

## 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. Gritzay, 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  $\geq 6$  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- $\gamma$  (ИНФ- $\gamma$ ) [3, 5–7]. В частности, проведенные клинические исследования E. Pujade-Lauraine et al. в 1996 г. показали, что внутрибрюшинное введение ИНФ- $\gamma$  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- $\gamma$  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 интерлейкина-2 (ИЛ-2) и лимфокин-активированных киллеров (ЛАК-клеток) у больных прогрессирующим химиорезистентным РЯ [3]. Z. Nau et al. сообщили об использовании инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (ТИЛ), 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 нара-

тания эффекта (резкое снижение уровня СА-125 и регрессия опухоли по данным ультразвукового исследования (УЗИ)). У пациенток, 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 СО<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 2 сут.

Имунофенотип 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 бромидом 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  $\geq 50\%$  от исходного его количества.

### Результаты

Имунофенотип аллогенных ЛАК-клеток, полученных для проведения интраперитонеальной ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии, характеризовались 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 цисплатина 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 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 интраперитонеальной ИЛ-2-иммунотерапии составила 70,7% (см. табл.). 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 пациенток (32%); частичный эффект с остаточным экссудатом, не вызывающим жалоб у больных – у 10 пациенток (40%), у 7 пациенток (28%) 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. табл.). Медиана времени до рецидива асцита составила 3 мес.

Следует отметить, что после проведения курса интраперитонеальной биотерапии у 13 (56,5%) больных 1 группы и 12 (48,0%) пациенток 2 группы диссеминированным РЯ 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 противопухового 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, рецидивирующего 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- $\gamma$  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.