На правах рукописи

МЕСТНИКОВА

Аина Захаровна

Особенности структурных изменений слизистой оболочки носа у пациентов с хроническими гепатитами различной этиологии и их значение для лечения и профилактики носовых кровотечений

14.01.03 - болезни уха, горла и носа

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2017

Работа выполнена на кафедре оториноларингологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Артюшкин Сергей Анатольевич **–** доктор медицинских наук, доцент ФГБОУ ВО «Северо-Западный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедры оториноларингологии.

Официальные оппоненты:

Карпищенко Сергей Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор ГБОУ ВО «Первый Санкт–Петербургский государственный медицинский университет им. Академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедры оториноларингологии.

Егоров Виктор Иванович, доктор медицинских наук, профессор ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, заведующий кафедрой и руководитель отделения оториноларингологии, главный внештатный оториноларинголог МЗ Московской области.

Ведущая организация:

ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Защита состоится 15 июня 2017 года в 13 часов на заседании диссертационного совета 208.091.01. в ФГБУ «СПб НИИ ЛОР» Минздрава России по адресу: 190013, Санкт-Петербург, ул. Бронницкая, д. 9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «СПб НИИ ЛОР» Минздрава России и на сайте: www.lornii.ru.

Автореферат размещѐн на сайте: http://vac.ed.gov.ru/

Автореферат разослан _____ г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинских наук Дроздова Марина Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

В настоящее время хронические заболевания печени, такие, как вирусный гепатит В и С, алкогольная болезнь печени широко распространены в мире. Нередко ранним признаком цирроза печени служит носовое кровотечение (Пальчун Т.В., 2013; Barrio J, 2009). В литературе описано множество причин, вызывающих серьезные рецидивирующие носовые кровотечения. Одной из таких причин является кровотечение, вызванное патологией печени. Частота встречаемости носовых геморрагий варьирует от 1% до 13,4% (Strong E.B., 1995; Razdan U., 1999).

За последнее десятилетие заболеваемость хроническим гепатитом С (ХГС) увеличилась в 3 раза (Пименов Н.Н., 2013; Чуланов В.П., 2015). По данным ВОЗ, в мире насчитывается около 240 млн. больных хроническим гепатитом В (ХГВ) (Пименов Н.Н., 2013). По официальным данным, в России на одного человека приходится потребление 21 литра этанола в год (один из самых высоких показателей в мире). Такое неконтролируемое употребление алкоголя неуклонно приводит к росту числа случаев развития цирроза печени (Калинин А.В., 2007).

Описан ряд механизмов развития носового кровотечения, как общих: нарушения в системе коагуляционного и сосудисто-тромбоцитарного звеньев, развитие диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), так и локальных: дистрофические изменения в слизистой оболочке носа (в частности суб- и атрофические процессы) и аномалии развития сосудистой стенки (микроангиоматоз и варикозные расширения).

Интерес к данной проблеме вызван многообразием патогенетических механизмов развития носового кровотечения при поражении печени, высоким риском инфицирования медицинского персонала при контакте с биологическими жидкостями (кровь) пациента, инфицированного вирусным гепатитом, и трудноподдающимися терапии носовыми кровотечениями в терминальных стадиях заболевания печени.

С точки зрения терапии и профилактики, существенное значение имеет оценка факторов, влияющих на развитие носового кровотечения, таких, как изменения свертывающей системы, местных изменений слизистой оболочки. Также имеет значение оценка местного иммунитета, как пускового механизма повреждения слизистой оболочки, приводящего к развитию носовых кровотечений у лиц хроническими вирусными заболеваниями печени.

Таким образом, выявление звеньев патогенеза, воздействуя на которые, можно осуществлять профилактику развития изменений слизистой оболочки носа для предупреждения носовых кровотечений, является весьма актуальным и перспективным.

Степень разработанности темы исследования

Строение слизистой оболочки носа изучено достаточно подробно. В работах авторов Быковой В.П. (1995), Солдатова И.Б. (2000), Волкова А.Г. (2002), Бойко Н.В. (2002), Пискунова Г.З. (2006), Пискунова С.З. (2006), Храппо Н.С. (2006), Петрова В.В. (2006) отражены фундаментальные основы нормального строения, механизмы изменений слизистой оболочки носа и причины, приводящие к носовому кровотечению. Однако прицельного анализа влияния патологии печени на ЛОР-органы, в частности, на слизистую оболочку полости носа, не проводилось.

Не изучены механизмы развития носовых кровотечений при таких патологиях печени, как вирусные гепатиты. В работах авторов F. Aaron (2008), F. Abbas (2009), Amr El-Shazly (2010) были попытки обнаружить вирус гепатита С в слизистой оболочке носа. В отечественной литературе нами не отмечено исследований, специально посвященных состоянию слизистой оболочки полости носа при хронических гепатитах и выявлению факторов, предрасполагающих к развитию наиболее серьезного клинического симптома – носовых кровотечений.

Актуальность и недостаточная разработанность проблемы обусловили выбор темы диссертационного исследования: «Особенности структурных изменений слизистой оболочки носа у пациентов с хроническими гепатитами различной этиологии и их значение для лечения и профилактики носовых кровотечений».

Цель исследования

Повышение эффективности лечения и профилактики носовых кровотечений у лиц с хроническими гепатитами на основе оценки патогенетических механизмов повреждения слизистой оболочки носа.

Задачи исследования

1. Изучить особенности структурных изменений слизистой оболочки полости носа и выявить механизмы, способствующие развитию носового кровотечения при вирусных гепатитах В и С и токсических гепатитах, возникших вследствие алкогольной интоксикации.
2. Определить содержание антигенных структур HBsAg и NS3-белка в слизистой оболочке полости носа у лиц с хроническими вирусными гепатитами В и С.
3. Оценить состояние местного иммунитета слизистой оболочки полости носа у больных с вирусными гепатитами В и С.
4. Разработать практические рекомендации для профилактики и лечения носовых кровотечений у больных с гепатитами.

Научная новизна исследования

Впервые представлены данные об особенностях структурных изменений слизистой оболочки полости носа у больных с вирусными гепатитами, обуславливающих развитие носового кровотечения.

Впервые установлено наличие антигенных структур NS3-белка вируса гепатита С (ВГС) в слизистой оболочке полости носа у лиц с хроническими вирусными гепатитами С.

Показано, что в патогенетических механизмах изменений слизистой оболочки носа участвуют антигенные структуры вирусного гепатита, сопровождающиеся изменением местного Т-клеточного иммунитета с формированием метаплазии эпителиального слоя слизистой оболочки.

Практическая значимость исследования

На основании результатов научного исследования разработана оптимальная лечебная тактика введения больных с носовыми кровотечениями при вирусных и

алкогольных гепатитах, включающая местную и общую терапию, применение ПВА тампонов в полость носа и назначение антифибринолитического препарата транексам.

Разработаны способы профилактики носовых кровотечений у пациентов с патологией печени, направленные на оптимизацию состояния слизистой оболочки полости носа с использованием ирригационной терапии физиологического раствора и других средств.

Положения, выносимые на защиту

1. При вирусном гепатите С изменения в виде субатрофии слизистой оболочки полости носа и поверхностно расположенных сосудов, связаны с наличием антигенных структур вирусного гепатита и активацией Т-клеточного иммунитета, приводящие к носовым кровотечениям.
2. Развитие носовых кровотечений у лиц с вирусным гепатитом обусловлено местными изменениями слизистой оболочки носа – наличием субатрофии, сухости и поверхностно расположенных сосудов.
3. Развитие носовых кровотечений при алкогольном поражении печени, обусловлено сочетанием гипокоагуляции и локальным изменением слизистой оболочки в виде аномальных сосудов.

Степень достоверности результатов

Достоверность полученных результатов достигалась методологически обоснованным планированием и проведением исследования, репрезентативной выборкой испытуемых. Для анализа применены современные методы статистической обработки с использованием компьютерной программы STATISTICA 10.0 (Лиц. BXXR310F964808FA – V).

Апробация работы

Основные положения работы доложены на 4-ом Петербургском международном форуме оториноларингологов России (Санкт-Петербург, 2015), на 14-ом Российском конгрессе оториноларингологов «Наука и практика в оториноларингологии» (Москва, 2015), на 3-ей международной научно-

практической конференции «Проблемы медицины в современных условиях» (Казань, 2016).

По теме диссертации опубликовано 4 научных статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Методология и методы исследования

В исследование включены 108 больных с хроническим вирусным гепатитом С, хроническим вирусным гепатитом В, хроническим алкогольным гепатитом и 30 человек группы контроля. Пациентам проводилось:

1. Клинико-оториноларингологическое обследование пациентов, где большое внимание уделялось анамнезу пациента: наличию заложенности носа, носовых выделений, частоты носовых кровотечений, наличия корок и ощущения сухости в носу, наличия артериальной гипертензии.
2. Эндоскопическое исследование ЛОР-органов по общепринятой методике проводили с помощью ригидного эндоскопа «Азимут».
3. Лабораторные методы диагностики, включающие клинический анализ крови, биохимический анализ крови и коагулограмму.
4. Гистологическое исследование слизистой оболочки носа проводилось с использованием светооптического микроскопа «Leica DM LS», исследуемые препараты окрашивались гематоксилином и эозином. Для выявления коллагеновых волокон и оценки степени фиброза применялось гистохимическое окрашивание по методу Ван Гизон.
5. Иммуногистохимическое исследование слизистой оболочки носа включало определение экспресии антигенных структур неструктурного белка NS3 вируса гепатита С и HBsAg вируса гепатита В в слизистой оболочке носа с помощью моноклональных мышиных антител.
6. Иммунологическое исследование слизистой оболочки носа методом проточной цитометрии проводили следующим образом: суспензию клеток из биопсийного материала получали с использованием механического дезинтегратора Medimachine (BD). Затем пробы анализировали на проточном цитофлюориметре Navios (Beckman Coulter) в многоцветном протоколе.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автором самостоятельно проведен анализ отечественной и иностранной литературы по теме диссертации. Основные положения диссертационной работы получены диссертантом в процессе курации больных, анализа историй болезни, лабораторных и инструментальных данных и обобщения полученных результатов.

Структура и объем диссертации. Представленная научная работа изложена на 131 страницах машинописного текста. Диссертация состоит из введения, 4-х глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего отечественных и иностранных источника. Работа иллюстрирована 18 таблицами и 19 рисунками. Список литературы включает 218 библиографических источников, из них 99 отечественных и 119 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Всего было обследовано 138 человек, в возрасте от 26 до 66 лет. Пациенты были разделены на 4 группы:

I группа - пациенты с алкогольной болезнью печени (АБП) – 32, из них у 31 больного был цирроз печени с синдромом портальной гипертензии;

II группа - пациенты с хроническим вирусным гепатитом С (ХГС) – 42, из них у 21 больного гепатит был в стадии цирроза печени;

III группа - пациенты с хроническим вирусным гепатитом В (ХГВ) – 34 человека, с исходом в цирроз в 24 случаях;

IV группа - группа контроля – 30 человек. В группу контроля входили пациенты, не страдающие патологией печени и не имеющие острые воспалительные заболевания ЛОР-органов.

В исследовании включены пациенты с алкогольными гепатитами. Диагноз выставлялся по данным анамнеза, с указанием на злоупотребление спиртными напитками и наличием яркой картины поражения печени. У 97% больных гепатиты трансформировались в цирроз печени с признаками портальной

гипертензии. Пациенты, у которых диагностировали хронический вирусный гепатит С, путем качественного определения РНК вируса гепатита С (+) с помощью ПЦР – диагностики были включены в исследование. А также принимали участие пациенты с хроническим гепатитом В, выставленным на основании наличия ДНК HBV (+) методом ПЦР или определения (+) HBeAg, A-HBcorcym. и HBsAg.

Критериями исключения из исследования являлось наличие тяжелой сопутствующей патологии, микст-гепатиты, сочетание вирусного и алкогольного гепатита, наличие острых воспалительных изменений со стороны ЛОР-органов, прием гепатотоксичных препаратов, работа, связанная с профессиональными вредностями.

Материалом для исследования служил биоптат слизистой оболочки носа, полученный из нижней носовой раковины, размером 3*4 мм при остановке носовых кровотечений. Также получение материала проводилось во время плановой операции по поводу септопластики искривления перегородки носа, при которой была выполнена одномоментно вазотомия нижних носовых раковин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анамнестического обследования больных хроническими гепатитами

У пациентов был собран подробный анамнез, связанный с носовыми кровотечениями. Из всех 108 человек с патологией печени с диагнозом носовое кровотечение обратилось 18 человек, что составило 17% от числа всех больных с патологией печени.

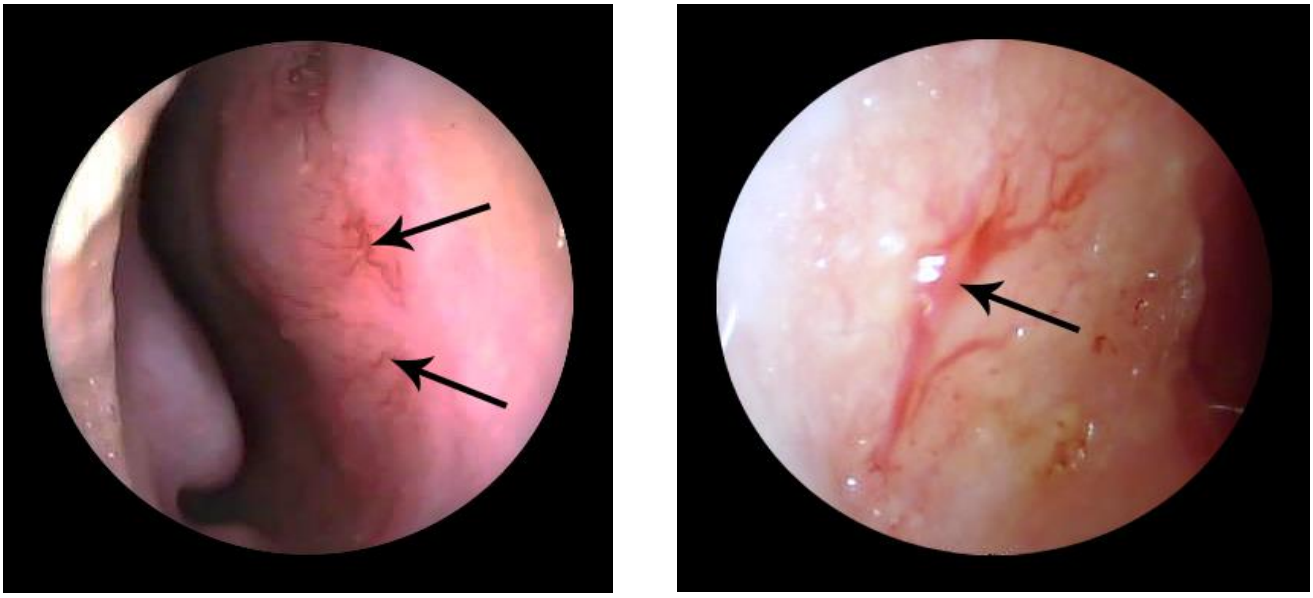
По клиническому течению носовые кровотечения у пациентов были распределены на однократные и привычные носовые кровотечения. Частота встречаемости однократных геморрагий в группах распределялась равномерно от 34%-38% случаев. Тогда как привычные кровотечения достоверное чаще встречались во II группе (31% больных), чем в I группе (13% больных) ($p<0,05$).

Ощущения сухости в полости носа отмечала половина пациентов, страдающая патологией печени, в диапазоне 53-65% в каждой группе. Из числа всех, кто отмечал сухость в носу, частота встречаемости жалоб на геморрагические проявления в носу резко возрастает и составляет от 71% до 88% случаев.

Результаты оториноларингологического обследования больных с патологией печени

При эндоскопическом осмотре полости носа у больных с патологией печени достоверно чаще встречалась субатрофия слизистой оболочки с эрозиями, сухими корочками, в сравнении с группой контроля ($p< 0,01$).

У лиц с АБП достоверно чаще, чем при вирусных гепатитах, встречались аномальные сосуды в 31% случаев (10 человек), которые были расположены в передних отделах полости носа и имели вид извитых сосудов (рисунок 1, а, б), сосудов «по типу розетки», телеангиоэктазий ($p< 0,01$). Носовые кровотечения при АБП были диагностированы у 4 (13%) больных.



а б

Рисунок 2 - Изменения слизистой оболочки в области Киссельбаха-Литтла: а – при АБП (Стрелками указаны аномальные сосуды); б – при ХГС (Стрелкой указан поверхностно расположенный сосуд)

У лиц с вирусными гепатитами достоверно чаще ($p< 0,05$), чем у пациентов с АБП обнаруживали поверхностно расположенные сосуды в 43% случаях, которые визуально прослеживались в передних отделах полости носа. Носовые кровотечения во II группе диагностированы у 19% (8 человек) и в III группе – у 18% (6 человек). При распределении носовых кровотечений по локализации источника на передние и задние, в 75% случаях (3 из 4 больных) кровотечения открывались из задних отделов полости носа при АБП. В то время как при вирусных поражениях печени все носовые кровотечения при ХГС и 83% случаев (5 из 6 больных) ХГВ имели переднюю локализацию.

Также выделяли геморрагические проявления в полости носа – это не только кровотечение из полости носа, но и наличие сукровичных выделений, геморрагических корок в сочетании с жалобами на эпизоды носовых кровотечений. В I группе геморрагические проявления составили 41% (13 человек), во II группе – 67% (28 человек) и в III группе – 56% (19 человек). В ходе исследования во II группе носовые геморрагии достоверно чаще встречались в сравнении с I группой пациентов ($p<0,05$). Также во II группе геморрагические проявления достоверно чаще определялись в доцирротической стадии, чем при гепатите В ($p<0,01$), тогда как при ХГВ, геморрагии чаще наблюдались в стадии цирроза печени в 47% случаях.

Интерпретация биохимических результатов исследования у больных с патологией печени

При оценке биохимического анализа у пациентов трех групп исходно было выявлено нарушение функции печени в виде синдромов цитолиза, холестаза, печеночно-клеточной недостаточности. В сравнении с группой контроля отмечаются достоверные различия по ряду критериев ($p<0,001$): гамма-глутамимилтранспептидазе, щелочной фосфатазе, общему билирубину, АСТ, АЛТ. Степень активности воспалительного процесса в печени, определяемая с помощью печеночных трансаминаз, не является достоверным признаком или предрасполагающим фактором развития кровотечений. Нарушение синтетической функции печени у исследуемых больных было выявлено в большей степени в I

группе: гипоальбуминемия определялась в 52% случаев со средними значениями 33,41±1,43 г/л, среднее значение протромбина по Квику составило 59,59±4,51% (P<0,01).

Интерпретация клинического анализа крови у больных с патологией печени

При оценке клинического анализа крови примечательно было снижение уровня тромбоцитов, в I группе тромбоцитопения составила 47% (15) пациентов, во II группе - 43% (18) случаев, а в III группе – 74% (25 человек) со средними значениями 129,88±14,01*10^9/л. При ХГВ у всех 19 человек с геморрагическими проявлениями со стороны носа отмечалась тромбоцитопения, что достоверно различается (p<0,01) от I и II группы. Поэтому, можно предположить, что снижение тромбоцитов является важным патогенетическим фактором, приводящим к развитию носовых кровотечений у лиц с ХГВ. При оценке клинического анализа крови у пациентов с терминальной стадией вирусных гепатитов отмечается рост тромбоцитопении, средние значения составляют 136,1±23,06*10^9/л и 119,38±14,11*10^9/л во II и III группах соответственно.

Можно предположить, что при вирусных поражениях печени в терминальной стадии нарушение свертывания крови связано с нарушениями в сосудисто-тромбоцитарном звене. Стоит отметить, что в III группе с прогрессированием заболевания и развитием цирроза возрастает уровень тромбоцитопении и частота носовых кровотечений. Как известно, тромбоциты оказывают трофическое воздействие на сосудистую стенку, следовательно, при их недостатке могут отмечаться дистрофические изменения на стенке сосуда. Это мы видим в нашем исследовании полости носа: наблюдаются поверхностно расположение вздутые сосуды в переднем отделе перегородки носа и субатрофия слизистой оболочки.

Результаты коагулологического исследования крови у больных с патологией печени

При сравнении данных коагулограммы (таблица 1), необходимо отметить более низкие средние показатели протромбина 59,59±4,51% у больных I группы наряду с удлинением протромбинового времени до 18,18±0,95 с., что

свидетельствует о гипокоагуляции. Существенное снижение уровня протромбинового комплекса указывает на то, что страдает внешний путь активации коагуляционного гемостаза.

Таблица 1 - Коагулограмма у больных

Показатель	I группа M±m n=32	II группа M±m n=42	III группа M±m n=34	Группа контроля M±m n=30
Протромбин по Квику, %	59,59±4,51 ***	84,2±4,61 ***^^^	81,83±3,7 ***^^^	101,09±3,16
Фибриноген, мг/дл	299,21±27,27 *	313,99±20,53	301,34±25,02 *	315,83±19,39
АЧТВ, сек.	33,78±1,29 ***	30,67±0,68 *** ^	30,81±0,78 ***	27,24±0,38
Протромбиновое время, сек.	18,18±0,95 ***	16,03±2,74 *	14,05±0,81 *^^	11,83±0,25

Примечания:

* - статистически достоверные отличия с группой контроля: *- p<0,05; *** - p<0,001.

^ - статистически достоверные отличия с I группой пациентов: ^- p<0,05; ^^ - p<0,01; ^^^ - p<0,001

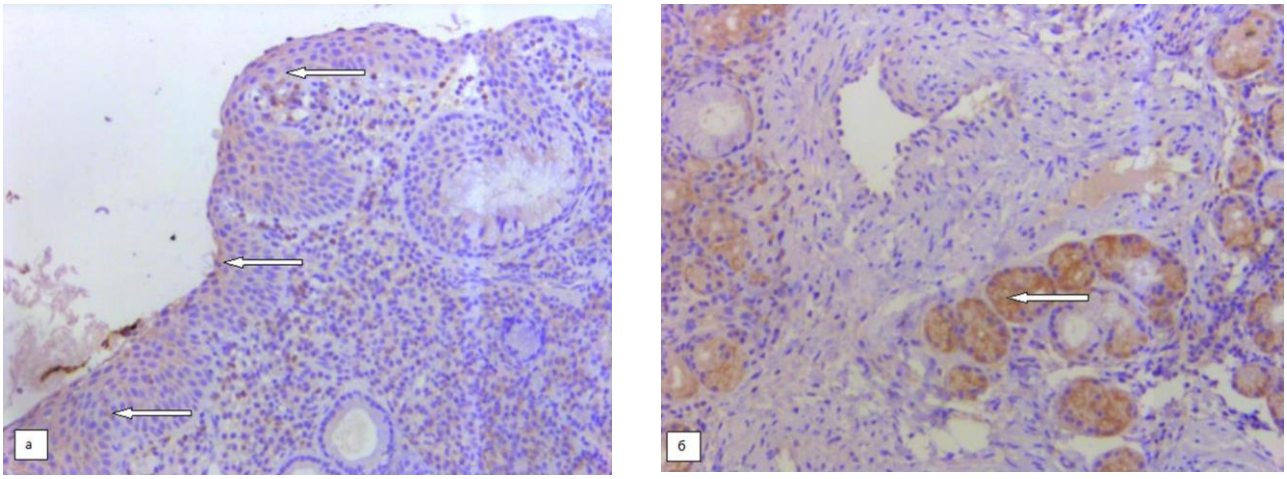
Далее сравнивали частоту геморрагических проявлений в носу в зависимости от нарушения свертывания крови. В I группе в 53% случаях (7 из 13 человек) была обнаружена гипокоагуляция у лиц с геморрагическими проявлениями в носу, что достоверно выше (p<0,01) чем во II, III группах, на долю которых приходилось 18% и 21% (4 из 28 больных у ХГС и 4 из 19 больных у ХГВ).

Таким образом, проявления гипокоагуляции, как доминирующего механизма в развитии носового кровотечения можно предположить в I группе, где снижение синтетической функции печени характеризуется снижением уровня общего белка и альбумина. Нарушения в белковом обмене могут приводить к нарушению синтеза К-зависимых факторов свертывания крови II, VII, IX, X, и в результате снижается уровень протромбина по Квику и удлинняется протромбиновое время. Исходя из этого следует, что при алкогольном поражении печени нарушение свертывания крови характеризуется гипокоагуляцией, обусловленной нарушением в коагуляционном гемостазе.

Результаты гистологического и иммуногистологического исследований

Произведено гистологическое обследование 32 биоптатов слизистой оболочки нижней носовой раковины у 6 пациентов первой группы, 14 человек второй группы и 6 больных третьей группы, в сравнении с 6 биоптатами группы контроля. При вирусных гепатитах достоверно чаще, чем в I группе и группе контроля ($p<0,01$), была выявлена метаплазия эпителия в многослойный плоский, которая считается патогномоничным признаком атрофического ринита. Также были выявлены признаки атрофии и фиброза слизистой оболочки. Определяется корреляция: чем сильнее выражены явления фиброза и атрофии, тем меньше сосудов в слизистой оболочке. Количество последних значительно снижено ($p<0,001$) во всех случаях поражения печени в сравнении с нормой. При вирусном гепатите С и В преобладает умеренная лимфоплазмоцитарная инфильтрация стромы слизистой оболочки, в сравнении с нормой ($p<0,05$).

Иммуногистохимическое исследование микропрепаратов слизистой оболочки носа проведено 7 пациентам с хроническим гепатитом С. Из них 4 имели стадию цирроза печени, у 6 из 7 больных определялся белок NS3 ВГС в цитоплазме метаплазированного эпителия и в белково-слизистых железах собственной пластинки слизистой оболочки носа (рисунок 2, а, б). Все 6 пациентов, у которых выявился протеин NS3, отмечали жалобы на спонтанные носовые кровотечения.



а. б.

Рисунок - 2 Слизистая оболочка носа. Экспрессия NS3 антигена в: а) метаплазированном эпителии; б) слизистых железах. (Иммуногистохимическое исследование х 200).

Известно, что белок NS3 вместе с его кофактором NS4A представляет собой комплекс NS3/4A, который участвует в жизненном цикле вируса, осуществляет репликацию РНК и сборку вируса, способствует персистенции вируса в организме, также влияет на прогрессирование фиброза печени и ингибирует активацию комплемента, расщепляя компонент С4.

Однако этот протеин не был обнаружен нами у пациента с цирротической стадией при ПЦР (+) с количественной вирусной нагрузкой $1{,}23*10^7$ МЕ HCV/мл плазмы. Тогда как при меньшей вирусной нагрузке выявлялась обильная экспрессия протеина NS3 в носу, следовательно, наличие NS3 белка не связано с вирусной нагрузкой.

У пациентов с хроническим гепатитом В (n=6) определяли HBsAg в слизистой оболочке носа. 5 из 6 пациентов имели цирротическую стадию заболевания и у всех обследованных HBsAg не был обнаружен.

Присутствие белка NS3 в цитоплазме метаплазированного эпителия слизистой оболочки носа пациентов с вирусным гепатитом С свидетельствует о способности ВГС поражать эпителиальные клетки и индуцировать местный

специфический иммунный ответ, приводящий к инфильтрации слизистой лимфоцитами.

Результаты иммунологического исследования больных с хроническими вирусными гепатитами

При иммунологическом исследовании субпопуляционный состав лимфоцитов слизистой оболочки полости носа отличался от периферической крови и имел черты, характерные для местного иммунитета, а именно подавляющее преобладание Т-лимфоцитов и низкие значения относительного количества субпопуляций В- и NK-лимфоцитов, изменение соотношения хелперных и цитотоксических субпопуляций Т-лимфоцитов с увеличением последних.

Было обследовано 12 биоптатов слизистой оболочки носа больных ХГС и ХГВ и 6 биоптатов группы контроля.

Таблица 2 - Относительное количество субпопуляций лимфоцитов в биопсийном материале слизистой носа пациентов с хроническими гепатитами В и С и контрольной группы

Показатели	Хронический гепатит N=12 1 и 3 квартили, медиана, %	Контрольная группа N=6 1 и 3 квартили, медиана, %
CD3+ (Т-лимфоциты)	87-93 91	78-93 85
CD3+CD4+ (Т-хелперы)	17-41 27	33-36 35
CD3+CD8+ (Т-киллеры)	49-72 65	42-57 48
Соотношение CD4+/CD8+	0,24-0,8 0,4	0,6-0,75 0,6
CD3+CD56+ (TNK-клетки)	5,5-8,6 6,9	4,1-7,4 7,0
CD19+ (В-лимфоциты)	1,8-3,1 2,5	2-9 3,3

CD 25+ (рецептор ИЛ-2)	2,1-3,1 2,7	2,2-5,2 3,5
CD3-CD56+ (NK-клетки)	4,1-7,2 5,0	3,7-12,1 6,4
HLA DR+	18-34 29*	13-23,4 19*
CD3+HLA DR+ (активир. Т-клетки)	12,4-34,4 25,7*	10,0-11,6 10,2*
CD56+HLA DR+ (активир. NK-клетки)	4,4-7,5 5,8*	2,6-3,5 2,7*
Примечание: * - статистически достоверные отличия, p<0,05.		

В биоптатах слизистой оболочки носа (таблица 2) группы пациентов с хроническими гепатитами В и С по сравнению с нормой выявлена тенденция к увеличению относительного количества цитотоксических Т-лимфоцитов (60,2±14,4% против 49,8±7,4%). Определено статистически достоверное повышение относительного количества HLADR+ лимфоцитов (30,4±11,8% против 18,2±4,2, p<0,05) за счет повышения относительного количества активированных Т- и NK-лимфоцитов (26,6±14,6% против 11,7±3,4% и 6,2±2,2 против 2,8±0,6, p<0,05).

При сравнении результатов исследования относительного количества субпопуляций лимфоцитов слизистой носа между подгруппами пациентов с хроническими вирусными гепатитами С, В и здоровыми лицами (группы 1, 2, 3) был определен ряд достоверных отличий (таблица 3).

В биоптатах слизистой носа в подгруппе пациентов с гепатитом С по сравнению с результатами пациентов с гепатитом В выявлено статистически достоверное повышение относительного количества HLA DR+ лимфоцитов (35,5±13,0% против 18,2±4,2%, p<0,05) за счет повышения относительного количества популяций активированных Т- и NK-лимфоцитов (31,9±15,9% против 17,8±8,9% и 7,7±1,9% против 3,7±0,7% соответственно, p<0,05). При этом, значения в подгруппе пациентов с гепатитом В были сопоставимы с нормальными, а значения в подгруппе пациентов с гепатитом С превышали

таковые (HLA DR+: 35,5±12,9% против 18,2±4,2%, CD3+HLA DR+: 31,9±15,9% против 11,7±3,4%, CD56+HLA DR+: 7,7±1,9% против 2,8±0,6, $p<0,05$).

Таблица 3 - Сравнение относительного количества субпопуляций лимфоцитов слизистой носа в подгруппах пациентов с хроническими вирусными гепатитами С, В и здоровыми лицами

Показатели	ХГС n=6 1 и 3 квартили, медиана, %	ХГВ n=6 1 и 3 квартили, медиана, %	Группа контроля n=6 1 и 3 квартили, медиана, %
CD3+ (Т-лимфоциты)	86-93 88,9	92-93,5 93	78-93 85
CD3+CD4+ (Т-хелперы)	15-37,5 22,5	24-36 31	33-36 35
CD3+CD8+ (Т-киллеры)	44-75,5 66,5	55,5-67 62	42-57 48
Соотношение CD4+/CD8+	0,2-0,94 0,3	0,37-0,65 0,5	0,6-0,75 0,6
CD3+CD56+ (TNK-клетки)	4,4-12 5,8	6,9-7,3 7,1	4,1-7,4 7,0
CD19+ (В-лимфоциты)	2,1-3,1 2,0	2,1-3,1 3,0	2-9 3,3
CD 25+ (рецептор ИЛ-2)	2,1-3,1 2,1	2,8-3,0 2,9	2,2-5,2 3,5
CD3-CD56+ (NK-клетки)	5,1-11,2 7,3	4-4,5 4,1	3,7-12,1 6,4
HLA DR+	27,0-43,5 29,5*¥	13-25 16*	13-23,4 19¥
CD3+HLA DR+ (активир. Т-клетки)	21,5-44,1 31,9*¥	11,1-22,5 13,7*	10,0-11,6 10,2¥
CD56+HLA DR+ (активир. NK-клетки)	6,5-9,4 6,8*¥	3,4-4,3 4,0*	2,6-3,5 2,7¥

Примечания:

* - статистически достоверные отличия между группами пациентов с гепатитами В и С, $p<0,05$.

¥ - статистически достоверные отличия между группой пациентов с гепатитом С и группой здоровых лиц.

В результате исследования биопсийного материала у пациентов с ХГВ субпопуляционный состав лимфоцитов слизистой оболочки был сопоставим с нормой, в том числе не отмечалось повышение относительного количества активированных Т- и NK-клеток, что подтверждает отсутствие HBsAg в носу.

Наличие максимально высокого количества активированных Т- и NK-лимфоцитов в слизистой носа, свидетельствующее о выраженном иммунном ответе, было отмечено нами в группе пациентов с гепатитом С. В этой же группе были наиболее выражены процессы фиброза и атрофии слизистой. Представляется возможным предположить участие клеток специфического иммунитета, прежде всего CD8+ Т-лимфоцитов, в повреждении эпителия слизистой оболочки носа у пациентов с хроническим гепатитом С.

Методы лечения и профилактики носового кровотечения у больных с патологией печени

Лечебная тактика по остановке носовых кровотечений зависела от места возникновения геморрагии. Актуальной была классификация носовых кровотечений по локализации источника на передние и задние. Из 14 человек с передним носовым кровотечением четверым выполнена электрокоагуляция области Киссельбаха-Литтла, шестерым больным – прижигание нитратом серебра в виде «жемчужины» и только четверым – тампонада из поливинилалкоголя (ПВА).

Носовые кровотечения из задних отделов полости носа выявлены у 4 пациентов, из них 2 пациентам сразу установили тампонаду ПВА тампонами и 2 больным провели передне-заднюю тампонаду. У одного пациента с классической переднее-задней тампонадой сукровично-кровянистые выделения продолжались.

В связи с чем, была проведена смена тампонов на ПВА тампоны, на фоне которых стекание крови по задней стенке глотки прекратилось.

При оценке состояния слизистой оболочки носа на 7 сутки четко прослеживается разница – реактивные явления в виде отека, гиперемии, затруднения носового дыхания и количества геморрагических корок менее выражены при использовании ПВА тампонов.

Среди медикаментозного лечения, направленного на купирование носового кровотечения препаратами выбора стали: викасол, этамзилат (дицинон) и транексам (транексамовая кислота).

Всем пациентам, которые предъявляли жалобы на привычные носовые кровотечения, сухость в носу и имели признаки геморрагий (субатрофия слизистой оболочки с геморрагическими или сухими корками и сукровичные выделения при осмотре полости носа), было рекомендовано ежедневное использование кукурузного масла в нос 3 кап 3 раза в день в течении 14 дней и орошение изотоническими растворами в виде капель или спрея от 5-7 раза в день (до устранения чувства дискомфорта или сухости в носу).

Далее контрольный осмотр проводился на 7 сутки после начала приема. 85% человек, которым назначалось профилактическое лечение, отмечали улучшение в виде снижения сухости и прекращения сукровичных выделений. При осмотре методом передней риноскопии установлено улучшение состояния слизистой оболочки, исчезновение сухих корок в преддверии носа и геморрагических корок в области Киссельбаха-Литтла.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большая часть пациентов с АБП имели цирроз печени в стадии суб- и компенсации. Со стороны свертывания крови выявлена гипокоагуляция по внешнему типу за счет снижения протромбина, удлинения АЧТВ и протромбинового времени. Нарушения свертывания крови выявлены у 53% больных с геморрагическими проявлениями в носу. В данной группе чаще встречались носовые кровотечения из задних отделов. При осмотре полости носа достоверно чаще ($p<0,01$) определялось патологическая извитость сосудов на

перегородке носа в 31% случаях, при гистологическом осмотре у половины больных сильно выражены явления атрофии и умеренно выражен фиброз слизистой оболочки. У всех пациентов с выявленными патологическими сосудами отмечались эпизоды носовых кровотечений, в то время как явления гипокоагуляции определялись только у 53% больных с носовыми геморрагиями. Следовательно, местные признаки следует считать более информативными.

У пациентов II группы клинические проявления менее выражены, чем у I группы. Причем носовое кровотечение чаще встречалось у пациентов в доцирротической стадии (в 38% случаев), чем при циррозах (29% случаев). В данной группе жалобы на кровотечения из носа предъявляли 67% больных. Привычные кровотечения чаще наблюдались у лиц с ХГС, чем в других группах. В 88% случаях ощущение сухости в носу предшествовало геморрагическим проявлениям. Все носовые кровотечения у госпитализированных в ЛОР-отделение пациентов с ХГС были передними.

При эндоскопическом осмотре были выявлены поверхностно расположенные сосуды и признаки атрофии слизистой оболочки, что подтверждалось гистологическим исследованием в виде диффузной плоскоклеточной метаплазии эпителия слизистой оболочки. Так, в метаплазированном эпителии и в белково-слизистых железах собственной пластинки слизистой оболочки носа выявлены фрагменты неструктурных белков NS3 ВГС, необходимые для репликации вируса.

При иммунологическом исследовании обнаружены изменения со стороны местного клеточного иммунитета в виде увеличения относительного количества цитотоксических Т-лимфоцитов, относительного количества HLADR+ лимфоцитов за счет повышения относительного количества активированных Т- и NK-лимфоцитов и снижение раннего активационного маркера CD25+, что подтверждает наличие вирусных частиц и длительной персистенции в слизистой оболочке носа. Результаты иммунологических методов позволяют предположить участие клеток CD8+ в повреждении эпителия слизистой оболочки носа у пациентов данной группы.

Учитывая, что изменения со стороны коагуляционной системы не определены, несмотря на то, что при терминальных стадиях заболевания выявлена тромбоцитопения, частота встречаемости носовых кровотечений чаще наблюдается в доцирротической стадии, следует, что основной причиной развития геморрагических проявлений служат местные изменения слизистой оболочки в виде субатрофии и наличия поверхностно расположенных сосудов на перегородке носа, что устанавливается посредством эндоскопического исследования носовой полости.

Среди пациентов III группы преобладали лица с циррозом (71%), большинство из которых в стадии компенсации. У пациентов с ВГВ-инфекцией носовые кровотечения чаще встречались в стадии цирроза печени (47% против 9% доцирротической стадии), что коррелирует с уровнем тромбоцитопении, которая возрастает с развитием цирроза печени. Носовые кровотечения в этой группе чаще носили единичный характер (38%), привычные кровотечения отмечали 21% больных. У госпитализированных в ЛОР-стационар пациентов только 1 случай из 6 приходился на задние отделы полости носа.

При морфологическом исследовании слизистой оболочки носа в 33% случаях выявлена диффузная плоскоклеточная метаплазия эпителия, однако при исследовании слизистой оболочки определить HBsAg не удалось. При иммунологическом исследовании биоптатов отклонения от нормы не выявлено, что подтверждается отсутствием антигенов в слизистой оболочке носа. Поэтому развитие носового кровотечения в данной группе можно объяснить наличием тромбоцитопении, приводящей к нарушению трофической функции сосудистой стенки слизистой оболочки – это и наблюдается при эндоскопическом осмотре полости носа в виде субатрофии слизистой оболочки и поверхностно расположенных сосудов на перегородке носа.

Суммируя результаты, можно сказать, что механизмы развития носовых кровотечений при различных формах поражения печени многообразны.

ВЫВОДЫ

1. Структурные изменения слизистой оболочки носа при патологии печени носят неспецифический характер, выражаются атрофией, фиброзом и плоскоклеточной метаплазией (72% при ХГС и 83% при ХГВ), а макроскопически проявляются истончением, сухостью и поверхностно расположенными и патологически извитыми сосудами – эти изменения лежат в основе развития геморрагий.
2. У 86% больных с вирусным гепатитом С в измененной слизистой оболочке полости носа обнаружен неструктурный протеин NS3 вируса гепатита С, выявляющийся только у лиц с геморрагическими проявлениями в носу.
3. При вирусном гепатите С изменения в слизистой оболочке полости носа выражаются субатрофией и поверхностно расположенными сосудами, обусловлены наличием антигенных структур вирусного гепатита и активацией Т-клеточного иммунитета, за счет повышения относительного количества популяций активированных Т- и NK-лимфоцитов (31,9±15,9% против 17,8±8,9% и 7,7±1,9%) в сравнении с обследованной группой пациентов с гепатитом В.
4. Основной причиной развития носовых кровотечений при гепатите В является тромбоцитопения, выявленная у всех пациентов с геморрагиями в носу, приводящая к нарушению трофической функции сосудистой стенки слизистой оболочки. Ведущим звеном в развитии носового кровотечения при токсическом поражении печени вследствие алкогольной интоксикации служит гипокоагуляция (в 53% случаев) и местные изменения слизистой оболочки полости носа: в виде субатрофии (у 83% пациентов) и патологической извитости сосудов (в 31% случаев).
5. Для профилактики и лечения носовых кровотечений пациентам следует систематически (несколько раз в день) проводить орошение слизистой оболочки полости носа изотоническим раствором хлорида натрия с добавлением кукурузного масел (например, кукурузного).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для прогноза развития носовых кровотечений у больных с ВГС может быть рекомендовано определение белка NS3 ВГС в слизистой оболочке носа и исследование местного Т-клеточного иммунитета.
2. Для купирования носовых кровотечений у лиц с патологиями печени рекомендуется применение ПВА тампонов, в связи с их лучшим гемостатическим эффектом и щадящим отношением к слизистой оболочке носа. Также рекомендуется, назначение транексамовой кислоты дополнительно к парентеральной терапии для ингибирования системы фибринолиза.
3. При наличии жалоб на привычные носовые кровотечения и сухость в носу во время диспансерного наблюдения, пациенту следует рекомендовать консультацию оториноларинголога.
4. При развитии носового кровотечения у лиц с хроническими заболеваниями печени рекомендуется проводить расширенную коагулограмму с определением РФМК и Д-димера для выявления хронической формы ДВС-синдрома.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

1. Местникова, А.З. Возможные причины развития носовых кровотечений у лиц с алкогольным и вирусным гепатитом С [Текст] / А.З. Местникова, С.А. Артюшкин // Тез. докл. IV Петербургского международного форума оториноларингологов России. – СПб, - 2015. – С. 329-330.
2. Носовые кровотечения [Текст]: метод. рек. / Н.А. Лебедева, И.Н. Александров, П.Н. Ермолаев, А.З. Местникова. – Якутск: Изд. дом СВФУ, 2015 – 30 с.
3. Факторы, приводящие к развитию носовых кровотечений у лиц с алкогольным и вирусным гепатитом С [Текст] / А.З. Местникова, С.А. Артюшкин, В.В. Стельмах, В.А. Воронов // Материалы XIV Российского конгресса оториноларингологов «Наука и практика в оториноларингологии». – М., - 2015. – С. 64-65.

4. Некоторые факторы, влияющие на развитие носового кровотечения у лиц с хроническим алкогольным и вирусным гепатитами В и С в цирротической стадии [Текст] / А.З. Местникова, С.А. Артюшкин, В.К. Артюшкина, В.В. Стельмах // Рос. оторинолар. – 2015. - №6 (79). – С.46-52.
5. Местникова, А.З. Патогенетические механизмы развития носового кровотечения при хроническом вирусном гепатите С [Текст] / А.З. Местникова, С.А. Артюшкин, В.В. Стельмах // Рос. оторинолар. – 2016. - №1 (80). – С.67-72.
6. Клинико-иммунологические изменения слизистой оболочки у пациентов с хроническими вирусными гепатитами [Текст] / А.З. Местникова, С.А. Артюшкин, И.А. Самусенко, А.А. Калашникова // Рос. оторинолар. – 2016. - №2 (81). – С.73-81.
7. Местникова, А.З. Патогенетические аспекты поражения носа у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С [Текст] / А.З. Местникова, С.А. Артюшкин, В.К. Артюшкина // Якутский медицинский журнал. – 2016. - №1 (53). – С.7-11.
8. Местникова, А.З. Иммунологическая картина слизистой оболочки носа у пациентов с хроническими вирусными гепатитами [Текст] / А.З. Местникова, С.А. Артюшкин // Тез. докл. III международной научно-практической конференции «Проблемы медицины в современных условиях». – Казань, - 2016. – С.14-16.

Список сокращений

АБП – алкогольная болезнь печени

АЧТВ - активированное частичное тромбопластиновое время

ВГВ – вирус гепатита В

ВГС – вирус гепатита С

ХГВ – хронический вирусный гепатит В

ХГС – хронический вирусный гепатит С

NK-клеток – естественные киллеры

HLA DR - антиген тканевой совместимости

МЕСТНИКОВА АИНА ЗАХАРОВНА

Особенности структурных изменений слизистой оболочки носа у пациентов с хроническими гепатитами различной этиологии и их значение для лечения и профилактики носовых кровотечений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Подписано к печати «____»_____ 2017 г.

Бумага офсетная.

Формат 60х84/16. Гарнитура Times.

Заказ № Тираж 100 экз.