

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Р.А. Часнойть
10 апреля 2009 г.
Регистрационный № 183-1208

**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ
ОПУХОЛЕЙ У ДЕТЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛАК-ТЕРАПИИ
И ГИПЕРТЕРМИИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии», ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, доц. Р.С. Исмаил-заде, д-р мед. наук, проф. Э.А. Жаврид, д-р мед. наук, проф. О.В. Алейникова, д-р мед. наук, проф. М.П. Потапнев, канд. биол. наук М.В. Белевцев, канд. биол. наук В.П. Савицкий, канд. биол. наук Л.В. Спивак, Е.В. Вашкевич, Я.И. Исайкина, А.Н. Мазуренко, Н.А. Петровская

Минск 2009

КРИТЕРИИ ВКЛЮЧЕНИЯ/ИСКЛЮЧЕНИЯ

Данная инструкция разработана для оптимизации лечения детей с генерализованными и химиорезистентными формами злокачественных солидных опухолей.

Одним из перспективных направлений в этом плане является общая управляемая гипертермия и биотерапия. Общая гипертермия (ОГ) усиливает повреждение опухолевой ткани при одновременном воздействии с цитостатиками. Влияние гипертермии на трансмембранный перенос и метаболизм может привести к преодолению лекарственной устойчивости и повышению иммуногенности опухоли. Не являясь канцеро- и мутагенным агентом, гипертермия может вызвать в опухоли как апоптоз, так и некроз. Лимфокинактивированные киллеры (ЛАК) — уникальный механизм противоопухолевой резистентности, а возможно и иммунологического надзора против опухолей у человека и животных. Они так же, как и натуральные киллеры (НК) оказывают избирательное действие на трансформированные клетки, вызывая лизис опухолевых клеток-мишеней, и не влияют на нормальные клетки своего организма.

Комплексный подход с применением общей управляемой гипертермии и химиотерапии с различными цитокинами или биоагентами может вызвать максимальное повреждение опухоли, и тем самым занять достойное место в арсенале лечебных мероприятий при лечении генерализованных и химиорезистентных форм злокачественных солидных опухолей у детей.

Проведение общей гипертермии у детей в жестком температурном режиме является сложной медико-технической проблемой. Только специально подготовленная бригада врачей-анестезиологов, онкологов, инженерно-технического персонала и медицинских сестер может планировать и успешно проводить такую процедуру. Необходимо изучение функционального состояния сердца, почек, печени и свертывающей системы для безопасного проведения сеанса. Необходима тесная кооперация всего медперсонала.

На проведение сеанса ОГ должно быть получено письменное согласие родителей. Лечебный протокол с применением ОГ должен быть утвержден на этическом комитете лечебного учреждения.

Область применения: детская онкология.

Уровень внедрения: республиканский.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

Цитаферез: клеточный сепаратор крови, коллекционные мешки.

Получение ЛАК-клеток: центрифуга, плазмоекстрактор, световой микроскоп, уксусная кислота для подсчета клеток, одноразовые стерильные пластиковые флаконы с вентилируемой крышкой для суспензионных культур, культуральная среда, L-глутамин, антибиотик, рекомбинантный интерлейкин-2 (Ронколейкин), CO₂-инкубатор, физиологический раствор.

Цитологический контроль: лазерный проточный цитофлюориметр, специфические моноклональные антитела, фосфатно-солевой буфер, предметные стекла, окраска гематоксилинэозином по Романовскому, световой микроскоп.

Анализ цитотоксической активности: лазерный проточный цитофлюориметр, эритромиелобластная клеточная линия К-562, фосфатно-солевой буфер, флюоресцентные красители карбоксифлюоресцеиндиацетат-сукцинилмидил эфира и пропидиум иодида, культуральная среда, эмбриональная телячья сыворотка, L-глутамин, антибиотик.

Бактериологический контроль: гемокультиватор, гем-флаконы для проведения посевов крови, баканализатор.

Сеансы общей гипертермии проводят на установках «Эмона» (Фрязино, Россия) и «Птичь» (Республика Беларусь) с генератором, работающим с частотой 13,56 МГц. Для одновременного проведения общей и регионарной гипертермии установка «Яхта-5» оснащена вторым генератором, работающим с частотой 40,68 МГц.

Для проведения сеанса ОГ кроме самой установки необходимо следующее оборудование:

1. Современный наркозный аппарат.
2. Мониторы для контроля за состоянием сердечно-сосудистой и дыхательной систем больного (пульс, АД, ЭКГ и сатурация кислорода в венозной, а при необходимости и артериальной крови и др.).
3. Аппарат для краниocereбральной гипотермии (типа «Холод-2М» или «ПГВ-02»).
4. Экспресс-анализаторы для определения концентрации глюкозы в крови.
5. Экспресс-анализаторы для определения газов в крови и КЩС.
6. Оборудование для оказания в случае необходимости экстренной медицинской помощи (дефибрилятор и др.).

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Далеко зашедшие и генерализованные формы злокачественных опухолей, при которых стандартные терапевтические методы лечения неэффективны.

2. Наличие биологических факторов, ухудшающих прогноз заболевания (по данным морфологического, цитогенетического, молекулярно-биологического и др. исследований).

3. Неоперабельные формы опухолей с целью перевода их (в результате максимального повреждения) в резектабельное состояние.

4. Первичные химиорезистентные формы опухолей.

5. Развившаяся лекарственная устойчивость к цитостатикам (прогрессирование на лечении, ранний рецидив и т. п.). При этом нельзя противопоставлять ОГ интенсивной или высокодозной химиотерапии с пересадкой костного мозга или периферических стволовых клеток крови. Они могут только дополнять друг друга.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Тяжелое общее состояние больного (70% по шкале Карновского или ниже II степени по шкале ВОЗ).
2. Нарушения функции сердца с явлениями декомпенсации (укорочение ФВ более 10%), значительное нарушение функции печени (повышение активность печеночных энзимов более чем в 4 раза) и почек (клиренс креатинина <60 мл/мин X Std).
3. Локализация опухоли в области головы и шеи.
4. Угроза обильного и неконтролируемого кровотечения из опухоли вследствие распада.
5. Лейкопения (<2000 и нейтрофилов <1000), тромбоцитопения (<80000).
6. Некоторые сопутствующие патологии (активный воспалительный процесс, ССВО, активная форма туберкулеза или висцерального грибкового процесса, сахарный диабет и др.).
6. Наличие металлических эндопротезов или венозных катетеров с металлической пластиной (типа Port-A- Cath).
7. Наличие других противопоказаний к длительному эндотрахеальному наркозу.
8. Первичное или вторичное поражение ЦНС.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА

Получение ЛАК клеток. Больным проводится цитаферез на аппарате «Baxter» (США) с забором мононуклеарных клеток периферической крови (МПК) в количестве $1-2 \times 10^9$ в конечном объеме 200 мл стабилизированной плазмы за 72 ч до планируемого сеанса общей гипертермии. Полученные МПК ($\geq 80\%$ лимфоцитов) центрифугируют при 1500 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре для осаждения примеси эритроцитов. МПК, скопившиеся в виде белого кольца в слое плазмы, отбирают методом плазмэкстракции и проводят подсчет клеток. Затем клетки в концентрации 2–3 млн/мл помещают в культуральную среду RPMI-1640 с добавлением глутамина, гентамицина (все реагенты фирмы Sigma, США) и ИЛ-2 («Ронколейкин», Биотех, Россия; 1000 МЕ/мл) и инкубируют в одноразовых пластиковых флаконах (Sarstedt, Германия) в течение 2–3 сут в CO_2 -инкубаторе при 5% CO_2 , 37 °С, 95% влажности. Полученные аутологичные ЛАК-клетки дважды отмывают в физиологическом растворе, ресуспендируют в 250–500 мл физиологического раствора и передают в клинику для внутривенного введения. До и после инкубации МПК проводят их цитологический контроль, а также *in vitro* анализ цитотоксической активности ЛАК-клеток против эритромиелобластной клеточной линии К-562, полученной из института цитологии РАМН (Санкт-Петербург, Россия). Бактериологический контроль проводят на 4-х этапах: 1 — при получении взвеси клеток из кабинета цитофереза, 2 — непосредственно перед

инкубацией, 3 и 4 — перед введением больному через 2 или 3-е сут соответственно.

Сеансы ОГ проводятся под общим комбинированным эндотрахеальным закисно-кислородным (или оксибутиратом натрия) наркозом в сочетании с нейролептаналгезией (дроперидол+фентанил) после тщательной подготовки пациента (на голодный желудок, после тщательной очистительной клизмы, постановки двухканального подключичного катетера и катетеризации мочевого пузыря).

Время выхода в режим $41\text{ }^{\circ}\text{C}$ составляет в среднем 40–50 мин. Температура тела контролируется датчиками, установленными в прямой кишке и в наружном слуховом проходе. При достижении этой температуры начинается охлаждение головы обдувом холодного воздуха ($0\text{--}4\text{ }^{\circ}\text{C}$) с помощью аппарата для краниоспинальной гипотермии «Холод–2М». Необходимый температурный режим $42\text{--}42,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (пиковая температура иногда достигала $43,0\text{ }^{\circ}\text{C}$) поддерживался 160–180 мин.

Базовый температурный режим определяется индивидуально в зависимости от переносимости процедуры. Для усиления противоопухолевого эффекта термохимиотерапии больным вводят 40%-й раствор глюкозы в дозе 3,25 мл/кг в течение первых 30 мин, затем 2,5 мл/кг/ч. Уровень гипергликемии во время сеанса составляет 20–25 ммоль/л.

Анестезиолого-реанимационное обеспечение ОГ включает, как правило, коррекцию закономерно развивающихся сдвигов деятельности жизненно важных систем и функций организма. Предупреждение чрезмерной тахикардии и аритмии, а также профилактика ишемии миокарда обеспечивается введением в вену лидокаина в дозе 0,1–1,0 мг/кг/ч и обзидана 0,25–0,5 мг/ч. Допустимое повышение частоты пульса составляет не более 145 уд./мин, систолического артериального давления — не выше 160–170 и не ниже 90 мм рт. ст., диастолического — не ниже 50–60 мм рт. ст., центрального венозного давления — не выше 150 мм вод. ст., диурез — не ниже 250–300 мл/м²/ч. Если уровень гипертермии превышает 42 ° , применяют ангиопротекторы (дицинон, адроксон). Превентивные меры от теплового протеолиза с помощью уротропина (гексометилентетрамин) позволяют повысить температуру до сверхвысокого уровня ($43\text{--}44\text{ }^{\circ}\text{C}$). Такой подход уже применяется в Новосибирске (Россия) при лечении различных вирусных заболеваний. Это обстоятельство также привлекло наше внимание, т. к. проведение сеанса общей управляемой гипертермии при температуре выше чем $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ привело бы к наибольшему повреждению далеко зашедшей опухоли. Уротропин (40%-й раствор) вводят дважды: при достижении пика ректальной температуры ($42,5\text{--}43\text{ }^{\circ}\text{C}$) в дозе 0,2 мл/кг и в половинной дозе при выходе из гипертермического режима.

Во время сеансов ОГ проводят химиотерапию в зависимости от типа злокачественной опухоли и ранее проведенной полихимиотерапии. При этом используют: доксорубицин ($40\text{--}50\text{ мг/м}^2$), карбоплатин (400 мг/м^2), винкристин ($1,5\text{ мг/м}^2$) + циклофосфан ($500\text{--}1000\text{ мг/м}^2$), дактиномицин ($0,5\text{--}$

1,0 мг/м²), этопозид (100–150 мг/м²), ифосфамид (3 г/м²) и мелфалан (1 мг/кг). Все химиопрепараты за исключением циклофосфана и ифосфамида вводят во время сеанса ОГ при достижении температуры 40-41 °С. Циклофосфан и ифосфамид, а также Интрон-А (IFN-α2b) вводят за 1 ч до начала сеанса ОГ ввиду особенностей фармакокинетики их активного метаболита (рис.). Лимфокин-активированные киллеры (ЛАК-клетки) переливаются больным при выходе из гипертермического режима. Все жизненно важные параметры организма (ЧСС, АД, сатурация кислорода, диурез, КЩС, температура тела и др.) мониторируются во время и после проведения сеанса ОГ.

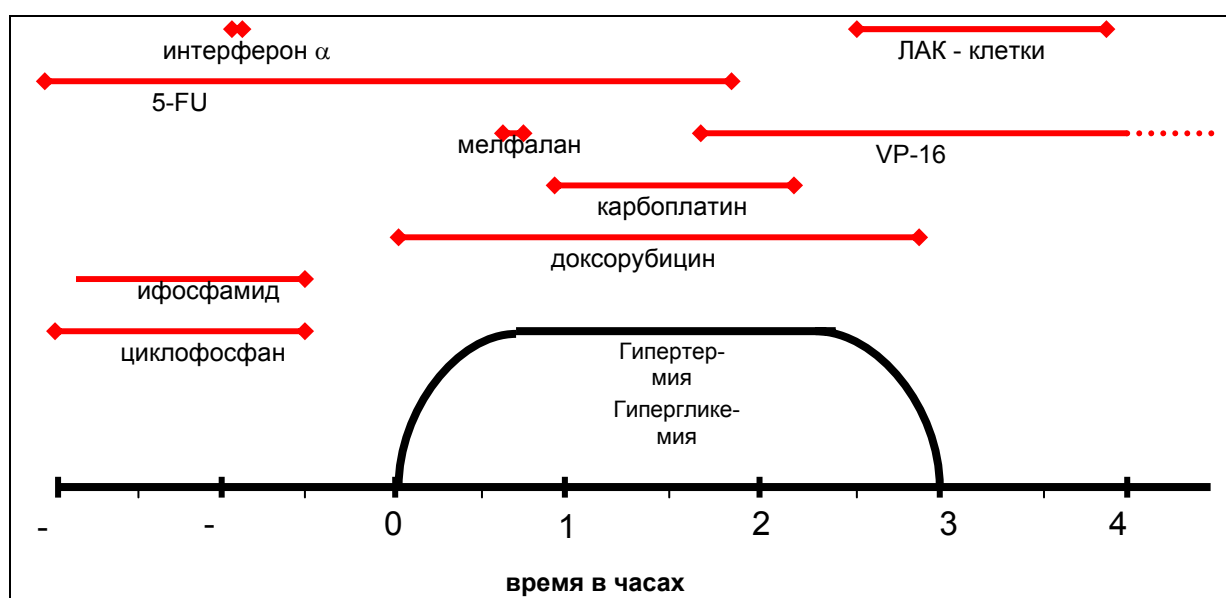


Рис. Время введения химиопрепаратов при проведении сеанса ОГ

Регламентированный минимум инфузионной тактики предупреждения и коррекции возможных патофизиологических и патобиохимических сдвигов включает (кроме глюкозы): 1) полиэлектrolитный раствор, содержащий в одном литре 6,3 г дигидрофосфата калия и 6,0 хлорида натрия, 200–240 мл/м²/ч; 2) полиэлектrolитный раствор, содержащий в одном литре 10,0 г хлорида магния шестиводного, 5,0 г хлорида кальция, 6,0 г хлорида натрия и 7,5 г хлорида калия, 200–250 мл/м²/ч; 3) после окончания сеанса переливают 500–700 мл/м² физиологического раствора с добавлением хлорида калия. Дальнейшая инфузионная тактика зависит от состояния больного и показателей крови.

На фоне сеансов ОГ (на протяжении последних 40–60 мин) целесообразно проведение локальной или локорегионарной гипертермии отдельных опухолевых очагов в мягких тканях, костях, конгломератах лимфатических узлов. При этом температуру в самой опухоли можно поднять до уровня 44–46 °С и поддерживать как минимум 60 мин. Для этой цели, как уже сказано выше, установка «Яхта-5» оснащена вторым

генератором, работающим с частотой 40,68 МГц, и соответствующими излучателями.

Совместное применение ОГ и ЛАК клеток. Аутологичные ЛАК-клетки в дозе $0,5-0,75 \times 10^9$ вводили внутривенно медленно в конце процедуры ОГ при снижении температуры тела до $40,5-41^\circ\text{C}$ в 500 мл физиологического раствора со скоростью 100 мл/м²/час вместе с интерлейкином-2 в дозе 0,125–0,250 млн ЕД/м². На следующий день после сеанса ОГ введение ЛАК-клеток повторяли без ОГ.

Применение ОГ и ЛАК-терапии направлено на усиление действия стандартной химиотерапии, причиняя тем самым максимальное повреждение распространенной и химиорефрактерной опухоли. ОГ и ЛАК-терапия применяется с интервалом 9–12 недель.

Время и объем дополнительно проводимого хирургического, химиотерапевтического лечения и лучевой терапии выбирается индивидуально в зависимости от локализации, распространенности процесса и ответа на проводимое лечение.