

ЛЕКЦИИ

ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЕ ИНКУБИРОВАНИЕ ЦИТОСТАТИКОВ В ЕСТЕСТВЕННЫХ СРЕДАХ ОРГАНИЗМА - НОВЫЕ МЕТОДЫ ЭФФЕКТИВНОЙ И ЩАДЯЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ РАКА

Ю.С. Сидоренко

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт

В последние годы все больше исследований посвящается экстракорпоральной фармакотерапии как одному из наиболее перспективных направлений в лекарственном лечении, альтернативе традиционным способам введения лекарственных препаратов. Метод предусматривает реинфузию клеток крови после их инкубации с лекарственными средствами с целью изменения свойств клеток или направленного транспорта препаратов к органам-мишеням и представляет собой своеобразный вариант цитофереза (Костюченко А.Л., 2000).

Нами установлено, что инкубация цитостатика с аутокровью приводит к образованию качественно новых противоопухолевых соединений: химиопрепарат - форменный элемент, химиопрепарат - белок. Фиксация большей части цитостатика на естественном носителе приводит к увеличению в несколько раз времени циркуляции химиопрепарата в крови, дополнительной его активизации на поверхности клетки, усиливает биотрансформацию препарата, и данные явления объясняют низкую дозозависимую токсичность и выраженную противоопухолевую эффективность аутогемохимиотерапии (АГХТ) по сравнению с полихимиотерапией (ПХТ) на традиционных растворителях. Кроме того, при экстракорпоральной инкубации аутокрови с лекарственным препаратом происходит качественное функциональное изменение свойств реинфузированных клеток, биологически активных белковых молекул, что проявляется в иммунопротективном действии АГХТ, активации антистрессорных адап-

тационных реакций, повышении общей неспецифической резистентности организма.

Методика аутогемохимиотерапии заключается в следующем: у больного, находящегося в процедурном кабинете, производится пункция периферической вены с подключением стандартной системы для переливания крови и флакона с 50,0 мл глюгицира. Удостоверившись в надежном для дальнейших манипуляций положении иглы в просвете вены, производят забор 200-250 мл крови. Каждый химиопрепарат растворяется в 10 мл физиологического раствора и вводится во флакон с аутокровью. Содержимое флакона инкубируется при температуре 37-37,5°C не менее 30 мин. Затем производится внутривенная капельная реинфузия аутокрови с цитостатиками по известным правилам трансфузиологии с частотой 30—40 капель в мин.

Высокая эффективность методики АГХТ показана при местнораспространенных солидных опухолях (молочная железа, придатки матки, желудок, толстая кишка), саркомах мягких тканей и системных злокачественных заболеваниях. Аутогемохимиотерапия — уникальный метод, объединяющий одновременно химиотерапию и биотерапию.

Методика аутоэритроцитомобилизационной химиотерапии (АЭТЛХТ) заключается в заборе 200 мл крови больного в стерильный флакон с 50 мл глюгиоира, которую затем центрифугируют в течение 30—40 мин при 1500 об/мин и эвакуируют плазму. Далее в аутоэритроцитомобилизационную массу добавляют растворенные в физрастворе химиопрепараты, после экспозиции в термо-

стате в течение 60 мин при температуре 37,0-37,5°C проводят ее внутривенную капельную реинфузию. Далее для восполнения объема циркулирующей крови больному реинфузируют и его плазму. Из описания проведения АЭТЛХТ очевидно, что она проста, не требует специальной дорогостоящей аппаратуры и может быть использована в условиях любого онкологического отделения.

Методика использована в лечении больных лимфогранулематозом. Курсы АЭТЛХТ оказались эффективными у 85% (34 из 40) больных. Объективно наблюдалась синхронная регрессия периферических, медиастинальных, забрюшинных лимфоузлов. Сравнительно медленный и постепенный регресс (от курса к курсу) объективных проявлений ЛГМ имел место у 12 больных с длительным анамнезом заболевания (более 12 мес).

Методика плазмохимиотерапии (ПХТ). Одним из вариантов аутогемохимиотерапии является инкубация цитостатиков с плазмой аутокрови или донорской, совместимой по ABO₃ RH-фактору. Технически эта методика включает несколько этапов. Плазмозерез проводится одним из способов: дискретным или непрерывным аппаратным. Производят забор аутокрови в количестве 200-250 мл в стерильный флакон с гемоконсервантом "Глюгидир", затем центрифугируют при частоте 1500 об/мин в течение 30 мин, отбирают надосадочную плазму в другой стерильный флакон с гемоконсервантом, клеточный осадок реинфузируют. При проведении аппаратного плазмозереза использовали монитор ADM/ABM 08, фильтр PIS, стандартные системы магистралей. Сосудистый доступ - путем катетеризации центральных или периферических вен.

Группа больных, подвергшихся АПХТ, достоверно отличалась от пациентов с системной ПХТ по количеству частичных и полных регрессий - 80,6 против 68% ($p < 0,05$).

Методика лимфохимиотерапии включала в себя операцию по дренированию левого грудного протока, которая выполнялась нами по оригинальной методике, исключающей его перевязку. Забор и консервация лимфы производились в стандартных стеклянных флаконах объемом 500 и 250 мл, хранение осуществлялось в холодильной камере при температуре

+4°C, сроки хранения не превышали 6—7 сут. С целью поддержания клеточных элементов во взвешенном в лимфоплазме состоянии дважды в сутки производилось легкое "перемешивание" лимфы путем медленного 8-10-кратного вращения флакона с лимфой вокруг его продольной оси.

Индивидуально рассчитанная разовая доза химиопрепаратов разводилась 0,9% раствором натрия хлорида в объеме 5—7 мл до полного растворения, затем химиопрепараты вводились в лимфу. При этом вся комбинация цитостатиков: метотрексат, 5-фторурацил и циклофосфан - вводилась в один флакон. Антрациклиновые антибиотики инкубировали в другом флаконе с лимфой. Инкубацию аутолимфы с разведенными в ней химиопрепаратами производили в термостате в течение 1 ч при температуре 37°C. Проинкубированную с цитостатиками аутолимфу вводили больным внутривенно капельно в течение длительной (2—3-часовой лимфоинфузии).

Методика обеспечивает дозоинтенсивный режим введения, высокоэффективна в отношении первичной опухоли (молочной железы, легкого и др.) и ее регионарных лимфогенных метастазов. Имеется возможность лечения гомолимфой в детской онкологической клинике (на лимфе родителей),

Методика пролонгированной эндолимфатической химиотерапии на аутоплазме заключается в катетеризации периферического лимфатического сосуда и дозированного введения цитостатиков в течение нескольких суток с периодическими отключениями инфузионной системы. Данная методика обеспечивает введение курсовой дозы химиопрепаратов в течение нескольких дней при резком сокращении побочных реакций, в первую очередь миелогенных. Показала высокую непосредственную эффективность при раке шейки матки, прямой кишки и перстневидноклеточном раке желудка.

Методика аутомиелохимиотерапии включала аспирацию 150-200 мл миеловзвеси, которую производили одноразовым пластиковым шприцем объемом 20 мл с добавленным стабилизирующим раствором из нескольких мест подвздошной кости. Полученную костномозговую взвесь из шприца через толстую иглу переводили в 2 стеклянных флакона, каждый емкостью 200 мл с фабричным гемоконсервантом

Тлюгицир" в объеме 50 мл. Для исключения значительного повреждения клеток миеловзвесь выдавливали медленно, немного наклонив емкость, чтобы экссудат стекал по стенке флакона. Каждый раз после аспирации шприц и иглу для перевода миеловзвеси во флакон промывали рабочим раствором гепарина. В конце процедуры содержимое флаконов осторожно перемешивали покачиванием. Использование данной методики обеспечивало адекватную стабилизацию костномозговой взвеси.

Метод характеризуется высокой непосредственной эффективностью, помимо первичного очага, в отношении регрессии лимфогенных регионарных метастазов.

Способ постоянной катетеризации брюшной полости имплантированным катетером (по Ю.С. Сидоренко) включает в себя устройство и варианты его имплантации в брюшную полость пациента. Процесс имплантации катетера состоял в том, что во время лапаротомии по поводу рака яичников, после окончания основного этапа операции, перед ушиванием передней брюшной стенки, в брюшную полость вводились две ветви П-образного трубчатого катетера, один из концов которого подводился в поддиафрагмальное или подпечечное пространство, второй - в полость малого таза. Расположение внутри брюшинных ветвей в наиболее высокой и наиболее низкой областях брюшной полости было обусловлено необходимостью одномоментного максимально равномерного распределения вводимого при внутрибрюшной химиотерапии цитостатика. Далее производили ушивание брюшины, мышц, апоневроза, подкожной клетчатки, оставляя концы катетера в брюшной полости, а среднюю часть катетера фиксировали непосредственно под кожей при помощи модифицированных швов по Донати.

Метод предотвращает возникновение рецидивов и метастазов по брюшине, а при циторедуктивных оперативных вмешательствах обеспечивает продолженную стабилизацию остаточной опухоли (до 2 лет и более).

Методика аутоликворохимиотерапии. Нами была предложена оригинальная методика аутоликворохимиотерапии как вариант приобретающей все большую актуальность так называемой хирургической химиотерапии.

В своих исследованиях Davson (1967) установил, что в мозге для большинства веществ не существует барьера между ликвором и межклеточной жидкостью. Таким образом, введение антибластных веществ непосредственно в ликвор позволяет совершить фармакологический маневр: минуя гематоэнцефалический барьер, местно создать высокую концентрацию препарата при незначительной общей токсичности. На наш взгляд, снижению последней способствует также разведение цитостатика в собственной биологической среде (аутоликворе) с инкубацией в термостате и биотерапевтическая составляющая аутоликворохимиотерапии. Осуществляется своеобразная индивидуализация химиотерапии.

Наибольшее распространение получило эндолумбальное введение метотрексата как одного из активных метаболитов (Ромоданов А.П., Соснов Ю.Д., 1975). В настоящем разделе представлены результаты лечения интратекальным введением метотрексата 20 больных с опухолями головного мозга. Гистологически опухоли распределялись следующим образом: глиобластома — 4; анапластическая астроцитома — 3; фибриллярная астроцитома — 2; олигодендроглиома — 4; метастазы в головной мозг (меланома, рак легкого, рак молочной железы) — 4; менингосаркома — 2; злокачественная эпендимома IV желудочка — 1.

С первичными опухолями было 16 больных, с рецидивами — 4. Возраст от 18 до 58 лет (средний — 45 лет). Состояние по шкале Карновского от 50 до 70 баллов, по шкале ECOG—ВОЗ — от 1 до 3 баллов. Все больные подписывали форму "Информированное согласие" на участие в протоколе.

Нами предложен способ многократного введения цитостатика с последующими контрольными заборами ликвора для биохимического и иммунологического контроля. Больному осуществляли люмбальную пункцию иглой Туохи, катетеризировали субарахноидальное пространство. Забирали ликвор (10 мл), инкубировали его с химиопрепаратом в терапевтической дозе *in vitro* при $t\ 38^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин и вводили эндолумбально. Режим введения определялся чувствительностью больного к препарату, биохимическими и иммунологическими показателями, динамикой саногенеза.

Метотрексат вводили интратекально через эндолумбальный катетер — в 14 наблюдениях; путем люмбальной пункции — в 3 случаях; вентрикулярно - 3 больным; 10 пациентам цитостатик вводился на аутоликворе, 10 больным - на физиологическом растворе. Первое введение осуществлялось не ранее 10-го дня после операции. Это время необходимо для заживления раны, так как введение в более ранние сроки приводит к несостоятельности швов вследствие угнетения метотрексатом репаративных процессов.

Критерием возможности проведения интратекальной химиотерапии было отсутствие значительной дислокации срединных структур мозга на КТ, МРТ ($< 0,5$ см) и выраженных застойных явлений на глазном дне ($ЗС < 2$ ст.).

Базовой терапией являлось сочетание препаратов магния, гормонов и диуретиков. Контроль ликвора осуществляется каждые 3 дня, что при наличии катетера не являлось обременительным для больного. При прохождении ликвора рядом с катетером (2 больных) осуществлялся разгрузочный сброс спинномозговой жидкости.

Мы пришли к выводу, что при проведении аутоликвор о химиотерапии нецелесообразно применение общих методик расчета дозы препарата, принятых в нейроонкологии. Следует исходить не из учета веса или поверхности тела пациента, а из предполагаемых химиочувствительности и объема новообразования. Такую информацию дает динамика изменения уровней белка и кальция в ликворе до введения тест-дозы и после.

Нами достоверно установлено, что после эндолумбального введения цитостатика повышается уровень белка в ликворе в 2 и более раз (до 30 раз!). Это явление можно расценить как признак цитолиза злокачественных клеток, так как лизис нормальных нейронов сопровождался бы отрицательной клинической динамикой и соответствующими изменениями на КТ головного мозга, что у наших больных отсутствовало. Кроме того, известно, что цитостатики действуют в первую очередь на быстроделющиеся клетки, к которым относятся злокачественные клеточные элементы, в отличие от нормальных нейронов.

Г.Н. Кассиль (1963) установил, что при возбуждении (раздражении) головного мозга содержание кальция в его ткани (и в ликворе) уменьшается.

В наших наблюдениях после интратекального введения цитостатика уровень кальция в ликворе больных снижался, т.е. динамика этого процесса позволяет судить о степени раздражения мозга продуктами распада опухоли и имеет прогностическую перспективу.

Повторное введение цитостатика осуществлялось после стабилизации биохимических показателей ликвора, в частности возврата содержания белка и кальция к начальному уровню. Фоновый уровень белка в спинномозговой жидкости у всех больных превышал норму, уровень кальция находился в пределах нормы. Нами замечено, что чем злокачественнее опухоль, тем чувствительнее она к метотрексату и тем меньше должна быть доза, так как высокий уровень белка в ликворе приводит, как правило, к патологическому эффекту.

У 3 больных с субтотальным удалением опухоли после аутоликворохимиотерапии и И.ХТ имел место выраженный цитолитический эффект, вследствие некроза участков остаточной опухоли. На КТ головного мозга спустя 2 нед после аутоликворохимиотерапии и ИХТ мы наблюдали признаки некроза, кровоизлияния, распада опухолевой ткани и отек нормальной, пограничной с новообразованием, Клинически он проявлялся нарастанием общемозгового синдрома, очаговой симптоматики, явлениями интоксикации, значительной гиперпродукцией ликвора и пролапсом кожного лоскута. Спустя 3—4 нед после лечения больным были выполнены повторные хирургические операции по удалению некротизированных участков опухолевых новообразований. После операций состояние больных стабилизировалось.

Выраженный цитолитический эффект, вероятно) был связан с прямым действием метотрексата в больших дозах ($0,25$ мг/кг) и токсическим действием продуктов цитолиза. Учитывая данное обстоятельство, наша методика предполагает начальное введение всем больным минимальной тест-дозы (5 мг метотрексата) под контролем содержания белка в ликворе и данных : КТ головного мозга. Время между введениями должно быть не менее 3 дней. Общая доза цитостатика достигает в среднем $30-40$ мг.

Субъективная оценка основных симптомов заболевания (головная боль, головокружение, тош-

нота, рвота, слабость) осуществлялась с использованием 4-балльной рейтинговой шкалы со стандартизованными критериями оценки выраженности каждого симптома (0 - нет нарушений; 1 - легкие проявления; 2 — умеренные; 3 — выраженные проявления). Исследование неврологического статуса с оценкой двигательных, вести-

булярно-мозжечковых, экстрапирамидных, чувствительных и речевых нарушений осуществлялась также по 4-балльной шкале от "0" (нет нарушений) до "3" (грубые нарушения). Неспецифические адаптационные реакции организма больного изучали по лейкограммам периферической крови (Гаркави Л.Х, и соавт., 1998).

Клинико-лабораторные показатели у больных злокачественными новообразованиями головного мозга в зависимости от вида интратекальной химиотерапии

Симптомы	Основная группа Химиотерапия на аутоликворе (n=10)	Контрольная группа Химиотерапия на физ.растворе (n=10)
Головные боли, головокружения, тошнота, рвота, общая слабость	- 0,1 балл	+ 0,8 балла
Двигательная, вестибуло-мозжечковые экстрапирамидные, чувствительные и речевые нарушения	- 0,9 балла	+ 1,0 балла
Белок	+ 2,5 г/л	+ 1,6 г/л
Лейкограмма: лейкоциты нейтрофилы лимфоциты	+ 2,5•10 ⁹ /л + 0,3% + 1%	+ 2,4•10 ⁹ /л + 2,0% - 2%
Кальций	0,9 ммоль/л	0,8 ммоль/л

Переносимость эндолумбальной химиотерапии и клиническая динамика лучше у больных, которым цитостатик вводился на аутоликворе (таблица). Двум больным введение метотрексата осуществлялось поочередно разными способами. Обе пациентки отметили, что аутоликворохимиотерапию они переносят гораздо лучше, чем стандартную и интратекальную химиотерапию. По изменениям в лейкограмме можно сказать, что происходит улучшение структуры неспецифических адаптационных реакций организма больных, которым проводилась химиотерапия на аутоликворе. Более значительное повышение уровня белка в ликворе основной группы свидетельствует, по нашему мнению, о большей доле распада злокачественных клеток, что наряду с позитивностью этого процесса чревато развитием цитолитического синдрома с отеком мозга и ухудшением состояния больного. Поэтому дозы цитостатика у таких

больных должны быть уменьшены, а промежутки между введениями — увеличены.

Оценка клинических и лабораторных данных позволяет сделать вывод о выраженном, но относительно кратковременном воздействии метотрексата при эндолумбальном применении. Поэтому в настоящее время по описанной методике апробируются пролонгированные цитостатики (нидран, цисплатин).

Сроки наблюдения после лечения эндолумбальным введением метотрексата не превышают 1 года. У одного больного (злокачественная эпендимом IV желудочка) спустя 2 мес имел место продолженный рост. Один больной (глиобластома) наблюдается 12 мес с полной ремиссией. Остальные больные в сроки от 2 до 4 мес также не имеют признаков продолженного роста.

Таким образом, предварительные данные о применении аутоликворохимиотерапии в нейроонкологии свидетельствуют о его перспективности в комплексном лечении больных с опухолями головного мозга.

Поступила 21.04.04