

W III Katedrze i Klinice Chirurgii AM w Poznaniu siedmiu chorym z nieoperacyjnymi przerzutami do wątroby podawano doguzowo TNF- α (tumour necrosis factor α) w dawce 0,6-1,0 mg. U czterech pacjentów ostrzykiwania dokonano śródoperacyjnie, w trzech przypadkach przezskórnie, pod kontrolą tomografii komputerowej. U pięciu pacjentów wystąpiły niewielkiego stopnia objawy uboczne, utrzymujące się do 48 godzin. Czas obserwacji wynosi 4-10 miesięcy. W dwóch przypadkach zaobserwowano regresję zmian nowotworowych, w czterech brak progresji ostrzykiwanych ognisk. Jeden chory zmarł z powodu zaawansowanej choroby nowotworowej. Mała inwazyjność zabiegu ostrzykiwania, dobre wstępne wyniki oraz brak powikłań zachęcają do prowadzenia dalszych badań.

Słowa kluczowe: TNF- α , rak jelita grubego, guzy przerzutowe wątroby

Seven patients were treated with TNF- α (tumour necrosis factor α) in the 3rd Department of Surgery in Poznań in 1998. TNF- α (0,6 – 1 mg) was given during laparotomy in four cases and percutaneously under computer tomography control in three cases. Mild flu-like symptoms occurred in 5 cases and usually subsided after 48 hours. All the patients remain under continuous surveillance and CT scanning is performed every third month. Regression of the tumour diameter has been observed in two patients whereas the diameter remained unchanged in four cases. One patient died due to disseminated malignant process. Few side effects and satisfactory preliminary results encourage farther investigation.

Key words: TNF- α , colorectal cancer, liver metastatic tumors

Leczenie paliatywne nowotworów przerzutowych wątroby metodą doguzowego podawania TNF- α

Palliative treatment of the liver metastatic tumours – usefulness of the intratumoral injection of the TNF- α

Michał Drews¹, Tomasz Banasiewicz¹, Jacek Paszkowski¹, Jacek Szmeja¹, Przemysław Pyda¹, Kazimierz Rzymowski², Maria Koziółkiewicz³, Alina Owczarek³, Maria Waszewska³

WSTĘP

Chorzy z przerzutami do wątroby stanowią znaczny odsetek pacjentów z nowotworem w obrębie przewodu pokarmowego. Szacuje się, iż u 40-50 proc. chorych z nowotworem jelita grubego występują w różnym stopniu zaawansowania guzy przerzutowe do wątroby [1, 2]. W większości przypadków u tych chorych wykonuje się jedynie zabiegi paliatywne. Jedną z metod stosowanych w przypadkach nieoperacyjnych przerzutów do wątroby jest ostrzykiwanie ognisk nowotworowych. Najczęściej stosowanym środkiem jest alkohol etylowy [3, 4]. Prowadzi się również badania nad wykorzystaniem cytokin i innych biologicznie czynnych substancji [5, 6, 7, 8]. TNF- α (ang. *tumor necrosis factor* – czynnik martwicy nowotworów) jest cytokiną syntetyzowaną przez aktywowane makrofagi (monocyty), zbudowaną ze 157 aminokwasów. Wydzielanie TNF- α występuje w odpowiedzi na lipopolisacharydy, inne czynniki pochodzenia wirusowego lub bakteryjnego. Czynnikiem stymulującym wydzielanie tej cytokiny jest również obecność komórek nowotworowych.

Biologiczne właściwości TNF- α są plejotropowe. Do najważniejszych zaliczyć należy:

- ▶ aktywność cytostatyczną (cytotoksyczną), obserwowaną wobec wielu typów linii nowotworowych,
- ▶ aktywność nekrotyczną wykazywaną *in vivo* wobec wielu rodzajów guzów litych.

TNF- α jako immunomodulator stymuluje makrofagi do produkcji interleukiny-1, GM-CSF oraz prostaglandyn. Także produkcja interferonu przez leukocyty zależna jest od TNF- α . Jako czynnik odpowiedzialny za proces kacheksji TNF- α powoduje supresję lipazy lipoproteinowej, a więc kluczowego enzymu w syntezie tłuszczów [9].

W literaturze obecne są doniesienia potwierdzające skuteczność stosowania TNF

w przypadkach guzów nowotworowych pierwotnych i przerzutowych, zarówno w modelach doświadczalnych [10], jak i badaniach klinicznych [11, 12, 13, 14, 15]. Podkreśla się również skuteczność podawania TNF doguzowo [16].

MATERIAŁ I METODY

W III Katedrze i Klinice Chirurgii w Poznaniu od roku prowadzi się badania dotyczące wykorzystania TNF w przypadkach nieoperacyjnych przerzutowych nowotworów wątroby. Badania prowadzone są zgodnie z wymogami Konwencji Helsińskiej, za zgodą Terenowej Komisji Etyki Badań Naukowych przy Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. Do chwili obecnej zakwalifikowano do podania hrecTNF- α siedmiu chorych (cztery kobiety i trzech mężczyzn). Informacje dotyczące chorych zawarte są w tabeli 1. TNF- α podawany był chorym z rozpoznaniem raka jelita grubego z przerzutami do wątroby (rozpoznanymi na podstawie badań KT, w części przypadków potwierdzonymi badaniami histologicznymi). Guzy przerzutowe określono jako nieoperacyjne, gdy ich ilość przekraczała 5 lub/i zlokalizowane były w obu płatach wątroby lub/i naciekały struktury anatomiczne wnęki. U dwóch chorych z przerzutami w jednym płacie odstąpiono od radykalnego zabiegu ze względu na upośledzenie wydolności metabolicznej wątroby i zły stan ogólny.

Wykorzystywana przez nas cytokina (hrecTNF- α ; seria 11,13) została udostępniona dzięki uprzejmości prof. Wojciecha W. Steca z Zakładu Chemii Bioorganicznej Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi. Aktywność biologiczna produktu wynosiła 2-4 x 10⁷ j./mg (za jednostkę uważa się tę ilość białka, która powoduje lizę 50 proc. komórek L-929 w warunkach standardowego oznaczenia). Stosowana przez nas dawka wynosiła 0,6-1,0 mg (1-4 x 10⁷ I.U.) hrecTNF- α na pacjenta, za-

¹ III Katedra i Klinika Chirurgii Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

² Zakład Radiologii Gastroenterologicznej Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

³ Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Zakładu Chemii Bioorganicznej Państwowej Akademii Nauk w Łodzi

Tab. 1. Charakterystyka przypadków zakwalifikowanych do doguzowego podania TNF- α do nowotworu przerzutowego wątroby. *Characteristic of the patients qualified to intratumoral injection of TNF- α to metastatic liver tumours*

Wiek Age	Płeć Sex	Rozpoznanie histopat <i>Histopathological diagnosis</i>	Rozpoznanie histopat przerzutu <i>Histopathological diagnosis of the metastatic changes</i>	Sposób podania <i>Method of the injection</i>	Czas obserwacji <i>Follow-up time</i>	Ilość ognisk nowotworowych <i>Number of the metastatic changes</i>	Skutki uboczne <i>Side effects</i>
P.S l.83	M.	<i>Adenocarcinoma mucinosum coli</i> (G1). pT4, N2, M1; Dukes D; Astler-Coller D2	<i>Metastasis adenocarcinomatis</i>	Śródoperacyjnie	4 miesiące	2 (\varnothing max 5 cm) w obu płatach	Brak
R.B. l.75	K	<i>Adenocarcinoma tubulare</i> (G3) PT3, N2, M1. Dukes C; Astler-Coller C2	Biopsja cienkoigłowa: <i>cellulae carcinomatosae-adenocarcinoma</i>	Przezskórnice	6 miesięcy	2	Reakcja anafilaktyczna (spadek RR do 90/50 tętno 100/min, temp. 35,0°C)
W.K. l.64	M.	<i>Adenocarcinoma tubulare recti</i> (G1). PT3, N2, M1; Dukes C; Astler-Coller C2	Brak	Przezskórnice	10 miesięcy	2 (\varnothing max 7 cm), w obu płatach	Dreszcze, temp. 38,8°C
D.B. l.78	K	<i>Ca medullare thyroidei</i>	<i>Haemangioendothelioma epitelioides hepatis hyalinisanas</i>	Śródoperacyjnie	6 miesięcy	1 (\varnothing 6 cm)	Dolegliwości bólowe w prawym podżebrzu
N.K. l.64	K	<i>Adenocarcinoma tubulare recti</i> (G2) pT4, N3, M1; Dukes D, Astler -Coller D2	<i>Metastasis adenocarcinomatosis</i>	Przezskórnice	9 miesięcy	5 (\varnothing max 6 cm), w obu płatach	Dreszcze, uczucie zimna, rozpieranie w prawym podbrzuszu, Temp. 38,4°C
W.M. l.72	M.	<i>Adenocarcinoma tubulare recti</i> (G2) pT4, N2, M1; Dukes C, Astler -Coller C2	<i>Adenocarcinoma tubulare</i>	Śródoperacyjnie	7 miesięcy	3 (\varnothing max 3 cm), w obu płatach	Brak
M.K. l.75	K	<i>Adenocarcinoma tubulare recti</i> (G3) pT3, N3, M1; Dukes C, Astler -Coller C2	Brak	Śródoperacyjnie	6 miesięcy	3 (\varnothing max 5 cm), w jednym płacie	Brak

leżnie od ilości i/lub wielkości ostrzykiwanych zmian. Preparat rozcieńczano w 5-10 ml 0,9 proc. NaCl, zależnie od wielkości zmiany. Roztwór zawierający hrecTNF- α podawany był śródoperacyjnie (4 przypadki), bądź przezskórnice pod kontrolą tomografii komputerowej (3 przypadki). Preparat podawany był do obwodowej części guza. Unikano kilkakrotnych nakłuć miększu wątroby, wycofywano igłę z guza i wprowadzano pod innym kątem, tak, aby wprowadzić środek w sześć punktów obwodu guza.

WYNIKI

W ciągu 6-8 godzin po zabiegu obserwowaliśmy u trzech pacjentów wzrost temperatury ciała (najwyższa obserwowana to 38,8°C), bóle w okolicy podżebrzowej prawej, osłabienie, złe samopoczucie, dreszcze. W jednym przypadku zaobserwowaliśmy znaczny spadek ciśnienia tętniczego i temperatury (do 35,3°C). Wszystkie opisane skutki uboczne miały charakter przejściowy, wymagały jedynie leczenia objawowe-

go (niesteroidowe leki przeciwzapalne, w jednym przypadku hydrokortyzon 100 mg i.v.). Stan chorych wracał do normy w czasie 1-2 dob po ostrzyknięciu przerzutów. Nie stwierdziliśmy powikłań odległych związanych z podawaniem TNF- α .

Czas obserwacji pacjentów poddanych tej formie leczenia wynosi od 4 do 10 mies. Chorzy znajdują się pod stałą kontrolą poradni przyklinicznej. Tomografia komputerowa wykonywana co 3 mies. wykazuje zahamowanie wzrostu guzów u czterech chorych i regresję zmiany u dwóch. Jedna chora zmarła cztery miesiące po zabiegu (zaawansowana choroba nowotworowa).

OMÓWIENIE WNIOSKÓW

Terapia przeciwnowotworowa z użyciem TNF staje się coraz lepiej udokumentowaną, tak doświadczalnie, jak i klinicznie, formą leczenia. Ma ono obecnie najczęściej charakter uzupełniający bądź paliatywny. Wciąż otwartym pozostaje pytanie dotyczą-

ce optymalnej dawki i drogi podania TNF. W literaturze przedmiotu znaleźć można dużą rozpiętość stosowanych dawek TNF, począwszy od dawek rzędu 0,01-0,1 mg [17, 18, 19, 20] do 1,0 mg i więcej [13, 19, 21]. Często ci sami autorzy stosowali bardzo zróżnicowane dawki, np. Gamm 5-400 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ [19] czy Schiller 2-275 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ [18]. Przy podawaniu dożylnym stosowano dawki niższe, zazwyczaj 0,25 mg [22, 23, 24], choć bez większych skutków ubocznych, podawano również 652 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ (ok. 1,2 mg dla pacjenta o masie 70 kg) [25]. W modelu doświadczalnym u szczurów dawka 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (w przeliczeniu ok. 3 mg dla pacjenta o masie 70 kg) podana dożylnie była letalna dla części zwierząt, choć podana doguzowo nie wywoływała istotnych dla życia zaburzeń [26]. Na podstawie analizy doniesień literaturowych, starając się ustalić dawkę stosunkowo wysoką, ale w pełni bezpieczną, stosowaliśmy 0,6-1,0 mg (1-4 x 10⁷ I.U.) hrecTNF- α na pacjenta, zależnie od wielkości i ilości guzów przerzutowych.

Wybór optymalnej drogi podania TNF związany jest z charakterem i lokalizacją zmiany nowotworowej. W leczeniu guzów przerzutowych wątroby podawanie tej cytokiny bezpośrednio do ogniska nowotworowego wydaje się być postępowaniem właściwym, gdyż w przypadku podania TNF drogą dożylną jego stężenie w guzie jest kilkakrotnie mniejsze niż w mięszu wątroby [27]. Doguzowe podawanie TNF umożliwi również minimalizację skutków ubocznych, związanych z ogólnoustrojowym działaniem TNF.

Zaobserwowane przez nas objawy uboczne, występujące po podaniu TNF, były stosunkowo łagodne i ustępowały po 24-48 godz. Najczęściej występujące, jak gorączka, dreszcze, objawy rzekomo grypowe można tłumaczyć uwolnieniem mediatorów zapalenia przez aktywowane makrofagi, neutrofile, limfocyty [28].

Zdecydowana większość autorów podaje występowanie podobnych skutków ubocznych w grupach chorych leczonych przy pomocy TNF. Droga podania i wielkość dawki wydają się nie mieć bezpośredniego związku z nasileniem objawów. Sporadycznie w literaturze spotyka się doniesienia o poważnych, stanowiących zagrożenie dla życia pacjentów, objawach związanych z podawaniem TNF, jak np. reakcja anafilaktyczna czy ostry obrzęk płuc [29].

Nasze doniesienie ma charakter wstępny. Krótki jak na razie czas obserwacji uniemożliwia precyzyjną analizę skuteczności doguzowego podawania TNF- α . Zahamowanie progresji rozwoju guza w dwóch przypadkach oraz potwierdzone badaniem KT zmniejszenie wielkości zmiany nowotworowej potwierdzają przeciwnowotworowy efekt działania użytej przez nas cytokiny. Niewielkiego stopnia skutki uboczne, ustępujące szybko samoistnie bądź po leczeniu objawowym, nie stanowią zbyt dużego obciążenia dla zdrowia pacjentów. Sądzimy, iż prezentowane przez nas wstępne wyniki zachęcają do dalszych prac nad wykorzystaniem metody doguzowego podawania TNF w postępowaniu z nieresekcyjnymi guzami wątroby.

PIŚMIENNICTWO

- Ballantyne GH, Quin J. *Surgical treatment of liver metastases in patients with colorectal cancer*. Cancer 1993; 71: 4252-66.
- Fegiz G, Ramacciatto G, Gennari L, et al. *Hepatic resection for colorectal metastases: the Italian multicenter experience*. J Surg Oncol Supp 1991; 2: 144-54.
- Ohto M, Ebara M, Sigiura N, et al. *Ethanol Injection*. W: Gann Monograph on Cancer Research 38, 1991; 147-56.
- Shiina S, Yasuda H, Muto H, et al. *Percutaneous ethanol injection in the treatment of liver neoplasms*. Am J Roentgenol 1987; 149: 949-52.
- Barni S, Lissoni P, Cazzaniga M, et al. *Neuroimmunotherapy with subcutaneous low-dose interleukin-2 and the pineal hormone melatonin as a second-line treatment in metastatic colorectal carcinoma*. Tumori 1992; 78: 383-7.

- Block A, Windler E, Greten H, et al. *Adenovirus gene therapy for liver metastases of gastrointestinal tumors. Development status and future perspectives*. Dtsch Med Wochenschr 1997; 122: 728-32.
- Jin MB, Shimahara Y, Yamaguchi T, et al. *The effect of a bolus injection of TNF- α and IL-1 β on hepatic energy metabolism in rats*. J Surg Res 1995; 58: 509-15.
- Sugiyama Y, Kato M, Takao H, et al. *Immunological effects of locoregional immunotherapy for liver metastases of gastric cancer*. Gan To Kagaku Ryoho 1993; 20: 1461-4.
- Aggarwal BB, Kohn WJ, Hass PE. *Human tumor necrosis factor: production, purification and characterization*. J Biol Chem 1985; 260: 2345-54.
- Terlikowski S, Nowak HF, Lotocki W, et al. *Inhibitory effect of the human recombinant tumor necrosis factor on the growth of the Morris hepatoma in rats*. Exp Toxic Pathol 1995; 47: 81-7.
- Lejeune F, Lienard D, Eggermont A, et al. *Efficacy of the tumor necrosis factor alpha (rTNF- α) associated with interferon gamma and chemotherapy in extracorporeal circulation in the limb in inoperable malignant melanoma soft tissue sarcoma and epidermoid carcinoma. A 4-year experience*. Bull Cancer Paris 1995; 82: 561-7.
- Maeda M, Watanabe N, Yamauchi N, et al. *Successful treatment of a case of hepatocellular carcinoma with tumor necrosis factor and local hyperthermia*. Gastroenterol Jpn 1991; 26: 774-8.
- Rauthe G, Siermanns J, et al. *Recombinant tumor necrosis factor in the local therapy of malignant pleural effusion*. Eur J Cancer 1997; 33: 226-31.
- Slooter GD, Marquet RL, Jeekel J, et al. *Tumour growth stimulation after partial hepatectomy can be reduced by treatment with tumour necrosis factor α* . Br J Surg 1995; 82: 129-32.
- Watanabe N, Yamauchi N, Maed H, et al. *Recombinant Human Tumor Necrosis Factor Causes Regression in Patients with Advanced Malignancies*. Oncology 1994; 51: 360-5.
- Hieber V, Heim ME. *Tumor necrosis factor for the treatment of malignancies*. Oncology 1994; 51: 142-53.
- Aulitzki WE, Tilg H, Castl G, et al. *Recombinant tumour necrosis factor α administered subcutaneously or intramuscularly for treatment of advanced malignant disease: A phase I trial*. Eur J Cancer 1991; 27: 462-7.
- Schiller JH, Storer BE, Witt PL, et al. *Biological and clinical effects of intravenous tumour necrosis factor- α administered three times weekly*. Cancer Res 1991; 51: 1651-8.
- Gamm H, Lindemann A, Mertelsmann R, et al. *Phase 1 trial of recombinant human tumour necrosis factor α in patients with advanced malignancy*. Eur J Cancer 1991; 27: 853-6.
- Werner A, Mallmann P, Diedrich K, et al. *Lokoregionale Ascitestherapie mit Zytostatika und Immunomodulatoren bei gynakologischen Malignomen*. Zentralbl Gynakol 1991; 113: 1313-22.
- Wiedenmann B, Reichardt P, Rath U, et al. *Phase-I trial of intravenous continuous infusion of tumor necrosis factor in advanced metastatic carcinomas*. J Cancer Res Clin Oncol 1989; 115: 189-92.
- Rinehard J, Balcerzak SP, Hersch, et al. *Phase II trial of tumor necrosis factor in human sarcoma*. Proc Am Soc Clin Oncol 1990; 9: 317.
- Budd GT, Green S, Baker LH, et al. *A Southwest Oncology Group phase II trial of recombinant tumor necrosis factor in metastatic breast cancer*. Cancer 1991; 68: 1694-5.
- Brown TD, Goodman P, Fleming T, et al. *A phase II trial of recombinant tumor necrosis factor in patients with adenocarcinoma of pancreas; A Southwest Oncology Group Study*. J Immunother 1991; 10: 376-8.
- Schaadt M, Pfreundschuh M, Lorscheidt G, et al. *Phase II study of recombinant human tumor necrosis factor in colorectal carcinoma*. J Biol Response Modif 1990; 9: 247-50.
- Ijzermans JN, Scheringa M, van der Schelling GP, et al. *Injection of recombinant tumor necro-*

sis factor directly into liver metastases: an experimental and clinical approach. Clin Exp Metastasis 1992; 10: 91-7.

- Kuppen PJ, Jonges LE, van-de Velde CJ, et al. *Liver and tumour tissue concentrations of TNF- α in cancer patients treated with TNF- α and mephalan by isolated liver perfusion*. Br J Cancer 1997; 75: 1497-506.
- Lissoni P, Barni S, Tancini G, et al. *Role in the pineal gland in control of macrophage function and possible implications in the cancer: a study of interaction between TNF and pineal hormone*. MLT J Homeost 1994; 8: 126-9.
- Hersh EM, Metch BS, Muggia FM. *Phase II studies of recombinant human tumor necrosis factor alpha in patients with malignant disease: A summary of the Southwest Oncology Group experience*. J Immunother 1991; 10: 426-31.

ADRES DO KORESPONDENCJI

lek. med. **Tomasz Banasiewicz**
III Katedra i Klinika Chirurgii
Akademii Medycznej w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49
60-355 Poznań

Autorzy serdecznie dziękują prof. Wojciechowi J. Stecowi z Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Zakładu Chemii Bioorganicznej Państwowej Akademii Nauk w Łodzi za udostępnienie użytego w pracy TNF- α .