

**Разработка и анализ применения минимального
экстракорпорального контура для проведения интраперитонеальной
химиогипертермической перфузии в эксперименте**

(Беляев А.М., Соловьев И.А., Сенчик К.Ю., Алексеев В.В., Киреева Г.С., Гусейнов
К.Д., Беляева О.А.).

Кафедра военно-морской хирургии.

ФГБ ВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства
обороны РФ.

г. Санкт – Петербург ул. Академика Лебедева дом 6 почтовый индекс 194044.

Алексеев Валентин Валерьевич 8(911) 900 37 99. e-mail: valentindocvma@mail.ru

Резюме. Интраперитонеальная химиогипертермическая перфузия (НІРЕС) является высокотехнологичным современным методом лечения перитонеального канцероматоза при опухолях органов брюшной полости. Учитывая наличие технических сложностей в процессе НІРЕС, в настоящее время активно внедряется понятие минимального экстракорпорального контура (мес). Цель исследования: разработать минимальный экстракорпоральный контур для проведения НІРЕС с последующим сравнительным анализом его эффективности у крыс с канцероматозом брюшины при раке яичников. Исследование проведено на 32 крысах самках Вистар с асцитной опухолью яичника, перевиваемой внутрибрюшинно. После перевивки опухоли крысы рандомизировались на две группы: I группа – контроль, НІРЕС с цисплатином (20 мг/кг массы тела) по ранее отработанной методике (n=17); II группа – НІРЕС с цисплатином (20 мг/кг массы тела) на основе мес с применением лазерного излучателя (n=15). НІРЕС в обеих группах выполнялась через 48 часов после перевивки опухоли яичника. В результате исследования была создана и успешно апробирована экспериментальная перфузионная модель НІРЕС на основе мес, которая позволила снизить количество послеоперационных осложнений, а также улучшить результаты лечения крыс с асцитной опухолью яичника по сравнению с НІРЕС без использования мес.

Ключевые слова: канцероматоз брюшины, опухоль яичника, интраперитонеальная химиогипертермическая перфузия (НІРЕС), минимальный экстракорпоральный контур (мес).

Design and analysis of application of minimal extracorporeal circuit to perform hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion in experimental settings

(Belayev A.M., Solovyev I.A., Senchik K.Yu., Alekseev V.V., Kireeva G.S. Guseinov K.D., Belayeva O.A.)

Department of naval surgery of S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

Abstract. Hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion (HIPEC) is a high-tech modern treatment modality for patients with peritoneal carcinomatosis from the tumors affecting the peritoneum. Technical challenges associated with this procedure cause the search and introduction of new concepts of HIPEC. Minimal extracorporeal circuit (mec) is one of them. The aim of the study was to develop minimal extracorporeal circuit to perform HIPEC and to conduct comparative analysis of its efficacy in a rat model of peritoneal carcinomatosis from ovarian cancer. The study was carried out in 32 female outbred Wistar rats with ascetic ovarian cancer which was inoculated intraperitoneally at a certain amount of ovarian cancer cells. Following inoculation rats were randomized into two groups: group I – control, HIPEC with cisplatin (20 mg/kg body weight) performed according to the previously created technique (n=17), group II – HIPEC with cisplatin (20 mg/kg body weight) using mec and laser transmitter (n=15). In both groups HIPEC was performed in 48 hours after ovarian cancer inoculation. Experimental perfusion model of HIPEC incorporated mec was developed and successfully tested and its main advantages such as less number of postoperative complications and improved survival of rats with advanced ovarian cancer compared to HIPEC without mec were demonstrated in the study.

Key words: peritoneal carcinomatosis, ovarian cancer, hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion (HIPEC), minimal extracorporeal circuit (mec).

Введение. Рак яичников имеет склонность к перитонеальному распространению. В 60-80% случаев заболевание диагностируется на поздних стадиях, когда уже имеет место диссеминация опухоли в брюшную полость, и стандартная схема лечения (циторедуктивная операция + системная химиотерапия) обеспечивают медиану

выживаемости таких пациенток не выше 30 месяцев [3, 6]. При рецидиве рака яичника, развивающегося у 50-75% пациенток [5] канцероматоз брюшной полости встречается у 90% из них [5].

Интраперитонеальная химиогипертермическая перфузия (HIPEC) сегодня рассматривается как один из наиболее эффективных способов профилактики и лечения канцероматоза брюшины и опухолевых асцитов, развивающихся как при раке яичника, так и при других злокачественных образованиях, для которых характерна диссеминация по брюшной полости [4]. HIPEC имеет следующие преимущества: возможность локального воздействия высоких доз цитостатиков на пораженный орган, сочетание с гипертермией, потенцирующей противоопухолевое действие химиопрепаратов, а также возможность удаления мобилизованных опухолевых клеток вместе с перфузатом при процедуре отмывания [1, 8].

На сегодняшний день результаты применения HIPEC при канцероматозе брюшины остаются противоречивыми [7] в связи с имеющимися техническими трудностями выполнения процедуры, поэтому данный метод до сих пор не входит в стандарты оказания высокотехнологической медицинской помощи онкологическим больным с перитонеальным канцероматозом во многих странах [7], в том числе и в России.

Методика проведения HIPEC основана на использовании роликового насоса для подачи перфузата в брюшную полость по дренажной системе. Данная процедура ассоциирована со следующими проблемами: повышение внутрибрюшного давления во время перфузии, попадание перфузата с цитостатиком в подкожную жировую клетчатку, что может привести к ее некрозу [10].

Сравнительно недавно в медицине появилось понятие минимального экстракорпорального контура (мес), который впервые начал активно использоваться в сердечно-сосудистой хирургии в процедуре шунтирования коронарных артерий [9]. Рациональность использования мес для проведения HIPEC заключается в возможности контролировать внутрибрюшное давление а так же равномерно распределять перфузат по брюшной полости во время перфузии.

Цель исследования: разработать минимальный экстракорпоральный контур для проведения HIPEC, с последующим сравнительным анализом его эффективности у крыс с канцероматозом брюшины при раке яичников.

Материалы и методы. Исследование проведено на 32 крысах самках Вистар с массой тела 200–270 г, полученных из питомника "Рапполово" РАМН. Животные содержались в стандартных условиях вивария, получали полнорационный брикетированный комбикорм (рецепт ПК-120) производства компании "Лабораторкорм" (Москва), и водопроводную питьевую воду без ограничений. Использован штамм опухоли яичника (ОЯ), полученный из РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. Перевозка и хранение штамма ОЯ осуществлялись в жидком азоте. Перфузии проводили в операционной вивария. Экспериментальная установка для перфузий по ранее отработанной методике [2] собрана из оборудования производства Центрального научно-исследовательского и опытно-конструкторского института робототехники и технической кибернетики (Россия) и состоит из мехатронного перфузионного роликового насоса "Марс", бани термостатирующей прецизионной LOIP LB-200. В установке для проведения НИРЕС с тес использовался лабораторный перистальтический насос Peripump и лазерный излучатель АСТ 01 с целью создания гипертермии в брюшной полости. Также были использованы грелка (Microlife FH 80, размер 30,5×34,5 см, Германия), цифровые термометры CheckTemp (Hanna, Германия), катетеры (КД Медикал ГмбХ Хоспитал Продактс Германия), рассасывающийся шовный материал (Safil 3/0 B/Braun, Германия), нерассасывающийся шовный материал (Ethibond Excel 2.0, Johnson & Johnson, Ethicon, США). Использованы лекарственные препараты: цисплатин (Фармахеми Б.В., Нидерланды) в виде раствора для инъекций (0,5 мг/мл), кетопрофен (Фламакс, ЗАО "ФармФирма "Сотекс", Россия), тиопентал натрия (ОАО "Акционерное Курганское общество медицинских препаратов и изделий "Синтез", Россия), цефтриаксон (Медокеми Лтд., Кипр). Была создана и отработана техника проведения химиогипертермических перфузий брюшной полости с применением тес. Длительность химиоперфузии, дозы препаратов для наркоза и обезболивания были отработаны в предыдущих исследованиях [2].

При проведении эксперимента штамм ОЯ постоянно перевивали внутрибрюшинно нескольким крысам. Всего для поддержания штамма были использованы 38 крыс. От одной крысы на 5–7-й день после перевивки ОЯ брали асцит, разбавляли его стерильным физиологическим раствором и затем вводили внутрибрюшинно точное количество опухолевых клеток (1×10^7) крысам экспериментальных групп. Подсчет клеток производили в камере Горяева. Для формирования экспериментальных групп ОЯ

перевивалась 32 крысам. После перевивки, через 48 часов крысам выполнялась НІРЕС. В зависимости от способа проведения НІРЕС крысы были разделены на следующие группы: I группа – контроль, НІРЕС с цисплатином (20 мг/кг массы тела) по ранее отработанной методике (n = 17); II группа – НІРЕС с цисплатином (20 мг/кг массы тела) на основе тес с применением лазерного излучателя (n = 15).

День перевивки был принят за нулевой. Противоопухолевые эффекты проводимого лечения оценивались по медиане продолжительности жизни (МПЖ).

Результаты эксперимента подвергали статистической обработке на персональном компьютере с помощью программ Excel, GraphPad Prism 6, SPSS Statistics 17.0. Статистический анализ показателей выживаемости проводили с использованием критерия Лиллиефорса, показателей МПЖ в группах – с помощью непараметрического критерия U (Манна-Уитни), кривых выживаемости – по тесту Мантела-Кокса (Log-rank test). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Для проведения химиоперфузий у лабораторных животных в группе I использовалась установка на основе перистальтического насоса и водяной термостатирующей бани (Рис 1А). Для проведения химиоперфузий у лабораторных животных группы II впервые применяли минимальный экстракорпоральный контур и лазерный излучатель для достижения гипертермии в брюшной полости, а также (рис.1Б).

Перфузии брюшной полости животных осуществлялись следующим образом. На предварительном этапе проводилась стерилизация хирургических инструментов и промывание магистралей перфузионной системы первомуром в течение 20 мин, затем стерильным 0,9% раствором натрия хлорида в течение 20 мин. Перед проведением операции магистрали перфузионной системы заполняли 0,9% раствором натрия хлорида в количестве 200 мл. Крысе вводили кетопрофен подкожно в дозе 5 мг/кг для обезболивания, через 10 минут – тиопентал натрия в/б в дозе 60 мг/кг в качестве наркоза и 10 мл 0,9% раствора натрия хлорида подкожно для предотвращения дегидратации.

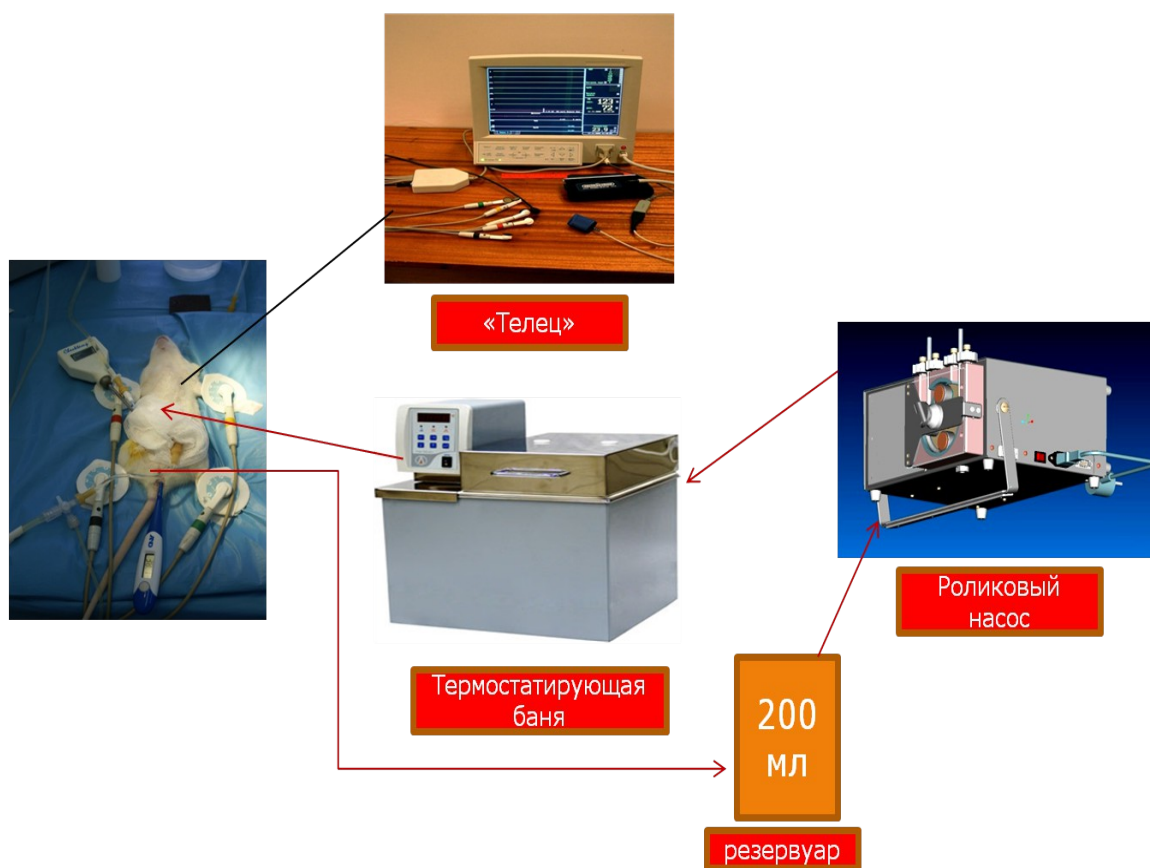


Рис 1А



Рис. 1Б

Рис 1. Схема экспериментальной установки для проведения (А) – HIPEC на основе перистальтического насоса; (Б) – HIPEC с применением тес и лазерного излучателя.

Через 2 минуты после введения препаратов выполнялась установка катетеров в брюшную полость: катетер для притока жидкости и цифровой термометр для измерения температуры в брюшной полости помещали в правую половину брюшной полости, катетер для оттока жидкости – в левую половину брюшной полости. На протяжении операции животное лежало на грелке с контролируемой температурой для того, чтобы предотвратить гипотермию организма. После помещения катетеров и термометра в брюшную полость с целью поддержания герметичности накладывались фиксирующие швы. У крыс группы I нагнетание раствора в брюшную полость осуществлялось при помощи роликового перфузионного насоса по приточной магистрали (со скоростью 10–15 мл/мин.) в термостатирующую водяную баню, где он нагревался до определенной температуры (44,5–45,5°C) и далее поступал в брюшную полость. У лабораторных животных группы II HIPEC проводилась на основе тес: раствор нагнетался в брюшную полость с помощью лабораторного перистальтического насоса (со скоростью 10–15 мл/мин), а гипертермия создавалась с использованием лазерного излучателя непосредственно в брюшной полости.

У крыс обеих групп температура брюшной полости (40,5–41,5°C) контролировалась с помощью цифрового термометра, а функция сердца (ЭКГ, частота сердечных сокращений) и частота дыхания – с помощью электродных датчиков универсального кибернетического комплекса регистрации и анализа параметров витальных функций. Ректальная температура определялась с использованием цифрового термометра. Оптимальная длительность перфузии составляет 45 мин, объем перфузата – 200 мл [2]. После химиоперфузии проводилась промывка брюшной полости 0,9% раствором натрия хлорида в течение 20 мин. По окончании промывки брюшная стенка зашивалась в 2 слоя с использованием рассасывающегося шовного материала для апоневроза и нерассасывающегося шовного материала для кожи. Непосредственно после операции и через 24 часа животному вводили цефтриаксон внутримышечно в дозе 93 мг/кг, а также – 10 мл 0,9% раствора натрия хлорида подкожно. Послеоперационной гибели животных не зарегистрировано.

Итоговые результаты перфузионного лечения канцероматоз брюшной полости у крыс с перевитой ОЯ цисплатином приведены в таблице 1. Критерий Лиллиефорса,

примененный к результатам выживаемости, показал, что распределение не соответствует нормальному, поэтому выживаемость крыс в группах сравнивали только по МПЖ.

Таблица 1

**Противоопухолевые эффекты химиоперфузионного лечения у крыс самок с
перевитой опухолью яичника**

Группа	Показатель		
	Число крыс в группе	МПЖ, сутки	p (в сравнении с контролем)
I. Контроль HIPEC	17	27	
II. HIPEC с мес.	15	35,5	0,089

В ходе работы впервые разработан и апробирован мес с использованием лазерного излучателя. В группе крыс, у которых выполнялась HIPEC на основе мес была достигнута более высокая МПЖ (35,5 дней), чем в контрольной группе (27 дней), но эта разница не была статистически значимой ($p > 0,05$). Однако в группе II удалось достичь полного излечения от опухоли одной крысы (рис. 2).

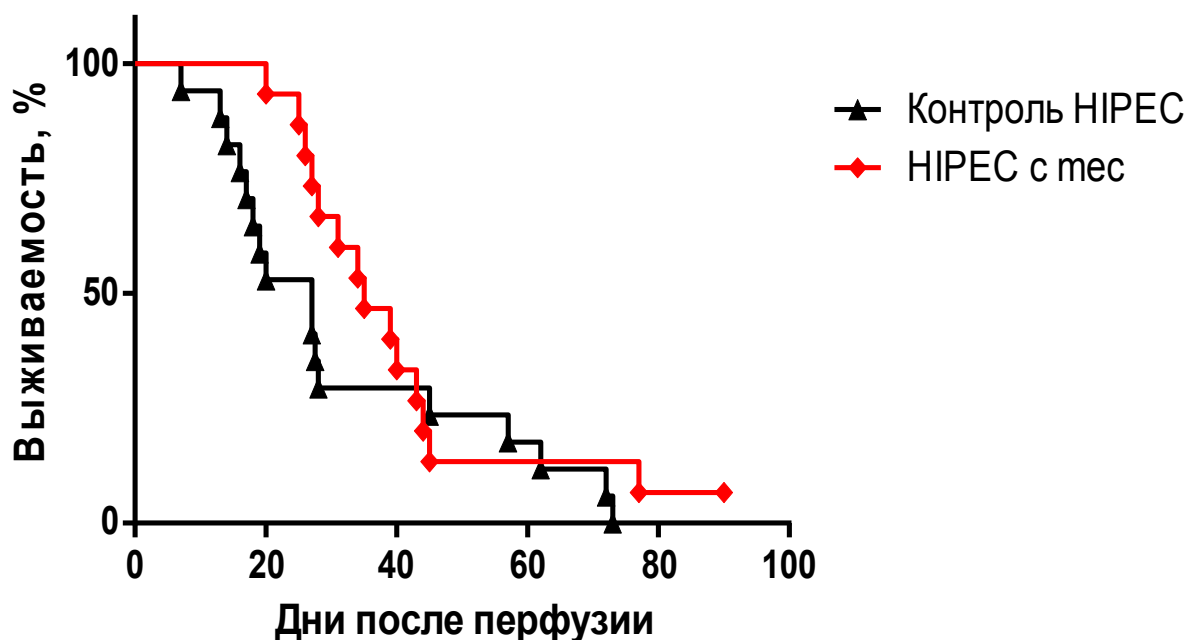


Рис. 2. Кривые выживаемости крыс с ОЯ, которым проводилась HIPEC с мес по сравнению с HIPEC по ранее отработанной методике.

Анализ полученных данных показал, что проведение HIPEC с использованием тес позволяет предотвратить повышение внутрибрюшного давления, которое приводит к распространению раствора цитостатика в подкожную жировую клетчатку, и снижает количество послеоперационных осложнений (внутрибрюшные кровотечения, отек легких, расхождение краев раны, инфицирование раны, некроз подкожной жировой клетчатки) с 25% в контрольной группе до 10%.

В перспективе использование тес для перфузии в онкологии позволит совершенствовать технику проведения HIPEC, что потенциально приведет к улучшению результатов лечения пациентов, страдающих злокачественными заболеваниями органов брюшной полости, осложненных канцероматозом брюшины.

Заключение. Для интраперитонеального химиоперфузионного лечения диссеминированного рака яичника создана экспериментальная перфузионная система на основе минимального экстракорпорального контура. Показана возможность применения лазерного облучателя для достижения номинальной температуры (40,5 – 41,5 °C) в брюшной полости во время внутрибрюшинной химиогипертермической перфузии на крысах. По результатам оценки выживаемости крыс с асцитной опухолью яичника после проведения перфузии HIPEC на основе минимального экстракорпорального контура оказывала более выраженное противоопухолевое действие, чем HIPEC на основе роликового насоса. Также использование минимального экстракорпорального контура предотвращало повышению внутрибрюшного давления во время проведения HIPEC, и позволило минимизировать осложнения, связанные с перфузионным лечением канцероматоза брюшины у крыс.

Разработанная экспериментальная модель HIPEC с тес предлагается для клинических исследований у пациентов с канцероматозом брюшины.

Список литературы.

1. Беляева О.А. Химиоперфузионное лечение злокачественных опухолей / О.А. Беляева, В.Г. Беспалов, К.Ю. Сенчик, С.А. Коньков, А.Н. Стуков, Я.Г. Муразов, В.А. Александров // Медлайн экспресс. – 2011. – № 2–3. – С.58–65
2. Беляева О.А., В.Г. Беспалов, К.Ю. Сенчик, Г.С. Киреева, А.Н. Стуков, В.А. Аристова, А.О. Иванцов, Е.А. Вышинская, М.А. Майдин, А.Л. Семенов, В.А. Александров Экспериментальная технология химиоперфузионного лечения

- канцероматоза брюшной полости при раке яичника // *Вопр. онкол.* – 2014. – Т.60, №1. – С. 71–78
3. Урманчеева А.Ф. Опухоли яичника (клиника, диагностика и лечение) / А.Ф. Урманчеева, Г.Ф. Кутушева, Е.А. Ульрих. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2012. – 68 с.
 4. Chan D. L. Intraperitoneal chemotherapy in ovarian cancer: a review of tolerance and efficacy / D. L. Chan, D. L. Morris, A. Rao, T. C. Chua // *Cancer Manag. Res.* – 2012. – Vol. 4. – P. 413–422
 5. Chua T.C. Intraoperative hyperthermic intraperitoneal chemotherapy after cytoreductive surgery in ovarian cancer peritoneal carcinomatosis: systematic review of current results / T.C. Chua, G. Robertson, W. Liauw, R. Farrell, T.D. Yan, D.L. Morris // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 135. – P. 1637–1645
 6. Halkia E. Diagnosis and management of Peritoneal Metastases from ovarian cancer / E. Halkia, J. Spiliotis, P. Sugarbaker // *Gastroenterology research and practice.* – 2012. – 2012. – 12 pp.
 7. Helm C.W. HIPEC in ovarian cancer: first report of HYPER-O registry / C. W. Helm, S. D. Richard, J. Pan et al. // *International Journal of Gynecological Cancer.* – 2010. – Vol. 20, №1. – P. 61–69
 8. Helm C.W. The Role of Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy (HIPEC) in Ovarian Cancer / C.W. Helm // *The Oncologist.* – 2009. – Vol. 14. – P. 683–694
 9. Valtonen M., Vahasilta T., Kaila-Keinanen T., Kutilla K. New mini-extracorporeal circulation system (ECC.O) is a safe technique in coronary surgery / *Scand Cardiovasc J.* – 2007. – 45 (1). – P. 345-350
 10. Witkamp A.M., de Bree E., Van Goethem A.R., F. A. N. Zoetmulder Rationale and techniques of intra-operative hyperthermic intraperitoneal chemotherapy // *Cancer treatment reviews.* – 2001. – 27. – P. 365-374