

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ ВЕДУЩЕЕ ВЫСШЕЕ УЧЕБНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

УДК 616.216 – 089.843

ЗАТОЛОКА ДМИТРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЛОГЕННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ НА
АМНИОТИЧЕСКОЙ ОБОЛОЧКЕ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ
ЛЕЧЕНИИ ПОЛИПОЗНЫХ СИНУСИТОВ**

14.00.04.- болезни уха, горла и носа

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Минск - 2004

Работа выполнена в Белорусском государственном медицинском университете

Научный руководитель -

Доктор медицинских наук, профессор **Тимошенко П.А.**,
заведующий кафедрой болезней уха, горла, носа Белорусского государственного медицинского университета

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, доцент **Хоров О.Г.**,
заведующий кафедрой оториноларингологии с курсом стоматологии Гродненского государственного медицинского университета

Кандидат медицинских наук, доцент **Садовский В.И.**,
доцент курса оториноларингологии Гомельского государственного медицинского университета

Оппонирующая организация:

Белорусская медицинская академия последипломного образования

Защита состоится 3 июня 2004 года в 15 часов на заседании Совета по защите диссертаций Д 03.18.02 при Белорусском государственном медицинском университете (220116, г. Минск, проспект Дзержинского, 83, тел. 272-55-98)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Белорусского государственного медицинского университета.

Автореферат разослан “ ____ ” _____ 2004 г.

Ученый секретарь Совета
по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук,
доцент

А.С. Ластовка

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Согласно статистике медицинских исследований, болезни органов дыхания являются наиболее распространенными среди населения. По данным литературы, острые и хронические синуситы составляют 15 – 33,5% от общего количества заболеваний ЛОР органов (И.Б. Солдатов 1994, 1996, Г.З. Пискунов, А.С. Лопатин 1996). В стационаре их удельный вес доходит до 50%. Высокая частота хронических синуситов приобретает особое значение, если учесть, что они сочетаются с заболеваниями других органов и систем. На сочетание синуситов с поражением бронхо-легочной системы указывают многие авторы (А.И. Муминов с соавт., 1987 и др.).

Наиболее эффективным и, в большинстве случаев, единственно возможным методом лечения больных полипозными синуситами (ПС) является хирургическое удаление полипозной ткани. С развитием микро- и эндоскопической техники в ринопластике увеличился объем и радикальность лечения. В повседневную практику ринопластика прочно вошли термины пан- и полисинусотомия, септопластика, коррекция носовых раковин. Увеличение объема вмешательства в полости носа требует разработки оптимальных методов ведения послеоперационного периода (Cohen I.K. 1992, Крюков А.И и др. 2002). В раннем послеоперационном периоде образуются корки, появляется фибриновый налет, а при инструментальном туалете полости носа – носовые кровотечения. В позднем послеоперационном периоде образуются синехии, рубцовые стенозы с блокадой выводных отверстий околоносовых пазух (ОНП), наблюдаются рецидивы заболеваний (Магомедов М.М., Владимирова Е.Б. 2002). Из-за этого некоторые ринопластики (Hosemann W. 1991) высказываются за ограничение объема хирургических вмешательств. Задача сегодняшнего дня – поиск новых медицинских технологий, направленных на быстрейшее заживление раны с восстановлением анатомической целостности и физиологических функций органа.

Изучение литературы показывает, что в ведении послеоперационного периода при эндоназальных вмешательствах нет общепринятых стандартов (Вебер Р., Кеерль Р. 1997). Развитие реконструктивной хирургии характеризуется интенсивными поисками новых материалов, способствующих быстрейшему заживлению послеоперационной раны. В середине XX века для пластики дефектов применяли в основном ауто-, алло- и ксеноматериалы. С 60-х годов благодаря бурному развитию химии полимеров в клинике стали использовать синтетические материалы. Однако с их помощью не удалось полностью решить сложные проблемы восстановительной хирургии, так как даже относительно инертные полимеры, оставаясь постоянным инородным телом в организме, поддерживают хроническую воспалительную реакцию. Это обусловило необходимость продолжения поисков подходящих материалов. Оригинальный метод использования аутогенных фибриновых пленок, который нашел широкое применение в оториноларингологии, предложил

проф. В.Я. Гапанович (1979). Фибринные пленки значительно ускоряют эпителизацию и заживление ран. В настоящее время активно развивается отрасль трансплантологии, связанная с пересадками клеток, предварительно культивируемых в условиях *in vitro*. Проводятся подсадки как органоспецифического (эпителиоциты, хондроциты, кератиноциты и др.), так и органонеспецифического (фибробласты) материала. Культивирование клеток *in vitro* позволяет решить ряд важных проблем, возникающих при аллотрансплантации. Во-первых, длительное культивирование *in vitro* ведет к снижению иммуногенных детерминант на клетках, в частности HLA-антигенов, вследствие чего проявления иммунологического конфликта отсутствуют или минимальны. Во-вторых, культивирование *in vitro* позволяет получать трансплантат практически неограниченных размеров. И, наконец, культивирование *in vitro* существенно улучшает приживаемость трансплантата (Глущенко Е.В. и др. 1993, Саркисов Д.С. и др. 1995, Хантов Р.М. и др. 1999).

Для решения проблем лечения больных полипозными синуситами мы решили пойти путем объединения современных оториноларингологических методов и достижений трансплантологии.

Связь работы с крупными научными программами, темами. Работа выполнена в рамках темы НИР кафедры болезней уха, горла, носа Белорусского государственного медицинского университета «Диагностика и лечение оториноларингологических заболеваний» (регистрационный № 2003734).

Цель исследования.

Улучшить результаты хирургического лечения больных полипозными синуситами, применив аллогенные фибробласты на амниотической оболочке.

Задачи исследования.

1. Разработать способ использования культивированных аллогенных фибробластов на амниотической оболочке при хирургическом лечении больных полипозными синуситами.
2. Изучить ближайшие функциональные, морфологические результаты и иммунный статус больных полипозными синуситами при хирургическом лечении с применением комплекса аллогенных фибробластов на амниотической оболочке.
3. Изучить отдаленные результаты хирургического лечения больных полипозными синуситами с использованием аллогенных фибробластов на амниотической оболочке.

Объект и предмет исследования.

Объектом исследования было 92 больных страдающих ПС: основная группа – 62 больных после операций с использованием аллогенных

фибробластов на амниотической оболочке. Контрольную группу составили 30 больных, прооперированных и пролеченных по стандартной методике.

Предмет исследования: хирургические методы лечения больных полипозными синуситами, регенерационные процессы в полости носа после эндоназальных операций с применением аллогенных фибробластов на амниотической оболочке.

Методология и методы проведенного исследования.

Отбор больных для исследования и контроль эффективности лечения проводили на основании данных комплексного обследования.

Комплексное обследование включало: сбор данных анамнеза; общеклиническое, лабораторное и инструментальное обследование как для плановой операции; специальные методы исследования: эндоскопическое исследование полости носа, исследование дыхательной функции методом ринопневмотахометрии, определение скорости мукоцилиарного транспорта, исследование выделительной способности слизистой оболочки полости носа, определение кислотно-щелочного равновесия отделяемого носовой полости; лабораторные методы исследования: реакция бластной трансформации лимфоцитов периферической крови на антиген (фибробласты) и митоген (фитогемагглютинин) (РБТЛ), цитологическое исследование слизистой оболочки полости носа, изучение Т-клеточного звена иммунитета, определение IgA, IgG, sIgA в назальном секрете; оценка субъективного состояния пациентов; статистическая обработка материала; расчет экономической эффективности методов лечения.

Научная новизна и значимость полученных результатов.

1. Впервые применены аллогенные фибробласты на амниотической оболочке при эндоназальных вмешательствах у больных полипозными синуситами.
2. Впервые доказано, что применение аллогенных фибробластов на амниотической оболочке ускоряет эпителизацию раневой поверхности в полости носа после хирургических вмешательств у больных полипозными синуситами и способствует восстановлению физиологических функций носа.
3. Впервые изучено состояние иммунной системы у больных полипозными синуситами при применении аллогенных фибробластов на амниотической оболочке.
4. Впервые изучены отдаленные результаты применения аллогенных фибробластов на амниотической оболочке при хирургическом лечении больных полипозными синуситами и установлено, что их использование приводит к достоверному снижению относительного риска рецидива полипов.

Практическая значимость полученных результатов.

Для клинической практики ринохирургов разработан и предложен метод

хирургического лечения больных ПС с использованием аллогенных фибробластов на амниотической оболочке.

Применение аллогенных фибробластов на амниотической оболочке ускоряет эпителизацию раневой поверхности после хирургического лечения больных ПС.

Разработанная технология хирургического лечения больных ПС снижает на 3,9 суток сроки стационарного лечения больных по сравнению со стандартным методом лечения.

Применение аллогенных фибробластов на амниотической оболочке достоверно снижает относительный риск рецидивирования полипов у пациентов, что подтверждается критериями доказательной медицины.

Операции с применением аллогенных фибробластов на амниотической оболочке внедрены в хирургическую практику ЛОР отделений Гомельской и Брестской областных больниц и Городской клинической больницы №1 г. Витебска. Положения настоящего исследования используются для обучения студентов на кафедре оториноларингологии ВГМУ.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту.

1. Применение трансплантата состоящего из культивированных аллогенных фибробластов на амниотической оболочке при хирургическом лечении больных ПС ускоряет эпителизацию раневой поверхности, способствует восстановлению физиологических функций носа в более ранние сроки, сокращает сроки стационарного лечения больных, что приносит значительный экономический эффект.
2. Использование аллогенных фибробластов на амниотической оболочке при хирургическом лечении больных ПС не нарушает иммунной системы пациентов.
3. Применение аллогенных фибробластов на амниотической оболочке при хирургическом лечении больных полипозным синуситом достоверно снижает число рецидивов заболевания в отдаленном периоде.

Личный вклад соискателя.

Цель и задачи исследования сформулированы совместно с научным руководителем. Соискателем самостоятельно проведено клиническое обследование, хирургическое лечение и послеоперационное ведение всех 92-х больных ПС. Лично автором выполнялись функциональные и лабораторные исследования всех пациентов, расчет экономической эффективности лечения и статистическая обработка полученных результатов.

Аналитическая трактовка полученных результатов автором выполнена совместно с научным руководителем. Все опубликованные работы написаны автором самостоятельно или с участием научного руководителя.

Апробация результатов диссертации.

Материалы диссертации доложены на:

1-ой Республиканской конференции "Клинико-лабораторные аспекты липидологии" (Витебск, 1998), Международной научно-практической конференции "Биологическое и лечебное действие магнитных полей" (Витебск 1999), Третьей традиционной конференции Российского общества ринологов «Аллергические и иммунологические аспекты заболеваний верхних дыхательных путей» (Москва, 2000), IV конгрессе Европейского общества оториноларингологов, хирургов головы и шеи (Германия, Берлин, 2000), Первой международной Белорусско-польской конференции по оториноларингологии «Актуальные вопросы оториноларингологии» (Гродно, 2000), XX Международном симпозиуме «Инфекция и аллергия носа» и IV Конгрессе Российского общества ринологов (Россия, Ярославль, 2001), V Съезде оториноларингологов Беларуси с международным участием (Минск, 2002), Брестской областной конференции оториноларингологов (Брест, 2002), Витебской областной конференции оториноларингологов (Витебск, 2003), Научно-практической конференции по оториноларингологии (Гомель, 2003).

Опубликованность результатов.

По теме диссертационной работы опубликовано 13 научных работ. Из них 3 статьи в журналах. Количество публикаций без соавторов – 3. Подана 1 заявка на патент. Общее количество страниц опубликованных материалов – 35.

Структура и объем и диссертации.

Диссертация изложена на 102 страницах, состоит из введения, общей характеристики работы, семи глав, заключения и списка использованной литературы. Текст иллюстрирован 13 рисунками; 11 таблицами. Список использованной литературы содержит 192 источника (104 отечественных и 88 зарубежных).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В работе представлена клиническая характеристика 92 обследованных больных полипозным синуситом. В зависимости от применяемого метода лечения все больные были разделены на 2 клинические группы (основную и контрольную) методом случайной выборки.

Основную группу составили 62 пациента, которым после эндоскопического удаления полипов и измененной слизистой оболочки из полости носа и околоносовых пазух, раневую поверхность покрывали

амниотической оболочкой, на которую были нанесены аллогенные фибробласты. Контрольная группа составила 30 пациентов. В ней хирургическое вмешательство проводили по той же методике, но без применения амниотической оболочки с аллогенными фибробластами. Состав больных: 44 мужчины (47,8%) (основная группа – 30, контрольная – 14), 48 женщин – 52,2% (основная группа – 32, контрольная – 16). Средний возраст больных составил $51,6 \pm 14,3$ года.

Комплексное обследование включало: сбор данных анамнеза; общеклиническое, лабораторное и инструментальное обследование как для плановой операции. Эндоскопическое исследование полости носа проводилось жесткими эндоскопами фирмы «Карл Шторц» с углом зрения 0° , 30° , 70° по методике предложенной Н. Stammberger (1991).

Изучение проходимости полости носа для дыхания осуществляли с помощью пневмотахометра ПТ-1 по методике Д.И. Тарасова (1980).

Для определения функции мерцательного эпителия использовался сахаринный тест, предложенный G. Ruchelle и соавторами (1981).

Секреторную функцию определяли используя стандартные полоски фильтровальной бумаги строго определенного размера (6 x 40 мм), а, следовательно, и массы по методике Ф. В. Семенова (1988).

РН отделяемого из носа определяли с помощью универсальной индикаторной бумаги «Multiphan» с градацией в десятых долях единиц рН.

Изучение клеточного состава слизистой оболочки полости носа проводили по мазкам-перепечаткам.

Субъективное состояние пациентов оценивалось по методике предложенной проф. В.С. Козловым (1997).

Подготовка аллогенного трансплантата проводилась в соответствии с инструкцией на метод «Способ закрытия дефектов кожи и слизистых оболочек ЛОР органов путем трансплантации диплоидных аллогенных фибробластов человека на амниотической оболочке» №74-9806 от 17 июня 1998 г. в отделении культивирования и трансплантации клеток ГУ «Республиканский липидный лечебно-диагностический центр метаболической терапии». После забора эмбриональной ткани, полученной при искусственном прерывании беременности (не по медицинским показаниям) в сроках 12-18 недель, проводят посев клеток на матрасы в среду 194 с добавлением фетальной сыворотки и антибиотиков. После формирования монослоя (5-7 суток) и в дальнейшем через 3-4 суток пересевают культуры – 7-10 пассажей. Амнион забирают после родов непосредственно в родильном зале. Затем культивированные фибробласты переносят на амниотическую оболочку. Флаконы закрывают стерильными пробками и помещают в термостат (37°C) на 5-7 суток. Далее трансплантат передают в клинику. На всех этапах проводился контроль доноров и препаратов согласно Приказа №150 МЗ РБ.

Расчет экономической эффективности предлагаемого метода лечения больных полипозными синуситами проводили согласно методическим рекомендациям «Оценка экономической эффективности новых способов

профилактики, диагностики, лечения и медико-социальной реабилитации» (1991).

Статистическая обработка результатов исследования выполнена на РС Pentium 4, статистический анализ и математическое моделирование производили с помощью программы STATISTICA 5.5. Статистические показатели включали: среднее значение, стандартное отклонение, критерий достоверности (p), уровень значимости (χ^2).

Кроме того, оценивали относительный риск рецидивирования полипов в течение 1,5 лет после хирургического лечения в соответствии с рекомендациями В.В. Власова (2001).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ НАБЛЮДЕНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Предложенный Н. Stammberger (1991) метод функциональной эндоскопической ринохирургии был взят нами за основу. Соблюдая щадящее отношение к внутриносвым структурам, слизистой оболочке и особенно к средней носовой раковине, мы удаляли полипы из полости носа, выполняли инфундибулотомию и переднюю этmoidотомию. При необходимости манипулировали в заднем отделе решетчатой кости и в клиновидной пазухе. Сустья верхнечелюстных пазух расширяли кпереди и книзу за счет передней фонтанеллы. После удаления патологически измененных тканей в послеоперационную полость на раневую поверхность укладывали амниотическую оболочку с аллогенными фибробластами и фиксировали пальцевидными поролоновыми тампонами. Это позволило сочетать положительные моменты метода функциональной эндоскопической ринохирургии (хороший интраоперационный обзор, низкая травматичность, функциональность) с положительными качествами аллогенного трансплантата. Таким образом, разработанная нами технология использования аллогенных фибробластов на амниотической оболочке при хирургическом лечении больных ПС технически проста и доступна для ринохирургов.

При эндоскопическом наблюдении за полостью у больных ПС носа в ближайшем периоде оценивался отек слизистой оболочки полости носа, отек слизистой оболочки области среднего носового хода, количество раневого отделяемого и корок в области операционной раны. Оценка симптомов проводилась в баллах по 4-х бальной шкале: 0 - отсутствие, 1 - слабые, 2 - средней тяжести, 3 – тяжелые (табл. 1).

Таблица 1

Динамика эндоскопической картины состояния полости носа в баллах у больных основной и контрольной групп

Симптомы	Срок наблюдения, сутки после операции																			
	контрольная группа, n=30							основная группа, n=62												
	3		5		7			3		5		7								
Симптомы в баллах	2	3	1	2	0	1	2	2	3	1	2	0	1	2						
Отек слизистой оболочки полости носа	17	13	3	27	-	13	17	31	31	32	30	9	39	14						
р								-		<0,001		<0,005								
Симптомы в баллах	2	3	1	2	3	0	1	2	3	2	3	1	2	3	0	1	2	3		
Отек слизистой оболочки среднего носового хода	11	19	2	18	10	-	6	22	2	42	20	20	42	0	5	43	14	-		
р								<0,005		<0,001		<0,001								
Симптомы в баллах	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	1	2	3	0	1	2	3			
Корки в полости носа	-	20	10	-	6	22	2	-	22	8	4	58	-	3	49	10	-	28	31	1
р								<0,001		<0,001		<0,001								
Симптомы в баллах	2	3	1	2	3	0	1	2	2	3	1	2	3	0	1	2				
Отделяемое в полости носа	12	18	2	23	5	-	13	17	46	16	3	59	-	8	48	6				
р								<0,005		<0,001		<0,001								

Примечание: - указаны средние значения изучаемых показателей \pm стандартное отклонение;- р – уровень значимости, критерий χ^2 , по сравнению с соответствующим сроком в контрольной группе.

Исследования в контрольной группе согласуются с данными Weber R. et al. (1995) и В.С. Козлова (1997), динамика эндоскопической картины у данной категории больных схожа. В группе, где использовались аллогенные фибробласты на амниотической оболочке вышеуказанные симптомы достоверно нормализовались в более ранние сроки. В большей степени это относится к таким данным, как количество корок и отделяемого.

Функциональное состояние слизистой оболочки и полости носа исследовали до операции, на 3-е, 5-е, 7-е сутки после операции. Определяли: проходимость полости носа для дыхания, скорость мукоцилиарного транспорта, выделительную способность слизистой оболочки полости носа, кислотно-щелочное равновесие носовой полости (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительная динамика функционального состояния слизистой оболочки и полости носа до и после хирургического вмешательства

Симптомы	До операции		Срок наблюдения, сутки после операции					
	контрольная группа, n=30	основная группа, n=62	контрольная группа, n=30			основная группа, n=62		
			3	5	7	3	5	7
Дыхание через нос, л./мин.	1,5±0,4	1,4±0,4	2,5±0,4	3,2±0,4	3,7±0,4	3,2±0,4	3,8±0,3	4,1±0,3
р		-				<0,001	<0,001	<0,001
Скорость мукоцилиарного транспорта, мин.	35,8±6,0	36,0±5,7	30,9±3,5	27,4±3,2	22,4±3,6	29,1±3,5	24,8±2,8	20,7±2,8
р		-				<0,05	<0,001	<0,05
Выделительная способность слизистой оболочки, мг	20,8±2,3	21,7±3,6	37,4±5,9	29,6±2,8	25,0±2,2	35,8±5,0	27,7±4,0	22,7±4,0
р		-				-	<0,05	0,005
РН в полости носа	7,3±0,89	7,2±0,98	5,4±0,7	6,2±0,89	7,9±0,69	6,3±0,72	6,9±0,78	7,5±0,87
р		-				<0,05	<0,05	<0,05

Примечание: р уровень значимости различий между группами больных в соответствующие сроки наблюдения, t-тест Стьюдента.

Результаты исследования функционального состояния слизистой оболочки и полости носа после хирургического вмешательства в контрольной группе сопоставимы с данными других исследователей (А.А. Шиленков и др. 1997) и восстанавливались к 7-м суткам. В основной же группе исследуемые симптомы достоверно нормализовались к 5-м суткам ($p < 0,05$).

Более активная положительная динамика данных эндоскопического осмотра полости носа, функционального состояния слизистой оболочки и полости носа, субъективного состояния пациентов позволили сократить сроки стационарного лечения пациентов основной группы до 8 ± 1 койко-дня, по сравнению с контрольной 12 ± 2 койко-дня ($p < 0,01$). Экономический эффект -83,3 тыс. белорусских рублей на одного пациента. Это означает, что пролечив 62 больных по предложенной нами методике экономический эффект составил 5164,6 тыс. белорусских рублей (расчет проведен в ценах 2002 года). Таким образом, использование аллогенного трансплантата улучшило клинические результаты хирургического лечения больных ПС, что позволило снизить сроки стационарного лечения и получить значительный экономический эффект.

Результаты цитологического исследования в контрольной группе имеют сходные черты с картиной, наблюдаемой при заживлении вторичным натяжением. В исходном материале (3-й день после операции) определялись нейтрофилы в различной степени деструкции, единичные лимфоциты, воспалительный детрит. На 7-й день после операции в мазках определялось большое количество нейтрофилов в состоянии деструкции, до 5—7% лимфоцитов, ретикулярные клетки и единичные фибробласты. На 10—12-й день нейтрофилы составляли около 80% от клеточного отделяемого с заметным преобладанием сохранных форм, единичные лимфоциты, фибробласты, единичные эпителиальные клетки, сетка фибрина.

При цитологическом исследовании в основной группе на 3-й день после операции определялись нейтрофилы в различной степени деструкции в большом количестве, лимфоциты, ретикулярные клетки; фибробласты — от 0 до 3 в поле зрения, что характеризует переход раневого процесса во вторую фазу — в фазу регенерации. На 7-й день после операции в мазке определялись хорошо сохранившиеся нейтрофилы, лимфоциты 3—5 в поле зрения, признаки активной клеточной регенерации, сетка фибрина, единичные эпителиальные клетки. На 10—12-й день в мазке хорошо сохранившиеся нейтрофилы густо покрывают поле зрения, послойно расположены коллагеновые волокна с фиброцитами между ними, группы эпителиальных клеток.

Таким образом, использование аллогенных фибробластов на амниотической оболочке приводит к форсированному переходу процесса раневого заживления ко второй стадии, ускорению эпителизации раны.

Состояние иммунной системы является ключевым фактором, определяющим отторжение трансплантата у реципиента, причем основная роль отводится системе Т-лимфоцитов. Поэтому очевидный интерес представляет оценка Т-лимфоцитарного звена иммунной системы. Мы выделили 3 группы

пациентов: 1. Больные до операции (исходный уровень); 2. Больные прооперированные по стандартной методике (контрольная группа); 3. Больные прооперированные с использованием аллогенных фибробластов на амниотической оболочке (основная группа). Во второй и третьей группах исследование проводили на 7-е сутки после операции. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3

Показатели Т-клеточного звена иммунитета у больных до операции и с различными видами хирургических вмешательств

группы	Общие Т-лимфоциты, %	Т-лимфоциты активные, %	Т-хелперы, %	Т-супрессоры, %	Иммунорегуляторный индекс
1. До операции, n=10	57,0±1,79	27,9±1,17	33,7±1,59	23,0±0,11	1,5±0,11
2. Контрольная группа, n=16	64,9±1,40 p ₁₋₂ <0,05	28,9±1,42	42,8±0,98 p ₁₋₂ <0,05	22,3±0,12	1,9±0,21
3. Основная группа, n=14	59,9±2,43	28,5±3,03	41,9±1,49 p ₁₋₃ <0,05	18,0±0,56 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ <0,05	2,0±0,18

Примечание: p - уровень значимости различий между соответствующими группами больных, t-тест Стьюдента.

На 7 сутки после хирургического вмешательства происходит увеличение содержания общих Т-лимфоцитов, причем у лиц, прооперированных без применения аллогенных фибробластов на амниотической оболочке статистически достоверно. В раннем послеоперационном периоде увеличивается содержания клеток с фенотипом Т-хелперов; одновременно имеет место тенденция к снижению числа Т-супрессоров, эта тенденция приобретает статистически достоверный характер. Это означает, что после применения аллофибробластного трансплантата не происходит активации тех звеньев иммунной системы, которые отвечают за его отторжение.

Результаты исследования пролиферативной активности лимфоцитов на неспецифический (фитогемагглютинин (ФГА)) и специфический (фибробласты) стимулы представлены в табл. 4. Следует обратить внимание на несколько обстоятельств. Во-первых, неспецифический стимул (ФГА) вызывает одинаковый пролиферативный ответ у всех групп больных, причем у прооперированных лиц имеет место тенденция к повышению коэффициента стимуляции, что согласуется с данными литературы (А.С. Караулов, 1999). Во-

вторых, внесение в культуру лимфоцитов фибробластов не приводит к увеличению количества бластных клеток. С учетом того, что реакция проводилась на 7 сутки после хирургического вмешательства, то есть к моменту, когда может развиться реакция отторжения, следует признать отсутствие у больных цитотоксических лимфоцитов, направленных к аллогенным фибробластам. Мы полагаем, что данное обстоятельство объяснимо в свете известных работ (У.Пол, 1988), где обнаружено, что длительное пассирование клеток *in vitro* приводит к потере их антигенных свойств, в частности молекул главного комплекса гистосовместимости.

Таблица 4

Пролиферативная активность лимфоцитов при стимуляции культуры клеток *in vitro* фитогемаглютинином (ФГА) и аллогенными фибробластами

группы	% бластных клеток при стимуляции				
	контроль	ФГА	КС _{ФГА}	фибробластами	КС _{фибробластами}
До операции, n=10	4,6±1,03	35,4±0,46	6,9±0,60	8,7±0,12	0,9±0,11
Контрольная группа, n=16	4,6±1,29	34,6±0,90	7,7±0,92	8,9±0,23	1,1±0,09
Основная группа, n=14	4,3±1,06	34,8±1,18	8,6±0,87	8,2±0,11	1,0±0,10

Исследование содержания IgA, IgG, sIgA. Содержание иммуноглобулинов в назальном секрете служит отражением участия иммунной системы в развитии патологического процесса в полости носа. По современным представлениям иммуноглобулины назального секрета имеют двойное происхождение: во-первых, это иммуноглобулины преимущественно фильтрующиеся из плазмы крови (иммуноглобулины классов А, М, G), их содержание отражает уровень сывороточных иммуноглобулинов: второй путь - это иммуноглобулины «местного» происхождения, они отражают активность местной системы иммунитета (иммуноглобулины секреторного класса А),

В табл. 5 представлена частота обнаружения иммуноглобулинов различных классов в назальном секрете. Следует обратить внимание, что IgA и IgG определялись в послеоперационном периоде чаще, чем в предоперационном. Так, если IgA до операции определялся у 33,3±14,21 %, то после операции без применения фибробластов у 50,0±12,91% (p<0,05), с применением фибробластов 57,8±11,64% (p<0,05). Для IgG такие различия несколько меньше, но носят так же характер тенденции. Мы полагаем, что изменения подобного рода связаны с воздействием травмы (операции) на организм. Нам представляется интересной динамика частоты обнаружения sIgA, который отражает активность местной системы иммунитета. Так доля больных после стандартной операции, у которых определяется наличие sIgA в назальном секрете не отличается от числа больных, у которых наличие sIgA

определяется до операции. А применение аллогенных фибробластов приводит к 3-х кратному увеличению числа больных, у которых обнаружен sIgA, Иными словами, предложенный вариант хирургического лечения позволяет повысить активность местной системы иммунитета.

Таблица 5

Частота обнаружения иммуноглобулинов у больных до операции и с различными видами хирургических вмешательств

группы	IgA	sIgA	IgG
1. До операции, n=12	33,3±14,21	25,0± 13,06	75,0±13,06
2. После операции, контрольная группа, n=16	50,0±12,91 p ₁₋₂ <0,05	25,0±11,18	81,2±10,09 p ₁₋₂ <0,05
3. После операции, основная группа, n=19	57,8± 11,64 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ <0,05	73,6±10,39 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ <0,05	84,2±8,60 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ <0,05

Примечание: p - уровень значимости различий между соответствующими группами больных, t-тест Стьюдента.

В табл. 6 представлено среднее содержание иммуноглобулинов в назальном секрете. Имеет место тенденция к повышению концентрации IgA и IgG в послеоперационном периоде, причем в большей степени это характерно для больных, оперированных с применением аллогенных фибробластов. Совершенно отчетливо наблюдается увеличение концентрации sIgA у больных с применением фибробластов (с 0,3 ±0,12 мг/л до 0,9 ±0,13 мг/л).

Таблица 6

Содержание иммуноглобулинов в назальном секрете до операции и с различными видами хирургических вмешательств

	IgA, мг/л	sIgA, мг/л	IgG, мг/л
До операции, n=12	0,3±0,12	0,3±0,17	1,4±0,24
После операции, контрольная группа, n=16	0,5± 0,12 p ₁₋₂ <0,05	0,3±0,14	1,6±0,16

После операции, основная группа, n=19	0,7±0,16 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ <0,05	0,9±0,13 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ <0,05	1,5±0,16
---------------------------------------	--	--	----------

Примечание: p - уровень значимости различий между соответствующими группами больных, t-тест Стьюдента.

Таким образом, мы полагаем, что полученные данные о содержании иммуноглобулинов в назальном секрете указывают на отсутствие системных реакций гуморального звена иммунитета при применении аллогенных фибробластов на амниотической оболочке и повышенную устойчивость организма к инфекции.

Отдаленные результаты лечения больных ПС мы исследовали через 1,5 года после хирургического лечения. Оценивая эндоскопические данные в основной группе (n=56), рецидив обнаружен у 2-х пациентов (полипы в полости носа и в среднем носовом ходу). У 21-го пациентов получен удовлетворительный результат. У 33-х - хороший результат. В контрольной группе (n=28) у 4-х пациентов обнаружены полипы в полости носа либо в среднем носовом ходу (рецидив). У 12-ти пациентов удовлетворительный результат. А у 12-ти пациентов хороший результат (рис.).

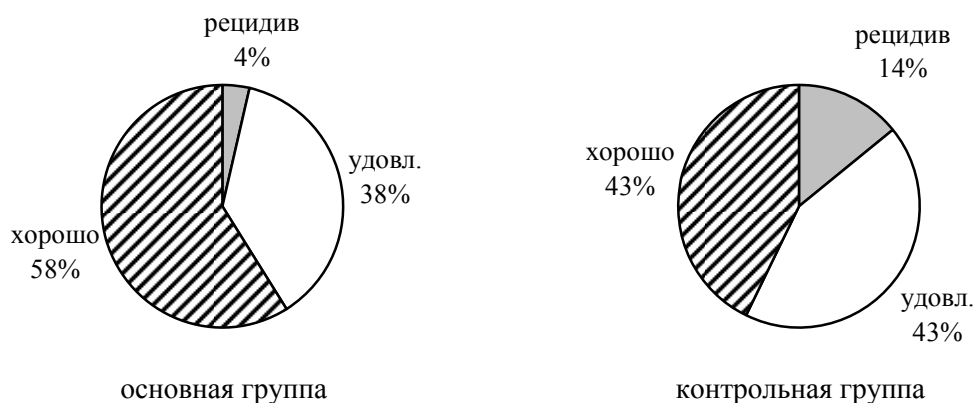


Рисунок. Отдаленные результаты лечения больных ПС в основной и контрольной группах

Данные контрольной группы согласуются с частотой рецидивов ПС приводимой в литературе (Г.М. Портенко и др., 2000).

Оценивая клиническую эффективность применения аллогенных фибробластов на амниотической оболочке с позиций доказательной медицины, мы установили, что относительный риск рецидивирования полипоза при применении аллогенных фибробластов составляет 0,25

(доверительный интервал – 0,026-0,941). Это позволяет считать, что применение новой методики приводит к статистически достоверному снижению относительного риска рецидивирования полипов на 0,75 в течение 1,5 лет после проведенной операции (табл. 7,8). Число больных, которых надо лечить, чтобы предотвратить один неблагоприятный исход (ЧБНЛ) составило 10 человек. Шансы неблагоприятного исхода (рецидива полипов) при операции с применением аллогенных фибробластов 0,04, тогда как шансы неблагоприятного исхода (рецидива полипов) при операции без применения аллогенных фибробластов 0,14. Отношение шансов 0,22 при доверительном интервале 0,61-0,807.

Таблица 7

Четырехпольная таблица для оценки клинической эффективности применения аллогенных фибробластов на амниотической оболочке при хирургическом лечении ПС

Вмешательство	Неблагоприятный исход		Всего
	наблюдался	отсутствовал	
Применялось	2	54	56
Не применялось	4	24	28
Всего	6	78	84

Таблица 8

Операционные характеристики для оценки эффективности применения аллогенных фибробластов при хирургическом лечении ПС

риск неблагоприятного исхода (рецидива полипов) при операции с применением аллогенных фибробластов	0,04
риск неблагоприятного исхода (рецидива полипов) при операции без применения аллогенных фибробластов	0,14
разность рисков	0,1
ЧБНЛ	10
относительный риск	0,25
доверительный интервал для относительного риска	0,026-0,941
снижение относительного риска	0,75

Таким образом, доказана клиническая эффективность применения аллогенных фибробластов на амниотической оболочке при хирургическом лечении больных полипозными синуситами в отдаленном периоде наблюдения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработанная и предложенная нами технология использования аллогенных фибробластов на амниотической оболочке при хирургическом лечении больных полипозными синуситами технически проста и доступна для ринохирургов [2,3,6,11,13].

2. Предложенный метод хирургического лечения больных полипозными синуситами показал высокую эффективность восстановления физиологических функций носа. Проподимость полости носа для дыхания, скорость мукоцилиарного транспорта, выделительная способность слизистой оболочки полости носа, кислотно-щелочное равновесие носовой полости нормализовались к 5-м суткам после хирургического вмешательства. Использование аллогенных фибробластов на амниотической оболочке позволяет сократить койко-день стационарного лечения на 3,9 суток [2,7,10,12].

3. Применение аллогенных фибробластов на амниотической при хирургическом лечении больных полипозными синуситами не вызывают изменений со стороны иммунной системы, характерных для реакции отторжения (отсутствие у больных цитотоксических лимфоцитов, направленных к аллогенным фибробластам) и усиливает местный иммунитет - увеличение концентрации sIgA (с $0,3 \pm 0,12$ мг/л до $0,9 \pm 0,13$ мг/л) в назальном секрете [1,8,9].

4. Отдаленные результаты хирургического лечения больных полипозными синуситами с применением аллогенных фибробластов на амниотической оболочке (наблюдение 1,5 года) показывают статистически достоверное снижению относительного риска рецидивирования полипов на 0,75 по критериям доказательной медицины [4,5,8,10].

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При хирургическом лечении больных полипозными синуситами целесообразно использовать аллогенные фибробласты на амниотической оболочке как безопасный и эффективный метод для ускорения эпителизации раневой поверхности.

2. Аллогенными фибробластами на амниотической оболочке следует покрывать раневую поверхность после эндоскопического удаления патологических тканей и тщательного гемостаза.

3. Фиксировать трансплантат необходимо пальцевидными резиновыми тампонами, заполненными поролюном, в течение двух суток, так как резиновый тампон во время удаления не вызывает травматизации тканей.

4. После удаления тампонов под контролем эндоскопов нужно ежедневно удалять слизь, корки и увлажнять раневую поверхность растворами антисептиков для успешной эпителизации.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Путилина Т.А. Проблема применения аллотрансплантатов в оториноларингологической практике / Т.А. Путилина, Э.А. Доценко, Д.А. Затолока, А.С. Затолока, В.В. Батов // Иммунопатология – 1999. - №1. – С. 43-45.
2. Zataloka D.A. Use of Allogenic Fibroblasts for Surgical Treatment in Patients with Chronic Polypoid Sinusitis / D.A. Zataloka, P.A. Timoshenko, T.A. Putilina // 4th European Congress of Oto-Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery (Germany, Berlin, 2000) May 13-18, 2000. – P. 1181-1183.
3. Путилина Т.А. Медицинские технологии, основанные на применении культивированных *in vitro* клеток / Т.А. Путилина, Э.А. Доценко, Д.А. Затолока, П.А. Затолока // Медицинская панорама. – 2002. - №8. – С. 11.
4. Цыбин А.К. Как анализировать медицинскую информацию (некоторые базовые понятия доказательной медицины) / А.К. Цыбин, Э.А. Доценко, Г.И. Юпатов, Д.А. Затолока, М.Л. Доценко, С.П. Козловская // Медицинская панорама. – 2003. - №3. – С.3-8.
5. Затолока Д.А. Отдаленные результаты клинического применения аллогенных фибробластов на амниотической оболочке // Материалы второй Белорусско-Польской конференции по оториноларингологии «Актуальные вопросы оториноларингологии» Гродно, 29-30 мая 2003г. – С. 24-25.
6. Затолока Д.А. Новый метод закрытия дефектов кожи и слизистых оболочек ЛОР органов / Д.А. Затолока, В.В. Батов, Т.А. Путилина, А.С. Затолока, И.Г. Никитин // Материалы 1-ой Республиканской конференции "Клинико-лабораторные аспекты липидологии" октябрь 1998. - С.11-12.
7. Затолока Д.А. Способ закрытия дефектов кожи и слизистых оболочек ЛОР органов с использованием магнитотерапии в послеоперационном периоде / Д.А. Затолока, Т.А. Путилина, А.С. Затолока // Материалы Международной научно-практической конференции "Биологическое и лечебное действие магнитных полей" 27-28 января 1999. - С.100-102.
8. Затолока Д.А. Применение аллогенных фибробластов в оториноларингологической практике / Д.А. Затолока, П.А. Тимошенко // Материалы первой Белорусско-Польской конференции по оториноларингологии «Актуальные вопросы оториноларингологии» Гродно, 25-27мая 2000г. – С. 11-12.
9. Доценко Э.А. Применение аллогенного трансплантата при хирургическом лечении полипозного синусита / Э.А. Доценко, А.С. Затолока, Д.А. Затолока, Т.А. Путилина, В.В. Батов // Российская ринология - 1999. - №1. - С.81.
10. Затолока Д.А. Результаты применения аллогенного комплекса при хирургическом лечении полипозных синуситов / Д.А. Затолока, Т.А. Путилина // Российская ринология - 2001. - №2. – С. 68.
11. Затолока Д.А. Хирургическая техника лечения полипозных риносинуситов с применением аллотрансплантата // Сборник материалов научно-практической конференции, посвященной 70-летию Республиканской больницы «Актуальные вопросы медицины». – Минск, 2001 г. – С 65-66.

12. Затолока Д.А. Эндоскопическое наблюдение и функциональные исследования полости носа у больных, перенесших эндоскопическую этмоидогаймиротомию // Республиканский съезд оториноларингологов, материалы V съезда, Минск, 30-31 мая 2002 г. – С. 120-121.

13. Доценко Э.А. Способ закрытия дефектов кожи и слизистых оболочек ЛОР органов путем имплантации диплоидных аллогенных фибробластов человека на амниотической оболочке / Э.А. Доценко, И.Г. Никитин, А.С. Затолока, Д.А. Затолока, В.В. Батов, А.А. Чиркин, Ю.Б. Мартов, С.Г. Подолинский // Инструкция на метод № 74-9806 утверждена 17 июня 1998. – 7 с.

РЭЗІЮМЭ

ЗАТАЛОКА ДЗМІТРЫЙ АЛЯКСАНДРАВІЧ

ВЫКАРЫСТАННЕ АЛАГЕННЫХ ФІБРАБЛАСТАЎ НА АМНІЯТЫЧНАЙ АБАЛОНЦЫ ПРЫ ХІРУРГІЧНЫМ ЛЯЧЭННІ ПАЛІПОЗНЫХ СІНУСІТАЎ.

Ключавыя словы: паліпозны сінусіт, алагенныя фібрабласты, амніятычная абалонка, пасляоперацыйнае ранавае зажыўленне.

Аб'ект даследавання: аб'ектам даследавання былі 92 хворыя, якія пакутуюць на хранічны паліпозны сінусіт.

Мэта работы: палепшыць рэзультаты хірургічнага лячэння хворых на хранічны паліпозны сінусіт, ужыўшы алагенныя фібрабласты на амніятычнай абалонцы.

Метады: клінічныя метады даследавання, лабараторнае і інструментальнае даследаванне, ацэнка суб'ектыўнага стану пацыентаў, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі: упершыню ў рынах хірургіі паспяхова прыменены алагенныя фібрабласты на амніятычнай абалонцы. Для клінічнай практыкі рынах хірургаў распрацаваны метады хірургічнага лячэння хранічных паліпозных сінусітаў з выкарыстаннем алагеннага трансплантата. Удасканалена метадыка энданазальнага ўмяшання ў хворых на паліпозны сінусіт за кошт выкарыстання алагенных фібрабластаў на амніятычнай абалонцы, што павысіла эфектыўнасць лячэння. Прапанаваная тэхналогія лячэння знізіла на 3,9 сутак тэрміны стацыянарнага лячэння і зменшыла колькасць рэцыдываў захворвання.

Вобласць прымянення: атарыналарынгалагічныя аддзяленні бальніц, а таксама ў вучэбным працэсе вышэйшых медыцынскіх навучальных устаноў.

РЕЗЮМЕ

ЗАТОЛОКА ДМИТРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЛОГЕННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ НА АМНИОТИЧЕСКОЙ ОБОЛОЧКЕ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПОЛИПОЗНЫХ СИНУСИТОВ

Ключевые слова: полипозный синусит, аллогенные фибробласты, амниотическая оболочка, послеоперационное раневое заживление.

Объект исследования: Объектом исследования было 92 больных страдающих полипозным синуситом.

Цель работы: улучшить результаты хирургического лечения больных полипозными синуситами, применив аллогенные фибробласты на амниотической оболочке.

Методы: клинические методы исследования, лабораторное и инструментальное обследование, оценка субъективного состояния пациентов, статистические.

Полученные результаты: Впервые в ринохирургии успешно применены аллогенные фибробласты на амниотической оболочке. Для клинической практики ринохирургов разработан метод хирургического лечения полипозного синусита с использованием аллогенного трансплантата. Усовершенствована методика эндоназального вмешательства у больных полипозным синуситом за счет использования аллогенных фибробластов на амниотической оболочке, что повысило эффективность лечения. Предложенная технология лечения снизила на 3,9 суток сроки стационарного лечения и уменьшила число рецидивов заболевания.

Область применения: оториноларингологические отделения больниц, а также в учебном процессе высших медицинских учебных заведений.

Summary.

Zataloka Dzmitry Alexandrovich

The usage of allogenic fibroblasts on the amnion during the surgical treatment of Polypoid sinusitis.

Key-words: Polypoid sinusitis, allogenic fibroblasts, amnion, postoperative wound healing.

Object of research: 92 sick people suffering from chronic Polypoid sinusitis were the object of the research.

Aim of research: to work out the technology of operations with the application of Allogenic fibroblasts on the amnion for the treatment of Polypoid sinusitis.

Methods: clinical research methods laboratory and instrumental examination, patients subjective state examination, and statistical methods.

Obtained results: For the first time Allogenic fibroblasts on the amnion have been successfully used in the rhinosurgery. For the clinical practice of rhinosurgeons the method of surgical treatment of chronic Polypoid sinusitis with the application of the Allogenic transplantant has been worked out. At the expense of Allogenic fibroblast application in the amnion, the technique sick, suffering from chronic Polypoid sinusitis has been improved, that has raised the effectiveness of treatment. Proposed technology of chronic Polypoid sinusitis treatment has shortened the duration of stationary treatment for 3.9 days and has decreased the number of disease relapses.

Field of application: otorhinolaryngological departments of hospitals as well as during instruction at higher medical educational establishments.