

УДК 616.08:616.6+616-089.168

*Ситников Н.В.<sup>1</sup>, Кисилевский М.В.<sup>2</sup>, Карандин В.И.<sup>1</sup>, Нестеренко В.Н.<sup>1</sup>***МЕТОД ЛИМФОИММУНОТЕРАПИИ В ОНКОУРОЛОГИИ**<sup>1</sup>ФГБУ «ЗЦВКГ им. А.А.Вишневого» Минобороны России, г. Красногорск, Московская область.<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России.

**Аннотация.** В работе представлен метод получения иммунокомпетентных клеток (лимфоцитов) из центральной лимфы для лечения метастазов и органных небольших опухолей почек.

**Ключевые слова:** рак почки, лимфа, адаптивная иммунотерапия.

*Sitnikov N.V.<sup>1</sup>, Kisilevsky M.V.<sup>2</sup>, Karandin V.I.<sup>1</sup>, Nesterenko V.N.<sup>1</sup>***LYMPHOIMMUNOTHERAPY METHOD IN ONCOUROLOGY**<sup>1</sup>FSBI "3 Central military clinical hospital named after A.A. Vishnevsky," Russian defense Ministry, Krasnogorsk.<sup>2</sup>FSBI "Scientific and Methodological Research Center of Oncology named after N.N. Blokhin" of the Ministry of Health of Russia.

**Abstract:** The paper presents a method for obtaining immunocompetent cells (lymphocytes) from the central lymph for the treatment of metastases and organ small kidney tumors.

**Keywords:** kidney cancer, lymph, adoptive immunotherapy

В течение последних 10-15 лет отмечается постепенный рост выявленных случаев рака почки. Число заболевших в мире ежегодно увеличивается на 2%. Почечно-клеточный рак относится к агрессивным и непредсказуемым в своем течении злокачественным опухолям. У 33% больных рак почки диагностируется впервые уже в диссеминированной стадии.

К сожалению, результаты лечения распространенных форм рака почки остаются неудовлетворительными. Различные химиотерапевтические препараты, комбинированная химиотерапия, так же, как и сочетание цитотоксических и гормональных препаратов – малоэффективны.

Даже после удаления почки с опухолью, выявленной на ранней стадии, у 50% пациентов может развиваться рецидив (повторное появление опухоли) или выявляться метастазы. 85% этих рецидивов или метастазов выявляются в первые 3 года после удаления почки, но иногда такие случаи регистрируются и спустя 10 лет после лечения.

Учитывая наибольшую доступность, подавляющему большинству пациентов с диссеминированным процессом лечение проводилось интерфероном альфа.

Больным раком почки с наличием отдаленных метастазов, после проведения нефрэктомии, проводилась таргетная (нексавар, сутент) терапия в химиотерапевтическом отделении ГВКГ им. Н.Н.Бурденко.

В связи с нежелательными побочными явлениями: диарея, артериальная гипертензия, утомляемость, снижение аппетита, тошнота, дисфония, ладонно-подошвенный синдром, рвота, астения, запор проведение таргетной терапии прервано у 20% больных. Учитывая, что по результатам многоцентрового исследования применение таргетной терапии для профилактики диссеминации ПКР признано не эффективным, а применение интерферона в режиме монотерапии не приносит эффекта в 70-80% случаев в урологическом центре госпиталя начато применение одного из видов биотерапии – адаптивной (adoptive – привнесенный) иммунотерапии направленной на активизацию иммунного статуса и усиления иммунного ответа Т-лимфоцитов киллеров против опухолевых клеток.

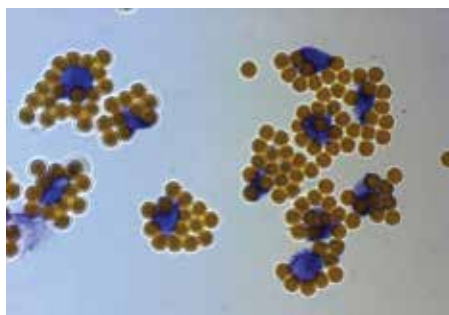
Развитие метастазов представляет собой последовательный процесс, при котором раковые клетки из первичной опухоли попадают в кровеносные или лимфатические сосуды и разносятся в отдаленные органы и ткани. Путь распространения раковых клеток не всегда является предсказуемым, в связи с этим чрезвычайно актуальным продолжает оставаться вопрос о значении лимфатической системы в этом распространении.

Лимфатическая система почки представляет собой сложный механизм, состоящий из поверхностной и глубокой сети лимфососудов. С целью подтверждения лимфатического, как основного, пути

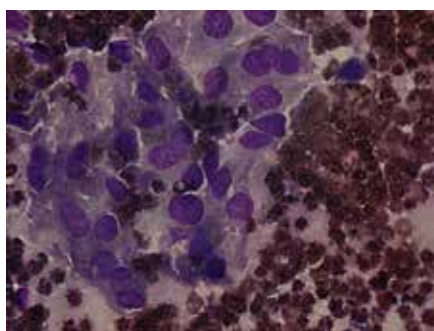
метастазирования рака почки у группы больных раком почки с различной локализацией и размерами опухоли мы проводили канюлиацию грудного протока для сбора и обработки центральной лимфы.

Учитывая длительность проведения сеансов получения и обработки лимфы, мы выполняли хроническое канюлирование грудного протока с формированием внешнего лимфенозного шунта. Это позволяло нам проводить не только дозированное выведение лимфы, но и последующие курсовые циклы лечения.

Из собранной лимфы получали лимфоконцентрат, из которого выделяли опухолевые клетки методом иммуномагнитной сепарации на магнитных шариках с антителами к эпителиальным маркерам – набором для выделения опухолевых клеток. У всех больных с опухолями почки более 3 см в наибольшем измерении, не имеющих, по данным обследования, метастазов, нами выделены из лимфы опухолевые клетки, в то время как в крови они не определялись (Рис. 1, 2).



**Рис. 1.** Клетки (опухолевые), выделенные из лимфы больного раком почки методом иммуномагнитной сепарации на магнитных шариках с антителами к эпителиальным маркерам набором для выделения опухолевых клеток из крови и костного мозга



**Рис. 2.** Конгломераты опухолевых клеток в лимфе

Основную роль в противоопухолевой защите организма играет определенная группа лимфоцитов, называемых натуральными киллерами. Однако, их численность не велика (всего 10-15% всех лимфоцитов крови), что не позволяет им справит-

ся с опухолевой массой. Чтобы увеличить количество лимфоцитов-киллеров используются методы адоптивной иммунотерапии.

Полученную центральную лимфу (500-1000мл) сепарируем на центрифуге Sigma 6-16K при скорости 3000 об/мин 20 минут. Отделенный лимфоцентрат (около 5-7 млрд. лимфоцитов) активировали ронколейкином с инкубацией его при температуре 37°C в течение суток (Рис. 3-7).



**Рис. 3.** Нативная лимфа



**Рис. 4.** Плазмоэкстрактор (разделитель лимфоплазмы и форменных элементов лимфы)



**Рис. 5.** Слева - лимфоплазма после плазмоэкстрактора; справа - полученный лимфоцентрат

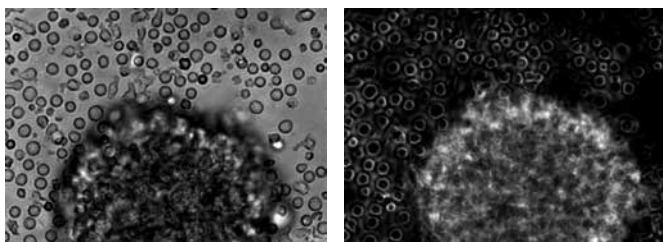


**Рис. 6.** Термостат сухо-воздушный ТВ-20-ПЗ-К

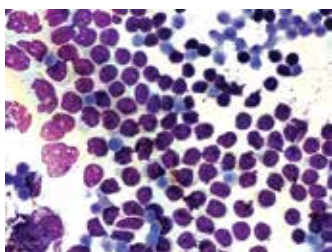


**Рис. 7.** Рефрижираторная центрифуга SIGMA 6-16K

Для увеличения безрецидивного периода жизни больных раком почки после радикального хирургического лечения и для стимуляции противоопухолевого иммунитета (ЛАК иммунотерапия) у больных с имеющимися метастазами после паллиативной нефрэктомии внутривенно капельно вводили активированные лимфоциты (ЛАК). Адоптивная клеточная терапия, как правило, сопровождалась у пациентов гипертермией до 38-40°C (Рис. 8-10).



**Рис. 8.** Активированные лимфоциты ЛАК-клетки - видны крупные пролифераты (скопления клеток в виде колоний) в отличие от неактивированных - отдельно лежащие клетки



**Рис. 9.** Скопления активированных лимфоцитов - ЛАК-клетки



**Рис. 10.** Реинфузия активированных лимфоцитов и лимфоплазмы

За последние 4 года под нашим наблюдением находилось 23 больных (мужчин) раком почки I-III ст. в возрасте от 47 до 72 лет. У трех из них имел место рак единственной почки. У 12 пациентов наблюдались отдаленные метастазы в печень и легкие.

При исследовании центральной лимфы на начальном этапе лечения у всех больных в ней выявлено большое количество опухолевых клеток. Начиная с третьего дня лечения опухолевые клетки в отводимой лимфе встречались в единичных количествах, а с пятого дня лечения они отсутствовали.

Курс лечения в среднем составил 12 дней. Интервалы между курсами – 3 мес.

Четырнадцать больным проведено по 1 курсу адоптивной терапии, 8 больным проведено по 2 курса лечения, 3 больным проведено по 3 курса лечения.

Все больные живы, проходят плановое обследо-

вание каждые 3 месяца. Признаков прогрессирования заболевания ни у одного больного не отмечено.

#### **Заключение:**

В исследуемой лимфе больных раком почки выявляются опухолевые клетки, в то время как в крови они не определяются.

Обследование данной группы больных в течение 3-х лет свидетельствует о хорошей переносимости ЛАК иммунотерапии, отсутствии признаков прогрессирования заболевания и у части пациентов – регресса имевшихся метастазов.

ЛАК иммунотерапия рака расширяет спектр возможностей противоопухолевой терапии.

Кроме того, она имеет ряд преимуществ по сравнению с химиотерапией и облучением:

- отсутствие токсичности и хорошая переносимость,
- возможность применения совместно с традиционными методами лечения,
- а также в случаях лекарственной резистентности, стимуляция местного противоопухолевого клеточного иммунитета, приводящая к лизису опухоли, улучшение качества и продолжительности жизни пациентов.

#### **Литература**

1. Грицай А.Н., Барановский Д.А., Кисилевский М.В., Гуляева И.Л. Адоптивная иммунотерапия интерлейкином-2 и лимфокин-активированными киллерами у больных злокачественными новообразованиями женской репродуктивной системы (обзор литературы) // Гинекология. - №4. - 2014. - с. 71-73.
2. Злокачественные новообразования в России в 2013 году: заболеваемость и смертность. Под ред. А.Д. Каприна.
3. Матвеев Б.П. Клиническая онкоурология. М., 2003; с.106-50.
4. Natioal Comprehensive Cancer Network, Cancer – and Treatment – Kidney Cancer, Practice Guidelines in Oncology – v.1.2012.

#### **Контакты авторов:**

Карандин В.И.

e-mail: doctorkarandin@mail.ru

**Конфликт интересов:** отсутствует