

**АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ЦИСПЛАТИНА В ПЕРФУЗАТЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ
ПАЦИЕНТОВ С ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМ КАРЦИНОМАТОЗОМ ПРИ
ВЫПОЛНЕНИИ ГИПЕРТЕРМИЧЕСКОЙ ИНТРАПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ
ХИМИОПЕРФУЗИИ (НІРЕС) НА ОСНОВЕ МИНИМАЛЬНОГО
ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО КОНТУРА**

д.м.н. проф. А.М. Беляев ¹, д.м.н. И.А. Соловьев ², д.м.н. К.Ю. Сенчик ¹, В.В. Алексеев ², к.м.н. К.Д. Гусейнов ¹, к.м.н. М.В. Васильченко ², д.м.н. В.Г. Беспалов ¹, Г.С. Киреева ¹

¹ ФГБУ "НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России, Санкт-Петербург

197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, дом 68

² ФГБ ВОУ ВПО "Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова" Министерства обороны РФ, Санкт-Петербург

194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, дом 6

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

Резюме. Проведено сравнительное изучение содержания цисплатина в перфузате и плазме крови методом масс-спектрометрии у пациентов с перитонеальным карциноматозом при выполнении гипертермической интраперитонеальной химиоперфузии (НІРЕС) с использованием разных технических установок. У пациентов контрольной группы (5 человек) выполнялась НІРЕС по общепринятой методике с использованием роликового насоса, у пациентов основной группы (5 человек) выполнялась НІРЕС на основе минимального экстракорпорального контура (месс) с использованием центробежного насоса и перфузионных магистралей меньшей длины. У пациентов контрольной группы концентрация цисплатина в перфузате на момент окончания НІРЕС составила 46,2% от общего количества цисплатина (200 мг), у пациентов основной группы – 70,8%. В свою очередь содержание цисплатина в плазме крови пациентов контрольной группы увеличивалось на протяжении перфузии с 2,16% до 2,96% от общей введенной дозы цисплатина, а в плазме крови пациентов основной группы – с 2,17% до 2,38%. Таким образом, показано, что НІРЕС на основе месс имеет фармакокинетическое преимущество перед используемой на сегодняшний день техникой выполнения НІРЕС.

Ключевые слова: перитонеальный карциноматоз, гипертермическая интраперитонеальная химиоперфузия (HIPEC), минимальный экстракорпоральный контур (меcc), цисплатин, масс-спектрометрия

CHANGES IN CONCENTRATION OF CISPLATIN IN PERFUSATE AND BLOOD PLASMA IN PATIENTS WITH PERITONEAL CARCINOMATOSIS DURING HYPERTHERMIC INTRAPERITONEAL CHEMOPERFUSION (HIPEC) USING MINIMAL EXTRACORPOREAL CIRCUIT

A.M. Belyaev, I.A. Solovyev, K.Y. Senchik, V.V. Alekseev, K.D. Guseinov, M.V.

Vasilchenko, V.G. Bespalov, G.S. Kireeva

N.N. Petrov Research Institute of Oncology

S.M. Kirov Military Medical Academy

Abstract. Concentration of cisplatin in the perfusate and blood plasma in patients with peritoneal carcinomatosis during hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion (HIPEC) using different techniques was measured by means of mass-spectrometry. In the control group (5 patients) HIPEC was performed in accordance with common technique using roller pump, in the study group (5 patients) HIPEC was performed by means of minimal extracorporeal circuit (mecc) using centrifugal pump and shorter perfusion lines. In the control group of patients concentration of cisplatin by the end of HIPEC was 46.2% of the total dose of the drug (200 mg), in the study group this value was 70.8%. In turn concentration of cisplatin in blood plasma of patients in the control group increased during HIPEC from 2.16% to 2.96% of the total dose of the drug while in the study group of patients concentration of cisplatin in blood plasma during HIPEC was raising from 2.17 to 2.38% of the total dose of cisplatin. Therefore in patients with peritoneal carcinomatosis it was shown that HIPEC using mecc has a significant pharmacokinetic advantage over commonly used technique of HIPEC.

Key words: peritoneal carcinomatosis, hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion (HIPEC), minimal extracorporeal circuit (mecc), cisplatin, mass-spectrometry.

Введение

Гипертермическая интраперитонеальная химиоперфузия (HIPEC) на сегодняшний день рассматривается как наиболее эффективный способ профилактики и лечения карциноматоза брюшины, развивающегося при опухолях различной локализации с характерной диссеминацией в брюшной полости [4; 8; 9; 10]. HIPEC обладает следующими преимуществами: применение высоких доз химиопрепаратов, действующих

локально на пораженный орган, ограниченная системная абсорбция цитостатиков из брюшной полости, что обеспечивает меньшую системную токсичность по сравнению со стандартной химиотерапией, сочетание с гипертермией, которая потенцирует действие цитостатиков [1; 6; 7]. Однако на сегодняшний день сохраняются нерешенные вопросы в оперативных приемах проведения HIPEC, такие как: неравномерное распределение перфузата по брюшной полости, неравномерное распределение тепла по канцероматозно измененной брюшине, попадание цитостатика в подкожную жировую клетчатку, вследствие повышения давления в брюшной полости. [12]. Сравнительно недавно в медицине появилось понятие минимального экстракорпорального контура (месс), который впервые начал активно использоваться в сердечно-сосудистой хирургии при экстракорпоральном кровообращении и доказал свою эффективность и безопасность [11]. Рациональность использования месс для проведения HIPEC заключается в возможности контролировать внутрибрюшное давление, а так же равномерно распределять перфузат по брюшной полости во время перфузии. Кроме того, преимущество HIPEC на основе месс перед общепринятой методикой HIPEC может быть показано путем изучения фармакокинетики цитостатиков, используемых для перфузии. Согласно различным протоколам проведения HIPEC наиболее часто с этой целью у пациентов с перитонеальным карциноматозом используется цисплатин [5].

Цель исследования: провести анализ содержания цисплатина в перфузате и плазме крови пациентов с перитонеальным карциноматозом при выполнении HIPEC на основе месс.

Материалы и методы

Пациенты

В исследование вошли 10 пациентов с перитонеальным карциноматозом, у которых выполнялась HIPEC с цисплатином. Критериями включения пациентов в исследование были: карциноматоз брюшной полости; отсутствие отдаленных метастазов; нормальная функция мочевыделительной, кроветворной систем и печени; удовлетворительное общее состояние пациента. Критерии исключения из исследования: наличие сопутствующей патологии, не позволяющей проводить химиотерапию (например, иммунодефицитные состояния); неудовлетворительное общее состояние пациента; прочие раковые заболевания, находящиеся под наблюдением. У шести пациентов был диагностирован рак яичников, у двух – рак толстой кишки, у одного – псевдомиксома брюшины, у одного – рак желудка (Таблица 1). Все пациенты были случайным образом рандомизированы на 2

группы: контрольная – HIPEC с цисплатином (200 мг) по ранее разработанной методике;
основная – HIPEC с цисплатином (200 мг) с использованием тесс.

Таблица 1

Характеристика пациентов

Пациент	Возраст	Пол	Масса тела, кг	Тип опухоли
Контрольная группа				
1	45	Ж	71	Рак яичников
2	62	Ж	63	Рак яичников
3	54	Ж	68	Рак яичников
4	48	Ж	59	Рак яичников
5	60	М	83	Рак толстой кишки
<i>Среднее</i>	53,8		68,8	
Основная группа				
6	57	Ж	61	Рак яичников
7	48	Ж	75	Рак яичников
8	67	М	91	Рак толстой кишки
9	55	Ж	70	Псевдомиксома брюшины
10	61	М	79	Рак желудка
<i>Среднее</i>	57,6		75,2	

HIPEC

После циторедуктивной операции, которая проводилась в необходимом объеме в зависимости от локализации первичной опухоли и степени ее распространения по брюшине, у пациентов выполнялась HIPEC. У пациентов контрольной группы был использован применявшийся ранее перфузионный контур [2], состоящий из системы полихлорвиниловых одноразовых магистралей длиной 2,5 м с внутренним диаметром просвета 8 мм (Maquet, Германия), водяной бани с металлическим теплообменником (LOIP, Россия), перистальтического четырехроликового насоса «Марс 2» (ЦНИИ РТК, Россия) и брюшной полости. У пациентов основной группы был использован тесс, состоящий из системы магистралей длиной 1,5 м с диаметром просвета 10 мм (Maquet, Германия), микроэмболического фильтра с размером пор 30 микрон (Maquet, Германия), высокоэффективного теплообменника из алюминийно-магниевого сплава (ЦНИИ РТК, Россия), центробежного насоса (ЦНИИ РТК, Россия) и брюшной полости.

В противоположных областях брюшной полости устанавливались дренажи для притока и оттока перфузата, которые затем соединялись с магистральями перфузионного

контура. Объем перфузата (0,9% раствор натрия хлорида) составлял 3,5–4,0 л, температура перфузата в брюшной полости у пациентов контрольной и основной групп – $46 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ и $46 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ соответственно, доза цисплатина – 200 мг, длительность перфузии – 60 минут.

Забор проб биоматериала и их анализ

Образцы перфузата и периферической крови забирались на 10-ой, 20-ой, 40-ой и 60-ой минутах от начала HIPEC. Пробы перфузата хранились в холодильнике при температуре $0-4^{\circ}\text{C}$ до момента отправки на анализ (не более суток). Периферическую кровь сразу после взятия центрифугировали 1200g в течение 20 минут. Полученная плазма замораживалась при -18°C и в морозильной камере доставлялась в лабораторию. Исследование образцов плазмы проводилось непосредственно после их доставки.

Для приготовления проб для анализа 100 мкл биообразца (плазма, перфузат) растворяли в 5 мл концентрированной азотной кислоты. Растворенную пробу разбавляли в 1000 раз 2% азотной кислотой. В каждую пробу в качестве внутреннего стандарта добавляли раствор индия с целью компенсации погрешности разбавления. Раствор холостой пробы готовили с выполнением всех указанных выше операций. Полученную пробу ставили в автоклав, который затем помещали в микроволновую систему пробоподготовки MARS 5 (CEM corporation, США), где проба разлагалась в следующем режиме: подъем температуры до 200°C в течение 5 минут, выдерживание при 200°C в течение 5 минут, охлаждение до 45°C .

Количественное определение цисплатина в пробах выполняли на масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой ICP-MS X Series II (Thermo Fisher Scientific, США). Расчет концентрации цисплатина в биологических пробах проводился по калибровочным графикам, для построения которых были использованы стандартные растворы цисплатина концентраций 10, 100 и 1000 ppb.

Статистическая обработка результатов

Результаты исследования подвергали статистической обработке с помощью программ GraphPad Prism 6, SPSS Statistics 17.0. Для определения статистической значимости различий переменных между группами применялся t-критерий Стьюдента для независимых выборок. Различия между группами признавались значимыми по уровню среднего значения при вероятности различия между группами составляющей не менее 95% ($p \leq 0,05$).

Результаты и обсуждение

Результаты расчетов концентрации цисплатина в перфузионном растворе при выполнении НИРЕС у больных контрольной и основной групп представлены в Таблицах 2 и 3, соответственно.

Таблица 2

Концентрация цисплатина в перфузате во время НИРЕС с цисплатином у пациентов контрольной группы

	Цисплатин 200 мг			
	мг/л			
	10 минут	20 минут	40 минут	60 минут
M±m	150,4±4,7	130,2±6,5	101,8±3,4	92,4±2,5
Min	149,2	121,4	95,6	87,9
Max	175,6	146,5	112,3	100,1
%	75,2	65,1	50,9	46,2

Примечание: М – среднее значение содержания цисплатина; m – стандартная ошибка; Min – минимальное значение содержания цисплатина; Max – максимальное значение содержания цисплатина.

Таблица 3

Концентрация цисплатина в перфузате во время НИРЕС с цисплатином у пациентов основной группы

	Цисплатин 200 мг			
	мг/л			
	10 минут	20 минут	40 минут	60 минут
M±m	176,4±6,7	166,8±8,3*	152,1±12,4*	141,5±13,9*
Min	162,9	152,2	130,9	117,6
Max	192,9	188,4	187,8	180,9
%	88,2	84,4	76,1	70,8

Примечание: М – среднее значение содержания цисплатина; m- стандартная ошибка; Min – минимальное значение содержания цисплатина; Max – максимальное значение содержания цисплатина; * – разница статистически значима по сравнению с соответствующими значениями в контрольной группе ($p \leq 0,05$)

Концентрация цисплатина в перфузате во время проведения НИРЕС у пациентов по общепринятой методике (контрольная группа) снизилась на 53,8% к 60-ой минуте перфузии (Рисунок 1). В свою очередь у пациентов, которым выполняли НИРЕС на основе тесс (основная группа), концентрация цисплатина в перфузате снижалась менее значительно – до 70,8% к 60-ой минуте перфузии (Рисунок 1). Более того, содержание

цисплатина в перфузате во время HIPEC в основной группе пациентов было достоверно выше с 20-ой по 60-ую минуты перфузии по сравнению с соответствующими значениями в контрольной группе (Таблица 3).

Рисунок 1. Динамика изменения концентрации цисплатина в перфузате во время выполнения HIPEC у пациентов контрольной и основной групп.

На основании полученных результатов можно предположить, что применение тесс перфузии обеспечивает меньшую системную экспозицию пациента цитостатику (цисплатин). На момент окончания перфузии (60-ая минута) концентрация цисплатина в перфузате в основной группе пациентов была почти на 20% выше по сравнению с контрольной группой. Следовательно, использование тесс может позволить увеличить время перфузии и время воздействия цитостатика на опухолевые клетки в брюшной полости без ассоциированного с этим увеличения системной токсичности.

Результаты расчетов концентрации цисплатина в плазме крови пациентов контрольной и основной групп представлены в Таблицах 4 и 5, соответственно.

Таблица 4

Концентрация цисплатина в плазме крови пациентов контрольной группы во время HIPEC

	Цисплатин 200 мг			
	мкг/мл			
	10 минут	20 минут	40 минут	60 минут
M±m	1,081±0,31	1,096±0,32	1,410±0,23	1,483±0,22
Min	0,981	0,972	1,157	1,254
Max	1,130	1,365	1,523	1,578

Примечание: M – среднее значение содержания цисплатина; m – стандартная ошибка; Min – минимальное значение содержания цисплатина; Max – максимальное значение содержания цисплатина.

Таблица 5

Концентрация цисплатина в плазме крови пациентов основной группы во время HIPEC

	Цисплатин 200 мг			
	мкг/мл			
	10 минут	20 минут	40 минут	60 минут

M±m	1,086±0,24	1,062±0,45	1,083±0,26*	1,192±0,22*
Min	0,907	0,851	0,923	1,054
Max	1,120	1,370	1,423	1,378

Примечание: М – среднее значение содержания цисплатина; m – стандартная ошибка; Min – минимальное значение содержания цисплатина; Max – максимальное значение содержания цисплатина; * – разница статистически значима по сравнению с соответствующими значениями в контрольной группе ($p \leq 0,05$)

На основании полученных результатов были построены графики, отражающие динамику изменения концентрации цисплатина в плазме крови пациентов исследуемых групп (Рисунок 2).

Рисунок 2. Динамика изменения концентрации цисплатина в плазме крови пациентов контрольной и основной групп во время выполнения НИРЕС.

Пользуясь специальными формулами [3] нами был произведен расчет количества цисплатина (в мг) в периферической крови пациентов в каждый конкретный момент времени перфузии. Результаты расчетов приведены в Таблице 6.

Таблица 6

Количество цисплатина (мг) в периферической крови пациентов контрольной и основной групп в определенный момент времени НИРЕС

Группа	М	V	10 минута		20 минута		40 минута			
			m (мг)	x (%)	m (мг)	X (%)	m (мг)	x (%)	m (мг)	x (%)
Контрольная группа	68,8	4,3	4,65	2,16	4,71	2,19	6,06	2,80	6,38	2,96
Основная группа	75,2	4,5	4,67	2,17	4,56	2,10	4,65*	2,16*	5,12*	2,38*

Примечание: М – средняя масса тела пациентов в группе (кг); V – средний объем крови пациентов в группе (л); * – разница статистически значима по сравнению с соответствующими значениями в контрольной группе ($p \leq 0,05$).

В контрольной группе пациентов, которым выполнялась НИРЕС по ранее применявшейся методике с применением роликового насоса «Марс 2», количество цисплатина в периферической крови постепенно увеличивалась на протяжении всей перфузии с 4,65 мг на 10-ой минуте до 6,38 мг к 60-ой минуте, что составляло 2,16% и 2,96% соответственно от общего количества цисплатина. В свою очередь у пациентов

основной группы, которым выполнялась HIPEC на основе тесс с применением центробежного насоса оригинальной конструкции, содержание цисплатина в периферической крови увеличивалось менее значительно: с 4,67 мг на 10-ой минуте до 5,12 мг к 60-ой минуте, что составляло 2,17% и 2,38% соответственно от общей дозы цисплатина. Причем, с 40-ой по 60-ую минуты перфузии, количество цисплатина, которое всасывалось в системный кровоток, было достоверно ниже в основной группе по сравнению с контрольной.

Заключение

По результатам определения содержания цисплатина в перфузате и плазме крови пациентов с перитонеальным карциноматозом во время выполнения HIPEC было получено фармакокинетическое преимущество HIPEC на основе тесс с использованием центробежного насоса перед HIPEC, проводимой по общепринятой методике с использованием роликового насоса и перфузионных магистралей большей длины.

HIPEC на основе тесс может позволить увеличить время перфузии, что обеспечит более длительный контакт цитостатика с оставшимися после операции карциноматозными узлами в брюшной полости без ассоциированного с этим увеличения системной токсичности.

Литература

1. Беляев А.М., Багненко С.Ф., Рухляда Н.В. Внутрибрюшинная химиотерапия злокачественных опухолей брюшной полости. СПб.: ЭЛБИ-СПб 2007: 254 с.
2. Гусейнов К.Д., Беляев А.М., Сенчик К.Ю. и др. Гипертермическая интраперитонеальная химиотерапия (HIPEC) в лечении рецидивов рака яичника. Вопр онкол 2014; 60: 3: 343–347
3. Тимофеева Е.С. Изолированная химиоперфузия легкого в комбинированном лечении метастатического поражения легких: Дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук. Санкт-Петербург 2011: 178 с.
4. Berreder J., Glehen O., Habre J. et al. Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from ovarian cancer: a multiinstitutional study of 246 patients. J Clin Oncol 2009; 27: №15, Suppl.: 5542

5. De Bree E., Tsiftsis D.D. Experimental and pharmacokinetic studies in intraperitoneal chemotherapy: From laboratory bench to bedside. *Recent Results Cancer Res* 2007; 169: 53–73
6. Fujiwara K., Nagao S., Aotani E. Principle and evolving role of intraperitoneal chemotherapy in ovarian cancer. *Expert Opin Pharmacother* 2013; 14: 13: 1797–1806
7. González-Moreno S., González-Bayón L.A., Ortega-Pérez G. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy: Rationale and technique. *World J Gastrointest Oncol* 2010; 2: 2: 68–75
8. Losa F., Barrios P., Salazar R. et al. Cytoreductive surgery and intraperitoneal chemotherapy for treatment of peritoneal carcinomatosis from colorectal origin. *Clin. Trans. Oncol.* 2013. <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12094-013-1053-x>
9. Lu Z., Wang J., Guillaume Wientjes M., Au J. Intraperitoneal therapy for peritoneal cancer. *Future Oncol* 2010; 6: 10: 1625–1641
10. Nissan A. Evidence-Based Medicine in the Treatment of Peritoneal Carcinomatosis: Past, Present, and Future. *J Surg Oncol* 2009; 100: 335–344.
11. 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: 345–350
12. Witkamp A.M., de Bree E., Van Goethem A.R., Zoetmulder A.N. Rationale and techniques of intra-operative hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *Cancer treatment reviews* 2001; 27: 365–374