

# Комбинированное лечение больных папилломатозом гортани

В.М.Свистушкин<sup>1</sup>, В.И.Егоров<sup>2</sup>, Д.М.Мустафаев<sup>3</sup>, К.Б.Волкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, кафедра болезней уха, горла и носа лечебного факультета (зав. кафедрой — проф. В.М.Свистушкин);

<sup>2</sup>Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф.Владимирского, кафедра оториноларингологии факультета усовершенствования врачей (зав. кафедрой — д.м.н. В.И.Егоров);

<sup>3</sup>Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф.Владимирского, отделение оториноларингологии (зав. отделением — к.м.н. В.Н.Селин)

Папилломатоз гортани — одна из актуальных и неразрешенных проблем современной медицины. Опухоль поражает как детей, так и взрослых, что нередко чревато тяжелыми угрожающими жизни больного осложнениями. Цель исследования — оценка эффективности лечения пациентов с папилломатозом гортани путем использования комбинированного метода — холодноплазменной эндоларингеальной микрохирургии папиллом и терапии препаратом-индуктором эндогенного интерферона и активатором системы NK-киллеров (торговое название — Аллокин-альфа) в сравнении с хирургическим лечением без противорецидивной терапии. В исследование включены 50 пациентов, разделенных на две равные группы. В основной группе, которая состояла из 25 пациентов, получавших комбинированное лечение, увеличился межрецидивный период и уменьшилась частота рецидивирования. Таким образом, данный способ лечения можно рекомендовать при папилломатозе гортани.

*Ключевые слова:* папилломатоз гортани, вирус папилломы человека, холодноплазменная хирургия, комбинированное лечение

## Combined Treatment of Patients with Laryngeal Papillomatosis

V.M.Svistushkin<sup>1</sup>, V.I.Egorov<sup>2</sup>, D.M.Mustafaev<sup>3</sup>, K.B.Volkova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Medical Faculty, Department of the Diseases of Ear, Throat and Nose (Head of the Department — Prof. V.M.Svistushkin);

<sup>2</sup>Moscow Regional Research Clinical Institute named after M.F.Vladimirskiy, Doctors Improvement Faculty, Department of Otorhinolaryngology (Head of the Department — DMedSci V.I.Egorov);

<sup>3</sup>Moscow Regional Research Clinical Institute named after M.F.Vladimirskiy, Department of Otorhinolaryngology (Head of the Department — PhD V.N.Selin)

Laryngeal papillomatosis is one of the important and unresolved problems of modern medicine. Tumor affects both children and adults, which is often fraught with serious life-threatening complications to the patient. The aim of the study was to evaluate the effectiveness of treatment of patients with laryngeal papillomatosis by using the combined method — cold plasma endolaryngeal microsurgery papillomas and inducers of an endogenous interferon therapy and activator of NK-killers (trade name Allokina-alpha) compared with the surgery without preventive treatment. The study included 50 patients, divided into two equal groups. In the study group, which consisted of 25 patients who received the combination treatment there increased an interrecurrent period and reduced the frequency of recurring. Thus, this method of treatment is recommended for the laryngeal papillomatosis.

*Key words:* laryngeal papillomatosis, human papilloma virus, cold plasma surgery, combined treatment

### Для корреспонденции:

Волкова Карина Борисовна, аспирант кафедры болезней уха, горла и носа лечебного факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Телефон: (499) 248-5538

E-mail: karina-volkova@bk.ru

Статья поступила 21.11.2014, принята к печати 24.12.2014

**П**апиллома (от латинского *papilla* — сосок) — доброкачественная опухоль, которая развивается из плоского или переходного эпителия и имеет вид сосочкового разрастания, выступающего над поверхностью окружающего эпителия. Встречается во всех органах, где есть покровный эпителий, т.е. на коже, слизистой оболочке полости рта, глотки, дыхательных и мочеполовых путей [1–4].

Папилломатоз гортани (ПГ) является одним из наиболее распространенных опухолевых заболеваний верхних отделов дыхательных путей, встречающихся как у детей, так и у взрослых [5–7].

По данным различных авторов, частота ПГ колеблется от 20 до 45% всех доброкачественных опухолей этой локализации [8–10]. Выделяют две принципиально различные формы ПГ: ювенильный ПГ и папилломатоз взрослых. Ювенильный ПГ, или папилломатоз детей и подростков, проявляется, по данным различных авторов, у детей младше 14, 16 или 18 лет. Папилломатоз взрослых развивается в возрастных группах старше 14, 16, 18 лет или в возрасте 21 года [9]. Средний возраст диагностирования ювенильного ПГ, по данным американских ученых, составляет 3,76 года, хотя заболевание может возникать и у новорожденных [2, 3, 9]. Пик заболеваемости ПГ взрослых колеблется между 20 и 30 годами, однако описаны случаи диагностики ПГ на девятом десятке жизни [1, 9].

Ювенильный ПГ несколько чаще поражает мальчиков, у взрослых преимущественно поражаются мужчины [11–15].

За рубежом в последнее десятилетие было предложено разделение ПГ не на «ювенильный» и «ПГ взрослых», а на «агрессивный» и «не агрессивный». ПГ определяется как агрессивный у пациентов, которым проведено 10 и более операций по удалению папиллом, или более 3 операций за год, или при распространении процесса на подголосовой отдел гортани [13–15].

Несмотря на то, что папиллома является доброкачественной опухолью, в связи с частым рецидивированием, бурным ростом и анатомической узостью просвета гортани, клинически заболевание нередко протекает тяжело, с явлениями стеноза гортани, который при неоказании своевременной помощи может привести к серьезным осложнениям и даже летальному исходу. Нередко заболевание носит агрессивный характер, что характеризуется значительной распространенностью патологического процесса и частыми рецидивами, сопровождающимися явлениями стеноза гортани. Такие пациенты подвергаются многократным хирургическим вмешательствам, направленным на удаление папиллом, однако постоянная хирургическая агрессия зачастую приводит к формированию рубцового стеноза и необходимости последующей трахеостомии. Это усугубляет имеющуюся хроническую гипоксемию, ведет к формированию легочной патологии и дистрофии внутренних органов, также не следует забывать о возможности озлокачествления папиллом [1, 2, 5, 8–10, 12, 14].

Отечественные и зарубежные ученые постоянно предпринимают попытки найти способы лечения больных респираторным папилломатозом. Лечебная практика основывается на трех основных направлениях и их различных сочетаниях: совершенствование хирургических методов, поиск новых медикаментозных препаратов (противовирусных, иммуноотропных и др.) и разработка методик вакцинации.

### Пациенты и методы

Исследование проводилось с 2013 г. на базе ЛОР-клиник Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф.Владимирского и Первого

МГМУ им. И.М.Сеченова (Москва). В исследование включены 50 больных (31 мужчина и 19 женщин) в возрасте от 18 до 65 лет с диагнозом «папилломатоз гортани». Средний возраст составил 37,2 года.

В основную группу вошли 25 (20 мужчин и 5 женщин) пациентов, которые получали терапию препаратом «Аллокин-альфа» по схеме согласно протоколу, в комплексе с эндоларингеальной микрохирургией с применением холодной плазмы. Каждый пациент получил всего 6 инъекций препарата подкожно, через 2 суток, в дозе 1 мг: 3 инъекции до операции, 3-я инъекция в день операции, 3 инъекции в послеоперационном периоде. У 72% пациентов (18 пациентов) папилломатозные разрастания занимали голосовую складку с распространением на переднюю комиссуру. У 20% пациентов (5 человек) папилломы локализовались только на одной голосовой складке, у 8% пациентов (2 человека) обнаружены разрастания папиллом и в подскладочном пространстве.

В контрольной группе (25 человек, среди них 17 мужчин и 8 женщин) пациенты оперированы методом эндоларингеальной микрохирургии с применением холодной плазмы. Медикаментозная терапия не назначалась.

На догоспитальном этапе все пациенты обеих групп были тщательно обследованы. Лабораторно-инструментальная диагностика включала общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, коагулограмму, исследование на гепатит В и гепатит С, антитела к ВИЧ, анализ крови на реакцию Вассермана, ЭКГ, рентгенографию грудной клетки, консультацию терапевта и по показаниям консультацию других специалистов. Все пациенты дали письменное согласие на участие в исследовании.

При опросе и сборе анамнеза у 28% (7 пациентов) и 12% (3 пациента) выявлены заболевания желудочно-кишечного тракта (хронический гастрит в стадии ремиссии, язва желудка и двенадцатиперстной кишки в анамнезе, дискинезия желудочно-кишечного тракта). У 16% (4 пациента) контрольной группы также обнаружены заболевания желудочно-кишечного тракта.

Критериями исключения из исследования являлись: беременность, лактация, наличие декомпенсированных заболеваний или острых состояний, способных существенно повлиять на результат исследования, хроническое канулоносительство, аутоиммунные заболевания с системным поражением соединительной ткани, острая и хроническая почечная и печеночная недостаточность, получение другой противовирусной, иммуномодулирующей или иммуносупрессивной терапии, наличие трансплантированных органов, носительство гепатитов В и С, ВИЧ-инфекция, участие в любом другом клиническом испытании в последние 3 мес.

Всем пациентам при поступлении проводилась видеоларингоскопия и забор слюны для выявления и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) 6-го и 11-го генотипов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Во время операции удаленный материал отправлялся на гистологическое, цитологическое исследование и на ПЦР-диагностику ВПЧ. Контрольные сроки наблюдения составляли 3 мес, 6 мес и 1 год после лечения. На всех контрольных визитах забиралась слюна

для динамического исследования активности ВПЧ и проводилась видеоларингоскопия. В случае повторного проведения операции во время хирургического вмешательства удаленную ткань также отправляли на гистологическое, цитологическое исследование и ПЦР-диагностику.

Видеоларингоскопия выполнялась с помощью жесткого ларингоскопа с записывающим устройством, которое регистрировало изображение гортани и верхних отделов трахеи.

Гистологическое исследование в плановом порядке проводилось путем замораживания полученных в результате биопсии тканей, после чего выполнялись срезы специальным ножом (микротом). Затем срезы помещались на стекло и подготавливались для окраски (для различных окрасок методики подготовки могут различаться). Далее срезы окрашивались с помощью красителей, что делало клетки, их элементы, а также элементы межклеточного вещества тканей заметными под микроскопом.

Цитологическое исследование заключалось в оценке характеристик морфологической структуры клеточных элементов в цитологическом препарате (мазке) и было основано на изучении с помощью микроскопа особенностей строения клеток, клеточного состава органов, тканей, жидкостей организма человека в норме и при патологических процессах. Предметом цитологического исследования, в отличие от гистологического, являлись срезы тканей, а не клетки. Заключение основывалось на особенностях изменения ядра, цитоплазмы, ядерно-цитоплазменного соотношения, образования структур и комплексов клеток.

Выявление ДНК ВПЧ из собранного материала проводили методом ПЦР в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с использованием тест-системы «АмплиСенс ВПЧ 6/11-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора). Метод основан на одновременной амплификации участков ДНК ВПЧ и участка ДНК  $\beta$ -глобинового гена, используемого в качестве эндогенного внутреннего контроля. ПЦР-анализ на наличие ДНК ВПЧ 6-го и 11-го генотипов проводили в одной пробирке. ДНК-мишень, выбранная в качестве внутреннего контроля, является участком генома человека и должна всегда присутствовать в образце в достаточном количестве не только для контроля этапов ПЦР-анализа, но и оценки адекватности взятия материала и его хранения.

Метод ПЦР включает три этапа: экстракцию ДНК из образцов клинического материала, амплификацию участка ДНК данного патогена и непосредственно детекцию. Для экстракции ДНК использовали комплекты реагентов, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, в соответствии с инструкцией производителя. Детекцию проводили с помощью амплификаторов CFX96 (Bio-Rad, США) и Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия). Полученные данные в виде кривых накопления флуоресцентного сигнала по трем каналам анализируются с помощью программного обеспечения прибора: по каналу FAM регистрируется сигнал о накоплении продукта амплификации ДНК ВПЧ 6-го генотипа, по каналу HEX регистрируется сигнал о накоплении продукта амплификации ДНК ВПЧ 11-го генотипа, по каналу ROX регистрируется сигнал о накоплении продукта амплификации ДНК внутреннего контрольного образца (участок  $\beta$ -глобинового гена человека) ВПЧ.

В основе интерпретации результатов лежит «пороговый» принцип: наличие (или отсутствие) пересечения кривой флуоресценции S-образной формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла Ct. Учет результатов тестирования исследуемых образцов проводят в соответствии с граничными значениями Ct, указанными во вкладыше к набору реагентов. Пробы, в которых появились значения Ct, не превышающие граничное значение порогового цикла, указанное во вкладыше, рассматриваются как положительные. Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для положительного и отрицательного контролей амплификации, отрицательного контроля экстракции ДНК.

Суть холодноплазменной хирургии (коблации) заключается в способности электрического тока образовывать в стерильном солевом растворе электролита плазму. С его помощью, в зависимости от ситуации, врач может коагулировать, рассекать или разрушать массив патологически измененных тканей и не оказывать при этом негативного влияния на близрасположенные анатомические структуры. Глубина проникающего воздействия составляет лишь сотые доли миллиметра, а это значит, что подлежащие слои не затрагиваются. Совсем небольшая толщина плазменного слоя позволяет скрупулезно дозировать воздействие и тщательнейшим образом рассчитывать объем удаляемой и отсекаемой ткани. Вот почему коблация сегодня претендует на роль совершенного, универсального хирургического инструмента. Кроме того, гибкость рабочего электрода и осуществление визуального контроля через операционный микроскоп над производимыми манипуляциями в значительной мере повышают их точность и эффективность. Операция проводится под наркозом.

Аллокин-альфа — оригинальный противовирусный препарат нового типа с локальным иммуномодулирующим действием (фармакотерапевтическая группа: противовирусное, иммуномодулирующее средство, одобренное к применению Минздравом РФ 22.09.03 г.). Действующим веществом препарата является цитокиноподобный 13-аминокислотный олигопептид аллоферон, получаемый методом пептидного синтеза. Действие препарата направлено на усиление распознавания вирусных антигенов и инфицированных клеток натуральными (естественными киллерами), нейтрофилами и другими эффекторными системами естественного иммунитета, ответственными за элиминацию вируса. Препарат усиливает презентацию антигена вируса и локализует иммунный ответ непосредственно в очаге инфекции, не вызывая избыточных реакций за его пределами.

Прямое антивирусное действие препарат оказывает через блокирование стадии трансляции и разрушения информационной РНК вируса. В системе общего иммунитета Аллокин-альфа вызывает:

- индукцию интерлейкина-18 с каскадной активацией и количественным увеличением NK-лимфоцитов с фенотипом CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>;
- индукцию ИНФ- $\gamma$  и, как следствие, дифференцировку иммунного ответа по противовирусной схеме — клеточная дифференцировка Т-хелперов 1-го типа (Th1);

- стимуляцию и повышение функциональной активности плазменных нейтрофилов;
- снижение экспрессии гена ингибирующего цитокина TGF- $\beta$ 1 на фоне ВПЧ-ассоциированной патологии шейки матки, что является дополнительным механизмом активации противовирусного ответа Т-регуляторных клеток иммунной системы.

### Результаты исследования и их обсуждение

Пациенты, входящие в основную группу исследования, в до- и послеоперационном периоде при введении препарата никаких серьезных побочных эффектов не отметили. У 8% (2 пациента) в первый день инъекций выявлены небольшая тошнота и недомогание, проходящие самостоятельно через 2–3 ч после появления жалоб. У остальных больных особенностей при лечении не отмечено.

Послеоперационный период в обеих группах проходил удовлетворительно. На 1-е сутки после операции пациенты обеих групп (100%) жалоб не предъявляли. При осмотре определялся умеренный отек послеоперационной области. Дополнительно к назначенному лечению пациенты обеих групп получали только обезболивающие препараты при необходимости (анальгин 2,0 мл в/м или кетонал 2,0 мл в/м).

По первым полученным результатам (срок наблюдения — 9 мес) выявлено, что у пациентов 1-й группы увеличился межрецидивный период и уменьшилась частота рецидивов. В послеоперационный период у пациентов 1-й группы увеличился период ремиссии в среднем до  $9 \pm 1$  мес, у 5 пациентов (20%) наблюдались рецидивы. Среди пациентов 2-й группы период ремиссии составлял  $4 \pm 1$  мес. У 15 пациентов (60%) данной группы за наблюдаемый период были выявлены рецидивы.

Результаты исследования слюны и материала методом ПЦР показали уменьшение активности вируса ВПЧ 6-го и 11-го типа у 20 пациентов (80%), получавших комбинированное лечение.

### Выводы

1. На основании полученных результатов исследования (срок наблюдения — до 9 мес) можно сделать вывод о том, что разработанный нами метод комбинированного лечения папилломатоза гортани эффективен.

2. Иммунотерапия с помощью данного препарата позитивно влияет на частоту, интенсивность и длительность рецидивов. Таким образом, препарат «Аллокин-альфа» эффективен и безопасен для лечения папилломатоза гортани. Исходя из этого Аллокин-альфа следует рекомендовать при комбинированном лечении респираторного папилломатоза.

### Литература

1. Ашуров З.М., Зенгер В.Г. Современное состояние проблемы лечения детей с респираторным папилломатозом // Вестн. оториноларингол. 2000. №4. С.17–21.

2. Иванченко Г.Ф., Каримова Ф.С. Современные представления об этиологии, патогенезе, клинике, диагностике и лечении папилломатоза гортани // Вестн. оториноларингол. 2000. №1. С.44–49.
3. Солдатский Ю.Л., Онуфриева Е.К., Погосова И.Е. и др. Инфицированность вирусом папилломы человека верхних дыхательных путей у детей без клинических признаков респираторного папилломатоза // Вестн. оториноларингол. 2009. №1. С.16–19
4. Шилова О.Ю., Уразова Л.Н., Мухамедов М.Р., Чойнзонов Е.Л. Онкогенные вирусы в патогенезе хронических заболеваний и рака гортани // Бюл. Молдавск. мед. акад. 2007. №4. С.341–342.
5. Антонив В.Ф., Мицконас А., Антонив Т.В., Матела И.И. Папилломатоз гортани. Роль вируса папилломы человека, перспективы диагностики и лечения // Вестн. оториноларингол. 2004. №3. С.23–26.
6. Плужников М.С., Рябова М.А., Карпищенко С.А. Современные подходы к комбинированному лечению рецидивирующего респираторного папилломатоза // Вестн. оториноларингол. 2008. №4. С.29–37.
7. Овчинников Ю.М., Киселев В.И., Солдатский Ю. и др. Распространенность типов вируса папилломы человека и их влияние на течение заболевания у детей, страдающих рецидивирующим респираторным папилломатозом // Вестн. оториноларингол. 2004. №3. С.29–33.
8. Солдатский Ю.Л., Онуфриева Е.К., Стеклов А.М. Рецидивирующий респираторный папилломатоз: современное состояние проблемы // Вестн. оториноларингол. 2009. №4. С.66–71.
9. Барышев В.В., Андреев В.Г., Попучиев В.В. и др. Современные аспекты изучения респираторного папилломатоза. Ч. I. Этиология, патогенез, диагностика // Сибирск. онкол. журн. 2009. Т.5. №35. С.67–72.
10. Шабалдина Е.В., Павленко С.А., Шабалдин А.В. Ювенильный респираторный папилломатоз гортани // Мед. в Кузбассе. 2006. №3. С.32–34.
11. Шилова О.Ю. Ассоциация рака гортани с онкогенными вирусами папилломы человека и Эпштейна–Барр: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2008. 23 с.
12. Bondaryev A., Makris D., Breen D.P., Dutau H. Airway stenting for severe endobronchial papillomatosis // Respiration. 2009. V.77 (4). P.455–458.
13. Gomez M.A. et al. Detection of human papillomavirus in juvenile laryngeal papillomatosis using polymerase chain reaction // Medicina (B. Aires). 1995. V.55 (3). P.213–217.
14. Kashima H.K., Mounts P., Shah K. Recurrent respiratory papillomatosis // Obstet Gynecol Clin North Am. 1996. V.23 (3). P.699–706.
15. Zur Hausen H., de Villiers E.M. Human papillomaviruses // Annu Rev Microbiol. 1994. V.48. P.427–447.

### Информация об авторах:

Свистушкин Валерий Михайлович, профессор, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой болезней уха, горла и носа лечебного факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова, главный внештатный оториноларинголог Центрального Федерального округа России  
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2  
Телефон: (499) 248-7777  
E-mail: svvm3@yandex.ru

Егоров Виктор Иванович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой оториноларингологии факультета усовершенствования врачей Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф.Владимирского  
Адрес: 129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2  
Телефон: (495) 631-3345  
E-mail: evi.lor-78@mail.ru

Мустафаев Джаваншир Мамед оглы, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения оториноларингологии Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф.Владимирского  
Адрес: 129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2  
Телефон: (495) 631-0801  
E-mail: mjavanshir@mail.ru