

*В.Г. Беспалов^{1,2}, И.К. Альвовский^{1,2}, Г.В. Точильников^{1,2}, Е.А. Вышинская¹,
А.Л. Семёнов^{1,2}, И.Н. Васильева^{1,2}, А.Н. Стуков¹, К.Ю. Сенчик¹, О.А. Беляева¹,
Г.С. Киреева¹, Л.А. Красильникова¹, В.А. Александров^{1,2}, Н.Н. Хромов-Борисов³,
Д.А. Бараненко², А.М. Беляев^{1,4}*

Гармонизированный статистический анализ эффективности режимов интраперитонеальной химиотерапии препаратом диоксадэт на модели асцитного рака яичника

¹ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России,

²Университет ИТМО,

³ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» Минздрава России,

⁴ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России,
Санкт-Петербург

Проведено сравнительное статистическое исследование результатов восьми независимых экспериментов по изучению эффективности интраперитонеальной химиотерапии. Изучены режимы инъекционной внутривентриальной (в/б) химиотерапии (ИВХ), нормо- и гипертермической химиоперфузии (НИПХ и ГИПХ) препаратом диоксадэт на модели перевиваемого асцитного рака яичника (РЯ) у 288 крыс самок Вистар. Перевивку РЯ осуществляли в/б в количестве 1×10^7 опухолевых клеток, интраперитонеальную химиотерапию проводили однократно через 48 часов после трансплантации опухоли. Диоксадэт вводили в максимально переносимых дозах в/б: при ИВХ с помощью шприца в дозе 1,5 мг/кг массы тела; при НИПХ и ГИПХ раствор с цитостатиком прокачивали через брюшную полость специальным насосом соответственно в дозе 30 мг/кг при температуре 36,5–37,5°C и 15 мг/кг при температуре 40,5–41,5°C. В контрольных группах крысам в/б аналогичными путями вводили физиологический раствор. Противоопухолевые эффекты лечения оценивали по увеличению средней продолжительности жизни крыс. Для статистического анализа использован принцип гармонизации статистических доказательств и предсказаний. В контрольной группе с инъекционным в/б введением физиологического раствора средняя продолжительность жизни составила 15 дней, 95% доверительный интервал (ДИ) от 12 до 19. По сравнению с данным контролем воздействие ИВХ, НИПХ и ГИПХ увеличивало среднюю продолжительность жизни соответственно на 85, 97 и 202% ($p < 0.001$ для всех трех случаев). Таким

образом, наиболее эффективным режимом интраперитонеальной химиотерапии является ГИПХ с диоксадэтом.

Ключевые слова: интраперитонеальная химиотерапия, нормотермическая и гипертермическая интраперитонеальная химиоперфузия, рак яичника, диоксадэт

Рак яичника (РЯ) находится на пятом месте в общей структуре онкологической смертности женщин и на первом – среди опухолей женских половых органов [15]. Стандартным методом лечения поздних стадий РЯ является хирургическая циторедукция видимых опухолевых очагов в брюшной полости с последующими циклами внутривенной (в/в) химиотерапии препаратами платины и таксанами [20]. Однако после данного лечения наблюдается высокая частота рецидивов, а пятилетний порог выживаемости преодолевает менее 25% пациенток, что свидетельствует о необходимости поиска более эффективных методов лечения [1]. Одним из путей улучшения лечения диссеминированного РЯ признается интраперитонеальная химиотерапия [13]. Описывают три режима интраперитонеальной химиотерапии: инъекционную внутривентриальную (в/б) химиотерапию (ИВХ) с помощью в/б катетера, нормотермическую и гипертермическую интраперитонеальную химиоперфузию (НИПХ и ГИПХ) путем промывания брюшной полости раствором препарата с помощью специальных насосов; данные режимы предоставляют возможность применения более высоких доз противоопухолевых препаратов, действующих локально на пораженный орган, оказывая при этом меньшую системную токсичность в сравнении с в/в химиотерапией [1].

В клинических исследованиях показано, что добавление интраперитонеальной химиотерапии к стандартным методам лечения увеличивает выживаемость больных с далеко зашедшими стадиями РЯ [8, 11, 17]. Препаратом выбора в данном случае является цисплатин, однако при в/б введении он может вызывать формирование спаек в брюшной полости, а при попадании в системный кровоток проявляет нефро-, нейро-, ототоксичность [1]. С целью проведения различных режимов интраперитонеальной химиотерапии нами предложено использовать противоопухолевый препарат диоксидэ, разработанный в НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова. В клинических исследованиях у пациенток с РЯ выявлено выраженное лечебное действие диоксидэ [5]. В экспериментах диоксидэ, применяемый в режимах ИВХ, ГИПХ или НИПХ, увеличивал выживаемость крыс с перевитым асцитным РЯ [1–4, 9, 10]. В отличие от цисплатина, диоксидэ имеет более благоприятный профиль безопасности при попадании в системный кровоток, а при в/б введении не вызывает спаек [6]. Диоксидэ, применявшийся в режиме ГИПХ у крыс с асцитным РЯ, практически не проявлял миелотоксичности, что является основным побочным эффектом препарата при его системном введении [1, 9]. Однако, несмотря на показанные преимущества интраперитонеальной химиотерапии в отдельных исследованиях, ни один из ее режимов не входит в стандарты лечения далеко зашедших стадий РЯ и рассматривается как экспериментальный вариант химиотерапии.

Цель данного исследования – сравнительный анализ эффективности ИВХ, НИПХ и ГИПХ с диоксидэтом на модели перевиваемого асцитного РЯ у крыс с помощью гармонизированного статистического анализа.

Материалы и методы

Для анализа были собраны данные восьми независимых экспериментов, проведенных на модели перевиваемого асцитного РЯ у 288 самок крыс Вистар. Животные были получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область) и содержались в стандартных условиях вивария барьерного типа со стандартным комбикормом для лабораторных грызунов («Лабораторкорм», Москва) и питьевой водопроводной водой *ad libitum*. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принята в Страсбурге 18.03.1986 и подтверждена 15.06.2006). Штамм асцитного РЯ был получен из ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Перевозка и хранение штамма осуществлялись в жидком азоте. Диоксидэ в виде порошка для приготовления раствора для инфузий был синтезирован компанией «Кемконсалт» (Санкт-Петербург) в соответствии с лабораторным технологическим регламентом синтеза данного препарата, содержание диоксидэ составляло не менее 95%.

Перевивка РЯ осуществлялась в/б в количестве $1 \cdot 10^7$ опухолевых клеток на крысу, подсчет клеток производился в камере Горяева. При распределении на группы животные подвергались рандомизации. Ежедневно регистрировалась выживаемость. Противоопухолевые эффекты оценивали по продолжительности жизни крыс. Диоксидэ вводили однократно в максимально переносимых дозах через 48 часов после в/б перевивки РЯ: при ИВХ в/б с помощью шприца в дозе 1,5 мг/кг массы тела; при НИПХ и ГИПХ раствор с цитостатиком прокачивали через брюшную полость специальным насосом соответственно в дозе 30 мг/кг при температуре 36,5–37,5°C и 15 мг/кг при температуре 40,5–41,5°C. В контрольных группах крысам в/б аналогичными путями вводили физиологический раствор. Группа с инъекционным в/б введением физиологического раствора была принята за контроль без лечения.

Перфузии проводили в операционной вивария на экспериментальной установке, собранной из оборудования производства Центрального научно-исследовательского и опытно-конструкторского института робототехники и технической кибернетики (Санкт-Петербург): мехатронный перфузионный перистальтический насос «Марс»; баня термостатирующая прецизионная LOIP LB-200; универсальный кибернетический комплекс регистрации и анализа параметров витальных функций «Телец». В качестве в/б дренажей при проведении перфузии использовали катетеры (KD Medical GmbH Hospital Products, Германия). Также были использованы грелка (Microlife FH 80, размер 30,5×34,5 см, Германия), цифровые термометры CheckTemp (Hanna, Германия), рассасывающийся шовный материал (Safil 3/0 B/Braun, Германия), нерассасывающийся шовный материал (Ethibond Excel 2.0, Johnson & Johnson, Ethicon, США). Используются лекарственные препараты: тиопентал натрия («Синтез», Россия), кетопрофен («Сотекс», Россия), цефтриаксон («Медокеми», Кипр), гемобаланс («Nature Vet», Австралия). Подробная технология проведения перфузий описана нами ранее [1].

При статистическом анализе полученных данных мы руководствовались принципом гармонизации статистических доказательств и предсказаний [7]. Проведен однофакторный анализ внутрigrupповых и межgrupповых дисперсий. Проверка гипотезы о равенстве дисперсий среди выборок производилась по критерию Левена. Для выявления межgrupповых различий осуществлялись апостериорные множественные сравнения по методу Тьюки. Для учета проблемы множественных сравнений применялись поправки Бонферрони и Холма–Бонферрони. При парном сравнении различий был использован *t*-Критерий–Стьюдента. С целью объективизации наблюдаемых эффектов (различий) использован стандартизированный размер эффекта по Коуэну d_c и вычислен Бейзов фактор BF_{10} . Согласно современным международным рекомендациям для проверки гипотез мы ориентировались не только и не столько на значения P_{val} , сколько на доверительные интервалы (ДИ) для наблюдаемых эффектов [19, 24]. Важным аспектом такого гармонизированного подхода явился анализ вероятностно-статистических предсказаний, при котором вычисляются вероятности воспроизведения и предсказательные интервалы (ПИ) как для нестандартизированных, так и стандартизированных показателей различий, а также для значений P_{val} . Проведен анализ статистической мощности используемого статистического критерия и оценен объем выборок, необходимых для достижения желаемой мощности при выбранном уровне значимости α . Согласованность результатов такого гармонизированного статистического анализа повышает надежность и убедительность выводов.

Для основных статистических вычислений точечных оценок средних значений под воздействием диоксидэ и в контроле (M_1 и M_2 , соответственно), их разности (D), ДИ для них и значений P (P_{val}) использованы программы PAST

(версия 3.13) [18] и JASP (версия 0.7.5.6) [21]. Для вычисления точечных оценок стандартизированного размера эффекта и значений Бейзова фактора использована программа JASP. Вычисления ДИ для стандартизированного размера эффекта (d_c) и ПИ как для разности средних (D), так и для d_c производились в программной среде LePter. Для вычисления достигнутой мощности ($1 - \beta$) использованного t -критерия и объемов выборок (n_1 и n_2), минимально необходимых для достижения желательной мощности при выбранном уровне значимости α , использована программа G*Power (версия 3.1.9.2) [14]. Для доверительной вероятности использованы значение 95%. Согласно современным рекомендациям в качестве порогового значения уровня значимости использовали $\alpha = 0,05$ [24]. При построении ПИ использовали значение предсказательной вероятности 95%.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования представлены в табл. 1. Распределение внутригрупповых показателей выживаемости в отдельных экспериментах было гомогенно, однако в ряде случаев отличалось от нормального. При объединении данных в общую совокупность была учтена центральная предельная теорема, а внутригрупповая сумма в выборках считалась приблизительно нормальной. При объединении данных в группы ИВХ с диоксадэтом и соответствующую контрольную группу распределение отличалось от нормального, в связи с чем учитывалась центральная предельная теорема, и число крыс в группах было большим, по 79 в каждой группе. В группах НИПХ и ГИПХ и соответствующих контролях распределение соответствовало нормальному, а количество животных в выборках не влияло на размер полученного эффекта, в данных группах было от 11 до 14 крыс (табл. 1). Проверка предположения о равенстве межгрупповых дисперсий среди режимов интраперитонеальной химиотерапии и контрольных групп свидетельствовала об их гетерогенности ($p < 0,001$). Средняя продолжительность жизни в контроле без лечения составила 15 дней, ДИ от 12 до 19. В сравнении с данным контролем ИВХ, НИПХ и ГИПХ диоксадэтом увеличивали среднюю продолжительность жизни на 13, 15 и 31 день ($p < 0,001$ для всех трех случаев) или 85, 97 и 202%, соответственно.

95% ДИ для разностей пар средних значений (диоксадэт – контроль без лечения) при ИВХ (от 10 до 16 дней) и при НИПХ (от 6 до 24 дней) не покрывают безразличное значение $D_0 = 0$, постулируемое нулевой гипотезой об отсутствии различий (табл. 1). Это означает, что оцениваемые этими интервалами неизвестные значения разностей D_{unkn} статистически значимо отличаются от значения $D_0 = 0$. Таким образом, средняя продолжительность жизни у крыс после воздействия диоксадэта статистически значимо выше, чем в контрольной группе. Этот вывод подкрепляется малыми значениями $P = 1,7 \cdot 10^{-13}$

и $P = 0,0033$, соответственно, а также высокими значениями Бейзова фактора $BF_{10} = 3 \cdot 10^9$ и $BF_{10} = 11,9$, соответственно. Данные значения Бейзовых факторов показывают, что при ИВХ в $3 \cdot 10^9$ раз более правдоподобно получить наблюдаемое различие при условии справедливости альтернативной гипотезы, чем при справедливости нулевой гипотезы, а при НИПХ это соотношение составляет 11,9 (табл. 1). В отличие от значений P , Бейзовы факторы BF_{10} показывают также во сколько раз апостериорные шансы альтернативной гипотезы против нулевой гипотезы превышают их априорные шансы (за – против). В случае с ИВХ соотношение очень высокое $BF_{10} = 3 \cdot 10^9$, что свидетельствует о практически бесспорном противоопухолевом эффекте диоксадэта при ИВХ. В случае с НИПХ $BF_{10} = 11,9$. Такое значение принято интерпретировать как умеренное доказательство лечебного эффекта при НИПХ. Для ИВХ, также как для НИПХ, значения показателя стандартизированного размера эффекта Коуэна $d_c = 1,3$ наглядно демонстрируют, что значения P ничего не говорят ни о вероятности нулевой гипотезы, ни о размере эффекта. С точки зрения Бейзовской статистики они являются лишь вероятностями того, что знак истинной разности средних значений противоположен наблюдаемому. Эффекты с размером $d_c \geq 1$, принято интерпретировать как большие (сильные). Таким образом, в обоих этих вариантах воздействие диоксадэтом можно признать практически важным.

95% ДИ для разности средних значений (диоксадэт – контроль) при ГИПХ (от $-1,7$ до 35 дней) накрывает безразличное значение $D_0 = 0$, постулируемое нулевой гипотезой об отсутствии различий. Это означает, что оцениваемое этим интервалом неизвестное значение разности D_{unkn} статистически не отличается от значения $D_0 = 0$. Таким образом, средние продолжительности жизни у крыс в контроле и после воздействия диоксадэта статистически не различаются. Этот вывод подкрепляется большим значением $P = 0,74$, а также значением Бейзова фактора $BF_{10} = 1,25$, близкого к безразличному значению $BF_{10} = 1$ (табл. 1). Такое значение Бейзова фактора принято считать не заслуживающим внимания. Заслуживающими внимание принято считать $BF_{10} > 3$ или даже $BF_{10} > 6$. Таким образом, в варианте ГИПХ воздействие диоксадэтом не оказалось ни статистически, ни практически значимым в сравнении с контролем с введением физиологического раствора в режиме гипертермии. Однако при гипертермической перфузии физиологическим раствором средняя продолжительность жизни крыс (M_2) составила 30 дней, что в 2 раза превышала таковую в контрольных группах для ИВХ и

НИПХ, которые были одинаковыми и составили 15 дней (табл. 1). При ГИПХ диоксидом увеличение средней продолжительности жизни составило 31 день по сравнению с контролем без лечения ($p < 0,001$). Такой парадокс можно объяснить высоким противоопухолевым эффектом самой гипертермии. Вероятно, введение физиологического раствора при гипертермической перфузии нельзя рассматривать в качестве адекватного контроля.

Современный статистический анализ экспериментальных данных должен быть гармонизированным; это подразумевает, что такой анализ не должен ограничиваться традиционными процедурами проверки нулевой гипотезы на основе значений P_{val} и/или ДИ для наблюдаемого эффекта разности средних значений. Полезными обязательными процедурами должны быть анализ статистической мощности использованного критерия, оценка объемов выборок, минимально необходимых для достижения желательной мощности $(1 - \beta)$ при заданном (заранее выбранном исследователем) уровне значимости α , а также предсказательных вероятностей P_{srep} и ПИ как для стандартизованного (d_c), так и для нестандартизованного (D) размеров эффекта. Для значений P_{val} , P_{srep} есть вероятность того, что при повторении эксперимента знак эффекта (знак разности D) останется таким же как и наблюдаемый, и что эффект будет статистически значимым при выбранном уровне значимости α . ПИ есть интервал, в котором при повторении эксперимента с заданной вероятностью будет находиться оцениваемый эффект (D и/или d_c), а также значение P_{val} .

Только для варианта ИВХ можно ожидать хорошей воспроизводимости результата. Вероятность воспроизведения эффекта на уровне значимости $\alpha = 0,05$ получается практически равной 1: $P_{srep} = 1,00$. При повторении опыта с предсказательной вероятностью 95% разность средних значений D будет находиться в пределах от 8,5 до 17,5 дней, и предсказанный стандартизованный размер эффекта d_c будет находиться в пределах от 0,81 до 1,8, то есть будет оставаться высоким и практически важным. С этим выводом согласуется также 95% ПИ для значения P_{val} : от практически нулевого значения до статистически высоко значимого $5 \cdot 10^{-7}$. Однако для варианта НИПХ картина иная – скорее всего результат не воспроизведется. Вероятность воспроизведения эффекта на уровне значимости $\alpha = 0,05$ получается умеренной: $P_{srep} = 0,79$. При повторении опыта (в таком же объеме) с предсказательной вероятностью 95% разность средних значений D будет находиться в пределах от 1,7 до 29,0 дней, и предсказанный стандартизованный размер эффекта d_c будет находиться

в пределах от 0,13 до 2,7, то есть он может оказаться пренебрежимо малым. Об этом свидетельствует нижняя граница 95% ПИ = 0,13 – значение, которое принято интерпретировать как пренебрежимо малое. Более того, при повторении опыта 95% ПИ для значения P_{val} может быть от довольно малого $2,6 \cdot 10^{-7}$ до статистически незначимого 0,37. Что касается варианта ГИПХ, то при повторении он останется статистически незначимым по сравнению с гипертермической перфузией физиологическим раствором. Вероятность воспроизведения эффекта на уровне значимости $\alpha = 0,05$ оказывается низкой: $P_{srep} = 0,45$. При повторении опыта с вероятностью 95% ПИ для разности средних значений D будет покрывать безразличное значение $D_0 = 0$ и находиться в широких пределах от $-9,3$ до $42,2$, предсказанный стандартизованный размер эффекта d_c с вероятностью 95% будет находиться в пределах от $-0,38$ до $1,9$, и значение P_{val} будет в пределах от довольно малого $1,6 \cdot 10^{-5}$ до незначимого 0,84.

С этими выводами согласуются и результаты анализа мощности. Достигнутая мощность есть вероятность получить эффект, значимый на уровне $\alpha = 0,05$ при наблюдаемом значении стандартизованного размера эффекта d_c . Только для варианта ИВХ достигнута максимальная мощность $(1 - \beta) = 1,00$ с шириной 95% ДИ, равной $5 \cdot 10^{-5}$. В этом варианте оказывается, что для достижения приемлемой мощности $(1 - \beta) = 0,95$ при уровне значимости $\alpha = 0,05$ достаточно было использовать выборки объемом от 12 до 31. Для этого варианта исходно размеры обеих выборок были более чем в два раза большими, и это означает, что результат статистически надежен и вряд ли потребует его повторение.

Для варианта НИПХ точечная оценка достигнутой мощности кажется высокой: $(1 - \beta) = 0,88$, однако нижняя граница 95% ДИ для нее очень мала: 0,18, и для достижения мощности 0,054 и для достижения мощности $(1 - \beta) = 0,95$ при уровне значимости $\alpha = 0,05$ необходимо использовать выборки объемом $n_1 = n_2$ от 7 до 136. Это означает, что если потребуются получить статистически более надежные результаты, то придется повторить опыт выборками до 136 крыс в каждой. Для варианта ГИПХ точечная оценка достигнутой мощности низка: $(1 - \beta) = 0,44$, и нижняя граница 95% ДИ для нее очень мала: 0,18, и для достижения мощности 0,95 при $\alpha = 0,05$ необходимо использовать выборки объемом $n_1 = n_2$ от 13 до 5305. Это означает, что если потребуются получить статистически более надежные результаты, то придется повторить опыт с выборками до 5305 крыс в каждой. Очевидно, что этот вариант эксперимента вряд ли имеет смысл повторять.

Клинический опыт лечения РЯ путем интраперитонеальной химиотерапии предоставляет все больше доказательств, что десятилетний порог выживаемости у 45–50% пациенток с далеко зашедшими стадиями заболевания находится в пределах досягаемости, тогда как для в/в химиотерапии данные показатели остаются недоступными [22]. Очевидные преимущества интраперитонеальной химиотерапии показаны нами в исследовании на модели асцитного РЯ у крыс, в котором однократное в/б введение диоксидэта увеличивало продолжительность жизни на 79%, в то время как в/в введение препарата в той же дозе не влияло существенно на выживаемость [4]. Увеличение эффективности лечения больных РЯ с канцероматозом брюшной полости с помощью включения в схему интраперитонеальной химиотерапии подтверждается в больших рандомизированных исследованиях III фазы, однако выбор наиболее оптимального режима интраперитонеальной химиотерапии остается предметом дискуссий [16].

Согласно полученным нами данным, для препарата диоксидэт наибольшая эффективность в лечении достигается посредством ГИПХ. Температура выше 40°C способствует гибели раковых клеток, в то время как воздействие на интактные клетки остается минимальным; в опухолевых клетках при гипертермии наблюдается нарушение репликации ДНК, изменение структуры клеточных мембран и денатурация белковых структур; химиооперфузионное лечение в условиях нагревания раствора с цитостатиком приводит к повышению цитотоксичности, увеличению всасывания цитостатиков клетками и замедлению механизмов развития лекарственной резистентности; при гипертермическом воздействии в опухолевых тканях происходят изменения кровотока, оксигенации, метаболического и энергетического статуса [23]. Однако проведение ГИПХ возможно только во время оперативного вмешательства; процедура практически сложна и ассоциирована с рядом побочных токсических эффектов (потеря массы тела, геморрагии, диарея, гастроптоз); требует не только наличия дополнительного оборудования, но и применения наркоза, в чем данный метод уступает более безопасному и простому ИВХ [1].

В нашем исследовании абсолютные показатели выживаемости при НИПХ с диоксидэтом существенно меньше по сравнению с ГИПХ ($p < 0,003$). Гипертермическая перфузия с физиологическим раствором статистически значимо увеличивала среднюю продолжительность жизни по сравнению с контролем без лечения (в/б введение физиологического раствора). При относительно схожем статистическом эффекте как НИПХ, так и ИВХ, по сравнению с ГИПХ, а

также большей технической сложностью проведения химиооперфузионного лечения, возникают сомнения о необходимости НИПХ как такового в лечении канцероматоза брюшной полости при РЯ. ИВХ хоть и оказывает сравнительно меньшее действие в сравнении с ГИПХ, тем не менее более эффективна в сравнении с в/в химиотерапией и относится к менее инвазивным методам интраперитонеальной химиотерапии [2]. ИВХ может проводиться курсами на любом этапе лечения больных РЯ. Среди нежелательных побочных эффектов ИВХ были отмечены катетер-ассоциированные осложнения и абдоминальные боли, а также большая продолжительность процедуры в сравнении с системным введением препаратов [1].

В настоящее время основным препаратом для проведения интраперитонеальной химиотерапии является цисплатин, однако недавние исследования показали, что за счет быстрого всасывания из брюшной полости его концентрация в крови соответствует таковой при системной химиотерапии; в результате, большая часть активированной платины, которая локализуется на опухолевых имплантатах, фактически поступает через кровоток, независимо от в/б или в/в способа введения [12]. На наш взгляд, более приемлемым для интраперитонеальной химиотерапии является лекарственный препарат диоксидэт. Клинические испытания по II фазе показали высокую эффективность диоксидэта при злокачественных опухолях различных локализаций, а наиболее значимый эффект был достигнут у больных с диссеминированным РЯ при сочетании в/в и в/б способа введения [5]. Активность диоксидэта связана с прямым воздействием на ДНК клетки, вне зависимости от клеточного цикла, с образованием внутри- и межспиральных сшивков ДНК клеток [6]. Такие преимущества диоксидэта как низкий молекулярный вес, амфифильность, продолжительное нахождение в брюшной полости и высокое контактное противоопухолевое действие [6] обуславливают перспективы его использования в интраперитонеальной химиотерапии.

Полученные нами данные и анализ литературы позволяют предположить, что результаты лечения канцероматоза брюшной полости у больных РЯ можно значительно улучшить путем использования интраперитонеальной химиотерапии. На наш взгляд, наиболее оптимальным будет комплексный подход к лечению таких пациенток. Этап циторедуктивного оперативного вмешательства целесообразно дополнить ГИПХ, а затем вместо адьювантной системной химиотерапии проводить курсы адьювантной ИВХ. Препарат диоксидэт по своей эффективности и безопасности при различных режимах

Таблица 1. Результаты гармонизированного статистического анализа выживаемости крыс с асцитным раком яичника после различных режимов интраперитонеальной химиотерапии

Группы и показатели	Обозначения	ИВХ	НИПХ	ГИПХ
Диоксадэт	n	79	14	13
	M_1	28 [25; 32]`**	30 [21; 39]`**	46 [37; 56]`
Контроль	n	79	11	14
	M_2	15 [12; 19]	15 [4,7; 25]	30 [21; 39]
Эффект (разность)	$D = M_1 - M_2$	13 [10; 16]	15 [6; 24]	17 [-1,7; 35]
	95%-й ПИ	(8,5; 17,5)	(1,7; 29,0)	(-9,3; 42,2)
Значение P	P_{val}	$1,7 \times 10^{-13}$	0,0033	0,74
	95%-й ПИ	(0,0; 5×10^{-7})	($2,6 \times 10^{-7}$; 0,37)	($1,6 \times 10^{-5}$; 0,84)
Бейзов фактор	BF_{10}	3×10^9	11,9	1,25
Вероятность воспроизведения	P_{rep}	1,00	0,79	0,45
Стандартизированный размер эффекта	d_c	1,3 [0,9; 1,6]	1,3 [0,4; 2,2]	0,72 [-0,07; 1,5]
	95%-й ПИ	(0,81; 1,8)	(0,13; 2,7)	(-0,38; 1,9)
Достигнутая мощность при $\alpha = 0,05$	$1 - \beta$	1,00 [1,00; 1,00]	0,88 [0,18; 0,999]	0,44 [0,054; 0,96]
n при $\alpha = 0,05$ и $(1 - \beta) = 0,95$	$n_1 = n_2$	17 [12; 31]	16 [7; 136]	52 [13; 5305]

ИВХ – инъекционная внутрибрюшинная химиотерапия; НИПХ – нормотермическая интраперитонеальная химиоперфузия; ГИПХ – гипертермическая интраперитонеальная химиоперфузия. Контроль – введение аналогичными путями растворителя: для ИВХ – в/б инъекция, для НИПХ – нормотермическая перфузия, для ГИПХ – гипертермическая перфузия физиологического раствора. Разница с контролем без лечения (в/б инъекция физиологического раствора) статистически достоверна; ` – разница со своим контролем статистически достоверна. n – объем выборки; M_1 и M_2 – средние значения продолжительности жизни (дни) после воздействия диоксадэта и в контроле; D – разность средних значений (дни); ПИ – предсказательный интервал; P_{val} – наблюдаемое значение P; BF_{10} – Бейзов фактор в пользу альтернативной гипотезы против нулевой гипотезы; d_c – стандартизированный размер эффекта по Коуэну; $(1 - \beta)$ – достигнутая статистическая мощность использованного критерия; α – выбранный уровень значимости. В квадратных скобках приведены границы 95% доверительных интервалов.

интраперитонеальной химиотерапии имеет преимущества по сравнению с наиболее часто используемым сегодня для этой цели цисплатином, что говорит о перспективности внедрения диоксадэта в клиническую практику в качестве основного препарата для ГИПХ и ИВХ у больных диссеминированным РЯ.

Выводы

1. Все три режима интраперитонеальной химиотерапии препаратом диоксадэт – ИВХ, НИПХ и ГИПХ – в сравнении с контролем без лечения оказывают статистически значимое противоопухолевое действие у крыс с перевитым асцитным РЯ.

2. Только ИВХ и НИПХ препаратом диоксадэт статистически значимо увеличивают среднюю продолжительность жизни крыс по сравнению с собственными контролями (введение аналогичными путями физиологического раствора). Гипертермическая перфузия физиологическим раствором проявляет статистически значимую противоопухолевую активность в сравнении с контролем без лечения.

3. Из трех режимов интраперитонеальной химиотерапии препаратом диоксадэт наиболее эффективным является ГИПХ. Противоопухолевые эффекты ИВХ и НИПХ одинаковы и уступают ГИПХ.

4. Интраперитонеальная химиотерапия препаратом диоксадэт предлагается для клинических испытаний у больных с диссеминированным РЯ

по следующей схеме: циторедуктивная операция с интраоперационной ГИПХ, затем курсы адъювантной ИВХ.

Часть работы выполнена при государственной финансовой поддержке ведущих университетов Российской Федерации (субсидия 074-U01)

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляева О.А., Беспалов В.Г., Сенчик К.Ю. и др. Химиоперфузионное лечение канцероматоза брюшной полости. – СПб., 2016. – 146 с.
2. Беспалов В.Г., Вышинская Е.А., Васильева И.Н. и др. Интраперитонеальная химиотерапия – путь повышения эффективности лечения рака яичника // Вопр. онкол. – 2015. – Т. 61. – № 4. – С. 634–641.
3. Беспалов В.Г., Киреева Г.С., Беляева О.А. и др. Интраоперационное внутрибрюшинное химиоперфузионное лечение цисплатином и диоксадэтом на модели канцероматоза брюшной полости при раке яичника: оценка безопасности и эффективности // Вопр. онкол. – 2015. – Т. 61. – № 4. – С. 647–652.
4. Вышинская Е.А., Беспалов В.Г., Васильева И.Н. и др. Преимущества интраперитонеальной химиотерапии в лечении канцероматоза брюшной полости при раке яичника // Ж. акуш. и жен. болезн. – 2014. – Т. 63. – № 2. – С. 28–34.
5. Гершанович М.Л., Филон В.А., Котова Д.Г. и др. Результаты кооперированного клинического изучения противоопухолевого препарата диоксадэт по II фазе // Вопр. онкол. – 1998. – Т.44. – № 2. – С. 216–220.
6. Стуков А.Н., Гершанович М.Л., Беспалов В.Г. и др. Классификация противоопухолевых препаратов // Медлайн-Экспресс. – 2012. – № 2. – С. 20–24.

7. Хромов–Борисов Н.Н. Гармонизация статистических доказательств и предсказаний в биомедицине // I Открытый российский статистический конгресс: Сборник докладов. – Новосибирск: НГУЭУ, 2016. – С. 39–53.
8. Ansaloni L., Cocolini F., Morosi L. et al. Pharmacokinetics of concomitant cisplatin and paclitaxel administered by hyperthermic intraperitoneal chemotherapy to patients with peritoneal carcinomatosis from epithelial ovarian cancer // *Br. J. Cancer.* – 2015. – Vol. 112. – P. 306–312.
9. Bespalov V.G., Kireeva G.S., Belyaeva O.A. et al. Both heat and new chemotherapeutic drug dioxadet in hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion improved survival in rat ovarian cancer model // *J. Surg. Oncol.* – 2016. – Vol. 113. – P. 438–442.
10. Bespalov V.G., Kireeva G.S., Belyaeva O.A. et al. Experimental study of antitumor activity and effects on leukocyte count of intraperitoneal administration and hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion (HIPEC) with dioxadet in a rat model of ovarian cancer // *J. Chemother.* – 2016. – Vol. 28. – P. 203–209.
11. Boisen M.M., Richard S.D., Holtzman M.P. et al. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for epithelial ovarian cancers: is there a role? // *J. Gastrointest. Oncol.* – 2016. – Vol. 7. – P. 10–17.
12. Bookman M.A. Optimal primary therapy of ovarian cancer // *Ann. Oncol.* – 2016. – Suppl. 1. – P. 58–62.
13. Chan D.L., Morris D.L., Rao A., Chua T.C. Intraperitoneal chemotherapy in ovarian cancer: a review of tolerance and efficacy // *Cancer Manag. Res.* – 2012. – Vol. 4. – P. 413–422.
14. Faul F., Erdfelder E., Buchner A., Lang A.G. Statistical power analyses using G*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses // *Behav. Res. Methods.* – Vol. 41. – P. 1149–1160.
15. Ferlay J., Soerjomataram I., Ervik M. et al. GLOBOCAN 2012 v. 1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base № 11. Электронный ресурс. URL: <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx> (дата обращения: 13.07.2016).
16. Gourley C., Walker J.L., Mackay H.J. Update on intraperitoneal chemotherapy for the treatment of epithelial ovarian cancer // *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book.* – 2016. – Vol. 35. – P. 143–151.
17. Grosso G., Rossetti D., Cocolini F. et al. Intraperitoneal chemotherapy in advanced epithelial ovarian cancer: a survey // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2014. – Vol. 290. – P. 425–422.
18. Hammer Ø., Harper D., Ryan P. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis // *Palaeontol. Electron.* – 2001. – Vol. 4. – P. 4–9.
19. ICMJE. Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals. – 2015. Электронный ресурс. URL: <http://www.icmje.org/recommendations/>
20. Jaaback K., Johnson N., Lawrie T.A. Intraperitoneal chemotherapy for the initial management of primary epithelial ovarian cancer // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2016. – 1:CD005340.
21. Love J., Selker R., Marsman M. et al. «JASP» Computer software. – Version 0.6.6. – 2015.
22. Narod S. Can advanced-stage ovarian cancer be cured? // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2016. – Vol. 13. – P. 255–261.
23. Polom K., Roviello G., Generali D. et al. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for treatment of ovarian cancer // *Int. J. Hyperthermia.* – 2016. – Vol. 32. – P. 298–310.
24. Wasserstein R.L., Lazar N.A. The ASA’s Statement on p-Values: Context, Process, and Purpose // *Am. Stat.* – 2016. – Vol. 70. – P. 129–133.

Поступила в редакцию 16.01.2017 г.

V.G. Bespalov^{1,2}, I.K. Alvosky^{1,2}, G.V. Tochilnikov^{1,2}, E.A. Vyshinskaya¹, A.L. Semenov^{1,2}, I.N. Vasilieva^{1,2}, A.N. Stukov¹, K.Yu. Senchik¹, O.A. Belyaeva¹, G.S. Kireeva¹, L.A. Krasilnikova¹, V.A. Alexandrov^{1,2}, N.N. Khromov–Borisov³, D.A. Baranenko², A.M. Belyaev^{1,4}

Harmonized statistical analysis of the efficacy of intraperitoneal chemotherapy regimens with dioxadet on ascitic ovarian cancer model

¹N.N. Petrov Research Institute of Oncology
² ITMO University

³R.R. Vreden Russian Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics

⁴I.I. Mechnikov North-West State Medical University St. Petersburg

A comparative statistical study of the results of eight independent experiments on the efficacy of intraperitoneal chemotherapy has been performed. The regimens of catheter intraperitoneal chemotherapy (CIPC), normothermic and hyperthermic chemoperfusion (NIPEC and HIPEC) with antitumor drug dioxadet were investigated in 288 female Wistar rats with ascitic ovarian cancer. Ovarian cancer was transplanted intraperitoneally (i.p.) 48 hours prior to a single chemotherapy at a number of 1×10^7 tumor cells. Dioxadet was administered at the maximum tolerated doses: CIPC – via syringe – 1.5 mg/kg body weight; NIPEC (36,5–37,5°C) and HIPEC (40,5–41,5°C) – infused for a continuous circulation using an experimental setting – at respective doses 30 and 15 mg/kg body weight. The rats in the control groups were administered in the same manner with physiological saline solution. The antitumor effects of the treatment were estimated as an increase in survival time. The statistical analysis was based on the principles of harmonization of statistical evidence and predictions. The mean survival time in the control group without treatment (i.p. saline injection) was 15 days with 95% confidence interval (CI) from 12 to 19 days. IPC, NIPEC and HIPEC increased mean survival time by 85, 97 and 202% ($p < 0.001$ for the all cases) compared to the control group without treatment. Thus, HIPEC is the most effective mode of i.p. chemotherapy with antitumor drug dioxadet.

Key words: intraperitoneal chemotherapy, normothermic and hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion, ovarian cancer, dioxadet