

УДК 616-089.843:616-092.9

Н.В. Андропова, М.В. Волконский, М.С. Калшиян, Е.М. Трещалина
**МЕТОДИКА ВНУТРИАРТЕРИАЛЬНОЙ ИНФУЗИИ КРЫСАМ
С ВНУТРИМЫШЕЧНО ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ ОПУХОЛЬЮ**
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Контактная информация:

Волконский Михаил Викторович, лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ ЭДнТО

e-mail: Mux19@yandex.ru

Статья поступила 10.08.2011, подписана в печать 18.01.2012.

Резюме

В работе описана методика внутриартериальной инфузии различных инъекционных растворов в бедренную артерию крыс с внутримышечно трансплантированной солидной опухолью. Перечислен набор инструментов, дана последовательность операционных процедур и приведены результаты лечения развившейся опухоли цисплатином и доксорубицином. На основании выполненных исследований сделаны рекомендации для практического применения методики в экспериментальной химиотерапии.

Ключевые слова: внутриартериальная инфузия, крысы, бедренная артерия, химиотерапия.

N.V. Andronova, M.V. Volkonsky, M.S. Kalishjan, H.M. Treshalina
**METHOD OF INTRA ARTERIAL INFUSION TO RATS
WITH INTRA MUSCULAR TRANSPLANTED TUMOR**
FBSI «N.N. Blokhin RCRC» RAMS, Moscow

Abstract

In work the technique of intra arterial infusion various injection solutions in a femoral artery of rats with intramuscularly transplanted solid tumour is described. The tooling is listed, the sequence of operational procedures is given and results of treatment of the developed tumour cisplatin and doxorubicin are resulted. On the basis of the executed researches recommendations for practical application of a technique in experimental chemotherapy are made.

Key words: intraarterial infusion, rats, femoral artery, chemotherapy.

Введение

Внутриартериальная (в/а) инфузия используется при проведении одного из инновационных методов лечения злокачественных новообразований химиоэмболизации. ХЭ сочетает в себе эмболизацию питающей опухоль артерии эмболизирующим материалом, в состав которого введен противоопухолевый препарат [6], например, цисплатин (ЦП) или доксорубицин (Доксо). Использование технических возможностей селективной и суперселективной катетеризации артериальных сосудов под рентгенологическим контролем позволяет производить прицельное введение противоопухолевых препаратов и эмболов, например, микросфер, для локального химиотерапевтического воздействия на новообразование [3; 9; 10].

По сравнению с распространёнными методиками лечения онкологических заболеваний ХЭ имеет ряд преимуществ: возможность воздействия на неоперабельные опухоли и доставка в пораженную зону противоопухолевого агента в более высокой концентрации, обеспечение пролонгированного воздействия химиопрепарата на опухоль, минимальное токсическое воздействие химиопрепарата на организм пациента и минимальный риск возникновения осложнений во время и после процедуры, что обеспечивает низкую травматичность процедуры [4]. Благодаря этим преимуществам ХЭ может эффективно применяться в комплексном лечении онкологических заболеваний наряду с традиционными методиками в режиме предоперационной (неoadъювантной) химиотерапии при лечении неоперабельных опухолей, а также как самостоятель-

ный метод лечения. С появлением современных диагностических комплексов и цифровых способов визуализации, разработкой высокотехнологичных внутрисосудистых инструментов и созданием новых противоопухолевых препаратов и их носителей, эффективность ХЭ становится все более очевидной [12]. Полученные в ходе клинических испытаний данные свидетельствуют о высоких показателях выживаемости пациентов с опухолевыми заболеваниями, что доказывает перспективность ХЭ как современного и эффективного способа лечения рака. Это объясняет значительное повышение популярности методики ХЭ в течение последних лет во всем мире [6; 11; 12].

ХЭ используется при лечении локализованных опухолей, имеющих магистральное кровоснабжение, в частности опухолей печени. Увеличение абсолютной величины доставленной к органу дозы и иммобилизация зоны опухолевого роста при проведении ХЭ приводит к снижению риска рецидивирования и метастазирования при минимальных побочных проявлениях цитостатиков. Использование в/а инфузии в сочетании с лучевой терапией может не только усилить местный контроль над первичной опухолью, но и обеспечить раннее начало системного воздействия на клинически неопределяемые метастазы [5].

Однократное в/а введение противоопухолевых препаратов не нашло широкого применения в клинической практике из-за кратковременности контакта препарата с опухолью, утечки его в общий круг кровообращения и невозможности определения индивидуальной переносимой дозы цитостатика [7; 8].

Однако проведение 2–3 курсов предоперационной химиотерапии через 2–4 недели с использованием однократной в/а 3-часовой инфузии цисплатина в дозе 150 мг/м² оказалось достаточно эффективным: при достижении III–IV степени лечебного патоморфоза в опухоли общая выживаемость больных с выявленными метастазами достигала 44,4 %; а 5-летняя выживаемость без выявленных метастазов – 74,2 %. При лечении рецидивирующих сарком, например, саркомы Юинга, 5-летняя безрецидивная выживаемость была достигнута у 56,3 % больных [1].

Таким образом, актуальность разработки схем предоперационной химиэмболизации с использованием различных эмболизирующих материалов не вызывает сомнений. Для подготовки клинического изучения новых схем химиоэмболизации необходимо адекватное доклиническое изучение. Наиболее близкой моделью регионарного в/а доступа к опухоли для доклинического изучения служит локальное опухолевое поражение органа с магистральным кровоснабжением, например метастазы спонтанного рака молочной железы в печень у собак. Однако эта патология встречается чрезвычайно редко и не может обеспечить достаточную численность групп и воспроизводимость результатов исследования. Среди основных доклинических моделей опухолевого роста, перевиваемых опухолей грызунов, наиболее адекватной являются перевиваемые опухоли крыс, растущие локально в зоне магистрального кровоснабжения, например в печени. Однако печеночная артерия крыс имеет чрезвычайно малую протяженность вне ткани печени, что определяет невозможность восстановления кровотока в аорте после лигирования. Тем не менее, ряд солидных опухолей, в т.ч. холангиоцеллюлярный рак печени крыс, дают стабильный рост в мышцах лапки, кровоснабжаемой из бедренной артерии [8; 11]. Учитывая сложность в/а доступа для моделирования локализованных в печени опухолей на крысах, нами предложена методика в/а инфузии в бедренную артерию, кровоснабжающую зону роста внутримышечно растущей опухоли.

Цель исследования – разработка экспериментальной модели внутриартериальной инфузии для регионарной предоперационной химиотерапии и химиоэмболизации опухолей.

Задачи исследования

1. Разработка методики внутриартериальной инфузии в бедренную артерию крыс.
2. Оценка эффективности внутриартериальной химиотерапии солидной опухоли крыс, привитой в зону кровоснабжения бедренной артерии.

Материалы и методы

Для проведения внутриартериальной терапии выбран холангиоцеллюлярный рак РС-1 на крысах-самцах массой тела 80–120 г из коллекции РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН [2], который дает локализованный рост при трансплантации в мышцы голени крыс, кровоснабжаемые из бассейна бедренной артерии.

Опухоль охарактеризована как доклиническая модель, пригодная для регионарной терапии [8; 11]. Всего использовано 150 крыс разведенных в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН и содержали в виварии РОНЦ. Перевивку проводили 25 %-ной взвесью клеток опухоли в питательной среде 199, при-

вивочная доза составила 50 мг/животное. Опухоль перевивали в мышцы голени крысы так, чтобы опухолевые узлы развивались в бассейне кровоснабжения бедренной артерии. После перевивки наблюдали за ростом опухоли, в опыт отбирали крыс с развившимися опухолями, достигшими среднего объема $V_0=3-5 \text{ см}^3$ (12–13 сутки после прививки). Объем опухоли рассчитывали по формуле $V=a \times b \times c$.

Отобранных крыс с измеренными опухолями распределяли по группам лечения ($n=10$), оставляя одну для наблюдения за спонтанной динамикой роста опухоли под контролем в/а инфузии физиологического раствора. Химиотерапию проводили в день вычисления V_0 0,1 %-ным р-ром цисплатина в дозах 0,5 и 1,0 мг на лапку или доксолема в дозе 1,0 мг на лапку.

После лечения за крысами наблюдали до 26-го дня после трансплантации. В этот период у всех крыс многократно вычисляли средний объем опухоли V_t и соотношение V_t/V_0 , определяли время дорастания опухоли до двухкратного объема «т».

Об эффективности судили по коэффициенту эффективности (К), который рассчитывали по соотношению «т» в леченой и контрольной группах. Одновременно следили за побочными реакциями, которые оценивали по развитию отека и местной воспалительной реакции на введение.

Статистическая обработка данных лечения проведена с использованием метода Фишера–Стьюдента в модификации Р.Б. Стрелкова.

Результаты

Методика внутриартериальной инфузии

Инструментарий: стерильная инфузионная система «бабочка» с иглой 0,4 – 0,5 мм, шприц объемом 5 – 10 мл, ножницы глазные с закругленными краями, пинцеты глазные хирургические малые, анатомические и шовный материал (хлопчатобумажные неокрашенные нитки N 40), стерилизованные кипячением в дистиллированной воде.

Наркоз: золетил п/к или в/м 25 мг/кг.

Последовательность процедур:

1. Крысы наркотизируются.
2. Начиная от паховой складки на внутренней поверхности бедра выполняется кожный разрез длиной 2 см, затем с помощью ножниц и пинцетов выделяется и лигируется бедренная артерия.
3. В шприц набирается инфузионный раствор, затем шприц соединяется с иглой системы, которая вводится на всю длину в лигированную бедренную артерию и фиксируется лигатурой чуть ниже места введения, после чего с максимальной возможной скоростью выполняется инфузия для заполнения всего бассейна артерии, питающей зону роста опухоли. Контролем заполнения русла служит осветление цвета крови в бедренной вене и небольшое увеличение объема лапки.
4. После завершения инфузии игла извлекается из артерии, рана ушивается непрерывным швом, а лигирующая лигатура максимально укорачивается.

Эффективность внутриартериальной химиотерапии

Эффективность лечения в/м РС-1 с помощью в/а химиотерапии представлена в табл. 1–2.

Таблица 1

Изменение свойств опухоли при однократном в/а введении ЦП и Доксо крысам с в/м РС-1

Группа	Доза, мг на лапку	Vo, см ³	Vt, см ³ на сутки после начала лечения						Побочное действие
			4	8	11	15	20	26	
КРО	–	3,25	5,25	5,18	7,23	11,73	21,13	41,58	Нет
	Vt/Vo	1,0	1,6	1,6	2,2	3,6	6,5	12,8	
ЦП	0,5	2,41	2,33	1,57	1,95	2,11	2,77	4,85	Нет
	Vt/Vo	1,0	0,96	0,65	0,8	0,87	1,1	2,0	
ЦП	1,0	2,83	5,08	2,88	3,30	3,59	2,98	2,65*	Отек 7 дней
	Vt/Vo	1,8	1,01	1,16	1,27	1,05	0,93	–	
Доксо	1,0	3,61	3,13	3,79	4,15	3,81	6,81	16,84	Болезненность
	Vt/Vo	1,0	0,87	1,05	1,15	1,06	1,88	4,66	

Таблица 2

Эффективность цисплатина и доксорубина при однократном в/а введении крысам с в/м РС-1

Доза, мг на лапку	Эффекты	
	Т	К
КРО	9	–
ЦП		
0,5	16	1,8
1,0	Недостижим	>3,0
Доксо 1,0	18	2,0

Видно, что ЦП и Доксо в дозах 0,5 и 1,0 мг/лапку вызывают практически одинаковую длительную задержку роста опухоли ($\tau=16-18$ дней, $K=1,7-2,0$) с минимальным местным действием, максимально проявляющимся в виде кратковременного отека (7 дней) при введении ЦП в дозе 1,0 мг/кг или болезненности при введении Доксо.

Заключение

Предложенная методика внутриартериальной инфузии в бедренную артерию крыс достаточно проста как по инструментальному, так и по техническому обеспечению и атравматична.

Литература

1. Готько Е.С. Внутриартериальная химиотерапия в комбинированном лечении остеогенной саркомы и саркомы Юинга. Автореферат канд. дисс... кандидата мед. Наук – М., 1992 г.
2. Мелюгина Л.Л. Перевиваемый альвеолярный слизистый рак печени крыс РС-1 // Вопросы онкологии. – 1958. – Т. 4, № 5. – С. 600–4.
3. Миронов С.П., Балберкин А.В., Морозов А.К. и др. Артериальная эмболизация в лечении больных с опухолями и опухолеподобными заболеваниями опорно-двигательного аппарата // Вестник травматологии и ортопедии. – 2004. – С. 40–4.
4. Опухоли опорно-двигательного аппарата. – Под ред. Трапезникова Н.Н., вып. 3, М., Медицина, 1971. С. 26.
5. Трапезников Н.Н., Соловьев Ю.Н., Тайлаков Б.Б. и др. Внутриартериальная химиотерапия как составная часть комбинированного лечения саркомы Юинга длинных трубчатых костей // Вестник ОНЦ АМН России. – 1997. – № 2. – С. 24–8.
6. Трапезников Н.Н., Соловьев Ю.Н., Еремина Л.А. и др. Прогресс в лечении остеогенной саркомы // Вестник ОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 1993. – №1. – С. 3–9.
7. Трапезников Н.Н., Карапетян Р.М., Геворкян А.А., Бохан Б.Ю. Неадьювантный подход к лечению сарком мягких тканей конечностей // Вестник ОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 1998. – № 1. – С. 34–40.
8. Трещалина Е.М., Андропова Н.В., Кобляков В.А., Райхлин Н.Т. Новые модели для экспериментальной химиотерапии опухолей // Вопросы онкологии. – 2001. – Т. 47, № 6. – С. 701–6.
9. CBalser K., Rogatti W., Ruttgerodt K. Efficacy and Tolerability of Intra-arterial and Intra-venous Pros-taglandin EI Infusions in Occlusive Arterial Disease Stage III/IV. In: VASA. – 1989. – 28(Suppl.). – P. 31–8
10. Stephens F.O. Pharmacokinetics of intraarterial chemotherapy, vascular perfusion in cancer therapy / Edited by Schwemmler K., Aigner K. in: Recent Results in Cancer Research. 86: Springer Verlag, Berlin, 1983.
11. Treshalina H., Kobliakov V., Duzheva T. et al. Biochemical and Morphological Profiles of Cholangiocellular Carcinoma PC-1 after Subcutaneous and Intrahepatic Transplantation // Экспериментальная онкология. – 2001. – Т. 23, № 2. – С. 126–30.
12. <http://www.zabolevanija-pecheni.ru>