

НЕОБРАТИМАЯ ЭЛЕКТРОПОРАЦИЯ МЕТАСТАЗОВ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА В ПЕЧЕНЬ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИСТЕМЫ "NANOKNIFE"

Д.Н. Панченков^{1,2}, Ю.В. Иванов^{1,2}, Д.Ю. Пикунов³, Ф.Г. Забозлаев¹,
А.А. Нечунаев^{1,2}, М.П. Кочиева¹, Г.Б. Алексанян²

¹Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва

²МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва

³ГНЦ колопроктологии Минздрава России, Москва

Благодаря последним достижениям в развитии минимально инвазивных методик разработана новая техника абляции, основанная на использовании электрических полей – необратимая электропорация. В данной статье приводятся данные первого опыта применения методики необратимой электропорации метастазов колоректального рака в печень в Российской Федерации. На основании проведенного анализа данных ультразвукового, клиничко-лабораторного и патогистологического исследования метод необратимой электропорации представляет собой эффективный и безопасный вариант абляции. Необходимо дальнейшее накопление клинического опыта для определения роли и места необратимой электропорации в лечении пациентов с опухолями различной локализации, а также ее отдаленных результатов.

Ключевые слова: необратимая электропорация, новообразования печени, метастазы колоректального рака.

IRREVERSIBLE ELECTROPORATION OF COLORECTAL LIVER METASTASES WITH THE "NANOKNIFE" SYSTEM

Panchenkov D, Ivanov Yu, Pikunov D, Zabozlaev F, Nechunaev A, Kochieva M, Aleksanyan G.

Due to recent advances in minimally invasive surgery, there is a new ablation technique – the irreversible electroporation (IRE), based on the effect of electric fields. This report describes the first case of colorectal liver metastases irreversible electroporation in Russian Federation. This early analysis of IRE treatment of hepatic tumors demonstrates safety for treating liver malignancies. Larger studies and longer follow-up are necessary to determine long-term efficacy.

Key words: irreversible electroporation, liver malignancies, metastatic colorectal cancer.

Введение

Учитывая неуклонный рост заболеваемости и высокий уровень смертности, лечение колоректального метастатического рака печени – сложная и актуальная проблема современной хирургии и онкологии. В настоящее время лечение злокачественных новообразований в печени представляет собой сложную многофакторную терапию, включающую, помимо резекции печени, применение современных противоопухолевых химиопрепаратов, использование рентгенохирургических технологий, локальных методов опухолевой деструкции, таких как крио- или термоабляция. Последние

годы активно разрабатываются альтернативные методы лечения опухолей, среди них – стереотаксическая лучевая терапия, химиоэмболизация, несколько вариантов чрескожной техники абляции.

Необратимая электропорация (НЭ) представляет собой новый уникальный метод нетепловой абляции. Это методика, при которой выполняется воздействие на ткани короткими электрическими импульсами высокого напряжения (до 3 кВ), что влечет за собой обратимое повышение проницаемости клеточных мембран и гибель клеток. Оптимальный механизм повышения проницаемости клеточной

мембраны электрическими импульсами в отношении их частоты или повторов понятен пока не до конца; признано, что исходы зависят от амплитуды, продолжительности и числа импульсов. Воздействие должно быть синхронизировано с сердечным ритмом во избежание развития аритмии. Наличие у пациента аритмии и искусственного водителя ритма является противопоказанием к проведению электропорации.

Изначально метод НЭ был предложен исходя из теоретических рассуждений о возможности использования клеточной селективности для воздействия на биологические ткани. В отличие от применения лекарственно-индуцированной химической селективности при обратимой электропорации, НЭ основывается на фундаментальных биофизических принципах. Используемая в нашем случае техника абляции клеток основана на биоэлектрическом и биотермическом феноменах. Биоэлектрический феномен заключается в повышении проницаемости липидного бислоя клеточной мембраны при воздействии очень коротких (от нано- до миллисекунд) высокоинтенсивных электрических импульсов), проходящих через клетку [1, 2, 3]. Это биофизическое явление наблюдается и интенсивно изучается с середины XX века. Для описания этого феномена в литературе используется несколько названий: «электропермеабилитация» описывает физическое воздействие импульса на клеточную мембрану, термин «электропорация» призван указать на формирование при этом гипотетических пор. Влияние электропорации зависит как от магнитуды и длительности импульса электрического поля, так и от иных факторов, например – размера клетки, формы и числа создаваемых электрических импульсов. Колебания электрического поля запускают формирование пор; продолжительность импульса влияет на процесс расширения пор. Группа электрических импульсов, способных вызвать электропорацию, разделяется на 2 типа. При обратимой электропорации клеткам удается пережить процесс повышения проницаемости, этот процесс используется для доставки химиотерапевтического препарата в клетку. При НЭ клетки погибают из-за дестабилизации липидного бислоя и повышения его проницаемости [4]. Физические законы указывают, что рассеивание энергии электрического поля высокой напряженности, которое используется при электро-

порации, может привести к повышению температуры ткани из-за выделения джоулева тепла. Однако обнаружено, что в группе электрических полей, вызывающих необратимую электропорацию, можно выделить подгруппу, для которой выделение джоулева тепла минимально, поэтому при их использовании повышение температуры не превышает порога, за которым начинается термическое повреждение. [5]

В процессе НЭ не клеточные структуры ткани не повреждаются, что является преимуществом по сравнению с радиочастотной абляцией и криодеструкцией. Матрица тканей, состоящая из волокон коллагена и эластина, протеогликанов и т.д., сохраняется полностью. Так как кровеносные, лимфатические сосуды, желчные протоки, уретра, кроме клеточной структуры имеют также сложную и стабильную матрицу тканей, они могут полностью самовосстановиться. Кроме того, нервы также остаются интактными, что, вероятнее всего, связано с изоляцией миелиновой оболочкой и малым поперечным диаметром аксонов. НЭ можно использовать для нетермической абляции больших объемов тканей, при этом процесс остается управляемым и образуется четкая граница между пораженной и интактной тканями. В настоящее время, по имеющимся результатам проведенных клинико-лабораторных анализов, доказана эффективность и безопасность метода в отношении лечения паренхиматозных органов, таких как печень, почки, легкие, поджелудочная железа, предстательная железа [6].

Материалы и методы

Пациентка Г., 48 лет, госпитализирована в хирургическое отделение ФНКЦ 11 апреля 2012 года, с жалобами на упорные запоры, вздутие живота. Из анамнеза известно, что с января 2012 года отмечает частые запоры. Консультирована гастроэнтерологом, при выполнении УЗИ брюшной полости выявлены очаговые образования в печени, вероятнее вторичного характера. Онкомаркер РЭА – 18,1 нг/мл. Амбулаторно выполнена компьютерная томография брюшной полости с контрастным веществом: печень увеличена в размерах за счет правой доли, неоднородной структуры за счет многочисленных очаговых слабо гиподенсных образований в левой доле, однородной структуры, размером 18 мм, 23 мм и 24 мм, незначительно однородно накапливающих конт-

раст. Внутри- и внепеченочный протоки не расширены. Сосудистый рисунок визуализируется, деформирован в зонах очаговых изменений. Желчный пузырь удален видеолaparоскопическим способом. В проекции сигмовидной кишки определяется образование размерами 36x37 мм, в зоне которого просвет кишки практически не визуализируется. Проксимальные отделы толстой кишки дилатированы. Забрюшинные лимфоузлы не увеличены. Отмечается увеличение лимфоузлов малого таза в параректальной группе. Пациентка длительное время страдает язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки.

По результатам ЭГДС от 29.03.2012: недостаточность кардии, признаки гастроэзофагального рефлюкса, дуоденогастральный рефлюкс, признаки хронического гастрита, умеренно выраженный дуоденит. В анамнезе лапароскопическая холецистэктомия по поводу хронического калькулезного холецистита в 2007 г.

Выполнена видеосигмоскопия: эндоскопическая картина стенозирующего рака прямой кишки – малигнизированная тубулярная аденома, с дистальной границей опухоли 11-12 см от ануса по меткам на эндоскопе. Биопсия образования для морфологической верификации диагноза. Результат цитологического исследования мазка-отпечатка №: 4876/12 – цитологическая картина рака на фоне тубулярной опухоли. Результат патологоанатомического исследования биоптата от 12.04.2012г. – умеренно дифференцированная аденокарцинома на фоне тубулярной аденомы.

При лабораторном исследовании обнаружены анти HCV.

13.04.2012 г. под эндотрахеальным наркозом пациентке выполнено оперативное вмешательство: Передняя резекция прямой кишки. Необратимая электропорация метастазов печени системой "NanoKnife" под интраоперационным ультразвуковым наведением.

Произведена срединная лапаротомия, ревизия органов брюшной полости, интраоперационно выполнено ультразвуковое исследование печени: в левой доле печени – очаговое образование во 2-м сегменте 1,7x1,9 см, и единичные мелкие образования до 0,45 см.; в правой доле печени – очаговые образования над ложем желчного пузыря – 2,97 см и 2,05 см, расположенные рядом. Мелкие очаговые образования по ткани правой доли от 0,2 см до 1,0 см. Еди-

нично субкапсулярное образование размером 0,76 см. Первым этапом выполнена НЭ метастазов в печени системой "NanoKnife" с синхронным ЭКГ-мониторированием, под контролем ультразвуковых датчиков. (Рис. 1)

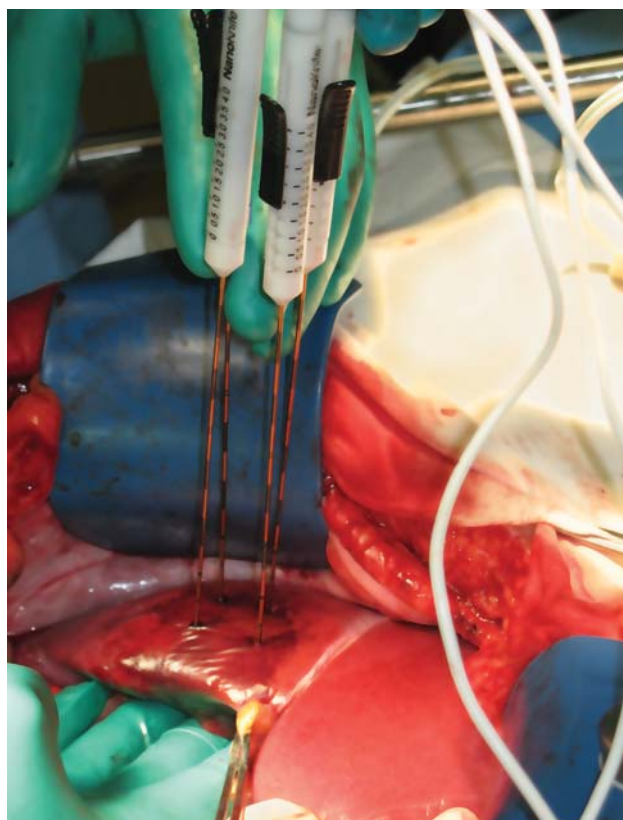


Рис. 1. Установка системы в паренхиму печени.

Использовано 4 монополярных электрода, расположенных на расстоянии 2 см друг от друга, активная часть электродов располагалась на глубине 2 см. в пределах паренхимы печени. Время воздействия не менее 9 минут на каждый очаг (до 3 см в диаметре). От абляции мелких метастатических очагов решено воздержаться. Важной отличительной чертой методики является то, что при заданных параметрах опухоли программное обеспечение само определяет режим и время экспозиции с учетом количества электродов. Один из подвергшихся воздействию очагов, располагавшийся поверхностно у края 3-го сегмента печени, после воздействия резецирован, отправлен на морфологическое исследование. Вторым этапом выполнена передняя резекция прямой кишки, с наложением аппаратного анастомоза по типу «конец в конец».

В послеоперационном периоде проводилась консервативная инфузионная, антибактери-

альная, анальгетическая терапия. В биохимическом анализе крови в раннем послеоперационном периоде отмечено повышение АЛТ – 213 Ед/л, АСТ – 52 Ед/л; ЩФ – 337 Ед/л.

УЗИ внутренних органов, 18.04.2012: Состояние после необратимой электропорации метастазов в печени. Визуализируются очаговые гипоэхогенные образования в печени, с гиперэхогенными включениями, с четкими границами, расположенные в правой и левой долях печени. Диффузные изменения паренхимы печени и поджелудочной железы.

Результаты и обсуждение

Результат патологоанатомического исследования от 13.04.2012 г. – Умеренно дифференцированная аденокарцинома с прорастанием всех слоев и брыжейки кишки, не прорастает ближний край резекции с метастазом в один из четырех исследуемых лимфатических узлов.

Послеоперационный период протекал без осложнений. Послеоперационная рана зажила первичным натяжением. Швы сняты на 10 сутки после операции. В удовлетворительном состоянии пациентка выписана на 11 сутки после оперативного лечения с рекомендациями дальнейшего лечения и динамического наблюдения онколога, хирурга, гастроэнтеролога по месту жительства.

Через 10 недель после вмешательства, при контрольном обследовании выполнена чрескожная биопсия участков, подвергавшихся воздействию, под УЗИ-контролем. При окраске гематоксилином и эозином выявлены деформированные клеточные элементы метастаза среди

некротических масс. Фрагменты структурированной опухолевой ткани, клетки, ее составляющие, частично сохраняют межклеточные контакты, хотя в их цитоплазме определяются начальные элементы цитолиза. В их непосредственной близости определяются фрагменты разрастания соединительной ткани с выраженным интерстициальным отеком, разволокнением составляющих ее коллагеновых и эластических волокон с умеренно выраженной дезорганизацией основного вещества. Также имеется фрагмент дезинтегрированной ткани опухолевого узла. Большинство клеток имеет структуру «клеток-теней» с плохо определяемыми границами ядерных и цитоплазматических мембран. Среди клеток с явлениями выраженной белковой дистрофии, о чем свидетельствует преобладание в их цитоплазме процессов циторексиса и цитолиза, а в ядре – кариолизиса; определяются единичные разрозненные атипичные клетки метастаза опухоли с гиперхромными ядрами, лишенные межклеточных контактов (Рис. 2, 3).

При окрашивании пикрофуксином по ван-Гизон, определяются зоны некроза, представленные гомогенной бесструктурной массой бурого цвета, в которой невозможно различить границы клеточных элементов. В глубине некроза определяются единичные опухолевые клетки на различных стадиях дистрофических изменений (Рис. 4).

Наиболее широко применяемая методика лечения злокачественных образований печени на сегодняшний день – техника тепловой абляции (микроволновая абляция, радиочастотная

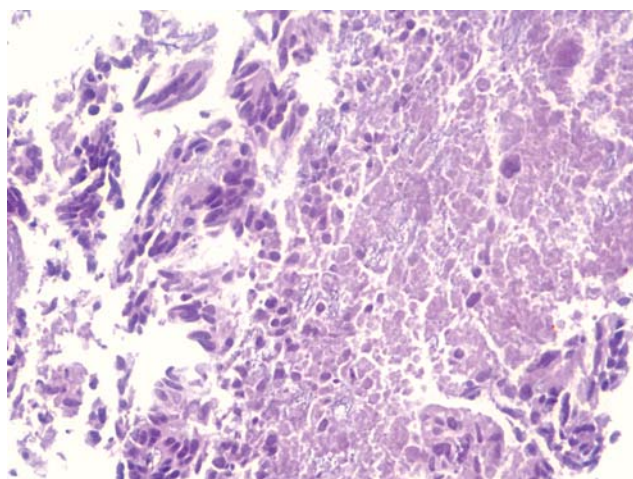


Рис. 2. Зона некроза с перифокальным расположением атипичных клеток в состоянии белковой дистрофии различной степени выраженности. Окраска гематоксилином и эозином × 200.

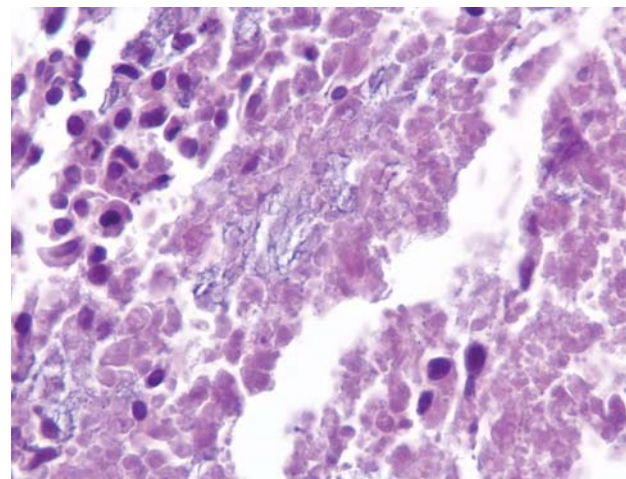


Рис. 3. Выраженные процессы цито-кариолизиса в дезинтегрированных клетках метастаза. Окраска гематоксилином и эозином × 400.

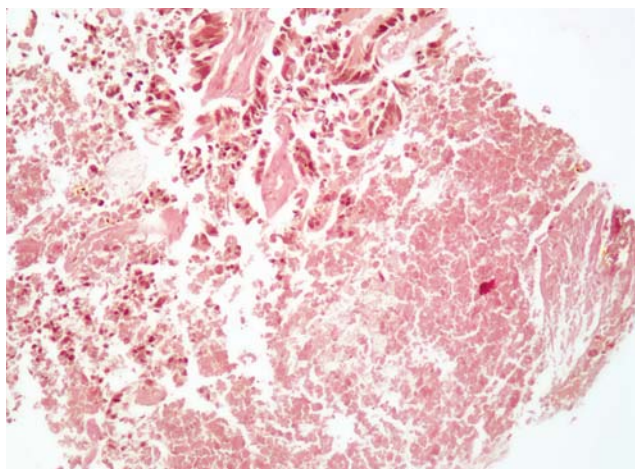


Рис. 4. Массивные поля некроза со структурной деформацией атипических клеток. Окраска по ван-Гизон $\times 100$.

абляция и др.). По данным многоцентровых исследований [7], среди осложнений радиочастотной абляции смертность составляет 0,3% и основные осложнения (термические ожоги мягких тканей, местные рецидивы, инфицирование, абсцедирование, травмы желчных путей, кровотечения, повреждение соседних органов) – 2,2%. Аналогичная картина характерна для микроволновой абляции – процент осложнений – 2,9%, из которых 2,3% представлены основными осложнениями, включая абсцессы печени, биломы, кровотечения и пневмоторакс [8-10]. Учитывая высокие цифры осложнений при лечении периваскулярных опухолей и осложнения, вызванные тепловым повреждением, растет потребность в разработке альтернативных методов абляции, таких как нетепловая необратимая электропорация. Но тут мы сталкиваемся с двумя важными клиническими вопросами: во-первых, существует ли риск повреждения прилегающих к опухоли сосудов и желчевыводящих путей при воздействии нетепловым методом абляции? Во-вторых, если технология НЭ поможет избежать травмы основных сосудов и желчных протоков, будет ли лечение столь же эффективно?

Первое исследование, направленное на изучение безопасности НЭ, производилось на мо-

делях свиней. В исследовании участвовали 16 свиней, с выживаемостью до 14 дней [11]. Максимальная зона абляции составляла 60 мм в диаметре, при интактных желчных протоках. В последующих гистологических исследованиях, при окраске гематоксилином и эозином, имелась картина обширной гибели клеток, клетки не восстанавливали свою жизнеспособность после 24-часового динамического наблюдения. Отмечалось минимальное поражение эндотелия кровеносных сосудов. Таким образом, необратимая электропорация вызывает абляцию тканей, не повреждая стенки крупных сосудов и эндотелий. В аналогичном исследовании была доказана безопасность и в отношении желчных протоков, воротной вены, печеночной артерии. Также подобные исследования были проведены при использовании НЭ у пациентов с опухолями печени. В исследовании [12] на свиньях, при контроле через 24 часа, 3, 7 и 14 дней, показано, что на 7-е сутки в большинстве зон абляции происходит регенерация тканей, крупные вены с некротическим эндотелием, но просвет их проходим. К 14 суткам идентифицировать зону абляции невозможно. Похожие данные приводятся в исследованиях на крысах; в среднем процесс абляции завершается на 7 сутки.

В нашем опыте удалось отразить основные преимущества новой методики: простота технического исполнения, безопасность для сосудистых и протоковых структур, минимальное влияние на функцию печени, эффективность доказана морфологическим исследованием. Хотя точные показания к применению НЭ опухолей печени еще четко не определены, сравнительно небольшой мировой и первый собственный опыт позволяет сделать предварительное заключение об эффективности новой техники в лечении периваскулярных опухолей печени, а также ее безопасности. Новые методы абляции помогут расширить возможности лечения пациентов с опухолями печени, но необходимы длительные наблюдения для определения отдаленных результатов.

Литература

1. Weaver JC, Vaughan TE, Chizmadzhev Y. Theory of skin electroporation: implications of straight-through aqueous pathway segments that connect adjacent corneocytes. *J Investig Dermatol Symp*

Proc. 1998 Aug; 3(2):143-7.

2. Martin RC 2nd, McFarland K, Ellis S, Velanovich V. Irreversible electroporation therapy in the management of locally advanced pancreatic adenocarcinoma. *J Am Coll Surg*. 2012 Sep;215(3):361-9.

3. Davalos RV, Mir IL, Rubinsky B. Tissue ablation with irreversible electroporation. *Ann Biomed Eng.* 2005 Feb; 33(2):223-31.
4. Thomson KR, Cheung W, Ellis SJ, et al. Investigation of the safety of irreversible electroporation in humans. *J Vasc Interv Radiol.* 2011 May; 22(5): 611-21.
5. Mulier S, Mulier P, Ni Y, et al. Complications of radiofrequency coagulation of liver tumours. *Br J Surg.* 2002; 89: 1206-22.
6. Livraghi T, Solbiati L, Meloni MF, et al. Treatment of focal liver tumors with percutaneous radio-frequency ablation: complications encountered in a multicenter study. *Radiology.* 2003; 226: 441-51.
7. Livraghi T, Meloni F, Solbiati L, et al. Complications of microwave ablation for liver tumors: results of a multicenter study. *Cardiovasc Interv Radiol.* 2012 Aug; 35(4):868-74.
8. Rhim H, Yoon KH, Lee JM, et al. Major complications after radio-frequency thermal ablation of hepatic tumors: spectrum of imaging findings. *Radiographics* 2003;23:123-134; discus 134-136.
9. Lee EW, Chen C, Prieto VE, et al. Advanced hepatic ablation technique for creating complete cell death: irreversible electroporation. *Radiology.* 2010; 255: 426-33.
10. Rubinsky B, Onik G, Mikus P. Irreversible electroporation: a new ablation modality-clinical implications. *Technol Cancer Res Treat.* 2007;6:37-48.
11. Guo Y, Zhang Y, Klein R, et al. Irreversible electroporation therapy in the liver: longitudinal efficacy studies in a rat model of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.* 2010; 70:1555-63.
12. Kingham TP, Karkar AM, D'Angelica MI, et al. Ablation of Perivascular Hepatic Malignant Tumors with Irreversible Electroporation. *J Am Coll Surg.* 2012 Sep;215(3):379-87.

Информация об авторах:

Панченков Дмитрий Николаевич – заведующий кафедрой хирургии ФПДО и лабораторией минимально инвазивной хирургии НИИМ-СИ ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, д.м.н., профессор. E-mail: dnpanchenkov@mail.ru

Иванов Юрий Викторович – заведующий отделением хирургии, заместитель директора НИИ клинической хирургии ФНКЦ ФМБА России, профессор кафедры хирургии ФПДО ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, д.м.н., профессор
Тел.: (495)3950400; e-mail: ivanovkb83@yandex.ru

Пикунов Дмитрий Юрьевич – старший научный сотрудник ГНЦ колопроктологии Минздрава России, к.м.н.

Забозлаев Федор Георгиевич – заведующий патологоанатомическим отделением ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, профессор кафедры патологической анатомии РМАПО Минздрава России, д.м.н.
Тел.: (495)344736716; e-mail: fزاب@mail.ru

Нечунаев Алексей Александрович – ассистент кафедры хирургии ФПДО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, к.м.н.

Кочиева Марина Петровна – врач-хирург отделения хирургии ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, к.м.н.

Алексанян Гаяне Бабкеновна – аспирант кафедры хирургии ФПДО МГМСУ им. А.И. Евдокимова; e-mail: gayane.aleksanyan@gmail.ru