

VÝVOJ NOVÝCH DILATAČNÍCH STENTŮ PRO  
ŘEŠENÍ CHRONICKÝCH BENIGNÍCH STENÓZ A  
STRIKTUR DÝCHACÍCH A POLYKACÍCH CEST U  
DĚTÍ



DIZERTAČNÍ PRÁCE

2006

MUDr. Petr Janoušek

## OBSAH:

1. VÝZKUMNÝ ZÁMĚR .....	7
2. DEFINICE ZÁKLADNÍCH POJMŮ.....	7
3. ÚVOD.....	8
4. MORFOLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA DOLNÍCH DÝCHACÍCH A POLYKACÍCH CEST.....	10
4.1 ANATOMIE.....	10
4.1.1 ANATOMIE DÝCHACÍCH CEST.....	10
4.1.1.1 OBECNÝ POPIS.....	10
4.1.1.2 HRTAN.....	10
4.1.1.2.1 SUBGLOTTIS.....	11
4.1.1.2.2 PRŮDUŠNICE.....	11
4.1.1.2.2.1 KRČNÍ ČÁST PRUDŮŠNICE.....	12
4.1.1.2.2.2 KREVNÍ ZÁSOBNÍ PRŮDUŠNICE.....	12
4.1.2 JÍCEN .....	13
4.1.2.1 OBECNÝ POPIS.....	13
4.1.2.2 FYZIOLOGICKÁ ZÚŽENÍ JÍCNU.....	14
4.2 HISTOLOGIE.....	15
4.2.1 HRTAN .....	15
4.2.2 PRŮDUŠNICE.....	16
4.2.3 JÍCEN.....	16
5. EPIDEMIOLOGIE.....	17
5.1 STENÓZY DÝCHACÍCH CEST.....	17
5.2 STENÓZY JÍCNU.....	18
6. ETIOLOGIE.....	18
7. PATOGENEZE.....	20
8. DIAGNOSTIKA.....	23

9.	LÉČBA.....	25
9.1	LÉČBA STENÓZ DÝCHACÍCH CEST.....	25
	9.1.1 DILATACE.....	25
	9.1.2 ZEVNÍ CHIRURGICKÉ PŘÍSTUPY.....	25
	9.1.3 ENDOSKOPICKÉ TECHNIKY.....	26
9.2	LÉČBA POSTKOROZIVNÍCH STRIKTUR POLYKACÍCH CEST.....	27
	9.2.1 DILATACE.....	27
	9.2.2 CHIRURGICKÁ LÉČBA.....	27
10.	VLASTNÍ POZOROVÁNÍ NA ORL KLINICE UK 2.LF a FNM .....	29
	10.1 SOUBOR PACIENTŮ S CHRONICKOU STENÓZOU DÝCHACÍCH CEST .....	29
	10.2 SOUBOR PACIENTŮ LÉČENÝCH S POLEPTÁNÍM JÍCNU .....	32
11.	VLASTNÍ VÝZKUMNÝ PROJEKT.....	36
11.1	CÍLE.....	36
11.2	METODIKA .....	38
11.2.1	CHEMICKÉ SLOŽENÍ MATERIÁLU.....	39
11.2.2	TESTOVÁNÍ FYZIKÁLNÍCH VLASTNOSTÍ MATERIÁLU.....	53
	11.2.2.1 STATICKÁ ZKOUŠKA TAHEM.....	53
	11.2.2.1.1 NAPĚTÍ A PRODLOUŽENÍ PŘI TAHOVÉ ZKOUŠCE...54	
	11.2.2.1.2 PRACOVNÍ DIAGRAM A DIAGRAM $R-\epsilon$ .....	54
	11.2.2.2 PRINCIPY MĚŘENÍ.....	55

11.2.3	TESTOVÁNÍ BIOLOGICKÝCH VLASTNOSTÍ MATERIÁLU...	57
11.2.3.1	MIKROBIOLOGICKÉ.....	57
11.2.3.2	EXPERIMENT NA ZVÍŘETI.....	57
11.2.3.2.1	IN VIVO TKÁŇOVÁ REAKCE.....	58
11.2.3.2.2	IMPLANTACE DO DÝCHACÍCH CEST.....	58
11.2.3.2.2.1	PARAMETRY MĚŘENÝCH DECHOVÝCH FUNKCÍ A JEJICH CHARAKTERISTIKA.....	59
11.2.3.2.2.1.1	DECHOVÝ VZOR.....	59
11.2.3.2.2.2	METODIKY MĚŘENÍ.....	61
11.2.3.2.2.2.1	LABORATORNÍ ZVÍŘATA.....	61
11.2.3.2.2.2.2	ANESTÉZIE.....	61
11.2.3.2.2.2.3	USMRCENÍ ZVÍŘAT.....	61
11.2.3.2.2.2.4	STANOVENÍ VENTILAČNÍCH HODNOT.....	61
11.2.3.2.2.2.4.1	PLETYZMOGRAFIE.....	61
11.2.3.2.2.2.4.2	PLETYZMOGRAFIE ANESTEZOVANÝCH ZVÍŘAT.....	62
11.2.3.2.2.2.4.3	INTUBACE .....	63
11.2.3.2.2.2.4.4	STANOVENÍ DECHOVÉHO OBJEMU A FREKVENCE DÝCHÁNÍ.....	64
11.2.3.2.2.2.4.5	STANOVENÍ HODNOT FUNKČNÍ REZIDUÁLNÍ KAPACITY.....	64
11.2.3.2.2.2.4.6	PLYNNÉ SMĚSI.....	65
11.2.3.2.2.2.4.7	VLASTNÍ SMĚSI.....	65
11.2.3.2.2.2.5	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ.....	65



12.	VÝSLEDKY.....	66
12.1.	CHEMICKÉ SLOŽENÍ MATERIÁLU.....	66
12.2.	STANOVENÍ VÝROBNÍHO PROCESU STENTU .....	68
12.3.	FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI MATERIÁLU.....	70
12.3.1	VÝSLEDKY MĚŘENÍ.....	70
12.3.1.1	ZKUŠEBNÍ VZORKY.....	70
12.3.1.2.	GRAFICKÁ ZÁVISLOST $R-\epsilon$ A VÝPOČET MODULU PRUŽNOSTI.....	71
12.3.1.2.1	$R-\epsilon$ GRAFY HEMA .....	71
12.3.1.2.2	$R-\epsilon$ GRAFY STENT .....	72
12.3.1.2.3	$R-\epsilon$ GRAFY SILIKON.....	73
12.3.1.2.4	ZÁVĚRY K MODULU PRUŽNOSTI.....	74
12.3.1.3	VÝPOČET HODNOTY MEZE PEVNOSTI.....	75
12.3.1.3.1	MATERIÁL.....	75
12.3.1.3.2	ZÁVĚRY K MEZI PEVNOSTI.....	76
12.3.1.4	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ.....	77
12.4.	BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI MATERIÁLU.....	79
12.4.1	MIKROBIOLOGICKÉ.....	79
12.4.1.1	POSTUP.....	79
12.4.1.2	ZÁVĚR.....	86
12.4.2	EXPERIMENT NA ZVÍŘETI.....	86
12.4.2.1	IMPLANTACE DO PODKOŽÍ LABORATORNÍCH POTKANŮ.....	86
12.4.2.2	IMPLANTACE DO DÝCHACÍCH CEST LABORATORNÍCH POTKANŮ.....	88
12.4.2.2.1	MĚŘENÍ DECHOVÝCH FUNKCÍ.....	92
12.4.2.2.2	HISTOLOGICKÉ ZHODNOCENÍ PO IMPLANTACI STENTŮ DO PRŮDUŠNICE POTKANA.....	96

12.4.2.3 IMPLANTACE DO DÝCHACÍCH CEST LABORATORNÍCH KRÁLÍKŮ.....	98
12.4.2.3.1 MĚŘENÍ DECHOVÝCH FUNKCÍ.....	101
12.4.2.3.2 HISTOLOGICKÉ ZHODNOCENÍ ZHODNOCENÍ PO IMPLANTACI STENTU DO PRŮDUŠNICE KRÁLÍKA.....	106
12.5. JÍCEN.....	109
12.5.1. ZÁMĚR .....	109
12.5.2 VÝSLEDKY.....	110
13. DISKUZE.....	112
13.1. DISKUZE K POUŽITÍ STENTŮ U DĚTÍ.....	112
13.2. DISKUZE K SOUBORU PACIENTŮ.....	115
13.3. DISKUZE K VLASTNÍMU EXPERIMENTU.....	116
13.3.1. MATERIÁL.....	116
13.3.2 FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI.....	118
13.3.3 BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI.....	118
13.3.3.1 DECHOVÝ VZOR.....	118
13.3.3.1.1 POTKANI.....	118
13.3.3.1.1.1 ZMĚNY FUNKČNÍ REZIDUÁLNÍ KAPACITY PLIC.....	118
13.3.3.1.1.2 SEKUNDÁRNÍ POKLES VENTILACE.....	119
13.3.3.1.2 KRÁLÍCI.....	120
13.3.3.2 TKÁŇOVÁ REAKTIVITA.....	121
13.4. DISKUZE K POUŽITÍ STENTU U PACIENTU S POSTKOROZIVNÍ STRIKTUROU JÍCNU.....	121
14. ZÁVĚR.....	124
15. PODĚKOVÁNÍ.....	127
16. LITERATURA.....	128
17. TEZE V ANGLIČTINĚ.....	145

## 1. VÝZKUMNÝ ZÁMĚR

Původním cílem práce je stanovení strategie vývoje dilatačního stentu s optimálními vlastnostmi pro použití u dětských pacientů s chronickými intramurálními subglotickými stenózami a chronickými intramurálními stenózami krční části průdušnice. V první části se jedná o definování fyzikálních a chemických vlastností materiálů použitých k výrobě stentu. V druhé části se zabýváme experimentálním ověřováním biologických vlastností těchto materiálů jednak mikrobiologicky, jednak na zvířecím modelu. Ve třetí části jsme testovali funkčnost stentů po implantaci do dýchacích cest experimentálních zvířat. Po zjištění funkčnosti stentů se zaměřujeme též na vývoj modifikovaného stentu použitelného zejména k prevenci tvorby postkorozivních striktur polykacích cest.

## 2. DEFINICE ZÁKLADNÍCH POJMŮ

**Stenty** jsou mechanické pomůcky různých tvarů a z různých allogeních materiálů zaváděné převážně do luminizovaných částí těla ( trávicí a dýchací trubice, močovod, cévy, atd.. ) k udržení jejich průsvitu.

**Stenózou** rozumíme zúžení průsvitu dýchací či trávicí trubice oproti normě.

Traumaticky vzniklé stenózy označujeme jako **striktury**.

### 3. ÚVOD

Stenózy hrtanu a průdušnice tvoří významnou součást spektra diagnóz pacientů léčených na klinikách ORL, chirurgie hlavy a krku. Léčba akutních příznaků má jasné řešení v intubaci, či chirurgickém zpřístupnění dýchacích cest, zejména tracheotomií. Pro dlouhodobou léčbu chronických stenózujících procesů však zatím neexistuje spolehlivé, dostatečné a přitom ekonomicky dostupné řešení. Náročné chirurgické rekonstrukce spolu s dilatacemi, laserovými zákroky, nebo vyčkávací taktikou dlouhodobé tracheostomie jsou nejčastěji užívanými léčebnými modalitami. Mnozí autoři referují o vynikajících výsledcích operací (62,69,72,103,175). Zásahy do citlivých struktur však mohou mít za následek nevratné poškození zahrnující jizvení, restenózy i poruchy hlasového aparátu vedoucí k poruše vývoje řeči a tím i k narušení sociální adaptace. Dosavadní možnosti léčby stenóz dýchacích cest u dětí nelze považovat za dostatečné. Ke všem pacientům je třeba přistupovat individuálně jak z hlediska věku, tak pro častou přítomnost přidružených onemocnění, a proto v této problematice nelze vytvořit jednoznačně platné „doporučené postupy“. Použití stentů se široce uplatňuje při léčbě stenotických onemocnění dýchacích cest dospělých jako primární modalita (16,101), i jako podpora zajišťující dostatečný průsvit lumina po dobu hojení po rekonstrukčním výkonu (60,61,67,90,174-177). Dilatace stenóz a striktur pomocí stentů se jeví výhodně i pro využití u dětských pacientů. Spektrum stentů používaných u dospělých však pro aplikaci u dětí není zcela vyhovující.

Stenózy jícnu jsou kongenitální a získané. Ze získaných stenóz tvoří převážnou většinu postkorozivní striktury. Při léčbě je obdobně jako v dýchacích cestách využíváno dilatací nebo resekčně-rekonstrukčních výkonů. Pro zajištění hojení polykacích cest bývá pacientovi zavedena nazogastrická sonda. V současnosti používané nazogastrické sondy jsou vyrobeny převážně z hmot na bázi hydrofobních polymerů ( polyethylen ), které nijak nevynikají z hlediska biokompatibility a mohou při tvorbě fibrinového pouzdra způsobovat nekrózu okolní tkáně. To platí zejména při dlouhodobějším kontaktu hydrofobního materiálu s tkání. Pro léčbu těchto pacientů se jeví jako výhodné použití nazogastrické sondy potažené biokompatibilním hydrogelem . Celosvětové zkušenosti nejsou velké, ohledně použití stentů v polykacích cestách u dětí nacházíme jen ojedinělé literární údaje.

## 4. MORFOLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA DOLNÍCH DÝCHACÍCH A POLYKACÍCH CEST

### 4.1 ANATOMIE

#### 4.1.1 ANATOMIE DÝCHACÍCH CEST

##### 4.1.1.1 OBECNÝ POPIS

Topograficky stenózy dělíme na stenózy pod a nad aerodigestivní křižovatkou mezofaryngu. Práce je zaměřena na stenózující procesy distálně od mezofaryngu. Popisujeme stenózy hrtanu, které je možno rozdělit na supraglotické, glotické a subglotické, a stenózy průdušnice, které je dále možno dělit na horní a dolní, popř. krční a hrudní. Stenózy jícnu se vyskytují v celém jeho průběhu, u dětí se nejčastěji setkáváme se stenózami kongenitálními a postkorozivními. Ve vztahu ke stěně dýchací či polykací trubice dělíme stenózy na intramurální a extramurální.

##### 4.1.1.2 HRTAN

Hrtan je orgán, který zajišťuje vstup do dolních cest dýchacích. Tvar hrtanu je dán tvarem a uspořádáním chrupavek. Je to hranol zezadu oploštělý s největším rozměrem u dospělých asi 5 cm. Oproti polykacím cestám je vpředu ohraničen hrtanovou příklopkou, vzadu výběžky arytenoidních chrupavek – tento prostor je označován jako aditus laryngis. Distálně hrtan vymezuje dolní okraj prstencové chrupavky. Klinicky hrtan rozdělujeme na oblast supraglotickou, jež je kraniálně ohraničena aditem a distálně vymezena ventrikulárními řasami, glotickou, zahrnující ventrikulární řasy, ventrikulus laryngis a vlastní glottis, a subglotickou.



#### 4.1.1.2.1 SUBGLOTTIS

Oblast subglottis je popisována jako oblast mezi dolní hranicí hlasových vazů (někteří autoři popisují hranici 0.5-1 cm pod hlasovými vazy ) a dolní hranicí prstenčité chrupavky. Prstenčitá chrupavka je jedinou cirkulární oporou celých dýchacích cest, proto je klíčové její zachování při chirurgických intervencích. Další důležitou oblastí je membrana cricothyreoidea, kde vstupuje do hrtanu nervus laryngeus recurrens. **Klinický význam.** Subglottis je u dětí nejužší částí dýchacích cest ( na rozdíl od dospělých, kde je to oblast glottis) a proto zde dochází nejnáze k poškození sliznice při nešetrné, nebo prolongované intubaci. Zároveň zde nemůže dojít při intramurálních procesech k expanzi do okolí. Proto je oblast subglottis nejčastěji postižena stenózujícími procesy.

#### 4.1.1.3 PRŮDUŠNICE

Trachea začíná při dolním okraji prstenčité chrupavky. První tracheální prstenec je částečně pod prstenčitou chrupavkou. V úrovni kariny se pak trachea rozděluje na pravý a levý hlavní bronchus. Tracheální chrupavky vyztužují přední a boční stěny průdušnice, jsou nekompletní v zadní části trachey, paries membranaceus. Příčný hladký sval tvořící zadní stěnu průdušnice může lumen mírně zužovat. Elasticita chrupavek slouží jako přirozený dilatátor lumina. Rovnováha mezi těmito silami a intra a extraluminálním tlakem určuje tvar průdušnice a velikost průsvitu. Nádech způsobuje rozšíření lumina, které je nejvíce vyjádřeno v zadní, membranózní části stěny. V nádechu je lumen okrouhlé, ve výdechu má tvar půlměsíce. U dopívajících je průdušnice značně mobilní v krčních a mediastinálních fasciálních prostorech (pretracheální

fascie). Při hyperextenzi krku se nachází více jak 50% průdušnice v krční části. Při flexi může být kompletně zavzatá do hrudníku.

#### 4.1.1.3.1 KRČNÍ ČÁST PRŮDUŠNICE

Krční část průdušnice je vymezena kraniálně hranicí, jež odpovídá dolní hranici subglotického prostoru a kaudálně vstupem průdušnice do hrudníku – apertura thoracis superior, nebo distální částí klíční kosti. Tato hranice je však nepřesná neboť v souvislosti pohyby hlavy ve smyslu anteflexe a retroflexe dochází k posunu průdušnice. Vymezit délku krčního úseku metricky je u dětí vzhledem k její proměnlivosti též nepřesné. Klinicky nevýznamnější zůstává praktický přístup a jako krční část průdušnice označujeme tu část, kterou lze bezpečně operovat z krčního přístupu. Do této oblasti patří všechna zúžení jejichž distální okraj nepřesahuje dolní okraj klíční kosti při anatomickém postavení hlavy.

**Klinický význam.** Ztrátou cirkulární opory ve formě neúplných prstenců chrupavky dochází snadno ke kolapsu celého průsvitu průdušnice. U dětí, kde nedojde k povšechnému dozrání pevnosti tracheálních chrupavek je nutné zajistit náhradní oporu dýchací trubice. K zúžení lumina průdušnice u dětí dochází též prolapsem zadní stěny, který vzniká nevyzrálostí neuromuskulárních regulací. Díky mobilitě průdušnice je možno resekovat poměrně rozsáhlou část patologicky změněné průdušnice ( až 6 cm ). Rozsah odstraňované části závisí na řadě okolností a vyžaduje značnou zkušenost operátora.

#### 4.1.1.3.2 KREVNÍ ZÁSOBNÍ PRŮDUŠNICE

Krevní zásobení průdušnice je segmentální. Arterie probíhají příčně mezi chrupavkami, kde se větví do podslizničních kapilár. V přední části probíhají cévy po obvodu stěny mezi chrupavkami, vzadu lineárně. **Klinický význam.** Nešetrná disekce přední stěny může vést k nekróze přední a laterální stěny průdušnice. Intraluminálně je nejcitlivější ke kompresi kapilár a k otlakové nekróze sliznice ležící pod chrupavkou.

#### 4.1.2 ANATOMIE JÍCNU

##### 4.1.2.1 OBECNÝ POPIS

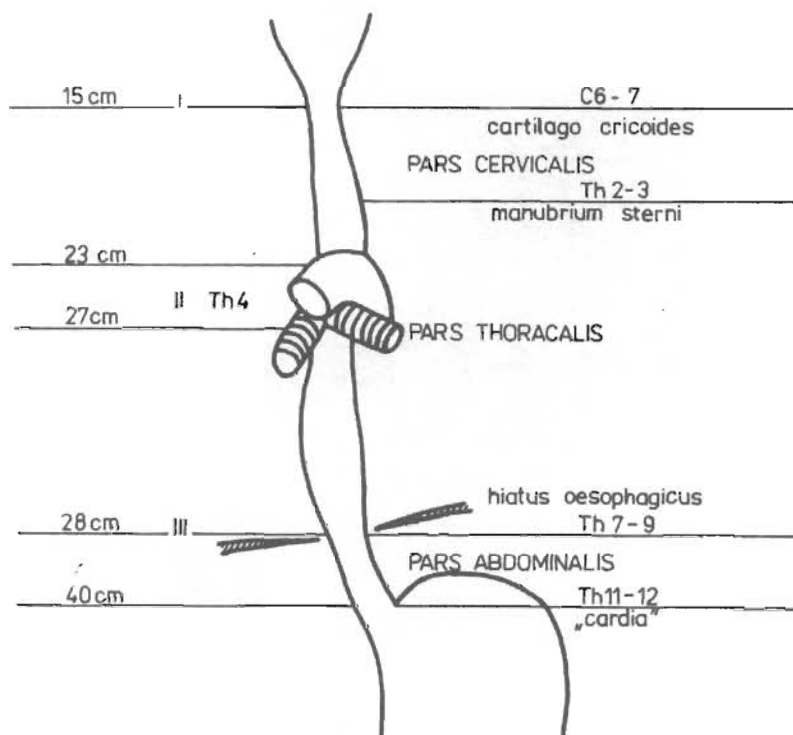
Jícen je předozadně oploštělá trubice, která spojuje hltan s žaludkem. Jícen má hvězdicovitý průsvit, s průměrnou šíří 1-2 cm, v klidovém stavu na sebe stěny jícnu naléhají. Jícen má však velkou roztažnost, při polykání se vnitřní průměr zvyšuje na 3-4 cm. Jícen začíná při dolním okraji prstenčité chrupavky (C6) a probíhá v plochém, dozadu konvexním oblouku před páteří dolů, do břišní dutiny, kde ve výši Th 11 ústí do žaludku. Jícen neprobíhá přímo, v čelní rovině se vychyluje od střední čáry ve tvaru obráceného S. Podle průběhu rozdělujeme jícen na 3 úseky. Krční část jícnu sahá od prstencové chrupavky po horní okraj hrudní kosti(Th2). Sestupuje v řídkém vazivu před páteří, které je pokračování vaziva vyplňujícím parafaryngeální prostor. Před

krční částí jícnu leží průdušnice, proti níž je posunut doleva. Ve štěrbině mezi průdušnicí a jícnem probíhají nervi laryngei reccurentes. Hrudní část jícnu leží v zadním mediastinu (tj. prostoru mezi pravou a levou pohrudniční dutinou) a sahá od horního okraje hrudní kosti (Th2) až po průchod jícnu bránicí (Th 11). Břišní část jícnu je nejkratší část jícnu, od průchodu jícnu bránicí po vstup do žaludku (kardie – gastroezofageální junkce). Probíhá extraperitoneálně mezi lalokem jater a aortou předozadně, po stranách probíhají oba nervi vagi.

Z **klinického hlediska** je ústí jícnu při ezofagoskopii u dospělého asi 15 cm od horní arkády zubů, kardie je v hloubce 40 cm. U dětí je tato vzdálenost značně proměnlivá.

Obr. 1 : Anatomické poměry jícnu

(převzato ze Duda M., v Zeman et al., Speciální chirurgie, Praha: Galén; 2001, s. 191 )



#### 4.1.2.2 FYZIOLOGICKÁ ZÚŽENÍ JÍCNU

Jsou přirozeně zúžená místa, jejichž podklad tkví v průběhu jícnu a vztahu k okolním orgánům. První je v úrovni prstenčité chrupavky – horní jícnový svěrač (Killianovo ústí). Druhé zúžení je nekonstantní a je popisováno v místě, kde se k jícnu v úrovni Th 6 přikládá oblouk aorty. Třetí zúžení je podmíněno kompresí jícnu mezi aortu a levý hlavní bronchus (Th7-8). Čtvrté zúžení je v úrovni jícnového hiátu v bránici a za poslední zúžení (může být považováno za součást předchozího ) je gastroezofageální junkce – dolní jícnový svěrač. Druhé a třetí zúžení bývá někdy popisováno jako společná aortobifurkační úžina.

**Klinický význam** popsané anatomie spočívá zejména v tom, že v místech fyziologických zúžení dochází nejčastěji k uvíznutí cizího tělesa a ke korozivním změnám při poleptání.

## 4.2. HISTOLOGIE

### 4.2.1 HRTAN

Hrtan je vystlán víceřadým cylindrickým epitelem s řasinkami. Výjimku tvoří lingvální a horní třetina laryngální plochy epiglottis a hlasové vazy, jež jsou pokryty vícevrstevným dlaždicovým nerohovějícím epitelem. Lamina propria mucosae je tvořena řídkým kolagenním vazivem. V podslizničním vazivu v oblasti hlasových vazů je zahuštění elastických kolagenních vláken – ligamentum vocale, jež přechází ve sval – musculus vocalis. Kostru hrtanu tvoří

soustava chrupavek. Velké chrupavky (cartilago thyroidea, cricoidea) jsou hyalinní, malé (cartilagine arytenoideae, corniculatae) jsou elastické.

**Klinický význam.** V řídkém podslizničním vazivu dochází snadno k exsudaci a edému. Spolu s nemožností expanze do okolí přes pevný skelet laryngu to způsobuje významné zúžení dýchacích cest. Hyalinní chrupavky věkem a zánětem kalcifikují, což znesnadňuje možnosti rekonstrukčních operací.

#### 4.2.2 PRŮDUŠNICE

Průdušnice je vystlaná víceřadým cylindrickým epitelem s řasinkami. V podslizničním pojivu nacházíme tubuloacinární žlazky a pohárkové buňky. Podíl serózních a mucinózních žlázek je zhruba stejný. Každý den se obnovuje asi 1 mm slizniční vrstvy. Toto se děje migrací podslizničních marginálních buněk. **Klinický význam.** Infekce, nekróza a cizí tělesa inhibují obnovu sliznice. Tracheální chrupavka je hyalinní a není schopna regenerace. V případě traumatu se hojí kalcifikací a fibrózou. Zmnožení mucinózních elementů odráží působení škodlivin a je nepříznivé pro hojení sliznice. Zvýšené množství hlenu působí řadu přidružených potíží a dyskomfort pacienta.

#### 4.2.3 JÍCEN

Pružnou, pohyblivou stěnu jícnu 3-4 mm silnou tvoří tunica mucosa, tela submucosa, lamina muscularis externa a tunica adventitia, která se v břišním úseku mění v tunica serosa. Jícen vystýlá vícevrstevný dlaždicovitý epitel nerohovějící. Tela submucosa je složena z řídkého kolagenního vaziva, které umožňuje, aby se sliznice skládala v podélné řasy. Tunica muscularis externa je tvořena vnitřní cirkulární a zevní longitudinální vrstvou svaloviny. Obě vrstvy vytvářejí mřížovitou funkční strukturu. Mezi nimi je autonomní nervová pletěň



plexus Auerbachi. V horní třetině jícnu se nachází pouze příčně pruhované svalové buňky, v dolní třetině pouze hladké svalové buňky a ve střední třetině jsou zastoupeny obě skupiny buněk. Spojení musculus cricofaryngeus se svalovinou jícnu tvoří horní jícnový svěrač a spojení bránice a cirkulární vrstvy svaloviny v distální části jícnu tvoří dolní jícnový svěrač. V krčním a hrudním úseku jícnu je kryt jícnem adventicií, která plynule přechází do vaziva mediastina, v břišním úseku je kryt serózou. **Klinický význam.** Nepřítomnost serózy znamená horší hojení (i pooperační anastomózy) než v úsecích, krytých serózou. Toto uspořádání zároveň přispívá ke snadnějšímu šíření infekce do okolí. Mezi m. laryngopharyngeus a jeho částí pars cricopharyngea a mezi připojením vláken svaloviny jícnu, jsou v dorzální části jícnu místa snížené resistance s chybějícím svalovým propojením. Jak kraniálně, tak kaudálně od pars cricopharyngea m. laryngopharyngei může dojít ke snadnému instrumentálnímu poranění, nebo vzniku divertiklu.

## 5. EPIDEMIOLOGIE

### 5.1. STENÓZY DÝCHACÍCH CEST

Případy nejsou časté a v literatuře se objevují soubory koncentrované na specializovaných pracovištích, kdy z publikovaných prací nelze vypočítat epidemiologii výskytu. Popsáno bylo jen, že v Anglii je incidence v dospělé populaci 1.5/100 000 (15) a že riziko vzniku postintubační stenózy u novorozenců je 1-8% (166). Na naší klinice tvoří dětské pacienty se stenózou dýchacích cest zhruba 3% všech hospitalizovaných.

## 5.2. STENÓZY JÍCNU

Získané intramurální stenózy u dětí jsou prakticky pouze postkorozivní. Ostatní příčiny jsou zcela raritní. Konkrétní literární údaje o incidenci nejsou dostupné. Pouze De Jong ve své práci odhaduje incidenci v USA okolo 10 000 nových případů za rok (36). Ostatní práce se omezují pouze na popis souborů pacientů léčených na určitém pracovišti. Obecně je však z literatury známo, že výskyt poleptání je nejnižší v zemích s vyšším socioekonomickým standardem a dobrou úrovní služeb, např. ve Finsku (99) a Německu (124). Naproti tomu údaje z Ukrajiny (136), Chorvatska (63), ale i České republiky (81) hovoří o výrazně vyšším výskytu poleptaných pacientů. Za vinu se to klade místy vynucenému trendu domácího kutilství vedoucího občany k přechovávání a manipulaci s nebezpečnými látkami v domácím prostředí. Na našem pracovišti tvoří pacienti s těžkým poleptáním jícnu téměř 2% všech hospitalizovaných.

## 6. ETIOLOGIE

Etiologie chronických zúžení dýchacích cest je shrnuta v tabulce 1. Z vrozených příčin je nejčastější laryngotracheomalacie a kongenitální subglotická stenóza, ze získaných faktorů jsou to zejména stenózy postintubační a posttracheostomické u pacientů nedonošených a s vrozenou srdeční vadou. Biologicky se jedná prakticky vždy o stenózy benigní. Malignity jsou u dětí v této oblasti vzácné.

Tab. 1 Etiologie chronických zúžení dýchacích cest u dětí

Vrozené		Získané					
Laryngeální	Tracheální	laryngeální i tracheální					
		Zánětlivé	Traumatické		Nádorové		Ostatní
			zevní	vnitřní	maligní	benigní	
Paréza hlasivek	Tracheoezofageální píštěl	Difterie	Penetrující	Postintubační	Sarkomy RMS (hrtan)	Papilomy	Recidivující polychondritis
Laryngeální web	Tracheomalácie	Specifické záněty – TBC, Sarkoidóza, Syfilis	Tupá	Posttracheostomická  Cizí tělesa  Poranění chemickými látkami  Poranění z fyzikálních příčin	Karcinomy ( hrtan )	Hemangiomy	Wegenerova granulomatóza
Laryngomalacie							
Laryngeální cysty							
Laryngokély - zevní - vnitřní							
Kongenitální subglotická stenóza ( idiopatická )							
Prolaps prstenčité chrupavky							

Poleptání může být způsobeno požitím pevných leptavých substancí (nejčastěji granulí hydroxidu sodného) nebo tekutiny s obsahem leptavé látky (například kyseliny fosforečné, hydroxidu sodného, draselného a podobně). K požití dochází zpravidla z nesprávně zabezpečené a uložené nádoby. Jizevnaté striktury jako pozdní komplikace po poleptání vznikají asi u 10% pacientů.

## 7. PATOGENEZE

Kongenitální poškození vznikají na základě poškozené genetické informace s následkem patologické tvorby tkáně. Obdobně to platí u nádorů. Přesné mechanismy vzniku konkrétního poškození nejsou dosud popsány. Ze získaných poškození se jedná o poškození vnitřní stěny, nejčastěji traumaticky nebo primárním zánětem. V místě působení noxy (v případě intubační rourky je to kontakt hrotu rourky se stěnou nebo tlak manžety) vzniká sterilní zánět s exsudací a vznikem edému. Postupně dochází k zánětlivé infiltraci sliznice a následně i vnitřního perichondria. Uvádí se, že tento děj nastává již po 12 hodinách působení noxy. Pokračuje-li působení noxy dochází k zánětu chrupavky následovaného ischemií, nekrózou, perichondritidou a přechodem zánětu na okolní tkáň. Tento děj probíhá již okolo sté hodiny působení noxy. Následuje hojení s tvorbou granulací a fibroprodukce, která vyústí ve stenózu. Celý patogenetický mechanismus zhoršuje a potencuje nasedající infekce, lokální ischemie a stagnace sekretu. Všechny uvedené faktory indukují vznik dalšího zánětu a fibrotizace. Tím vzniká *circulus vitiosus*. **Klinický význam.** Nejběžnější je poškození způsobené intubační rourkou. Faktory, které přispívají k intubačnímu poranění hrtanu a průdušnice jsou tuhost a nepoměr velikosti intubační rourky k lumen dýchacích cest, vysoký tlak manžety (u dětí by

neměla být používána), infekce ve stagnujícím sekretu, celkový stav pacienta; především s ohledem na prokrvení tkání a imunokompetenci. Vliv má též chemické složení intubační rourky. Intubační rourky jsou v současnosti vyráběny z polyethylenu, polyvinylchloridu a silikonu. Stadium relabující zánětlivé reakce na sliznici a v podslizničním pojivu s tvorbou granulací bývá některými autory označováno jako „aktivní hrtan“. V tomto stadiu je nevhodné pacienta operovat pro riziko vzniku restenózy (69).

Příčinou poškození u poleptání jícnu je exogenní chemická reakce leptavé látky (kyselina či louh) se sliznicí jícnu. Působením kyselin dochází ke srážení bílkovin – koagulační nekróza, která bývá ostře ohraničena od okolí. Závažnější je poleptání louhem. Louhy bílkoviny nesráží, ale rozpouští; tím vznikají mazlavé rosolovité hmoty (albumináty) bez ohraničení – kolikvační nekróza. Locus minoris resistentiae pro poleptání jsou místa fyziologických zúžení jícnu. To se vysvětluje jednak relativním zpomalením průchodu leptavé látky jícnem a tím i prodloužením kontaktu se sliznicí a jednak těsnějším kontaktem leptavé substance se sliznicí. Pevné leptavé látky mají tendenci adherovat k sliznici faryngu, kde způsobují poleptání, zatímco tekuté jsou rychle spolknuty a způsobují spíše poškození jícnu a žaludku. Poškození pevnými částicemi je při stejném množství i koncentraci závažnější než tekutinami. Poškození stěny jícnu leptavou substancí je chemický zánět - korozivní ezofagitida. Po kontaktu leptavé látky dochází v prvních minutách až hodinách k povrchnímu zánětu – hyperémii a exsudaci. Nedosahuje-li koncentrace leptavé látky hodnoty letální buněčné toxicity, dochází pouze k hyperémii sliznice, která posléze regeneruje (I. stupeň poleptání). Je-li koncentrace leptavé látky vyšší, dochází ke zničení povrchní vrstvy buněk a povrchní katar se zvýšenou exsudací žlázek je následován exsudací fibrinu s tvorbou pablánového krupózního zánětu. Dojde-li k prostupu do hlubších vrstev sliznice objeví se okrsky šedobělavých povlaků, které je možno zastihnout při časně ezofagoskopii – zánět pablánový difterický (II. stupeň poleptání). Nepřejde-li zánět přes bazální membránu, může také dojít

k úplné regeneraci sliznice. Je-li koncentrace a množství leptavé látky vyšší, přesáhne svým působením bazální membránu a dochází k nekrotizaci slizničního stromatu a podslizniční vrstvy prostoupených fibrinem. Tento zánět označujeme jako pablánový eschariotický – při ezofagoskopii pozorujeme splývavé šedobělavé povlaky (III.stupeň poleptání). Pablány jsou mohutnější a při doteku dochází snadno k drobnému krvácení. Lze říci, že nález šedobělavých povlaků odpovídá nekrotickým ložiskům sliznice a podslizničního pojiva demarkovaných granulační tkání. Později dochází k odlučování těchto okrsků a ulceraci stěny. Při transmurální nekróze nastává fibroprodukce, která začíná vrcholit okolo 14.dne po atace. Stupeň fibroprodukce závisí na tíži poleptání nebo dispozici organismu. Je-li příliš masivní, má za následek tvorbu postkorozivní striktury. Tento děj je kladen do období 4. – 6. týdne po poleptání. Reparativní fáze zánětu povrchní vrstvy je ukončena epitelizací poškozených okrsků sliznice okolo 5. týdne po atace (148). Nejtěžším stupněm poleptání je postižení všech vrstev jícnu s průnikem do okolí, výjimečně až do velkých cév.

**Klinický význam.** Výše popsaná patologicko-antomické změny jsou používány v hodnocení ezofagoskopického nálezu od něž se odvíjí léčba pacientů. Reparativní pochody těžkých poleptání pokračují v hlubokých vrstvách i v dalším období a jsou příčinou restenozování dilatovaných úseků. U nejtěžších poleptání s postižením dlouhého úseku jícnu je zapotřebí před eventuelní chirurgickou intervencí vyčkat i rok a déle, než dojde k úplné stabilizaci tkáňových systémů. V době čekání na operaci musí být pacientovi dlouhodobě zavedena nazogastrická sonda, nebo provedena gastrostomie.



## 8. DIAGNOSTIKA

Hlavním bodem v diagnostice zúžení dýchacích cest je endoskopické vyšetření. Proto by měl každý pacient který má příznaky upozorňující na možnou přítomnost stenózy (stridor, zejména netypický a hlasitý, inspiračně-expirační; kašel; slabý hlas; dušnost, zejména záchvatovitá a v souvislosti s krmením; chrapot) co nejdříve toto vyšetření podstoupit. Podle endoskopického nálezu je klasifikována tíže zúžení např. podle Myera (108) do čtyř stupňů, jak je shrnuto v tabulce 2. Pro ozřejmení poměrů v okolí dýchací trubice a některých dlouhých stenóz je nezbytné doplnit vyšetření nukleární magnetickou rezonancí ( NMR ). Fakultativní je provedení pasáže jícnem, achokardiografické vyšetření a sonografie mediastina.

Tab. 2            Klasifikace zúžení podle endoskopického nálezu podle Myera  
v procentech    omezení lumina

I . stupeň	do 50 %
II. stupeň	51-70 %
III. stupeň	71-99 %
IV. stupeň	neznatelné lumen

Základním diagnostickým procesem při podezření na poleptání jícnu je ezofagoskopie. Vyšetření rigidním tubusem proti flexibilním přístrojům je výhodné pro velkou přehlednost pro posouzení plošného postižení a šetrnou dilataci stěn jícnu a je možné zavést cíleně nazogastrickou sondu pod endoskopickou kontrolou. Rigidním tubusem však není možné přehlédnout

stěny žaludku a vyšetření je třeba vždy provést v celkové anestezii. K určení tíže poleptání jsou používány různé klasifikace pracovní, která dělí poleptání do tří až čtyř stupňů, odpovídajících patologicko-anatomickým změnám. Nejrozšířenější je klasifikace třístupňová, dle Gumaste a Daveho (64). Na pracovišti ORL UK 2.LF je používána klasifikace čtyřstupňová, která je obdobná, ale vyčleňuje zvlášť stupeň popisující postižení hlubších vrstev stromatu. Srovnání obou klasifikací je uvedeno v tabulce 3. Pro diagnózu postkorozivních striktur je stěžejní rentgenologické vyšetření polykacího aktu.

Tab. 3. Srovnání klasifikace poleptání jícnu

<b>Dle Gumaste a Daveho</b>	<b>Dle pracovní skupiny naší kliniky</b>
I. hyperémie a desquamace sliznice	I. hyperémie sliznice
II. postižení submukózy a svaloviny	II. desquamace sliznice – tvorba izolovaných bělavých povlaků
III. progrese na okolní orgány	III. postižení hlubších vrstev stěny (submukóza) – tvorba splývajících bělavých povlaků
	IV. postižení svaloviny až perforace

Poznámka: odlišení hloubky postižení je značně subjektivní a odlišení II. a III. stupně poleptání při prakticky shodném klinickém obrazu je možné především srovnáním nálezu a dalšího průběhu postižení.

## 9. LÉČBA

### 9.1 LÉČBA STENÓZ DÝCHACÍCH CEST

#### 9.1.1. DILATACE

Léčba je odvozena podle tíže a etiologie zúžení. Pokud je možné chirurgicky příčinu zhoršené průchodnosti odstranit, je preferován tento postup (nádory, rozštěpy hrtanu, hrtanové přepážky). Stenózy málo závažné (stupeň I) je možné „pouze“ sledovat. Stenózy vážnější (stupeň II) se dilatují bužijemi a balónkem, nebo se stentují (u dětí velmi vzácně). Balónková dilatace je šetrná metoda, kdy je možno pod RTG kontrolou opakovaně při jednom sezení nafouknout dilatační balónek na přesně definovaný průměr odvozený od insuflačního tlaku (94).

#### 9.1.2 ZEVNÍ CHIRURGICKÉ PŘÍSTUPY

Nejdůležitější součástí léčby je radikální chirurgické řešení ze zevního přístupu, zahrnující výkony na skeletu hrtanu a průdušnice s roztěním laryngotracheálního komplexu a následnou rekonstrukcí. K rekonstrukční nebo resekční operaci jsou indikováni pacienti s velmi závažným zúžením (stupeň III), nebo pacienti s lehčími stenózami a tracheostomií u nichž je klinický stav neuspokojivý, nedaří se dilatace nebo dekanylace. Rekonstrukční (expanzivní) operace je především laryngotracheální rekonstrukce, indikovaná zvláště u stenóz subglotických, kdy je buď rozřít (split) nebo vytnut stenotický úsek a nahrazen jinou tkání (nejčastěji autologní chrupavkou). Dalším typem výkonu je vyztužení malatického úseku jinou tkání - grafterem (chrupavka, perikard). Nejčastěji používána chrupavka z boltce či žebra. S těmito tkáněmi jsou nejširší zkušenosti (30-32,72,154) a jejich použití se jeví jako lepší, než například

použití těla kosti jazyky (103), nebo implantace allogeních materiálů (86), kadaverózní homografty (45), nebo implantace neotrachey (9). Resekční operace spočívá v resekci postižené části a sutuře end-to end. Nejčastějším typem zákroku je krikotracheální resekce. Po dobu bezprostředního hojení je místo po plastice obvykle zajištěno stentem. Trvalou tracheostomií jsou zajišťováni pacienti s velmi závažnou nebo neovlivnitelnou stenózou, a pacienti s centrálním postižením, u kterých je třeba udržovat toaletu dýchacích cest.

### 9.1.3 ENDOSKOPICKÉ TECHNIKY

V průběhu 80. let, paralelně s rychle se rozvíjejícím používáním endoskopických technik, dochází i v oblasti dýchacích cest k častým endoskopickým výkonům. Jedná se především o použití laseru a o endoskopickou implantaci stentů z různých materiálů. Standardem v současnosti jsou stenty různých tvarů – Dumon, Palmaz, Freytag, Strecker, nebo Montgomery (1,39,40,57,105); dominantním materiálem pro jejich výrobu je silikon. Něktěrymi autory je též zmiňován teflon (14) Upouští se od používání metalických stentů – Gianturco (82). Ve stadiu experimentů je použití nových materiálů – např. vitallia (164), polyglykolové kyseliny (83), či polypropylenu C (96). Začínají se též objevovat konzervativnější přístupy využívající např. aplikaci cytostatik – mitomycinu C (68,162). Endoskopická technika stentování se stala součástí práce intervenčních radiologů a pneumologů (122). Použití stentů u dětí není zcela jednoznačně akceptovatelnou metodou.

## 9.2 LÉČBA POSTKOROZIVNÍCH STRIKTUR POLYKACÍCH CEST

### 9.2.1 DILATACE

Postkorozivní srůsty jsou pevné a dilatacími hůře ovlivnitelné. Dilatace bužijemi je vyhrazena pro dilatace takových striktur, do nichž není možné zavést dilatační balónek. Dilatace jsou prováděny perorálně v celkové anestezii, většinou po ezofagoskopii postupně se zvětšujícím průměrem bužije. Balónková dilatace za RTG kontroly je považována za jemnější a šetrnější, i když ani tento způsob ošetření nevyklučuje roztržení stěny jícnu. V současné době je používána jako metoda první volby. Zákrok je prováděn intervenčním radiologem za přítomnosti otorinolaryngologa. Zákrok je prováděn v celkové anestezii, principem je pozvolné rozpínání dilatačního balónku v místě stenózy na vyšší tlak. Pravidlem je, že u postkorozivních striktur jícnu je třeba balónkovou dilataci opakovat vícekrát (nejméně dvakrát) (93, 95). Po provedení balónkové dilatace bývá krátkodobě (do 48 hod.) zavedena nazogastrická sonda.

### 9.2.2. CHIRURGICKÁ LÉČBA

Chirurgická léčba je indikována u postkorozivních striktur při neúspěchu balónkové dilatace. Není-li možné zajistit dostatečnou výživu sondou, kolem sondy – je třeba provést gastrostomii - klasickou nebo perkutánní. U krátkých lokalizovaných striktur se provádí resekce místa striktury a anastomóza jícnu end to end (25). Při větší délce striktury či poškození celého jícnu je indikována náhrada jícnu. U dětí je preferovaným způsobem náhrady jícnu

žaludeční pull-up (141), kdy je cestou thorakotomie zadním mediastinálním tunelem vytažen tubulizovaný žaludek a provedena anastomóza s cervikální částí jícnu. V časném pooperačním období je provedena jejunostomie k zajištění enterální výživy (145). Jiný princip náhrady jícnu spočívá v náhradě jícnu kličkou tenkého (65) nebo tlustého střeva (3, 70 ). Výkon je dvoudutinový a obtížnější, proto není u dětí často indikován. Součástí pooperační péče je vždy zavedení nazogastrické sondy.



## 10. VLASTNÍ POZOROVÁNÍ NA ORL KLINICE UK 2.LF A FNM

### 10.1. SOUBOR PACIENTŮ S CHRONICKOU STENÓZOU DÝCHACÍCH CEST

V pětiletém období 2001-2005 jsme na Klinice ušní, nosní a krční UK 2.LF a FN v Motole léčili 87 pacientů, u nichž jsme diagnostikovali zúžení dýchacích cest. Všechny pacienty jsme vyšetřili rigidní laryngotracheo-bronchoskopií v celkové anestezii. U 57 pacientů se jednalo o subglotické zúžení. Kongenitálních stenóz bylo 8, ostatní byly získané. Zjistili jsme 7 posttraumatických striktur, 39 stenóz po dlouhodobé umělé plicní ventilaci (UPV), 3 vyšetřovaní měli anamnesticky provedenu tracheostomii. Dlouhodobá UPV byla většinou zajišťována nazotracheální intubací delší než 14 dnů. Indikací UPV byla 14x intenzivní neonatologická péče pro nezralost, 1x syndrom Guillan-Barré, 4x velmi těžká akutní subglotická laryngitida a 1x těžká bronchopneumonie. 19x byla UPV indikována v pooperační péči, z toho: 14x po kardiochirurgickém zákroku pro vrozenou srdeční vadu, 3x po neurochirurgické operaci pro zhoubný nádor mozku, 1x po operaci pro duplikaturu jícnu a 1x po operaci pro kongenitální emfyzém. Tracheostomie, po které se objevila stenóza v oblasti subglottis byla indikována vždy pro malformaci obličeje (syndrom Pierre-Robin, izolovaná mikromandibula, syndrom Treacher-Collins).

1x se stenóza projevila za 10 let po dlouhodobé intubaci. U 4 pacientů byla zjištěna synechie glottis, z toho 3x po operacích pro papillomatózu, 1x po UPV. 2 pacientí měli kongenitální laryngeální web. Tracheomalácie byla popsána 9x, stenóza dolní třetiny krční části průdušnice 3x (z toho 2x při diagnóze tracheo-ezofageálního rozštěpu). Při diagnóze tracheomalácie byl zjištěn zároveň 2x tracheální bronchus a 2x prolaps zadní stěny. U 5ti pacientů byla tracheomalácie charakterizována jako kongenitální, u 2 po dlouhodobé

intubaci, 1 po tracheostomii a 1 po útlaku osteosyntetickým materiálem použitým pro korekci kyfoskoliózy. U 5 pacientů byla zjištěna paréza zvrtných nervů, z toho u 2 po traumatu hrtanu, u 2 po kardiochirurgickém zákroku, u 1 po neurochirurgickém zákroku – centrální paréza. 1x byla zjištěna cysta průdušnice, 2x subglotický hemangiom, 1x karcinom hrtanu, 2x rabdomyosarkom hrtanu. Etiologie zúžení je shrnuta v tabulce 3.

Tíži stenózy jsme hodnotili klasifikací podle Myera, která rozděluje zúžení do 4 skupin podle procenta zúžení lumina. U 20 ti pacientů jsme diagnostikovali nevýznamnou stenózu, kterou jsme pouze sledovali. U 3 pacientů byla zjištěna malignita, proto byli operováni i když stenóza nebyla významná. U ostatních 67 pacientů byla zjištěna různě závažná stenóza II. a III. stupně. Stenózu IV. stupně jsme nezastihli.

Při léčbě pacientů jsme vycházeli jednak z klinického stavu, tíže a charakteru stenózy, ale někdy též podle přání rodiny pacienta. V následujícím přehledu jsou uvedeny metody, které byly v léčbě pacientů konečné není-li uvedeno jinak. 24 pacientů jsme dilatovali bužijemi, 12 pacientů podstoupilo balónkovou dilataci. U 7 pacientů jsme zároveň s dilatacemi indikovali zákrok laserem. Operační zákrok jsme provedli u 34 pacientů. 8 pacientů jsme operovali endoskopicky – 2x discize tenké přepážky mezi hlasivkami, 4x discize synechií, 1x submukózní resekce arytenoidní chrupavky pro poúrazový prolaps, 1x laterofixace hlasivky pro poúrazovou parézu zvrtného nervu. Ostatní zákroky byly z otevřených přístupů, 18x z laryngofissury, 1x z tracheofissury, 7x z rozsáhlejšího krčního přístupu. 6x jsme aplikovali do stenózy Mitomycine C, který má lokální cytostatický účinek. Plastiku perikardu prováděl kardiochirurg, resekci trachey hrudní chirurg, parciální laryngektomii specialista onkochirurg. Typy zákroků s přihlédnutím k etiologii jsou shrnuty v tabulce 4.

Tracheostomií bylo zajištěno 43 pacientů, z toho 36 déle než 2 měsíce. Trvalými nosiči kanyly je v současnosti 12 pacientů, ostatní se podařilo dekanylovat. Z trvalých nosičů se jedná o 2 pacienty s parézou zvrtných nervů,

5 pacientů s centrálním postižením, u nichž je kanyla zavedena z důvodu zajištění toalety dýchacích cest a snížení dechového odporu, o 2 pacienty s tracheomalácií, 1 pacienta s muskulární dystrofií, 1 pacienta s tracheo- ezofageální píštělí, 1 pacienta se syndromem Treacher-Collins.

Retracheostomií pro recidivu dechových obtíží po dekanylaci jsme byli nuceni provést u 4 pacientů (trauma, Pierre-Robinův syndrom, morbus Down, muskulární dystrofie). Z nich se podařilo opět 2 dekanylovat. Opakovanou retracheostomií jsme museli zajistit dýchání u pacientky se syndromem Guillan - Barre. 10 dekanylovaných pacientů podstoupilo plastiku tracheostomatu z důvodu nepříznivého kosmetického vzhledu jizvy po dekanylaci.

Ze základních diagnóz jsme se nejčastěji setkali s vrozenými srdečními vadami – 14x, mnohočetnými vývojovými vadami – 8x a nezralostí – 14x. Z přidružených onemocnění jsme zaznamenali 4x gastroezofageální reflux, 2x situs viscerum inversus, 8x poškození sluchu, 3x morbus Down. Při endoskopickém vyšetření provedeném pro suspektní subglotickou stenózu jsme diagnostikovali 3x kongenitální laryngeální stridor těžkého stupně a 1x cystu kořene jazyka a při vyšetření pro kongenitální laryngeální stridor jsme objevili 2x papillomatózu hrtanu, 4x subglotickou stenózu, 1x neúplnou laryngeální přepážku (web) a 1x laryngeální cystu.

76 pacientů má endoskopicky v konečné fázi normální lumen, nevýznamnou stenózu, nebo malé nerovnosti. Jejich další prognóza je však ovlivněna zejména jejich základním onemocněním. Lze konstatovat, že tito pacienti mohou vést svůj život bez omezení způsobeného stenózou dýchacích cest. 8 pacientů je stále zařazeno v programu balónkových dilatací. Za sledované období 3 pacienti zemřeli (2x pacienti apalickým syndromem po tonutí, 1x pacient s epilepsií refrakterní na léčbu a těžkým centrálním postižením).

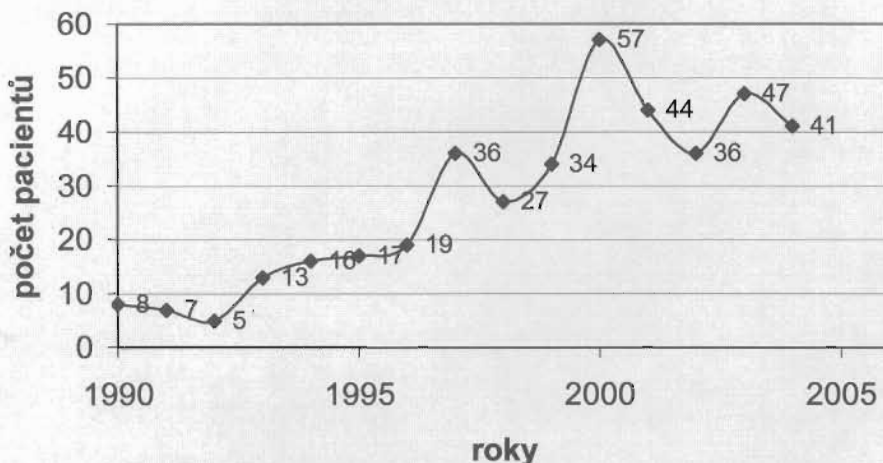
## 10.2. SOUBOR PACIENTŮ LÉČENÝCH PRO POLEPTÁNÍ JÍCNU

Pacienti s diagnózou suspektní poleptání jícnu tvoří v současnosti 15 % všech akutně hospitalizovaných pacientů na naší klinice. Ve sledovaném patnáctiletém období jsme zaznamenali vzestupnou tendenci počtu vyšetřených pacientů. Retrospektivně jsme hodnotili záznamy všech pacientů ošetřených v letech 1990 - 2004 na našem pracovišti pro suspektní poleptání jícnu. Hodnotili jsme zastoupení skutečně poleptaných ze všech vyšetřených, zejména jsme si všimli komplikací, jejich poměrného zastoupení a vlivu na prognózu pacienta.

Za sledované období jsme provedli celkem 587 ezofagoskopií pro suspektní poleptání jícnu u 399 pacientů. Pozitivní nález jsme popsali u 174 pacientů. Nejtěžší poleptání (III. a IV. stupně) bylo popsáno u 30 pacientů. Nejvíce byli zastoupeni pacienti s negativním ezofagoskopickým nálezem nebo s nejlehčím poleptáním I.stupně. Za sledované období jsme byli nuceni zavést nazogastickou sondu u 113 pacientů k zajištění výživy a správného hojení postižené stěny jícnu.

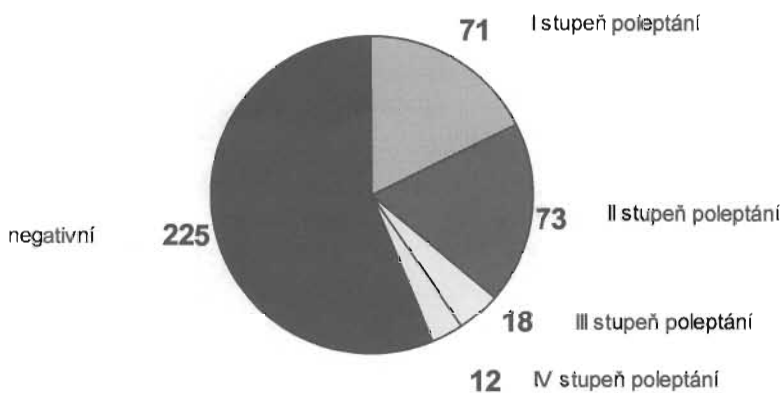
Zaznamenali jsme pětinasobný vzestup počtu vyšetřených pacientů v období od roku 1997 do roku 2001, kdy došlo opět ke stabilizaci meziročního nárůstu, ale na výrazně vyšší hladině než před rokem 1997. Zatímco na začátku sledovaného období jsme ročně ošetřili průměrně 10 pacientů, v období po roce 2001 to bylo 50 pacientů. ( graf 1 )

**Graf 1. Celkový počet pacientů pro  
suspektní poleptání jícnu**



Ve sledovaném souboru jsme popsali při vyšetření ezofagoskopem 225x negativní nález, 71x se jednalo o poleptání I. stupně, 73x o poleptání II. stupně, a 18x o poleptání III. stupně. Pacientů s poleptáním IV. stupně bylo zaznamenáno 12. Shrnutí ezofagoskopických nálezů je v grafu 2.

**Graf 2. Ezofagoskopické nálezy celkem**



Komplikovaný průběh nastal u 21 pacientů (tab. 4). U sedmi se jednalo o komplikaci akutní (mediastinitida, edém vchodu do hrtanu). Pětkrát si stav vyžádal chirurgické řešení (3x mediastinální a pleurální drenáž, 2x resekci nekrotického jícnu, 2x tracheotomii, 3x intubaci), třikrát byl zvládnut konzervativně (intenzivní konzervativní léčba, 2x intubace). Dvanáctkrát jsme zaznamenali vznik významných postkorozivních striktur, tito pacienti tvořili 40% pacientů s poleptáním III.a IV. stupně. 8 striktur se podařilo vyřešit pomocí balónkové dilatace na Klinice zobrazovacích metod UK 2.LF a FNM. U čtyř pacientů, u nichž nebyla dilatace úspěšná, byla provedena náhrada jícnu žaludkem na Klinice dětské chirurgie UK 2.LF a FNM. U jednoho pacienta musela být provedena ve spolupráci s Klinikou plastické chirurgie FNKV plastika dutiny ústní pro těžké postkorozivní srůsty. U jednoho pacienta byla po intubaci zjištěna nevýznamná subglotická stenóza. Dalším vyšetřováním bylo zjištěno, že se jedná o vrozenou stenózu způsobenou anomální cévou. Dvě pacientky zemřely. Představuje to 16% mortalitu ze souboru pacientů s perforací. Příčinou byla nezvládnutelná mediastinitida s následným rozvojem multiorgánového selhání (MODS). Podobné výsledky udávají u těžkých poleptání i další autoři (19,20). Jedenkrát došlo při kontrolní ezofagoskopii u pacienta s postkorozivní strikturou k iatrogení perforaci jícnu a sterilní mediastinitidě, která byla dobře konzervativně ovlivnitelná. Ostatní pacienti jsou v celkově dobrém stavu. Zatím v poměrně krátkém dispenzárním období jsme nepozorovali rozvoj postkorozivního karcinomu.

Tab. 4 : Závažné komplikace po poleptání jícnu

Komplikace	Počet pacientů
Akutní	
Edém vchodu do hrtanu	4
Mediastinitida	5
Sepse	3
Multiorgánové selhání	2
Perforace velkých cév	1
Pozdní	
Postkorozivní striktura	12
Srůsty v dutině ústní	1



## 11. VLASTNÍ VÝZKUMNÝ PROJEKT

### 11.1 CÍLE

Hlavním cílem práce je vyvinout nový dilatační stent s optimálními vlastnostmi pro použití u dětských pacientů se stenózou v horní části dýchacích cest, dosud odkázaných především na opakované dilatace, rozsáhlé chirurgické rekonstrukce nebo trvalou tracheostomii. Stenty bude výhledově možno použít u širšího spektra pacientů s postižením v oblasti hrtanu, například s papilomatózou hrtanu nebo synechiemi (nejčastěji pooperačními) hlasivek k prevenci jizvení. Připravený materiál na bázi hydrofilních kopolymerů s obsahem polyHEMA by měl nalézt své místo v hrtanové chirurgii a mikrochirurgii např. k provádění některých fonochirurgických zákroků – tyroplastiky, injektáže do hlasivek.

Optimální vlastnosti stentu použitelného pro terapii stenotických onemocnění dýchacích cest nebo jako zajištění po rekonstrukčním výkonu jsou následující

- A. **biokompatibilita:** sekčně i klinicky prokázná malá reaktibilita hostitelského organismu, zejména lokálně
- B. **pevnost:** pro udržení průsvitu dýchacích cest a tím zajištění optimální saturace hostitelského organismu kyslíkem
- C. **pružnost a přizpůsobivost intraluminálnímu tlaku:** je nutné předejít zbytečnému mechanickému tlaku na okolní tkáň
- D. **nesmáčivost:** stent musí být hladký, aby nedocházelo ke stagnaci sekretů a nebyl tak na překážku fyziologické očistě dýchacích cest
- E. **inertnost vůči mikroorganismům:** v místě stentu nebude docházet k usazování a množení nejběžnějších patogenů dýchacích cest

Oproti v současnosti používaným stentům bude mít stent vyvíjený v našem projektu výhodnější vlastnosti a to především:

- a) řízený a měřitelný tlak na okolní tkáň
- b) řízenou a měřitelnou absorpci a uvolnění substancí (léčiva, kontrastní látky)
- c) vyšší biokompatibilitu
- d) několikanásobně nižší náklady na výrobu

Vedlejším cílem práce je navrhnout a vyrobit nazogastrickou sondu z hydrogelu na bázi polyHEMA, s optimálními vlastnostmi pro použití u dětských pacientů jako prevenci tvorby striktur jícnu při dlouhodobém zavedení. Oproti nazogastrickým sondám, které jsou používány v současnosti by měla mít sonda vyvinutá v rámci práce výhodnější vlastnosti (viz. výše)

Použití materiálů na bázi biokompatibilních hydrogelů dále umožní navrhnout mechanické parametry sondy tak, aby byla změna objemu hydrogelu na povrchu sondy při hydrataci využita k vyvíjení nastavitelného tlaku na stěny jícnu. Pružnost hydrogelu současně zajistí rovnoměrný kontakt sondy se sliznicí jícnu, který bude lépe bránit ve tvorbě striktur, než v současnosti používané nazogastrické sondy. Změřený intraluminální tlak v místě léze a rentgenový snímek pasáže tekuté kontrastní látky lézí mohou být využity při výrobě „individualizované“ sondy, jejíž mechanické parametry budou přizpůsobeny konkrétnímu dětskému pacientovi, místu léze a jejím dynamickým vlastnostem. Připravovaný typ nazogastrické sondy bude možné využít také k řízenému uvolňování léčiv nebo kontrastních látek. Předpokládáme, že zejména možnost využít řízené lokální uvolňování kortikoidů umožní zkrátit dobu terapie pacientů ohrožených strikturou jícnu v souladu s nejmodernějšími trendy v léčbě.

## 11.2 METODIKA

Základní úkoly :

**Najít materiál, který by splňoval vlastnosti určené v cílech projektu.**

**Zvolený materiál otestovat**

- ohledně fyzikálně-chemických vlastností měření parametrů pevnosti
- ohledně mikrobiologických vlastností – porovnávání růstu běžných patogenů dýchacích cest na standardních mediích a testovaném materiálu

**Definovat proces výroby stentu ze stanoveného materiálu.**

**Implantovat materiál do podkoží pokusným zvířatům ( potkani ) a vyhodnotit tkáňovou reakci.**

**Implantovat stent do průdušnice pokusných zvířat ( potkani, králíci ) a vyhodnotit tkáňovou reakci a změřit ventilační funkce.**

### 11.2.1. CHEMICKÉ SLOŽENÍ MATERIÁLU

Plánovali jsme stanovit takové složení materiálu, které by svými vlastnostmi odpovídalo všem požadovaným parametrům stanovených v cílech práce. Na vývoji materiálů jsme pracovali spolu s odborníky na biokompatibilní hydrogely z Ústavu makromolekulární chemie Akademie věd České republiky (ÚMCH AV ČR). Na základě literárních údajů jsme měli vytypovaný materiál na bázi biokompatibilního polymeru polyHEMA. Tento materiál splňuje výše zmíněné cíle, navíc je standardně používán v jiných medicínských oborech. Podrobné prostudování vlastností a chování materiálů má zásadní význam pro jeho výběr a úpravu, proto jsou předloženy zásadní informace z širšího pohledu.

#### Využití v oftalmologii

Pomůcky z polyHEMA užívané v nebo na oku představují kontaktní čočky, terapeutické čočky, rohovkové bandáže, transplantace rohovky, nitrooční čočky, náhrady sklivce, drenáže pro snížení nitroočního tlaku, materiály pro replantaci odtržené sítnice a očnicové implantáty (118,125). Kontaktní čočky představují druhé nejčastější využití „plastu“ v medicíně, ihned po stomatologii. Množství pacientů s nitroočními čočkami se pohybuje v miliónech, pacientů s transplantací rohovky desetitisíce (85).

#### Kontaktní čočky.

První dostupné kontaktní čočky byly z tvrdého materiálu. Výhody měkkých kontaktních čoček z polyHEMA pro pacienta, jsou v komfortu oka a ve faktu, že mohou být nošeny delší dobu. Kontaktní čočky musí splňovat několik požadavků. Musí umožňovat normální propustnost kyslíku k rohovce, být

mechanicky stabilní a odolné proti deformační síle očního víčka. Zároveň musí být poddajné, udržovat nepřetržitou vrstvu slzného filmu na svém povrchu a tedy být vodě odolné. Měly by zabraňovat usazování nečistot, růstu mikrobů, měnit barvu a index lomu světla, mít dlouhou životnost a hlavně přijatelnou cenu. Např. nedostatečná propustnost kyslíku byla vyřešena snížením tloušťky čočky a zvýšením stupně hydratace (22). Kvůli možnosti infekce, toxickým a jiným metabolickým efektům, není nošení kontaktní čočky bez rizika. Problémy jsou samozřejmě velmi individuální. Lidé se navzájem liší např. ve složení slz. Předpoklad, že by kontaktní čočky mohly absolutně vytlačit brýle, zůstává tedy nerealistický.

Kontaktní čočky z polyHEMA s nízkou hydratací – poškozují rohovku po 2 dnech nošení. Vedou k edému s hypoxií rohovky, která vyúsťuje ke snížené průhlednosti. Rohovka se stává opaleskní. Např. po modifikaci polyHEMA při zvýšeném obsahu vody se objeví výše zmíněné změny až po 8-10 dnech, což dokumentuje lepší biologickou toleranci. I ostatní degenerativní změny s částečně alkalizovanou rohovkou, se objeví až o 5 dnů později. Modifikované čočky též nepřispívají k nežádoucímu cévnatění rohovky, které je jinak spojováno s dlouhodobým nošením (21 dnů). Nevýhodou těchto kontaktních čoček je nedostatek mechanické stability, jako všech materiálů s vysokým obsahem vody. Slibné terapeutické čočky by mohly obsahovat kovalentně připojené absorbenty na ochranu proti UV záření, či kovalentně připojené světelné stabilizátory pro léčení poškozeného oka světlem. Navázané látky se chovají jako scavengery volných radikálů (33).

Dva hlavní výrobní procesy čoček z polyHEMA jsou představovány metodami spin casting a metodou soustružení z hydroxygelu (23). První metoda je mnohem levnější avšak s jistou mírou odpadu čoček. Druhá produkuje vysoce kvalitní čočky, které přímo pasují do pacientova oka. Optická mohutnost plus dioptrická síla během první metody závisí na rychlosti rotace a tvaru vzoru. Ostatní metody výroby nenašly uplatnění.

Intraokulární čočky.

Katarakta představuje onemocnění seniorů. Může být léčena resekcí neprůhledné čočky. Vhodnou metodou léčby je implantace intraokulární čočky do zadní oční komory. Implantace může předejít častým komplikacím spojených s implantací čočky do přední oční komory. (např. v USA se předpokládá roční použití intraokulárních čoček na více než milión a jejich míra neúspěchu se pohybuje okolo 1%). První měkká intraokulární kontaktní čočka z polyHEMA (37,167) byla použita Epsteinem (46) v roce 1977. Posléze bylo provedeno několik úspěšných operací pomocí Barrettovy (11) čočky, která je komerčně dostupná pod názvem Iogel. Výhody intraokulárních čoček z polyHEMA: flexibilita, hydrofilie, malý operační zákrok, nízká traumatizace tkáně během operace a snadná sterilizace, jsou neodiskutovatelné. Nicméně se stále používají čočky původního materiálu – poly (methyl) methakrylátu (4). Lze shrnout, že v současnosti se testuje alkalicky hydrolyzovaná polyHEMA s vysokým stupněm biokompatibility, a proto se do budoucnosti zdá být pro dané účely vhodná (140).

Ostatní náhrady.

Odtržená retina může být připojena k podkladové tkáni, tedy zdroji výživy, pomocí procedury sklerálního bucklingu. Normálně je používán materiál, který vede k jizvení skléry (silikon). Mohla by se využít polyHEMA, pro své již dříve zmíněné vhodné vlastnosti (28). Dále byla už použita v keratorefraktivní chirurgii (97) jako intrastromální kornea. Je-li zpracována v dehydratovaném stavu, lze ji doporučit jako náhrada sklivce, kdy po operaci implantát nabobtná, čímž vyplní vlastní dutinu (168).

## Rekonstrukce

### Prsní implantáty.

První kosmetická operace na žádost ženy pro nežádoucí velikost prsů pomocí implantátu z makroporézní polyHEMA, která byla vytvořena z monomerové směsi (70% voda), proběhla už v roce 1965. Původní výsledky byly velmi dobré (34). PolyHEMA měla potenciální výhody oproti alternativním materiálům. Na rozdíl od těchto hydrofóbních materiálů nepředstavuje bariéru pro přenos tělních tekutin z okolních tkání. Komplikace typu zánětu nastaly později. Zároveň se ale ukázalo, že implantáty jsou nepřírodně tuhé. Tyto těžkosti byly spojeny s vysokou kalcifikací makroporézního implantátu (146). Lepší výsledky byly při použití homogenních implantátů, s minimální kalcifikací. Původní hypotéza, založená na předpokladu, že pórovitý implantát vrostle do organismu a následně tkáňové tekutiny budou difundovat skrz volně, se zdá být nesprávná. I když někteří chirurgové mají výhrady k použití polyHEMA jako dlouhodobého implantátu, po mastektomii pro malignitu, premalignitu i benigní léze, je doporučován nový typ protézy – polyHEMA s jádrem z porézní polyHEMA, která je obalena homogenním gelem (157). Obě tyto vrstvy jsou pevně spojené a nedochází ani k (žádoucímu) vrůstání, ani ke kalcifikaci jádra. Formuje se pouze malá vláknitá kapsule, ve které se materiál chová inertně a je volně umístěn bez jakéhokoliv napojení k okolní tkáni. Toto bylo potvrzeno jak klasickým rentgenem tak ultrasonografickým vyšetřením i po reoperaci implantátu. Ani po letech materiál nezmění své umístění v organismu jako v případě silikonových protéz, které jsou jinak favorizované pro svoji měkkost a poddajnost. Navíc houbovitě vnitřní jádro může být saturováno např. protinádorovými léčivy, které následně pomalu difundují do okolní tkáně.



Náhrady kostní tkáně.

Běžně představuje kalcifikace v implantátu měkké tkáně nežádoucí efekt, nicméně je naopak vhodná pro jiné použití, např. požaduje-li se integrace materiálu do tkáně. Makroporézní polyHEMA hydrogel, který kromě kalcifikace podporuje prorůstání kostní tkáně do své matrice a asistuje při léčení kostních defektů. Mechanismus kalcifikace polyHEMA s alkalinem fosfátem napodobuje fyziologické podmínky mineralizace in vivo (53-55). Podobně carboxymethyl polyHEMA funguje jako mineralizační jádro. Ve stomatologii je polyHEMA upřednostňována jako součást zubních cementů. Činidla vázající dentin složené z polyHEMA (triethylenglykol dimethakrylát) byla vytvořena pro zlepšení klinických výsledků (171). Materiály založené na vlastnostech polyHEMA obsahující anorganické prvky byly nabídnuty jako výplně zubních kanálků. Tento materiál, se schopností bobtnat po hydrataci, zajišťuje kompletní výplň zubních dutin a je dobře tolerován okolní tkání (120).

Přidáním polyHEMA k přirozenému polymeru kolagenu, vzniká materiál, který má výhody obou – odolnost vůči štěpení s podporou buněčné adheze k hemostáze, rychlejší kalcifikaci a osifikaci (87,88,139). Proces odbourávání (147) se dá kontrolovat pomocí množství kolagenu( max. 10%), tak aby byla nově se formující vláknitá kapsule co nejmenší. Navíc se tento kompozit dá využít v ortopedii a při růstu buněčných kultur např. fibroblastů.

Ostatní rekonstrukční aplikace.

Homogenní polyHEMA se ukázala být vhodným materiálem pro obličejové rekonstrukce (168). Je zejména užitečný pro modifikace sedlovitého nosu, rekonstrukci malformací spojených s poklesem nosní špičky a skoliózou nosního septa (159). Významné je, že implantát neprodělává v organismu žádnou významnou degradaci ani po 4-10 letech. Pouze je oklopen tenkou vláknitou kapsulí, která je na povrchu kalcifikována.

Vřetenovitě tvarovaný implantát z polyHEMA byl úspěšně použit pro rekonstrukce hlasivek s nedostatečným uzávěrem glottis (84). Implantát po nabobtnání změkne, je dobře uchycen v hlasivkách a později ho opět obklopí tenká kapsule. Jak anatomický tvar hlasivek, tak i uzávěr glottis je tím zlepšen. Po implantaci okraj hlasivek zesílí. Zlepší se tak hlas a hlasový rozsah s fonační časem se prodlouží. Náhrada je mechanicky významně stabilní, tuhá, s vysokou odolností proti prokluzování, což je zde velmi důležité.

Další využití je jako endoprotézy, rekonstrukce hrtanu, stenózy trachey a atrezie (49). Dočasné intralaryngeální protézy -do 1měsíce- jsou vytvářeny na prevenci neprůchodnosti po operacích. Používá se také při léčbě ozény (158). Navíc homogenní plát z polyHEMA našel uplatnění jako obturátor defektů měkkého patra, pokud musí být odstraněno díky malignitě(160) Obturátor zlepšuje pacientovi řeč a schopnost polykat. Jeho trvanlivost se pohybuje v rozmezí od 4 do 10 let. V jiných ORL indikacích se folie polyHEMA vkládá do středouší při tympanoplastických operacích. Přepážka z polyHEMA je využívána jako dočasná podpora při frakturách spodiny očnice nebo jako podpora při poklesu bulbu po frakturách staršího data. Blow-out fraktury po repozici jsou napravovány pomocí 4-5 mm tlustého

plátu, který se položí proti poly(methyl methakrylátovému) plátu s ocelovou pružinou, ležící ve fundu maxillárního sinu, kterým je vkládána.

Mezi aplikace patří například i penilní rekonstrukce, podpora rekonstrukcí močovodů, léčba inkontinence, materiály pro chirurgii, pro rekonstrukce epitelu kloubních jamek pro snížení třecí síly. Umělá chrupavka s podobnými vlastnostmi jako „přírodní“, je vytvářena pomocí kultivace prasečích chondrocytů v substrátu s polyHEMA (47). Potenciálně může být využívána pro rekonstrukci kloubů, nápravě kostních defektů. Bylo vyzkoušeno mnoho vaskulárních stěpů s polyHEMA (29,50,104), avšak nezískaly výrazného klinického uplatnění. S cílem pomoci paraplegikům paralyzovaných po nehodách byl sledován vrůst buněčných a spinálních tkání krys do kompozitu polyHEMA (151). Zatímco samotná tkáň nevrůstá do samostatné HEMA, implantát s kolagenem je dobře integrován a tvarován organismem už po 2-3 měsících. Syntetický hydrogel formuje mechanickou podporu v živé tkáni, kolagen umožňuje mezibuněčné interakce a tím regeneraci mozkové tkáně(170).

Sférické částice homogenní polyHEMA v rozsahu 500 –100 mikrometrů byly používány jako výplň frontálních sinů po radikálních operacích (158).

### Arteficiální embolie

Většina medicínských aplikací polyHEMA vyžaduje tromborezistenci materiálu v lidském organismu. Nicméně přesný opak je pravdou v případě endovaskulární embolizace za pomoci makroporézních částic polyHEMA. (cylindrického či sférického tvaru). Po implantaci se krevní proteiny vstřebají, trombocyty agregují a vzniká trombus. Zároveň se neobjeví zánětlivá reakce. Trombus je krok za krokem nahrazován pojivovou tkání prorůstající skrz

póry, je pevně uchycen v krevním řečišti. I když se materiál nepatrně vstřebává, částečně zorganizuje, rekanalizace, která je tak typická pro jiné materiály, nenastane. Embolizace umožňuje uzavřít cíleně přívod krve k patologickým oblastem nejen na periférii ale také v centrálních regionech. Velikost částic se vybírá podle velikosti embolizovaných ložisek. Pokud se mezi nimi objeví velmi malé částice, mohou se dostat do nežádoucího regionu. Velké částice naopak mohou ucpat katétr, kterým jsou implantovány. Kulovité částice jsou častěji používány pro uzávěry malých průměrů do 1 mm, válcovité k embolizaci řečišť s vyšším průměrem. Výhodou kulovitých částic je snadná manipulace a možnost implantace kamkoliv do krevního systému pomocí katétru. Jako vhodný embolizační materiál, který se vysráží při kontaktu s krví, byl vyvinut ethanolový roztok lineární polyHEMA. Před každou implantací je nutná angiografie pro topografii řečiště, která umožní specifikovat průměr cév a určit vhodnou pozici katétru. Je vhodné používat RTG kontrastní polyHEMA látku pro snadnější monitoraci pohybu a chování embolu pomocí RTG, aniž zatěžujeme pacienta opakovanou angiografií. Na rozdíl od patologické embolie, představuje umělá embolie možnost uzavřít žádanou oblast. Nachází uplatnění při léčbě maligních i benigních tumorů, při řešení vnitřních krvácení, při ošetřování chronického zánětu pankreatu, selhání jater a sleziny u dětí. Cílená embolizace je vhodná jako metoda omezení krevního zásobení před terapií malignit v rámci předoperační přípravy, díky které jsou umožněny chirurgické zákroky i u některých inoperabilních tumorů, dříve považované za léčebně nemožné. Další výhodou je výrazně snížené peroperační krvácení a omezení následných tranfúzí krve. Embolie je využívána pro zamezení různých nitroorganových krvácení z gastrointestinálního traktu, plic, renálních a gynekologických oblastí i hemofilie. Pro okamžité zvládnutí rozsáhlých vnitřních krvácení je vytvořen polyHEMA embolus se zvýšenými homeostatickými vlastnostmi. Tyto částice obsahují chemicky vázaný trombin nebo syntetická hemostatická činidla.

Embolie pomocí derivátů polyHEMA s ionicky vazaným metotrexátem jsou slibné při léčbě zhoubných nádorů. V takovém případě dané částice zajišťují zároveň dvě funkce - zastavují přívod krve k nádoru, zamezují výživě a navíc uvolňují žádoucí protinádorová léčiva. Jedná se o tzv. chemoembolizaci používou k topické chemoterapii (5-FU, doxorubicin) např. při karcinomu jater (73).

## Popáleniny

Vývoj materiálů vhodných pro léčbu popálenin, granulačních tkání, dermatitid, ulcerací, puchýřů, herpesu a ostatních kožních defektů, je v současnosti předmětem obrovského komerčního zájmu. Vhodné materiály pro překrytí popálenin by měly splňovat několik požadavků. Měly by být pružné, silné, odolné proti tahu, neantigenní, propustné pro vodní páru a metabolity, přičemž by měly bezpečně krýt zranění, zamezit bakteriální infekci a nežádoucí kolonizaci kůže. Jeden z nejvíce studovaných materiálů může být zformován přímo na postiženém místě z práškového polyHEMA a polyethylenglykolu, který se rozpustí v polyHEMA a v průběhu 30 min vytvoří nasycený roztok. Názory na používaný materiál se liší. Na jedné straně se tvrdí, že je polyHEMA špatně aplikovatelný, díky nedostatečné přilnavosti k ráně, zejména je-li vlhká, a také protože snadno praská a zároveň není možné po aplikaci vizuálně monitorovat zranění (163). Na druhé straně jiní autoři (76) tvrdí, že jeho aplikace je snadná a bezbolestná, samotná snižuje bolest, úprava je průhledná, materiál je flexibilní, i když tažná síla je relativně malá. Protože je permeabilní, může být napuštěn antibiotickými činidly a zamezovat tak možné infekci. Při použití polyethylenglykolu se zformuje tenký plát polyHEMA s dobrou přilnavostí ke kůži. PolyHEMA se užívá také jako překrytí míst donorů kožních štěpů., které se odstraní po 12 dnech (28). Jiné další slibné překrytí je list průhledné

polyHEMA/polybutadien s dobrými mechanickými vlastnostmi, dobrou permeabilitou pro kyslík, předpřipravený v bovinním seru, na myších fibroblastech pro kultivaci vlastních keratinocytů pacienta. Tato metoda se nepoužívá jenom pro léčení popálenin ale také pro zvládání diabetických ulcerací (41).

## Nosiče léků

Stále ještě nejběžnější způsob dodávání léku do organismu je pomocí bolusu léku ve formě tablety či injekční podobě. Udržování koncentrace v krvi nad minimální účinnou koncentrací, ale zároveň pod toxickou dávkou, je obtížné. Proto jsou studovány nové systémy, které buď dodávají léky pouze do cílové oblasti, anebo ji uvolňují kontrolovaně dlouhodobě a pokud možno konstantně, a tím zachovávají optimální koncentraci léku v krvi. Takovýto systém by mohl být připraven polymerizací monomerové směsi obsahující rozpuštěnou látku. Druhou možností je napuštění roztoku léky do předpřipraveného polymeru – hydrogelu, příp. chemicky vázat lék v polymeru. Míra transportu léku k cílovému orgánu či míra uvolňování léku, může být kontrolována tvarem polymerové matrice, množstvím léku v ní rozpuštěné nebo využitím fyzikálněchemických vlastností polymerového základu (např. hydrofilie, hydrofobie, hustota křížných vazeb). Míra difúze léku z nabobtnalého polymeru může být také regulována obsahem vody v polymeru a mírou bobtnání. Použití hydrogelu polyHEMA pro systémy kontrolovaného dodávání léčiv si získaly velkou míru pozornosti (133). Dodnes byly tyto polymery studovány jako podpora antitrombogenních, protinádorových léčiv, antibiotik, antikoncepčních pilulek, hormonů, enzymů protilátek, kortikosteroidů, prokainamidu, polypeptidů (118) a kyseliny salicylové (128). Např. uvolňování růstových hormonů se dá kontrolovat složením rozpustného poly(N-vinylpyrrolidin-co-HEMA) (24), který je vstřebatelný. Tento materiál byl úspěšně použit pro regeneraci n. ischiadicus



u krys (130). Stejný kopolymer by mohl být použit k uvolňování imunosupresiva cyclosporinu. In vitro byla pozorována zvýšená resorpce při zvyšování koncentrace N-vinylpyrrolidinu. Implantát z polyHEMA obsahující hydrokortizon uvolňuje tento steroid několik dní (5), naopak membrána z polyHEMA obsahuje progesteronový roztok v silikonovém oleji uvolňuje tento hormon konstantně během dvou měsíců. Testosteron byl uvolňován z matrice polyHEMA (radiční polymerizací jeho roztoku HEMA) až po dobu několika let, která byla implantována do organismu experimentálního zvířete (173)

Ostatní využití polyHEMA: kompozity byly zkoušené jako nosiči fluoridu běžně užívaného pro prevenci zubního kazu (172). Dlouhodobá alespoň 6ti měsíční ochrana zubů byla dosažena pomocí kopolymeru HEMA-methyl methakrylátu obsahujícím enkapsulovaný fluorid.

Dále byl zkoušen navázaný na poly (methylmethakrylát-Co-HEMA) protizánětlivý ibuprofen s kontrolovaným uvolňováním během 16 dnů . Může se využít v ortopedii, stomatologii a při regeneraci kostí. Transdermální využití nitroglycerinu (150) – zvýšená propustnost byla pozorována s kopolymerem HEMA s menším obsahem methylmethakrylátu a ethylen dimethakrylátu. Propustnost nitroglycerinu může být zvýšena přidáním ethanolu (66). Obecně se využívá toho, že polyethylenglykol je termodynamicky dobrým rozpouštědlem pro hydrofóbní látky, i když sám neprostupuje kůži.

Kožní náplasti poly (HEMA-CO-2-morfolinoethyl methakrylát nebo poly (HEMA-CO-N-isopropyl-3-methylen-2-pyrrolidin) jsou výhodné, protože do nich může být vpraveno větší množství léku v porovnání s časově náročným vstřebáváním lékového roztoku do hydrogelu (143). Hydrofilní kopolymer HEMA, stejně jako výše zmíněné příklady či kopolymer s 2-(2-methoxyethoxy)ethylen methakrylát se používají při přípravě tablet pro



kontrolované dávkování léků do gastrointestinálního traktu, např. prostaglandin F2alfa. Díky přítomnosti azo sloučenin a azo polymerů, mohou být degradovány střevními bakteriemi (153). Syntetické hydrogely našly možné uplatnění pro distribuci léku jako je polymyxin B, alfa- efedrin, pilokarpin a antibiotik v oftalmologii. Při srovnání s přímou aplikací léku do oka, terapeutický efekt těchto látek byl prodloužený při uvolňování z měkké kontaktní čočky. Byly použity např. polyHEMA kontaktní čočky s pilokarpinem při léčbě glaukomu (134).

### Enkapsulace buněk

Nový systém kontrolovaného dávkování léčiv tzv. buněčná terapie, je založena na mikroenkapsulaci zárodečných buněk nebo buněk získaných pomocí genetického inženýrství, které produkují životně důležité látky. Buňky jsou transplantovány do lidského těla a zároveň izolovány od imunitního systému selektivně propustnou stěnou kapsule. Propustnost membrány musí umožňovat dostatečný přísun molekul s nízkou molekulární hmotností (kyslík, glukóza, ionty, aminokyseliny atd). Důležité pro přežití a funkčnost enkapsulovaných buněk je, že zároveň musí umožňovat uvolňování produkovaných metabolitů.

Mikrokapsule s buňkami pankreatické tkáně - Langerhansovými ostrůvky jsou určeny pro diabetiky. Tyto implantáty reagují na změny koncentrace glukózy v krvi sekrecí inzulínu, který vyrovnává glykémii (129). Byla zkoušena u mladých krys před vlastní implantací buněk produkujících dopamin do CNS jejich enkapsulace semipermeabilní poly(HEMA-CO-ethyl methakrylát). Tak se stávají xenogenní buňky produkující dopamin odolné proti působení protilátek při léčbě Parkinsonovy choroby, Huntingtonovy chorey a Alzheimerovy choroby. Poly (HEMA – Co- methylmethakrylát) s velkým obsahem vody, a tedy i s dobrou propustností, byl vyvinut pro

mikroenkapsulizaci erytrocytů. Hydrogelové trubice vyrobené ze stejného materiálu byly úspěšně použity v CNS. Jejich mechanické vlastnosti jsou podobné nervovým vláknům míchy, ve které mohou být implantovány a mohou vytvářet tak prostředí usnadňující in vivo axonální regeneraci po úrazu. Jiní autoři se zajímají o studie mikroenkapsulizace savčích buněk při hledání technologií kultivace buněčných a tkáňových kultur, výzkumu nádorů nebo při transplantaci orgánu (144).

### Hemoperfúze a hemodialýza

Hemoperfúze se stala užitečnou léčebnou metodou v terapii život ohrožujících otrav, při náhlých selháních jater, urémii, porfýrii a některých dalších jaterních chorob (75). Je založena na vychytávání toxických látek z krve pomocí adsorbentu (aktivní uhlí, syntetické pryskyřice) uložené v hemoperfúzní kapsli. Při použití běžného adsorbentu je častým vedlejším nežádoucím účinkem deplece trombocytů, snížení koncentrace fibrinogenu a embolizace do periferie menšími částicemi (100) Při opláštění adsorbentu polyHEMA je zajištěna hemokompatibilita a nedochází k uvolnění žádných částic, které by později při průtoku krve kapslí ucply vlastní přístroj. Toto opláštění se chová jako tenká membrána, snižuje míru adsorbce a do jisté míry velikost adsorbovaných částic. PolyHEMA –poly(tetramethylen glykol) – polyHEMA blok kopolymer byl studován jako materiál k enkapsulaci při adsorbci za pomoci umělé ledviny. Kopolymer měl dobrou hemokompatibilitu a perfektní permeabilitu pro odstranění jedovatých močových substancí (91). Celulóza spojená s HEMA může být také vhodná jako hemodialyzační membrána (111).

## Diagnostika

Polymerové částice se často využívají jako součást imunochemické diagnostiky (112), která nachází využití v kvantitativní analýze antigenů, protilátek a při určování hladiny léku i drog v krvi, při klinické diagnostice revmatismu, gravidity, virových a bakteriálních onemocnění, pro zjišťování krevně tkáňové kompatibility (113,114). Tradičně používané činidlo na bázi mikročástic polystyrenu představuje mnoho problémů jako je koloidální nestabilita, nespecifikované aglutinace senzibilizovaných částic, které mohou vyústit v chybnou diagnostiku. Obě tyto nevýhody jsou odstraněny pokud je povrch částice pokryt polyHEMA (149).

## 11.2.2 TESTOVÁNÍ FYZIKÁLNÍCH VLASTNOSTÍ MATERIÁLU

Fyzikální vlastnosti byly testovány spolu s odborníky Ústavu teoretické a aplikované mechaniky Akademie věd ( AV ČR ) podle následujícího schématu.

Mechanické charakteristiky materiálu se zjišťují:

1. zkouškami statickými: a) zkouška tahem

b) zkouška tlakem

c) zkouška smykem

d) zkouška ohybem

e) zkouška tvrdosti

2. zkouškami dynamickými : a) zkouška rázová

b) zkouška na únavu

Při statických zkouškách se hodnotí chování materiálu za působení stálých nebo pomalu a spojitě se měnících sil. Plánovali jsme testování vlastního materiálu, definitivního stentu a srovnání vlastností s komerčně připravovanými silikonovými materiály.

### 11.2.2.1. STATICKÁ ZKOUŠKA TAHEM

Statická zkouška tahem se řídí normou ISO 527. Zkušební těleso má nejčastěji tvar kruhového či čtyřhranného průřezu a ve zkušebním stroji se deformuje předepsanou rychlostí, a to zpravidla až do porušení.

Přitom se zaznamenává závislost osově tahové síly  $F$  na prodloužení měřené části tyče  $\Delta L$ .

### 11.2.2.1.1 Napětí a prodloužení při tahové zkoušce

Účinkem zvyšující se síly  $F$  [N] vyvozené zkušebním strojem se vzorek prodlužuje z původní délky  $L_0$  na délku  $L_1 = L_0 + \Delta L$  ( $\Delta L$  je absolutní prodloužení) a současně se zmenšuje plocha původního průřezu  $S_0$  na okamžitý průřez  $S$ . Ve vzorku vzniká tahové napětí:

$$\sigma = F/S,$$

označované jako skutečné napětí. Poněvadž zjišťování okamžitých průřezů, které se během zatěžování snižují, je velmi komplikované, používá se tzv. smluvní napětí, které je vztaheno na původní průřez  $S_0$ :

$$R = F/S_0.$$

Jednotkou síly je N, jednotkou plochy  $\text{mm}^2$ , jednotkou napětí  $1\text{MPa} = 1\text{N}/\text{mm}^2$ .

Poměrné prodloužení  $\varepsilon$  je poměr přírůstku prodloužení  $dL$  k počáteční měřené délce  $L_0$ :

$$d\varepsilon = dL/L_0 \rightarrow \varepsilon = \Delta L/L_0.$$

Jedná se o bezrozměrnou veličinu. Tažnost je poměrné prodloužení vyjádřené v procentech.

### 11.2.2.1.2 Pracovní diagram a diagram $R$ - $\varepsilon$

Pracovní diagram vyjadřuje závislost zatěžující síly  $F$  na absolutním prodloužení tyče  $\Delta L$ . Tento diagram kreslí speciální registrační zařízení trhacího

stroje přímo v průběhu tahové zkoušky. Pracovní diagram  $F-\Delta L$  se přepočítává na diagram  $R-\varepsilon$  (napětí – poměrné prodloužení).

Křivka diagramu  $R-\varepsilon$  může mít mnoho podob odvíjejících se od velké škály materiálů, jež je možno měřit. Nejdůležitějšími částmi a jim příslušejícími charakteristikami jsou obecně první a poslední fáze křivky, čili oblast Hookova zákona a meze pevnosti.

1. fáze křivky – vyznačuje lineární oblast, na které probíhá elastická deformace, tzn. přestane-li na deformované těleso působit vnější síla, nabyde těleso svůj původní tvar. Linearita této oblasti je popsána Hookovým zákonem  $\sigma = E \cdot \varepsilon$ , kde  $E$  je modul pružnosti v tahu či Youngův modul pružnosti. Konec této oblasti se nazývá mez úměrnosti.

mez pevnosti  $R_m$  – jedná se o smluvní hodnotu napětí, která se vypočítá jako podíl maximální zatěžovací síly a původního průřezu vzorku zkušebního materiálu. Nevyjadřuje skutečné napětí v materiálu v okamžiku přetržení. To je mnohem vyšší a nejvyšší hodnoty dosahuje těsně před přetržením, kdy se skutečný průřez vzorku již značně liší od průřezu původního.

$$R_m = F_m / S_0.$$

Houževnatost – je deformační práce v  $J$  vztažená na jednotku objemu deformovaného tělesa, např.  $J/mm^2$ . Graficky ji znázorňuje plocha pod křivkou  $R-\varepsilon$  diagramu.

#### 11.2.2.2. PRINCIPY MĚŘENÍ

Tahová zkouška byla provedena na testovacím stroji INSTRON 4301.

Jedná se o stroj, který je vybaven zařízením určeným pro automatický sběr dat a jejich okamžité zobrazování. Součástí Instronu je také kontrolní konzole, která umožňuje komunikaci mezi uživatelem a počítačovým

vybavením stroje, periferním zařízením poskytujícím možnost tisku, nahrávání a zpracování dat z pokusu. Trhací stroj je také vybaven automatickou kalibrací a vyvažovacím zařízením.

Zatěžovací síla je v rozsahu 0 až 5kN, přičemž upínací čelisti se pohybují rychlostí 0,5 až 500mm/min. Napětí je měřeno s přesností spadající do skupiny BS 3846 stupně C a D, poloha je měřena s přesností  $\pm 0.1\text{mm}$  a vratná poloha  $\pm 0.05\text{mm}$ . Příčnick s horními čelistmi se může vzdálit od dolních čelistí až na vzdálenost 970mm, což plně vyhovuje většině vzorků.

K Instronu je připojen počítač, který není součástí trhacího stroje a zaznamenává data v průběhu měření. Jedná se zejména o sílu, posunutí, čas.

Pokusy se dají měřit buď extenzometrem anebo optickou metodou. Tahové zkoušky materiálů určených pro stenty byly měřeny opticky. Na vzorek se udělaly značky, jejichž měnící se poloha během tahové zkoušky byla snímána CCD kamerou napojenou na počítač s programem Lucia, který dané měření nahrával. Pro pozdější vyhodnocování bylo optimální dosáhnout černo-bílého obrazu s minimálním množstvím odstínů šedi.

Po tahové zkoušce se v programu Lucia za pomoci kamery změřila plocha příčného průřezu vzorků. Byla použita CCD kamera Vosskuhler 1300; s rozlišením 1280x1024 pixelů, asynchronní clonou až do 1/1000 sekund, přenos 12,5 obrazu/s, efektivní dynamický mód  $\square 63\text{dB}$ .

Pro vyhodnocení dat bylo nutno stáhnout data z počítače zaznamenávajícího sílu, posun, čas a z počítače uchovávajícího jednotlivé černobílé obrazy z průběhu zkoušky. Z obrazů se vyhodnotily přesné změny polohy v závislosti na čase. Tyto souřadnice, velikosti síly a velikosti příčných průřezů vytvořily vstupní množinu dat do programu, který automaticky měření vyhodnotil a jeho výstupem byl graf závislosti napětí na relativním prodloužení.

## 11.2.4 TESTOVÁNÍ BIOLOGICKÝCH VLASTNOSTÍ MATERIÁLU

Testování biologických vlastností jsme prováděli ve dvou hlavních oblastech a to jednak, co se týče inertnosti vůči patogenním i oportunním mikroorganismům, a jednak co se týče schopnosti vyvolávat reakci imunitního systému a tkáňovou reakci.

### 11.2.3.1 MIKROBIOLOGICKÉ

Testování ohledně osídlení materiálu po naočkování kulturami běžných patogenů dýchacích cest a sledování jejich růstu na povrchu. Mikrobiologické testování jsme připravili spolu s odborníky z Ústavu lékařské mikrobiologie UK 2.LF a FNM, kde byly též zkoušky provedeny.

### 11.2.3.2 EXPERIMENT NA ZVÍŘETI

Experiment na zvířeti byl plánován spolu s odborníky z Ústavu fyziologie UK 2.LF, a na tomto pracovišti byly též prováděny.



### 11.2.3.2.1 IN VIVO TKÁŇOVÁ REAKCE

Implantovali jsme plošné částky materiálu polyHEMA cca 1x1,5 cm do podkoží interskapulárně dospělým samcům laboratorních potkanů. Desátý den byl implantát explantován bez kapsuly, třicátý den i s kapsulou, histologicky a histochemicky zpracován a vyhodnocena reakce na implantátu a na kapsule.

### 11.2.3.2.2 IMPLANTACE DO DÝCHACÍCH CEST

V první fázi jsme prováděli experiment na potkanech v druhé fázi na králících.

Plán experimentu byl stanoven následovně:

Zvířata budou rozdělena do 4 skupin :

- sledovaná se stenózou a implantovaným stentem
- první kontrolní - bez stenózy a se stentem,
- druhá kontrolní - se stenózou a bez stentu
- třetí kontrolní - bez intervence.

Plán experimentu: Stenózu průdušnice u experimentálních zvířat sledované a druhé kontrolní způsobíme podvázáním rostoucí průdušnice volným stehem ze vstřebatelného materiálu, aby 40 dnů po podvazu byla experimentální zvířata sledované a první kontrolní skupiny připravena k implantaci. Implantaci stentu lze provést jednak otevřenou technikou – tzn. roztěním stenotické části (u kontrolní skupiny části anatomicky odpovídající), vložením stentu a suturou. Zvířata jsme plánovali zajistit tracheotomií, což se však ze zkušeností jeví obtížné. Alternativou může být endoskopické provedení výkonu. Stenty implantované zvířatům s experimentálně vytvořenou stenózou zaručí dostatečný průsvit dýchacích cest. Klinický stav všech zvířat zařazených do pokusu bude průběžně sledován a verifikován objektivními metodami (celotělovou pletysmografií). 10. a 30. den po implantaci provedeme vyšetření na celotělovém pletysmografu ke změření spirometrických parametrů, odporu plic a hrudníku. Po vyšetření bude polovina zvířat z každé skupiny utracena předávkováním anestetika. Ze sekčního materiálu budou zhotoveny 3 vzorky – uprostřed délky stentu a na jeho horním a dolním okraji. Vzorky budou histologicky a histochemicky zpracovány a vyšetřeny.

#### 11.2.3.2.2.1 PARAMETRY MĚŘENÝCH DECHOVÝCH FUNKCÍ A JEJICH CHARAKTERISTIKA

##### 11.2.3.2.2.1.1 DECHOVÝ VZOR

Velikost minutové ventilace závisí na okamžitých metabolických potřebách organismu. Minutová ventilace ( $V_E$ ) je množství vzduchu které vdechneme za minutu. Je dána součinem dechového objemu ( $V_T$ ) a dechové frekvence ( $f_R$ ). Pro organismus je využitelná pouze ta část ventilace, která se

účastní výměny plynů v plicích – alveolární ventilace (VA) . Velikost VA je ovlivněná při stálé úrovni  $V_E$  kombinací  $V_T$  a  $fR$ , kterou označujeme jako dechový vzor . Při dýchání většími objemy a menší frekvencí je ventilace efektivnější, protože se sníží ventilace mrtvého prostoru (VD). Dalšími hodnotami používanými pro vyjádření dechového vzoru jsou trvání expíria (TE) a trvání inspíria (TI) a trvání dechového cyklu (TT).

Pro grafické znázornění dechového vzoru se používá vyjádření závislosti  $V_T$  na TI nebo TE veličinách na nichž závisí frekvence. Velikost  $V_T$  je přímo úměrná TI při menších objemech, při dýchání vyššími objemy se TI snižuje a závislost je hyperbolická - Eulerova hyperbola. Dalším možným vyjádřením dechového vzoru je Heyův vztah- lineární závislosti minutové ventilace a dechového objemu, jehož výhodou je nezávislost na povaze stimulu ventilace (116).

Dechový vzor je značně ovlivněn anestezií. Inhalační anestezie obvykle snižuje  $V_E$  a zvyšuje frekvenci dýchání . Látky podávané intravenózně nebo intraperitoneálně jako například barbituráty snižují především dechový objem (106 ).

Je prokázáno, že existují mezidruhové rozdíly ve frekvenci dýchání, malá zvířata mají frekvenci mnohem vyšší (laboratorní potkan má klidovou frekvenci asi 90- 100 d/ min). Příčinou může být množství plicních tahových receptorů, hlavně pak poměr rychle a pomalu se adaptujících, jenž je u zvířat dýchajících vyšší frekvenci úměrně větší (35). Dechový objem v přepočtu na tělesnou hmotnost je hodnotou poměrně konstantní (56). Při ventilační odpovědi na protražovanou hypoxii u potkana narůstá ventilace úměrně velikosti hypoxického stimulu, zvyšuje se frekvence dýchání i dechový objem (161).

## 11.2.3.2.2.2. METODIKY MĚŘENÍ

### 11.2.3.2.2.2.1 LABORATORNÍ ZVÍŘATA

V pokusech byli použiti samci laboratorního potkana kmene Wistar z konvenčního chovu. Jejich hmotnost se pohybovala v rozmezí od 200 g do 450 g . Během pokusů byla ošetřována běžným způsobem ve zvěřinci Ústavu fyziologie 2.LF UK .

### 11.2.3.2.2.2.2 ANESTEZIE

V pokusech (operace, měření) jsme použili intraperitoneální celkovou anestezii thiopentalem v dávce 40 mg/kg. Úroveň anestezie byla kontrolována reakcí na bolestivý podnět a sledováním pravidelnosti dýchání. Pro podvázání průdušnice jsme použili inhalační anestezii Diethyletherem.

### 11.2.3.2.2.2.3 USMRCENÍ ZVÍŘAT

Experimentální zvířata byla usmrcena předávkováním anestetika

### 11.2.3.2.2.2.4 STANOVENÍ VENTILAČNÍCH HODNOT

#### 11.2.3.2.2.2.4.1 PLETYZMOGRAFIE

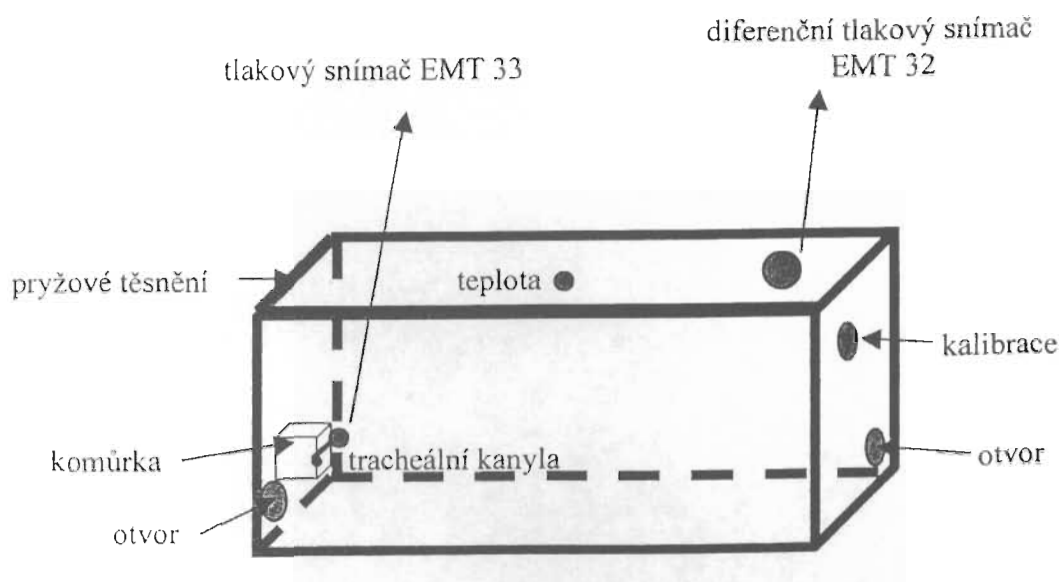
Pro stanovení ventilačních hodnot minutové ventilace ( $V_E$ ), dechového objemu ( $V_T$ ), frekvence dýchání ( $f_r$ ) a funkční reziduální kapacity (FRC) bylo použito celotělového pletyzmografu. Principem pletyzmografického měření je registrace tlakových změn vyvolaných dechovými exkurzemi při konstantním objemu vzduchu v pletyzmografu. Pro měření jsme používali

plexisklový pletyzmograf. Ve stěnách pletyzmografu jsou vyvrtány otvory. Do těchto otvorů vedou čidla pro snímání tlaku (diferenční tlakový snímač Elema- Schonander EMT 32) a teploty vzduchu uvnitř pletyzmografu. Tracheální tlak je snímán tlakovým snímačem (Elema - Schonander EMT 33) napojeným stěnou pletyzmografu kolmo na otvor spojující ústí tracheální kanyly se zevním prostředím. Další otvor slouží pro kalibraci ( napojen na injekční stříkačku o objemu 1 ml). Zbylými otvory může proudit vzduch (bdělá zvířata v pletyzmografu), nebo jsou uzavřeny gumovými zátkami (pletyzmografie pro anestetizovaná zvířata). Po horním obvodu je pletyzmograf polepen pryžovým těsněním na něž se přikládá víko s úchytkami. Ve víku je otvor jímž lze vyvést například kabely od elektrod pro snímání EMG záznamu.

#### 11.2.3.2.2.4.2 PLETYZMOGRAFIE ANESTEZOVANÝCH ZVÍŘAT

Ventilační hodnoty jsme u anestetizovaných potkanů měřili pletyzmografickou metodou (38), upravenou pro malá laboratorní zvířata (115). Zvíře bylo anestetizováno Thiopentalem, zaintubováno a tracheální kanyla připojena k zevnímu okruhu, jímž byla přiváděna plynná směs. Koncentraci kyslíku jsme měřili ve směsi přiváděné okruhem ke komůrce pletyzmografu do níž ústila tracheální kanyla ( Obr. 2)

Obr. 2 Schéma pletyzmografu



#### 11.2.3.2.2.4.3 INTUBACE

Zvířata byla intubována pomocí speciálně vyrobeného laryngoskopu pro laboratorní potkany. Po vytažení jazyka se laryngoskop zavede úzkou nálevkovitou částí do dutiny ústní a zafixuje za horní řezáky zvířete. Po prosvícení krční oblasti lampou je při dýchání vidět hlasivky a štěrbinu jejíž průsvit se mění současně s dýchacími pohyby. Kanylu zavádíme během nádechu zvířete. Jako tracheální kanyly jsme používali konvenční polyethylenové intubační rourky o průměru 1,7 mm ( vnitřní )/ 2,3 mm ( vnější ).

#### 11.2.3.2.2.2.4.4 STANOVENÍ DECHOVÉHO OBJEMU A FREKVENCE DÝCHÁNÍ

Tlakové změny v pletyzmografu byly snímány diferenčním tlakovým snímačem Elema- Schonander EMT 32. Kalibrace dechového objemu se prováděla instalací 1 ml vzduchu u anestetizovaných a 0,5 ml u bdělých zvířat do uzavřeného pletyzmografu těsně před nádechem zvířete. Aktuální záznam dechového objemu (ml) a frekvenci dýchání (c/min) jsme sledovali na obrazovce počítače. Pomocí programu ukládajícího záznam sledovaných veličin jsme v 5 nebo 10 minutových intervalech (podle schématu pokusu) hodnoty ukládali do paměti. Pro každý časový úsek jsme zaznamenávali vždy tři po sobě jdoucí obrazovky. V prohlížečím programu jsme pak vybrali vždy šest po sobě následujících dechových cyklů, z nichž byla vypočítávána hodnota minutové ventilace (ml/min), dechového objemu a frekvence dýchání. Výsledná hodnota pro daný časový interval je pak průměrem ze tří po sobě následných měření .

#### 11.2.3.2.2.2.4.5 STANOVENÍ HODNOT FUNKČNÍ REZIDUÁLNÍ KAPACITY

Funkční reziduální kapacit plic (FRC) byla měřená ze změn tracheálního tlaku a objemu plic po okluzi tracheální kanyly na konci výdechu. Podle záznamu křivky dýchání na počítačové obrazovce jsme uzavřeli otvor v pletyzmografu vedoucí od tracheální kanyly k zevnímu okruhu na konci výdechu. Pokus zvířete o následující vdech proti uzavřeným dýchacím cestám se projeví změnou objemu a poklesem tracheálního tlaku (Ptr). Protože je podle Boyleova - Mariotova zákona součin objemu a tlaku plynu za stálé teploty konstantní, můžeme ze změny tlaku a objemu vypočítat

FRC (ml). Tracheální tlak – Ptr (mmHG) byl snímán tlakovým snímačem Elema-Schonander EMT 33, tlakové změny odpovídající objemovým změnám v pletyzmografu diferenčním tlakovým snímačem Elema-Schonander EMT 32. Hodnoty FRC byly vypočítávány programem podle vzorce:  $FRC = dV (P_B - P_{H_2O} - P_{tr}) / P_{tr}$ . Při výpočtu jsme neodpočítávali hodnotu mrtvého prostoru VD. Hodnotili jsme především změny FRC ( $dFRC$ ), jež velikost VD neovlivní. Tuto metodiku z důvodů intubace bylo možno použít pouze u anestetizovaných zvířat.

#### 11.2.3.2.2.2.4.6 PLYNNÉ SMĚSI

Používali jsme jednak plynné směsi jež jsme si připravovali sami a jednak směsi vyrobené. Plynové bomby dodala firma Lind Technoplyn a.s., Praha.

#### 11.2.3.2.2.2.4.7 VLASTNÍ SMĚSI

Používali jsme směs vzduchu ze vzduchového čerpadla a dusíku z plynové bomby. Dusík byl do okruhu přiváděn systémem dvou redukčních ventilů s průtokoměrem (firma MZ liberec s.r.o.) Potřebnou hodnotu  $FiO_2$  jsme nastavili podle analyzátoru kyslíku (Jaeger). Průtok jsme měřili rotametrem (rozsah 0,2- 10 l/min.).

#### 11.2.3.2.2.2.5 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ

Pro statistické zpracování výsledků byla použita ANOVA, nepárový t-test a párový t-test. Hladina významnosti  $p < 0,05$  byla považována za signifikantní. Výsledky jsou uváděny jako průměrné hodnoty  $\pm$  SEM.



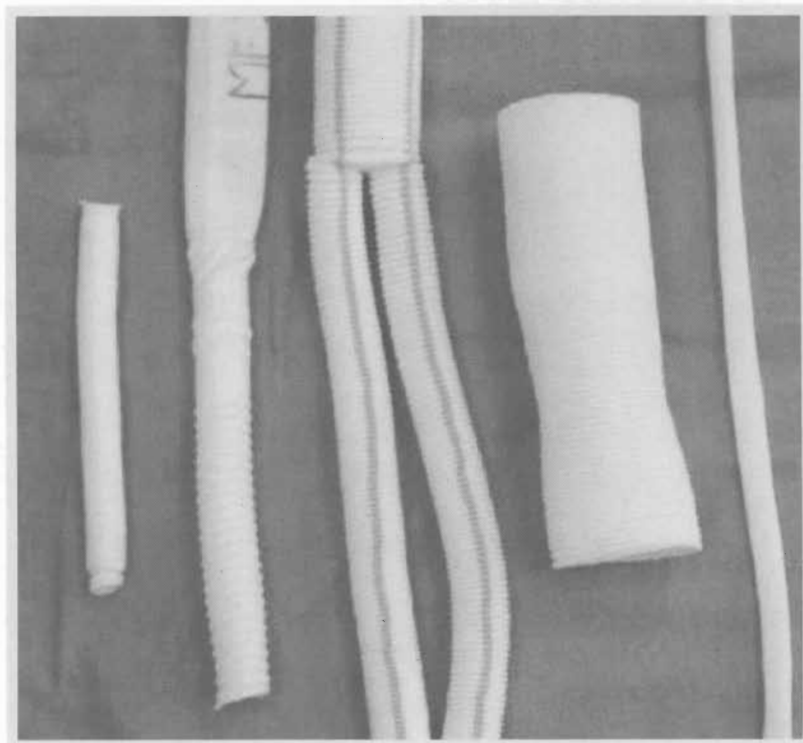
## 12. VÝSLEDKY

### 12.1. CHEMICKÉ SLOŽENÍ MATERIÁLU

Při prvotních zkouškách jsme zjistili, že trubicovitý stent vyrobený pouze z poly - HEMA nemá patřičnou stabilitu. Domnívali jsme se, že vytvořením kopolymeru s obsahem 2-hydroxyethylmetakrylátu (HEMA), kys. methakrylové (MA) eventuelně její sodnou či draselnou solí, a methylmetakrylátu (MMA) dojde ke zpevnění. Ale i malé snížení obsahu HEMA nahrazeného MMA způsobuje snížení biokompatibility (74 ). Závěrem bylo stanoveno, že stenty budou vyrobeny z čisté poly-HEMA pro zachování maximální biokompatibility. Hledali jsme tedy východisko jak udělat stent z čisté poly HEMA stabilnější. Nejvýhodnější nám připadlo povléct stabilní korpus poly-HEMou. Vlastnosti korpusu musely splňovat nároky ohledně biokompatibility. Vyloučili jsme tedy všechny nebiokompatibilní látky, ale i metalické korpusy, jež nejsou v současnosti již doporučovány. S přihlédnutím k ojedinělé práci Voldřicha a Fajstavra z konce sedmdesátých let, kdy implantovali stenty z podobných materiálů, jimiž byly povlečeny cévní protézy, jsme zvolili obdobný postup (49, 158-160). Navázali jsme spolupráci s Výzkumným ústavem pletářským Brno (VÚP), který je předním odborníkem ve výrobě cévních protéz.

Cévní protézy se odlišují tvarem, vrapováním, hustotou a strukturou tkaní vláken. Cévní protézy z hedvábí polyethyltereftalátového typu (dakron); vyráběné VÚP jsou biokompatibilní a běžně klinicky využívány. Z dostupných typů cévních protéz byla dle fyzikálních vlastností (pevnost, pružnost, nasákavost polymerního materiálu) vybrána nejvhodnější jako korpus -Dakronová cévní protéza vrapovaná (Ra). Rozměry protéz musely být přizpůsobeny velikosti dýchací trubice experimentálních zvířat (potkanů), na nichž jsme plánovali testování in vivo. Problémem byla tloušťka vlastního korpusu (minimálně 0.9 mm), který musel být oboustranně potažen biopolymerem.

Obr.3 Různé typy povlékaných cévních protéz



## 12.2 STANOVENÍ VÝROBNÍHO PROCESU STENTU

Výrobní proces byl stanoven spojením standardně používaného polymeračního procesu aplikovaným potažením na korpus z vybrané cévní protézy.

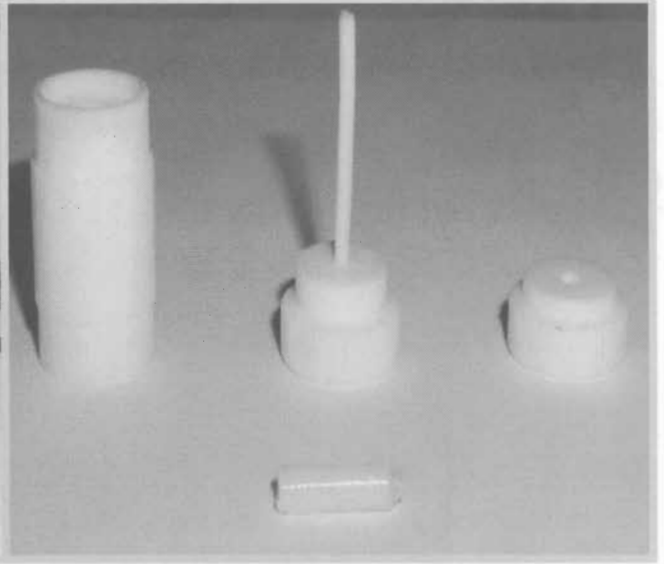
Vybraná cévní protéza bude zcela potažena hydrogelem s obsahem 2-hydroxyethylmetakrylátu (HEMA). Povlečení korpusů bude provedeno následujícím způsobem: cévní protézy budou ponořeny do monomerní směsi HEMA s fotoiniciátorem (DAR 1173; schválen pro výrobu medicínálních výrobků) a síťovadlem (ethylenglykol-1,2-dimethakrylát) a na dobu cca pěti minut osvíceny tvrdým UV zářením na zařízení vyvinutém v laboratoři ÚMCH AVČR. Celý postup bude opakován tolikrát, kolikrát bude zapotřebí k dosažení hladkého povrchu stentu. Výrobek bude poté vypírán ethanolem, vodou a fyziologickým roztokem; uchováván a měřen bude ve fyziologickém roztoku.

Celý výrobní proces je znázorněn na obrázcích 4-7

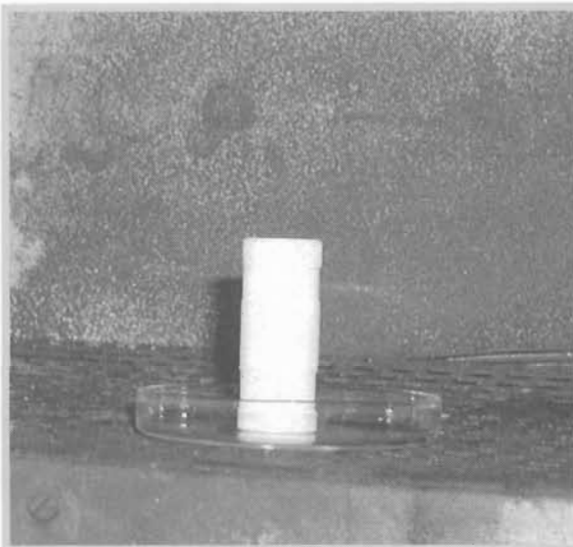
Obr. 4 Pomůcky



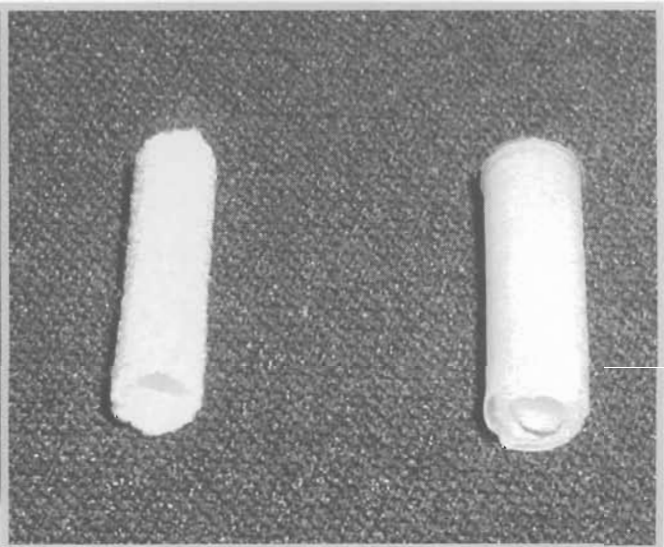
Obr. 5 Dilatátor



Obr. 6 Povlečená Ra protéza



Obr. 7 Stent před polymerací



## 12.3 FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI MATERIÁLU

Testování fyzikálních vlastností jsme prováděli v akreditovaných laboratořích Ústavu teoretické a aplikované mechaniky AV ČR

### 12.3.1 VÝSLEDKY MĚŘENÍ

#### 12.3.1.1 ZKUŠEBNÍ VZORKY

Statickou zkouškou tahem byly zjištěny materiálové charakteristiky tří materiálů:

1. čistý plát polyHEMA, dále jen HEMA
2. trubicovitý stent (charakteristiky byly získány modelováním pomocí počítače)
3. silikon

U těchto vzorků byly zjištěny 2 parametry - Youngův modul pružnosti  $E$  a mez pevnosti  $R_m$ .

Dle normy ČSN EN ISO 527-1 (Stanovení tahových vlastností – základní principy) bylo použito minimálně 5 zkušebních vzorků, u kterých norma doporučuje pro měření použít odlišné rychlosti. Rychlosti se pohybovaly v mezích: 5-15 mm/min u HEMA, 15-35 mm/min pro stent a silikon. Jak udává norma, výsledné hodnoty  $E$ ,  $R_m$  jsou uvedeny na tři desetinná místa. Pro vyhodnocení  $E$ , byla použita metoda, opět vycházející z normy, jež udává vztah pro výpočet  $E$ :

$$E = (\sigma_2 - \sigma_1) / (\varepsilon_2 - \varepsilon_1) \text{ [MPa]}$$

kde  $\varepsilon_2$  odpovídá 25% deformaci

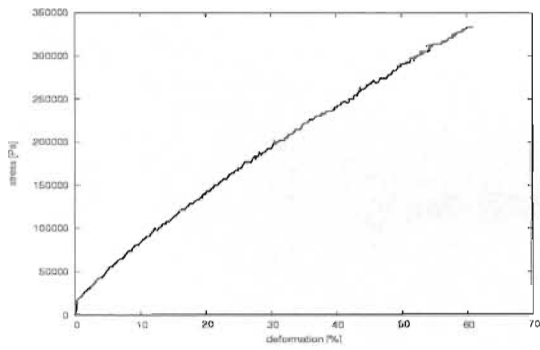
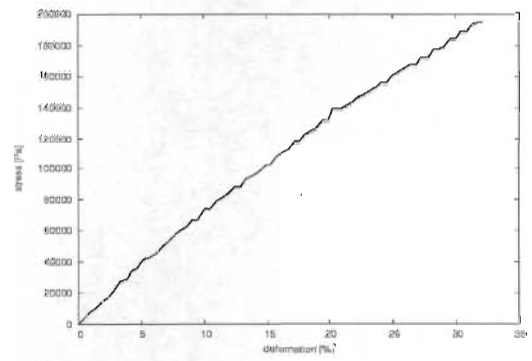
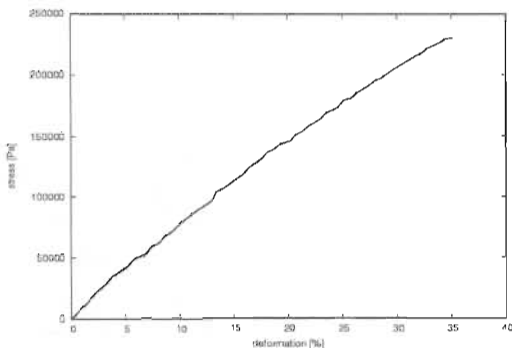
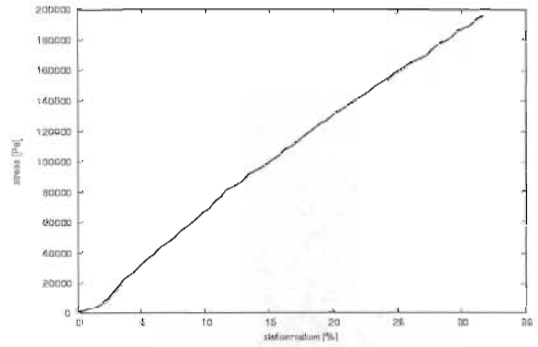
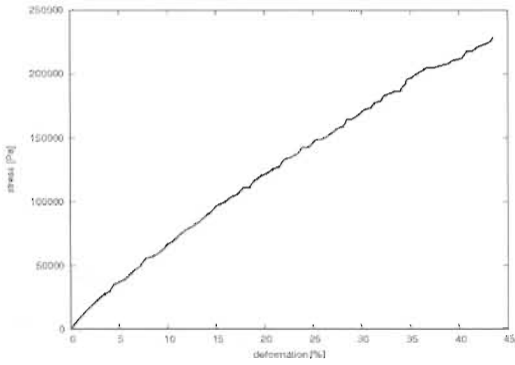
$\varepsilon_1$  odpovídá 5% deformaci

$\sigma_2$  hodnota napětí příslušející  $\varepsilon_2$

$\sigma_1$  hodnota napětí příslušející  $\varepsilon_1$ .

## 12.3.1.2. GRAFICKÁ ZÁVISLOST R-ε AVÝPOČET MODULU PRUŽNOSTI

### 12.3.1.2.1 R-ε GRAFY HEMA – grafy 3-6

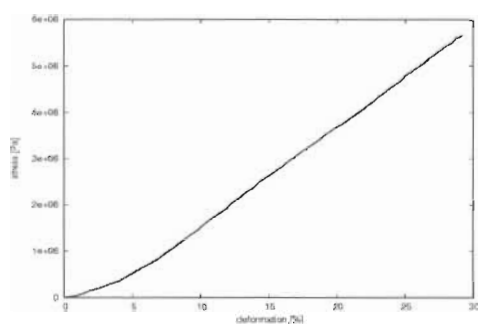
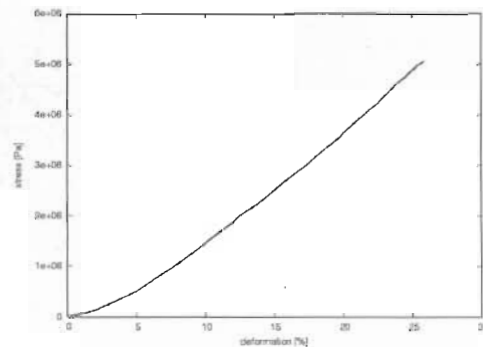
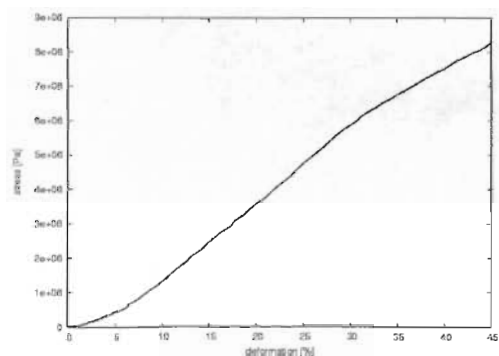
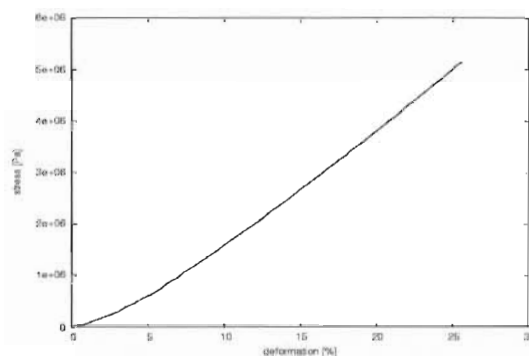
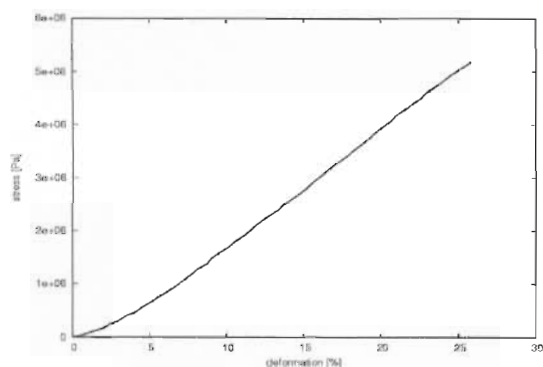


Na grafech je průběh křivky deformace HEMA. Číselné vyjádření a vyhodnocení zobrazuje tabulka 5.

Tabulka 5

HEMA								
	$\sigma_1$	$\sigma_2$	$\Delta\sigma$ [MPa]	$\varepsilon_1$	$\varepsilon_2$	$\Delta\varepsilon$	Yongův modul [MPa]	odchylka [%]
1	39690,72	177966,10	0,1382754	0,05	0,25	0,20	0,6914	12,940
2	33103,45	158620,69	0,1255172	0,05	0,25	0,20	0,6276	2,520
3	36864,41	146186,44	0,1093220	0,05	0,25	0,20	0,5466	10,708
4	40000,00	160000,00	0,1200000	0,05	0,25	0,20	0,6000	1,987
5	50000,00	169047,62	0,1190476	0,05	0,25	0,20	0,5952	2,765
							suma	3,0608
							průměr	0,612

### 12.3.1.2.2 R-ε GRAFY STENT – grafy 7-11

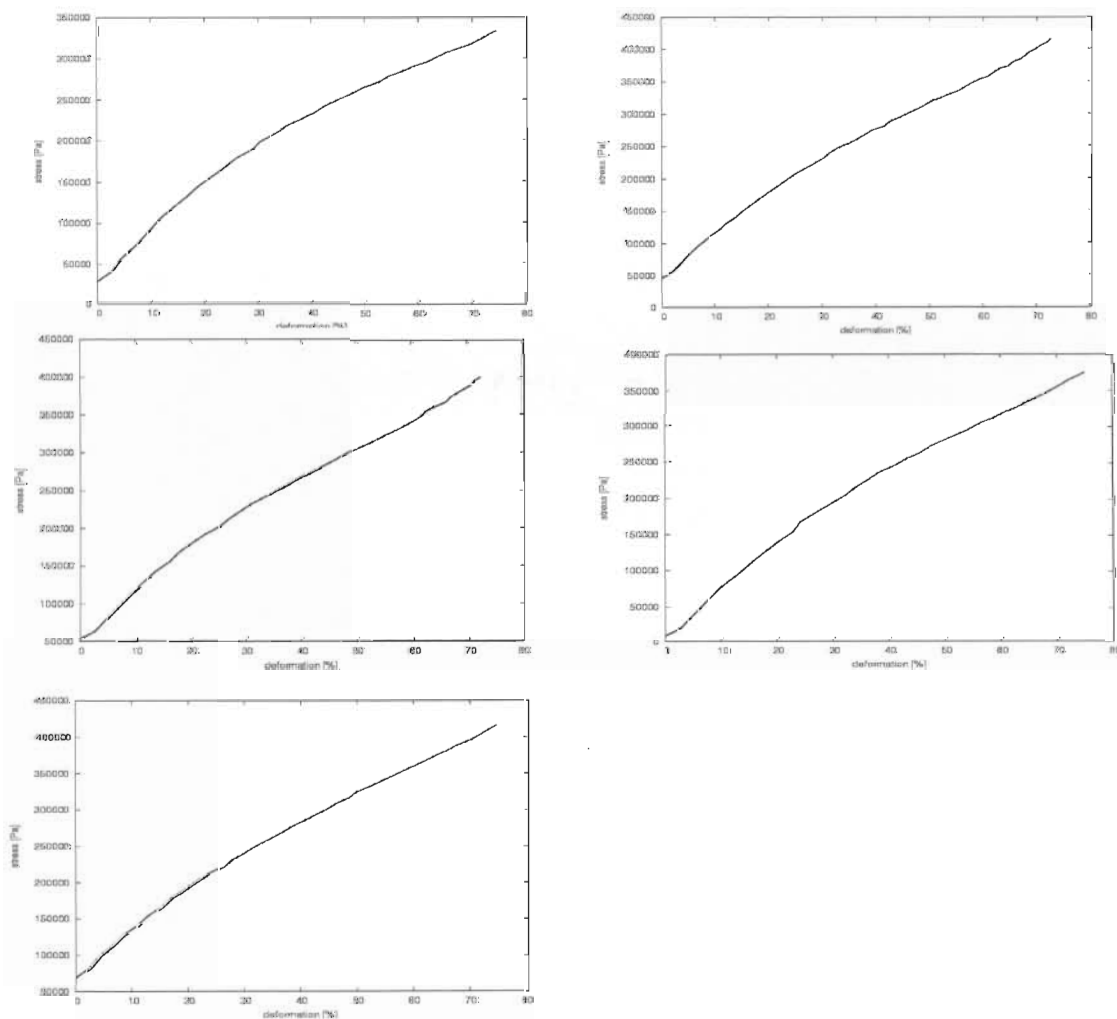


Na grafech je průběh křivky deformace stentu. Číselné vyjádření a vyhodnocení zobrazuje tabulka 6

tabulka 6

STENT									
	$\sigma_1$	$\sigma_2$	$\Delta\sigma$ [MPa]	$\varepsilon_1$	$\varepsilon_2$	$\Delta\varepsilon$	Yongův modul [MPa]	odchylka [%]	
1	622448,98	5000000,00	4,3775510	0,05	0,25	0,20	21,8878	0,224	
2	612244,90	5000000,00	4,3877551	0,05	0,25	0,20	21,9388	0,458	
3	510204,08	4857142,86	4,3469388	0,05	0,25	0,20	21,7347	0,477	
4	500000,00	4811224,49	4,3112245	0,05	0,25	0,20	21,5561	1,295	
5	400000,00	4815384,62	4,4153846	0,05	0,25	0,20	22,0769	1,090	
							suma	109,1943	
							průměr	21,839	

### 12.3.1.2.3 R-ε GRAFY SILIKON – grafy 12-16





Na grafech je průběh křivky deformace silikonu. Číselné vyjádření a vyhodnocení zobrazuje tabulka 7.

tabulka 7

SILIKON								
	$\sigma_1$	$\sigma_2$	$\Delta\sigma$ [MPa]	$\varepsilon_1$	$\varepsilon_2$	$\Delta\varepsilon$	Yongův modul [MPa]	odchylka [%]
1	60000,00	174375,00	0,1143750	0,05	0,25	0,20	0,5719	4,356
2	40714,29	171285,71	0,1305714	0,05	0,25	0,20	0,6529	9,188
3	83571,43	200000,00	0,1164286	0,05	0,25	0,20	0,5821	2,639
4	84126,98	206746,03	0,1226191	0,05	0,25	0,20	0,6131	2,538
5	102500,00	216428,57	0,1139286	0,05	0,25	0,20	0,5696	4,730
							suma	2,9896
							průměr	0,598

#### 12.3.1.2.4 ZÁVĚRY K MODULU PRUŽNOSTI

K jednotlivým hodnotám modulů pružnosti se dopočítala směrodatná odchylka. Modul pružnosti udává směrnici přímky lineární oblasti. Čím větší hodnotu modulu pružnosti daný materiál má, tím strmější je křivka v R-ε diagramu a tím je materiál tužší.

$$E_{\text{HEMA}} = (0,612 \pm 0,53) \text{ MPa}$$

$$E_{\text{STENT}} = (21,839 \pm 0,2) \text{ MPa}$$

$$E_{\text{SILIKON}} = (0,598 \pm 0,35) \text{ MPa}$$

## 12.3.1.2 VÝPOČET HODNOTY MEZE PEVNOSTI

### 12.3.1.2.1 Materiál

Pro určení meze pevnosti byl každý materiál zatěžován do porušení nejméně 10x a po přetržení byla změřena plocha příčného řezu v místě, v němž k přetržení došlo.

Statická zkouška s materiálem stentu byla provedena pouze 5x, neboť nebylo k dispozici dostatečné množství materiálu, z kterého by se daly vyrobit vzorky dostatečně velké tak, aby hodnota meze pevnosti nebyla do větší míry ovlivněna okrajovými podmínkami (sevřením čelistí). Hodnoty jednotlivých měření včetně vyhodnocení jsou zaznamenány v tabulkách 8 – pro silikon, 9 – pro HEMA, 10 – pro experimentální stent,

11 – pro běžný stent.

tabulka 8

SILIKON				
	zatížení [N]	plocha řezu [mm <sup>2</sup> ]	napětí [MPa]	odchylka [%]
1	50,39	12,25	4,1135	2,53
2	80,51	20,15	3,9955	0,41
3	62,05	15,49	4,0058	0,15
4	69,99	15,15	4,6198	15,15
5	56,86	15,13	3,7581	6,33
6	65,42	16,92	3,8664	3,63
7	64,08	15,23	4,2075	4,87
8	57,23	13,82	4,1411	3,22
9	50,83	14,95	3,4000	15,25
10	38,39	11,72	3,2767	18,33
		suma	36,1077	
		průměr	4,012	

tabulka 9

HEMA				
	zatížení [N]	plocha řezu [mm <sup>2</sup> ]	napětí [MPa]	odchylka [%]
1	1,557	7,83	0,1989	4,33
2	1,503	6,41	0,2345	12,81
3	1,020	5,36	0,1903	8,45
4	1,154	5,53	0,2087	0,40

5	1,074	5,82	0,1845	11,22
6	1,047	5,91	0,1772	14,77
7	1,342	6,13	0,2189	5,32
8	1,450	6,93	0,2094	0,72
9	1,128	5,07	0,2225	7,04
10	1,342	5,74	0,2338	12,48
	suma		2,0786	
	průměr		0,208	

tabulka 10

STENT				
	zatížení [N]	plocha řezu [mm <sup>2</sup> ]	napětí [MPa]	odchylka [%]
1	224,70	8,79	25,5719	26,03
2	99,87	5,09	19,6093	3,36
3	97,77	5,76	16,9740	16,35
4	113,40	4,86	23,3333	15,00
5	74,09	4,64	15,9642	21,32
	suma		101,4527	
	průměr		20,291	

tabulka 11

STENT - komerční				
	zatížení [N]	plocha řezu [mm <sup>2</sup> ]	napětí [MPa]	odchylka [%]
1	109,50	7,23	15,1536	13,95
2	88,81	8,03	11,0598	16,84
3	88,08	7,42	11,8674	10,76
4	95,03	7,76	12,2540	7,85
5	101,80	6,81	14,9596	12,49
6	107,10	8,09	13,2418	0,43
7	113,20	7,92	14,2929	7,48
8	98,85	8,71	11,3451	14,69
9	112,10	7,92	14,1630	6,50
10	104,30	7,12	14,6489	10,15
	suma		132,9862	
	průměr		13,299	

### 12.3.1.3.2 ZÁVĚRY K MEZI PEVNOSTI

$$R_{m,HEMA} = (0,208 \pm 0,02) \text{ MPa}$$

$$R_{m,STENT} = (20,291 \pm 4,10) \text{ MPa}$$

$$R_{m,KOMERČNÍ} = (13,299 \pm 1,55) \text{ MPa}$$

$$R_{m,SILIKON} = (4,012 \pm 0,4) \text{ MPa}$$

### 12.3.1.3 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ

Statistika naměřených dat byla zpracována pomocí programu Octave. Z daných hodnot byl zjištěn bodový odhad (=průměr), rozptyl, potom byla data zkoušena na normální rozdělení, a byl zjištěn 95% interval spolehlivosti .

Normální rozdělení; neboli také Gaussovo rozdělení mající tvar zvonovité křivky, která nabývá maxima v bodě  $x=m$ (=průměr), má následující vlastnosti: stejné odchylky vpravo i vlevo a je určeno pro pokusy s nezávislými náhodami. (příklad nezávislých náhod: vzorek prokluzoval v čelistech a zároveň na vzduchu ztrácel vlhkost, tím se jednalo se o dvě náhody, které ovlivňují výslednou naměřenou hodnotu a zároveň jsou na sobě nezávislé)

#### Interval spolehlivosti (IS):

Existuje hodnota skutečná a hodnota naměřená. Hodnota skutečná je opravdový Youngův modul, který vzorek má hodnota naměřená je hodnota, kterou jsme získali jednotlivými pokusy, ale protože je každý pokus ovlivněn již zmíněnými nezávislými náhodami, které mění podmínky, za nichž je pokus prováděn, může se hodnota naměřená od hodnoty skutečné lišit. většinou tomu tak opravdu je.

IS nám udává horní a dolní meze, mezi kterými se skutečná hodnota nalézá. IS může být zjištěn s jakoukoliv přesností - s 50%, 75%, atd. V tomto případě byla použita přesnost 95%, která je nejčastější a nejrozumnější.

### MODUL PRUŽNOSTI

HEMA, tab. 5

$m_x=0.61216$

$v=0.003$

$p\_hodnota=0.99336$

95% IS=(0.54631,0.67801)

STENT, tab. 6

mx=21.839

v=0.039

p\_hodnota=0.99036

95% IS=(21.5906,22.0871)

SILIKON, tab. 7

mx=0.59792

v=0.001

p\_hodnota=0.85012

95% IS=(0.55410,0.64174)

## MEZ PEVNOSTI

SILIKON, tab. 8

mx=3.9384

v=0.15352

p\_hodnota=0,96439 což znamená, že data odpovídají normální rozdělení na 96,739%

95% IS=(3.6582,4.2187)

HEMA, tab. 9

mx=0.20787

v=0.004

p\_hodnota=0.99923

95% IS=(0.19357,0.2217)

STENT, tab. 10

mx=20.291

v=16.833

p\_hodnota=0.99342

95% IS=(15.196,25.385)

SÍŤOVINA, tab. 11

mx=13.299

v=2.4145

p\_hodnota=0.76487

95% IS=(12.1870,14.4102)

## 12.4 BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI MATERIÁLU

### 12.4.1 MIKROBIOLOGICKÉ

Mikrobiologické vlastnosti byly testovány v akreditovaných laboratořích Ústavu lékařské mikrobiologie UK 2.LF a FNM. Srovnávali jsme růst běžných patogenů dýchacích cest a zejména oportunní bakteriální flóry na materiálu HEMA a v běžných kultivačních médiích.

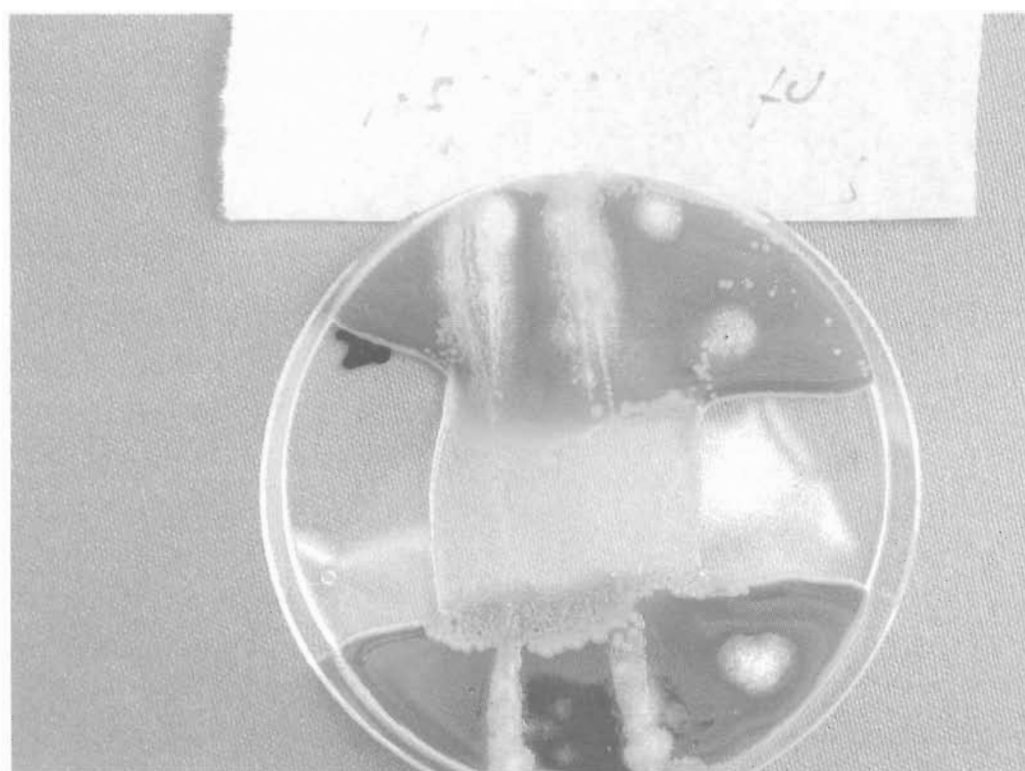
Zaměřili jsme zejména na růst komenzálních plísní, u nichž byl popsán růst na silikonových materiálech (135)

#### 12.4.1.1 POSTUP

Testovaný materiál byl vložen do Petriho misky a zalit fyziologickým roztokem tak aby hladina pokrývala povrch materiálu cca 1mm. Poté byl odsát 1ml fyziologického roztoku a vytvořen zákal každého testovaného kmene 1MacF. Vzniklý roztok byl homogenizován (vortexován po dobu 20 minut) Zhomogenizovaný roztok byl nařezán 10 minus třetí . Jeden mililitr naředěného roztoku byl naočkován na krevní agar a na testovaný materiál ve fyziologickém roztoku. Použitý fyziologický roztok byl naočkován na krevní agar, a do fyziologického roztoku s testovaným materiálem (negativní kontrola). Roztoky byly inkubovány při 37°C po dobu 48 hodin. Růst kmenů jsme zhodnotili za 24 a 48 hodin. Stanovili jsme počet kolonií na krevním agaru a na testovaném materiálu fyziologickém roztoku za 24 a 48 hodin. Pokus byl fotodokumentován.

Testovali jsme tyto patogeny : *Aspergillus fumigatus*, *Bacillus* sp., *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Mucor mucedo* , *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans* v uvedeném pořadí zobrazeny na obrázcích 8-15

Obr. 8 *Aspergillus fumigatus*

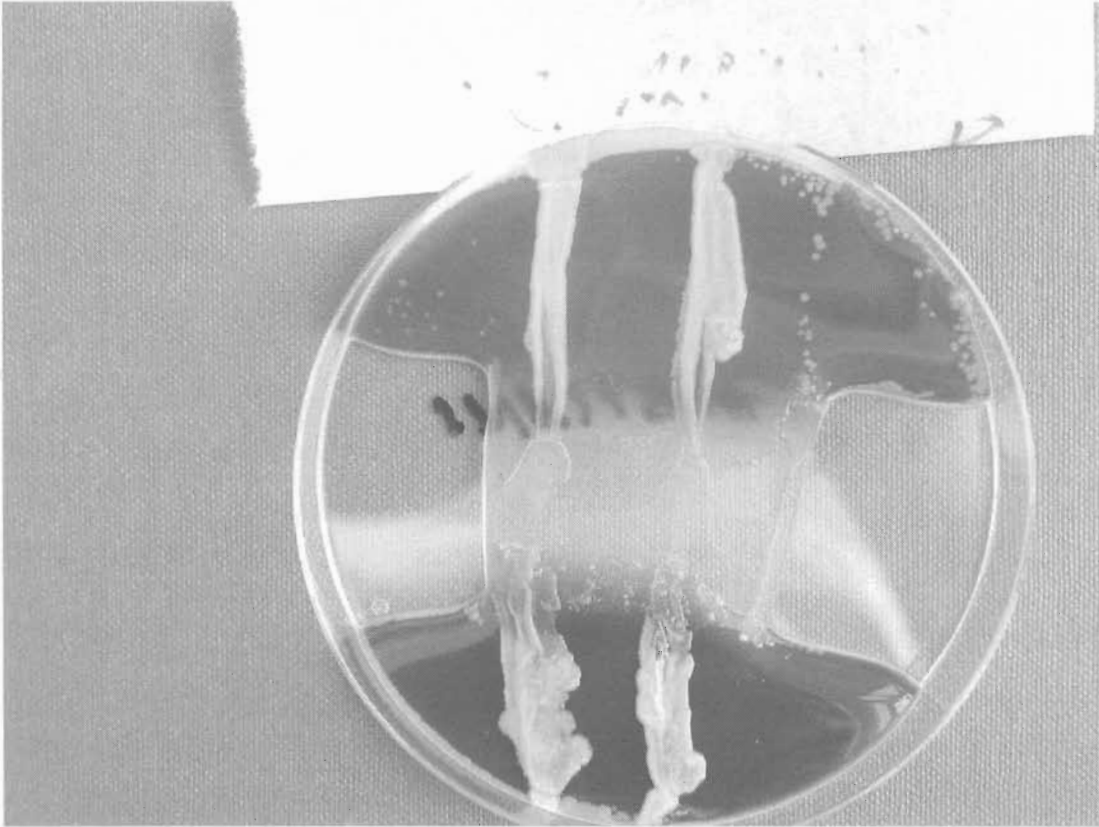




Obr. 9 Bacillus spp.



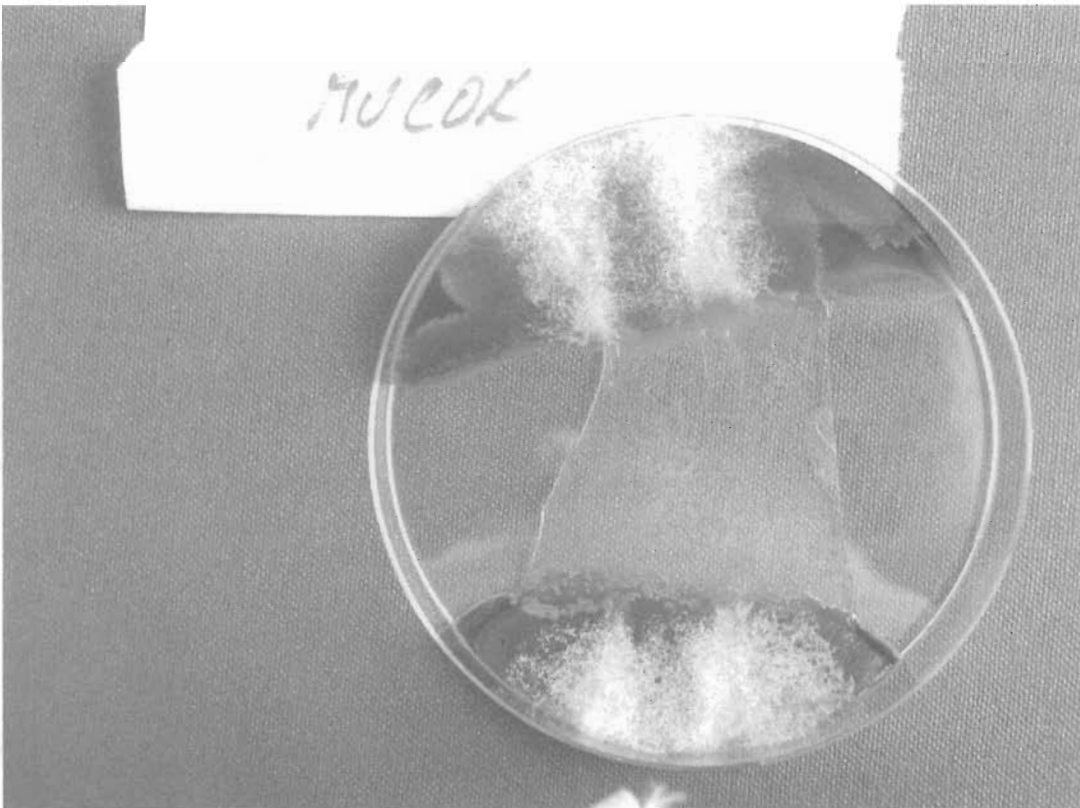
Obr. 10 Candida albicans



Obr. 11 *Candida tropicalis*



Obr. 12 *Mucor mucedo*



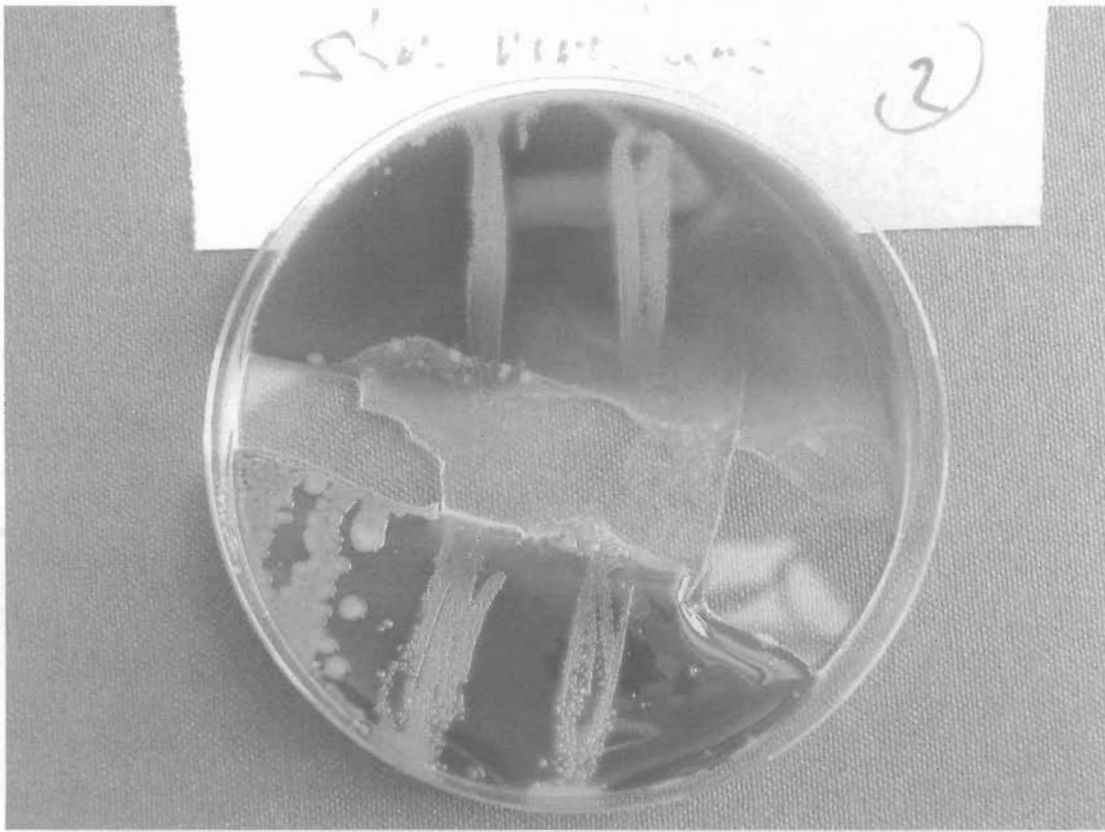
Obr. 13 *Staphylococcus aureus*



Obr. 14 *Streptococcus pyogenes*

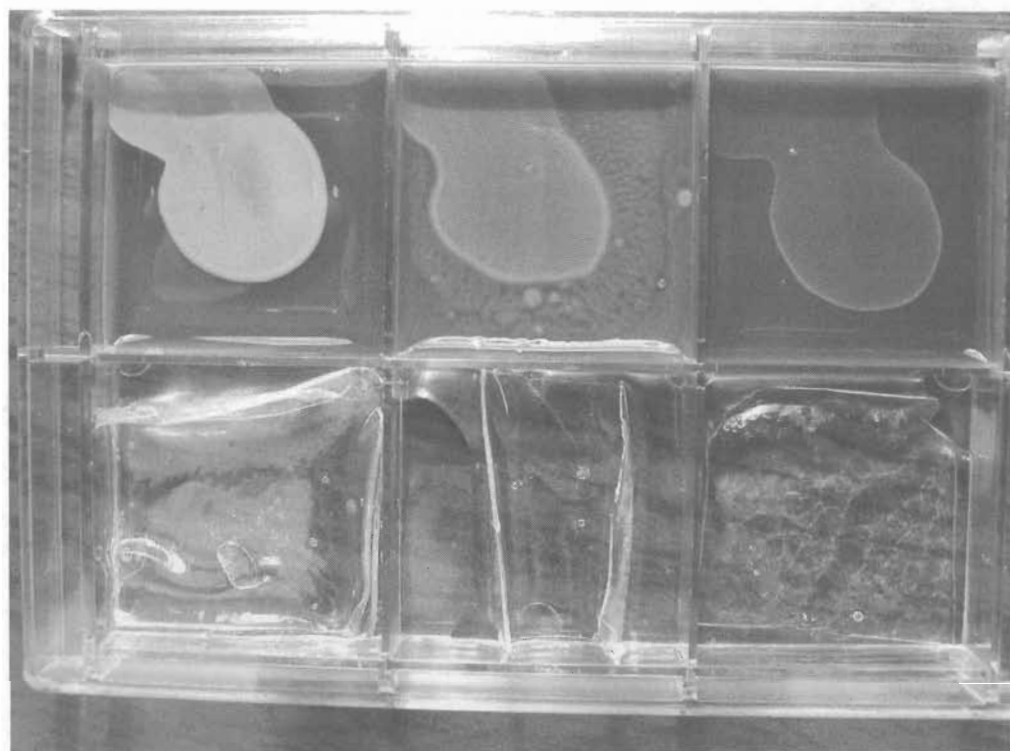


Obr. 15 Streptococcus viridans

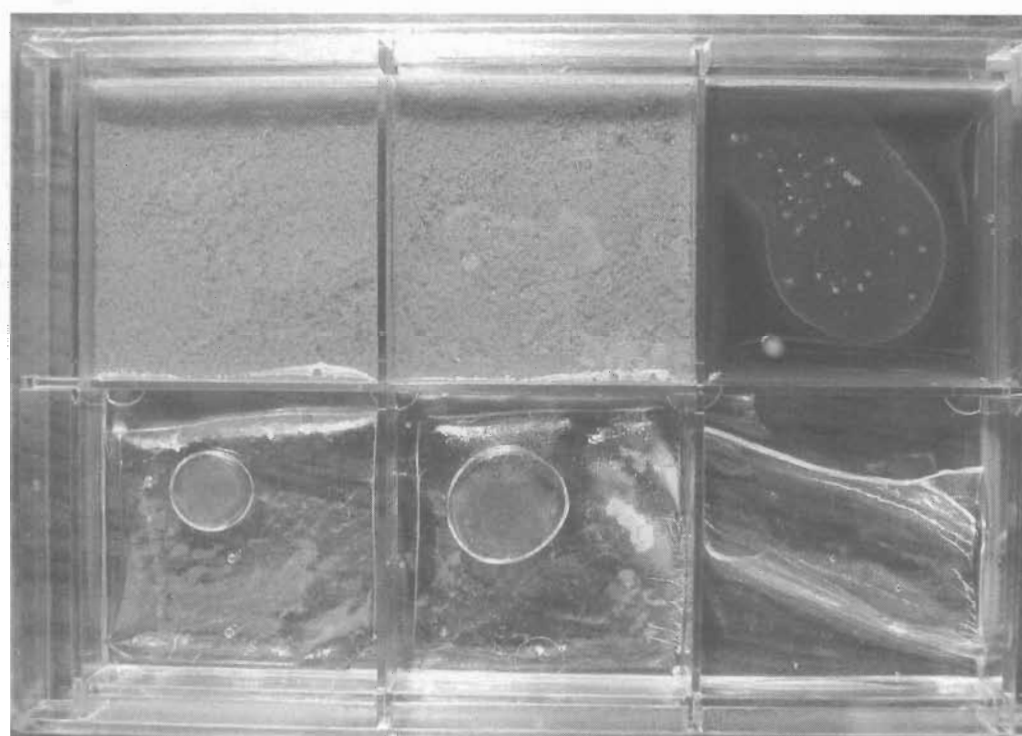


Dále jsme testovali růst na společných plotnách na obr. 16 *Staphylococcus aureus*, *Proteus hauseri*, *Streptococcus beta-haemolyticus*

Obr. 16



Na obr. 17 dva nejběžnější sérotypy *Haemophilus influenzae*, *Neisseria flava*



#### 12.4.1.2 ZÁVĚR

Jak je z uvedených obrázků patrné, nebyl zaznamenán růst patogenů na materiálu polyHEMA použitém k výrobě stentů.

#### 12.4.2. EXPERIMENT NA ZVÍŘETI

##### 12.4.2.1 IMPLANTACE DO PODKOŽÍ LABORATORNÍCH POTKANŮ

Implatovali jsme plošné částky z materiálu polyHEMA 1x1.5 cm do podkoží experimentálních potkanů. 10. a 30. den byly explantovány pro zhodnocení tkáňové reakce

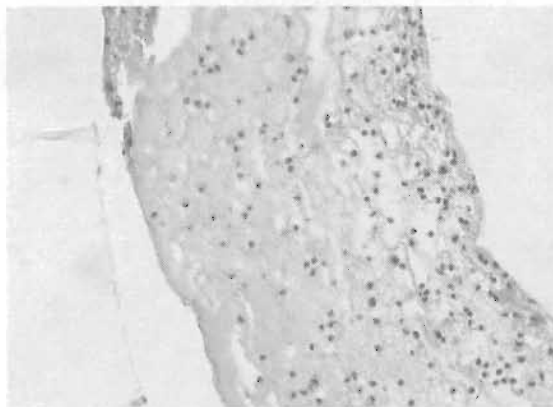
#### Výsledky histologických vyšetření

##### **Metodika**

Vzorky odebrané z pokusných potkanů a králíků byly fixovány v 10% formolu, zality do parafinových bločků a barveny hematoxylinem-eozinem. Pro posouzení přítomnosti kolagenu jsme jako doplňkovou metodu u některých vzorků zvolili barvení modrým trichromem, které rovněž umožňuje vizualizaci fibrinového exsudátu.

10. den (obr. 18):

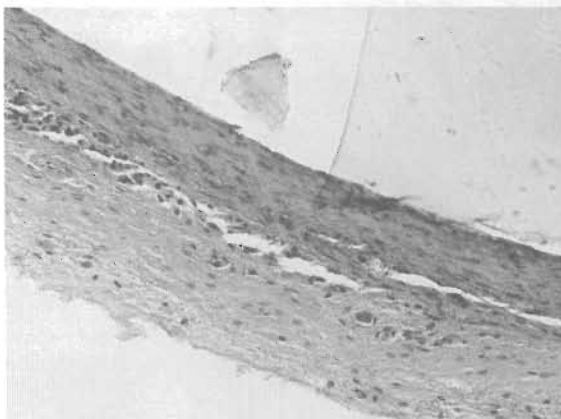
Mikroskopicky transparentní materiál implantátu (na obrázku vlevo) je ohraničen vrstvou fibrinu, ve které je přítomna mírná až střední infiltrace neutrofilů.



Obr. 18

30. den (obr. 19):

Fibrin byl nahrazen tenkou vrstvou vazivové tkáně která demarkuje implantát. V popsané vrstvičce vaziva je přítomna mírná lymfoplazmocytární celulizace. Vrstva popsaného vaziva probíhá po povrchu implantátu lineárně, bez radiálního vyzařování do okolní tkáně. V pravé horní části obrázku je patrný materiál implantátu.



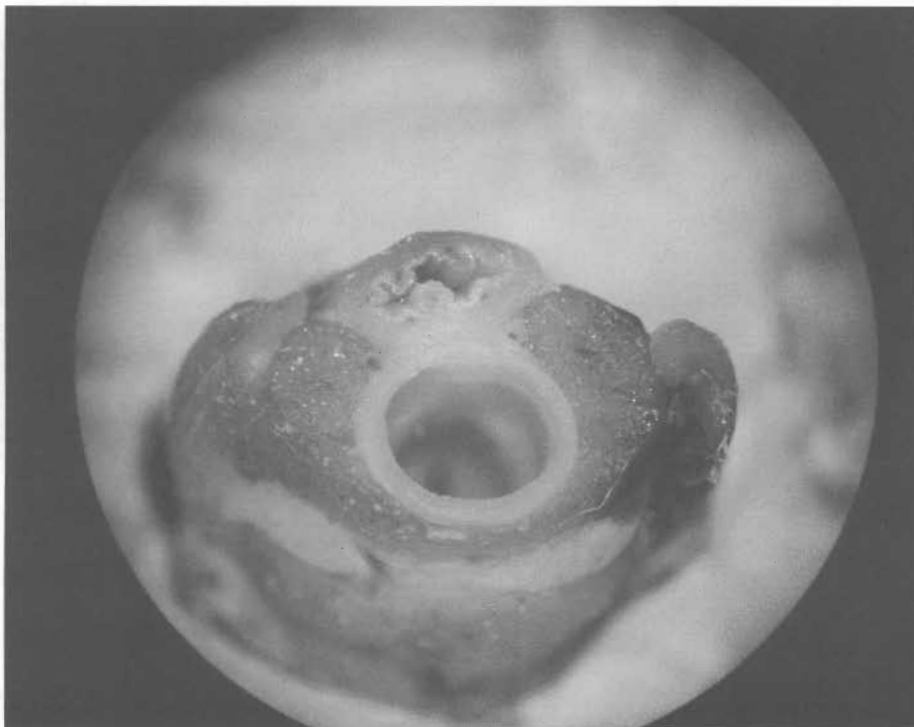
Obr. 19



### 12.4.2.3 IMPLANTACE DO DÝCHACÍCH CEST LABORATORNÍCH POTKANŮ

Plánovali jsme se držet původního plánu pokusu, vytvoření významné experimentální stenózy u rostoucích zvířat však nebylo možno provést pro rozvinutí silného inspiračního stridoru vedoucího po několika hodinách k vyčerpání zvířete. Proto jsme plán pokusu modifikovali do podoby, kdy byla provedena experimentální stenóza podvázáním průdušnice nevstřebatelným stehem a po provedení měření na pletyzmografu ihned provedena implantace stentu. Tu jsme provedli otevřenou metodou, protětim průdušnice nad stenózou a zavedením stentu do lumina průdušnice. Vzhledem k poměrům průdušnice potkana a velikosti stentu nebylo možné implantovat celý stent, a proto jsme implantovali jen jeho polokruhovitou dilatační část. Modifikovaný pokus byl tedy omezen na porovnání dechových funkcí skupiny bez striktury a se strikturou a s implantovaným stentem po 14 ti dnech.

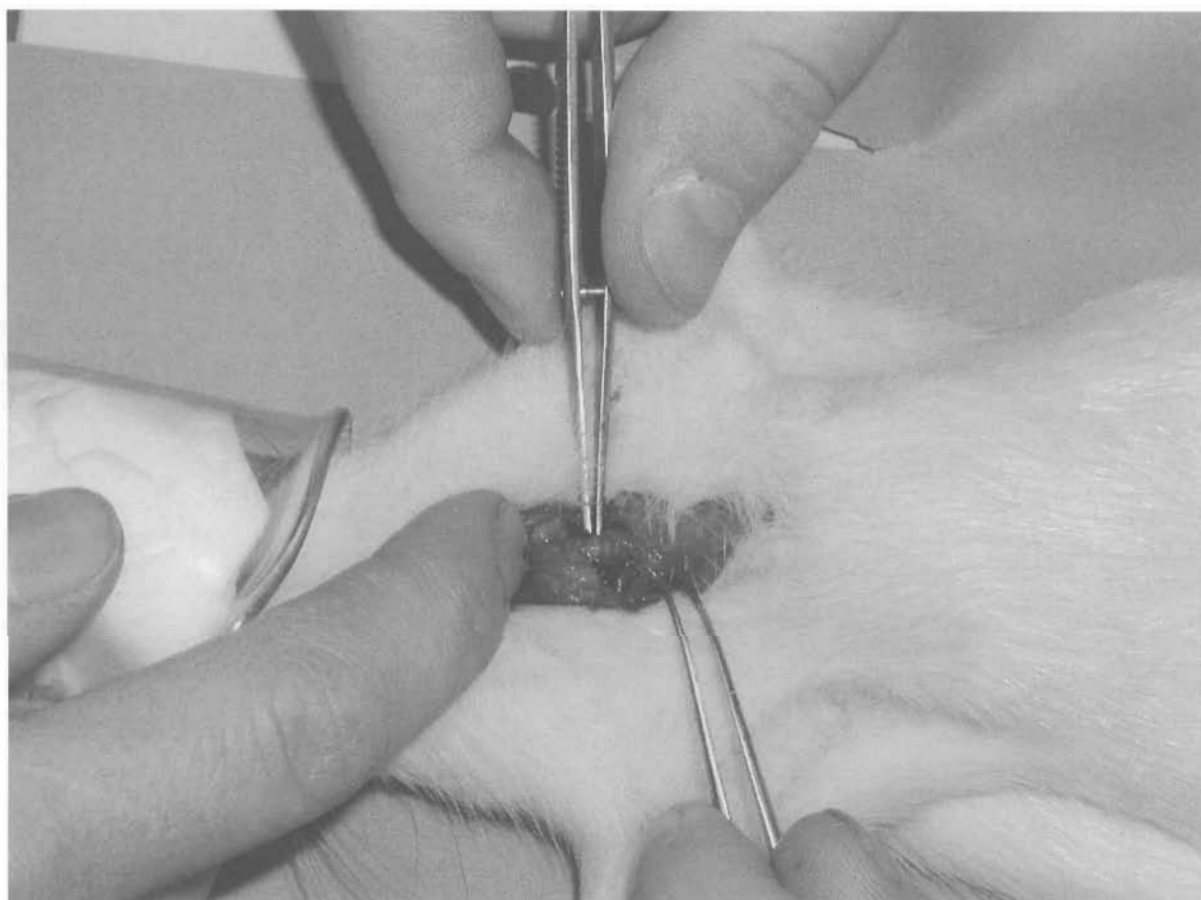
Obr. 20. Sekční preparát průdušnice laboratorního potkana



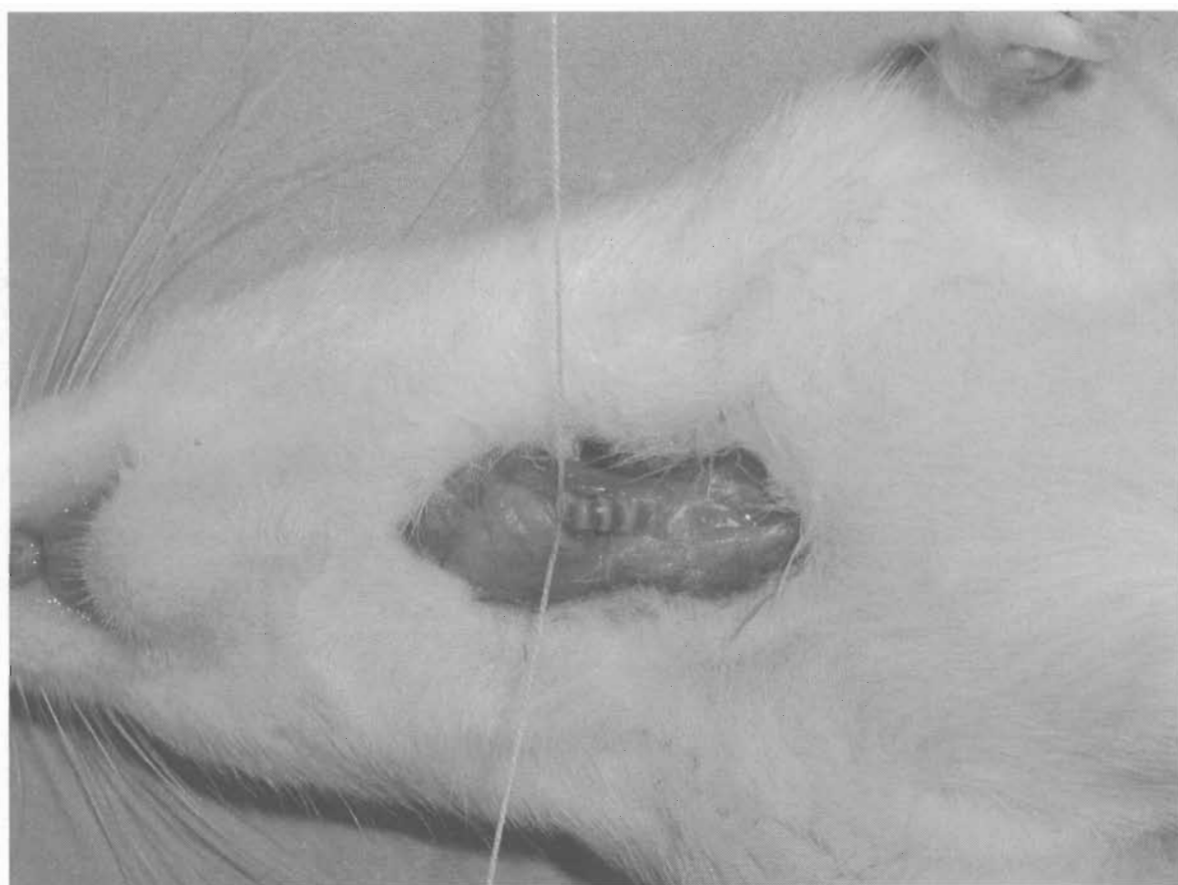
Obr. 21. Stenty z polyHEMA ve sterilním roztoku



Obr. 22. Otevření průdušnice laboratorního potkana, inhalační anestezie Diethyletherem.



Obr. 23. Podvázání průdušnice laboratorního potkana

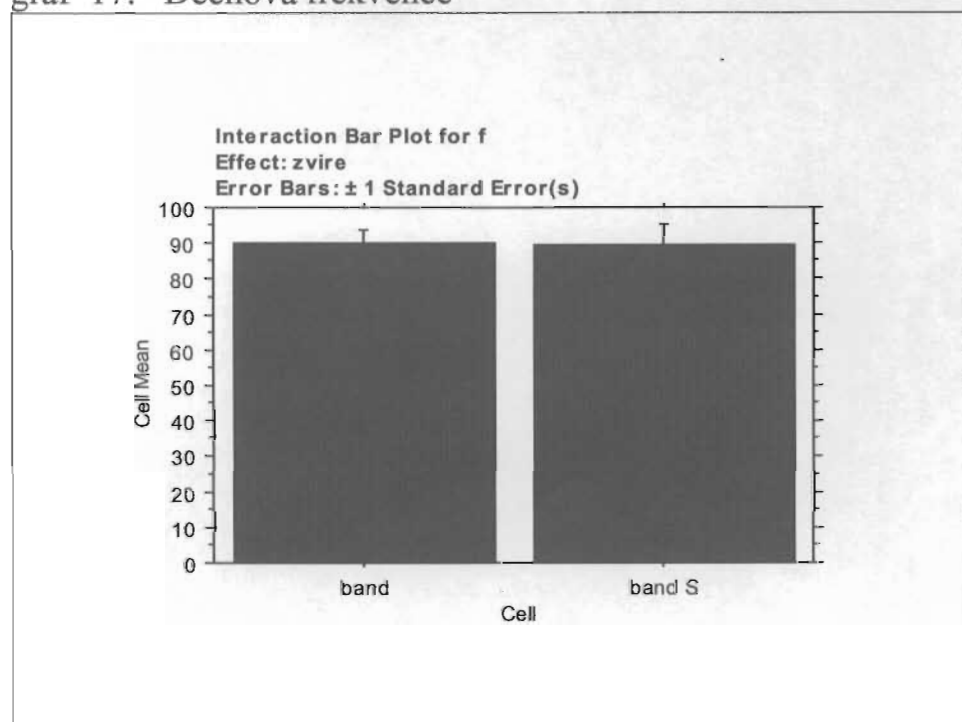


### 12.4.2.2.1 MĚŘENÍ DECHOVÝCH FUNKCÍ

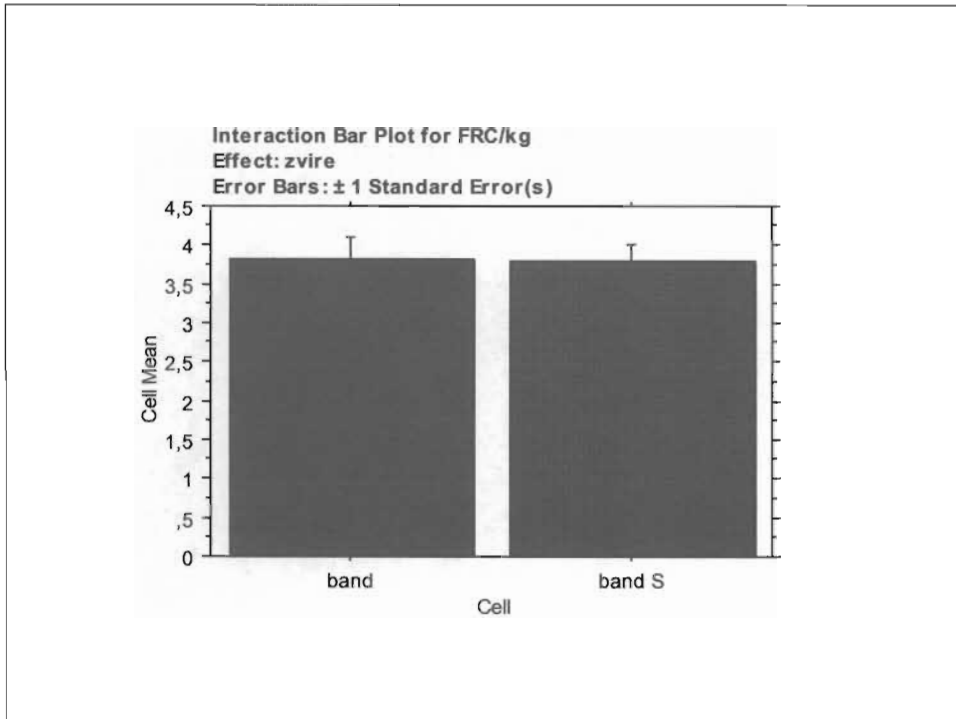
Dále jsou uvedeny výsledky měření na pletyzmografu rozdělené podle jednotlivých parametrů se statistickým zpracováním. Vždy je porovnávána hodnota kontrolní skupiny a skupiny se stentem. Hodnocení je vyjádřeno graficky, včetně směrodatných odchylek.

Na grafech je postupně hodnocena frekvence ( $f$ ), funkční reziduální kapacita vztážená k váze ( $FRC/kg$ ), celkový odpor plic ( $RL$ ), compliance ( $CL$ ) dechový objem ( $VT$ ), minutová ventilace ( $VE$ ), funkční reziduální kapacita ( $FRC$ ). Band je kontrola, Bans S se stentem

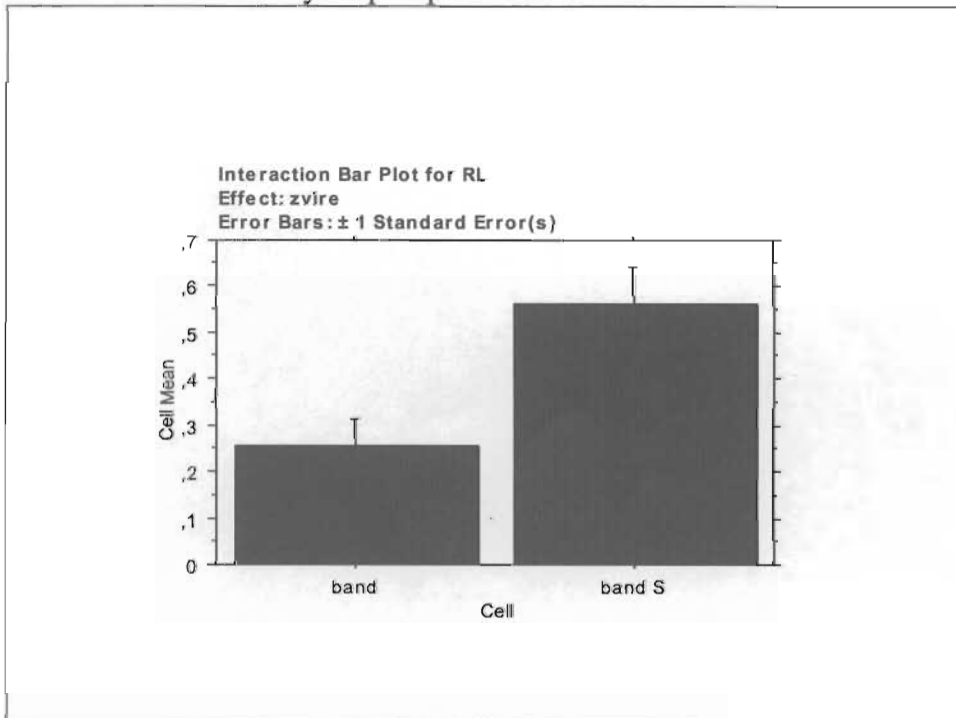
graf 17. Dechová frekvence



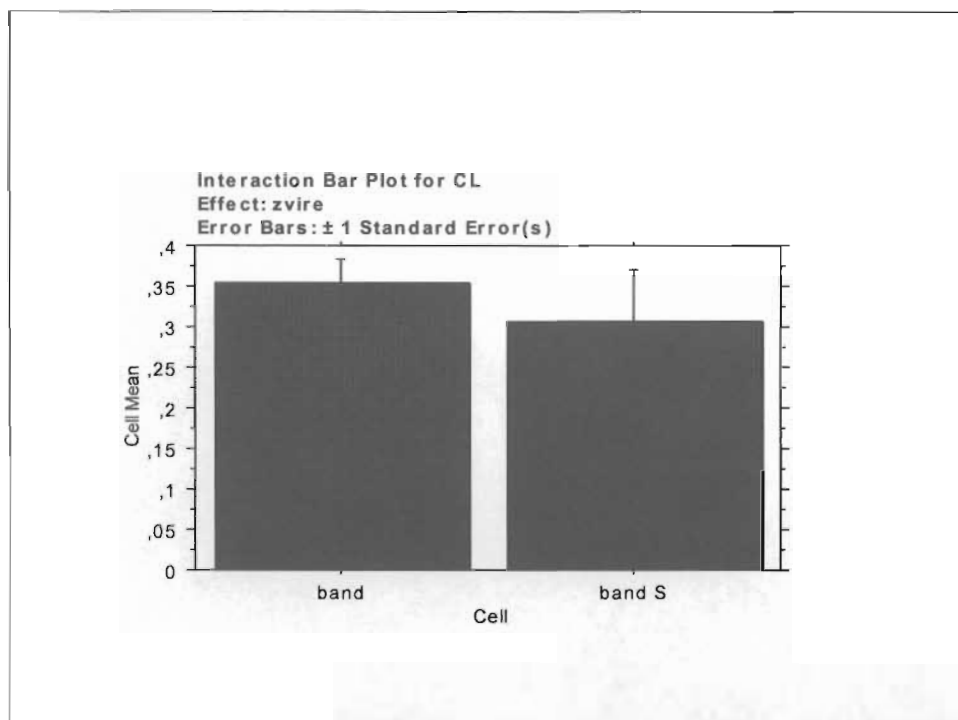
Graf 18. Funkční reziduální kapacita vztažená k váze



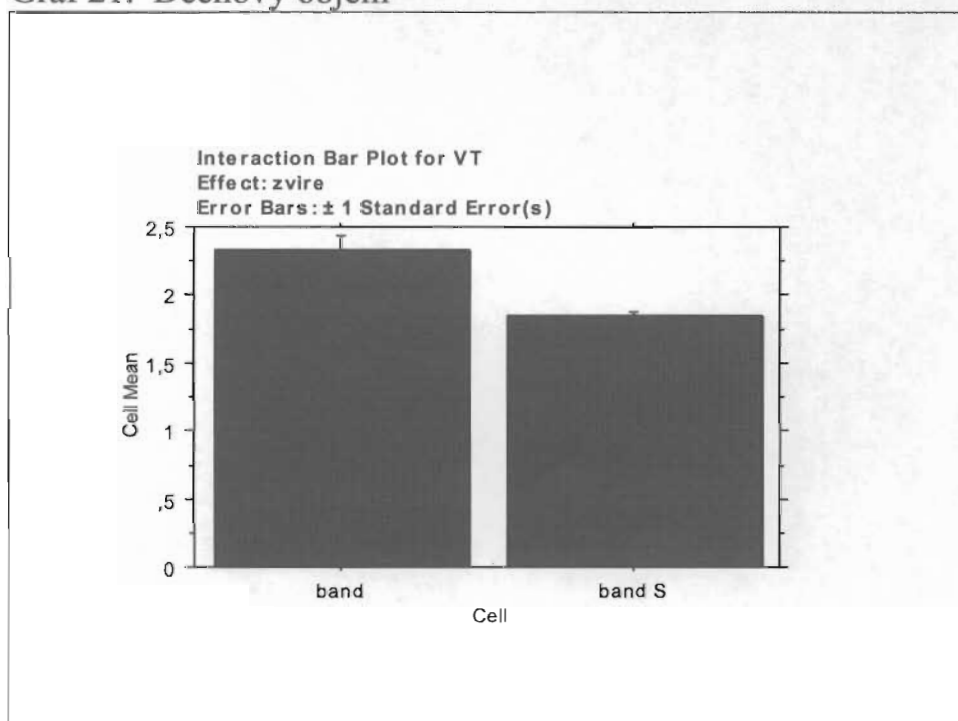
Graf 19. Celkový odpor plic



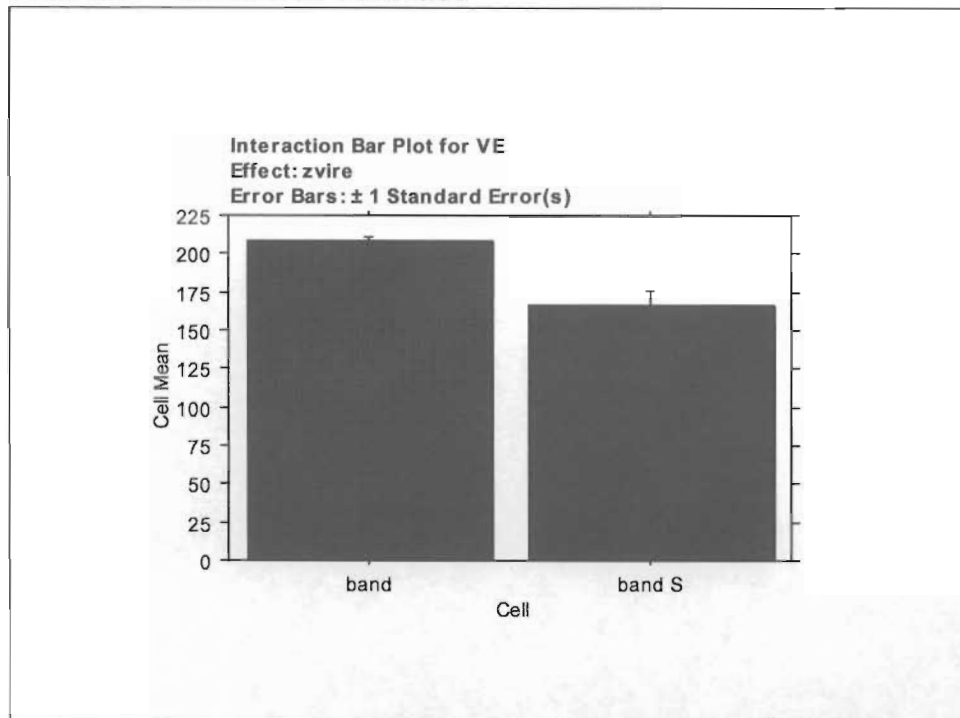
Graf 20. Poddajnost plic.



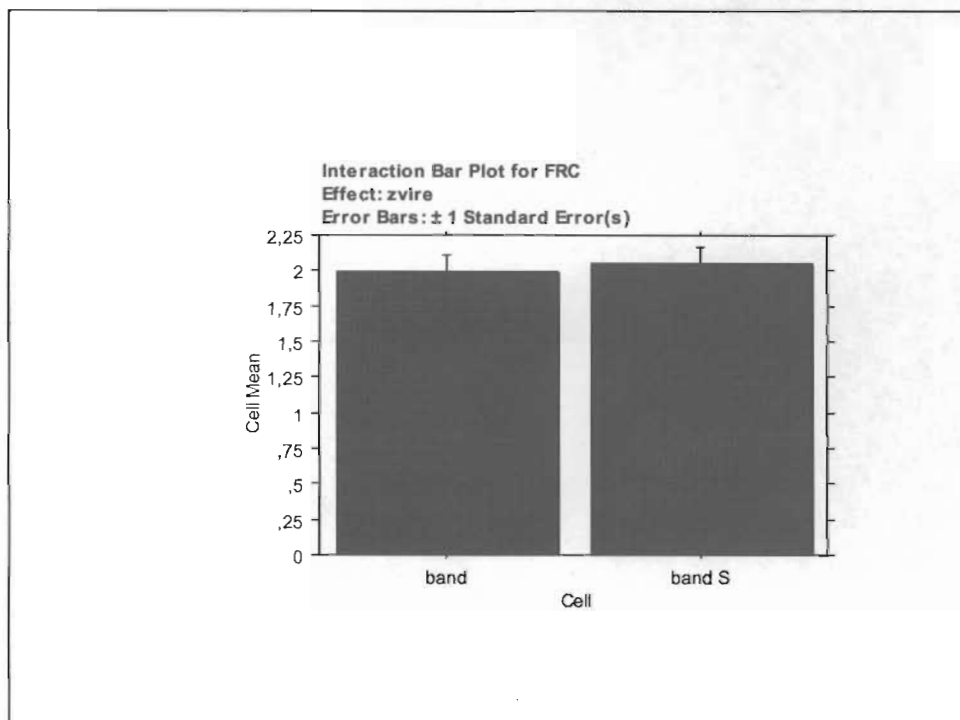
Graf 21. Dechovy objem



Graf 22. Minutová ventilace



Graf. 23 Funkční reziduální kapacita





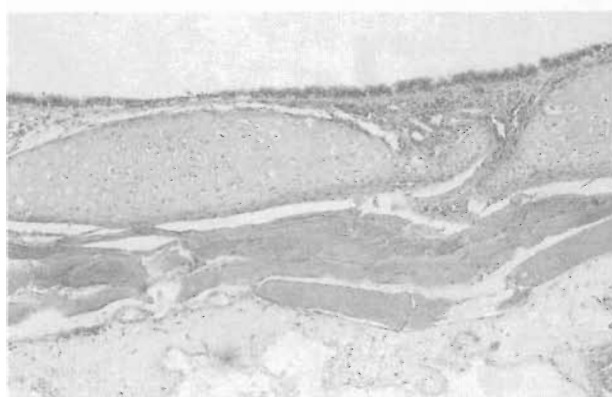
## ZÁVĚR K MĚŘENÍ DECHOVÝCH FUNKCÍ

Nezaznamenali jsem signifikantní rozdíl v dechové frekvenci u skupiny se zavedeným stentem oproti kontrole. Dechový objem u skupiny se zavedeným stentem je signifikantně menší než u kontrol. Minutová ventilace zavedením stentu ovlivněna nebyla. Na hodnoty FRC nemělo zavedení stentu vliv. Plicní poddajnost u stentovaných klesla, ale ne signifikantně. Celkový odpor plic u skupiny se zavedením stentu téměř statisticky významně vzrostl.

Měření dechového vzoru prokazuje statisticky nevýznamně změněné hodnoty veličin charakterizujících funkce dechového vzoru, před a po zavedení stentu do experimentálně zúžené průdušnice. Jedinou veličinou, která se statisticky významně zvýšila je celkový odpor plic.

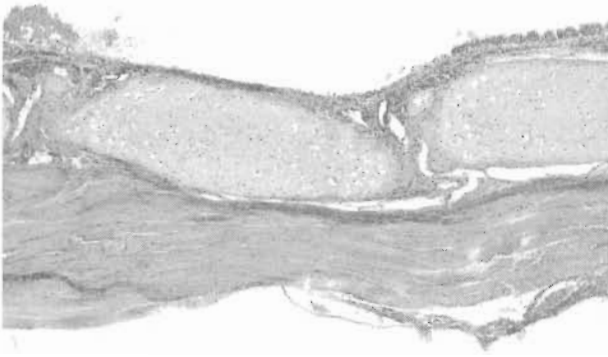
### 12.4.2.2.2. HISTOLOGICKÉ ZHODNOCENÍ PO IMPLANTACI STENTU DO PRŮDUŠNICE POTKANA

Sliznice je z velké části zachována téměř beze změn (obr. 24).



Obr. 24

Zastiženo je však i ložisko s deskvamací respiračního epitelu a s mírnou neutrofilní infiltrací. V lumen nad popsáním defektem jsou stopy krve (obr. 25).



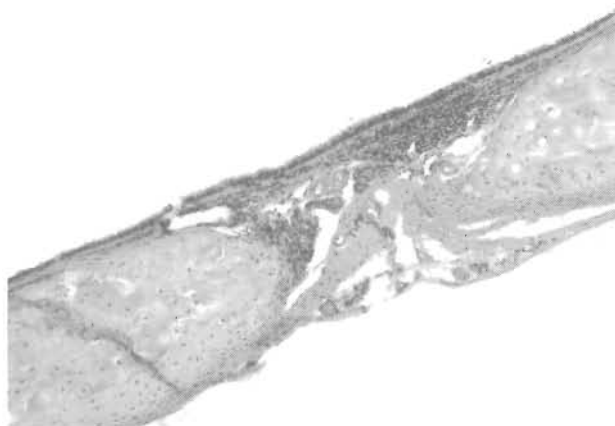
Obr. 25

Epiteliální změny jsou zcela minimální (v přehledu viz obr. 26).



Obr. 26

Výška epitelu je mírně snížena při zachování řasinkového lemu. Počet pohárkových buněk je mírně redukován. V slizničním stromatu je jen mírná lymfoplazmocytní celulizace tvořená nečetnými ložisky. Jizvení ve stromatu není mikroskopicky patrné. ( Obr. 27 )



Obr. 27

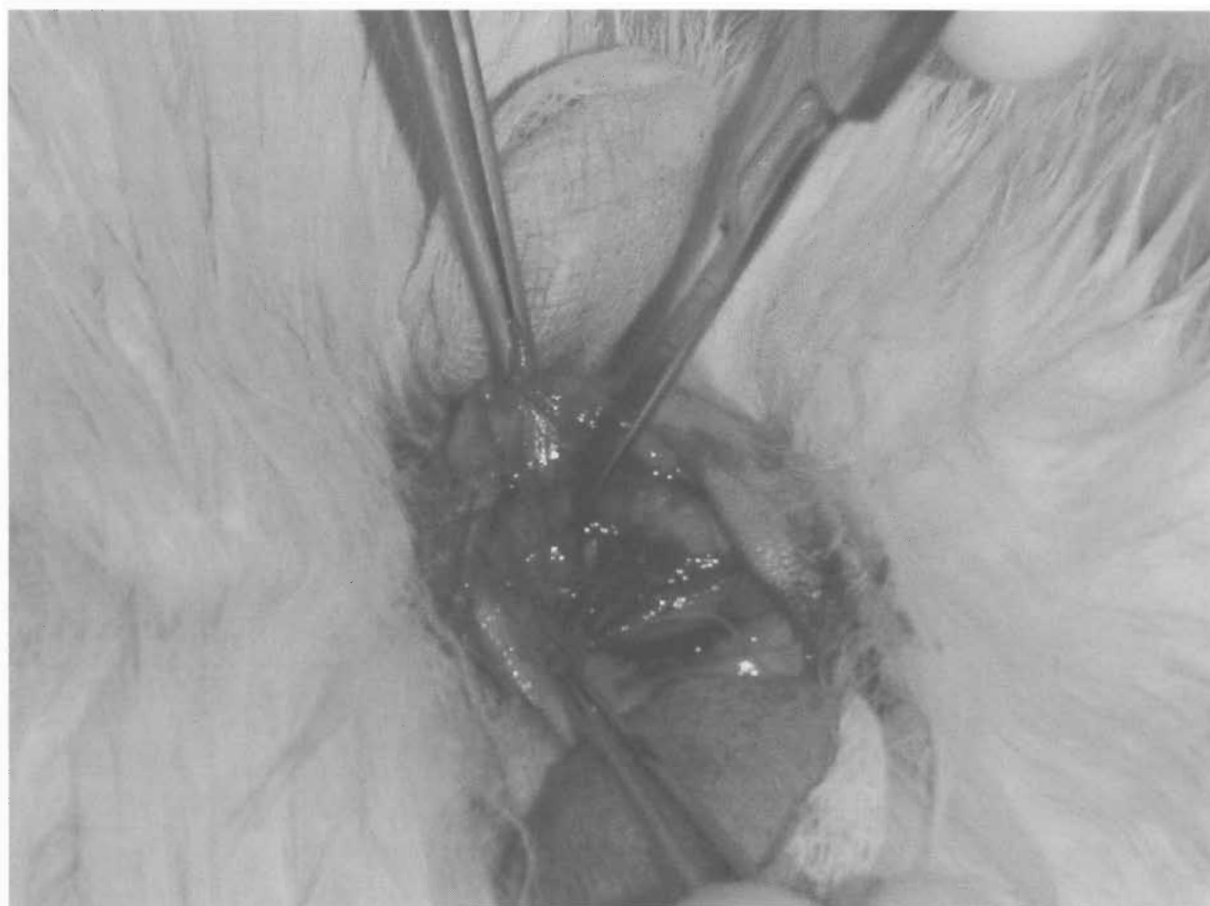
#### 12.4.2.3 IMPLANTACE DO DÝCHACÍCH CEST EXPERIMENTÁLNÍCH KRÁLÍKŮ

Schema pokusu bylo modifikováno podobně jako u potkanů. Implantace stentu byla vzhledem k příznivějším rozměrům průdušnice snažší. Byly měřeny parametry dechového vzoru zdravých zvířat, s experimentálně vytvořenou stenózou a 14 dní po implantaci stentu. Poté byla zvířata utracena a hodnocena tkáňová reakce v průdušnici.

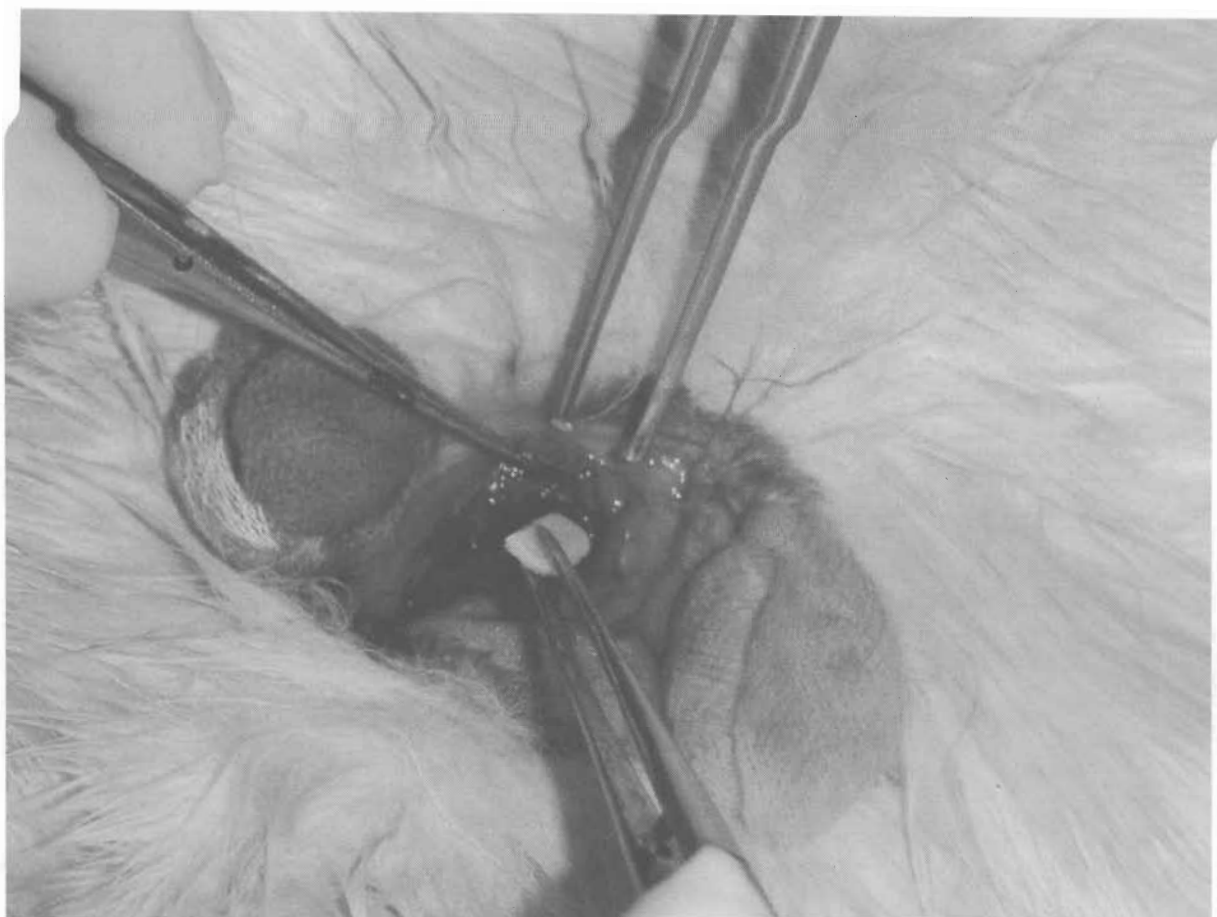
Obr. 28 Pletyzmograf s pokusným králikem.



Obr. 29 Otevření průdušnice



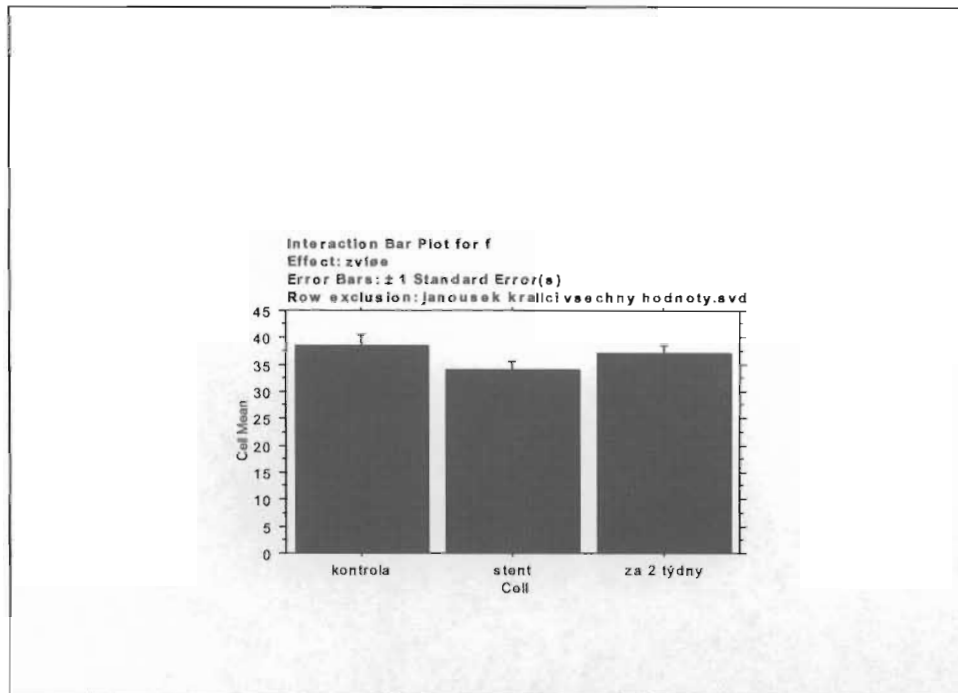
Obr. 30 Implantace modifikovaného stentu do průdušnice.



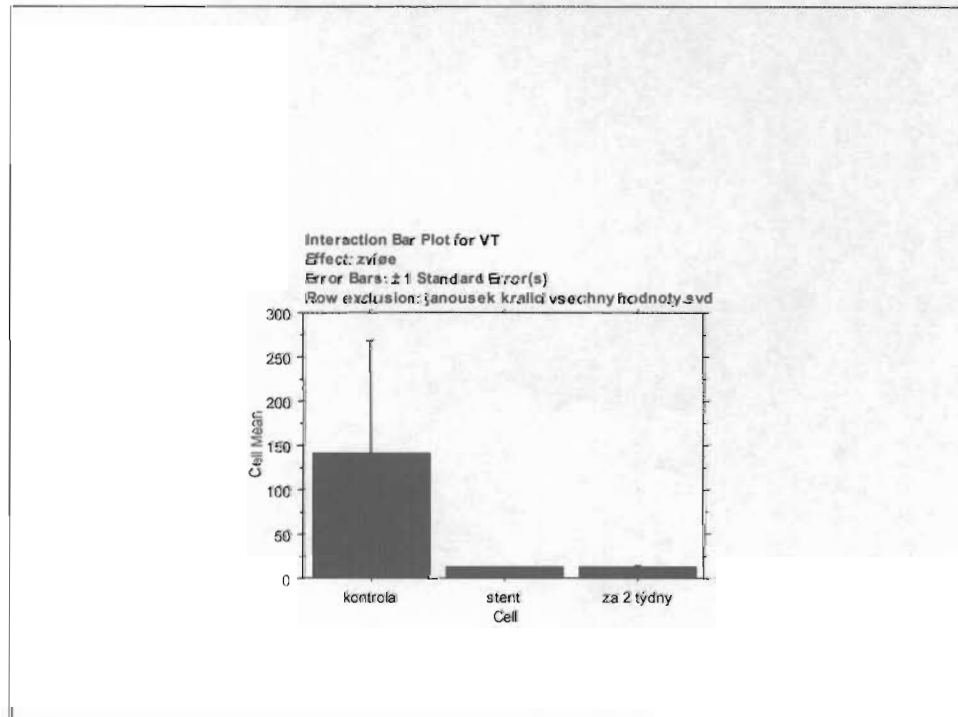
#### 12.4.2.3.1 MĚŘENÍ DECHOVÝCH FUNKCÍ

Dále jsou uvedeny výsledky měření na pletyzmografu rozdělené podle jednotlivých parametrů se statistickým zpracováním. Vždy je porovnávána hodnota kontrolní skupiny a skupiny se strikturou a skupiny se stentem implantovaným 14 dní. Na grafech je postupně hodnocena frekvence (f), dechový objem (VT), minutová ventilace (VE), compliance (CL), celkový odpor plic (RL), maximální průtok, trvání expirace.

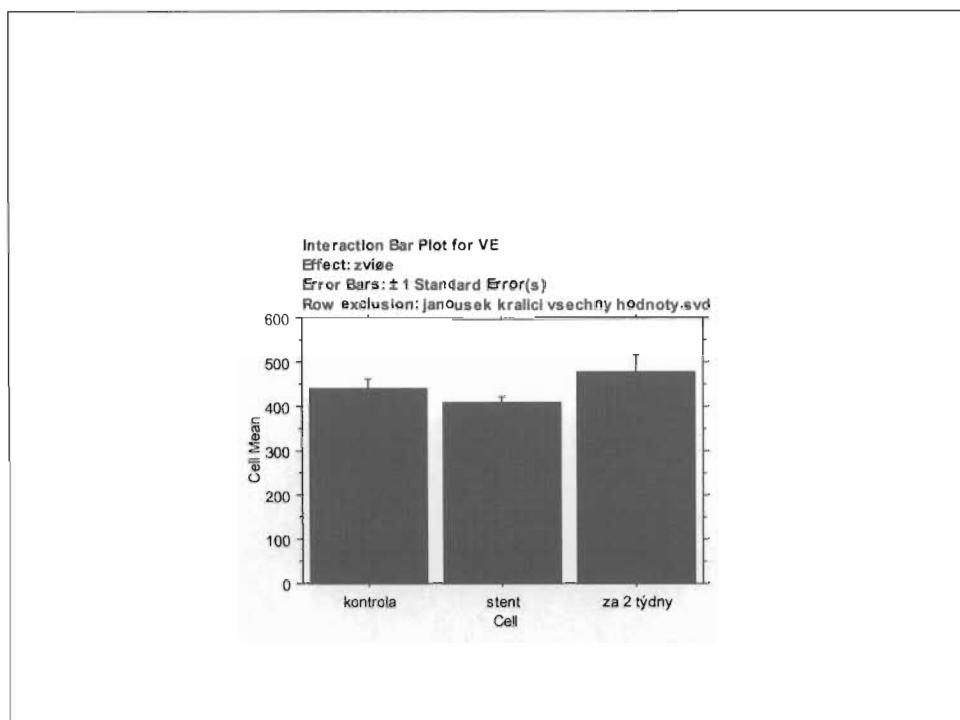
Graf 24 Dechová frekvence



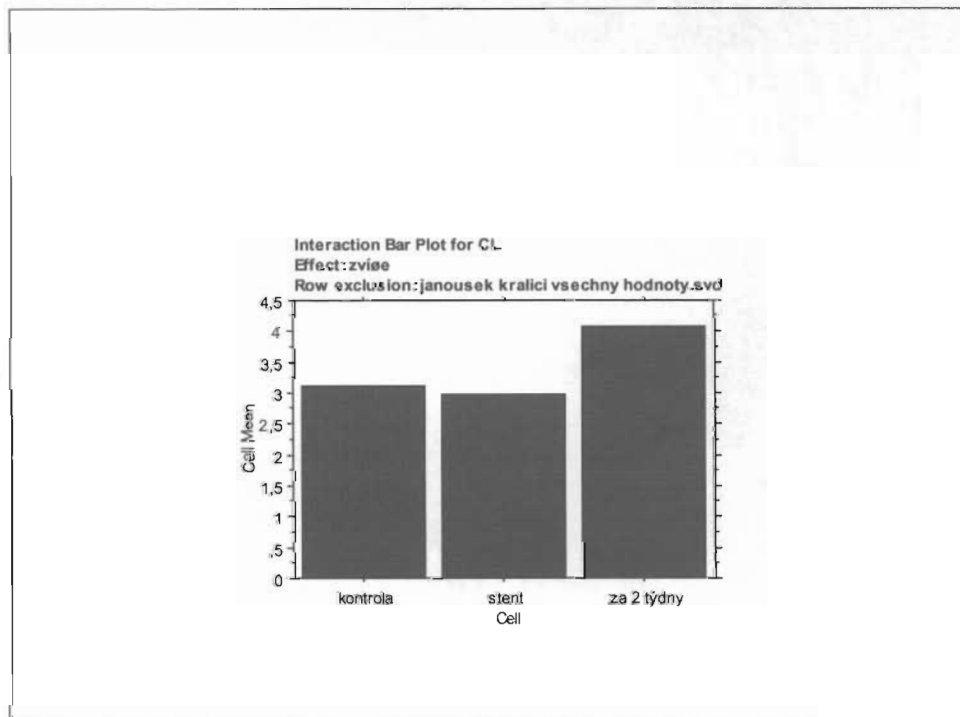
Graf 25 Dechový objem



Graf 26 Minutová ventilace

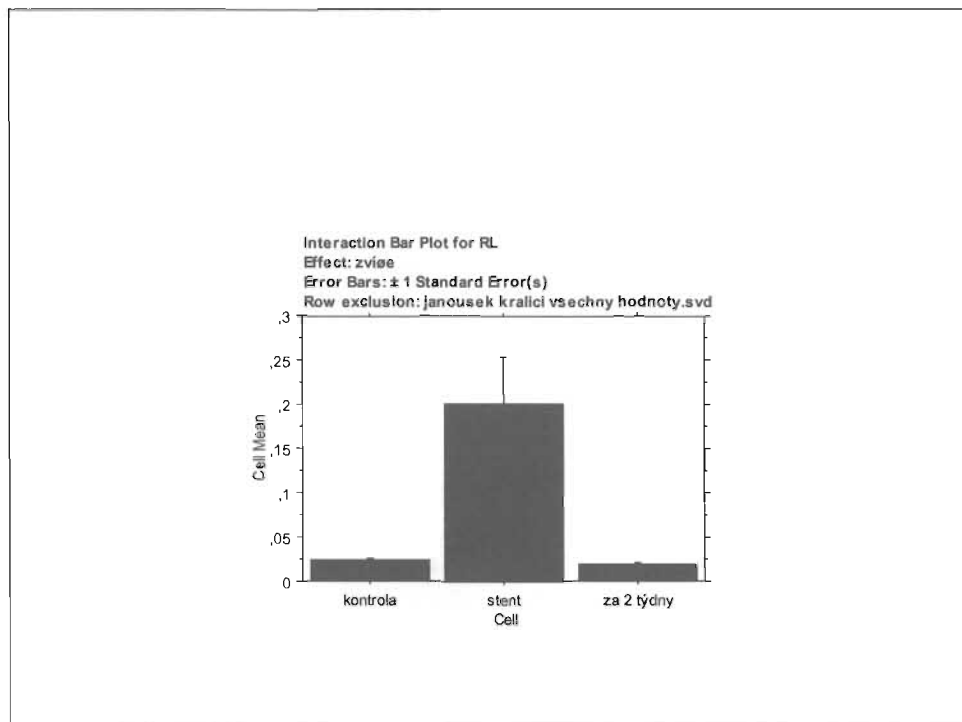


Graf 27 Plicní poddajnost

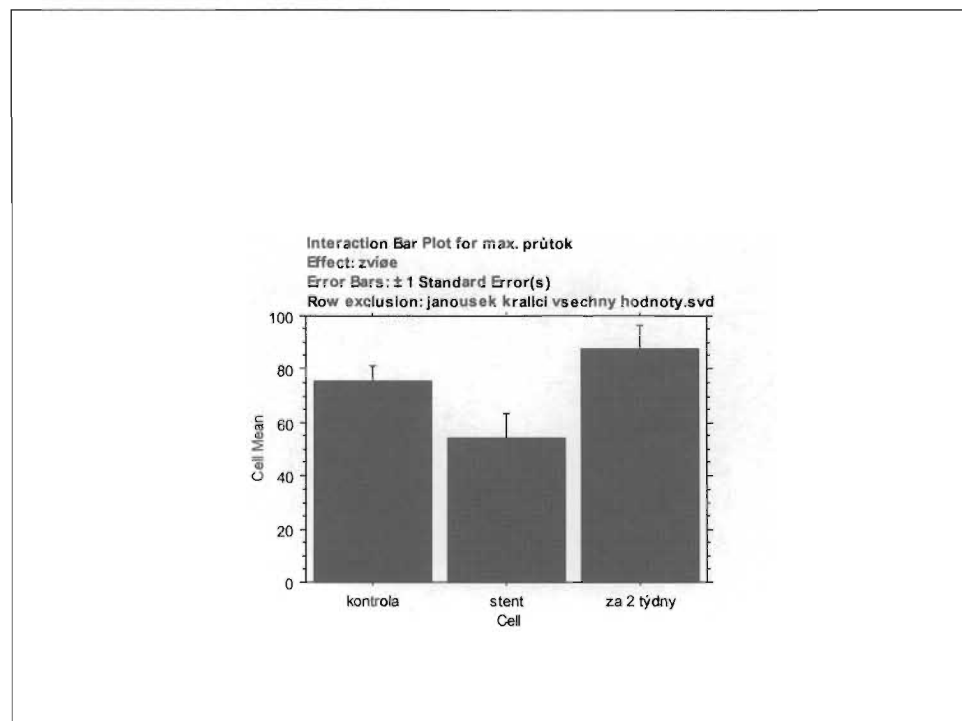




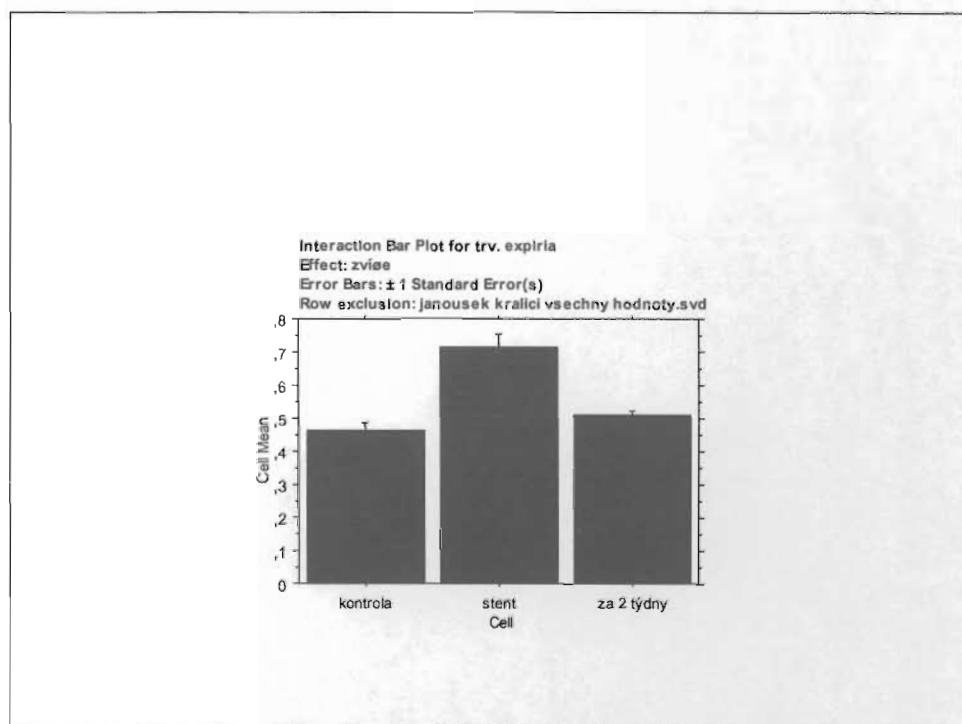
Graf 28. Celkový odpor plic



Graf 29 Maximální průtok



Graf 30 Trvání expiria



## ZÁVĚR K MĚŘENÍ DECHOVÝCH FUNKCÍ

Nezaznamenali jsme významnou změnu dechové frekvence mezi kontrolní a pokusnou skupinou zvířat. Frekvence mírně poklesla po vytvoření experimentální stenózy, ale po 14 dnech se dostala na původní hodnoty. Dechový objem je po vytvoření stenózy i po 14 ti dnech po zavedení stentu výrazně menší, ne však signifikantně, i když velká směrodatná odchylka může budit opačný dojem. Minutová ventilace zůstala statisticky bez rozdílu, přestože byla frekvence nezměněná a dechový objem výrazně u stentovaných poklesl. Zaznamenali jsme pokles plicní poddajnosti u skupiny se zavedeným stentem.

Celkový odpor plic po vytvoření stenózy statisticky významně stoupl, po 14 ti dnech od zavedení stentu klesl na původní hodnoty. Maximální průtok byl statisticky nevýznamně ovlivněn u skupiny s vytvořenou stenózou, 14 dní po

zavedení stentu byly hodnoty opět srovnatelné s kontrolní skupinou. Obdobné závěry platí pro trvání expiria.

Měření na pletysmografu prokazuje statisticky nevýznamně změněné hodnoty dechového vzoru, charakterizující odpor dýchacích cest, před a po zavedení stentu. Naproti tomu jsme zaznamenali statisticky významné rozdíly těchto veličin před a po vytvoření experimentální stenózy.

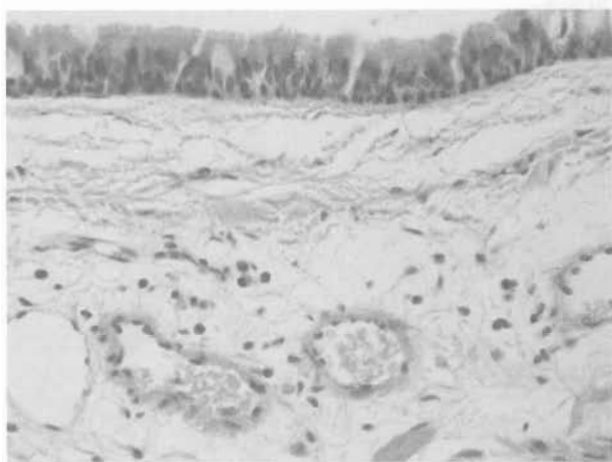
#### 12.4.2.3.2 HISTOLOGICKÉ ZHODNOCENÍ PO IMPLANTACI STENTU DO PRŮDUŠNICE KRÁLÍKA

Respirační epitel s velmi mírnými reaktivními změnami, mírná hypersekrece pohárkových buněk. Řasinkový lem zachován. Ve slizničním stromatu je velmi mírná smíšená zánětlivá celulizace tvořená spíše ojedinělými neutrofily, eozinofily, lymfocyty a plazmocyty. Zcela ojedinělé siderofágy po krvácení. Ve stromatu je mírný edém (obr. 31).



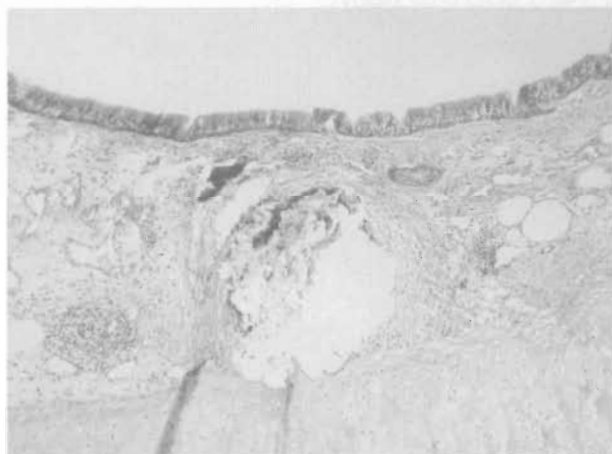
Obr. 31

Epiteliální změny minimální. Výška epitelu je mírně snížena při zachování řasinkového lemu. Počet pohárkových buněk je mírně redukován. V slizničním stromatu je jen velmi mírná lymfoplazmocytární celulizace tvořená drobnými nečetnými skupinkami buněk perivaskulárně. Ve stromatu je mírný edém, místy s dilatací lymfatických cest. Jizvení ve stromatu není mikroskopicky patrné. Výška slizničního stromatu není redukována (obr. 32).



Obr. 32

Výše popsané minimální změny lze porovnat s reaktivními změnami v okolí šicího materiálu, který je ložiskově v preparátech zastížen. Štehy jsou demarkovány objemnějším jizvením a granulační tkání (obr. 33).



Obr. 33

## ZÁVĚRY K HISTOLOGICKÉMU HODNOCENÍ

Vitální reakce na materiál odebraný v 10. dni byla omezena na minimální neutrofilní infiltraci patrnou na vzorku z podkoží potkana v místě, kde se implantovaný materiál přímo setkával se stromatem. Po implantaci do dýchacích cest byla zaznamenána drobná exkoriace v průdušnici potkana, která zřejmě byla způsobena při zavádění implantátu. Králičí průdušnice byla téměř beze změn.

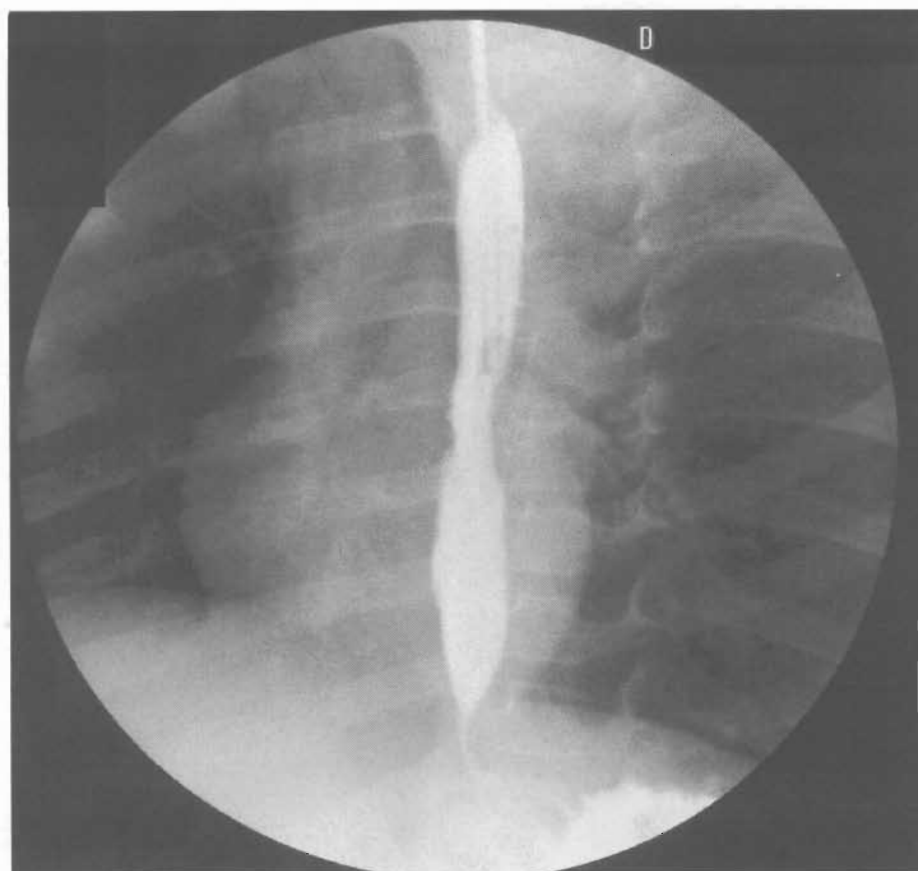
Vitální reakce na materiál odebraný v 30. dni byla v podkoží potkana omezena na jemnou kapsulu v okolí materiálu. V průdušnici potkana i králíka byly změny omezené prakticky jen na minimální lymfoplazmocytní infiltraci, reaktivní jizvení jsme neprokázali.

## 12.5. JÍCEN

### 12.5.1. ZÁMĚR

V souvislosti s dilatacemi striktur v oblasti průdušnice nás zaujaly možnosti využití stentů z poly HEMA i pacientů s poleptáním jícnu, u nichž je jednou z nejzávažnějších komplikací postkorozivní striktura. Již vzniklá striktura je obtížně ovlivnitelná a obvykle restenozuje. Vlastnosti zkoumaného stentu se jevily pro oblast jícnu výhodné. Zároveň se nabízela možnost použít stent primárně jako prevenci vzniku postkorozivní striktury. Chtěli jsme využít možnosti přizpůsobit stent na míru pacientovi, to znamená že by měl odpovídat šíři, expandibilitu a umístění v oblasti největšího zúžení. Plánovali jsme digitalizovat RTG dokumentaci (RTG polykacího aktu) a pomocí speciálního software získat trojrozměrnou rekonstrukci zúženého jícnu. (obr. 34)

Obr. 34 RTG dokumentace – pasáž jícnem u paciera s postkorozivní strikturou jícnu



Na základě těchto výsledků by byl vyvinut stent na míru. Otázkou zůstávala fixace stentu. Vzhledem k tomu, že by bylo možno modifikované stenty použít i jako prevenci vzniku striktur rozhodli jsme se pro metodu seriového potažení běžné nazogastrické sondy stenty z polyHEMA. Výhodnou vlastností se jevílo použití další vlastnosti polyHEMA – nasákavosti – k nasycení stentu kortikoidy, jejichž lokální působení bylo popsáno jako protektivní pro vznik jizvení (12).

### 12.5.2 VÝSLEDKY

Vybrali jsme pacienty u nichž byla dostupná RTG dokumentace v rámci programu balónkových dilatací. Na základě digitalizace RTG dokumentace jsme vyvinuli program pro určení přesného místa největší stenózy luminizovaného

orgánu (v našem případě byl tento program využit pro měření jícnu). Program je dostupný u autora.

Experimentálně jsme potáhli stávající nazogastrické sondy biokompatibilním materiálem na bázi poly-HEMA hydrogelu. Postupně jsme dospěli k modelu, kdy je na sondu navlečeno několik tubulizovaných částí hydrogelu, tak aby byla zachována flexibilita sondy (obr. 35). Fixace je zajištěna jednak zbotnáním materiálu a jednak drobnými preformovanými výstupky na konci serie, aby nedošlo k posunu, nebo stažení jednotlivých dílků.

Sondy nebyly dosud aplikovány, před jejich klinickým použitím je třeba ještě doplnit další preklinické testy.

Obr. 35 Modifikovaná nazogastrická sonda, původní návrh





## 13. DISKUZE

### 13.1. DISKUZE K POUŽITÍ STENTŮ U DĚTÍ

Použití stentů se široce uplatňuje při léčbě stenotických onemocnění dýchacích cest dospělých jako **primární modalita** i jako **podpora** zajišťující dostatečný průsvit lumen po dobu hojení po rekonstrukčním výkonu. Dilatace stenóz a striktur pomocí stentů se jeví výhodně i pro využití u dětských pacientů.

Za hlavní výhody stentování lze považovat :

a)omezený zásah do struktur – u dětí křehké, rostoucí se zárodečnými centry, jež mohou být chirurgickým zákrokem poškozena

b) dlouhodobější efekt než dilatace; „pojistka“ udržení lumina a s tím spojené nižší nároky zejména na anestezii při opakovaných dilatacích.

Naproti tomu lze definovat nevýhody stentování a to především :

a) v hojení – lokální zánětlivá reakce

b) změna polohy

c) stagnace sekretů

d) útlak stěny

e) granulace při okrajích

Čím vyšší biologická inertnost, přizpůsobivost a nastavitelnost vlastností materiálu, tím méně jsou tyto problémy vyjádřeny.

V základních monografiích dětské otorinolaryngologie bývá stentování zmiňováno pouze jako pomocná metoda po chirurgické rekonstrukci. Autoři uvádějí nejčastěji silikonové stenty a k výrobnímu materiálu nemají výhrad. (15,39,40,166). Obecně lze konstatovat, že v léčbě stenózujících procesů dýchacích cest u dětí je jednoznačně preferováno chirurgické řešení. Přesto lze najít souborné práce pojednávající o použití stentů. Velké prospektivní studie v rámci EBM však k dispozici nejsou.

První zmínky o použití stentů při řešení laryngotracheálních stenóz u dětí se objevují již v 80. letech v práci Schuellerera, který popisuje implantaci silikonového stentu u 7 pacientů a výsledky hodnotí pozitivně (132 ). Stejně vyznívá práce Fajstavra a Voldřicha, kteří používali stenty z biopolymerů (hydron ) sycené ampicilinem v léčbě traumatických striktur u dětí, resp. u válečných poranění (49, 158). Počátkem osmdesátých let je publikováno několik prací Eliachara, který používal Motgomeryho T trubici jednak samostatně k léčbě pacientů s popáleninami a jednak jako výztuhu po experimentálních rekonstrukcích laryngotracheálního komplexu posunem jazyčky resp. muskulokutánním lalokem (42-44). Koncem 80. let bylo zveřejněno několik prací Zalzala a Cottona, které se zabývají laryngotracheálními rekonstrukcemi u

dětí (30-32). Zalzal popisuje soubor 51 pacientů u nichž po provedení krikoidního splitu byl použit silikonový Aboulkerův stent. Zároveň popisuje rupturu Aboulkerova stentu u 5 ti pacientů.(174-177). Dumon ve své práci charakterizuje soubor 154 silikonových stentů použitých u 86 pacientů (dospělých i dětských), z nichž u 15 došlo k posunu a u 28 zaznamenal granulace při okrajích (39,40). Colt používal bronchiální silikonové stenty u pacientů po transplantaci plic (27). Froehlich referuje o 12 ti pacientech se subglotickou stenózou u nichž použil dlouhodobé stentování silikonovou Montgomeryho kanylou (105). Metodu hodnotí v porovnání s chirurgickým řešením jako výhodnější (58). Slonim popisuje zavedení Palma stentu pro tracheobronchiální stenózu (137). Zajímavá je práce Willnera a Rubena, kteří zaznamenali po použití silikonového T stentu u 4 pacientů po rekonstrukci sice lepší pooperační rehabilitaci hlasu a polykání, ale u 3 z nich restenózu a granulace (169). Obsáhlá práce Gaisserta s Grillem srovnává silikonový T stent s klasickou tracheostomickou kanylou. T stent shledávají jako metodu volby u chirurgicky neřešitelných stenóz (60). Cotton shrnuje zkušenosti s léčbou 800 pacientů se stenózou dýchacích cest a preferuje chirurgické řešení (32). Filler a Furman podporují použití metalických stentů u pacientů s tracheomalácií u nichž selhala chirurgická léčba (51, 52, 59), což je zcela v protikladu k ostatním pracem, jež použití metalických stentů považují za opsolentní ( 92,165). Mehta také preferuje použití endoskopických metod se zavedením stentů (102). Nicolai prezentuje kazuistiku s použitím Streckerova bifurkálního stentu u pacienta s rekurencí rhabdomyosarkomu, který na základě toho mohl být extubován (109). Fraitag implantoval dynamický stent 28 pacientům po operaci tracheoezofageální píštěle a výsledky hodnotí jako vynikající (57). Filler hodnotí použití balónkového Palmaz stentu. U pacientů s tracheomalácií u 60 % popsali tvorbu granulací, z nichž 1x při odstranění stentu došlo k úmrtí pacienta; u pacientů po chirurgické rekonstrukci byla doba zavedení stentu 13-56 měsíců a stenty byly odstraněny bez komplikací. U pacientů s extratracheální obstrukcí

20% stentů změnilo polohu. Závěrem hodnotí rozdílné reakce stentů u různých indikačních diagnóz a doporučuje časnější odstranění (57). Z nejnovějších prací Jacobs zaváděl stenty u 40 dětských pacientů, z toho 28 po rekonstrukcích hrtanu, ale u 4 byly stenty použity jako endoskopický výkon. Používal výhradně silastikové stenty. Ze souboru 5 pacientů zemřelo na komplikace po zavedení stentů – krvácení, mediastinitida (80). Nicolai sledoval soubor 7 pacientů, s tracheobronchomalácií u nichž byl zaveden metalický stent, 2 pacienti zemřeli na komplikace zavedení (110). Choudhury řešil problematiku celkové intravenózní anestezie propo-folem, jež prokazoval vyšší kardiovaskulární stabilitu u dětí, kterým byl zaváděn stent (78). Rieger seznamuje s použitím Nitinolových metalických stentů v rámci studie 53 pacientů, z nichž ale jen 3 byly děti. Nitinolový stent považuje za kompromisní u maligních stenóz (127). Kumar hodnotí výsledky své studie se stentováním dětí s tracheomalácií jako sporné (86). Tsai hodnotí použití silikonových stentů Palmaz u dětí jako výhodné (152). Phillips doporučuje použití silikonového Montgomeryho T stentu u dětí s jinak neřešitelnou subglotickou stenózou (119).

Časový faktor, kdy byl stent zaveden se u všech prací pohybuje v rozmezí několika dní až několika let. Jako techniku konzervativního stentování lze označit aplikace cytostatiky Mitomycinu C (68,123) do stenózy. Práce týkající se této metodiky jsou ojedinělé. Poslední práce z roku 2006, které se zabývají problematikou stentování, se týkají pooperační péče po transplantaci plic a o způsobech tryskové ventilace při endoskopických laryngotracheálních rekonstrukcích se zajištěním stanty (6, 77,126).

## 13.2. DISKUZE K SOUBORU PACIENTŮ

Názory na léčbu chronických stenózujících procesů dýchacích cest u dětí jsou mnohdy kontroverzní. Případy nejsou časté a v literatuře se objevují

soubory koncentrované na specializovaných pracovištích , které zpravidla obhajují jeden, nebo několik málo způsobů ošetřování.

Léčba založená v první řadě na dilatacích bužijemi a na balónkových dilatacích vychází z dobrých zkušeností s touto technikou především u středně závažných stenóz (93,95). Není natolik zatěžující a náročná jako chirurgický zákrok. K dosažení efektu je třeba výkon několikrát opakovat. Chirurgická léčba je indikována tam, kde dilatace k vyřešení problému nestačí nebo jsou z podstaty problému nepoužitelné (rozštěpy, traumata, tumory ). Na rozdíl od některých autorů, kteří preferují chirurgický zákrok hned v novorozeneckém věku (62), před založením tracheostomie a provádí ji až při selhání postupu, je další skupinou autorů doporučován konzervativní přístup. Domníváme se že řešení stenózy v pozdějším věku je výhodnější. Za sledované období jsme neměli větší obtíže s pacienty u kterých byla v novorozeneckém věku provedena tracheostomie. Tito pacienti byli po léčbě bez obtíží dekantováni, pokud jejich celkový stav nebyl takový, že na jiná, přidružená onemocnění zemřeli ještě před léčbou. Překvapil nás velmi malý počet pacientů s posttracheostomickou stenózou v našem souboru na rozdíl od některých literárních údajů (62,79). Z chirurgických postupů dáváme přednost expanzivní (rekonstrukční) technice. Hlavním přístupem do dýchacích cest byla laryngofissura cestou thyrotomie. Jako expanzní materiál jsme použili chrupavku ze žebra či z boltce s perichondriem na zevní straně. Nemáme větší zkušenosti s resekcími výkony. V uvedeném období byly provedeny 3 – 2 resekce trachey (1 pouřazová, 1 pro maláci s plastikou perikardem, a 1 krikotracheální resekci pro úraz).

Endoskopické operační techniky jsou vymezené pouze pro úzké spektrum diagnóz – discize laryngeálních přepážek, synechií, laterofixace hlasivky či submukózní resekce arytenoidní chrupavky. Tyto techniky se prakticky netýkají hlavní skupiny pacientů se subglotickou stenózou či tracheomalácií. Při léčbě subglotických hemangiomů zahajujeme léčbu konzervativním postupem –

podáváním kortikoidů, ale musíme počítat s řešením zevním přístupem, šetrným odstraněním tumoru následovaným krátkodobou intubací po operaci.

V posledních 2 letech jsme začali s technikou aplikace Mitomycinu C do stenóz, která má zatím pozitivní výsledky. Ke zhodnocení bude však třeba delšího času a většího množství pacientů.

Zavádění stentů po rekonstrukčních zákrocích je u dospělých pacientů výhodné, ale materiály a tvary stentů používané u dospělých se nedají v plné míře používat u dětí (16, 86). Velkým problémem je nedostatek vhodných velikostí. Určitou naději přinášejí poslední práce v této oblasti, které se opírají o rozvoj aplikací nových technologií a materiálů – biopolymerů (2, 121).

### 13.3. DISKUZE K VLASTNÍMU EXPERIMENTU

#### 13.3.1. MATERIÁL

Mnoho vlastností polyHEMA (poly(2-hydroxyethyl methakrylát), jako netečnost, nízká specifická váha, biokompatibilita, propustnost a tvárnost, přispívají k jeho atraktivitě v medicínském využití (74). Jeho použití bylo testováno a prakticky užíváno v mnoha biomedicínských oborech - v oftalmologii, náhradách měkkých tkání, v otorhinolaryngologii, stomatologii, ortopedii a biotechnologii (98).

Medicínské využití polyHEMA můžeme rozdělit na vnitřní, při kterém je materiál v přímém kontaktu s tkání, a mimotělní. Další podrozdělení (107, 117) rozlišuje mezi použitím polyHEMA pro opláštění (materiály k šití, katétry, krevní detoxikanty, vaskulární transplantáty, substráty buněčných kultur, krevně-kompatibilní materiály a senzory) a jako homogenního materiálu (elektrody pro oxidaci vázané glukózy, systémy pro dávkování inzulínu, kontaktní čočky, umělé rohovky, náhrady sklivců, prsní implantáty nebo náhrady jiných měkkých tkání, arteficielní embolie, léčba popálenin, materiály



pro růst kostí, membrány pro hemodialýzu, částicové nosiče protilátek, plasty vazů, zařízení pro dávkování antibiotik a protinádorových léčiv, podpora po resekci jater, protézy močových, umělé hrtany, výplně zubních kanálků, zubní protézy a mikročástice pro zjišťování biokompatibility). Při posledně zmíněném použití (28) byla polyHEMA používána buď jako homopolymer, nebo v jiných formách jako kompozit - polymerová směs, nebo jako kopolymer (např. s hydrofobním komonomerem pro zvýšení mechanické síly).

Vezmeme-li v úvahu dlouhý seznam biomedicínského použití polyHEMA, dalo by se předpokládat, že úspěšnost těchto pomůcek je vysoká. To je ovšem pravda pouze jen v některých případech, protože v jiných je stále ještě běžná vysoká míra závadovosti, či se jedná o zařízení ve stádiu testování. Žádná syntetická náhražka nemůže pracovat tak dobře jako původní zdravý orgán, na druhé straně jistý stupeň funkčnosti, které tyto náhražky poskytují pacientům odkázaným na omezenou aktivitu nebo s fatálním onemocněním, může významně přispívat ke zlepšení kvality jejich života.

### 13.3.2 FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI

S ohledem na odchylky vyjádřené v procentech je hodnota Youngova modulu věrohodná. Vyšší hodnoty odchylek u HEMA se dají zdůvodnit tím, že HEMA je materiál, který na vzduchu poměrně rychle tvrdne (všechny zkoušky byly prováděny na vzduchu) a musí se s ním velmi jemně zacházet také při uchycování do čelistí zkušebního přístroje; lehko se stane, že se HEMA velkým tlakem svírajících čelistí rozdrťí. Příčiny chyb naměřených hodnot  $E_{HEMA}$  mohou být: malé prokluzování v čelistech, nepřesně změřený obsah plošného průřezu, "dlouhý" pobyt HEMA na vzduchu.

Hodnoty meze pevnosti mají u všech materiálů, vyjma stentu, zhruba stejnou přesnost měření a dají se ještě považovat za pravdivé. Hodnoty naměřené u stentu se dají považovat pouze za orientační, neboť měření bylo nejspíše z velké části ovlivněno okrajovými podmínkami. Výsledky nemění pohled na materiál a možnosti jeho použití a jsou v korelaci s ostatními měřeními.

### 13.3.3 BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI

#### 13.3.3.1 DECHOVÝ VZOR

##### 13.3.3.1.1 POTKANI

###### 13.3.3.1.1.1 ZMĚNY FUNKČNÍ REZIDUÁLNÍ KAPACITY PLIC

Funkční reziduální kapacita plic (FRC) je definována jako objem vzduchu, který v plicích na konci klidného výdechu (2). Zahrnuje expirační rezervní objem a reziduální objem. Je hodnotou poměrně stálou. U zdravého člověka při klidovém dýchání odpovídá relaxačnímu objemu respiračního systému, který je dán rovnováhou mezi relaxačním objemem plic (minimální objem které plíce zaujmou po vynětí z hrudníku) a relaxačním objemem hrudní stěny (objem který hrudník zaujme nepůsobí-li na něj plíce). Nízká poddajnost hrudní stěny udržuje FRC při zmenšování objemu plic na vyšší úrovni než je uzávěrový objem (objem plic při němž se začínají uzavírat dýchací cesty).

Protože je definice klidového výdechu nepřesná používá se někdy místo FRC obecnější termín “end-expiratory lung volume“ (EELV).

Změna FRC může nastat dvěma mechanismy: dynamickým nebo statickým. O dynamické změně FRC hovoříme je-li změna závislá na ventilaci. Statické zvětšení FRC existuje i v nepřítomnosti dýchacích pohybů (116).



Nárůst FRC připisovaný hypoxii popsal poprvé Verzár u králíků a psů v roce 1933 (155). Byl potvrzen u lidí (131), a laboratorních zvířat, např. laboratorních potkanů (17). Přesto se dosud nepodařilo objasnit mechanismus a publikované výsledky z této oblasti nejsou jednotné.

Jaký význam má zvýšení FRC v hypoxii je předmětem diskusí. Původní představa o zvětšení difuzní plochy se nepotvrdila. Bonora a Vízek (18) ukázali, že jde o mechanismus, který by mohl kompenzovat počáteční zvýšení odporu dýchacích cest v hypoxii.

#### 13.3.3.1.1.2 SEKUNDÁRNÍ POKLES VENTILACE

Hypoxie vyvolá u samců nárůst minutové ventilace změnou frekvence dýchání i dechového objemu. Tento nárůst je tím vyšší čím větší je hypoxický stimulus. Ventilace nesetrvává na maximální dosažené hodnotě, ale klesá na novou úroveň. Pro tento jev se používají termíny bifázická ventilační odpověď na hypoxii, hypoxická ventilační reakce (HVR), případně „roll-off“ fenomen. Je výraznější u bdělých zvířat, ale je přítomna i v celkové anestezii (156).

Zavedení stentu nemá vliv na dechovou frekvenci. Při zúžení dýchacích cest a současném snížení dechového objemu a zachovalé minutové ventilaci, se dalo očekávat, že frekvence stoupne. Dechový objem byl u skupiny se stentem signifikantně nižší. Příčinou bylo zvýšení odporu dýchacích cest po zavedení stentu nejspíše pooperčním otokem dýchacích cest. Minutová ventilace zůstala zachována, což spolu s neměnnou frekvencí, svědčí o nepřítomnosti hypoxie. Můžeme tedy konstatovat, že zavedení stentu nezpůsobuje hypoxii pokusného zvířete. Pro pokles poddajnosti plicní nemáme vysvětlení. Zavedení stentu by nemělo poddajnost plicní ovlivňovat, neboť se jedná o veličinu nezávislou na odporu horních dýchacích cest. Funkční reziduální kapacita plic, která by měla při hypoxii stoupnout, nebyla zavedením stentu ovlivněna. Celkový odpor plic

statisticky významně stoupl. Zdůvodnění shledáváme v pooperačním otoku, který neodezněl po dobu, po které jsme zvířata sledovali. Všechny výsledky jsou dozajista modifikovány nepoměrem velikosti průměru průdušnice potkana k vynuceným minimálním rozměrům stentu.

#### 13.3.3.1.2 KRÁLÍCI

Zaznamenaný pokles frekvence po podvazu průdušnice je způsoben pravděpodobně barbituráty použitými při anestezii, které tlumí dechové centrum. Stejně jako u potkanů jsme zaznamenali pokles plicní poddajnosti po zavedení stentu. Zavedení stentu však nedává důvod pro změnu plicní poddajnosti. Příčina je neznámá, vzhledem k tomu, že se jedná o statisticky nevýznamný rozdíl, může se jednat o chybu měření. Celkový odpor plic po podvázání průdušnice logicky stoupl, významné je, že po zavedení stentu a odeznění pooperačního otoku, došlo k poklesu až k hodnotám srovnatelným s kontrolní skupinou. Obdobné závěry platí i pro trvání expiria. Zaznamenali jsme, že i při stentování průdušnic s velmi malým průměrem byly pozorované změny slučitelné s možností působení přípravku delší dobu.

Ostatní výsledky jsou obdobné jako u potkanů, kde jdou diskutovány.

#### 13.3.3.2 TKÁŇOVÁ REAKTIVITA

Vitální reakce na materiál odebraný v 10. dni z podkoží potkana byla omezena pouze na minimální neutrofilní infiltraci v místě, kde se implantovaný materiál přímo setkává se stromatem. Tuto reakci lze považovat za zcela nespecifickou. Drobná exkoriace v průdušnici potkana, byla zřejmě způsobena při zavádění implantátu. Králičí průdušnice byla téměř beze změn.

Vitální reakce na materiál odebraný v 30. dni byla v podkoží potkana omezena na jemnou kapsulu v okolí materiálu. V průdušnici potkana i králíka

byly změny omezené prakticky jen na na minimální lymfoplazmocytární infiltraci, reaktivní jizvení jsme neprokázali. Uvedené změny svědčí o minimální indukci zánětlivé odpovědi, kterou lze charakterizovat jako nespecifickou. Minimální přestavba mucinózních elementů a nepřítomnost poškození sliznice zejména v místech na okrajích stentů potvrzuje vysokou míru biokompatibility materiálu.

#### 13.4 DISKUZE K POUŽITÍ STENTŮ U PACIENTŮ S POSTKOROZIVNÍ STRIKTUROU JÍCNU.

První zmínka o stentování jícnu jako prevenci jizvení je z roku 1976, kdy Hill zavedl silikonový stent dvěma dětem s korozivní ezofagitidou. Výsledky byly uspokojující (71). Asprioz o 10 let později referuje též o použití silastikového stentu u dětí po poleptání jícnu (8). Coln s Changem referují o skupině 7 pacientů, u nichž byl použit intraluminální stent k prevenci jizvení. U 3 pacientů však k jizvení došlo. Zdůvodňují to předčasným odstraněním stentu, kdy tkáň ještě nebyla stabilizována (26). Berkovits v souboru 17 tí pacientů úspěšně používal modifikovaný silikonový bronchiální stent k udržení lumina a přesto, že nepodával kortikosteroidy, nedošlo u žádného pacienta k progresi jizvení (13, 21). V posledních letech psali o používání silikonových stentů – Broto u 7 pacientů (20). Smirnov u 79 pacientů a Zhou u 28 pacientů (138, 178). Vesměs hodnotí použití stentů jako prospěšné. Diskutovány jsou různé tvary a způsoby fixace stentů. Song zavedl u 3 dětí samoexpandibilní stent nitinol-titan s dobrými výsledky (142). Edvard naproti tomu preferuje užití samoexpandibilních plastických stentů u benigních ezofageálních stenóz, není však přesně definováno chemické složení materiálu a v souboru není zmínky o postkorozivních strikturách (48). Nejvíce autorů preferuje zavedení nazogastrické sondy, nejčastěji polyethylenové , jednak jako prevenci

postkorozivních srůstů, jednak jako prostředek k zajištění výživy (7,20,48,142,178).

Se zaváděním nazogastrické sondy máme vlastní dobré zkušenosti na našem pracovišti, kde ji ponecháváme u těžších poleptání na dobu šesti týdnů. Za sledované období jsme zaznamenali pouze u 12 pacientů (2.5 % všech ošetřených pro poleptání jícnu) rozvoj postkorozivní striktury. Někteří autoři zavádění nazogastrické sondy odmítají, uvádějí, že lepší pro hojení je brzké polykání a zavedení sondy má za následek jizvení jícnu (89).

Závažným nedostatkem stávajících nazogastrických sond je nízký stupeň biokompatibility materiálu polyethylen, z něhož jsou vyrobeny. Potažením biokompatibilním hydrogelem by byla tato vlastnost eliminována, při zachování potřebných vlastností sondy – průsvit, fixace. Zejména ve starších pracích jsou preferovány časné dilatace bužemi. Jeví se nám jako riskantní pro riziko perforace stěny jícnu a poškození granulační tkáně naslepo zaváděnou buží. Tyto důvody vedly k nahrazení dilatací postkorozivních striktur bužemi nebo olivkami na nekonečné niti bez optické kontroly dlouhodobě ponechanou sondou (7).

## 14. ZÁVĚR

Léčba benigních stenózujících procesů hrtanu a krční části průdušnice u dětí je především chirurgická. Nejčastěji v literatuře doporučovaným výkonem je zadní krikoidní split s použitím štěpu z žeberní chrupavky. Použití stentů se doporučuje zejména jako pooperační zajištění lumina. Dominantním materiálem používaných stentů je silikon. Typově jsou zmiňovány zejména Dumonovy a Montgomeryho T stenty. U laryngotracheomalácií jsou některými autory doporučovány metalické stenty, jejichž použití však může mít fatální následky.

Na našem pracovišti máme dobré zkušenosti se šetrnou léčbou založenou zejména na opakovaných dilatacích středně velkých zúžení. Radikální chirurgická rekonstrukční nebo resekční léčba je indikována jen u malého počtu dětských pacientů. Některé nové techniky, jako aplikace Mitomycinu C, nebo zavádění stentů z biokompatibilních polymerních materiálů by mohly výrazně zlepšit a usnadnit péči o malé děti s chronickým zúžením dýchacích cest.

Zmínky o použití stentů v prevenci postkorozivních striktur lze označit jako ojedinělé. Z materiálů je preferován silikon, nejčastěji ve formě bronchiálních modifikovaných stentů.

Použití stentů v léčbě stenóz a striktur dýchacích a polykacích cest se jeví jako možná významná alternativa k chirurgii nebo jako podpůrná metoda udržení lumina po rozsáhlejších chirurgických zákrocích. Jejich implantace nevyžaduje otevřený přístup, je však náročné zajistit fixaci stentu, jeho monitoraci a bezproblémové odstranění.

V experimentu vyvinutý stent je zkonstruován z materiálu – poly - HEMA s řadou výhodných vlastností, pro které je úspěšně používán v mnoha medicínských oborech.

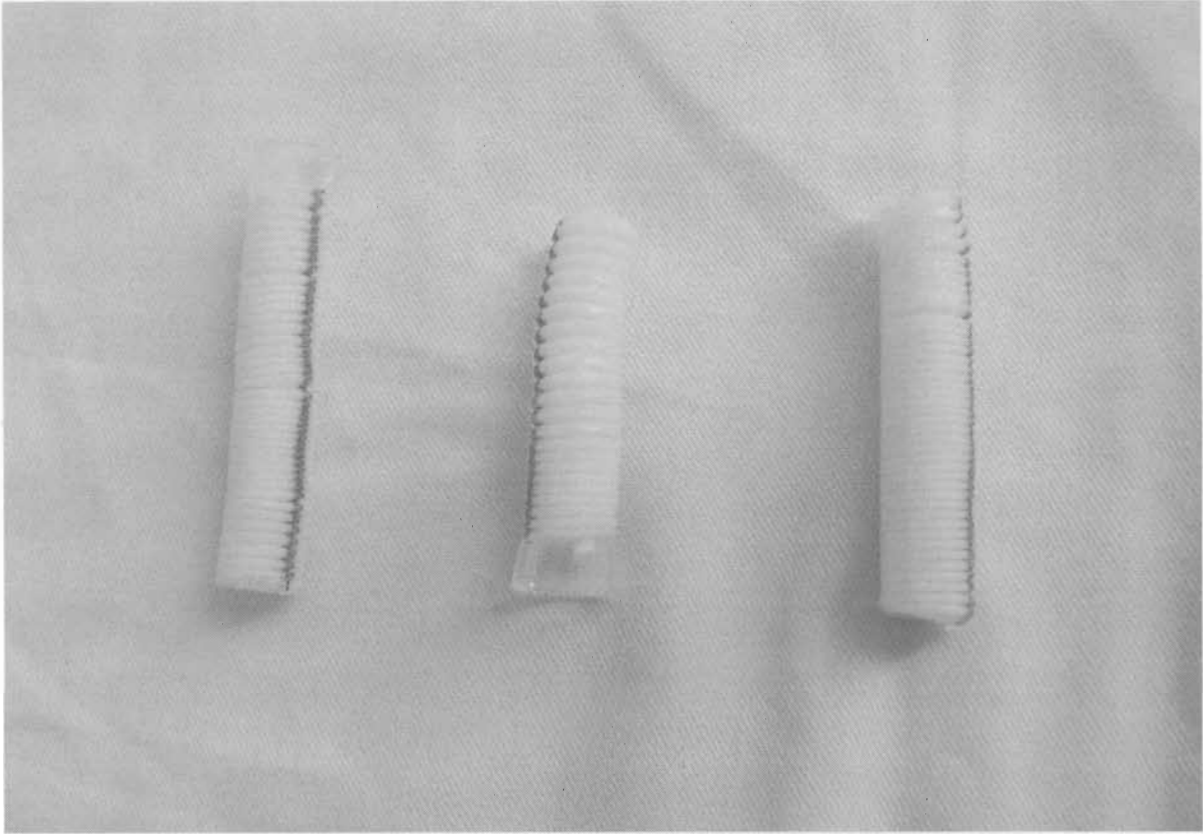
Pevnost materiálu a srovnání dalších vlastností s nejpoužívanějším materiálem silikonem potvrdily dostatečnou mechanickou stabilitu nového stentu. Prokázali jsme mikrobiologickou inertnost, absenci růstu bakterií i plísní. Během experimentů na zvířeti byla prokázána tkáňová biokompatibilita, materiál nevyvolával zánětlivou reakci ani v podkoží ani na sliznici průdušnice. Samoexpandibilní fixace nastavitelným pružným tlakem k okolí zabraňuje tvorbě obávaných granulací.

Parametry dechového vzoru získaných měření na pletyzmografu u experimentálních zvířat prokazují normalizaci dechových funkcí po implantaci stentu do experimentálně vytvořené stenózy.

Nový stent z biokompatibilního polymeru s definovanými vlastnostmi (nasákavost, botnavost) se podle provedených pokusů a měření jeví velmi vhodný pro použití u pacientů.

Obdobným způsobem naše nově navržená modifikovaná nazogastrická sonda se jeví jako výhodné zlepšení v péči o pacienty s poleptáním jícnu.

Obr. 36 Dilatační stenty vyvinuté v projektu





## 15. PODĚKOVÁNÍ

Práce byla koncipována s ohledem na kooperaci jednotlivých teoretických i praktických oborů. Finanční zajištění materiálových nákladů bylo možné díky laskavosti nadačního fondu OReL. Vlastní práce se mohla uskutečnit vstřícností vedení Ústavů fyziologie; histologie a embryologie; a patofyziologie UK, 2. LF, Ústavu teoretické a aplikované biomechaniky AVČR, ORL kliniky UK, 2.LF a FNM, Kliniky zobrazovacích metod UK, 2.LF a FNM, Ústavu makromolekulární chemie AVČR, Kliniky patologie a molekulární medicíny UK 2.LF a FNM.

Doc. MUDr. Zdeňku Kabelkovi patří poděkování jako školiteli.

Další osobní poděkování patří pak zejména těm, kteří se svými zkušenostmi a zaujetím pro vyřešení problému přispěli ke zdaru práce bez nároku na odměnu:

MUDr. Alena Baňasová – Ústav fyziologie UK, 2.LF

MUDr. Pavel Grabec – Klinika chirurgie UK, 2.LF a FNM

Prof. MUDr. Jan Herget, DrSc. - Ústav fyziologie UK, 2.LF

Ing. Ondřej Jiroušek, PhD – Ústav teoretické a aplikované biomechaniky AVČR

MUDr. Petr Lesný – ORL klinika UK, 2.LF a FNM

MUDr. Jiří Lisý, CSc. – KZM UK, 2.LF a FNM

MUDr. Hana Maxová, CSc. – Ústav patofyziologie UK, 2.LF

Ing. Martin Příkladný, CSc. – Ústav makromolekulární chemie AVČR

MUDr. Jan Soukup – Ústav patologie a molekulární medicíny UK, 2.LF a FNM

Doc. Ing. Jiří Vacík, CSc. Ústav makromolekulární chemie AVČR

MUDr. Gizela Veselá - ORL klinika UK, 2.LF a FNM

Doc. MVDr. Luděk Vajner, CSc. – Ústav histologie a embryologie UK, 2.LF

Kamila Zelenková - Ústav teoretické a aplikované biomechaniky AVČR

Kolektiv laborantek Ústavů histologie a patofyziologie UK, 2.LF



## 16. LITERATURA

1. Abdullah V; Yim AP; Wormald PJ; van Hasselt, C.A.:Dumon silicone stents in obstructive tracheobronchial lesions: the Hong Kong experience. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 118(2):256-60 1998 Feb
2. Agostini, E., Mead, J.: Statics of respiratory systém. In: Fenn, W.O., Rahn, H. eds.: *Handbook of Physiology. Section 3. Respiration. Vol.I. american Physiological Society, Washington D.C., 1964, s.387-409.*
3. Ahmed A, Spitz L The outcome of colonic replacement of the esophagus in children. *Prog Pediatr Surg*, 1986; 19:37-54
4. Alpar J J, Fechner P U : *Fechner's Intraocular Lenses*, Thieme Inc., New York, 1986.
5. Anderson J M, Koinis T, Nelson T, Horst M, Love D S, The slow release of hydrocortisone sodium succinate from poly(2-hydroxyethyl methacrylate) membranes, in Andrade J D (Ed), *Hydrogels for Medical and Related Applications*, ACS Symp. Ser. 31, 1976, pp. 167-179.
6. Anton-Pacheco JL, Cano I, Comas J, Galletti L, Polo L, Garcia A, Lopez M, Cabezali D. :Management of congenital tracheal stenosis in infancy.*Eur J Cardiothorac Surg*. 2006 May 1
7. Ashcraft KW, Simon JL.: Accidental caustic ingestion in childhood: a review. *Texas Medicine* 68(1972), 86-88
8. Aspiroz J, Ortiz Nolasco A, Garcia Garduno JR, Gutierrez VE.: Use of a silastic stent in the prevention of stenosis of the esophagus secondary to burns due to the ingestion of a caustic: preliminary report; *Rev Gastroenterol Mex*. 1985 Oct-Dec;50(4):273-6.
9. Backer, C. L., Mavroudis, C., Dunham, M. E., Holinger, L. D.: Repair of congenital tracheal stenosis with a free tracheal autograft. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 115, 4, 1998, s.869-874.
- 11 Bar FW, van der Veen FH, Benzina A, Habets J, Koole LH : New biocompatible polymer surface coating for stents results in a low neointimal response. *J Biomed Mater Res* 2000 Oct;52(1):193-8

12. Bautista, A.: Effects of prednisolone and dexamethazone in children with alkali burns of the esophagus. *Eur J Pediatr Surg* , 6, 1996, 4, s. 198-203.

13. Berkovits RN, Bos CE, Wijburg FA, Holzki J. :Caustic injury of the oesophagus. Sixteen years experience, and introduction of a new model oesophageal stent.*J Laryngol Otol.* 1996 Nov;110(11):1041-5.

14. Betka J., Černý E. : Atlas chirurgie hlavy a krku, Prah, Triton 2005; s.123-145.

15. Bluestone, C.D. , Stool , S.E. (1983) : *Pediatric otolaryngology*, Thieme, New York, 1983, pp.536-542

16. Bolliger, C.T., Probst, R., Tschopp K., Soler, M. : Silicone endoprosthesis in the treatment of tracheobronchial stenosis *Med. Wochenschrift, Schweiz*, 1991 Sep., 121(36):1283-1288

17. Bonora, M., Vízek, M.: Role of vagal fibres in the hypoxia-induced increases in end-expiratory lung volume and diaphragmatic activity. *J. appl. Physiol.*, 83(3), 1997, s.1900-1907.

18. Bonora, M., Vízek, M.: Lung mechanics and end-expiratory lung volume during hypoxia in rats. *J. Appl. Physiol.* 87(1), 1999, s.15-21.

19. Broto J., Asenio M., Soler Jorro C., Marhuenda C., Gil Vernet J.M., Acosta D., Boix Ochoa J.: Conservative treatment of caustic oesophageal injuries in children: 20 years of experience, *Pediatric Surg Int* (1999) 15; 323-325

20. Broto J, Asensio M, Marhuenda C, Gil Vernet JM, Boix Ochoa JB. Treatment of caustic stenosis of the esophagus with self-expanding devices;*Cir Pediatr.* 2001 Jan;14(1):31-3.

21. Berkovits RN, Bos CE, Wijburg FA, Holzki J. :Caustic injury of the oesophagus. Sixteen years experience, and introduction of a new model oesophageal stent.*J Laryngol Otol.* 1996 Nov;110(11):1041-5.

22. Bowers R W J, Tighe B J, Studies of the ocular compatibility of hydrogels. White spot deposits - incidence of occurrence, location and gross morphology, *Biomaterials* 1987, 8, 89-93.

23. Castillo E J, Koenig J L, Anderson J M, Lo J, Protein adsorption on hydrogels. II. Reversible and irreversible interactions between lysozyme and soft contact lens surfaces, *Biomaterials* 1985, 6, 338-345.
24. Cifuentes A, Diez-Masa J C, Montenegro C, Rebuelta M, Gallardo A, Elvira C, San-Román J, Recombinant growth hormone delivery systems based on vinylpyrrolidone-hydroxyethyl methacrylate copolymer matrices: Monitoring optimization by capillary zone electrophoresis, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2000, 11, 993-1005.
25. Cohen DH, Middleton AW, Fletcher J Gastric tube esophagoplasty, *J Pediatr Surg*, 1974;9:451-60
26. Coln D, Chang JH. :Experience with esophageal stenting for caustic burns in children.*J Pediatr Surg.* 1986 Jul;21(7):588-91
27. Colt HG, Janssen JP, Dumon JF, Noirclerc MJ.:Endoscopic management of bronchial stenosis after double lung transplantation.*Chest.* 1992 Jul;102(1):10-6.
28. Corkhill P H, Hamilton C J, Tighe B J, Synthetic hydrogels VI. Hydrogel composites as wound dressings and implant materials, *Biomaterials* 1989, 10, 3-10.
29. Costa C A, Teixeira H M, do Nascimento A B, Hebling J, Biocompatibility of an adhesive system and 2-hydroxyethylmethacrylate, *ASDC J Dent Child* 1999, 66, 337-342.
30. Cotton RT, Myer CM 3rd, Bratcher GO, Fitton CM.: Anterior cricoid split, 1977-1987. Evolution of a technique. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1988 Nov;114(11):1300-2.
31. Cotton RT, Myer CM 3rd, O'Connor DM.:Innovations in pediatric laryngotracheal reconstruction.*J Pediatr Surg.* 1992 Feb;27(2):196-200.
32. Cotton RT, O'Connor DM.:Paediatric laryngotracheal reconstruction: 20 years' experience.*Acta Otorhinolaryngol Belg.* 1995;49(4):367-72.
33. Čejková J, Labský J, Vacík J, Michálek J, Brůnová B, New approaches in clinical ophthalmology: UV absorbers and hindered amines covalently bound to contact lenses. Importance of enzyme histochemistry for examination of their effectiveness in vivo, *Cesk. Oftalmol.* 1997, 53, 279-286.

34. Červený J, Šprincl L, The calcification of poly(glycol methacrylate) gels in experimental and clinical practice, *Polym. Med.* 1981, 11, 71-78.
35. Davies, A., Pirie L., Eyre-todd, R., A.: Adaptation of pulmonary receptors in the spontaneously breathing anesthetized rat. *Eur. Respir. J.* 9(8), 1996, s.1637-1642.
36. De Jong A.L., Macdonald R., Ein S., Forte V., Turner A., Corrosive esophagitis in children: a 30-year review, *Int Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 57(2001), 203-211
37. Dreifus M, Klenka L, Reaction of uveal tract on implantation of synthetic hydrogels, *Cesk. Oftalmol.* 1959, 15, 95-101
38. Dubois, a.B., Botelho, S.Y.: A rapid plethysmographic method for measuring thoracic gas volume: A comparison with a nitrogen washout method for measuring functional residual capacity in normal subjects. *J. Clin. Invest.* 35, 1956, s.322-326.
39. Dumon, J.F.: A dedicated tracheobronchial stent. *Chest* 1990 Feb., 97(2) : 328-332
40. Dumon JF. :A specific tracheobronchial endoprosthesis *Presse Med.* 1989 Dec 16-23;18(42):2055-8.
41. Dvořánková B, Smetana K, Königová R, Singerová H, Vacík J, Jelínková M, Kapounková Z, Zahradník M, Cultivation and grafting of human keratinocytes on a poly(hydroxyethyl methacrylate) support to the wound bed: a clinical study, *Biomaterials* 1998, 19, 141-146.
42. Eliachar I, Marcovich A, Shai YH.:Rotary-door flap in laryngotracheal reconstruction. *Arch Otolaryngol.* 1984 Sep;110(9):585-90.
43. Eliachar I, Moscona AR.:Reconstruction of the laryngotracheal complex in children using the sternocleidomastoid myocutaneous flap. *Head Neck Surg.* 1981 Sep-Oct;4(1):16-21.
44. Eliachar I, Moscona R, Joachims HZ, Hirshowitz B, Shilo R.:The management of laryngotracheal stenosis in burned patients. *Plast Reconstr Surg.* 1981 Jul;68(1):11-7.
45. Elliott MJ; Haw MP; Jacobs JP; Bailey CM; Evans JN; Herberhold C :

Tracheal reconstruction in children using cadaveric homograft trachea. *Eur J Cardiothorac Surg*, 10(9):707-12 1996

46. Epstein E, Use of soft lenses, in Mazzocco T R, Rajacich G M, Epstein E (Eds), *Soft Implant Lenses in Cataract Surgery*, Slack Inc., Thorofare, 1986, p. 1-32.

47. Estrada L E, Dodge G R, Richardson D W, Farole A, Jimenez S A, Characterization of a biomaterial with cartilage-like properties expressing type X collagen generated in vitro using neonatal porcine articular and growth plate chondrocytes, *Osteoarthritis and Cartilage* 2001, 9, 169-177.

48. Evrard S, Le Moine O, Lazaraki G, Dormann A, El Nakadi I, Deviere J. Self-expanding plastic stents for benign esophageal lesions. *Gastrointest Endosc*. 2004 Dec;60(6):894-900

49. Fajstavr J, Vacík J, Possibilities of use of Hydron in treatment of larynx and trachea stenosis, *Polymers in Medicine*, Institute of Macromolecular Chemistry, Edition Macro K-36, Prague, 1982, Book of Abstracts, p. 3.5-1.

50. Fakes M G, Mlodozieniec A R, Zentner G M, Temperature-independent isoviscous effect in ternary systems of water, Tetronic 1307, and HEMA, *J. Colloid Interface Sci*. 1990, 138, 505-514.

51. Filler RM, Forte V, Chait P. :Tracheobronchial stenting for the treatment of airway obstruction. *J Pediatr Surg*. 1998 Feb;33(2):304-11.

52. Filler RM, Forte V, Fraga JC, Matute J. :The use of expandable metallic airway stents for tracheobronchial obstruction in children. *J Pediatr Surg*. 1995 Jul;30(7):1050-5;

53. Filmon R, Basle M F, Barbier A, Chappard D, Poly(2-hydroxyethyl methacrylate)-alkaline phosphatase: a composite biomaterial allowing in vitro studies of bisphosphonates on the mineralization process, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed*. 2000, 11, 849-868.

54. Filmon R, Grizon F, Basle MF, Chappard D, Effects of negatively charged groups (carboxymethyl) on the calcification of poly(2-hydroxyethyl methacrylate), *Biomaterials* 2002, 23, 3053-3059.

55. Filmon R, Chappard D, Montheard J P, Basle M F, A composite biomaterial: poly(2-hydroxyethyl methacrylate)/alkaline phosphatase initiates mineralization in vitro, *Cells Mater*. 1996, 6, 11-20.



56. Frappel, P., Lanthier, C., Baudinette, R.V., Mortola, J.P. : Metabolism and ventilation in acute hypoxia: a comparative analysis in small mammalian species. *Am J. Physiol.* 262, 1992, R1040-1046.
57. Freitag L, Tekolf E, Stamatis G, Greschuchna D. : Clinical evaluation of a new bifurcated dynamic airway stent: a 5-year experience with 135 patients. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1997 Feb;45(1):6-12.
58. Froehlich P, Truy E, Stamm D, Floret D, Morgon A. :Role of long-term stenting in treatment of pediatric subglottic stenosis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1993 Oct;27(3):273-80.
59. Furman RH, Backer CL, Dunham ME, Donaldson J, Mavroudis C, Holinger LD.: The use of balloon-expandable metallic stents in the treatment of pediatric tracheomalacia and bronchomalacia. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1999 Feb;125(2):203-7.
60. Gaissert HA, Grillo HC, Mathisen DJ, Wain JC.:Temporary and permanent restoration of airway continuity with the tracheal T-tube. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994 Feb;107(2):600-6
61. Gaissert HA, Lofgren RH, Grillo HC.:Upper airway compromise after inhalation injury. Complex strictures of the larynx and trachea and their management. *Ann Surg.* 1993 Nov;218(5):672-8.
62. Garabedian EN, Nicollas R, Roger G, Delattre J, Froehlich P, Triglia JM. :Cricotracheal resection in children weighing less than 10 kg. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005 Jun;131(6):505-8.
63. Glotov, V.A.: Využití flexibilní ezofagoskopie k diagnostice poleptání jícnu *Vestn. Oto- rino-laryng.*, 1978, č. 2, s. 75
64. Gumaste, V.V, Dave, P.B.: Ingestion of corrosive substances by adults. *Am. J. Gastroenterol.*, 1992, 87, p.1-7.
65. Gupta S.: Surgical management of corrosive strictures following acid burns of upper gastrointestinal tract, *Eur J Cardio-thorac Surg* (1996) 10, 934-940
66. Gyselinck P, Schacht E, Van Severen R, Braechman P, Preparation and characterization of therapeutic hydrogels as oral dosage forms, *Acta Pharm. Technol.* 1983, 29, 9-12.

67. Hanna, E., Eliachar, I.: Endoscopically introduced expandable stents in laryngotracheal stenosis : the jury is still out .Otolaryngology, Head and Neck Surgery 1997 Jan, 116(1):97-103
68. Hartnick CJ, Hartley BE, Lacy PD, Liu J, Bean JA, Willging JP, Myer CM 3rd, Cotton RT. : Topical mitomycin application after laryngotracheal reconstruction: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2001 Oct;127(10):1260-4.
69. Hartnick CJ, Hartley BE, Lacy PD, Liu J, Willging JP, Myer CM 3rd, Cotton RT.: Surgery for pediatric subglottic stenosis: disease-specific outcomes. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2001 Dec;110(12):1109-13.
70. Hendren WH, Hendren WG. : Colon interposition for esophagus in children, J Pediatr. Surg,1985; 20:829-39
71. Hill JL, Norberg HP, Smith MD, Young JA, Reyes HM.:Clinical technique and success of the esophageal stent to prevent corrosive strictures.J Pediatr Surg. 1976 Jun;11(3):443-50.
72. Hoeve, L.J., Berkovits, R.N.P., Eskici, O., Verwoerd, C.D.A. Acquired laryngeal stenosis in Infants and Children treated by Laryngofissure and Stenting. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology 35/1996/ 250 – 261
73. Horák D, Guseinov E, Vishnevskii V, Adamyan A, Kokov L, Tsvirkun V, Tchjao A, Titova M, Skuba N, Trostenyuk N, Gumargalieva K, Targeted chemoembolization of tumors with poly(2-hydroxyethyl methacrylate) particles, J. Biomed. Mater. Res. 2000, 51, 184-190.
74. Horák D, Jayakrishnan A, Arshady R, Preparation and properties of poly(2-hydroxyethyl methacrylate), in Polymers in Medicine and Biology, Arshady R (Ed), Vol. 1, Citus Books, London, 2003, pp. 80-107.
75. Horák J, Tlustáková M, Kálal J, Mertl L, Martásek P, Hemoperfusion through polymer-coated adsorbents for metabolic disorders in liver disease, Makromol. Chem., Suppl. 1985, 9, 81-84.
76. Husain M T, Akhtar M, Akhtar A, Report on evaluation of Hydron film as burn wound dressing, Burns 1983, 9, 330-334.

77. Choong CK, Sweet SC, Zoole JB, Guthrie TJ, Mendeloff EN, Haddad FJ, Schuler P, De la Morena M, Huddleston CB.:Bronchial airway anastomotic complications after pediatric lung transplantation: incidence, cause, management, and outcome.J Thorac Cardiovasc Surg. 2006 Jan;131(1):198-203
78. Choudhury M, Saxena N.: Total intravenous anaesthesia for tracheobronchial stenting in children.Anaesth Intensive Care. 2002 Jun;30(3):376-9.
79. Ilce Z, Celayir S, Tekand GT, Murat NS, Erdogan E, Yeker D. : Tracheostomy in childhood: 20 years experience from a pediatric surgery clinic. Pediatr Int. 2002 Jun;44(3):306-9.
80. Jacobs JP, Quintessenza JA, Botero LM, van Gelder HM, Giroud JM, Elliott MJ, Herberhold C.:The role of airway stents in the management of pediatric tracheal, carinal, and bronchial disease.Eur J Cardiothorac Surg. 2000 Nov;18(5):505-12.
81. Kalhous J., Sláma K. st. , Otorinolaryng. a Foniat.,54,2005,č.3,s.163-168
82. Kitanosono T; Honda M; Matsui S; Hashimoto T; Munechika H; Hishida T; Okubo K; Koizumi K.:Migration of Gianturco expandable metallic stents in the upper trachea.Cardiovasc Intervent Radiol, 20(3):216-8 1997 May-Jun
83. Korpela A; Aarnio P; Sariola H; Tormala P; Harjula A.:Bioabsorbable self-reinforced poly-L-lactide, metallic, and silicone stents in the management of experimental tracheal stenosis.Chest, 115(2):490-5 1999 Feb
84. Kresa Z, Rems J, Wichterle O, Hydron gel implants in vocal cords, Otolaryngol. Head Neck Surg. 1988, 98, 242-246.
85. Kubát Z, Plastics in ophthalmology, Polymers in Medicine, Brno, 1987, Symposium Book, pp. 68-70.
86. Kumar P, Bush AP, Ladas GP, Goldstraw P.: Tracheobronchial obstruction in children: experience with endoscopic airway stenting. Ann Thorac Surg. 2003 May;75(5):1579-86.
87. Kvasnička J, Dobiáš J, Štol M, Pahncke D, Histopatologické studie über den Einfluß des Hydrogels aus Poly(2-Hydroxyethylmethakrylat) mit Kollagen



nach subkutaner Applikation bei Ratten auf kalzifizierende und osteoplastische Prozesse, Zahn-, Mund- und Kieferheilkd. 1988, 76, 151-155.

88. Kvasnička J, Dobiáš J, Štol M, Pahncke D, Experimentell erzeugte Osteoplasie in Wurzelkanal von Hundzähnen nach Applikation des Hydrogels Poly(2-Hydroxyethylmethakrylat) mit Kollagen, Zahn-, Mund- und Kieferheilkd. 1988, 76, 250-255.

89. Lallement, Y. et al. : Vyšetřovací postupy při poleptání jícnu. Ann. Otolaryng. ( Paris ),95,1978, č. 6, s. 345-360

90. Lesparence, M.M., Zalzal, G.H.: Assessment and Management of laryngotracheal stenosis. American Journal of Otorhinolaryngology, Dec. 1996, 43(6): 1413-27

91. Li X, Chen C, Li Z, Gu H, Lu M, Han Y, Liu X, Synthesis of poly(2-hydroxyethyl methacrylate)-poly(tetramethylene glycol) ABA type block copolymers and their blood compatibility, Makromol. Chem. 1986, 187, 367-374

92. Lim LH, Cotton RT, Azizkhan RG, Wood RE, Cohen AP, Rutter MJ. Complications of metallic stents in the pediatric airway. Otolaryngol Head Neck Surg. 2004 Oct;131(4):355-61.

93. Lisý J, Hetková M, Šnajdauf J, Vyhnánek M, Tůma S. Long-term Outcomes of Balloon Dilatation of Oesophageal Strictures in Children, Acad Radiol 1998;5:832-5.

94. Lisý J., Mikešová E., Marková M., Vlachová V. : Balonkové dilatace striktur hrtanu u dětí. Ces.Radiol.,53,1999,No.5,p.273-276

95. Lisý J, Šnajdauf J, Šimsová M, Heroldová D, Vyhnánek M, Rygl M et al. When CanBallon dilatation of an Oesophageal Stricture in Children be Considered Successful ? Čes Radiol. 2002;56:82-86.

96. Lochbihler H; Hoelzl J; Dietz HG.:Tissue compatibility and biodegradation of new absorbable stents for tracheal stabilization: an experimental study. J Pediatr Surg, 32(5):717-20 1997 May

97. Lou X Dalton P D, Chirila T V, Hydrophilic sponges based on 2-hydroxyethyl methacrylate: Part VII: Modulation of sponge characteristics by

changes in reactivity and hydrophilicity of crosslinking agents, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2000, 11, 319-325.

98. Mack E J, Okano T, Kim S W, Biomedical applications of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) and its copolymers, in Peppas N A (Ed), *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, Vol. 2, CRC Press, Boca Raton, 1987, pp. 65-93

99. Makela JT. Corrosion injury of the upper gastrointestinal tract after swallowing strong alkali, *Eur J Surg* 1998;164:575-80.

100. Margel S, Agarose-polymeric microsphere beads: specific new adsorbents for hemoperfusion, *React. Polym.* 1983, 1, 241-250.

101. Martinez-Ballarín, J.I., Diaz-Jimenez, J.P., Castro M.J., Moya J.A.: Silicone stents in the management of benign tracheobronchial stenoses. *Chest* 1996 Mar., 109(3):626-629

102. Mehta AC, Harris RJ, De Boer GE.: Endoscopic management of benign airway stenosis. *Clin Chest Med.* 1995 Sep;16(3):401-13. Review

103. Monnier P, Lang F, Savary M. : Partial cricotracheal resection for pediatric subglottic stenosis: a single institution's experience in 60 cases. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2003 Jul;260(6):295-7. Epub 2002 Dec 24.

104. Monthéard J-P, Kahovec J, Chappard D, Homopolymers and copolymers of 2-hydroxyethyl methacrylate for biomedical applications, in Arshady R (Ed), *Desk Reference of Functional Polymers; Syntheses and Applications*, Am. Chem. Soc., Washington DC, 1997, pp. 699-717.

105. Montgomery, W.W., Montgomery, S.K.: Manual for use of Montgomery laryngeal, tracheal and esophageal prostheses. *Annals of Otolaryngology and Laryngology* 99, 2-9 (1990)

106. Mortola, J.P., Gautier, H. : Interaction between metabolism and ventilation: affect of respiratory gasses and temperature. In : Dempsey, J.A., Pack, A.I. eds. *Regulation of breathing*. Marcel Dekker, New York, 1995, s. 1011-1064.

107. Murphy S M, Hamilton C J, Tighe B J, Synthetic hydrogels: 5. Transport processes in 2-hydroxyethyl methacrylate copolymers, *Polymer* 1988, 29, 1887-1893.

108. Myer CM 3rd, O'Connor DM, Cotton RT. : Proposed grading system for subglottic stenosis based on endotracheal tube sizes. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1994 Apr;103(4 Pt 1):319-23.

109. Nicolai T, Huber RM, Pfeifer KJ, Schneider K, Mantel K, Schott C. :Bilateral bronchial balloon dilatation and Strecker stent implantation in a ventilated child with malignant carinal stenosis.*Intensive Care Med.* 1996 May;22(5):482-5.

110. Nicolai T, Huber RM, Reiter K, Merkenschlager A, Hautmann H, Mantel K.:Metal airway stent implantation in children: follow-up of seven children.*Pediatr Pulmonol.* 2001 Apr;31(4):289-96.

111. Nishioka N, Matsumoto Y, Yumen T, Monmae K, Kosai K, Homogeneous graft copolymerization of vinyl monomers onto cellulose in a dimethyl sulfoxide-paraformaldehyde solvent system IV. 2-Hydroxyethyl methacrylate, *Polym. J.* 1986, 18, 323-330.

112. Okubo M, Azume I, Yamamoto Y, Preferential adsorption of bovine serum albumin dimer onto polymer microspheres having a heterogeneous surface consisting of hydrophobic and hydrophilic parts, *Colloid Polym. Sci.* 1990, 268, 598-603.

113. Okubo M, Yamamoto Y, Kamei S, XPS analysis (ESCA) of the surface composition of poly(styrene/2-hydroxyethyl methacrylate) microspheres produced by emulsifier-free emulsion polymerization, *Colloid Polym. Sci.* 1989, 267, 861-865

114. Okubo M, Yamamoto Y, Uno M, Kamei S, Matsumoto T, Immunoactivity of polymer microspheres with their hydrophilic/hydrophobic heterogeneous surface sensitized with an antibody, *Colloid Polym. Sci.* 1987, 265, 1061-1066.

115. Paleček, F.: Measurement of ventilatory mechanics in rat. *J.Appl. Physiol.* 27(1), 1969, s.149-156.

116. Paleček F. : *Patofyziologie dýchání*, Avicenum, Praha, 1987

117. Parphy S M, Hamilton C J, Tighe B J, Synthetic hydrogels: 5. Transport processes in 2-hydroxyethyl methacrylate copolymers, *Polymer* 1988, 29, 1887-1893.

118. Peppas N A (Ed), *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, Vol. III, CRC Press, Boca Raton, 1987.

119. Phillips PS, Kubba H, Hartley BE, Albert DM.:The use of the Montgomery T-tube in difficult paediatric airways.Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2006 Jan;70(1):39-44.
120. Prati C, Mongiorgi R, Valdrez G, Montanaria G, Hydroxyethyl-methacrylate dentin bonding agents: Shear bond strength, marginal microleakage and SEM analysis, Clin. Mater. 1991, 8 137-143.
121. Příkladný, M., Petrovický P., Fronková, V., Vacík, J., Smetana, K. Jr. : Evaluation of biocompatibility of the copolymer of 2 hydroxyethylmethacrylate with 2- (methylsulfanyl)ethyl methacrylate, Biotechnol. Prog 2000; 16(5):897-904
122. Rafanan, A.L., Mehta A.C.:Stenting of tracheobronchial tree. Radiol. Clin. North Am. 2000 Mar., 38(2) : 395-408
123. Rahbar R, Jones DT, Nuss RC, Roberson DW, Kenna MA, McGill TJ, Healy GB.The role of mitomycin in the prevention and treatment of scar formation in the pediatric aerodigestive tract: friend or foe?Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2002 Apr;128(4):401-6.
124. Rappert P, Preier L, Korab W, Neubauer T. Diagnostic and therapeutic management of esophageal and gastric caustic burns in childhood, Eur J Pediatr Surg. 1993, Aug;3(4):202-5.
125. Ratner B D, Biomedical applications of synthetic polymers, in Allen G, Bevington J C, Aggarwal S L (Eds), Comprehensive Polymer Science, Vol. 7, Pergamon Press, Oxford, 1987, pp. 201-247.
126. Rezaie-Majd A, Bigenzahn W, Denk DM, Burian M, Kornfehl J, Grasl MCh, Ihra G, Aloy A.:Superimposed high-frequency jet ventilation (SHFJV) for endoscopic laryngotracheal surgery in more than 1500 patients.Br J Anaesth. 2006 May;96(5):650-9.
127. Rieger J, Linsenmaier U, Hautmann H, Fedorowski A, Huber RM, Pfeifer KJ.:Interdisciplinary interventional therapy for tracheobronchial stenosis with modern metal net stents; Rofo. 2002 Aug;174(8):1009-14.
128. Richards J H, The role of polymer permeability in the control of drug release, in Comyn J (Ed), Polymer Permeability, Elsevier, London, 1985, pp. 217-267.

129. Ronel S H, D'Andrea M, Hashiguchi H D, Klomp G F, Dobelle W H, Macroporous hydrogel membranes for a hybrid artificial pancreas. I. Synthesis and chamber fabrication, *J. Biomed. Mater. Res.* 1983, 17, 855-864.
130. San-Román J, Gallardo A, Elvira C, Vásquez B, López-Bravo A, de Pedro J A, Tomás D, Contribution of polymeric supports to the development of tissue engineering, *Macromol. Symp.* 2001, 168, 75-89.
131. Saunders, N.,A.: Changes in lung mechanics induced by acute isocapnic hypoxia. *J. Appl. Physiol.* 42, 1977, s.413-419
132. Schuller DE.:Long-term stenting for laryngotracheal stenosis.*Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1980 Nov-Dec;89(6 Pt 1):515-20.
133. Sivakumar M, Rao K P, Synthesis, characterization, and in vitro release of ibuprofen from poly(MMA-HEMA) copolymeric core-shell hydrogel microspheres for biomedical applications, *J. Appl. Polym. Sci.* 2002, 83, 3045-3054.
134. Shell J W, Ophthalmic drug delivery systems, *Surv. Ophthalmol.* 1984, 29, 117-128.
135. Slaviček, A., Jablonický, P., Betka, J., Novák, V. :Mykotické a bakteriální osídlení silikonu hlasových protéz a jeho biodegradace. *Otorinolaryngol. /Prague/,* 47, 1998, č. 4, s. 207 - 211.
136. Slivko, A. : Profylaxe jizevnatých stenóz jícnu po poleptání, *Vestn. Otorino-laryng.*, 1972, č. 1, s. 28-30
137. Slonim SM; Razavi M; Kee S; Semba CP; Dake MD.:Transbronchial Palmaz stent placement for tracheo-bronchial stenosis. *J Vasc Interv Radiol*, 9(1 Pt 1):153-60 1998 Jan-Feb
138. Smirnov AK, Kozhevnikov VA.:Stenting for treatment of scarry stenoses of the esophagus in children  
*Vestn Khir Im I I Grek.* 2006;165(1):46-8.
139. Smetana K, Štol M, Korbelář P, Novák J, Adam M, Implantation of p(HEMA)-collagen composite into bone, *Biomaterials* 1992, 13, 639-642.



140. Smetana K, Šulc J, Krčová Z, Pitrová Š, Intraocular biocompatibility of hydroxyethyl methacrylate and methacrylic acid copolymer/partially hydrolyzed poly(2-hydroxyethyl methacrylate) *J. Biomed. Mater. Res.* 1987, 21, 1247-1253.
141. Spitz L, Kiely E, Pierro A.: Gastric transposition in children--a 21-year experience. *J Pediatr Surg* ,2004,39:276-81; discussion 276-81
142. Song S-Z.: Development of new solvent-soluble hydrogels for drug delivery systems, IUPAC International Symposium Molecular Design of Functional Polymers, Polym. Soc. Korea, Seoul, 1989, Preprints, p. 284
143. Song X, Peng J, Han H, Zheng Y, Guo Z, Xu Y, Cai X.:The treatment to esophagus stricture with Ni-Ti shape memory alloy stand(with the report of 19 clinical cases)*Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi.* 1999 Oct;13(10):446-7.
144. Stevenson W T K, Evangelista R A, Sugamori M E, Sefton M V, Microencapsulation of mammalian cells in a hydroxyethyl methacrylate-methyl methacrylate copolymer: preliminary development, *Biomater. Art. Cells Art. Org.* 1988, 16, 747-769.
145. Šnajdauf J, Pýcha K, Vyhnánek M, Rožková M, Kalousová J, Mixa V, et al.Oesophageal Replacement by Stomach in Childhood, *Rozhl Chir* 1999;78:515-519.
146. Šprincl L, Novák M, The initial stage of calcification in porous hydrophilic polymers, *J. Biomed. Mater. Res.* 1981, 15, 437-440.
147. Štol M, Kvasnička J, Dobiáš J, Adam M, Poly(2-hydroxyethyl methacrylate)-collagen composites: their possible utilization in human endodontic therapy, *Polym. Med.* 1988, 18, 159-160.
148. Takubo T. Pathology of the Esophagus. Tokio: Educa Inc.; 2002, pp. 80-84.
149. Tamai H, Hasegawa M, Suzawa T, Surface characterization of hydrophilic functional polymer latex particles, *J. Appl. Polym. Sci.* 1989, 38, 403-412.
150. Tekin R, Kiremitci M, Serbetci A I, Piskin E, Swelling of PHEMA-based membranes in ethanol and their nitroglycerin permeabilities, *Biomater. Art. Cells Art. Org.* 1990, 18, 95-106.

151. Terada S, Suzuki K, Nozaki M, Okano T, Sasaki K, Experimental study of ectopic-free tissue transfer of rabbit epigastric flap using small-caliber vascular grafts, *J. Biomed. Mater. Res.* 1999, 45, 28-35.
152. Tsai HL, Liu C, Chen PT, Soong WJ, Chang WK, Chin T, Wei CF Experience with removing Palmaz stents with a rigid bronchoscope. *J Pediatr Surg.* 2004 Dec;39(12):1772-4.
153. Van-Den-Mooter G, Samyn C, Kinget R, Azo polymers for colon-specific drug delivery, *Int. J. Pharm.* 1992, 87, 37-46.
154. Varvares MA, Montgomery WW. : Repair of chronic subglottic stenosis with autogenous thyroid cartilage. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2004 Mar;113(3 Pt 1):212-7.
155. Verzár, F.: Die Regulation des Lungenvolumens. *Pflug.Arch.Ges.Physiol.* 323,1933,322
156. Vízek, M., Picket C.,K., Weil, J.,V. Biphasic ventilatory response of adult cats to sustained hypoxia has central origin. *J. Appl. Physiol.* 63(4), 1987a, s.1658-1664.
157. Vodňanský J, A mammal prosthesis, *Macromolecular Carriers of Bioactive Molecules, Especially Anticancer Drugs*, Prague, 1985, Symposium Book, p. A4.
158. Voldřich Z, Application of some polymers in otolaryngology, DSc. Thesis, Charles University, Faculty of Medicine, Prague, 1987.
159. Voldřich Z, Tománek Z, Vacík J, Kopeček J, Long-term experience with poly(glycol monomethacrylate) gel in plastic operations of the nose, *J. Biomed. Mater. Res.* 1975, 9, 675-685.
160. Voldřich Z, Vacík J, Kopeček J, Srnová L, Obturator for covering soft palate defects with poly(HEMA) corks, *Otorinolaryngol.* 1995, 44, 237-241.
161. Walker, B.R., Adams, E.M., Voelkel, N.F.: Ventilatory responses of hamsters and rats to hypoxia and hypercapnia. *J.Appl. Physiol.* 59(6), 1985, s.1955-1960

162. Ward RF; April MM.: Mitomycin-C in the treatment of tracheal cicatrix after tracheal reconstruction. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 44(3):221-6 1998 Aug 10
163. Warren P J, Snelling C F T, Clinical evaluation of Hydron burn dressing, *Plast. Reconstruct. Surg.* 1980, 66, 361-368.
164. Weisberger EC; Nguyen CT : Laryngotracheal reconstruction using a Vitallium alloy miniplate. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 105(5):363-6 1996 May
165. Wells WJ, Hussain NS, Wood JC.: Stenting of the mainstem bronchus in children: a word of caution. *Ann Thorac Surg.* 2004 Apr;77(4):1420-2.
166. Wetmore RF, Muntz HR, MacGill TJ. : *Paediatric Otolaryngology Principles and Practice Pathways*, Thieme 2000, s. 775-835
167. Wichterle O, Lím D, Dreifus M, Problems of contact lenses, *Cesk. Oftalmol.* 1961, 17, 70-75.
168. Williams D F, Roaf R (Eds), *Implants in Surgery*, W B Saunders, London, 1973.
169. Willner A, Gereau SA, Ruben RJ.: Reconstruction of the pediatric airway with an open stented tracheotomy tube. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1994 Jan;28(2-3):205-11
170. Woerly S, Marchand R, Lavallée C, Intracerebral implantation of synthetic polymer/biopolymer matrix: a new perspective for brain repair, *Biomaterials* 1990, 11, 97-107.
171. Yang J M, Li H M, Yang M C, Shih C H, Characterization of acrylic bone cement using dynamic mechanical analysis, *J. Biomed. Mater. Res.* 1999, 48, 52-60
172. Yildirmaz G, Akgöl S, Arica M Y, Sönmez H, Denizli A, Polyhydroxyethylmethacrylate/polyhydroxybutyrate composite membranes for fluoride release, *J. Appl. Polym. Sci.* 2003, 87, 976-981
173. Yoshida M, Asano M, Kaetsu I, Imai K, Mashimo T, Yuasa H, Yamanaka H, Kawaharada U, Suzuki K, Studies on the slow releasing of testosterone from radiation-polymerized testicular prostheses implanted subcutaneously in the back of castrated rabbits, *Biomaterials* 1987, 8, 124-128.



174. Zalzal, G.H.: Stenting for Pediatric Laryngotracheal stenosis. *Annals of Otolology, Rhinology and Laryngology*, Vol. 101/8/, pp. 651-655, Aug.1992

175. Zalzal GH.:Posterior glottic fixation in children.*Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1993 Sep;102(9):680-6.

176. Zalzal GH, Grundfast KM.:Broken Aboulker stents in the tracheal lumen.*Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 1988 Nov;16(2):125-30.

177. Zalzal GH, Thomsen JR, Chaney HR, Derkay C.:Pulmonary parameters in children after laryngotracheal reconstruction.*Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1990 May;99(5 Pt 1):386-9.

178. Zhou JH, Jiang YG, Wang RW, Lin YD, Gong TQ, Zhao YP, Ma Z, Tan QY.:Management of corrosive esophageal burns in 149 cases.*J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005 Aug;130(2):449-55.

## 17. TEZE V ANGLIČTINĚ

Stenosis of the larynx and trachea accounts for a small but adverse spectrum of diagnoses in patients treated in ENT and Head and Neck Surgical departments. In treating chronic stenosis and strictures, an unequivocal, generally -accepted approach has not been established. The predominant method of treatment is surgical. Other methods applied include endoscopic (laservaporization, arytenoidectomy) and external (expansive, resection) procedures.

In the pediatric population, the desired method is one which has a minimally harmful impact to the growing child. For these reasons, indications to extensive surgical treatments are limited. Dilatation of stenosis and stricture, and temporary maintaining of lumen patency using stents individually measured „to size“ seem to afford greater advantages for use in the pediatric population. In cooperation with the Institute of Macromolecular Chemistry (Academy of Sciences, Czech Republic), we have worked on the development of stents suitable for clinical use that exhibit a combination of useful properties (rigidity, absorbability, biocompatibility, microbial inactivity).

The stents were developed by polymerisation of 2 – hydroxyethylmethacrylate onto a template made from polyethylenenterphthalate type silk (Dacron). The Poly-HEMA material is registered by the national Drug Association, and has for a long time been used in many specialities (i.e. neurosurgery, ophthalmology). It displays excellent biocompatibility, as well as other advantageous physical properties (regulated intumescence, absorbability). The stents were tested to evaluate their physical and biological properties. Tests of physical properties included traction and pressure trials. Biological evaluation involved microbiological testing: comparing the growth of common airway pathogens onto the tested material with growth onto standard culture mediums. The principal regimen of testing followed, which involved testing the

reactivity of the polymer in the subcutaneous tissue and airways of laboratory rats and rabbits. Following implantation into the airways, ventilation function tests were compared in the groups without intervention with those after stent implantation for stricture.

By measuring physical parameters, it was evaluated that the stent has a comparable rigidity and elasticity with materials commonly used, in particular, with silicone. After microbiological testing, it was found that the material is biologically inert, and does not support growth of common pathogens of airways and larynx. Animal tests evinced that the implant evoked a minimal inflammatory reaction in the subcutaneous tissue and trachea. In addition, through measuring with a plethysmograph, it was proven that parameters of ventilatory function in animals were satisfactory after stent implantation.

Stents produced on the basis of co-polymers of HEMA exhibit sufficient properties of biocompatibility and biological inertness. In addition, the properties afford certain advantages when compared to the commonly used materials, including absorbability (medicaments applied locally or contrast agents) and controlled intumescence. Animal studies attest, that use of these new dilatational stents in indicated patients, as well as those from the pediatric population, are promising.