На правах рукописи

Медведский Максим Александрович

# Повышение эффективности тимпанопластики путем использования краш-хряща и иммуномодуляторов.

14.00.04 - болезни уха, горла и носа

14.00.36 – иммунология и аллергология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург 2009

Работа выполнена в ФГУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи.

**Научные руководители:**

Заслуженный врач РФ,
доктор медицинских наук,
профессор **Янов Юрий Константинович**

Доктор медицинских наук, профессор **Симбирцев Андрей Семенович**

**Официальные оппоненты:**

Доктор медицинских наук, профессор **Киселев Алексей Сергеевич**

Доктор медицинских наук, профессор **Назаров Петр Григорьевич**

**Ведущая организация:** Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова

**Защита диссертации** состоится « »_____2009.
В____часов на заседании диссертационного совета Д 208.091.01 в ФГУ СПб НИИ уха, горла, носа и речи Росмедтехнологий (по адресу: 190013, г. Санкт-Петербург, ул. Бронницкая, д. 9).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи.

Автореферат разослан « »_____2009.

**Ученый секретарь диссертационного совета:**

Кандидат медицинских наук **Дроздова Марина Владимировна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

**Актуальность проблемы.** Несмотря на достигнутые успехи хирургического и консервативного лечения хронического гнойного среднего отита (ХГСО), на сегодняшний день проблема далека от разрешения. ХГСО по-прежнему остается распространенным заболеванием (1,5 – 5% населения по разным данным) (Мишенькин Н.В., 1994; Пальчун В.Т., 1984; Тарасов Д.И., 1988; Усачев А.С., 2000; Vartiainen E., 1993). ХГСО является одной из главных причин снижения слуха у лиц трудоспособного возраста. Вопросы диагностики, тактики и стратегии хирургического лечения в настоящее время решаются успешно, но проблемы эффективной фармакотерапии представляют серьезную трудность.

Основными признаками хронического гнойного среднего отита (ХГСО) являются перфорация барабанной перепонки, периодические или постоянные гноетечения из уха, снижение слуха (Мишенькин Н.В., 1994; Усачев А.С., 2000). Нередко при ХГСО нарушена звукопроводящая цепь слуховых косточек (Tos M., 2006). Формирование ХГСО по некоторым данным происходит в детстве, после перенесенных инфекционных заболеваний (корь, скарлатина) (Скопина Э.Л., 1999), хотя в последнее время наибольшее распространение получила теория формирования ХГСО после острых респираторных вирусных заболеваний в любом возрасте.

ХГСО характеризуется сложным, длительным и иногда непредсказуемым характером течения процесса, частыми обострениями, высоким процентом осложнений, опасных для здоровья и жизни пациента (Рязанцев С.В., Чернушевич И.И., 2000). ХГСО характеризуется также снижением местного и общего иммунитета, что приводит к развитию вторичных иммунодефицитов в организме. Основным способом лечения ХГСО является хирургический способ (санирующие, реконструктивные операции на ухе, в том числе – тимпанопластика и миринготомия), хотя применение антибактериальной и иммуномодулирующей терапии значительно облегчает задачу. Купирование явлений воспаления в предоперационном периоде является необходимым условием выполнения планового оперативного лечения пациента. Известно, однако, что даже в стадии ремиссии в барабанной полости имеются воспалительные явления, часто выраженные неярко.

В развитии и поддержании воспаления значительную роль играют медиаторы воспаления, в том числе цитокины. Цитокины – это группа семейств различных биологически активных молекул, секретируемых клеткой и действующих через специфические рецепторы как на иммунокомпетентные клетки, так и на другие клетки, вовлеченные в защитные и репаративные процессы. Цитокины могут обладать как

длиннодистантным эффектом и оказывать в этом случае влияние на весь организм, так и короткодистантным действием, влияя на клетки, расположенные рядом или на себя же. Короткодистантные цитокины, в отличие от длиннодистантных, практически не попадают в системную циркуляцию и действуют локально в тканях в месте выработки. Цитокины не депонируются в клетках, а синтезируются индуктивно, для них характерна сетевая взаимосвязь друг с другом, когда воздействие одного цитокина на клетку вызывает выработку этой клеткой других цитокинов (Хаитов Р.М. с соавт., 2000). Нарушения синтеза цитокинов является, по современным понятиям, одним из основных звеньев патогенеза ХГСО.

Недооценка иммунного статуса слизистой полости среднего уха при ХГСО, нарушение продукции цитокинов приводит к неудачам при операциях на ухе (плохое приживление или отторжение неотимпанального лоскута, неудовлетворительная эпидермизация полости после радикальной операции и т.д.). Всё это заставляет заниматься поиском новых препаратов и подходов к диагностике и лечению, способствующих улучшению приживления лоскута и повышению эффективности оперативного лечения. До настоящего времени в качестве иммуномодуляторов чаще других в терапии ХГСО используются Тималин и его производные (Тимоген и др.), нуклеинат натрия, бактериальные лизаты и компоненты бактериальных клеточных стенок (ИРС-19, Рибомунил, Продигиозан, Ликопид и др.) – иммуномодуляторы первого поколения. Однако их использование было обусловлено уровнем знаний о патогенезе ХГСО на момент разработки этих препаратов, недостаточным представлением о механизмах местных защитных реакций в полости среднего уха и отсутствием широкого опыта применения иммуномодуляторов в реконструктивной отохирургии. В настоящее время разработаны новые более эффективные иммуномодулирующие препараты.

Проблема лечения ХГСО осложняется ещё и тем, что техника выполнения тимпанопластики, особенно реконструктивных операций на среднем ухе, также полностью не решена. Существование большого количества различных материалов для пластики барабанной перепонки и продолжающийся поиск новых трансплантатов свидетельствует о несовершенстве уже используемых и отсутствии решающих преимуществ у того или иного трансплантата (Мишенькин Н.В., 1999; Патякина О.К., 2002; СитниковВ.П., Кин Т.И., 1990; Eavey R.D., 1998; Eisenbeis J.F., 2004; Gerber M.J., 2000; Stankovic M, 1992; Zahnert T. et al, 2000). При выполнении реконструктивных операций на ухе используется большое количество разнообразных материалов, например фасция височной мышцы, ультратонкая пластинка ауто- и аллохряща. Об использовании краш-хряща в реконструктивной отохирургии сведений пока нет, хотя имеются сведения

об использовании его в других видах реконструктивной хирургии, например при пластике перегородки носа (Мартинкенас Л. с соавт., 1994). Известно, что краш-хрящ, т.е. материал, полученный путем раздавливания хрящевой пластинки с помощью специального устройства (пресса), обладает преимуществами перед обычной хрящевой пластинкой. Краш-хрящ удобен прежде всего для моделирования, поскольку пластичен по сравнению с обычным хрящом и легко моделируется в любые формы. Это является ценным качеством при проведении реконструктивных операций на ухе.

**Цель исследования:** повышение эффективности тимпанопластики путем использования краш-хряща и иммуномодулирующих препаратов последнего поколения.

З**адачи исследования**:

1. изучить физические свойства и гистологические изменения краш-хряща из козелка ушной раковины;

2. оценить функциональные результаты использования краш-хряща в ходе реконструктивных слухоулучшающих операций на среднем ухе;

3. оценить местные концентрации цитокинов IL-1β и IL-8 в смывах из полости среднего уха в дооперационный период и их прогностическое значение для приживления неотимпанального лоскута;

4. разработать схемы применения и оценить результаты использования иммуномодуляторов Беталейкин и Бестим в послеоперационном периоде у больных после тимпанопластики.

**Научная новизна исследования.** Впервые на основании результатов физико-механического и гистологического исследований показано, что изменения структуры и свойств хрящевой ткани козелка ушной раковины обусловлены величиной приложенного усилия, но не длительностью механического воздействия. Доказано, что при нагрузке на хрящ козелка до 2-2,5 кН не происходит утраты структуры хряща, что облегчает его последующее применение в ходе реконструктивных операций. На основании аудиологического исследования в до- и послеоперационный период показано, что использование краш-хряща в ходе реконструктивных операций на среднем ухе обеспечивает получение удовлетворительных результатов. Установлено, что присутствие провоспалительных цитокинов IL-1β и/или IL-8 в смывах из полости среднего уха даже в минимальных определяемых концентрациях ухудшает прогноз на приживление неотимпанального лоскута. Доказано, что концентрации провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-8 в смывах из полости среднего уха в дооперационный период у пациентов с мезотимпанитом существенно отличается от данных для пациентов с другими формами ХГСО. Местное применение рекомбинантного интерлейкина-1β человека, обладающего широким

спектром иммуномодулирующих и репаративных свойств, сокращает сроки приживления неотимпанального лоскута, особенно у пациентов с 3-й степенью приживления лоскута. Системное применение стимулятора Т-лимфоцитов Бестим обеспечивает улучшение приживления неотимпанального лоскута, в том числе у пациентов с наличием провоспалительных цитокинов в полости среднего уха в дооперационный период.

**Положения, выносимые на защиту.**

1. Применение краш-хряща, обладающего более высокой пластичностью по сравнению с обычным хрящом, для реконструкции структур среднего уха, позволяет улучшить функциональные результаты операций на среднем ухе.

2. Определение уровня провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-8 в полости среднего уха в дооперационном периоде, наряду с клиническими признаками ремиссии воспалительного процесса, позволяет получить более достоверный прогноз приживляемости неотимпанального лоскута в послеоперационном периоде.

3. Иммуномодулятор Беталейкин, представляющий собой рекомбинантный IL-1β, способствующий ускорению ранозаживления, использующийся местно в виде ушных капель, позволяет уменьшить сроки приживления неотимпанального лоскута у больных после тимпанопластики.

4. Иммуномодулятор Бестим, представляющий собой дипептид γ-D-глутамил-L-триптофан (γ-D-Glu-L-Trp), обладающий иммуностимулирующим действием, применяемый внутримышечно, позволяет улучшить приживление неотимпанального лоскута в послеоперационном периоде у больных после тимпанопластики.

**Практическая значимость работы** состоит в разработке методик и схем применения иммуномодуляторов Беталейкин и Бестим для улучшения приживления неотимпанального лоскута в послеоперационном периоде после тимпанопластики. Впервые препарат цитокинового происхождения – рекомбинантный IL-1β – Беталейкин был использован для улучшения приживления неотимпанального лоскута в послеоперационном периоде (заявка на изобретение № 2007124632/14(026818) приоритет от 20.06.2007г.). Впервые в оториноларингологической практике в рамках послеоперационного ведения пациентов с целью улучшения приживления неотимпанального лоскута использовался препарат Бестим (дипептид γ-D-Glu-L-Trp). Создана новая модификация метода приготовления краш-хряща. Предложена методика реконструктивных операций на среднем ухе с использованием краш-хряща. Разработан способ реконструкции барабанной полости с использованием краш-хряща козелка ушной раковины.

**Внедрение результатов исследования.** Результаты и материалы диссертационного исследования внедрены в лечебно-диагностический процесс отдела патофизиологии уха ФГУ СПб НИИ уха, горла, носа и речи Росмедтехнологий, а также используются в практических и семинарских занятиях с клиническими ординаторами, аспирантами и курсантами циклов усовершенствования кафедры оториноларингологии СПб МАПО.

**Апробация работы**. Основные данные исследования доложены и обсуждены на 54-й научно-практической конференции молодых ученых оториноларингологов 27-28 января 2007 года в Санкт-Петербурге. Материалы работы были также представлены на научно-практической конференции «Новые технологии в лечении заболеваний верхних дыхательных путей и уха» (Омск, 2006) и на XVII съезде оториноларингологов России (Н. Новгород, 2006).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 3 печатные работы в центральной печати и материалах конференций. Подана заявка на изобретение № 2007124632/14(026818) приоритет от 20.06.2007г.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 115 страницах, состоит из введения, обзора литературы, глав с описанием материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и практических рекомендаций, списка литературы включающего 123 отечественных и 68зарубежных источников. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 30 рисунками.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.

**Материалы и методы.** Исследования проводились в соответствии с целями и задачами на базе Отдела патофизиологии уха ФГУ Санкт-Петербургский НИИ уха, горла, носа и речи Росмедтехнологий; на базе лаборатории иммунофармакологии ГНЦ НИИ особо чистых биопрепаратов (г. Санкт-Петербург); на кафедре гистологии ФГОУ ВПО Санкт-Петербургский Государственный Университет, на кафедре сопротивления материалов ФГОУ ВПО Санкт-Петербургский Государственный Технический Университет. В исследовании принимали участие 94 пациента, с хроническим гнойным средним отитом, до и после хирургического лечения, в возрасте от 10 до 67 лет. Распределение пациентов по полу и возрасту показано на рисунках 1 и 2.

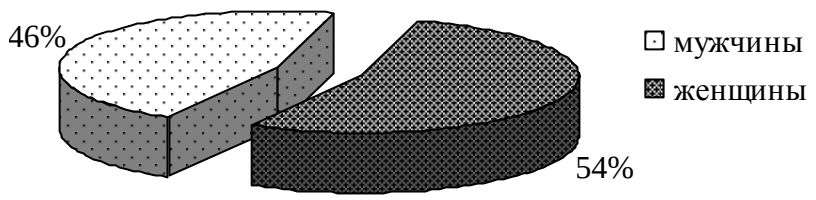


Рисунок 1. Распределение обследованных пациентов по полу.

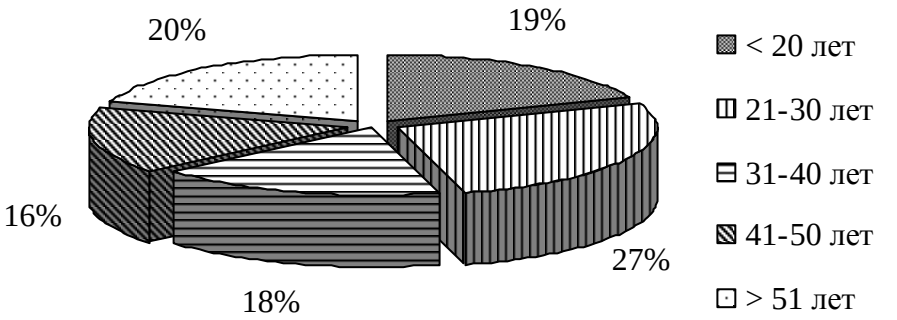


Рисунок 2. Распределение обследованных пациентов по возрасту.

В исследуемую группу включали пациентов, страдающих хроническим гнойным средним отитом в стадии ремиссии (мезотимпанитом, эпитимпанитом; пациенты после санирующей операции (СО), выполненной ранее), которым планировали проведение хирургического лечения – тимпанопластику или санирующую операцию с тимпанопластикой. Распределение пациентов по клиническим формам показано на рисунке 3.

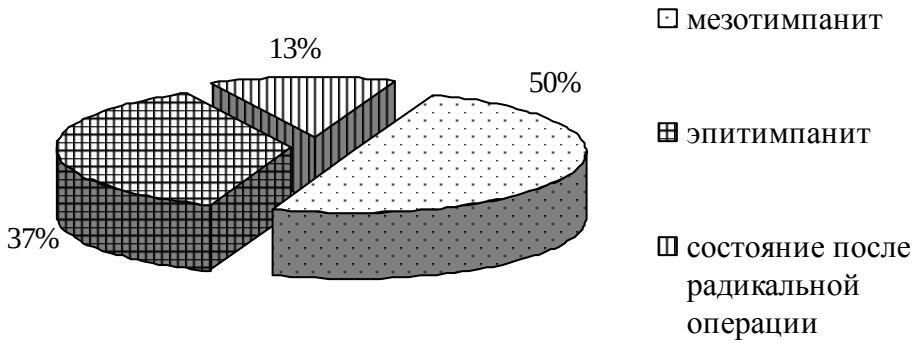


Рисунок 3. Распределение обследованных пациентов по формам ХГСО

Половину обследованных составили пациенты, страдающие мезотимпанитом (50,0%), количество пациентов, страдающих эпитимпанитом и пациентов после санирующих операций, составило соответственно 37,2% и 12,8%. Пациентов с односторонним поражением оказалось больше (77,7%), чем пациентов с двухсторонним поражением (22,3%). Сроки заболевания были различны, но длительность заболевания большинства пациентов составила 16-30 лет.

Методы обследования пациентов включали в себя клинико-инструментальное обследование, иммунологические методы исследования, физические и гистологические методы исследования хряща.

Обследование на дооперационном этапе включало в себя оценку жалоб пациента, оценку характера отделяемого из уха, количество обострений за последний год до операции. Общеклиническое обследование включало в себя оценку соматического статуса, наличие или отсутствие сопутствующих заболеваний, клинический анализ крови по стандартной методике, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, электрокардиографию, флюорографию, консультацию терапевта, при необходимости – консультацию других специалистов. В ходе инструментального оториноларингологического обследования проводили переднюю и заднюю риноскопию, фарингоскопию, отоскопию, непрямую ларингоскопию. Аудиологическое обследование включало в себя тональную пороговую аудиометрию.

Материал для иммунологического исследования получали из полости среднего уха при помощи стандартных ушных зондов с ватой. Уровни цитокинов IL-1β и IL-8 определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием моноклональных антител. Использовали наборы реагентов для определения уровня иммуноглобулинов человека производства НИИ особо чистых биопрепаратов (Санкт-Петербург).

Исследования свойств хряща при раздавливании (краш-хряща) проводили в Санкт-Петербургском Государственном техническом Университете на кафедре сопротивления материалов. Для исследования интраоперационно получали фрагменты хряща козелка ушной раковины и фиксировали в 10% формальдегиде до момента исследования. Исследование проводили на испытательной машине FPZ 100/1 фирмы «Heckert» (Германия, 1983г.). С целью получения краш-хряща производили две серии испытаний на сжатие при статической нагрузке (прямое нагружение). Производилось две серии испытаний. В первой серии испытаний производили исследование хряща при различной нагрузке при одинаковой временной экспозиции – 2 минуты. Нагрузка составляла 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 5,0 кН (100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 кг). По результатам эксперимента строили кривые зависимости линейных размеров деформируемого хряща от приложенной механической нагрузки. Во второй серии испытаний производили исследование хряща при одинаковой нагрузке – 2 кН и разной временной экспозиции, которая составляла 10, 20, 30, 40, 50, 60 минут. По результатам эксперимента также строили кривые зависимости линейных размеров деформируемого хряща от силы сдавливания. После экспериментов образцы погружали в 10% раствор формальдегида до гистологического исследования.

Обработка полученных на испытательной машине результатов производили на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ.

Гистологические исследования краш-хряща проводились на кафедре цитологии и гистологии Санкт-Петербургского Государственного Университета. Материалом для исследования служили фрагменты хряща козелка ушной раковины (цельные или краш-хрящ), хрящ перегородки носа, а также фрагмент козелка ушной раковины, полученный при реоперации на ухе и установленный ранее с целью реконструкции барабанной полости. Материал для исследования фиксировали и хранили в 10% формальдегиде.

Всем пациентам было выполнено оперативное лечение – тимпанопластика различного типа или санирующая операция с тимпанопластикой. Тимпанопластика 1 или 2 типа под местной анестезией заушным доступом выполнена 47 (50%) пациентам. Методика выполнения операции: разрез по заушной складке, отсепаровка мягких тканей, в верхнем углу раны подготавливали фрагмент фасции височной мышцы, который в дальнейшем служил неотимпанальным лоскутом. Производили разрез до кости, отсепаровку кожи задней стенки наружного слухового прохода – меатотимпанального лоскута, при необходимости – сглаживание борами и долотами задне-верхняя стенки наружного слухового прохода для лучшего обзора и манипуляций в барабанной полости. Далее осуществляли подготовку воспринимающего ложа для укладывания трансплантата путем деэпидермизации остатков барабанной перепонки. Производили тимпанотомию и ревизию барабанной полости. В ходе ревизии оценивали симптом Хилова. При наличии тугоподвижности слуховых косточек, отсутствии контакта между ними или отсутствии косточек осуществляли оссикулопластику аутокостью, титановым или силиконовым протезом. Конечным этапом операции была мирингопластика аутофасциальным лоскутом, предварительно расправленным на предметном стекле и высушенным. Неотимпанальный лоскут укладывали по технике «overlay», фиксировали шелковой нитью (с целью недопущения затупления переднего меатотимпанального угла) с введением в наружный слуховой проход марлевой турунды. Заушную рану ушивали послойно наглухо, шов обрабатывали спиртовым раствором йода, накладывали стерильную ватно-марлевую повязку.

Радикальная операция с тимпанопластикой выполнена 39 (41,5%) пациентам. Операцию выполняли под эндотрахеальным наркозом заушным доступом. В ходе операции удаляли все патологические образования – холестеатомные массы, грануляции, рубцы и кариозно измененные участки кости. Оссикулопластику выполняли аутокостью, титановым или силиконовым протезом. Производили реконструкция барабанной полости. В

случае 24 пациентов (25,5%) с целью увеличения объема барабанной полости над каналом лицевого нерва укладывали полоску аутохряща, взятого из козелка ушной раковины. У 15 пациентов (16%) реконструкцию проводили при помощи краш-хряща. Фрагмент хряща выкраивали из козелка ушной раковины, раздавливали при помощи специального приспособления (пресса). Полученный материал укладывали над каналом лицевого нерва. На конечном этапе операции выполняли миринготластику аутофасциальным лоскутом, предварительно расправленным на предметном стекле и высушенным. Лоскут фиксировали тампоном из шелковой нити. Производили пластику наружного слухового прохода. В наружный слуховой проход вводили тампон. Заушную рану ушивали послойно и накладывали асептическую повязку.

Статистическую обработку данных проводили методами вариационной статистики с применением параметрических и непараметрических критериев, а также корреляционного и регрессионного анализов. Различия между группами считали достоверными при $p<0,05$. Статистическую обработку и систематизацию результатов клинических и функциональных исследований полученных данных проводили с помощью компьютера с использованием пакета прикладных статистических программ Statistica 6.0 и Excel, на также на микрокалькуляторе МК-52 по пакету прикладных программ, разработанных Ю.И.Ивановым и О.Н.Погорелюком (Иванов Ю.И., Погорелюк О.Н., 1990).

**Результаты собственных исследований.** По данным проведенной до операции аудиометрии выявлена различная степень тугоухости, преимущественно – кондуктивная форма. У большинства пациентов с мезотимпанитом выявлена первая или вторая степень тугоухости, у пациентов с эпитимпанитом – первая или третья, у пациентов после санирующих операций – преимущественно третья.

При иммунологическом исследовании определялись уровни двух основных провоспалительных цитокинов – IL-1β и IL-8 у пациентов, страдающих различными формами ХГСО. Всего обследовано 57 пациентов. Уровни цитокинов были разнообразны: от нуля до высоких уровней, что может свидетельствовать об индивидуальных особенностях продукции цитокинов и цитокиновой регуляции. Выявленная положительная корреляция между уровнем IL-1β и IL-8 (коэффициент линейной корреляции по Пирсону – 0,32) указывает на общие закономерности развития воспалительных реакций.Распределение пациентов по уровню цитокинов в зависимости от формы ХГСО представлено в таблице 1. Представлены средние значения показателей.

Таблица 1.

Распределение по уровню цитокинов в зависимости от формы ХГСО.

| Форма ХГСО | Кол-во случаев | Средний уровень IL-1β, пкг/мл | Средний уровень IL-8, пкг/мл |
|---|---|---|---|
| Мезотимпанит | 43 | 94,8 | 327,4 |
| Эпитимпанит | 7 | 546,4 | 964,9 |
| Состояние после СО | 7 | 1122,4 | 473,1 |

Однако данные о средних уровнях цитокинов дают лишь приблизительное представление о продукции цитокинов в разных группах, а, принимая во внимание большую дисперсию показателей, не позволяют провести сравнение уровней цитокинов в группах с использованием параметрических критериев. Поэтому для анализа результатов был использован непараметрический W-критерий Уайта. Результаты исследования выборок приведены в таблице 2.

Таблица 2.

Сравнение продукции IL-1β и IL-8 в смывах из полости среднего уха у больных разными формами ХГСО до операции по W-критерию Уайта.

| Цитокин и форма ХГСО | Форма ХГСО | | |
|---|---|---|---|
| | Мезотимпанит | Эпитимпанит | Состояние после СО |
| IL-1β | | | |
| Мезотимпанит | | W=13,785, p<0,001 | W= 19,992, p<0,001 |
| Эпитимпанит | | | W= 0,295, p>0,05 |
| Состояние после СО | | | |
| IL-8 | | | |
| Мезотимпанит | | W= 14,092, p<0,001 | W = 15, 319, p<0,001 |
| Эпитимпанит | | | W = 0,148, p>0,005 |
| Состояние после СО | | | |

Из приведенных в таблице 2 результатов видно, что содержание обоих провоспалительных цитокинов в группе больных с мезотимпанитом

кардинально отличается в сторону понижения (как свидетельствуют даные таблицы 1) от содержания IL-1β и IL-8 у больных эпитимпанитом и больных после санирующей операции, между которыми в свою очередь достоверных различий по критерию Уайта не установлено.

В соответствии с целью и задачами данного исследования проводились исследования фрагментов цельного и раздавленного хряща козелка ушной раковины, перегородки носа, а также фрагмента козелка ушной раковины, полученного при реоперации на ухе и установленного ранее с целью реконструкции барабанной полости.

Результаты исследований хряща представлены в работе в виде графиков, характеризующих изменения хряща козелка ушной раковины при раздавливании, и в виде фотографий гистологических препаратов хрящей – хряща перегородки носа, цельного хряща козелка ушной раковины, краш-хряща козелка ушной раковины и хряща, полученного при реоперации на ухе и установленного ранее с целью реконструкции барабанной полости. При нагрузке 1 кН хрящ несколько фрагментируется, сохранены все структуры, в т.ч. клетки, ядра. Общая архитектура хряща изменена минимально. При нагрузке 2 кН сохранены в основном все структуры хряща, хотя видны участки гомогенного окрашивания – разрушенные клетки, а также плотное прилегание матрикса к мембране клеток. При нагрузке 2,5 кН еще видны границы отдельных клеток, но происходит выравнивание окраски клеток и матрикса, что указывает на разрушение лакун и клеток. При действии 3 кН увеличивается количество разрушенных клеток (гомогенное окрашивание), видны участки разрушения межклеточного матрикса, утрата его структуры. При нагрузке 4 кН разрушенные элементы хряща преобладают, хотя встречаются и целые клетки, и даже сохранился неутраченный фрагмент надхрящницы. При раздавливании хряща при нагрузке 5 кН видно гомогенное окрашивание ядер и цитоплазмы, т.е. практически полное разрушение клеточных элементов хряща. Для раздавленного хряща козелка характерно гораздо меньшее число разрывов ткани по сравнению с раздавленным хрящом носовой перегородки, что делает его более пригодным для последующей реконструктивной операции на ухе. Увеличение времени механического воздействия не приводит к существенным изменениям в структуре хряща.

Результаты хирургического лечения пациентов оценивались по морфологическим и аудиологическим показателям. В таблице 3 приведены средние значения порогов воздушного и костного звукопровеления, а в таблице 4 – величина костно-воздушного интервала до- и после операции тимпанопластики. Из таблицы 3 следует, что по сравнению с результатами дооперационной аудиометрии, произошло уменьшение порогов звукопроведения во всех группах пациентов. Позитивные итоги проведенных

слухоулучшающих операций подтверждаются значениями костно-воздушного интервала у пациентов до и после операции. Как видно из таблицы 4, сокращение костно-воздушного интервала наблюдалось во всех группах.

Таблица 3.

Средние значения порогов звукопроведения у пациентов с различными формами ХГСО до и после операции.

| Средние пороги в зоне речевых частот, дБ | Мезотимпанит | | Эпитимпанит | | Состояние после СО | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | до | после | до | после | до | после |
| Воздушное звукопроведение | 41,2 ±4,2 | 27,2 ±4,4 | 43,7 ±5,8 | 35,1 ±4,7 | 61,9 ±10,1 | 45,8 ±10,3 |
| Костное звукопроведение | 11,4 ±2,6 | 9,5 ±2,9 | 9,9 ±2,7 | 10,6 ±3,0 | 19,1 ±8,9 | 14,7 ±8,5 |

Таблица 4.

Средние величины костно-воздушного интервала у пациентов до и после операции.

| | КВИ до операции, дБ | КВИ после операции, дБ |
|---|---|---|
| Мезотимпанит | 30,2±2,9 | 17,8±2,9 |
| Эпитимпанит | 33,8±4,4 | 24,3±3,2 |
| Состояние после СО | 42,0±6,6 | 31,0±3,9 |

Таблица 5.

Средние величины костно-воздушного интервала (КВИ) у пациентов до и после операции.

| | КВИ до операции, дБ | КВИ после операции, дБ |
|---|---|---|
| Тимпанопластика с применением краш-хряща | 37,1±7,6 | 27,1±5,6 |
| Тимпанопластика с применение полосок нераздавленного хряща | 32,1±5,6 | 23,1±3,5 |

С точки зрения эффективности применения храш-хряща рассматривались две группы пациентов после радикальной операции с тимпанопластикой – группа пациентов, у которых в ходе операции

применялся краш-хрящ и группа сравнения, в которой оперативное лечение осуществлялось без применения краш-хряща (таблица 5). Из таблицы видно, что наблюдалось одинаковое уменьшение костно-воздушного интервала в обеих группах. Результаты клинико-морфологического и аудиологического исследования практически одинаковы.

В послеоперационном периоде у пациентов отмечалась различная степень приживления неотимпанального лоскута. Выделяли 3 степени приживления лоскута. При первой степени – лоскут розовый, с легкой цианотичностью, отечность его незначительная, васкуляризация равномерная. При второй степени отмечалась выраженная цианотичность и отечность лоскута; определялись участки поверхностного некроза, васкуляризация, как правило, была краевая. При третей степени – лоскут белого цвета, утолщен, определялся диффузный некроз, васкуляризация была слабая, только краевая, иногда отсутствовала. Распределение по средним уровням цитокинов в зависимости от степени приживления лоскута показано в таблице 6.

Таблица 6.

Средние значения концентраций IL-1β и IL-8 в смывах из полости среднего уха у пациентов с различной степенью приживления неотимпанального лоскута.

| Степень приживления лоскута | Количество пациентов | | Концентрация IL-1β, пкг/мл до операции | Концентрация IL-8, пкг/мл до операции |
|---|---|---|---|---|
| | абс. число | % | | |
| 1 степень | 20 | 43,5 | 270,7 | 511,1 |
| 2 степень | 20 | 43,5 | 250,4 | 261,8 |
| 3 степень | 6 | 13,0 | 1050,4 | 542,6 |

Четкой зависимости между исходным уровнем провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-8 и степенью приживления неотимпанального лоскута в послеоперационном периоде не отмечено, хотя в целом наблюдается тенденция к повышению уровней провоспалительных цитокинов при третей степени болезни лоскута. Однако средние значения концентраций цитокинов, приведенные в таблице 6, в силу значительной дисперсии не дают истинной картины взаимосвязей степени приживления аутотрансплантатов с местной концентрацией провоспалительных цитокинов. Поэтому важными представляются результаты, приведенные в таблице 7-9, отражающие наличие или отсутствие цитокинов в смывах из полости среднего уха у пациентов с различной степенью приживления трансплантата.

Таблица 7.

Распределение по степеням приживления неотимпанального лоскута в зависимости от уровня IL-1β в мазках из полости среднего уха.

| Уровень IL-1β | Степень приживления лоскута | | | Всего |
|---|---|---|---|---|
| | 1-я | 2-я | 3-я | |
| Нулевой уровень, абс. число | 12 | 12 | 2 | 26 |
| Нулевой уровень, % | 46,2 | 46,2 | 7,6 | 100 |
| Положительный уровень, абс. число | 8 | 8 | 3 | 19 |
| Положительный уровень, % | 42,1 | 42,1 | 15,8 | 100 |
| Всего | 20 | 20 | 5 | 45 |

Примечание: Под нулевым уровнем здесь и далее понимается неопределямый по чувствительности тест-системы уровень цитокина в содержимом мазка из полости среднего уха.

Таблица 8.

Распределение по степеням приживления неотимпанального лоскута в зависимости от наличия IL-8 в мазках из полости среднего уха.

| Уровень IL-8 | Степень приживления лоскута | | | Всего |
|---|---|---|---|---|
| | 1-я | 2-я | 3-я | |
| Нулевой уровень, абс. число | 12 | 7 | 2 | 21 |
| Нулевой уровень, % | 57,2 | 33,3 | 9,5 | 100 |
| Положительный уровень, абс. число | 8 | 13 | 3 | 24 |
| Положительный уровень, % | 33,3 | 54,2 | 12,5 | 100 |
| Всего | 20 | 20 | 5 | 45 |

Примечание: совпадает с табл. 7.

Методом кросстабуляции с расчетом критерия $\chi^2$, обнаружено, что при разных уровнях IL-1β распределение степеней приживления неотимпанального лоскута в группах пациентов практически идентично – большинство пациентов имело 1-ю и 2-ю степень приживления, меньшинство – 3-ю. Достоверных различий нет. При анализе распределения степеней приживления неотимпанального лоскута при разных уровнях IL-8 в мазках из полости среднего уха, тем же методом, обнаружено следующее: при нулевом уровне IL-8 большинство пациентов имело 1-ю степень приживления неотимпанального лоскута, а при положительном уровне IL-8 – 2-ю степень. Достоверных различий при этом не обнаружено (таблицы 7-8).

Таблица 9.

Распределение по степеням приживления неотимпанального лоскута в зависимости от наличия IL-1β и IL-8 в мазках из полости среднего уха.

| Уровень цитокинов | Степень приживления лоскута | | | Всего |
|---|---|---|---|---|
| | 1-я | 2-я | 3-я | |
| Нулевой уровень IL-1β и IL-8, абс. число | 9 | 3 | 0 | 12 |
| Нулевой уровень IL-1β и IL-8 % | 75,0 | 25,0 | 0,0 | 100 |
| Положительный уровень IL-1β и/или IL-8, абс. число | 11 | 17 | 5 | 33 |
| Положительный уровень IL-1β и/или IL-8, % | 33,3 | 51,5 | 15,2 | 100 |
| Всего | 20 | 20 | 5 | 45 |

Примечание: совпадает с табл. 14.

При применении критерия $\chi^2$ для многопольной таблицы 2×3 было получено значение критерия, равное 6,65, что подтверждает достоверное различие распределений абсолютного числа пациентов с нулевым и положительным уровнями цитокинов по степеням приживления для $p<0,05$ (критическое значение критерия 5,99). Таким образом, на основании данных, приведенных в таблицахэ. 7-9 можно утверждать, что при положительных значениях уровней IL-1β и IL-8 в материале из полости среднего уха степень приживления трансплантата достоверно ниже, чем при их отсутствии. Кроме того, можно предполагать, что при более высоком уровне провоспалительных цитокинов IL-1β и/или IL-8 в полости среднего уха в дооперационном периоде отмечается худшая приживляемость неотимпанального лоскута в послеоперационном периоде. Эта гипотеза может учитываться при прогнозировании приживления неотимпанального лоскута в послеоперационном периоде.

Всем пациентам в послеоперационном периоде проводилась консервативная терапия с целью купирования воспалительных явлений неотимпанального лоскута. Тампон из наружного слухового прохода удаляли на 8-10 сутки после операции. Для уменьшения проявлений болезни лоскута и для более быстрого приживления трансплантата, в послеоперационном периоде 20 пациентам проводили вместе с традиционной терапией иммуномодулирующую терапию препаратом «Беталейкин». Препарат использовался местно в виде ушных капель в концентрации 5 нг/мл по 2-3 капли в слуховой проход ежедневно 7 дней. Группу сравнения составили 26 пациентов после тимпанопластики, получающие в послеоперационном периоде традиционное лечение (спиртовые капли с антибиотиком –

«Нормакс», «Ципромед», «Отофа»). Распределение пациентов по степеням приживления в группах приведено на рисунке 4. В группе сравнения и группе, получавшей в дальнейшем «Беталейкин», примерно одинаково распределено количество пациентов первой, второй и третей степени приживления неотимпанального лоскута.

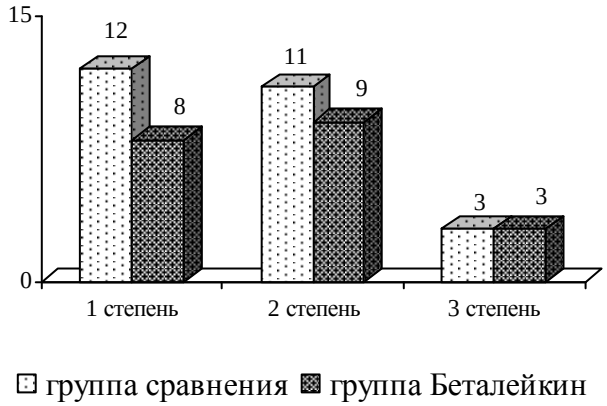


Рисунок 4. Распределение пациентов по степеням приживления неотимпанального лоскута в послеоперационном периоде после удаления тампона из наружного слухового прохода.

У пациентов, получавших «Беталейкин» местно в послеоперационном периоде, наблюдалось сокращение сроков приживления неотимпанального лоскута по сравнению с группой сравнения (рисунок 5). Сроки приживления составили в группе «Беталейкин» 13-14 дней после операции для группы пациентов с 1-й степенью болезни лоскута (в группе сравнения – 15-16 дней), 17-18 дней для пациентов со 2-степенью болезни лоскута (в группе сравнения – 20-23 дня, в одном случае – отторжение лоскута), и 22-25 дней для пациентов с 3-й степенью болезни лоскута (в группе сравнения – больше месяца или отторжение лоскута). Все различия достоверны ($p<0,05$).

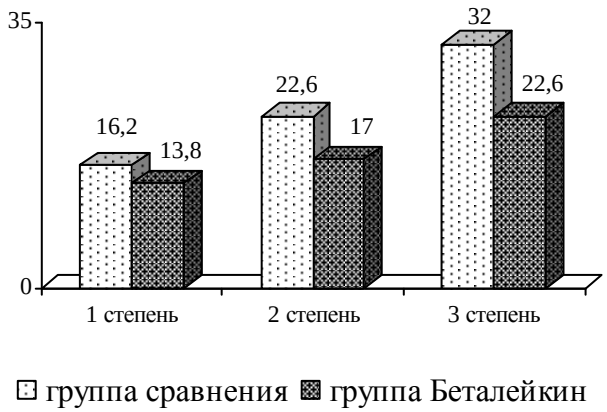


Рисунок 5. Средние значения сроков приживления неотимпанального лоскута при традиционной терапии и терапии «Беталейкином» в послеоперационном периоде (сутки).

Таким образом, наблюдалось достоверное снижение сроков приживления неотимпанального лоскута на фоне применения «Беталейкина» у пациентов с разной степенью приживления лоскута. Уменьшение сроков приживления варьирует от 4-х суток (при первой степени приживления) до 10 суток (при третей степени приживления).

Иммунотерапию препаратом «Бестим» также проводили в послеоперационном периоде. Препарат назначали внутримышечно, начиная со дня операции, один раз в день по 0,1 мг. У пациентов, получавших препарат, исследования уровня цитокинов в полости среднего уха производили до операции, а в послеоперационном периоде – после удаления тампона. Также как и в группе пациентов, получавших «Беталейкин», определяли степень приживления неотимпанального лоскута. Распределение по степеням приживления в группе пациентов, получавших «Бестим» и группе сравнения, приведено на рисунке 6.

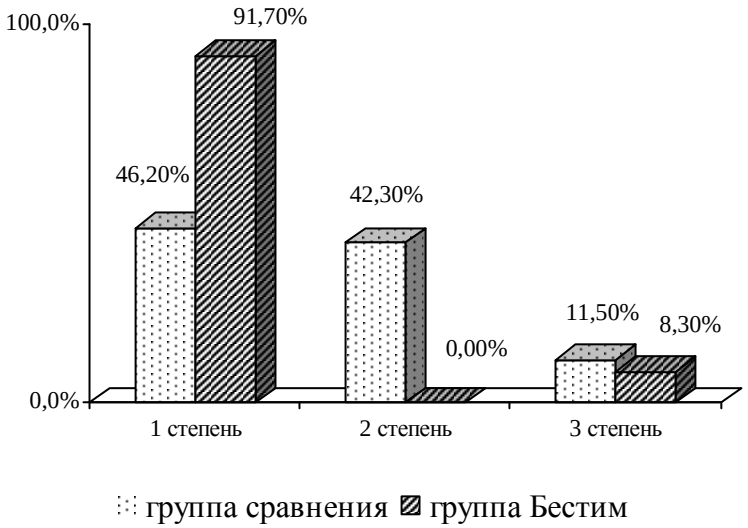


Рисунок 6.
Степень приживления неотимпанального лоскута у пациентов после терапии «Бестимом» и у пациентов группы сравнения.

Уровни провоспалительных цитокинов в этой группе пациентов были различны – от 0 пкг/мл до высоких концентраций. Из 12 пациентов этой группы у 11 пациентов наблюдалась первая степень приживления неотимпанального лоскута, у одного пациента – третья степень. Обнаружены статистически значимые различия частот встречаемости разных степеней приживления неотимпанального лоскута в группах пациентов, получавших «Бестим» и в группе сравнения. Использовался непараметрический критерий $\chi^2$ для анализа распределения абсолютного числа случаев по группе «Бестим» и группе сравнения. Показана достоверность различий между выборками для $p<0,05$, что доказывает улучшение приживления аутотрансплантата под влиянием «Бестима».

Таким образом, применение иммуномодулирующих препаратов в послеоперационном периоде у больных после тимпанопластики позволяет улучшить приживление неотимпанального лоскута.

## ВЫВОДЫ.

1. При механическом раздавливании аутохряща козелка ушной раковины путем сжатия сохраняются его структура и опорные свойства при увеличении пластичности материала, что позволяет его успешно использовать при тимпанопластике.

2. Степень разрушения хряща козелка ушной раковины зависит от силы сжатия (в ряду от 1 до 5 кН в течение 2 минут), но не от длительности механического воздействия (2 кН в течение 2 минут до 1 часа). Оптимальным режимом разрушения хряща козелка ушной раковины с целью его последующего использования в ходе тимпанопластики является сжатие с усилием 2 – 2,5 кН в течение 2 минут.

3. Определение уровня провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-8 в полости среднего уха в дооперационном периоде, наряду с клиническими признаками ремиссии воспалительного процесса, позволяет получить более достоверный прогноз приживляемости неотимпанального лоскута в послеоперационном периоде. У пациентов с нулевым или очень низкими местными уровнями IL-1β и IL-8 степень альтерации лоскута достоверно ниже, а уровень приживления соответственно достоверно выше, чем у пациентов с определяемыми уровнями как обоих цитокинов, так и любого из них. Обнаружена положительная достоверная корреляция между уровнями IL-1β и IL-8, указывающая на общие закономерности развития воспалительных реакций в полости среднего уха и косвенно подтверждающая бактериальную природу патологического процесса.

4. Местное применение препарата «Беталейкин» в послеоперационном периоде после тимпанопластики позволяет сократить сроки приживления неотимпанального лоскута. Уменьшение сроков приживления составляет от 4 суток (при первой степени приживления неотимпанального лоскута) до 10 суток (при третьей степени приживления).

5. Использование препарата «Бестим» в послеоперационном периоде после тимпанопластики достоверно улучшало процесс приживления неотимпанального лоскута. При системном введении «Бестима» в 2 раза чаще наблюдалась первая степень приживления лоскута по сравнению с группой сравнения. Характер эффекта «Бестима» и степень приживления трансплантата не зависели от предоперационного местного уровня IL-1β и IL-8 в полости среднего уха.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

1. В ходе реконструктивных операций на среднем ухе с целью увеличения объема барабанной полости целесообразно использование раздавленного хряща козелка ушной раковины, помещаемого над каналом лицевого нерва. Для приготовления краш-хряща целесообразно использование полученного в ходе операции материала, подвергнутого равномерному механическому воздействию с помощью ручного пресса с усилием 2-2,5 кН в течение 2 минут.

2. В дооперационный период перед тимпанопластикой целесообразно проведение оценки местных уровней провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-8 для получения прогноза приживления неотимпанального лоскута. Наличие IL-1β и/или IL-8 в смывах из полости среднего уха в концентрациях, отличных от нулевых, ухудшает прогноз приживления и требует дополнительной санации полости среднего уха в дооперационном периоде и использования иммуномодулятора «Бестим» в послеоперационном периоде.

3. В послеоперационном периоде после тимпанопластики для уменьшения сроков приживления неотимпанального лоскута после удаления тампона из наружного слухового прохода целесообразно местное применение рекомбинантного интерлейкина-1β (препарат «Беталейкин») в виде ушных капель с концентрацией препарата 5 нг/мл в течение 7 дней по 2-3 капли в наружный слуховой проход. Применение препарата «Беталейкин» особенно показано при 2-й и 3-й степенях приживления неотимпанального лоскута.

4. Для улучшения приживления неотимпанального лоскута в послеоперационном периоде после тимпанопластики целесообразно системное введение препарата «Бестим» внутримышечно 1 раз в день в дозе 0,1 мг, начиная с 1 дня после операции. Применение «Бестима» особенно показано в случаях обнаружения провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-8 в смывах из полости среднего уха до операции.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. Использование препарата «Беталейкин» в послеоперационном периоде у больных хроническим гнойным средним отитом. Материалы 54-ой конф. молодых ученых // Рос. оториноларинол. – 2007. – №1. – С.124-127.
2. Использование препарата «Беталейкин» у больных после тимпанопластики / М.А. Медведский; под ред. Ю.А. Кротова // Новые технологии в лечении заболеваний верхних дыхательных путей и уха: Сб. тезисов научн.-

практ.конф., посвященной 80-летию И.В. Мишенькина – Омск, 2006. – С. 50-51.

3. Применение краш-хряща при тимпанопластике / В.П. Ситников, И.А. Аникин, М.А. Медведский // XVII съезд оториноларингологов России: материалы (тезисы), г. Н. Новгород – СПб: [б.и.], 2006. – С.142.(соавт.: В.П. Ситников, И.А. Аникин).

4. Подана заявка на изобретение – способ реабилитации больных после тимпанопластики, № 2007124632/14(026818) приоритет от 20.06.2007г.