

УДК 616.381-033.217-085.3

*К.С. Титов¹, М.В. Киселевский¹, Л.В. Демидов¹, В.Ю. Сельчук¹, А.Н. Грицай¹, Э.Х. Кучмезов²***ВНУТРИБРЮШИННАЯ БИОТЕРАПИЯ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 И ДОНОРСКИХ ЛАК-КЛЕТОК
ПРИ МЕТАСТАТИЧЕСКИХ АСЦИТАХ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ**¹РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва²Центральная клиническая больница №2 Управления делами Президента РФ, Москва**Контактная информация***Титов Константин Сергеевич, канд. мед. наук, врач-хирург отделения биотерапии опухолей НИИ клинической онкологии***адрес:** 115478, Москва, Каширское шоссе, 24; **тел.** +7(495)324-90-04;**e-mail:** ks-titov@mail.ru

Статья поступила: 25.11.2010, принята к печати 18.03.2011.

Резюме

Опухолевые асциты часто сопровождают течение рака яичников, являются жизнеугрожающими осложнениями опухолевого процесса, нередко рецидивируя после лекарственного противоопухолевого лечения. Системная и внутрибрюшинная химиотерапия не всегда вызывает длительные ремиссии, а также сопровождается выраженными побочными эффектами. Внутрибрюшинная иммунотерапия опухолевых (метастатических) асцитов интерлейкином-2 в комбинации с аллогенными (донорскими) лимфокин-активированными киллерами и ИЛ-2 в монорежиме характеризуется высокой эффективностью и хорошей переносимостью у больных раком яичников. Объективный эффект данного лечения составил 82,6 и 70,6% соответственно. Предложенный вид биотерапии может рассматриваться как один из этапов комбинированного лечения данной категории больных, имеет хорошую переносимость, улучшает продолжительность и качество их жизни.

Ключевые слова: рак яичников, опухолевые асциты, интерлейкин-2, ЛАК-клетки, внутрибрюшинная биотерапия.

*K.S. Titov¹, M.V. Kiselevsky¹, L.V. Demidov¹, V.Yu. Sel'chuk¹, A.N. Gritzay¹, E.H. Kuchmezov²***INTRAPERITONEAL INTERLEUKIN-2
AND ALLOGEN LYMPHOKINE ACTIVATED KILLERS BIOTHERAPY
OF MALIGNANT PERITONEAL EFFUSIONS IN OVARIAN CANCER PATIENTS**¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of RAMS, Moscow²Central clinical hospital №2 Prezident Russian, Moscow**Abstract**

Malignant peritoneal effusions often arise in patients with ovarian cancer which is considered to be a dangerous complication of cancer. Intraperitoneal chemotherapy is ineffective in generally and causes side effects. Here we show that intraperitoneal IL-2/lymphokine activated killers and IL-2 biotherapy demonstrated the high efficacy in threatment of ovarian cancer patients with malignant peritoneal effusions. The objective effect was 82,6 % and 70,6 % accordingly. These results indicates that intraperitoneal biotherapy might be one of the stages of combined treatment of such group of patients The suggested type of biotherapy increases the survival and life quality of patients.

Key words: ovarian cancer, malignant peritoneal effusions, interleukin-2, LAK-cells, intraperitoneal biotherapy.

Введение

Опухолевый асцит (ОА) более чем у 50 % онкологических больных проявляется как первый симптом злокачественной опухоли внутрибрюшной локализации. Наиболее часто ОА осложняется течение рака яичников. Развитие метастазов по брюшине и в большом сальнике обычно сопровождается появлением асцитической жидкости, которая, в свою очередь, способствует дальнейшему прогрессированию имплантационного метастазирования [10].

При напряженном ОА происходит компрессия внутренних органов брюшной и грудной полостей, а при частых лапароцентезах без эффективного противоопухолевого лечения быстро наступает обезвоживание, нарушение белково-электролитного равновесия, декомпенсация и смерть больной.

Патофизиология опухолевого асцита многофакторна. Повышение продукции жидкости брюшиной вызвано, прежде всего, увеличением капиллярной проницаемости вследствие микроваскуляризации опухоли

и нарушения лимфатического перитониального дренажа – главного фактора в формировании ОА [7; 8]. Кроме того, показано, что при опухолевом поражении брюшины приток плазмы в брюшную полость увеличивается в 6–16 раз [11].

Одним из наиболее распространенных вариантов медицинской помощи при ОА у больных раком яичников является лапароцентез. Эвакуация асцитической жидкости из брюшной полости приводит к снижению выраженности клинических симптомов: улучшает общее состояние больного, исчезают или резко уменьшаются боли в животе и одышка. В большинстве случаев после удаления асцита возникает быстрое повторное накопление жидкости, требующее частых лапароцентезов. У пациенток с ОА, которым на одном из этапов лечения выполнялась операция, развиваются спайки, препятствующие полному удалению жидкости. При повторных лапароцентезах часто возникают осложнения, связанные с повреждением сосудов и внутренних органов, нередко инфекционные процессы.

По данным различных авторов около 50–70 % больных раком яичников к началу первичного лечения имеют выпоты в серозных полостях – асцит, плеврит. При диагностической лапароскопии наличие асцита различной степени выраженности выявлено у 81 % больных раком яичников [1–2]. Пятилетняя выживаемость пациенток с асцитными формами РЯ составляет около 5 %, а у пациенток без асцита – 45 %.

В лечении диссеминированного РЯ основная роль отводится комбинированному методу лечения (циторедуктивные операции + химиотерапия). Наиболее активными препаратами для лечения РЯ были и остаются таксаны и препараты платины. Химиотерапия 1 линии (комбинация таксанов с производными платины) позволяет в ряде случаев успешно справиться с канцероматозом брюшины и опухолевым асцитом при диссеминированном РЯ (объективный ответ до 67 %). В последующем при внутрибрюшных рецидивах, которые возникают в 75–80 % случаев в течение 6 и более месяцев, показана 2 линия химиотерапии (топотекан, доксорубин, гемцитабин, ифосфамид), имеющая часто только паллиативный характер, поскольку ее эффективность колеблется от 12 до 40 % при средней продолжительности жизни 9–12 мес [3; 4; 6].

Одним из наиболее эффективных методов лечения распространенного РЯ, в том числе сопровождающегося накоплением асцита, является внутрибрюшинная химиотерапия (ВбХТ). Часть цитостатика из брюшной полости поступает в системный кровоток, поэтому его безопасные дозировки при внутрибрюшинном введении, как правило идентичны таковым при системной химиотерапии. Выделяют три фактора ограничивающих применение ВбХТ:

1. Ограниченное проникновение цитостатика в ткани (приблизительно 1 мм).
2. Неравномерное распределение препарата по брюшине.
3. Технические трудности долгосрочного брюшинного доступа и осложнения [5].

В любом из этих случаев ВбХТ назначается пациенткам с ОА, у которых максимальный размер опухолевых узлов не превышает 0,5–1,0 см или пациенткам без остаточной опухоли после циторедуктивной операции [13].

Таким образом, системная и внутрибрюшинная химиотерапия при диссеминированном раке яичников, осложненном метастатическим асцитом, не всегда оказывают положительный эффект, достаточно токсичны и нередко вызывают осложнения у больных.

При неэффективности системной химиотерапии у больных с диссеминированным РЯ с ОА используют также и внутрибрюшинные введения различных иммуномодуляторов. Установлено, что наибольшей эффективностью обладают цитокины ИЛ-2 и интерферона- γ [14]. В частности, проведенные клинические исследования E. Pujade-Lauraine et al. в 1996 г. показали, что внутрибрюшинное введение ИНФ- γ приводило к полному ответу у 23 % больных с химиорезистентными формами РЯ, осложненных ОА [15].

R.S. Feedman. et al. в 2000 г. опубликовали данные о том, что внутрибрюшинное введение ИЛ-2 в комбинации с ИНФ- γ и активированными *ex vivo* лимфоцитами выделенными из ОА приводило не только к регрессии экссудата у больных РЯ, но также в ряде случаев отмечалось значительное снижение маркера СА-125 и стабилизация заболевания до 18 мес [9].

Полное исчезновение асцита было отмечено в 56–60 % случаев при внутрибрюшинном использовании рекомбинантного ИЛ-2 и ЛАК-клеток у больных прогрессирующим химиорезистентным раком яичников [1].

Z. Nau et al. сообщили об использовании ТП, которые были выделены из первичной опухоли или метастатических узлов для лечения 25 больных раком яичников в сочетании с химиотерапией. В результате рандомизированного исследования наблюдалась более высокая скорость нарастания эффекта (резкое снижение уровня СА-125 и регрессия опухоли по данным УЗИ). У пациенток, получавших кроме стандартного лечения еще ЛАК-терапию, в трех случаях уже после первого курса химиотерапии в комбинации с ЛАК отмечена 75% регрессия опухоли и исчезновение асцита. Время сохранения эффекта в данной группе было достоверно больше (разница 18 мес.) Клинический эффект связывался с активацией эффекторов клеточного иммунитета, которые вызывали лизис опухолевых клеток в асците. При действии иммуномодуляторов было отмечено уменьшение объемов опухоли у 20 % пациентов. Побочные эффекты были умеренными и включали лихорадку, озноб, не выраженную тошноту и спастические боли в брюшной полости [16].

В наиболее крупных исследованиях суммарная эффективность другого вида внутриполостной биотерапии – внутривезикулярной ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии при метастатических плевритах у больных с различными злокачественными опухолями, включая рак яичников составила 94,5 % [5; 12; 14].

Данные об эффективности и хорошей переносимости внутрибрюшинной биотерапии свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения этого перспективного и безопасного метода лечения ОА у больных раком яичников.

Цель исследования – оценка клинической эффективности, переносимости и преимуществ для практического применения внутрибрюшинной биотерапии опухолевых асцитов у больных раком яичников с использованием ИЛ-2 («Ронколейкин», ООО «Биотех», Санкт-Петербург) в монорежиме и в комбинации с аллогенными ЛАК-клетками.

Материалы и методы

В исследование включены 40 пациенток, страдавших раком яичников, осложненным метастатическими асцитами, в возрасте 37–72 лет. К началу внутрибрюшинной ИЛ-2-иммунотерапии или ИЛ-2 в комбинации с аллогенными ЛАК помимо асцита у пациенток, как правило, также имелись и другие метастатические проявления опухолевого процесса. Состояние всех больных было расценено как средней тяжести. До начала внутрибрюшинной иммунотерапии все пациентки получали комбинированное лечение, как правило, хирургическое в комбинации с ПХТ, преимущественно – с применением таксанов и препаратов платины.

Для проведения внутрибрюшинной биотерапии брюшная полость, чаще – под контролем УЗИ, дренировалась под местной анестезией на срок от 14 до 21 дней. Для дренирования брюшной полости использовали набор «Плеврокан» («B. Braun», USA). Брюшная полость через день максимально осушалась перед введением биопрепарата.

На цитологическое исследование экссудат отправляли до проведения иммунотерапии, в середине курса и по его окончании.

Для получения аллогенных ЛАК-клеток периферическая кровь здоровых доноров, полученная путем сепарации в отделении переливания крови, путем центрифугирования (1000 об/мин, 20 мин) разделялась на клеточную и плазменную части. Из клеточной фракции выделялись моноклеарные лейкоциты. МЛ активировали в культуральной среде RPMI-1640 («ПанЭко», Россия) с добавлением ИЛ-2 («Биотех», Россия) в концентрации 1000 МЕ/мл. Генерация из МЛ ЛАК проводилась в CO₂ инкубаторе при температуре 37 °С в течение 48 ч. Затем полученные ЛАК отмывались от среды, разводились в 50 мл физиологического раствора и вводились внутривнутрибрюшинно.

Оценка эффекта от лечения проводилась клинически, цитологическим методом и по уровню маркера плазмы крови СА-125 с помощью ультразвукового исследования и (или) спиральной компьютерной томографии брюшной полости.

Результаты и обсуждение

В зависимости от вида проводимой внутривнутрибрюшинной биотерапии все пациенты с опухолевыми асцитами РЯ были разделены на 2 группы:

1 группа – 23 пациентки по поводу асцита получивших внутривнутрибрюшинную ИЛ-2/аллоген. ЛАК-иммунотерапию.

2 группа – 17 пациенток по поводу асцита получивших внутривнутрибрюшинную ИЛ-2-иммунотерапию.

Все больные получили по одному курсу внутривнутрибрюшинной иммунотерапии. Каждый курс состоял из 10–15 внутривнутрибрюшинных введений аллогенных ЛАК по 100–150×10⁶ клеток и (или) ИЛ-2 (Ронколейкин) в дозе 1–2×10⁶ МЕ. Лечение проводилось ежедневно, кроме выходных дней. Курс лечения продолжался 2–3 нед.

Накопление экссудата в первые двое суток до начала иммунотерапии составляло 500–2000 мл/сутки. Во всех случаях у больных удалялся серозный или серозно-геморрагический экссудат. У всех больных до начала биотерапии опухолевый асцит был цитологически верифицирован. Как правило, эффективность лечения определяли через 3–4 нед после окончания иммунотерапии, при стойкой экссудации лечение продолжали до 1 мес.

Всего в 1 группу были включены 23 пациентки с прогрессирующим раком яичников, осложненного опухолевым асцитом и получившие адоптивную внутривнутрибрюшинную ИЛ-2/аллогенную ЛАК-терапию. По поводу основного заболевания пациентки получали лечение на протяжении 1,5–3,5 лет.

Из 23 наблюдаемых больных предшествующее внутривнутрибрюшинное введение цитостатиков (тиоф или циклофосфан) имело место у 3 (неэффективно). Следует отметить, что выраженный эффект на фоне внутривнутрибрюшинной иммунотерапии наступал только в тех случаях, когда в выпоте отмечалось значительное количество активированных лимфоидных клеток по типу иммунобластов и митозов.

Из пациенток 1 группы полный эффект был достигнут у 11 женщин (47,8 %); частичный эффект с остаточным экссудатом не вызывающим жалоб у больных – у 8 пациенток (34,8 %) и у 4 пациенток (17,4 %) эффекта от данного лечения не было.

Повторное накопление асцита возникло у 3 больных в сроки от 2 до 4 мес. после лечения. Общая эффективность внутривнутрибрюшинной ИЛ-2/аллогенной ЛАК-иммунотерапии составила 82,6 % (табл.). Медиана общей выживаемости составила 10 мес.

Во 2 группе 17 больных с химиорезистентными формами рака яичников, течение заболевания у которых осложнилось асцитом, получали внутривнутрибрюшинную ИЛ-2-иммунотерапию препаратом Ронколейкин.

По поводу основного заболевания пациентки получали лечение на протяжении 1–4 лет.

Ни у одной пациентки из этой группы предшествующего внутривнутрибрюшинного введения цитостатиков не было.

Полный эффект был достигнут у 4 женщин (23,5 %); частичный эффект с остаточным экссудатом, не вызывающим жалоб у больных – у 8 пациенток (47,1 %) и у 5 пациенток (29,4 %) эффекта от данного лечения не было.

Повторное накопление асцита возникло у 4 больных в сроки от 2 до 4 мес. Общая эффективность внутривнутрибрюшинной ИЛ-2-иммунотерапии составила 70,6 % (табл.). Медиана общей выживаемости составила 9 мес.

Суммарный эффект обоих методов внутривнутрибрюшинной биотерапии составил 77,5 %.

Таблица

Клиническая эффективность внутривнутрибрюшинной ИЛ-2/аллогенной ЛАК и ИЛ-2-иммунотерапии у больных раком яичников с опухолевым асцитом

Эффективность	ИЛ-2/аллоген.ЛАК (n=23)	ИЛ-2 (n=17)	Всего (n=40)
Полная регрессия	11 (47,8 %)	4 (23,5 %)	15 (37,5 %)
Частичная регрессия	8 (34,8 %)	8 (47,1 %)	16 (40,0 %)
Общий ответ	19 (82,6 %)	12 (70,6 %)	31 (77,5 %)
Без эффекта	4 (17,4 %)	5 (29,4 %)	9 (22,5 %)

Следует отметить, что после проведения курса адоптивной внутривнутрибрюшинной иммунотерапии у 20 (50 %) больных раком яичников из обеих групп наблюдалось снижение в крови уровня СА-125. Исследование показало эффективность предложенного метода внутривнутрибрюшинной биотерапии при опухолевых асцитах у больных, страдающих диссеминированным раком яичников. Клинические данные получили лабораторное подтверждение: в процессе иммунотерапии из экссудата не определялись опухолевые клетки, проходя стадию дегенерации (вакуолизация цитоплазмы и ядер) на фоне увеличения в асцитической жидкости активированных лимфоцитов по типу иммунобластов.

Цитотоксическая активность аллогенных ЛАК против аутологических опухолевых клеток возрастала в среднем с 35 до 56 %. Принципиальным положительным моментом является возможность проведения 2 или 3 линий ХТ после эффективной внутривнутрибрюшинной биотерапии в виде регрессии канцероматоза брюшины и асцита.

Практически у всех пациенток внутривнутрибрюшинная биотерапия сопровождалась повышением температуры тела (максимальный подъем до 38,5–39,0 °С) и ознобом (в основном – при ИЛ-2/аллоген ЛАК-иммунотерапии). Как правило, реакция гипертермии у больных появлялась уже после первого введения иммуномодуляторов.

Повышение температуры наступало, обычно, через 3–4 ч после введения и наблюдалось в течение нескольких часов. Реакция купировалась приемом внутрь 0,5 г парацетамола.

Выводы

Внутрибрюшинная биотерапия опухолевых асцитов у больных раком яичников характеризуется высокой эффективностью: объективный эффект при ИЛ-2/аллоген.ЛАК-иммунотерапии достигнут у 82,6 % и при ИЛ-2-иммунотерапии у 70,6 % больных с удовлетворительной переносимостью и отсутствием гематологической токсичности. При цитологическом исследовании экссудата в конце лечения у большинства больных опухолевые клетки отсутствовали, что и подтверждалось клиническим эффектом.

Литература

1. Киселевский М.В., Блюменберг А.Г. Адоптивная иммунотерапия рака яичников. – Сборник статей, приуроченный к Европейской школе по онкологии. – 2001. – С. 164–76.
2. Вакурова Е.С. Лапароскопия в комплексной диагностике и оценке эффективности лечения рака яичников. – Дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2005. – 156 с.
3. Гарин А.М., Базин И.С. Десять наиболее распространенных злокачественных опухолей: Монография. – М.: МАКС Пресс, 2010. – 2-е изд. – 384 с.
4. Давыдов М.И., Летьгин В.П., Кузнецов В.В. Рак яичников. В кн.: Опухоли женской репродуктивной системы. – М.: Радуга, 2007. – С. 273–82.
5. Давыдов М.И., Оразгельдыев К.Р., Волков С.М., Киселевский М.В. Адоптивная иммунотерапия опухолевых плевритов / Новое в онкологии: Сб. научных трудов. – М., 2001. – Выпуск 5. – С. 72–88.
6. Тюляндин С.А. Рак яичников: химиотерапия второй линии // Практическая онкология. – 2000. – № 4. – С. 32–7.
7. Beecham J.B., Kucera P., Helmkamp B.F., Bonfiglio T.A. Peritoneal angiogenesis in patients with ascites // Gynecol Oncol. – 1983. – 15. – P. 142.
8. Fastaia J., Dumont A.E. Pathogenesis of ascites in mice with peritoneal carcinomatosis // J. Natl. Cancer Inst. – 1976. – 56(3). – P. 547–50.
9. Feedman R.S., Kudelka A.P., Kavanagh J.J. Clinical and Biological Effects of Intraperitoneal Injections of Recombinant Interferon- γ and Recombinant Interleukin-2 with or without Tumor-infiltrating Lymphocytes in Patients with Ovarian or Peritoneal Carcinoma // Clin. Cancer Res. – 2000. – 6. – P. 225–6.
10. Garrison R.N., Vaclín L.D., Galloway R.H., Heuser L.S. Malignant ascites. Clinical and experimental observations // Ann Surg. – 1986. – 203. – P. 644–65.
11. Hirabayashi K., Graham J. Genesis of ascites in ovarian cancer // Am J. Obstet Gynecol. – 1970. – 106 (4). – P. 492–7.
12. Liu X., Li D., Zhang C. et al. Treatment of 121 patients with malignant effusion due to advanced lung cancer by intrapleural transfer of autologous or allogenic LAK cells combined with rIL-2 // Med Sci J. – 1993. – 8. – P. 186–9.
13. Markman M. Intraperitoneal chemotherapy of ovarian cancer // Semin. Oncol. – 1998. – 25. – P. 356–60.
14. Nagamine I., Yamaguchi Y., Ohara M. et al. Induction of gamma delta T-cells using zoledronate plus interleukin-2 in patients with metastatic cancer/ Hiroshima J. Med. Sci. – 2009. – 58. – P. 37–44.
15. Pujade-Lauraine E., Guastella J.P., Colombo N. et al. Intraperitoneal recombinant interferon- γ in ovarian cancer patients with residual disease at second-look laparotomy // J. Clin. Oncol. – 1996. – 14. – P. 343–50.
16. Hua Z., Lit J. Clinical study on immunotherapy of ovarian cancer with tumor infiltrating lymphocytes // Chung Hua Fu. – 1996. – 13. – P. 555–7.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В «РОССИЙСКОМ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ЖУРНАЛЕ» (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Все формулы должны быть тщательно выверены автором, набраны или встроены в формат текстового редактора. В формулах необходимо различать строчные и прописные, латинские и греческие, подстрочные и надстрочные буквы. Используемые автором сокращения должны быть разъяснены под формулой.

Список литературы должен быть кратким и содержать не более 20 ссылок для статей, посвященных экспериментальным и клиническим исследованиям, и не более 100 ссылок для обзорных статей. Номера ссылок указывается в квадратных скобках через точку с запятой.

(продолжение см. на стр. 59)