ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ
(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **BY** (11) **10132**
(13) **C1**
(46) **2007.12.30**
(51) МПК (2006)
A 61F 7/00
A 61K 35/14
A 61K 38/20
A 61P 35/00

(54) **СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОЙ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ**

(21) Номер заявки: a 20041243
(22) 2004.12.28
(43) 2006.06.30
(71) Заявитель: Государственное учреждение "Научно-исследовательский институт онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова" (BY)
(72) Авторы: Исмаил-заде Рейман Садыкович; Жаврид Эдвард Антонович; Потапнёв Михаил Петрович; Вашкевич Екатерина Петровна (BY)
(73) Патентообладатель: Государственное учреждение "Научно-исследовательский институт онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова" (BY)
(56) BY a 20000061, 2001.
RU 2048824 C1, 1995.
RU 2057556 C1, 1996.
BY 1596 C1, 1997.
BY 1597 C1, 1997.
RU 2082458 C1, 1997.
RU 2123827 C1, 1998.
RU 97114158 A, 1999.
RU 99104832 A, 2001.

(57)
Способ лечения резистентной злокачественной опухоли, включающий проведение сеанса общей гипертермии и одновременно гипергликемии и химиотерапии, **отличающийся** тем, что общую гипертермию проводят при температуре 42-43 °С, а в конце сеанса гипертермии при снижении температуры тела до 40,5 °С и на следующий день реинфузируют ЛАК-клетки в количестве от $0,6\times10^9$ до $1,8\times10^9$, ресуспендированные в 500 мл физиологического раствора, со скоростью 100 мл/м^2×ч и одновременно капельно в течение 4 ч вводят интерлейкин-2 в дозе 0,125-0,25 млн. ед./м^2.

Изобретение относится к области медицины, а именно к способу лечения онкологического больного, в частности к способу лечения резистентной, далеко зашедшей злокачественной опухоли у детей и взрослых.

В настоящее время основным методом лечения больных с далеко зашедшими и резистентными формами злокачественных солидных опухолей является интенсивная или высокодозная химиотерапия. Однако результаты лечения остаются неудовлетворительными и, следовательно, лечение этой категории больных является нерешенной проблемой. Попытки использовать мегатерапию с пересадкой костного мозга и стволовых клеток периферической крови существенно не улучшают результаты лечения в связи с резистентностью опухоли к химиотерапии.

Известен способ лечения больных с далеко зашедшими и резистентными формами злокачественных опухолей путем использования химиотерапии в условиях общей гипер-

BY 10132 C1 2007.12.30

термии (41-42 °С - 3 ч) и гипергликемии (22-23ммоль/л) [1]. В зависимости от нозологической формы выбирают химиопрепараты и вводят их внутривенно при достижении температурного режима 40-41 °С.

Недостатком способа является невысокая эффективность лечения у больных резистентными, далеко зашедшими формами злокачественных опухолей. Более того, общая гипертермия (42 °С), с одной стороны, оптимальна для повреждения опухолевых очагов и усиления их иммуногенности, а с другой стороны, такая температура ингибирует иммунный ответ организма.

Наиболее близким к предлагаемому способу лечения резистентных, далеко зашедших и злокачественных опухолей является способ лечения злокачественных опухолей с использованием общей управляемой гипертермии, гипергликемии и химиотерапии с реинфузией аутолимфоцитарной массы [2]. Данный способ принят за прототип. Больному проводят химиотерапию в условиях общей гипертермии (42 °С - 3 ч), гипергликемии (22-33 ммоль/л). В зависимости от нозологической формы опухоли выбирают химиопрепараты (доксорубицин, циклофосфан, дактиномицин, карбоплатин, этопозид и др.), которые вводят внутривенно при достижении температурного режима 40-41 °С. Сеанс завершают реинфузией лимфоцитарной массы с Интерлейкином-2. Недостатком способа является то, что не полностью реализируют лечебный потенциал приготовленной лимфоцитарной массы.

Задачей настоящего изобретения является повышение эффективности лечения больного резистентной, далеко зашедшей формой злокачественной опухоли, включающего применение общей управляемой гипертермии (42-43 °С - 3 ч), гипергликемии (22-33 ммоль/л) с химиотерапией, реинфузии лимфокинактивированных киллеров (ЛАК-клеток) с введением иммуномодулятора (Интерлейкина-2).

Поставленная задача достигается тем, что к концу сеанса общей гипертермии, гипергликемии с химиотерапией больному дополнительно реинфузируют полученные от лимфоцитарной массы ЛАК-клетки с Интерлейкином-2.

Способ осуществляют следующим образом: накануне сеанса общей гипертермии (приблизительно за 48-72 часа) больному проводят цитоферез с забором лимфоцитов и моноцитов (лимфоциты $>1,5\times10^9$) в объеме 200 мл. Полученную лимфоцитарную массу центрифугируют при 1500 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре. Лимфоциты и моноциты периферической крови (МПК), скапливающиеся в виде белого кольца, и плазму отбирают с помощью плазмоэкстрактора, проводят подсчет клеток и цитологический контроль. Затем МПК в концентрации 3 млн/мл помещают в культуральную среду с добавлением глютамина, гентамицина и Интерлейкина-2 (препарата "Ронколейкин", 1000 МЕ/мл) и инкубируют в одноразовых пластиковых флаконах в течение 2 и 3 суток в CO_2-инкубаторе при 5 % CO_2, 37 °С, 95 % влажности. Полученные ЛАК-клетки дважды отмывают в физиологическом растворе, ресуспендируют в 500 мл 0,9 % раствора NaCl и передают для внутривенного введения. После инкубации МПК проводят их цитологический контроль, а также изучают цитотоксичность ЛАК-клеток. Бактериологический контроль проводят на 4 этапах: 1 - при получении крови из кабинета цитофереза; 2 - непосредственно перед инкубацией; 3 и 4 - перед введением через 2 и 3 суток соответственно.

После этого больного подвергают сеансу общей гипертермии (42-43 °С - 3 ч), гипергликемии (22-33 ммоль/л) с химиотерапией (в зависимости от гистологического типа опухоли - доксорубицин 40-50 мг/м^2, карбоплатин 400 мг/м^2, мелфалан 15-25 мг/м и др.). К концу сеанса общей гипертермии, когда температура тела снижается до 40,5 °С, реинфузируют ЛАК-клетки ($>1,5\times10^9$) в 500 мл физиологического раствора со скоростью 100 мл/м^2/ч, одновременно с капельным введением Интерлейкина-2 в дозе 0,125-0,25 млн ед./м^2 за 4 ч с целью поддержания жизнеспособности ЛАК-клеток.

Отличительными признаками заявляемого способа являются:

забор значительной части иммунокомпетентных клеток (лимфоциты, моноциты) до проведения сеанса общей гипертермии с последующей их инкубацией в течение 48-72 ч с целью получения ЛАК-клеток;

проведение сеанса общей гипертермии только в жестком температурном режиме (42-43 °С) (в оптимальной температуре для повреждения опухоли и повышения ее иммуногенности);

реинфузия ЛАК-клеток с Интерлейкином-2 к концу сеанса общей гипертермии при температуре 40,5 °С (в оптимальной температуре для стимуляции клеточного иммунитета).

Применение данного способа лечения обеспечивает:

возможность избежать для значительной части иммунокомпетентных клеток жесткого температурного режима, который индуцирует апоптоз лимфоцитов и ингибирует их активность, следовательно, подавляет иммунный ответ;

получение ЛАК-клеток, являющихся активным противоопухолевым биоагентом;

реинфузию ЛАК-клеток с Интерлейкином-2 при температуре 40,5 °С, которая оказывает максимальное противоопухолевое действие и стимулирует иммунный ответ организма;

взаимодействие повреждающего действия на опухоль всех используемых компонентов.

Эффективность предложенного способа лечения иллюстрируют следующие примеры.

Пример 1.

Больная В.Т.А. (история болезни № 283), дата рождения 28.05.1990, находилась на лечении в онкологическом отделении ГУ "Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии" с 07.02.2003 по 12.07.2004 (с запланированными перерывами) с диагнозом почечно-клеточный рак слева с распространением за пределы фасции Герота и массивными метастазами в паратрахеальных, парааортальных, паракавальных и левом подвздошном лимфатических узлах, IV стадия.

При КТ-исследовании брюшной полости 10.02.03 в левой половине определено округлой формы образование с негомогенной солидной структурой и кальцинатами. Размер опухоли составляет 146×170×110 мм.

Парааортально и паракавально от L_1 до L_5 определяются множественные увеличенные лимфатические узлы до 2 см с кальцинатами.

При рентгенологическом обследовании органов грудной клетки паратрахеально справа определяется конгломерат увеличенных лимфатических узлов до 25 мм.

14.02.2003 произведены нефрэктомия и лимфодиссекция забрюшинной области, включая левую подвздошную зону. Послеоперационный период протекал гладко. Гистологическое исследование (№ 443-59/03): светлоклеточный тип почечно-клеточного рака с распространением за пределы капсулы Герота и множественные метастазы во всех лимфатических узлах.

Согласно программе лечения больной (с 25.02.03 по 06.06.03) проведены 5 сеансов общей гипертермии (42 °С - 3 ч), гипергликемии (22-33 ммоль/л) с введением 50 мг адриамицина с интервалом 3 недели. До и после проведения сеанса (в течение 3 дней) вводился также Интрон-А в суммарной дозе 21 млн ед. В результате проведенного лечения была достигнута стабилизация опухолевого процесса.

09.07.03 при контрольном обследовании выявлено прогрессирование опухолевого процесса (увеличение лимфатических узлов в средостении, опухолевые очаги в левой подвздошной области и забрюшинном пространстве).

Проведены (с 22.07.03 по 09.09.03) еще 3 сеанса общей гипертермии (42 °С - 3 ч), гипергликемии (22-33 ммоль/л) с введением 500 мг карбоплатина и Интрон-А с интервалом 3 недели. Несмотря на это при контрольном КТ-исследовании органов грудной клетки и брюшной полости зафиксирована отрицательная динамика.

С паллиативной целью в течение 6 месяцев проводилась терапия сдерживания с Интрон-А по 3 млн ед. 3 раза в неделю.

05.07.04 больной проведен лимфоферез с забором $3,6x10^8$ клеток с последующей их инкубацией с целью получения ЛАК-клеток. Через 48 ч больной проведен сеанс общей гипертермии (42 °С - 3 ч), гипергликемии (22-33 ммоль/л) с введением 500 мг карбоплатина и при выходе из режима гипертермии, когда температура тела снизилась до 40,5 °С, перелиты ЛАК-клетки ($1,8\times10^9$) в 500 мл физиологического раствора со скоростью 100 мл/м^2/ч, одновременно с капельным введением Интерлейкина-2 в дозе 0,25 млн ед./м^2 за 4 ч с целью поддержания жизнеспособности ЛАК-клеток. На следующий день перелиты ЛАК-клетки ($1,8\times10^9$) в 500 мл физиологического раствора со скоростью 100 мл/м^2/ч с Интерлейкином-2 в дозе 0,125 млн ед./м^2.

Осложнений лечения не отмечено. При контрольном УЗ-исследовании брюшной полости 26.07.04 опухолевых образований не выявлено.

27.10.04 проведено контрольное КТ-исследование органов грудной клетки и брюшной полости. Отмечена положительная динамика за счет уменьшения пораженных лимфатических узлов в 1,5 раза. В настоящее время состояние девочки вполне удовлетворительное.

Пример 2.

Больной Ч.П.А. (история болезни № 283), дата рождения 28.05.1990, находился на лечении в инфекционном отделении ГУ РНПЦДОГ с 04.09.2002 по 05.09.2004 (с запланированными перерывами) с диагнозом злокачественная герминоклеточная опухоль переднего средостения и правого гемиторакса с метастазами в плевре и лимфатических узлах заднего средостения, реактивный плеврит, перикардит. $T_{2b}N_1M_1$, IV стадия. Состояние при поступлении очень тяжелое, обусловлено массивным распространением опухолевого процесса, коллабированием правого легкого, дислокацией средостения влево, сдавлением правых брахиоцефальных сосудов, синдромом сдавления ВПВ.

КТ-исследование органов грудной клетки от 04.09.2002. Правый гемиторакс субтотально занят огромных размеров опухолью кистозно-солидной структуры с участками жировой и кальцинированной плотности в центре размером 120×150×120 мм, увеличивающейся ближе к нижним отделам. Образование исходит из передних отделов средостения от уровня яремной вырезки до диафрагмы, компрессируя и коллабируя правое легкое. Контуры паракостальной, диафрагмальной плевры неровные, бугристые за счет разновеликих мягкотканевых образований, интимно прилежащих к плевре от 1 до 3 см. В нижних отделах плевральной полости имеются признаки выпота негомогенной структуры. Левое легкое без особенностей. Средостение смещено влево. Сосудистые элементы компрессированы, дислоцированы, дифференцируются с трудом. В полости перикарда выпот, в заднем средостении кистозный узел до 4 см (лимфатический узел). Печень смещена книзу. Заключение КТ: опухолевое образование правого гемиторакса (герминоклеточное) с метастазами по плевре справа. Плеврит справа. Перикардит. Метастазы в лимфатических узлах заднего средостения.

Альфа-фетопротеин в крови при поступлении - 231 нг/мл (норма - менее 8,5 нг/мл). Гистологическое заключение № 2573-75 от 11.09.02: злокачественная опухоль.

Больному проведено программное лечение: с 6.09.02 по 3.11.02 получил 3 блока полихимиотерапии по схеме PEI (цисплатин, ифосфамид и вепезит). Для повышения эффективности лечения 26.11.02 четвертый блок химиотерапии проведен в условиях сеанса общей гипертермии. Отмечена хорошая регрессия опухоли, 27.12.02 выполнена торакотомия, удаление остаточной массы опухоли. Гистологическое заключение № 3877-85 от 27.12.02: удаленная опухоль представлена зрелыми элементами тератомы с очагами некроза. Проведен еще один блок химиотерапии по схеме PEI.

При контрольном КТ-исследовании органов грудной клетки 13.05.03 выявлен локальный рецидив. Уровень альфа-фетопротеина более 1000 нг/мл.

Проведены противорецидивные блоки химиотерапии (с 20.05.03 по 09.07.03, всего 3 блока) по схеме BEP (блеомицин, цисплатин и вепезит) и 29.07.03 выполнена торакотомия, удаление рецидивной опухоли.

КТ органов грудной клетки от 20.08.03. Сохраняется мягкотканевое уплотнение парамедиастинально у основания уплотненной главной междолевой плевры справа 16×18 мм. Горизонтальная междолевая плевра и паракостальная в передних отделах также уплотнена, средостение смещено и подтянуто вправо. В заднем средостении лимфатический узел 17×15 мм с кальцинатом. В связи этим проведены еще 2 блока химиотерапии и как консолидирующий этап лечения с 4.11.03 по 25.11.03 проведена высокодозная химиотерапия с поддержкой периферических стволовых клеток, а также мезенхимальных клеток костного мозга.

11.06.04 по данным КТ органов грудной клетки диагностирован локальный рецидив (второй) опухоли. Уровень альфа-фетопротеина 196,5 нг/мл.

15.06.04 выполнена торакотомия и удаление метастаза верхней доли правого легкого. Гистологическое заключение № 2097 - 100. Ткань легкого с узловым метастазом злокачественной герминоклеточной опухоли - опухоли желточного мешка с участками некроза.

В связи с этим решено перейти на блоки химиотерапии по схеме VAB-6 (винбластин, дактиномицин, циклофосфан, блеомицин и цисплатин). После проведения двух блоков VAB-6 при контрольном КТ органов грудной клетки 26.08.04 диагностирован рецидив (третий) болезни; метастатическое поражение левого легкого (S_{8-9}). В связи с химиорезистентностью опухоли дальнейшая химиотерапия признана нецелесообразной.

31.08.04 больному проводился лимфоферез с забором $1{,}2 \times 10^8$ клеток с последующей их инкубацией с целью получения ЛАК-клеток. Через 48 ч проведен сеанс общей гипертермии (42,5 °С - 3 ч), гипергликемии (22-33 ммоль/л) с введением 920 мг карбоплатина и при выходе из режима гипертермии, когда температура тела снизилась до 40,5 °С, перелиты ЛАК-клетки ($0{,}8 \times 10^9$) в 500 мл физиологического раствора со скоростью 100 мл/м^2/ч, одновременно с капельным введением Интерлейкина-2 в дозе 0,125 млн ед./м^2 за 4 ч с целью поддержания жизнеспособности ЛАК-клеток. На следующий день перелиты еще ЛАК-клетки ($0{,}6 \cdot 10^9$) в 500 мл физиологического раствора со скоростью 100 мл/м^2/ч с Интерлейкином-2 в дозе 0,125 млн ед./м^2.

Осложнения лечения не отмечено.

15.09.04 выполнена контрольная КТ органов грудной клетки, описанный метастаз в нижней доли левого легкого от 28.08.04 в настоящий момент не определен.

Таким образом, предложенный способ лечения хорошо переносится больными, является высокоэффективным у этой тяжелой категории больных. Данный способ лечения может быть применен в лечебных онкологических учреждениях, имеющих соответствующее оборудование для проведения сеансов общей управляемой гипертермии.

Источники информации:

1. Жаврид Э.А. и др. Гипертермия и гипергликемия в онкологии. - Киев: Наукова думка, 1987. - С. 191-192.

2. BY 6066, 2003 (прототип).

Национальный центр интеллектуальной собственности.
220034, г. Минск, ул. Козлова, 20.