ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ РАЗРАБОТКА МЕТОДА КОМБИНИРОВАННОГО ПОЗИЦИОНИРОВАНИЯ ЭЛЕКТРОДОВ И ОЦЕНКА ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЛЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ЛИЗИСА ВНУТРИГЛАЗНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

В эксперименте на свежезнуклеированных глазах с опухолями больших размеров показано, что новая методика электрохимического лизиса (ЭХЛ) внутриглазных новообразований с оригинальным комбинированным позиционированием электродов обеспечивает минимальную травматичность и полное разрушение опухолевой ткани во всем объеме в зоне воздействия электродов.

Ключевые слова: электрохимический лизис, электроды, внутриглазное новообразование

Актуальность

Среди первичных внутриглазных опухолей наиболее часто встречающимися является меланома сосудистой оболочки, составляя до 80% от общего их числа. Меланома хориоидеи (МХ) характеризуется крайне неблагоприятным прогнозом, как в отношении зрительных функций, так и жизни больного в связи с высоким риском метастазирования (3-16%) [1, 3, 4, 9, 10, 12, 14]. Распространенность МХ в России оценивается в 6-8 случаев на 1 млн. населения и имеет устойчивую тенденцию к росту [1].

Арсенал применяемых методов органосохраняющего лечения МХ достаточно широк – это фото- и лазеркоагуляция, брахитерапия, криодеструкция, транспупиллярная термотерапия, фотодинамическая терапия, хирургическое удаление опухоли (блокэкзцизия) и др. [1, 4, 6-8, 14].

Возможность применения органосохраняющего лечения МХ в значительной мере зависит от размеров (наибольший диаметр основания не превышает 13-14 мм, а проминенция – 6,5 мм) и локализации опухоли (постэкваториальная). При больших размерах опухолей глаз принято энуклеировать.

Исходя из вышеприведенных данных, становится очевидной актуальность разработки новых малоинвазивных органосохраняющих методов лечения больших меланом сосудистой оболочки глаза, в отношении которых традиционно проводят энуклеацию.

Яркий пример данного направления – электрохимический лизис (ЭХЛ), который успешно применяют в онкологии [11, 13, 15, 16, 19, 21, 23].

В общей онкологии стандартным для ЭХЛ является параллельное введение 2-х или большего количества игольчатых электродов в структуру опухоли. Используя подобный подход в офтальмоонкологии, электроды следует вводить во внутриглазное новообразование транссклерально в зоне проекции основания опухоли на склеру. Для получения адекватного некроза опухоли больших размеров необходимо интростромально ввести три и более электрода, а также правильно позиционировать их под контролем ультразвукового исследования (серошкальное В-сканирование), что сопряжено с риском возникновения ряда осложнений (ятрогенных разрывов сетчатки, гемофтальма, субретиальных и субхориоидальных кровоизлияний и др.). Таким образом, трудности постановки электродов и невозможность прогнозирования оптимального поля воздействия на опухоль делают актуальным поиск новых подходов к проведению ЭХЛ в офтальмоонкологии.

Цель – разработка нового комбинированного метода позиционирования электродов и гистоморфологическая оценка эффективности его применения для электрохимического лизиса больших внутриглазных новообразований в эксперименте.

Материал и методы

ЭХЛ был проведен на 2-х свежезнуклеированных глазах с опухолями больших размеров: проминенция – 11 и 12 мм, наибольший диаметр основания – 16 и 19 мм соответственно.

ЭХЛ проводили с электрическим зарядом 30-35 Кл [2] при помощи аппарата «ЕСU-300» («Soring», Германия). В процессе ЭХЛ использовали новый оригинальный метод комбинированного позиционирования двух электродов: анод – поверхностный электрод – и катод – интрастромальный электрод. Анод имел оригинальную конструкцию и был выполнен из платиновой проволоки в виде сетки округлой формы диаметром 9 мм с отверстием в центре. Катодом служил игольчатый электрод из платиновой проволоки толщиной 0,5 мм (рис. 1, цветная вкладка).

На подготовительном этапе к ЭХЛ определяли границы проекции основания опухоли на склере и намечали их 1% водно-спиртовым раствором бриллиантового зеленого. Для осуществления ЭХЛ анод накладывали на склере в предварительно намеченных границах основания опухоли и подшивали двумя узловыми швами. Катод вводили перпендикулярно склере в центре основания опухоли через отверстие в аноде. Для введения электрода использовали троакар с винтовым регулированием длины и канюлю для инструментов 25 G. Устанавливали необходимую длину троакара (длина экстрасклеральной части канюли 25 G + толщина склеры + глубина, на которую электрод вводится в опухоль). Затем с помощью троакара, установленного в канале канюли, выполняли склеротомию и вводили его на всю длину в структуру опухоли перпендикулярно склере. Троакар удаляли из канала канюли и в него вводили заранее подобранной длины электрод.

Глубину, на которую электрод вводили в опухоль, определяли по данным предварительного ультразвукового исследования (серошкальное В-сканирование): высота проминенции опухоли в центре основания минус 1,5-2 мм. Длина активной части электрода рассчитывается так же, как длина троакара (патент РФ на изобретение № 2375020, приоритет от 12.08.2008; патент РФ на изобретение № 2347548, приоритет от 17.10.2007).

Активное позиционирование интрастромального электрода осуществляли в ходе вмешательства под транскорнеальным и транссклеральным ультразвуковым контролем с использованием датчика 10 МГц на аппарате Ultrascan (Alcon, США).

Для оценки эффективности ЭХЛ применяли метод биоимпедансометрии, представля-

ющий собой процесс измерения полного электрического сопротивления ткани опухоли между электродами при прохождении через нее переменного разночастотного электрического поля. Многократные измерения импеданса лизируемой ткани в ходе ЭХЛ проводили с помощью экспериментальной установки на частотах 2 и 10 кГц, для чего каждые три минуты процесс ЭХЛ прерывали на 1-2 секунды. Для биоимпедансометрии использовали те же электроды, что и для ЭХЛ. Измерение импеданса (Z) происходило в автоматическом режиме, программа в реальном времени строила график изменения сопротивления ткани. Получение стабильных, мало подверженных изменениям во времени показателей (Z) являлось прогностическим критерием завершения процедуры ЭХЛ.

Для снижения сопротивления между электродами перед запуском лизиса поверхностный электрод орошали раствором BSS с добавлением в канюлю порядка 0.1-0.2 мл. Полярность электродов во время всей процедуры не меняли. В ходе проведения ЭХЛ отмечалось повышение ВГД, которое купировали удалением продуктов распада опухоли. Для этого процесс ЭХЛ прерывали, извлекали интрастромальный электрод, через канюлю вводили наконечник витреотома 25G на строго заданную глубину в зависимости от проминенции опухоли. По завершении этапа витреотом удаляли, объем удаленной ткани восполняли введением раствора BSS и после введения электрода процесс ЭХЛ продолжали с теми же параметрами. За 2-3 минуты до окончания ЭХЛ, не прерывая его, из склеры вынимали пластиковую изоляционную канюлю, чтобы исключить сохранение участков опухоли, не подверженных воздействию лизиса. По завершении ЭХЛ удаляли поверхностный и интрастромальный электроды вместе с канюлей. Склеротомию не ушивали.

Выполнены патоморфологические исследования глаз для определения степени повреждения внутриглазных новообразований после ЭХЛ. С этой целью глазные яблоки фиксировали в растворе нейтрального формалина, промывали проточной водой, обезживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин, затем выполняли серии гистологических срезов с применением окраски гематоксилин-эозином.

Результаты

По данным серошкального В-сканирования после ЭХЛ определялось снижение эхогенности и неоднородности эхоструктуры, однако обследование затруднялось из-за обилия газовых пузырьков в структуре опухоли.

Время проведения сеанса ЭХЛ по данным биоимпедансометрии в среднем составляло 20-30 минут в зависимости от размеров опухоли.

Результаты патоморфологического исследования 2-х свежеезуклеированных глаз после ЭХЛ носили тождественный характер. Так, в обоих случаях после проведения лизиса глазное яблоко не изменило размеры и форму. Область воздействия располагалась в проекции опухоли, занимая площадь равную электроду-сетке (анод), и составляла 63,6 мм². В ее центре имелся канал от интрастромального электрода (катода) с вышедшей на поверхность темной жидкостью после его извлечения. При вскрытии глазного яблока через основание опухоли вытекла жидкая часть стекловидного тела без примесей, внутренние оболочки и опухоль занимали положение, соответствующее клиническому описанию и инструментальным методам исследования. На разрезе опухоль темного цвета, с мелкими щелевидными пространствами, из которых истекает слегка пенящая гелеобразная жидкость с примесью бурого кровянистого цвета.

Опухоль в обоих случаях исходила из хориоидеи, отмечено ее субтотальное разрушение.

Для удобства описания морфологических изменений опухоли после воздействия ЭХЛ она условно была разделена на три участка: верхушка, средняя и присклеральная части.

На верхушке опухоли отмечены: деструктивные процессы с фрагментацией клеток, разрушение их ядер (кариопикноз, кариорексис), конденсация пигмента, появление щелевидных пространств на месте сосудов с лизированной кровью и пустот по контурности полисадных структур (рис. 2, цветная вкладка).

В средней части выявлено полное разрушение клеток: пустоты напоминают контуры отдельных клеток и просветы разрушенных сосудов (рис. 3, цветная вкладка). Перегородки между полостями представлены остатками минимального стромального компонента опухоли, гранулами пигмента и бесклеточным детритом, уплотненным за счет давления жидкой субстанции, содержащейся в пустотах.

В присклеральной части опухоли, расположенной вблизи канала катода, морфологическая картина напоминает таковую в средней части, но с меньшим размером полостей из-за отсутствия в этом участке крупных сосудов (рис. 4, цветная вкладка).

Просвет склерального канала (зона расположения интрасклерального электрода-катода) заполнен пигментированным детритом с примесью лизированной крови (рис. 5, цветная вкладка).

Учитывая, что поверхностный электрод меньше основания опухоли, были обнаружены присклеральные участки сохранной опухоли. Она представляла собой меланому хориоидеи, интенсивно пигментированную, состоящую преимущественно из веретенчатых меланоцитов типа А, с умеренным полиморфизмом ядер и клеток, минимально инфильтрирующая внутренние слои склеры.

Между участками сохранной опухоли и опухолью, подверженной электрохимическому воздействию, была резко выраженная граница (рис. 6, цветная вкладка), что говорит о локальности ЭХЛ (только в зоне расположения электродов).

Обсуждение

Возрастающий интерес к ЭХЛ, наряду с относительной дешевизной и доступностью, главным образом связан с реальным клиническим эффектом, который демонстрируется в многочисленных публикациях [11, 15, 16, 18, 19, 21-24].

Нашей задачей стала разработка нового комбинированного метода с использованием поверхностного и интрасклерального электродов, а так же оригинального их позиционирования, ранее нигде не описанного.

Результатом воздействия постоянного тока, проходящего между электродами, является девитализация ткани посредством электролиза. В процессе ЭХЛ с комбинированным позиционированием электродов при биоимпедансометрии происходит падение сопротивления (Z) данного участка ткани, что говорит об образовании некроза ткани. Получение стабильных, мало подверженных изменениям во времени показателей импеданса является прогностическим критерием разрушения опухоли и, как следствие, завершения ЭХЛ.

Рассматривая гистологическую картину некроза меланомы хориоидеи после ЭХЛ, необходимо отметить различный характер деструкции опухоли и, в первую очередь, ее сосудов у каждого из электродов, что определяется соответствующим расположением полюсов. В области катода происходит резкое расширение просвета крупных сосудов, переполнение их кровью наряду с деструкцией стенок капилляров с обширными кровоизлияниями в некротизированную ткань, что связано с увеличением тургорного давления, вызванного электроосмотическим током тканевой жидкости. Со стороны анода реакция капилляров опухоли малозаметна.

Прогноз в отношении дальнейшей редукции опухоли после электролизиса гипотетичен: разрушение сосудов на большом расстоянии вокруг катода позволяет предположить ее более определенный распад в отдаленный срок. Следует отметить, что благодаря отдаленному воздействию электромагнитного поля, зона окончательного повреждения ткани при ЭХЛ должна превышать суммарную зону первичного некроза.

Наличие присклерального участка сохраненной части опухоли с резко выраженной границей раздела говорит о необходимости четко позиционировать поверхностный электрод и подбирать его, исходя из размеров проекции основания опухоли на склеру, не допуская использования электродов с меньшей площадью.

Усовершенствованная схема геометрического позиционирования электродов с использованием поверхностного экстрасклерального и интрастромального электродов, соблюдение полярности с размещением катода в опухоли, открывает новые возможности достижения полной деструкции во всем объеме внутриглазного новообразования. Конструктивной особенностью данной технологии проведения ЭХЛ является индивидуальный подбор поверхностного электрода с перекрытием всего основания опухоли в проекции ее на склеру, а центрально расположенное отверстие позволяет вводить интрастромальный электрод на любую глубину так, чтобы максимально приблизиться к верхушке опухоли, но не допустить выхода электрода за ее пределы.

При выставлении на аппарате параметров электрохимического лизиса руководствовались значением заряда, который заведомо вызовет некроз данного объема опухоли. Экспериментально было установлено, что оно составляет 30 К на 1

см³ опухолевой ткани. Причем, при увеличении заряда сверх этого показателя зона некроза практически перестает увеличиваться [5, 17, 20]. Однако все предшествующие экспериментальные и клинические исследования по отработке основных параметров ЭХЛ проводились при условии параллельного позиционирования электродов в опухоли. Используемые нами в эксперименте параметры проведения ЭХЛ при комбинированном позиционировании электродов на свежееуклированных глазах – количество электричества порядка (30 К) и время проведения процедуры (20-30 минут) – так же обеспечивают достижение полного некроза внутриглазного новообразования. Тем не менее, при опухолях больших размеров и их неоднородности возможны корректировки параметров лизиса (силы тока и напряжения), что требует дальнейших экспериментальных и клинических исследований.

Модификация, модернизация и адаптация метода ЭХЛ в офтальмоонкологии дает возможность заранее моделировать форму некроза опухоли с использованием специализированных программ, что позволяет повысить его эффективность. А разработка объективного способа оценки степени изменений в структуре опухоли в режиме реального времени – измерение активного и реактивного сопротивления тканей (биоимпедансометрия) – обеспечивает эффективный контроль и регулирование проведения процедуры ЭХЛ.

Безусловно, при использовании метода ЭХЛ в клинической практике объем деструктивных изменений во внутриглазном новообразовании будет зависеть не только от параметров проводимого процесса, но и протяженности во времени после прекращения воздействия, что потребует углубленных клинических исследований.

Заключение

Полученные нами экспериментальные данные показали, что новая методика ЭХЛ с оригинальным комбинированным позиционированием электродов обеспечивает минимальную травматичность и полное разрушение опухолевой ткани во всем объеме в зоне воздействия электродов. В дальнейшем эксперименты по изменению глубины введения интрастромального электрода и количества электричества в сочетании с биоимпедансометрией могут позволить осуществлять регулирование морфологических изменений в структуре опухоли.

14.10.2011

Список литературы:

1. Бровкина А.Ф. Офтальмоонкология. – М.: Медицина, 2002. – С. 268-293.
2. Вередченко А.В. Электрохимический лизис в комплексном лечении первичных и вторичных злокачественных поражений печени: Автореф. дисс. ... к.м.н. – М., 2009. – 24 с.
3. Либман Е.С., Бровкина А.Ф., Безруков А.В. Отдаленные результаты лечения увеальных меланом. Сравнительная оценка энуклеации и органосохранных методов лечения // Офтальмол. журн. – 1989. – № 6. – С. 336-338.
4. Линник Л.Ф., Магарамов Д.А., Яровой А.А. и др. Трехлетний опыт использования транспупиллярной диод-лазерной термотерапии как самостоятельного метода лечения увеальных меланом // Офтальмохирургия. – 2003. – № 4. – С. 17-24.
5. Михайловская А.А., Каплан М.А., Бурмистрова Н.В. Фотодинамическая терапия и электрохимический лизис Саркомы М-1 // Российский биотерапевтический журнал. – 2008. – Т. 7. - №1. – С. 22.
6. Семенов А.Д. Фотокоагуляция в терапии меланом сосудистой оболочки глаза: Автореф. дис. ... канд.мед.наук. – Куйбышев, 1971. – 15 с.
7. Яровой А.А., Линник Л.Ф., Семикова Т.С. Брахитерапия с одновременной диод-лазерной транспупиллярной термотерапией и самостоятельная брахитерапия в лечении меланом хориоидеи; сравнительный анализ // Клин. офтальмология. – 2005. – Т. 6. – № 1. – С. 18-23.
8. Яровой А.А., Линник Л.Ф., Семикова Т.С., Булгакова Е.С. Малые меланомы хориоидеи: особенности клиники и выбора метода лечения // Новое в офтальмологии. – 2004. – № 2. – С. 28-37.
9. Barbazetto I.A., Lee T.C., Rollins I.S. et al. Treatment of choroidal melanoma using photodynamic therapy // Am.J. Ophthalmol. – 2003. – Vol. 135. – No. 6. – P. 898-899.
10. Kim R., Hu L., Foster B. et al. Photodynamic therapy of pigmented choroidal melanomas of greater than 3-mm thickness // Ophthalmology. – 1996. – Vol. 103. – No. 1. – P. 2029-2036.
11. Lao Y., Ge T., Zhang X. et al. Electrochemical therapy for intermediate and advanced liver cancer: a report of 50 cases // Eur J Surg Suppl. – 1994. – N. 574. – P. 51-3.
12. McLean I., Zimmerman L., Foster W. Survival rates after enucleation of eyes with malignant melanoma // Am J Ophthalmol. – 1979. – Vol. 88. – N. 4. – P. 794-7.
13. Quan K. Analysis of the clinical effectiveness of 144 cases of soft tissue and superficial malignant tumours treated with electrochemical therapy // Eur J Surg Suppl. – 1994. – N. 574. – P. 37-40.
14. Schields C.L., Schields J.A., Peres N., Singh A.D. Primary transpupillary thermotherapy for small choroidal melanoma in 256 consecutive cases: outcomes and limitations // Ophthalmology. – 2002. – Vol. 109. – No. 2. – P. 225-234.
15. Song L., Liu C., Zhang B. et al. Electrochemical therapy (ECT) for thyroid adenoma during acupuncture anaesthesia: analysis of 46 patients // Eur J Surg Suppl. – 1994. – N. 574. – P. 79-81.
16. Song Y., Li C., Li Y. et al. Electrochemical therapy in the treatment of malignant tumours on the body surface // Eur J Surg Suppl. – 1994. – N. 574. – P. 41-3.
17. Tang B., Li L., Jiang Z. et al. Characterization of the mechanisms of electrochemotherapy in an in vitro model for human cervical cancer // Int J Oncol. – 2005. – Vol. 26. – N. 3. – P. 703-1.
18. Teague B., Wemyss-Holden S., Fosh B. et al. Electrolysis and other local ablative treatments for non-resectable colorectal liver metastases // ANZ J Surg. – 2002. – Vol. 72. – N 2. – P. 137-41.
19. Wang HL. Electrochemical therapy of 74 cases of liver cancer // Eur J Surg Suppl. 1994. N. 574. – P. 55-7.
20. Wojcicki M., Drozdziak M., Olewniczak S. et al. Antitumor effect of electrochemical therapy on transplantable mouse cancers // Med Sci Monit. – 2000. – Vol. 6. – N. 3. – P. 498-502.
21. Wu G., Zhou X., Huang M. Electrochemical therapy and implanted ports treatment for unresectable carcinoma of body and tail of pancreas // Zhonghua Wai Ke Za Zhi. – 2001. – Vol. 39. – N. 8. – P. 596-8.
22. Xin Y. Advances in the treatment of malignant tumours by electrochemical therapy (ECT) // Eur J Surg Suppl. – 1994. – N. 574. – P. 31-35.
23. Xin Y., Xue F., Zhao F. Effectiveness of electrochemical therapy in the treatment of lung cancers of middle and late stage // Chin Med J. – 1997. – Vol. 110. – N 5. – P. 379-83.
24. Zhang M., Gong K., Li N. Transurethral electrochemical treatment of benign prostatic hyperplasia // Chin Med J. – 2003. – Vol. 116. – N. 1. – P. 104-7.

UDC 617.721.6:616-006.81.04

Belyi Yu.A., Tereshchenko A.V., Shatskikh A.V.*

EXPERIMENTAL DEVELOPMENT OF ELECTRODES COMBINED POSITIONING METHOD AND EVALUATION OF ITS EFFICIENCY FOR INTRAOCULAR TUMORS ELECTROCHEMICAL LYSIS

In experiment on fresh enucleated eyes with large tumors it was shown that a new method of electrochemical lysis with original combined positioning of electrodes for intraocular tumors treatment provides a minimal traumatic impact and total destruction of tumor tissue at electrodes encirclement.

Key words: electrochemical lysis, electrodes, intraocular tumor