

Использование клеточных биотехнологий в лечении метастатических перикардитов у больных с опухолями женской репродуктивной системы

К.С. Титов, С.М. Волков, Л.В. Демидов, А.Н. Грицай, Н.И. Лазарева, М.В. Киселевский, А.П. Николаев
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Контакты: Константин Сергеевич Титов ks-titov@mail.ru

Метастатические перикардиты (МП) чаще всего возникают у больных раком молочной железы и раком яичников, нередко вызывая тампонаду сердца. В процессе системной противоопухолевой терапии зачастую происходит развитие лекарственной резистентности к цитостатикам, что ограничивает возможности лечения больных МП. Внутривнутрикардиальная биотерапия МП рекомбинантным интерлейкином-2 в комбинации с аллогенными лимфокин-активированными киллерами и в монорежиме характеризуется высокой эффективностью и хорошим профилем переносимости. Объективный эффект лечения составил 92,3 и 90 % соответственно. Предложенные виды биотерапии, по нашему мнению, можно рассматривать как один из этапов паллиативного лечения данной категории больных.

Ключевые слова: метастатический перикардит, рак молочной железы, рак яичников, интерлейкин-2, аллогенные лимфокин-активированные киллеры, внутривнутрикардиальная иммунотерапия

Use of cellular biotechnologies in treatment metastatic pericarditis at patients with tumors of female reproductive system

K.S. Titov, S.M. Volkov, L.V. Demidov, A.N. Gritsay, N.I. Lazareva, M.V. Kiselevskiy, A.P. Nikolayev
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Malignant pericardial effusions often arise in patients with breast cancer and ovarian cancer. Sistem antitumor therapy is ineffective in generally and causes side effects. Here we show that intrapericardial interleukin-2 with allogeneic lymphokine-activated killers and interleukin-2 immunotherapy demonstrated the high efficacy in threatment of breast and ovarian cancer patients with malignant pericardial effusions. The objective effect was 92.3 % and 90.0 % accordingly. These results indicates that intrapericardial immunotherapy 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: malignant pericardial effusions, breast cancer, ovarian cancer, interleukin-2, allogeneic lymphokine-activated killers, intrapericardial immunotherapy

Введение

Наиболее часто метастатические перикардиты (МП) развиваются на фоне генерализации у пациентов, страдающих злокачественными опухолями органов женской репродуктивной системы (чаще всего раком молочной железы и раком яичников) [1–3].

Пациенты с МП, несмотря на крайне неблагоприятный прогноз болезни, нуждаются в лечении, поскольку более чем в половине случаев перикардиальный выпот может быстро привести к тампонаде сердца и гибели больных [2, 4].

В настоящее время существует 2 основных метода лечения МП: перикардиоцентез в сочетании с внутривнутрикардиальной склеротерапией и/или системной терапией, которая и применяется для таких химиочувствительных опухолей, как рак молочной железы и рак яичников [4–6].

Основным показанием для перикардиоцентеза является угроза развития тампонады сердца, обусловленная большим накоплением (> 500 мл) экссудата в по-

лости перикарда. Эта процедура имеет также важное диагностическое значение, особенно у пациентов без морфологически подтвержденного онкологического диагноза [7].

Несмотря на определенный опыт использования склерозирующих агентов в лечении злокачественных выпотов, в настоящее время при МП данный вид лечения применяется редко [8].

Для инициации перикардиального склероза используется много других агентов, включая цисплатин, блеомицин, митомицин С и радиоактивное золото. Однако оценить их эффективность трудно, поскольку использование данных веществ описано, как правило, в единичных случаях [3, 5, 8, 9].

Существует небольшое число клинических исследований с использованием внутривнутрикардиальной иммунотерапии, прежде всего рекомбинантного интерлейкина-2 (ИЛ-2) и лимфокин-активированных киллерных клеток (ЛАК-клеток), выделенных и генерированных из лимфоцитов перикардиального экссу-

дата больного. U. Toh et al. [10] и другие исследователи [11] продемонстрировали высокую клиническую эффективность (общий объективный ответ — 96 %) и хорошую переносимость данного метода. Единственным побочным эффектом была обратимая лихорадка I-й степени.

Результаты данных немногочисленных исследований позволяют полагать, что внутривнутриперикардальная терапия с применением клеточных биотехнологий высокоэффективна и безопасна для лечения пациентов с МП.

Цель исследования — оценка клинической эффективности и переносимости применения клеточных биотехнологий: внутривнутриперикардальной ИЛ-2/ЛАК- и ИЛ-2-иммунотерапии у больных МП.

Материалы и методы

Пациенткам со злокачественными опухолями женской репродуктивной системы ($n = 23$) по поводу экссудативного МП была проведена внутривнутриперикардальная биотерапия с использованием аллогенных ЛАК-клеток, генерированных из лейкоцитов периферической крови здоровых доноров, в комбинации с рекомбинантным ИЛ-2 (ронколейкин, ООО «Биотех», Россия) и в монорежиме — только ронколейкином.

В зависимости от вида проводимой внутривнутриперикардальной биотерапии все больные с МП были разделены на 2 группы: пациентки 1-й группы ($n = 13$) получали ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапию, пациентки 2-й группы ($n = 10$) — ИЛ-2-иммунотерапию.

У 16 (69,6 %) больных МП был проявлением рака молочной железы, у 7 (30,4 %) — рака яичников. Пациентки, включенные в данное исследование, находились в возрасте от 34 до 72 лет. Состояние больных к моменту проведения иммунотерапии у всех расценено как средней тяжести или тяжелое. До начала внутривнутриперикардальной иммунотерапии все пациентки получали соответствующее комбинированное или комплексное лечение, как правило хирургическое в комбинации с химио-, гормоно-, таргетной или лучевой терапией. Перед началом иммунотерапии из полости перикарда удаляли 500–1000 мл экссудата. Всем 23 пациенткам до проведения биотерапии выполняли цитологическое исследование перикардального выпота.

Для генерации аллогенных ЛАК-клеток использовали моноклональные лейкоциты, полученные при сепарации периферической крови здоровых доноров, которые далее генерировали в лаборатории клеточного иммунитета НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН в присутствии ИЛ-2 в CO_2 -инкубаторе в течение 3 сут.

Иммунофенотип полученных ЛАК-клеток оценивали на проточном цитометре с использованием моноклональных антител (производство США) к основным поверхностным маркерам лимфоцитов.

Цитотоксическую активность лимфоцитов определяли в тесте восстановления 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид на NK-чувствительной линии клеток эритробластного лейкоза человека K-562 и на аутологических опухолевых клетках, выделенных из образцов злокачественных экссудатов пациенток.

Для проведения внутривнутриперикардальной иммунотерапии пораженную опухолью полость перикарда дренировали по Марфану под местной анестезией эластичным катетером на срок 5–7 дней. Для дренирования полости перикарда использовали набор «Плеврокан» (B. Braun, Германия), наружный конец которого с момента установки подшивали и фиксировали к коже надчревной области. Полость перикарда с 1-го дня лечения и далее через день максимально осушали, после чего в нее через катетер вводили биопрепараты по схеме в зависимости от вида терапии: ронколейкин по 1 млн МЕ, разведенный в 10 мл физиологического раствора $\pm$ ЛАК по 100–120 млн клеток, также разведенных в 10 мл физиологического раствора, в 1–5-й дни лечения. Ронколейкин и ЛАК-клетки поочередно медленно вводили в полость перикарда. На 5–7-й день внутривнутриперикардального лечения «Плеврокан» удаляли. Перикардальный экссудат отправляли на цитологическое исследование до проведения иммунотерапии, в середине и по ее окончании.

Эффект биотерапии оценивали клинически, цитологическим методом, а также с помощью ультразвукового исследования и/или компьютерной томографии органов грудной полости через 3–4 нед после окончания лечения и далее в динамике каждые 3 мес в течение жизни больных.

За полный эффект принимали полное исчезновение перикардита, за частичный эффект — уменьшение жидкости в перикарде на 50 % и более от исходного количества и отсутствие клинических проявлений у пациенток.

Клетки перикардального экссудата при цитологическом исследовании окрашивали гематоксилином и эозином. Для визуализации и получения фотоснимков использовали систему AxioVision 4 (Carl Zeiss, Германия).

Статистическую обработку материала осуществляли с помощью программного пакета WINMDI 2.8.

Результаты

Иммунофенотип аллогенных ЛАК-клеток, полученных для проведения внутривнутриперикардальной ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии, характеризовался высоким уровнем экспрессии активационных антигенов лимфоцитов CD25, CD38 и HLA-DR и молекул адгезии CD57, CD58. ЛАК-клетки обладали высокой цитотоксической активностью в отношении аутологических опухолевых клеток из перикардального выпота.

Таблица 1. Клиническая эффективность внутривнутрикардиальной ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии у больных с МП

Основной диагноз	Число больных	Объективный ответ			
		полный	частичный	общий	без эффекта
Рак молочной железы	9 (69,3 %)	5 (38,4 %)	3 (23,2 %)	8 (61,6 %)	1 (7,7%)
Рак яичников	4 (30,7 %)	2 (15,4 %)	2 (15,3 %)	4 (30,7 %)	0
<i>Всего</i>	<i>13 (100 %)</i>	<i>7 (53,8 %)</i>	<i>5 (18,5%)</i>	<i>12 (92,3 %)</i>	<i>1 (7,7 %)</i>

Таблица 2. Клиническая эффективность внутривнутрикардиальной ИЛ-2-иммунотерапии у больных с МП

Основной диагноз	Число больных	Объективный ответ			
		полный	частичный	общий	без эффекта
Рак молочной железы	6 (60 %)	3 (30 %)	2 (20 %)	5 (50 %)	1 (10 %)
Рак яичников	4 (40 %)	2 (20 %)	2 (20 %)	4 (40 %)	0
<i>Всего</i>	<i>10 (100 %)</i>	<i>5 (50 %)</i>	<i>4 (40 %)</i>	<i>9 (90 %)</i>	<i>1 (10 %)</i>

Следует отметить, что выраженный эффект в процессе внутривнутрикардиальной биотерапии наблюдался только в тех случаях, когда в выпоте присутствовало значительное число активированных лимфоидных клеток и их митозов.

В 1-й группе ($n = 13$) при проведении внутривнутрикардиальной ИЛ-2/ЛАК-биотерапии полный эффект был отмечен у 7 (53,8 %) пациенток, частичный эффект — у 5 (38,5 %) больных, а у 1 (7,7 %) пациентки с раком молочной железы ответа на биотерапию не было. Общая эффективность внутривнутрикардиальной ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии при МП составила 92,3 % (табл. 1). Повторное накопление выпота в перикарде было отмечено у 1 (7,7 %) пациентки с раком молочной железы через 4 мес после окончания внутривнутрикардиального лечения.

Во 2-й группе ($n = 10$) при проведении внутривнутрикардиальной ИЛ-2-биотерапии полный эффект был отмечен у 5 (50 %) пациенток, частичный эффект (наличие небольшого количества жидкости в перикарде) — у 4 (40 %) пациенток. Общая эффективность внутривнутрикардиальной ИЛ-2-иммунотерапии при МП составила 90 % (табл. 2). Повторное накопление выпота в перикарде было отмечено у 1 больной раком яичников через 3 мес после окончания внутривнутрикардиального лечения.

Проведенные исследования показали равную эффективность внутривнутрикардиальной биотерапии при МП в обеих группах больных с диссеминированным раком молочной железы и яичников, резистентных к системной лекарственной терапии.

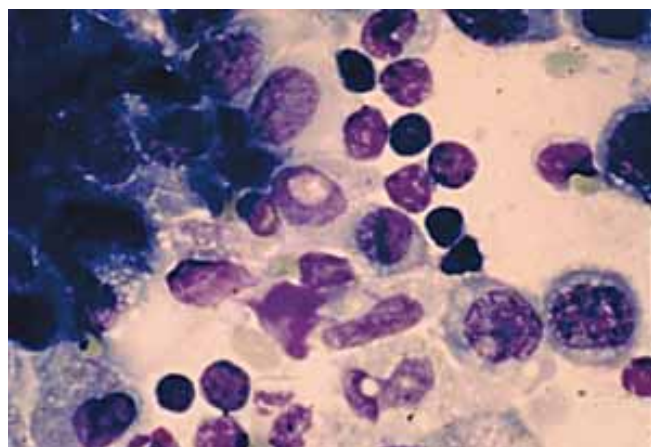


Рис. 1. Цитологическая картина перикардального экссудата пациентки М., страдающей раком молочной железы с МП, до начала биотерапии. Конгломераты опухолевых клеток, единичные зрелые лимфоциты, гистиоциты

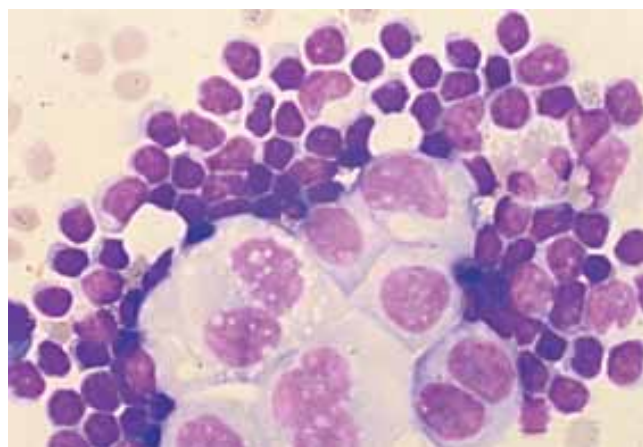


Рис. 2. Цитологическая картина перикардального экссудата пациентки М. в середине курса внутривнутрикардиальной биотерапии (3-й день лечения). Опухолевые клетки в стадии деградаци, окруженные ЛАК-клетками

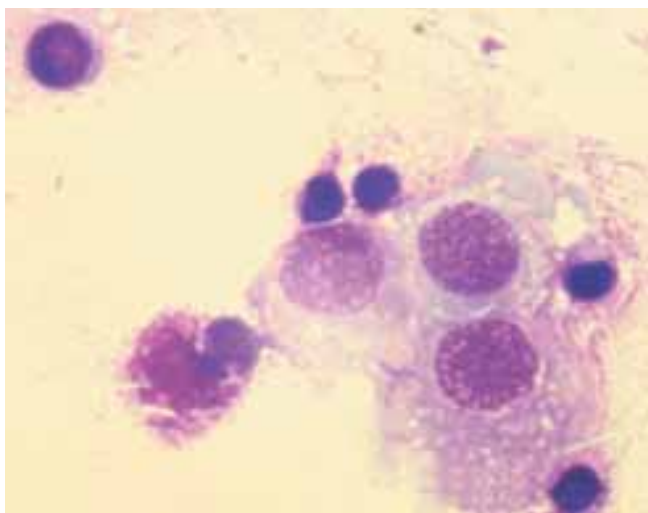


Рис. 3. Цитологическая картина пациентки М. по окончании внутриперикардальной биотерапии (6-й день). Полное отсутствие опухолевых клеток, активированные лимфоциты

При цитологическом исследовании перикардального выпота до биотерапии, как правило, выявлялось значительное число опухолевых клеток и небольшое число зрелых лимфоцитов (1–3 в поле зрения). В конце лечения практически у всех пациенток опухолевые клетки в остаточном экссудате отсутствовали, так как они подвергались лизису пулом активированных ИЛ-2 лимфоцитов. Цитотоксическая активность ЛАК против аутологических опухолевых клеток больных *in vitro* составляла 96 %.

Оба вида биотерапии были хорошо переносимы пациентками и практически не вызывали побочных эффектов, за исключением умеренных явлений грип-

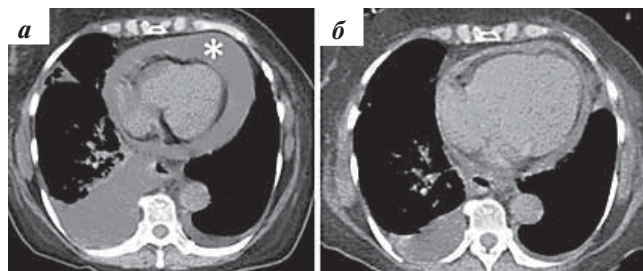


Рис. 4. Изображение компьютерной томографии органов грудной клетки пациентки М., страдающей раком молочной железы с выраженным МП, до начала внутриперикардальной ИЛ-2-биотерапии (а; * — наличие злокачественного экссудата в перикарде) и через 1 мес после ее окончания (выраженная частичная регрессия) (б)

поподобного синдрома, который расценивался как проявление стимуляции противоопухолевого иммунитета.

Заключение

Таким образом, оба метода внутриперикардальной биотерапии у пациенток с МП при раке органов женской репродуктивной системы равноэффективны. На основании этого внутриперикардальную иммунотерапию следует начинать с введения ИЛ-2 в монорежиме, как высокорезультативного и доступного для практического применения метода, а при его неэффективности необходимо дополнять лечение введением в полость перикарда аллогенных ЛАК-клеток. Высокая эффективность и хорошая переносимость внутриперикардальной биотерапии при МП позволяют рассматривать ее как один из этапов комплексного лечения данной категории больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Buzaid A.C., Garewal H.S., Greenberg B.R. Managing malignant pericardial effusion. *West J Med* 1989;150(2):174–9.
2. Kainuma S., Masai T., Yamauchi T. et al. Primary malignant pericardial mesothelioma presenting as pericardial constriction. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2008;14(6):396–8.
3. Verleye L., Thomakos N., Edmondson R.J. Recurrent cervical cancer presenting as malignant pericarditis: case report and review of the literature. *Eur J Gynaecol Oncol* 2009;30(2):193–5.
4. Maisch B., Karatolios K. New possibilities of diagnostics and therapy of pericarditis. *Internist (Berl)* 2008;49(1):17–26.
5. Keane D., Jackson G. Managing recurrent malignant pericardial effusions. *BMJ* 1992;305(6856):729–30.
6. Vaitkus P.T., Herrmann H.C., LeWinter M.M. Treatment of malignant pericardial effusion. *JAMA* 1994;272(1):59–64.
7. Cornily J.C., Pennec P.Y., Castellant P. et al. Cardiac tamponade in medical patients: a 10-year follow-up survey. *Cardiology* 2008;111(3):197–201.
8. Lestuzzi C., Lafaras C., Bearz A. et al. Malignant pericardial effusion: sclerotherapy or local chemotherapy? *Br J Cancer* 2009;101:734–5.
9. Kaira K., Mori M. Intrapericardial instillation of mitomycin C in recurrent cardiac tamponade due to malignant pericardial effusion. *Clin Oncol* 2006;18(6):506.
10. Toh U., Fujii T., Seki N. et al. Characterization of IL-2-activated TILs and their use in intrapericardial immunotherapy in malignant pericardial effusion. *Cancer Immunol Immunother* 2006;55(10):1219–27.
11. Ueno Y., Kohgo Y., Sasagawa Y. et al. A case of pericarditis carcinomatosa showing good response following local transfer of lymphokine-activated killer (LAK) cells. *Gan To Kagaku Ryoho* 1987;14(8):2579–82.