering technologies. Two closely related male 2-year-old minipigs of the *Sus salvanus* breed underwent implantation of bioengineered implants manufactured by combined 3D bioprinting with application of the collagen solution containing autologous cartilage tissue cells under the temporal fascia. The samples were collected 3 months later. Histological examination and immunohistochemistry showed that the implanted endoprosthesis initiated the development of regenerated connective tissue and its own vasculature in 100% of cases, thereby ensuring cell viability and integrity of biological structures; furthermore, no facts of the endoprosthesis rejection or resorption were reported. We have concluded that the developed implant manufacturing method is promising and can provide the basis for creation of domestic porous ear implants based on biocompatible polymeric materials, hydrogels, and autologous cellular material. It is necessary to further test the auricular implant using biological models.

Keywords: outer ear reconstruction, cell engineering, cartilage tissue, minipigs

Author contributions: Daikhes NA — concept, planning the experiment, management, manuscript editing; Diab KhM — manuscript writing, data provision; Nazaryan DN — surgical stage of the experiment, manuscript editing; Vinogradov VV, Reshulsky SS — manuscript writing, data acquisition; Machalov AS — planning the experiment, data acquisition, manuscript editing; Karshieva SSh — creating the endoprosthesis, cell culture maintenance; Zhirnov SV — creating the endoprosthesis, printing the substrate; Osidak EO — creating the endoprosthesis, developing the hydrogel; Kovalev AV — histological assessment; Hesuan YuD — creating the resulting tissue-engineered construct.

Compliance with ethical standards: animal handling was compliant with the common ethical standards of Basel Declaration.

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey S. Reshulsky
Vologolamskoe shosse, 30/2, Moscow, 123182, Russia; RSS05@mail.ru

Received: 20.12.2023 **Accepted:** 14.02.2024 **Published online:** 25.03.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.007

Комбинированный порок, известный как микротия или деформация ушной раковины с атрезией наружного слухового прохода (АНСП), который включает в себя аномалии развития наружного и среднего уха, встречается с частотой один случай на 10 000–15 000 новорожденных. Пациенты с данной патологией страдают не только от выраженной кондуктивной тугоухости, но и от грубого косметического дефекта [1–5].

Лечение микротии — сложная задача, предложено множество вариантов ее решения от использования ушного протеза до реконструктивно-восстановительной операции с использованием различных хирургических техник и реконструктивных материалов. Реконструктивно-восстановительные операции в области головы и шеи должны решать одновременно ряд сложных задач не только по восстановлению утраченных органов, их частей или тканей, восстановлению функции, но и эстетической реабилитации [6–8].

В хирургической практике существуют три основных метода устранения микротии: применение аутореберного хряща, пористого полиэтиленового импланта и внутрикостных имплантатов для протезирования съемным протезом. Выбор метода лечения определяют в зависимости от степени выраженности микротии, функциональных целей после хирургической коррекции, возраста пациента и желания пациента или его представителей. Реконструкцию ушной раковины с помощью аутореберного трансплантата классически выполняют поэтапно, как описано Tanzer, Brent, Nagata, и Firmin. Аллопластические имплантаты получили большее признание в качестве еще одного варианта реконструкции уха, поскольку аллопластическая реконструкция может быть выполнена в более раннем возрасте без ущерба для донорской зоны. Реконструкцию уха на основе пористого полиэтилена (Su-Por, Omnipore, Medpor, Porex Surgical) в настоящее время рассматривают как стандартный метод коррекции микротии для детей от трех лет [3, 4, 9].

В ФГБУ НМИЦО ФМБА России с 2014 г. накоплен богатый опыт устранения микротии, более 516 случаев с использованием различных методик и материалов. Наилучший результат получен при использовании в качестве эндопротеза ушной раковины из гетероматериала на основе пористого полиэтилена. Достичь удовлетворительных хирургических результатов удалось в 80,48% случаев, в 19,52% развились осложнения, из них в 12,19% отмечена частичная экстррузия завитка протеза, а в 7,31% потребовалась резекция части эндопротеза для закрытия дефекта ввиду его миграции и прорезывания через покровные мягкие ткани.

Проводили оценку эстетического результата реконструкции ушной раковины с использованием гетероматериала на основе пористого полиэтилена. В 24,39% случаев не получено выраженной заушной складки и достаточно оттопыренной ушной раковины в отдаленном послеоперационном периоде в связи с рубцеванием кожных трансплантатов и соответственно прижатием к черепу сформированной ушной раковины, что было расценено как неудовлетворительный результат. Во всех остальных 75,61% случаев сформированная ушная раковина имела четкие контуры завитка и противозавитка, правильное положение мочки и располагалась симметрично относительно контрлатерального уха. Таким образом можно сказать, что при использовании в качестве эндопротеза ушной раковины гетероматериала на основе пористого полиэтилена частота хирургических осложнений возникает в 19,52% случаях, а

удовлетворительного эстетического результата возможно достичь лишь в 75,61% случаев. Полученные данные указывают на необходимость поиска новых методов и материалов для устранения микротии [10, 11].

Реконструктивно-восстановительная хирургия стремительно развивается на протяжении многих лет и последние годы — это направление носит междисциплинарный характер, особенно в области регенеративной медицины. Важным инструментом регенеративной медицины является тканевая инженерия, которая предполагает разработку конструкций из специальных материалов (матриц, скаффолдов) и культивирование на них стволовых или тканеспецифических клеток [12–19].

Достижения современной регенеративной медицины нашли свое применение в сердечно-сосудистой хирургии, травматологии, ортопедии, хирургии трахеи, абдоминальной хирургии, урологии, в пластической и эстетической хирургии, оториноларингологии и челюстно-лицевой хирургии [7, 18, 20–22].

Совершенно очевидно, что данные технологии могут быть использованы в лечении микротии, что и послужило катализатором для проведения экспериментальной работы по поиску и созданию новых ушных эндопротезов с применением современных возможностей отечественной регенеративной медицины и тканевой инженерии. Целью нашего исследования было изучить возможности применения комбинированных матриц и тканевых инженерных конструкций из биополимеров для реконструкции ушной раковины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте в качестве живой биологической модели использовали два близкородственных минипига породы *Sus salvanus*. Средний вес минипигов составлял 37,5 кг. Минипигов содержали на базе научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства в свободных от стресса условиях с предоставлением свободного доступа к еде и питью. Эксперимент состоял из нескольких этапов (рис. 1).

Для изготовления импланта использовали модифицированный FDM-принтер с картезианской кинематикой. Технологический процесс создания имплантата состоял из пяти основных этапов: 1) создание трехмерной модели ушной раковины; 2) преобразование и корректировка топологии уха; 3) подготовка клеточного компонента; 4) подготовка коллагенового гидрогеля; 5) изготовление импланта.

Для получения аутологических хондроцитов из эластического хряща двумя бригадами хирургов был осуществлен забор ушного хряща с левого уха у двух особей под тотальной внутривенной анестезией. Размеры хрящей составили 1,5 на 1,5 см. Хрящи помещали в разные пробирки с транспортной питательной (буферной) средой. Далее производили выделение клеток хряща из ушного хряща с последующим их культивированием и размножением, данный процесс занял месяц. Клетки культивировали в среде DMEM (Gibco; США), содержащей 2 мл L-глутамин («Панэко»; Россия) и однократный раствор антибиотика-антимикотика (Gibco; США) с добавлением 10% (v/v) фетальной бычьей сыворотки (Gibco; США) при 37 °C и 5% CO₂. Для снятия клеток с подложки использовали раствор Версена («Панэко»; Россия) и 0,25%-й раствор трипсина-ЭДТА (Gibco; США).



Рис. 1. Графическая схема этапов эксперимента

После культивации хондроцитов был изготовлен биоинженерный имплантат, напечатанный из двух полимеров и коллагена. Для создания трехмерной модели ушной раковины использовали КТ/МРТ данных изображений ушной раковины здорового пациента и программное обеспечение ImageJ (США) и 3D Slicer (США). Преобразование и корректировку топологии уха для формирования модели имплантата производили с помощью программного обеспечения Autodesk Fusion 360 (США) и/или КОМПАС-3D (Россия). Для подготовки модели к печати использовали программное обеспечение Prusa Slicer и/или Super Slicer (США).

Имплантат изготавливали методом комбинированной трехмерной биопечати, для этого принтер располагали в стерильных условиях. Предварительно экструдеры принтера разогревали до 200 °С, стол — до 50 °С. Для ребер жесткости использовали полилактид (Ingeo 4032D, Китай; Natureworks LLC, США), для пористого каркаса использовали термопластичный полиуретан Elastollan 1170 A 10FC000. Гироидные поры полимерного каркаса заполняли гелеобразным коллагеном Вискон («Имтек»; Россия). Послойно производили печать сначала полилактидом, затем полиуретаном, обеспечивая впечатавание двух полимеров друг в друга. После формирования каркаса отдельной форсункой в него впечатавали гидрогелевую композицию. Для приготовления коллагенового гидрогеля, разведение и нейтрализацию производили при температуре +4 °С: сначала герметично соединяли шприц с культуральной средой (DMEM, 10% фетальная бычья сыворотка, 100 мМ Трис-НСl) с шприцом, содержащим 4% раствора коллагена 1-го типа (Viscol; Россия), в соотношении 1 : 4. Затем раствор коллагена тщательно смешивали с культуральной средой для получения нейтрализованного гомогенного раствора коллагена.

Кроме того, были подготовлены две пары цилиндров (диаметр — 10,5 мм, длина — 18 мм). «Цилиндр 1» (коллаген + аутогенные хондроциты) заполнили специально приготовленным раствором коллагена с аутогенными клетками хрящевой (хондроциты) ткани свиньи (концентрация клеток — около 30 млн в 1 мл). «Цилиндр 2» (коллаген) — не заполнен, представлен коллагеновой основой.

После изготовления биоинженерных ушных раковин и цилиндров 1 и 2 производили их имплантацию под

височную фасцию. Операцию осуществляли параллельно две бригады хирургов на обеих особях. Под тотальной внутривенной анестезией было произведено выделение височных фасций справа, в сформированное мышечное ложе установлен и обернут височной фасцией имплант ушной раковины. Аналогично у обеих особей выделяли височную фасцию слева, и под нее имплантировали «Цилиндр 1» (коллаген + аутогенные хондроциты); «Цилиндр 2» (коллаген) был имплантирован под мобилизованную лобную мышцу. Таким образом, у двух особей сформированы три отдельных мышечно-фасциальных компартмента, с имплантированными биоинженерными материалами, которые никак не сообщаются друг с другом (рис. 2).

Период наблюдения составил 3 месяца. Далее обе особи были гуманно выведены из эксперимента путем внутривенной эвтаназии. Фрагменты имплантатов и дисков были изъятые и зафиксированы в 10%-м нейтральном растворе формалина на фосфатном буфере. Все имплантированные материалы отправлены на гистологическое исследование.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После изъятия имплантатов производили первичную макроскопическую оценку их состояния. У обеих особей наблюдалась полная интеграция трансплантатов с их мышечными и фасциальными футлярами без признаков инфицирования или некроза тканей (рис. 3).



Рис. 2. Вид операционной раны, после имплантации биоинженерного уха, «Цилиндра 1» и «Цилиндра 2». а — зона имплантации биоинженерного уха в область правой височной фасции; б — зона имплантации «Цилиндра 1» (коллаген + аутогенные хондроциты) в область левой височной фасции; в — зона имплантации «Цилиндра 2» (коллаген) в область лобной мышцы



Рис. 3. Вид биоинженерного уха (А), «Цилиндра 1» (коллаген+аутогенные хондроциты) (Б) и «Цилиндра 2» (коллаген) (В) после их изъятия, спустя 3 месяца со дня имплантации

При последующем гистологическом исследовании биоинженерного уха обеих особей с помощью окрашивания гематоксилин-эозином наблюдается практически идентичная картина. В обоих препаратах просматривается умеренно плотный утолщенный участок мышечной ткани с обильной фибро-вазкулярной соединительной тканью, с кровенаполненными сосудами различного диаметра. Воспалительный инфильтрат не выявлен. К мышечной ткани мультифокально плотно прилегает плотная эозинофильная, бесклеточная ткань (предположительно коллаген). Центральная часть имеет лабиринтообразное строение из мышечных, переплетенных волокон, среди которых просматриваются обширные поля эозинофильной волокнистой ткани. Необходимо отметить, что в обоих препаратах присутствует выраженная васкуляризация с усилением по периферии центральной части, что косвенно подтверждает интеграция трансплантатов с их мышечными и фасциальными футлярами. В центральной части просматриваются множественные плотные лимфоплазматические инфильтраты с преобладанием плазматических. Нейтрофильного воспаления, в том числе реакции отторжения, не было выявлено. Схожая гистологическая картина наблюдается и при окрашивании по Маллори, где большая часть препаратов насыщенно синего цвета, что, согласно методике окраски, соответствует коллагеновым волокнам. В определенных участках коллаген плотно прилегает к мышечным волокнам (окрашивание в

коричневый цвет). При иммуногистохимическом анализе на маркеры неангиогенеза (VEGF и CD31) у обоих препаратов была выявлена слабая экспрессия (рис. 4)

При гистологическом исследовании образца «Цилиндр 1» добавлением гидрогеля на основе коллагена 1-го типа с включением аутологических хондроцитов выявлено, что препараты преимущественно состоят из рыхлой волокнистой ткани с пустотами по типу лабиринта. Местами встречаются узкие поля фиброза и мелкие округлые поля бесклеточной эозинофильной массы. Волокнистая ткань умеренно васкуляризирована, множество крупных, щелевидных кровенаполненных сосудов. Были также выявлены мультифокальные воспалительные лимфоплазматические инфильтраты, с образованием лимфоидных фолликулов, состоящих преимущественно из мелких лимфоцитов. Примечательно, что среди мышц прослеживаются узкая прослойка зрелой хрящевой ткани. При окрашивании по Маллори не более 75% обоих препаратов окрасилось в насыщенно синий цвет. По интенсивности окрашивания можно определить, что наиболее выражено содержание коллагена по периферии. В центре просматривается голубой, красный и синий цвет, что свидетельствует о присутствии коллагеновых волокон между мышечными пучками, на периферии препарата, вне области имплантата. При иммуногистохимическом анализе на экспрессию маркеров VEGF и CD31 выявлена выраженная экспрессия в эндотелиях сосудов (рис. 5).

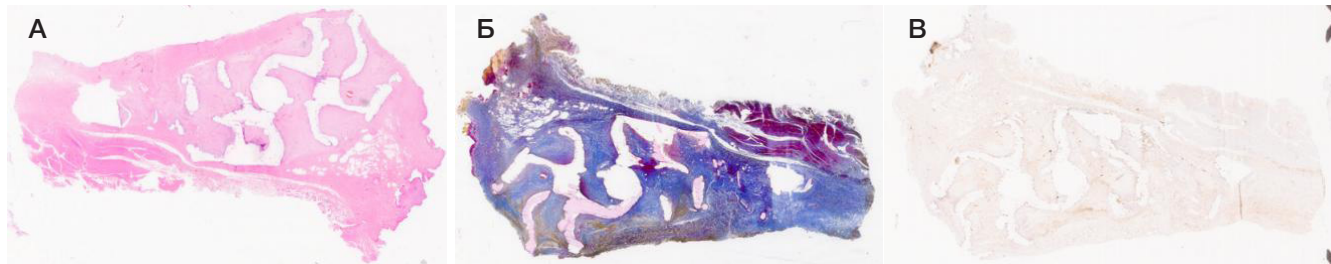


Рис. 4. Вид гистологического препарата биоинженерного уха при окраске гематоксилин-эозином (А); окраска по Маллори (Б); иммуногистохимический препарат (В)

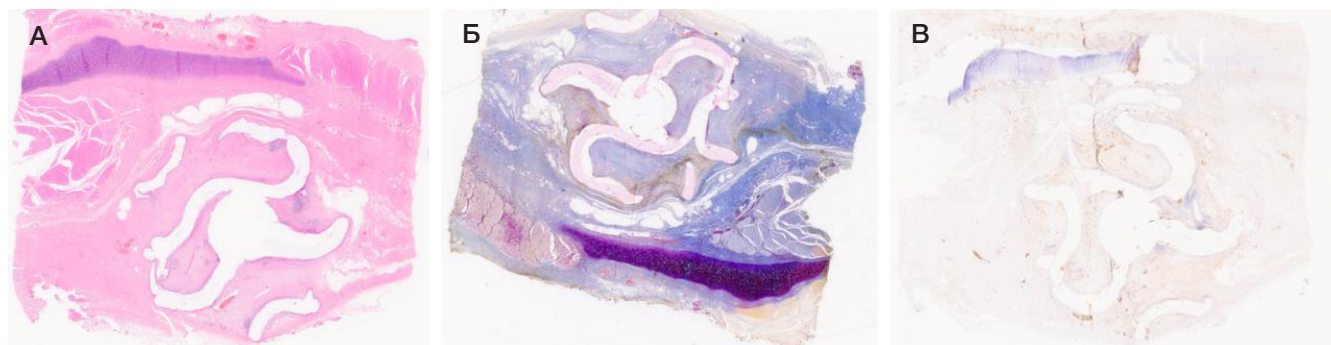


Рис. 5. Вид гистологического препарата «Цилиндр 1» на основе коллагена 1-го типа с включением аутологических хондроцитов: окраска гематоксилин-эозином (А); окраска по Маллори (Б); иммуногистохимический препарат (В)

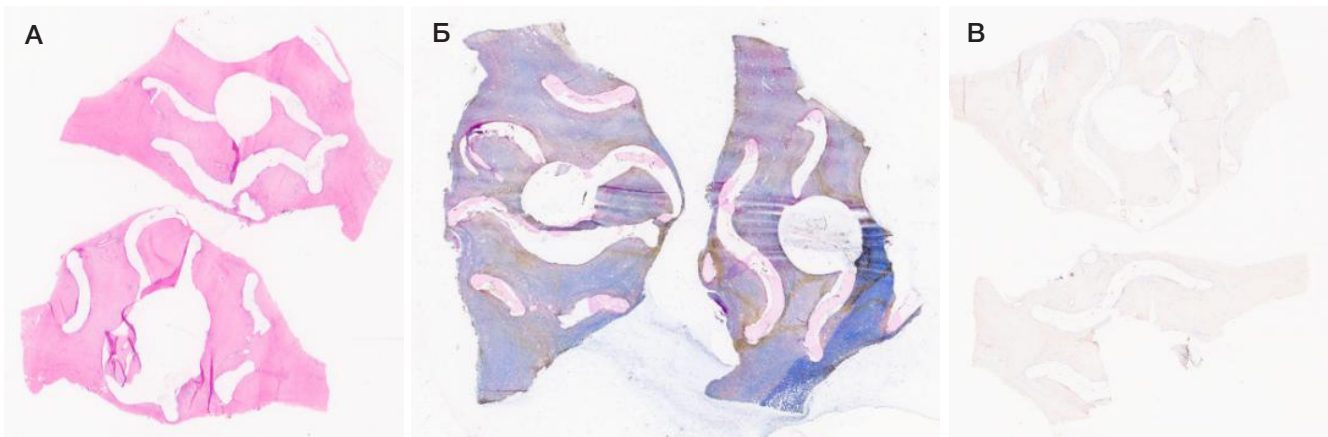


Рис. 6. Вид гистологического препарата «Цилиндр 2»: окраска гематоксилин-эозином (А); окраска по Маллори (Б); иммуногистохимический препарат (В)

При гистологическом исследовании образца «Цилиндр 1» при окраске препаратов гематоксилин-эозином преобладают участки тканей, полностью состоящих из умеренно плотной, волокнистой ткани и имеющих пустоты по принципу лабиринта. В средней части этих тканей по периферии просматривается фиброзная ткань, скудная васкуляризация. Вокруг сосудов просматриваются плотные лимфоплазмацитарные муфты. В центральной части сосредоточены множественные плотные смешанные инфильтраты с преобладанием плазмочитов, с единичными лимфоцитами, в меньшей степени нейтрофилами и различным количеством сидерофагов. Большая часть обоих препаратов при окрашивании по Маллори имеет синий цвет разной интенсивности в зависимости от поля зрения, что свидетельствует о высоком преобладании коллагеновых волокон. Маркеры неоангиогенеза (VEGF и CD31) при иммуногистохимическом анализе слабо выражены (рис. 6).

Сравнительная характеристика гистологических препаратов биоинженерного уха, «Цилиндра 1» и «Цилиндра 2», полученных у обеих особей, представлена в таблице.

Анализ представленных в таблице данных позволяет предположить, что изготовленная конструкция способствовала образованию соединительнотканного регенерата, который имеет собственную сосудистую сеть, а строение волоконного остова регенерата подстроено под форму конструкции, что обеспечивает объединенный ответ на внешнее действие механических сил. Признаков отторжения каркасов нет. Заполнение каркаса клетками и коллагеном влияет на строение регенерата, при этом регенерат заполнил весь объем импланта во всех случаях.

Таблица. Сравнительная характеристика гистологических препаратов, полученных у обеих особей

	Особь 1			Особь 2		
	Ушная раковина	Цилиндр 1 (коллаген + хондроциты)	Цилиндр 2 (полилактид)	Ушная раковина	Цилиндр 1 (коллаген + хондроциты)	Цилиндр 2 (полилактид)
Васкуляризация	++-	++-	+-	++-	++-	+-
Интеграция и адгезия	+++	+-	+-	+++	+-	+-
Маркеры ангиогенеза VEGF и CD31	+-	+++	+-	+-	+++	+-
Признаки воспаления и отторжения	---	+-	+-	---	+-	+-

Примечание: +++ — параметр сильно выражен; ++ — параметр умеренно выражен; +- — параметр слабо выражен; --- — параметр не выражен.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основе цифровой 3D-модели ушной раковины человека разработана конструкция объемного изделия — комбинированного тканеинженерного скаффолда в форме ушной раковины. Скаффолд был успешно воспроизведен посредством полимерной 3D-печати и исследован в эксперименте на минипигах. Уникальность и объемность изделия обусловлены особенностями расположения ребер жесткости из полилактида, которые повторяют контуры козелка, противокозелка и завитка ушной раковины, а также формами и расположением полиуретановых гироидных сеток. За счет впечатывания нитей сеток в полилактид, удалось избежать провисания сеток, и получить механически прочный полимерный каркас, пригодный для имплантации в живой организм. Между нитями гироидных сеток находятся сообщающиеся открытые пространства. Эти свободные пространства могут быть искусственным путем заполнены гидрогелем на основе коллагена, гидрогелем с живыми клетками, а также оказались доступными для естественного спонтанного врастания регенератов из окружающих тканей при имплантации скаффолда в живой организм под височную фасцию.

Использование данных технологий позволило решить ряд технических проблем, на которые указывает множество зарубежных исследований, связанных с контролем контура, механической прочностью и стабильностью формы биоинженерного эндопротеза [21].

Имплантация скаффолда под височную фасцию модельного животного инициировала развитие соединительнотканых регенератов, источником роста

которых были соединительнотканые анатомические структуры (преимущественно височная фасция) окружающие имплант. Регенерат внутри импланта имеет собственную сосудистую сеть, обеспечивающую жизнеспособность клеток и сохранность биологических структур внутри всего объема скаффолда ушной раковины.

Строение скаффолда определило возможности роста и особенности регенерационного и адаптивного ремоделирования живых тканей и сосудов, заполнивших скаффолд. Успешность интеграции полученного не рассасывающегося каркаса в живой организм обусловлена в значительной степени совпадением механических характеристик импланта (скаффолд несет функцию внутреннего «скелета» уха) и живых тканей, к которым он прикреплён. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности сочетания ребер жесткости с гиридными сетками. Установлено, что строение волоконного остова регенерата подстраивается под форму конструкции, что обеспечивает объединенный ответ тканеинженерной конструкции, позволяющий сохранять целостность живых тканей и каркаса при внешних механических воздействиях.

Обнаружено, что заполнение каркаса клетками и коллагеном влияет на строение регенерата. Это

может быть принято во внимание при дальнейшем совершенствовании тканеинженерной конструкции ушной раковины и разработке новых способов ее имплантации и реконструкции ушной раковины. Регенерат заполнил весь межполимерный объем скаффолда во всех случаях, а достижение заполнения конструкции эластическим хрящом может быть целью дальнейших исследований.

ВЫВОДЫ

В исследованиях на живых биологических моделях скаффолд в форме полноразмерной ушной раковины показал свое преимущество перед контрольными образцами, обеспечив лучшую интеграцию и взаимодействие с живыми тканями, отсутствие воспаления и васкуляризацию, достаточную для жизнеобеспечения тканей внутри тканеинженерной конструкции. Необходима дальнейшая апробация импланта ушной раковины на биологических моделях, а разработанный метод изготовления имплантов перспективен и может послужить основой для создания отечественных пористых ушных имплантов на основе биосовместимых полимерных материалов, гидрогелей и аутологичного клеточного материала.

Литература

1. Cabrejo R, Persing J, Alperovich M. Epidemiologic assessment of microtia in over 23 million consecutive United States births. *J Craniofac Surg.* 2019; 30: 342–6.
2. Gautam R, Kumar J, Pradhan GS, Passey JC, Meher R, Mehndiratta A. High-resolution computed tomography evaluation of congenital aural atresia — how useful is this? *J Laryngol Otol.* 2020; 134 (7): 610–22. DOI: 10.1017/S002221512000136X. Epub 2020 Jul 20.
3. Andrews J, Kopacz AA, Hohman MH. Ear Microtia In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023; 2023 Mar 1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33085390/>.
4. Hartzell LD, Sivakumar Chinnadurai. Microtia and related facial anomalies. *Clin Perinatol.* 2018; 45 (4): 679–97. DOI: 10.1016/j.clp.2018.07.007. Epub 2018 Sep 18.
5. Veugen CCAF, Dikkers FG, de Bakker BS. The Developmental Origin of the Auricle Revisited. *Laryngoscope.* 2020; 130 (10): 2467–74.
6. Дайхес Н. А. Виноградов В. В., Решульский С. С. Хирургическая реабилитация и профилактика осложнений при лечении пациентов с злокачественными опухолями гортани: учебное пособие. М.: РИТМ, 2023; 196 с.
7. Дайхес Н. А. Виноградов В. В., Решульский С. С. и др. Пособие для пациентов, перенесших ларингэктомию. Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии Федерального медико-биологического агентства. Москва, 2021; 98 с. Доступно по ссылке: https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_010732133/?ysclid=htxas6vey4545118904.
8. Stuzin JM, Rohrich RJ. Plastic and reconstructive surgery and the evolution of cosmetic surgery education. *Plast Reconstr Surg.* 2021; 147 (3): 783–8. DOI: 10.1097/PRS.0000000000007697.
9. Zhang TY, Bulstrode N, Chang KW, Cho YS, Frenzel H, Jiang D, et al. International Consensus Recommendations on Microtia, Aural Atresia and Functional Ear Reconstruction. *J Int Adv Otol.* 2019; 15 (2): 204–8. DOI: 10.5152/iao.2019.7383. PMID: 31418720; PMCID: PMC6750779
10. Zhou G, et al. In vitro regeneration of patient-specific ear-shaper cartilage and its first clinical application for auricular reconstruction. *E Bio Medicine.* 2018; 28: 287–302. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.01.011. Epub 2018 Jan 13. PMID: 293962297; PMCID: 5835555.
11. Диаб Х. М. А., Назарян Д. Н., Дайхес Н. А., и др. Междисциплинарный подход к реабилитации пациентов с врожденной атрезией наружного слухового прохода и микротией. *Вестник оториноларингологии.* 2018; 2: 17–21.
12. Диаб Х. М. А., Назарян Д. Н., Дайхес Н. А., и др. Устранение врожденной атрезии наружного слухового прохода с одномоментным эктопротезированием ушной раковины. *Вестник Клинической Больницы № 51.* 2017; 1: 18–19.
13. Дайхес Н. А. Назарян Д. Н., Гилева К. С. и др. Перекрестная пересадка комбинированного лицевого трансплантата в эксперименте на биообъектах. *Медицина экстремальных ситуаций.* 2020; 4: 24–30.
14. Егорихина М. Н. Мухина П. А., Бронникова И. И. Скаффолды как системы доставки биологически активных и лекарственных веществ. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2020; 9 (1): 92–102. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-1-92-102.
15. Дайхес Н. А., Виноградов В. В., Решульский С. С. и др. Онкологическая патология в практике врача-оториноларинголога. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021; 141 с.
16. Трофимов Е. И., Виноградов В. В., Марченко М. Г. Особенности заживления ран при хирургическом лечении больных раком гортани и гортаноглотки. *Онкохирургия.* 2011; 3 (4): 13–16.
17. Свистушкин М. В. Бакулина С. В. Старостина А. А. и др. Применение мезенхимальных стромальных клеток человека в реконструкции голосовых складок. *Ген и Клетки.* 2022; 17 (3): 25.
18. Borrelli MR, Hu MS, Longaker MT, Lorenz HP. Tissue engineering and regenerative medicine in craniofacial reconstruction and facial aesthetics. *J Craniofac Surg.* 2020; 31: 15–27.
19. Eltom A, Zhong G, Muhammad A. Scaffold techniques and designs in tissue engineering functions and purposes: a review. *Adv Mater Sci Eng.* 2019; 2019: 1–13. DOI: 10.1155/2019/3429527.
20. Шехтер А. Б. Гуллер А. Е., Истратов Л. П. и др. Морфология коллагеновых матриц для тканевой инженерии в урологии (биосовместимость, биodeградация, тканевая реакция). *Архив патологии.* 2015; 6: 29–38.
21. Hamilton NJ, Kanani M, Roebuck DJ, et al. Tissue-engineered tracheal replacement in a child: a 4-year follow-up study. *Am J Transplant.* 2015; 15 (10): 2750–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/ajt.13318>.
22. Zurina M, Presniakova VS, Butnaru DV, Svistunov AA, Timashev PS, Rochev YA. Tissue engineering using a combined cell sheet technology and scaffolding approach. *Acta Biomaterialia.* 2020; 111: 63–83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.06.016>.

References

1. Cabrejo R, Persing J, Alperovich M. Epidemiologic assessment of microtia in over 23 million consecutive United States births. *J Craniofac Surg*. 2019; 30: 342–6.
2. Gautam R, Kumar J, Pradhan GS, Passey JC, Meher R, Mehndiratta A. High-resolution computed tomography evaluation of congenital aural atresia — how useful is this? *J Laryngol Otol*. 2020; 134 (7): 610–22. DOI: 10.1017/S002221512000136X. Epub 2020 Jul 20.
3. Andrews J, Kopacz AA, Hohman MH. Ear Microtia In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023; 2023 Mar 1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33085390/>.
4. Hartzell LD, Sivakumar Chinnadurai. Microtia and related facial anomalies. *Clin Perinatol*. 2018; 45 (4): 679–97. DOI: 10.1016/j.clp.2018.07.007. Epub 2018 Sep 18.
5. Veugen CCAF, Dikkers FG, de Bakker BS. The Developmental Origin of the Auricle Revisited. *Laryngoscope*. 2020; 130 (10): 2467–74.
6. Daikhes NA, Vinogradov VV, Reshul'skiy SS. Hirurgicheskaja reabilitacija i profilaktika oslozhnenij pri lechenii pacientov s zlokachestvennymi opuholjami gortani: uchebnoe posobie. M.: RITM, 2023; 196 s. Russian.
7. Daikhes NA, Vinogradov VV, Reshul'skiy SS, i dr. Posobie dlja pacientov, perenessih laringiektomii. Nacional'nyj medicinskij issledovatel'skij centr otorinolaringologii Federal'nogo mediko-biologicheskogo agentstva. Moskva, 2021; 98 s. Dostupno po ssylke: https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_010732133/?ysclid=ltxas6vey4545118904. Russian.
8. Stuzin JM, Rohrich RJ. Plastic and reconstructive surgery and the evolution of cosmetic surgery education. *Plast Reconstr Surg*. 2021; 147 (3): 783–8. DOI: 10.1097/PRS.0000000000007697.
9. Zhang TY, Bulstrode N, Chang KW, Cho YS, Frenzel H, Jiang D, et al. International Consensus Recommendations on Microtia, Aural Atresia and Functional Ear Reconstruction. *J Int Adv Otol*. 2019; 15 (2): 204–8. DOI: 10.5152/iao.2019.7383. PMID: 31418720; PMCID: PMC6750779
10. Zhou G, et al. In vitro regeneration of patient-specific ear-shaper cartilage and its first clinical application for auricular reconstruction. *E Bio Medicine*. 2018; 28: 287–302. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.01.011. Epub 2018 Jan 13. PMID: 29396229; PMCID: PMC5835555.
11. Diab HMA, Nazarian DN, Daikhes NA, i dr. Mezhdisciplinarnyj podhod k reabilitacii pacientov s vrozhdennoj atreziej naruzhnogo sluhovogo prohoda i mikrotiej. *Vestnik otorinolaringologii*. 2018; 2: 17–21.
12. Diab HMA, Nazarian DN, Dajhes NA, i dr. Ustranenie vrozhdennoj atrezii naruzhnogo sluhovogo prohoda s odnomomentnym jektoprotezirovanijem ushnoj rakoviny. *Vestnik Klinicheskoy Bol'nicy # 51*. 2017; 1: 18–19. Russian.
13. Daikhes NA, Nazarian DN, Gileva KS, i dr. Perekretnaja peresadka kombinirovannogo licevogo transplantata v jeksperimente na bioob'ektah. *Medicina jekstremal'nyh situacij*. 2020; 4: 24–30. Russian.
14. Egorihina MN, Muhina PA, Bronnikova II. Skaffoldy kak sistemy dostavki biologicheskij aktivnyh i lekarstvennyh veshhestv. *Kompleksnye problemy serdechno-sosudistyh zabolevanij*. 2020; 9 (1): 92–102. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-1-92-102. Russian.
15. Daikhes NA, Vinogradov VV, Reshul'skiy SS, i dr. Onkologicheskaja patologija v praktike vracha-otorinolaringologa. M.: GJeOTAR-Media, 2021; 141 s. Russian.
16. Trofimov EI, Vinogradov VV, Marchenko MG. Osobennosti zazhivlenija ran pri hirurgicheskom lechenii bol'nyh rakom gortani i gortanogolotki. *Onkohirurgija*. 2011; 3 (4): 13–16. Russian.
17. Svistushkin MV, Bakulina SV, Starostina AA, i dr. Primenenie mezenhimal'nyh stromal'nyh kletok cheloveka v rekonstrukcii golosovyh skladok. *Gen i Kletki*. 2022; 17 (3): 25. Russian.
18. Borrelli MR, Hu MS, Longaker MT, Lorenz HP. Tissue engineering and regenerative medicine in craniofacial reconstruction and facial aesthetics. *J Craniofac Surg*. 2020; 31: 15–27.
19. Eltom A, Zhong G, Muhammad A. Scaffold techniques and designs in tissue engineering functions and purposes: a review. *Adv Mater Sci Eng*. 2019; 2019: 1–13. DOI: 10.1155/2019/3429527.
20. Shehter AB, Guller AE, Istranov LP, i dr. Morfologija kollagenovyh matriksov dlja tkanevoj inzhenerii v urologii (biosovmestimost', biodegradacija, tkanevaja reakcija). *Arhiv patologii*. 2015; 6: 29–38. Russian.
21. Hamilton NJ, Kanani M, Roebuck DJ, et al. Tissue-engineered tracheal replacement in a child: a 4-year follow-up study. *Am J Transplant*. 2015; 15 (10): 2750–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/ajt.13318>.
22. Zurina M, Presniakova VS, Butnaru DV, Svistunov AA, Timashev PS, Rochev YA. Tissue engineering using a combined cell sheet technology and scaffolding approach. *Acta Biomaterialia*. 2020; 111: 63–83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.06.016>.