

ВНУТРИПЛЕВРАЛЬНАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ МЕТАСТАТИЧЕСКИХ ПЛЕВРИТОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

К.С. Титов, Л.В. Демидов, М.В. Киселевский, И.Н. Михайлова,
И.Ж. Шубина, А.Н. Грицай, И.Е. Синельников, Л.М. Родионова
ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

INTRAPLEURAL IMMUNOTHERAPY FOR METASTATIC PLEURISIES IN PATIENTS WITH BREAST CANCER
K.S. Titov, L.V. Demidov, M.V. Kiselevsky, I.N. Mikhailova, I.Zh. Shubina, A.N. Gritsai, I.E. Sinelnikov, L.M. Rodionova
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Intrapleural immunotherapy for metastatic pleurisy demonstrates a high efficiency in the treatment of patients with breast cancer (BC). This immunotherapy modality is regarded as one of the stages of complex treatment in patients with disseminated BC and allows its capabilities to be extended for their further management.

Key words: breast cancer, metastatic pleurisy, intrapleural immunotherapy

Метастатический экссудативный плеврит наиболее часто (до 48% случаев) возникает у больных раком молочной железы (РМЖ), занимает 2-е место по встречаемости после рака легкого и является грозным и жизнеугрожающим осложнением опухолевого процесса, ограничивая возможности системного лекарственного лечения. Качество жизни у данных больных резко снижается из-за наличия симптомов легочно-сердечной недостаточности, а при выполнении частых плевральных пункций без эффективного лечения — обезвоживания, что достаточно быстро приводит к декомпенсации организма и быстрой гибели больных, в течение нескольких месяцев [1—5].

Лечение таких больных заключается прежде всего в эвакуации жидкости, внутриплевральном введении лекарственных препаратов с целью прекращения накопления жидкости в плевральной полости и рассасывания экссудата. Это приводит к улучшению состояния больного посредством уменьшения одышки и болей в грудной клетке, легочно-сердечной недостаточности и тем самым — к увеличению продолжительности и повышению качества жизни [3, 6, 7].

При РМЖ проведение системной химиотерапии (ХТ) может привести к ликвидации плеврального выпота у 30—60% пациентов. В тех случаях, когда системная ХТ не показана или она была неэффективной, необходимо внутриплевральное введение противоопухолевых лекарственных препаратов. Показанием для плевральных пункций и внутриплеврального введения лекарств служит наличие выпота в плевральной полости выше уровня II—III ребра спереди, выраженной одышки с явлениями легочной или легочно-сердечной недостаточности при ожидаемой продолжительности жизни более 2 нед. При наличии выпота без клинической симпто-

матики нет смысла производить плевральные пункции и вводить те или иные лекарственные препараты. Для внутриплевральных введений при РМЖ наиболее часто используют цисплатин и доксорубицин. На сегодняшний день имеется мало научных подтверждений противоопухолевого воздействия данных цитостатиков при их внутриплевральном введении на метастазы по плевре. Вероятно, вызывая химический ожог плевры, они приводят к склеиванию и деформации ее листков. Эффективность внутриплеврального введения отдельных цитостатиков у больных РМЖ, ранее не получавших ХТ, составляет 60—80%. Более низкая эффективность отмечается у больных, прогрессирующих на фоне 1-й или 2-й линий системной ХТ, вследствие развития у них химиорезистентности. Побочные эффекты данного вида терапии проявляются в виде алопеции, тошноты и рвоты, а также гематологической токсичности [3, 4, 6, 7].

Внутриплевральная склеротерапия с использованием талька и тетрациклина (эффективность 55—80%) в настоящее время применяется крайне редко из-за ее неспецифичности, плохой переносимости (боль, гипертермия) и в случае развития рецидива плеврита — невозможности проведения альтернативного внутриплеврального лечения по причине риска развития отдаленных осложнений в виде образования фиброторакса [4, 6, 8, 9].

Новые возможности лечения опухолевых плевритов при РМЖ появляются благодаря развитию методов внутриплевральной иммунотерапии (ИТ) с использованием рекомбинантного интерлейкина-2 (ИЛ-2) и лимфокин-активированных клеток (ЛАК).

В наиболее крупном исследовании суммарная эффективность внутриплевральной ИЛ-2/ЛАК-ИТ составила 94,5% [1, 2, 10, 11].



Целью данного исследования является оценка клинической эффективности, переносимости и преимуществ для практического применения внутриплевральной ИТ с использованием аутологичных ЛАК-клеток в сочетании с рекомбинантным ИЛ-2 (Ронколейкин) и Ронколейкина в монорежиме.

Материалы и методы

В исследование включены 28 больных диссеминированным РМЖ в возрасте от 45 до 70 лет. Состояние всех больных расценено как средней тяжести. До начала внутриплевральной терапии все пациентки получали комбинированное лечение, как правило, хирургическое в комбинации с ХТ, гормоно- или радиотерапией.

На момент начала внутриплевральной ИТ у 13 (46,7%) больных метастатический плеврит был единственным проявлением диссеминации опухолевого процесса. Перед данным лечением из плевральной полости удалялось от 1000 до 3500 мл серозного или серозно-геморрагического экссудата. Во всех случаях до проведения ИТ выполнялось цитологическое исследование плеврального выпота. В исследование были включены 26 пациенток с односторонним плевритом и 2 — с двусторонним. При этом, учитывая малое количество жидкости во второй полости у 2 пациенток, дренирование плевральной полости проводили по показаниям только с одной стороны. У больных экссудат из плевральной полости удаляли через сутки. В большинстве случаев отмечалась умеренная степень накопления плеврального выпота в первые сутки от начала лечения (400—600 мл/сут).

За последние 10 лет в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН больные РМЖ с экссудативным метастатическим плевритом получили разные виды ИТ и в зависимости от этого были разделены на 2 группы:

- 1-я группа — 13 больных, которым была применена внутриплевральная ИТ с использованием аутологичных ЛАК-клеток и рекомбинантного ИЛ-2;
- 2-я группа — 15 больных, которым осуществлялась внутриплевральная монотерапия рекомбинантным ИЛ-2.

Для проведения ИТ плевральная полость дренировалась под местной анестезией на срок в среднем 14 дней. Дренирование плевральной полости выполняли по заднеподмышечной или лопаточной линии. На основании рентгенологических и ультразвуковых исследований проводились пункции в оптимальных точках скопления плеврального выпота. Для дренирования плевральной полости использовали набор «Плеврокан» (США). Плевральная полость через день максимально осушалась перед введением препарата. На цитологическое исследование экссудат отправляли до на-

значения ИТ, в середине курса и по его окончании. В 1-й группе ЛАК-клетки и Ронколейкин вводились в пораженную плевральную полость в дозе 110—150 млн и 1 млн МЕ (1 мг) в 1—5-й и 8—12-й дни (в сумме 1 млрд 100 млн — 1 млрд 500 млн и 10 млн МЕ — 10 мг соответственно) и во 2-й группе в те же дни по 1 млн МЕ (1 мг) №10. Контрольное рентгенологическое исследование для оценки эффективности лечения — рентгенография и/или компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки — проводили через 4—5 нед после окончания курса и в динамике через каждые 3—4 мес.

Для возможности осуществления ИТ и повышения ее эффективности 4 пациенткам была выполнена торакоскопия с лечебной целью (разделение плевральных сращений и создание единой плевральной полости).

У больных 1-й группы плевральный экссудат собирался в стерильные емкости и путем центрифугирования (1000 об/мин, 20 мин) разделялся на клеточную и плазменную части. Из клеточной фракции выделялись моноклеарные (МНК) и опухолевые клетки в двухступенчатом градиенте плотности Ficoll-Hystopaque («Sigma», США). Опухолевые клетки скапливались в виде белого кольца в области меньшей плотности, в то время как МНК сосредотачивались на границе среды и градиента плотности. Опухолевые клетки и МНК собирали в разные пробирки и дважды отмывали средой 199 посредством центрифугирования при 200 об/мин в течение 10 мин. Из МНК генерировали ЛАК-клетки, опухолевые клетки использовали для оценки цитотоксической активности МНК- и ЛАК-экссудата. Для выявления цитотоксической активности МНК и ЛАК применяли тест восстановления 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ-тест) в отношении аутологичных опухолевых клеток и НК-чувствительной линии опухолевых клеток эритробластного лейкоза человека К-562. Экспрессию поверхностных антигенов МНК и ЛАК оценивали на проточном цитофлуориметре FacsCalibur («Becton Dickinson», США) с использованием моноклональных антител («Caltag Laboratories», США) против соответствующих антигенов. Морфологическое исследование экссудативной жидкости проводили при окрашивании цитологических препаратов эозин-азуром по Романовскому — Гимзе.

Концентрация МНК составляла 2 млн/мл. В питательную среду добавляли ИЛ-2 (Ронколейкин) в дозе 1000 МЕ/мл. МНК инкубировали в CO₂-инкубаторе при 37°C и 5% CO₂ в течение 48 ч. Затем полученные ЛАК-клетки отмывались от среды, разводились в 20 мл физиологического раствора и вводились внутриплеврально по вышеуказанной схеме.

Во 2-й группе больных применялась внутриплевральная монотерапия ИЛ-2 с использованием Ронколейкина — по 1 млн МЕ (1 мг), разведенного в 20 мл физиологического раствора и вводимого ежедневно по вышеуказанной схеме в плевральную полость.

В плане коррекции белковых и водно-электролитных расстройств, как правило, возникающих у больных с экссудативным метастатическим плевритом, на фоне внутриплевральной ИТ больным назначались диета с богатым содержанием белка и обильное питье до 1,5 л лечебно-столовой минеральной воды в сутки, а также прием аспаркама по 2 таблетки 2 раза в день. С целью профилактики посткомпрессионной пневмонии после максимального осушения плевральной полости и расправления длительно сдавленного легкого больным назначался антибактериальный препарат Авелокс по 400 мг/сут в течение 5 дней.

Результаты собственных исследований

Клиническая эффективность внутриплевральной ИЛ-2/ЛАК- и ИЛ-2-ИТ

Эффективность лечения оценивалась после 4—5 нед ИТ при выполнении рентгенографии и (или) КТ органов грудной клетки.

В 1-й группе у 8 пациенток достигнуто полное прекращение экссудации; существенное уменьшение экссудата с образованием мелких внутриплевральных «карманов» зафиксировано у 3 пациенток, стабилизация (торможение накопления экссудата) — у 3 больных и у 1 пациентки эффекта от данного лечения не получено. Повторное накопление плеврита возникло у 2 больных в сроки от 6 до 10 мес после лечения.

Общая эффективность внутриплевральной ИЛ-2/ЛАК-ИТ составила 92,3 %.

Таблица 1. Эффективность внутриплевральной ИТ метастатических плевритов у больных РМЖ

Эффективность	Внутриплевральная ИТ	
	ИЛ-2/ЛАК (1998—2001 гг.), n=13	ИЛ-2 (2007—2008 гг.), n=15
Полный ответ	8 (61,5)	6 (40)
Частичный ответ (образование мелких полостей при отсутствии опухолевых клеток в экссудате)	3 (23)	4 (26,6)
Стабилизация	1 (7,7)	3 (20)
Без эффекта	1 (7,7)	2 (13,4)
Общая, %	93,3	86,6
Рецидив плеврита после лечения	2	2
Умерли от прогрессирования опухоли	—	2
Живы в настоящее время	—	13

Примечание. Представлено число больных (в скобках — процент).

Отдаленная выживаемость данных больных не была прослежена.

Во 2-й группе полный эффект достигнут у 6 пациенток, частичный эффект с остаточным экссудатом, не вызывающим жалоб, — у 4 больных, стабилизация — у 3, у 2 пациенток эффекта от данного лечения не было. Повторное накопление плеврита отмечено у 2 больных в сроки от 2 до 18 мес после лечения.

Общая эффективность внутриплевральной ИЛ-2-ИТ составила 93,3 %.

К настоящему времени умерли от прогрессирования опухолевого процесса 2 больные, живы — 13 (табл. 1). Медиана общей выживаемости не достигнута.

Цитологические исследования экссудата

Цитологическое исследование плеврального экссудата проводилось у всех больных до начала внутриплевральной ИТ, а также в середине и в конце лечения. Установлено, что в плевральном выпоте до начала ИТ выявлялось, как правило, значительное число опухолевых клеток. У более половины больных (n=17) к середине лечения опухолевые клетки отсутствовали, так как были лизированы в результате противоопухолевого эффекта ЛАК, а у остальных (n=11) они находились либо в стадии дегенерации, окруженные активированными лимфоцитами, либо уже были полностью разрушены. В конце курса у подавляющего числа больных (n=19) в экссудате опухолевые клетки не определялись и только у 3 пациенток, не ответивших на данное лечение, они оставались в нем.

Интересно также, что во всех случаях (n=28) лимфоциты при первичном исследовании экссудата присутствовали в среднем от 0—1 до 5—8 клеток в поле зрения и скорость ответа на ИТ зависела именно от их исходного числа.

В конце внутриплевральной ИЛ-2-ИТ нередко в экссудате встречались активированные лимфоциты, инкубированные в плевральной полости самим ИЛ-2 (аутологичные ЛАК-клетки), с помощью которых и осуществлялся опухолевый лизис.

Признаков аутоагрессии при этих 2 видах лечения не отмечено, и в плевральном экссудате лимфоциты разрушали только опухолевые клетки, не повреждая при этом здоровые.

На основании вышеперечисленного данные виды ИТ можно отнести к разряду специфического лечения.

Таблица 2. Иммунофенотип МНК и ЛАК

Эффектор (48 ч)	Экспрессия поверхностных антигенов, %								HLA-DR
	CD3	CD4	CD8	CD25	CD16	CD40	CD57	CD58	
МНК	48—52	25—29	18—22	0—3	10—17	15—18	12—15	10—12	7—10
ЛАК	64—68	28—32	28—35	5—30	42—57	38—40	22—27	78—88	58—62

Иммунофенотипическая характеристика аутологичных ЛАК-клеток, применяемых при внутриплевральной ИТ

Иммунофенотип ЛАК, генерированных из МНК плеврального экссудата при инкубации их *in vitro* в присутствии ИЛ-2, характеризуется повышенной экспрессией активационных антигенов CD25, CD40, CD57, HLA-DR и антигена натуральных киллеров CD16 по сравнению с неактивированными МНК (табл. 2).

Цитотоксический тест

При оценке цитотоксической активности было обнаружено, что ЛАК лизируют до 40% аутологичных опухолевых клеток и до 90% опухолевых клеток линии К-562 при концентрации клеток эффектор—мишень 5:1, в то время как цитотоксичность МНК составляла 10 и 53% соответственно.

Иммунофенотипическая оценка лимфоцитов, выделенных из плеврального экссудата при внутриплевральной ИТ Ронколейкином

При оценке экспрессии поверхностных антигенов лимфоцитов, выделенных из экссудативной жидкости до начала лечения и в конце курса ИТ Ронколейкином, выявлено повышение экспрессии активационных маркеров CD25, CD4 (рис. 1).

До начала лечения Ронколейкином в плевральном экссудате наблюдали значительное число опухолевых клеток. В остаточной внутриплевральной жидкости в конце курса внутриплевральной ИТ Ронколейкином опухолевые клетки отсутствуют, выявлены лимфоидные клетки при скудном клеточном составе (рис. 2).

До начала лечения у всех больных при рентгенологическом исследовании и (или) КТ органов грудной клетки зарегистрирован различный уровень накопления плеврального выпота. Контрольное исследование проводили через 4-5 нед после

окончания курса и в динамике через каждые 3-4 мес (рис. 3).

Оценка побочных эффектов внутриплевральной ИТ

При сравнении побочных эффектов, наблюдаемых при ХТ и ИТ больных с опухолевыми плевритами, последняя в отличие от ХТ вызывает главным образом гипертермию. У пациентов, получавших ИТ, не отмечалось явлений тошноты или рвоты, а также иных диспептических расстройств. Изменений показателей периферической крови, функции почек и печени при данном виде лечения не выявлено. Аллергические реакции и какие-либо иные виды непереносимости ИТ, требующие отмены лечения или снижения дозы ИЛ-2, не зарегистрированы.

Практически у всех пациентов проведение внутриплевральной ИТ сопровождалось повышением

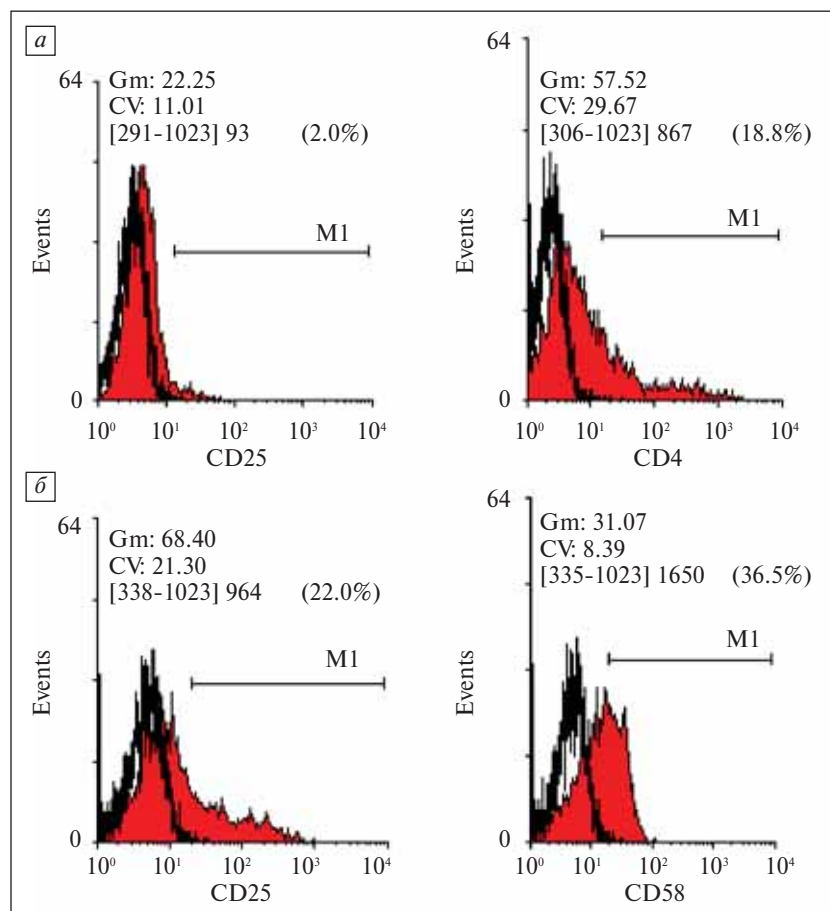


Рис. 1. Экспрессия поверхностных антигенов лимфоцитов плеврального экссудата — маркеров CD25 и CD4: а — до начала курса внутриплевральной ИТ Ронколейкином; б — после его окончания

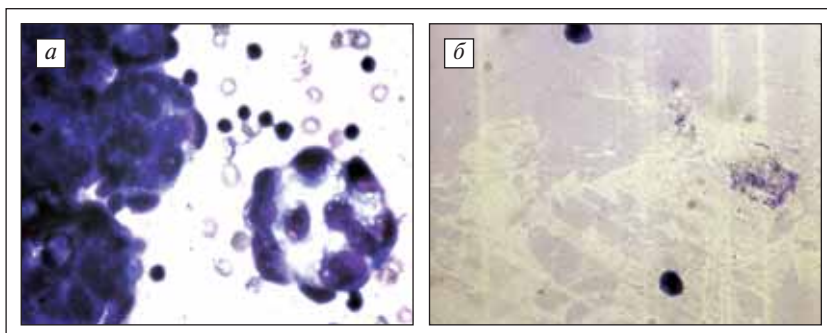


Рис. 2. Цитологическая картина плеврального экссудата при РМЖ: а — шаровидные железистые структуры опухолевых клеток, зрелые лимфоциты. Цитологический препарат до начала внутриплевральной ИТ Ронколейкином; б — скудный клеточный состав, отсутствие опухолевых клеток, зрелые лимфоциты в поле зрения. Цитологический препарат в конце курса внутриплевральной ИТ Ронколейкином

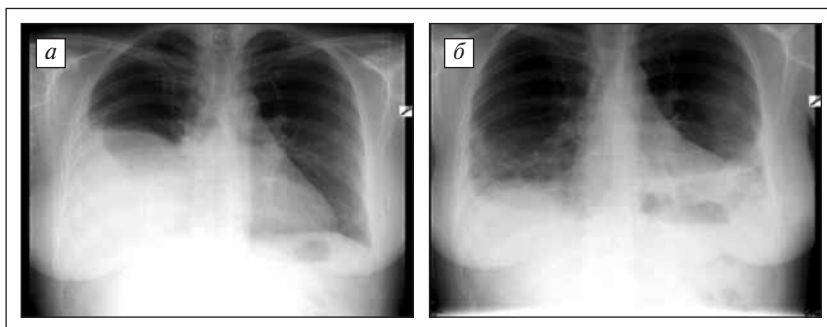


Рис. 3. Рентгенологическая картина внутриплеврального экссудата до и после лечения: а — накопление плеврального экссудата в правой плевральной полости до начала внутриплевральной ИТ Ронколейкином; б — практически полное отсутствие плеврального экссудата в правой плевральной полости в конце курса ИТ Ронколейкином

температуры тела, максимальные ее подъемы — до 38,5–39,0°C зафиксированы при ИЛ-2/ЛАК-терапии. 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 1 таблетки парацетамола.

побочных эффектов, кроме умеренной температурной реакции у некоторых больных.

Внутриплевральная ИЛ-2-ИТ после дальнейшего изучения с учетом ее высокой эффективности и простоты применения может быть рекомендована для широкого использования в онкологической практике при лечении метастатических плевритов у больных РМЖ.

Таким образом, ИЛ-2-ИТ практически не вызывает у больных побочных эффектов, за исключением явлений гипертермии, которая купируется антипиретиками и расценивается как проявление стимуляции противоопухолевого иммунитета.

Заключение

Внутриплевральная ИТ метастатических плевритов характеризуется высокой эффективностью у больных РМЖ: объективный эффект при ИЛ-2/ЛАК-терапии достигнут у 13 (93; 3,4%) пациентов и при ИЛ-2-терапии — у 13 (86,6%).

Внутриплевральная ИТ рассматривается как один из этапов комплексного лечения больных диссеминированным РМЖ и позволяет расширять возможности для их дальнейшего лечения.

При цитологическом исследовании экссудата в конце лечения у подавляющего числа больных (89,2%) опухолевые клетки отсутствовали, что и подтверждалось клиническим эффектом: после ИЛ-2/ЛАК-терапии у 12 и при ИЛ-2-терапии — у 13 больных.

Внутриплевральная ИТ в обоих случаях хорошо переносима и практически не вызывает

ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдов М.И., Оразгельдыев К.Р., Волков С.М., Киселевский М.В. Адоптивная иммунотерапия опухолевых плевритов. *Здравоохранение Туркменистана* 2000;(3):4–7.
2. Давыдов М.И., Оразгельдыев К.Р., Волков С.М., Киселевский М.В. Адоптивная иммунотерапия опухолевых плевритов. В сб.: *Новое в онкологии*. Вып. 5. М., 2001. с. 72–88.
3. Кашикова Х.Ш. Лекарственная терапия опухолевых плевритов. Дис. ... канд. мед. наук. М., 1989.
4. Belani C.P., Einardson T.R., Arikian S.R. et al. Cost effectiveness analysis of pleurodesis in the management of malignant pleural effusion. *J Oncol Manag* 1995;1(2):24.
5. Wallach H.W. Intrapleural tetracycline for malignant pleural effusions. *Chest* 1975;68:510–2.
6. Hausher F.H., Yarbo J.W. Diagnosis and treatment of malignant pleural effusion. *Cancer Met Rev* 1987;6(1):24–30.
7. Kefford R.F., Woods R.L., Fox R. et al. Intracavitary adriamycin, nitrogen mustard and tetracycline in the control of malignant effusions. *Med J Austral* 1980;2:447–8.
8. Bayly T.C., Kisher D.L., Sybert A. et al. Tetracycline and quinacrine in the control of malignant pleural effusions. *Cancer* 1978;41:1188–92.
9. Leff A., Hopewell P.C., Costello J. Pleural effusion from malignancy. *Ann Int Med* 1978;88:532–7.
10. Киселевский М.В. Адоптивная иммунотерапия при злокачественных опухолях. *Вестн РАМН* 2003;(1):40–4.
11. Чикилева И.О., Халтурина Е.О., Киселевский М.В. Современные подходы и направления в иммунотерапии и иммунопрофилактике злокачественных новообразований. *Мол мед* 2003;(2):40–50.