

УДК 616.285-089:616.284-002.2-036.66

В.А. ДОЛГОВ¹, Н.Н. ШЕВЛЮК¹, Н.И. ИВАНОВА³, Л.Б. ЛУНЬКОВА³, В.П. ЧЕСНОКОВ², Н.А. МАЖАРЦЕВА²

¹Оренбургский государственный медицинский университет, 460000, г. Оренбург, ул. Советская, д. 6

²Оренбургская областная детская клиническая больница, 460006, г. Оренбург, ул. Рыбаковская, д. 3

³Оренбургский областной врачебно-физкультурный диспансер, 460000, г. Оренбург, ул. Постникова, д. 11

Морфофункциональная характеристика тканей барабанной перепонки и результаты мiringопластики на разных сроках ремиссии хронического гнойного среднего отита

Долгов Вячеслав Александрович — доктор медицинских наук, профессор кафедры оториноларингологии, тел. +7-903-362-66-07, e-mail: Vyacheslav-dolgov@bk.ru

Шевлюк Николай Николаевич — доктор биологических наук, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, тел. +7-905-843-37-45, e-mail: ShevlukNN@mail.ru

Иванова Наталья Игоревна — соискатель кафедры оториноларингологии, тел. +7-902-366-33-02, e-mail: Natalya-ivanova1977@bk.ru

Лунькова Лариса Борисовна — врач-оториноларинголог, тел. +7-987-343-94-69, e-mail: lor.kaf56@mail.ru

Чесноков Виктор Петрович — заведующий оториноларингологическим отделением, тел. (3532) 57-65-45, e-mail: VIK8654@yandex.ru

Мажарцева Наталья Анатольевна — врач сурдолог-оториноларинголог, тел. +7-922-848-44-15, e-mail: senatka@list.ru

В статье дана морфофункциональная характеристика тканей барабанной перепонки собак на разных сроках ремиссии экспериментального хронического гнойного среднего отита и представлена оценка результатов мiringопластики, выполненной в условиях эксперимента и клиники. У 30 собак воспроизвели экспериментальный стафилококковый хронический гнойный средний отит путем 3-кратного введения в тимпанальную полость в течение месяца по 1 мл 5 млрд взвесей суточной культуры золотистого стафилококка. Через 40 дней после воспроизведения отита животных лечили до получения «сухого уха», после чего проводили мiringопластику. Результаты морфофункционального исследования тканей барабанной перепонки и трансплантата показали, что наиболее оптимальными для операции являются первые две недели после ликвидации воспалительных явлений в среднем ухе. Клинический раздел работы заключался в выполнении слухоулучшающей операции (мiringопластики) 35 больным хроническим гнойным средним отитом на разных сроках ремиссии. Наилучшие морфологические и функциональные результаты мiringопластики получены у пациентов, которым операция была проведена в первые 2 недели ремиссии. Полученные результаты подтверждаются данными экспериментального исследования, которое свидетельствует о высокой регенеративной активности эпителиальных тканей барабанной перепонки в этот период ремиссии.

Ключевые слова: гнойный средний отит, ремиссия, барабанная перепонка, эпителий, соединительная ткань, трансплантат, мiringопластика.

V.A. DOLGOV¹, N.N. SHEVLYUK¹, N.I. IVANOVA¹, L.B. LUN'KOVA³, V.P. CHESNOKOV², N.A. MAZHARTSEVA²

¹Orenburg State Medical University, 6 Sovetskay St., Orenburg, Russian Federation, 460000

²Orenburg Regional Children's Clinical Hospital, 3 Rybakovskay St., Orenburg, Russian Federation, 460006

³Orenburg Regional Medical-Sport Dispensary, 11 Postnikov St., Orenburg, Russian Federation, 460000

Morphological and functional characteristic tissues of the tympanic membrane and results of miringoplastic at different stages of remission after purulent otitis media

Dolgov V.A. — D. Med. Sc, Professor of the Department of Otorhinolaryngology, tel. +7-903-362-66-07, e-mail: Vyacheslav-dolgov@bk.ru



Shevlyuk N.N. — D. Biol. Sc, Professor of the Department of Histology, Cytology and Embryology, tel. +7-905-843-37-45, e-mail: ShevlyukNN@mail.ru

Ivanova N.I. — postgraduate student of the Department of Otorhinolaryngology, tel. +7-902-366-33-02, e-mail: Natalya-ivanova1977@bk.ru

Lun'kova L.B. — doctor-otolaryngologist, tel. +7-987-343-94-69, e-mail: lor.kaf56@mail.ru

Chesnokov V.P. — Head of Otorhinolaryngology Department, tel. (3532) 57-65-45, e-mail: VIK8654@yandex.ru

Mazhartseva N.A. — doctor audiologist-otolaryngologist, tel. +7-922-848-44-15, e-mail: senatka@list.ru

The article presents morphological-functional characteristic of the eardrum tissues in dogs at different stages of remission after experimental chronic otitis and evaluation of results of myringoplasty which was performed in clinic under the experiment. In 30 dogs staphylococcal chronic otitis was promoted by three-time intake in tympanic cavity of 1 ml of suspension containing 5 bln of daily aurococcus culture during one month. After 40 days of otitis promotion, all animals were treated till the «dry ear», then myringoplasty was performed. The results of morphofunctional research of eardrum tissues and the transplant showed that the most optimal for operation are the first two weeks after liquidation of phlogistic eyesores in medium ear. Clinical part of work consists in performance of myringoplasty on 35 patients with chronic otitis at different stages of remission. The best morphological and functional results of myringoplasty were received from the patients, on whom operations were performed in the first two weeks of remission. The results are proved by the data of experimental investigation, which indicated that in these period of remission the regenerative activity of eardrum epithelial tissues is the highest.

Key words: otitis, remission, eardrum, epithelium, connective tissue, transplant, myringoplasty.

Проблема репаративной регенерации тканей является одной из приоритетных проблем медицинской и биологической науки [1-4]. Несмотря на способность поврежденных тканей человека и животных к физиологической регенерации, полного восстановления утраченных структур иногда не происходит, что требует применения дополнительных мер. К настоящему времени разработано много различных способов пластики дефектов тканей (в том числе и барабанной перепонки) с использованием разных материалов. Одним из наиболее часто применяемых биопластических материалов является «Гиаматрикс», созданный на основе гиалуроновой кислоты [5-8]. Вместе с тем исследования последних лет показали, что результаты мирингопластики во многом зависят от степени бактериальной обсемененности барабанной полости, используемого трансплантата и сроков выполнения операции [9-13].

Цель исследования — определить морфофункциональную характеристику тканей барабанной перепонки на разных сроках ремиссии экспериментального хронического гнойного среднего отита и оценить результаты мирингопластики, выполненной в условиях эксперимента и клиники.

Материал и методы

Для выполнения работы отобраны 34 беспородные собаки без признаков «спонтанного отита». У 30 подопытных животных был воспроизведен односторонний экспериментальный хронический гнойный средний отит. В качестве возбудителя заболевания использовался штамм золотистого стафилококка (*S.aureus*) из коллекции культур Оренбургского института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук. В тимпанальную полость 3-кратно вводили по 1 мл 5 млрд взвеси суточной агаровой культуры золотистого стафилококка путем прокола барабанной перепонки шприцем с иглой. Первое введение производилось для воспроизведения отита, второе и третье — на 10-е и 30-е сутки отита для развития хронического воспалительного процесса в среднем ухе. Контрольную группу состави-

ли 4 здоровые собаки. Через 40 дней после воспроизведения отита животных лечили (внутримышечно вводили по 0,5 г цефазолина два раза в день, местно промывали слуховой проход раствором фурацилина) до получения «сухого уха». После этого всем животным проводилась мирингопластика под операционным микроскопом. В качестве трансплантата использовался биоматериал «Гиаматрикс», созданный на основе гиалуроновой кислоты. Из пластины «Гиаматрикса» вырезали лоскут, который по своим размерам на 1-2 мм превышал диаметр перфорации барабанной перепонки. Фиксации трансплантированного лоскута на барабанной перепонке способствовали его высокие адгезивные свойства.

По срокам выполнения операции животные были разделены на 5 групп (по 6 собак в каждой группе). Первой группе животных мирингопластика выполнялась через 1 неделю после стихания воспалительных явлений в среднем ухе, второй — через 2 недели, третьей — через 3 недели, четвертой — через 4 недели и пятой группе — через 12 недель «сухого уха». Прооперированных животных выводили из опыта через 2 недели после мирингопластики. Операцию для забора материала (барабанную перепонку с трансплантатом) и дальнейшего гистологического исследования проводили под операционным микроскопом. Полученный материал фиксировали в 12%-ном водном растворе нейтрального формалина, спирт-формоле, жидкости Буэна. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином, перйодатом калия и реактивом Шиффа по Мак Манусу [14]. В гистологических препаратах барабанной перепонки подсчитывали количество ряда клеточных элементов крови и соединительной ткани, в эпителии определяли митотическую активность, выражаемую в количестве митозов на 1000 клеток.

Клинический раздел работы включал обследование и лечение 35 больных хроническим гнойным средним отитом (мезотимпанитом). Обследование заключалось в ЛОР-осмотре с отомикроскопией, рентгенографии височной кости и околоносовых пазух, акуметрии и определения проходимости слуховых труб. Шепотная речь у обследуемых больных воспринималась на расстоянии от 1 до 2 метров от

ушной раковины. Лечение заключалось в выполнении слухоулучшающей операции — мирингопластики на разных сроках ремиссии хронического гнойного среднего отита. По срокам выполнения мирингопластики больные были объединены в 5 групп (по 7 пациентов в каждой). Первой группе пациентов операция производилась через 1 неделю ремиссии, 2-й — через 2 недели, 3-й — через 3 недели, 4-й — через 4 недели и 5-й группе — через 12 недель «сухого уха». В качестве трансплантата использовался биоматериал «Гиаматрикс». Полученные цифровые показатели обрабатывали с использованием методов вариационной статистики.

Результаты исследования и их обсуждение

Барабанная перепонка здоровых животных представляла собой тонкую соединительнотканную пластинку, которая со стороны наружного слухового прохода была покрыта многослойным плоским эпителием, со стороны барабанной полости — однослойным эпителием. Соединительнотканная основа барабанной перепонки состояла из коллагеновых волокон, которые лежали в два слоя: в наружном слое они располагались радиально, а во внутреннем слое — циркулярно.

В первой группе животных трансплантат прижился и закрыл дефект барабанной перепонки у всех собак, но только у 4 животных наблюдалось полная эпителизация поверхности «Гиаматрикса» как со стороны среднего, так и наружного уха. У остальных (двух собак) площадь трансплантата только на 2/3 была покрыта эпителием. Многослойный и однослойный эпителий наслаивался на дефект барабанной перепонки, закрытый пластинкой из материала «Гиаматрикс», используя ее в том же качестве, в каком пролиферирующий эпителий в условиях *in situ* использует подлежащую соединительную ткань. Пролиферативная активность многослойного плоского эпителия была более высокой, чем однослойного. В соединительной ткани, сохранившейся части барабанной перепонки, располагалось большое количество клеточных элементов фибробластического дифферона, с преобладанием дифференцированных фибробластов над малодифференцированными.

Наличие большого количества как малодифференцированных, так и дифференцированных фибробластов указывало на довольно высокие регенераторные возможности соединительной ткани. Вновь образованные коллагеновые волокна в межклеточном веществе соединительной ткани располагались беспорядочно в разных направлениях. В умеренном количестве встречались лимфоциты.

Во второй группе животных трансплантат прижился и закрыл перфорацию барабанной перепонки у 5 собак. У 6 собак пластина «Гиаматрикса» нагноилась и отторглась. Площадь прижившихся трансплантатов на 2/3 была покрыта эпителием с обеих сторон. Морфофункциональная характеристика эпителия, а также структура соединительной ткани барабанной перепонки практически не отличалась от ее строения в 1-й группе животных. Митотическая активность многослойного плоского и однослойного эпителия была еще значительной, что обеспечивало пролиферативный рост эпителиальных тканей и способствовало закрытию перфорации в барабанной перепонке. Как и в первой группе животных пролиферативная активность многослойного эпителия была более высокой. В соединительной ткани барабанной перепонки 2-й группы жи-

вотных была отмечена высокая функциональная активность дифференцированных фибробластов, результатом чего было нарастание соединительной ткани на область дефекта барабанной перепонки. Однако в сравнении с животными первой группы было отмечено некоторое снижение репаративных процессов в соединительной ткани.

Из 6 животных 3-й группы только у трех наблюдалось полное закрытие дефекта барабанной перепонки, причем эпителий покрыл лишь 1/2 площади трансплантата. В соединительной ткани барабанной перепонки подопытных животных наблюдалось увеличение фибриллярных структур и снижение содержания клеточных элементов. Среди клеток преобладали фиброциты и дифференцированные фибробласты. Пролиферативная активность эпителиоцитов и клеток соединительной ткани барабанной перепонки была значительно ниже, чем у животных, которым мирингопластика выполнялась на более ранних сроках. У 3 подопытных животных трансплантат превратился в сухую корочку и отторгся. Дефект в барабанной перепонке остался прежних размеров.

В 4-й и 5-й группе животных трансплантат прижился у 3 собак в каждой группе, у остальных он превратился в сухую корку и отошел от барабанной перепонки. У животных, которым мирингопластика была произведена через 4 недели ремиссии, эпителий покрыл 1/3 площади прижившихся трансплантатов, а у прооперированных через 12 недель — эпителий только начал наслаиваться с края перфорации барабанной перепонки на трансплантат. Пролиферативная активность эпителиоцитов и клеток соединительной ткани животных была низкой, особенно в тканях барабанной перепонки животных через 12 недель ремиссии экспериментального хронического гнойного среднего отита.

При проведении клинического дооперационного обследования всех 35 больных с хроническим гнойным средним отитом противопоказаний к операции мирингопластики не обнаружено. Результаты послеоперационного обследования показали следующее: в 1-й группе пациентов трансплантат прижился у 6 пациентов. Из них у 4 пациентов вся поверхность прижившихся трансплантатов со стороны наружного слухового прохода была покрыта многослойным плоским эпителием, а у 2 остальных — только 2/3 поверхности «Гиаматрикса». Шепотная речь улучшилась и определялась на расстоянии 4,0-4,5 метра от ушной раковины. У 7 пациентов трансплантат нагноился и отторгся, перфорация барабанной перепонки осталась прежних размеров, острота слуха не улучшилась.

Во 2-й группе пациентов приживление трансплантата наблюдалось у всех 7 больных с полным закрытием перфорации барабанной перепонки. У 3 пациентов вся наружная поверхность трансплантата была покрыта эпителием, а у остальных 4 — только 2/3 его площади. Шепотная речь воспринималась на расстоянии 4,0-4,5 метра от уха.

В 3-й группе пациентов трансплантат прижился у 4 из 7 наблюдаемых. При отомикроскопии только половина площади прижившихся трансплантатов была покрыта эпителием. Восприятие шепотной речи отмечалось на расстоянии 4,0-4,5 метра от ушной раковины. У 3 пациентов трансплантат отторгся. Шепотная речь не улучшилась и определялась на расстоянии 1,5-2,0 метра от ушной раковины.

В 4-й и 5-й группах больных, прооперированных через 4 и 12 недель «сухого уха», трансплантат



прижился у 4 пациентов в 4-й группе и у 3 — в 5-й группе. В 4-й группе пациентов 1/3 поверхности прижившихся трансплантатов была покрыта эпителием, а в 5-й группе эпителий только начал «наползать» с края перфорации барабанной перепонки на трансплантат. Шепотная речь у пациентов после мирингопластики воспринималась на расстоянии 4,0-4,5 метра от оперированного уха. У остальных 7 больных трансплантат нагноился и отторгся. Перфорация барабанной перепонки осталась прежних размеров, шепотная речь определялась на расстоянии 1,5-2,0 метров от уха.

Заключение

Результаты морфологического исследования тканей барабанной перепонки на разных сроках ремиссии экспериментального хронического гнойного среднего отита показали, что наиболее выраженная

пролиферативная активность эпителия барабанной перепонки отмечалась в первые две недели после стихания воспалительных явлений в среднем ухе. Об этом свидетельствовала значительная (от 70 до 100%) эпителизация пластины «Гиаматрикса» в первые две недели ремиссии, что повлияло на приживляемость трансплантата и создания новой полноценной неотимпанальной мембраны на месте дефекта барабанной перепонки. Данные экспериментального исследования подтвердились результатами клинических наблюдений у больных хроническим гнойным средним отитом после выполнения мирингопластики. Наилучшие морфофункциональные результаты мирингопластики получены у больных, которым операция была произведена в первые две недели ремиссии заболевания. На этих сроках отмечались лучшая приживляемость трансплантата и значительная эпителизация его поверхности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лиознер Л.Д. Теоретические и экспериментальные подходы к изучению регенерации у млекопитающих // Клеточные основы регенерации у млекопитающих. М.: Наука, 1984. — С. 4-18.
2. Лиознер Л.Д. Основные проблемы учения о регенерации. — М.: Наука, 1975. — 102 с.
3. Саркисов Д.С. Внутриклеточная регенерация и структурно-функциональный анализ биологических процессов в норме и патологии // Архив анатомии. — 1978. — Т. 74, №6. — С. 15-26.
4. Быков В.Л., Леонтьева И.В. Повреждение и репаративная регенерация эпителия слизистой оболочки полости рта при воздействии цитостатиков (тканевые, клеточные и молекулярные механизмы) // Морфология. — 2011. — Т. 139, №2. — С. 7-17.
5. Забиров Р.А., Щетинин В.Н., Рахматуллин Р.Р., Гарифзянова С.М., Шевлюк Н.Н. Пластика дефектов барабанной перепонки отоскопом у больных хроническим мезотимпанитом // Российская оториноларингология. — 2007. — №3. — С. 40-45.
6. Рахматуллин Р.Р. Биопластический материал на основе гиалуроновой кислоты: биофизические аспекты фармакологических свойств // Фармация. — 2011. — №5. — С. 36-39.
7. Рахматуллин Р.Р., Забиров Р.А., Бурлуцкая О. Применение нового биопластического материала «Гиаматрикс» в оториноларингологии // Врач. — 2011. — №13 — С. 32-33.
8. Рахматуллин Р.Р., Гарифзянова С.М., Забиров Р.А., Шевлюк

Н.Н. Новый биопластический материал на основе протеогликанового комплекса // Медицинская наука и образование Урала. — 2007. — №5. — С. 110-111.

9. Долгов В.А. Роль микробного биоценоза слизистой оболочки носа, барабанной полости в патогенезе, прогнозировании среднего отита и выбора рациональной терапии мезотимпанита: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Оренбург: ОрГМА, 2007. — 40 с.

10. Завьялов Ф.Н., Косяков С.Я., Гончаров О.Г. Результаты применения обогащенной тромбоцитами плазмы при поршневой степедопластике и мирингопластике // Российская оториноларингология. — 2011. — №3. — С. 53.

11. Косяков С.Я., Пахилина Е.В. Отдаленные результаты после тимпанопластики // Российская оториноларингология. — 2008. — №2. — С. 269.

12. Долгов В.А., Лунькова Л.Б., Иванова Н.И. Клинико-бактериологические результаты обследования больных хроническим гнойным средним отитом в определении сроков мирингопластики // Российская оториноларингология. — 2011. — №4. — С. 58.

13. Долгов В.А., Шульга И.А., Усвяцов Б.Я., Бухарин О.В., Паршута Л.И. Способ определения условий для мирингопластики при ремиссии хронического гнойного мезотимпанита. Патент на изобретение RUS 2252708 28. 08. 2003.

14. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. — М.: Издательство иностранной литературы, 1962. — 962 с.