

Интраперитонеальная биотерапия у больных с асцитными формами диссеминированного рака яичников

К.С. Титов, А.Н. Грицай, Л.В. Демидов, Л.М. Родионова, М.В. Киселевский, М.В. Мосина
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

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

Опухолевые асциты (ОА) наиболее часто сопровождают течение рака яичников (РЯ) и являются серьезными проявлениями диссеминации, нередко рецидивируя после лекарственного лечения. Системная и интраперитонеальная химиотерапия (ХТ) не всегда вызывает длительные ремиссии и при этом является токсичным лечением. Интраперитонеальная иммунотерапия ОА интерлейкином-2 (ИЛ-2) в комбинации с аллогенными лимфокин-активированными киллерами (ЛАК) и ИЛ-2 в монорежиме характеризуется высокой эффективностью и хорошей переносимостью у больных РЯ при неэффективности 2 линий ХТ. Объективный эффект данного лечения составил 82,6 % и 72,0 % соответственно. Предложенный вид биотерапии может рассматриваться как один из этапов комбинированного лечения данной категории больных, при этом имеет хорошую переносимость и улучшает качество их жизни.

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

Intraperitoneal biotherapy of malignant peritoneal effusions in ovarian cancer patients

K.S. Titov, A.N. Gritsai, L.V. Demidov, L.M. Rodionova, M.V. Kiselevsky, M.V. Mosina
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow

Malignant peritoneal effusions often arise in patients with of ovarian cancer. They are dangerous complication of cancer. Intraperitoneal chemotherapy isn't always effective and causes side effects. Intraperitoneal interleukin-2 (IL-2) and IL-2/lymphokine activated killers (LAK) biotherapy is characterised of high efficacy in ovarian cancer patients with malignant peritoneal effusions. The objective effect was 82,6 % and 72,0 % accordingly. These results suggest that intraperitoneal biotherapy allows to expand possibilities of malignant peritoneal effusions treatment in ovarian cancer patients.

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

Введение

Опухолевый асцит (ОА) наиболее часто осложняет течение рака яичников (РЯ). По данным различных авторов, около 50–70 % больных РЯ уже к началу первичного лечения имеют асцит. Пятилетняя выживаемость пациенток с асцитными формами РЯ составляет около 5 %, а у пациенток без асцита – 45 % [1–4].

Наиболее активными препаратами для лечения РЯ по-прежнему остаются таксаны и производные платины. Химиотерапия (ХТ) 1-й линии позволяет в ряде случаев успешно справиться с канцероматозом брюшины и ОА при диссеминированном РЯ (объективный ответ – до 67 %). В последующем при внутрибрюшных рецидивах (которые возникают в 75–80 % случаев) в течение ≥ 6 мес показана 2-я линия ХТ (гемцитабин, топотекан, доксорубин, ифосфамид), имеющая только паллиативный характер, поскольку ее эффективность колеблется от 12 до 40 % при средней продолжительности жизни 9–12 мес [1, 2, 4].

При неэффективности системной или внутривенной ХТ у больных с диссеминированным РЯ с наличием ОА используют также и интраперитонеальные введения различных иммуномодуляторов. Установлено, что наибольшей эффективностью обладают цито-

кины интерлейкин-2 (ИЛ-2) и интерферон- γ (ИНФ- γ) [3, 5–7]. 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, осложненными ОА [7]. 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 в ряде случаев отмечалось также значительное снижение маркера СА-125 и стабилизация заболевания (до 18 мес) [5].

Полное исчезновение асцита было отмечено в 56–60 % случаев при интраперитонеальном использовании рекомбинантного ИЛ-2 и лимфокин-активированных киллеров (ЛАК-клеток) у больных прогрессирующим химиорезистентным РЯ [3]. Z. Nau et al. сообщили об использовании инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL), которые были выделены из первичной опухоли или метастатических узлов для лечения в сочетании с ХТ больных РЯ ($n = 25$). В результате рандомизированного исследования наблюдалась более высокая скорость нарастания эффекта (резкое

снижение уровня СА-125 и регрессия опухоли по данным ультразвукового исследования (УЗИ)). У пациентов, получавших кроме стандартного лечения ЛАК-терапию, в 3 случаях уже после 1-го курса ХТ 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, тошноту и неприятные ощущения в брюшной полости [8].

Учитывая данные об эффективности и хорошей переносимости интраперитонеальной биотерапии, представляет интерес дальнейшее изучение этого перспективного и безопасного метода лечения ОА у больных РЯ.

Цель исследования: оценка эффективности, переносимости и преимуществ для практического применения интраперитонеальной биотерапии ОА у больных с диссеминированным РЯ с использованием ИЛ-2 (Ронколейкин®, ООО «Биотех», Санкт-Петербург) в монорежиме и в комбинации с аллогенными ЛАК-клетками.

Материалы и методы

В исследование включены больные диссеминированным РЯ, осложненным метастатическими асцитами, в возрасте от 37 до 72 лет ($n = 48$). Из гистологических форм у пациенток преобладала серозная аденокарцинома. К началу внутрибрюшинной ИЛ-2-иммунотерапии или ИЛ-2 в комбинации с аллогенными ЛАК помимо асцита у пациентов, как правило, также имелись и другие метастатические проявления опухолевого процесса. Состояние всех больных было расценено как средней тяжести. До начала интраперитонеальной иммунотерапии все пациентки получали комбинированное лечение, как правило, хирургическое в комбинации с 2 и более линиями полихимиотерапии, преимущественно с применением таксанов и препаратов платины. По поводу основного заболевания пациентки получали лечение на протяжении от 1,5 до 3,5 лет.

Для генерации ЛАК-клеток использовали мононуклеарные лейкоциты, полученные при сепарации периферической крови здоровых доноров (аллогенные ЛАК), которые далее генерировали в лаборатории клеточного иммунитета в присутствии ИЛ-2 в СО₂-инкубаторе в течение 2 сут.

Иммунофенотип полученных ЛАК-клеток проводили на проточном цитометре с использованием мо-

ноклональных антител (США) к основным поверхностным маркерам лимфоцитов.

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

Для проведения интраперитонеальной биотерапии брюшная полость дренировалась по стандартным методикам с установкой в нее системы «Плеврокан» на 21 день. У всех пациенток до начала биотерапии ОА был верифицирован цитологическим методом. Злокачественный экссудат максимально удалялся до начала биотерапии и далее через день. В брюшную полость ежедневно вводили препарат рекомбинантного ИЛ-2 — ронколейкин по 1 млн МЕ (1 мг) ± ЛАК по 100–150 клеток 1–5, 8–12, 15–19 дни. По окончании интраперитонеальной биотерапии «Плеврокан» удалялся. На цитологическое исследование экссудат отправляли до проведения иммунотерапии, в середине и по ее окончании.

Оценка эффекта биотерапии проводилась клинически, цитологическим методом, по уровню онкомаркера СА-125 в плазме крови, а также с помощью УЗИ и/или компьютерной томографии брюшной полости и малого таза через 3–4 нед после окончания внутрибрюшинного лечения.

За полный эффект принимали полное исчезновение асцита, за частичный — уменьшение асцита более ≥ 50 % от исходного его количества.

Результаты

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

В зависимости от вида проводимой интраперитонеальной биотерапии все пациенты с ОА РЯ были разделены на 2 лечебные группы:

- 1) больные асцитом, получавшие интраперитонеальную ИЛ-2/аллоген ЛАК-иммунотерапию ($n = 23$);
- 2) больные асцитом, получавшие интраперитонеальную ИЛ-2-иммунотерапию ($n = 25$).

Из наблюдаемых больных 1-й группы ($n = 23$) предстоящее интраперитонеальное введение цисплатины имело место у 3 женщин. Данное лечение было неэффективным. Следует отметить, что выраженный эффект

на фоне интраперитонеальной иммунотерапии наступал только в тех случаях, когда в выпоте отмечалось значительное количество активированных лимфоидных клеток и их митозов.

У пациенток 1-й группы полный эффект был достигнут у 11 (47,8%) женщин, частичный эффект с остаточным экссудатом, не вызывающим жалоб у больных, — у 8 (34,8%) пациенток, и у 4 (17,4%) пациенток эффекта от данного лечения не было. Повторное накопление асцита возникло у 3 больных в сроки от 2 до 4 мес после лечения. Общая эффективность интраперитонеальной ИЛ-2-иммунотерапии составила 70,7% (см. таблицу). Медиана времени до рецидива асцита составила 4 мес.

Во 2-й группе у 25 больных с химиорезистентными формами РЯ течение заболевания осложнилось ОА, они получали интраперитонеальную 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 интраперитонеального введения цитостатиков не было. Полный эффект был достигнут у 8 (32%) пациенток; частичный эффект с остаточным экссудатом, не вызывающим жалоб у больных, — у 10 (40%) пациенток, у 7 (28%) пациенток эффекта от данного лечения не было. Повторное накопление асцита возникло у 4 больных в сроки от 2 до 4 мес после лечения. Общая эффективность интраперитонеальной ИЛ-2-иммунотерапии составила 72,0% (см. таблицу). Медиана времени до рецидива асцита составила 3 мес.

Следует отметить, что после проведения курса интраперитонеальной биотерапии у 13 (56,5%) больных диссеминированным РЯ 1-й группы и у 12 (48,0%) пациенток 2-й группы наблюдалось снижение в крови показателей онкомаркера СА-125.

Проведенные исследования в обеих группах показали примерно равную эффективность интраперитонеальной биотерапии при ОА у больных с диссеминированным РЯ, резистентным к ХТ. Кроме того, клинические данные получили лабораторное подтверждение: в процессе иммунотерапии в асцитическом экссудате опухолевые клетки подвергались лизису пулом активированными ИЛ-2 лимфоцитами. Цитотоксическая активность ЛАК против аутологических опухолевых клеток *in vitro* составляла 86%.

Принципиальным положительным моментом являлась возможность проведения 3 и 4 линий ХТ после эффективной интраперитонеальной биотерапии.

Практически у всех пациенток обеих групп внутрибрюшинная биотерапия сопровождалась гриппоподобным синдромом: повышением температуры тела (максимальные подъемы до 38,5–39,0 °С) и ознобом. Как правило, реакция гипертермии у больных появлялась уже после 1-го введения биопрепаратов. Повы-

Клиническая эффективность интраперитонеальной ИЛ-2/аллоген ЛАК и ИЛ-2-иммунотерапии у больных диссеминированным РЯ с ОА

Эффективность	ИЛ-2/аллогенные ЛАК-клетки (n = 23)	ИЛ-2 (n = 25)
Полная регрессия	11 (47,8%)	8 (32%)
Частичная регрессия	8 (34,8%)	10 (40%)
Общий ответ	19 (82,6%)	14 (72,0%)
Без эффекта	4 (17,4%)	7 (28%)
Медиана времени до рецидива асцита	4 мес	3 мес

шение температуры наступало обычно через 3–4 ч после введения иммуномодуляторов и наблюдалось в течение нескольких часов. Реакция купировалась приемом 0,5–1,0 г парацетамола. Гриппоподобный синдром расценивался не как побочный эффект, а как проявление стимуляции противоопухолевого иммунитета. Гематологической и других видов токсичности на фоне интраперитонеальной биотерапии в обеих группах отмечено не было.

Заключение

Интраперитонеальная биотерапия ОА у больных с диссеминированным химиорезистентным РЯ характеризуется примерно равной высокой клинической эффективностью: объективный эффект при ИЛ-2/аллоген ЛАК-терапии достигнут у 82,6% и при ИЛ-2-терапии — у 72,0% больных с удовлетворительной переносимостью, отсутствием гематологической и других видов токсичности. При цитологическом исследовании экссудата в конце лечения у большинства больных опухолевые клетки отсутствовали, что и подтверждалось клиническим эффектом в виде прекращения или значительного уменьшения асцита. Признаков аутоиммунитета и посттрансплантационных осложнений на фоне данного лечения отмечено не было, и в асцитической жидкости лимфоциты лизировали только опухолевые клетки, не повреждая при этом здоровые. Для широкого практического применения наиболее удобным и доступным представляется интраперитонеальная ИЛ-2-иммунотерапия ронколейкином, не предусматривающая генерацию ЛАК-клеток и отличающаяся хорошей переносимостью.

Таким образом, интраперитонеальную ИЛ-2-иммунотерапию ОА при диссеминированном РЯ, рецидивирующем после 2 линий ХТ, можно проводить амбулаторно и рассматривать как один из этапов комбинированного лечения, который позволяет улучшить качество жизни данной категории больных.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гарин А.М., Базин И.С. Десять наиболее распространенных злокачественных опухолей. М., 2006. С. 205.
2. Давыдов М.И., Летагин В.П., Кузнецов В.В. Рак яичников. В кн.: Опухоли женской репродуктивной системы. М.: Радуга, 2007. С. 164–176; 273–82.
3. Киселевский М.В., Блюменберг А.Г. Адоптивная иммунотерапия рака яичников. Сборник статей, приуроченный к Европейской школе по онкологии, 2001.
4. Markman M. Intraperitoneal chemotherapy of ovarian cancer. *Semin Oncol* 1998;25:356–60.
5. Feedman R.S., Kudelka A.P., Kavanagh J.J. Clinical and Biological Effects of Intraperitoneal Injections of Recombinant Interferon- and Recombinant Interleukin-2 with or without Tumor-infiltrating Lymphocytes in Patients with Ovarian or Peritoneal Carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000;6:225–6.
6. 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; 58:37–44.
7. 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;14:343–50.
8. Hua Z., Lit J. Clinical study on immunotherapy of ovarian cancer with tumor infiltrating lymphocytes. *Chung Hua Fu* 1996; 13:555–7.