



HAL
open science

Optimisation des techniques de chimiothérapie intracavitaire

Olivier Facy

► **To cite this version:**

Olivier Facy. Optimisation des techniques de chimiothérapie intracavitaire. Médecine humaine et pathologie. Université de Bourgogne, 2013. Français. NNT : 2013DIJOMU07 . tel-01555698

HAL Id: tel-01555698

<https://theses.hal.science/tel-01555698>

Submitted on 4 Jul 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE BOURGOGNE

UFR Médecine

THÈSE

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Bourgogne

Discipline : Médecine

Soutenue par Olivier FACY

le 20 septembre 2013

**OPTIMISATION DES TECHNIQUES DE
CHIMIOThERAPIE INTRACAVITAIRE**

Directeur de thèse

Pr Pablo Ortega Deballon

Co-encadrant de thèse

Dr Sylvain Ladoire

Jury

ARVIEUX, Catherine, PU-PH, chirurgien digestif, Université de Grenoble

BERNARD, Alain, PU-PH, chirurgien thoracique, Université de Bourgogne

CHAUFFERT, Bruno, PU-PH, oncologue, Université de Picardie

GHIRINGHELLI, François, PU-PH, oncologue, Université de Bourgogne

GLEHEN, Olivier, PU-PH, chirurgien digestif, Université de Lyon

**KIANMANESH, Reza, PU-PH, chirurgien digestif, Université de Reims
Champagne-Ardenne**

RESUME

Introduction. L'efficacité de la chimiothérapie intracavitaire dépend de la pénétration du produit au sein du péritoine (CHIP) ou de la plèvre. L'hyperthermie et l'hyperpression peuvent augmenter cette pénétration. Ce travail étudie leur effet intrapéritonéal, puis établit la méthode optimale pour les délivrer. L'étude de la faisabilité et de la tolérance d'une hyperpression intrapleurale est essentielle pour transposer ces bénéfices à la cavité thoracique.

Méthodes. Quatre groupes de porcs ont reçu une CHIP ouverte avec de l'oxaliplatine à une concentration constante (150 mg/l) pendant 30 minutes en normothermie ou hyperthermie (42-43°C) ; et en pression atmosphérique ou hyperpression (25 cmH₂O). Deux groupes ont reçu une procédure fermée en hyperthermie et hyperpression ou forte hyperpression (40 cmH₂O). L'absorption systémique et tissulaire d'oxaliplatine a été étudiée. La tolérance d'une perfusion pleurale a été étudiée chez 21 porcs avec ou sans résection associée, avec ou sans chimiothérapie (cisplatine + gemcitabine), à divers niveaux de pression de 15 à 25 cmH₂O.

Résultats. L'hyperthermie augmente les concentrations de platine dans les surfaces viscérales (p=0.0014), alors que l'hyperpression l'augmente dans les surfaces viscérales et pariétales (respectivement p= 0.0058 et p= 0.0044). L'association des deux facteurs permet d'obtenir les concentrations les plus importantes dans le péritoine viscéral (p= 0.00001) et pariétal (p= 0.0003). Les concentrations obtenues lors des procédures fermées sont inférieures à celles obtenues en ouvert, même lorsque la pression atteint 40 cmH₂O. Une chimiothérapie intrapleurale à 20 cmH₂O sans résection associée est le niveau maximal toléré durant 60 minutes.

Conclusion. Au cours d'une CHIP, l'hyperthermie augmente la pénétration d'oxaliplatine dans le péritoine viscéral, alors que l'hyperpression est efficace dans le péritoine viscéral et pariétal. Leur association est synergique et la procédure ouverte semble la meilleure pour la délivrer. Une chimiothérapie intrapleurale est faisable à 20 cmH₂O dans ce modèle.

MOTS CLES: CHIP, hyperthermie, hyperpression, carcinose péritonéale, carcinose pleurale

ABSTRACT

Introduction. In order to achieve a good effect, chemotherapy drugs need to penetrate into the peritoneal (HIPEC) or pleural tissue. Hyperthermia and high-pressure may enhance this penetration. The aim of this study was to evaluate their peritoneal effect and to establish the best technique to it. A feasibility study of an intrapleural high-pressure was an essential step to export these effects to the thoracic space.

Methods. Four groups of pigs underwent an open HIPEC with a constant concentration (150 mg/l) of oxaliplatin during 30 minutes either in normothermia, or in hyperthermia (42-43°C); and either with atmospheric pressure or with high-pressure (25 cmH₂O). Two more groups underwent a closed procedure with hyperthermia and either high-pressure or very high-pressure (40 cmH₂O). The systemic and tissue absorption of oxaliplatin were studied. The haemodynamic and respiratory tolerance of a pleural infusion was also tested in 21 pigs with and without associated resection; with and without chemotherapy infusion (cisplatin + gemcitabin) and at various levels of pressure (from 15 to 25 cmH₂O).

Results. Hyperthermia enhances the concentrations of platinum in visceral surfaces (p=0.0014), whereas high-pressure enhances it both in visceral and in parietal surfaces (p= 0.0058 and p= 0.0044, respectively). Their association obtains the highest concentrations both in the visceral (p= 0.00001) and the parietal peritoneum (p= 0.0003). The concentrations obtained during closed procedure are lower than those achieved with the open technique, even with 40 cmH₂O of pressure. A 60-minutes intrapleural chemotherapy perfusion with 20 cmH₂O of pressure without any lung resection was the maximal tolerated level.

Conclusion. During HIPEC, hyperthermia improves the penetration of oxaliplatin in the visceral peritoneum, whereas high-pressure is effective in both peritoneal surfaces. Their association is synergic and the open technique seems to be the best one to deliver it. An intrapleural chemotherapy with a 20 cmH₂O pressure is feasible in this model.

KEY WORDS: HIPEC, hyperthermia, high-pressure, peritoneal carcinomatosis, pleural carcinomatosis

SOMMAIRE

INTRODUCTION - OBJECTIFS

CAVITE PERITONEALE

I Matériels et méthodes

- Animaux**
- Anesthésie**
- Technique chirurgicale**
- Prélèvements sanguins, tissulaires et du circuit**
- Dosage de platine**
- Prélèvements pulmonaires**
- Analyse statistique**

II Résultats

- Tolérance hémodynamique et ventilatoire**
- Absorption systémique d'oxaliplatine**
- Concentrations tissulaires d'oxaliplatine en procédures ouvertes**
- Concentrations tissulaires d'oxaliplatine en procédures fermées**

III Discussion

- Méthodologie**
- Hyperthermie**
- Hyperpression ouverte**
- Hyperpression fermée**

CAVITE PLEURALE

I Matériels et méthodes

- Cytotoxicité in vitro**
- Faisabilité et tolérance in vivo**
- Chimiothérapie intrapleurale**

II Résultats

- Tolérance à la pression intrapleurale**
- Choix de chimiothérapie et de la dose**
- Tolérance à une chimiothérapie intrapleurale en hyperpression**

III Discussion

CONCLUSION

ANNEXES

Ce travail a bénéficié du financement de la Ligue contre le Cancer (comité Grand Est) en 2011, ainsi que de fonds alloués par le Centre Hospitalier Universitaire de Dijon et le Conseil Régional de Bourgogne. L'oxaliplatine a été fourni gracieusement par le laboratoire Mylan SAS, France.

L'auteur remercie le Pr Pablo Ortega-Deballon pour son encadrement si précieux depuis tant d'années, le Pr Bruno Chauffert et le Pr François Ghiringhelli pour leur acharnement à associer la chirurgie à l'ensemble de l'arsenal thérapeutique contre le cancer, les Dr Guy Magnin et Philippe Pointaire (service d'anesthésie et réanimation, CHU de Dijon) pour leur maîtrise et leur art de l'anesthésie ; le Dr Pierre-Benoit Pages (service de chirurgie thoracique et cardio-vasculaire, CHU de Dijon) pour son aide amicale et sa patte chirurgicale; le Dr Jean-Luc Beltramo (laboratoire de Chimie Analytique de la Faculté de Pharmacie de Dijon), pour les dosages de platine et les explications fournies; le Dr Céline Charon-Barra (service de biologie et pathologie des tumeurs, centre de lutte contre le cancer Georges François Leclerc, Dijon) pour les examens anatomopathologiques et les images de microscopie fournies; et l'équipe Agrosup de Pouilly-en-Auxois pour leur accueil et les soins prodigués aux animaux.

ABBREVIATIONS

CHIP : chimiohyperthermie intrapéritonéale

CIP : chimiothérapie intrapéritonéale

TAS : tension artérielle systolique

Fc : fréquence cardiaque

SaO₂ : saturation en oxygène

Dc : débit cardiaque

Ic : index cardiaque

PCI : Peritoneal Carcinomatosis Index

SAA : Spectrométrie d'Absorption Atomique

dFdU: 2,2-difluoro-2-deoxyuridine

HPLC: chromatographie liquide à haute performance

INTRODUCTION

La carcinose péritonéale ou pleurale est définie par l'implantation de cellules tumorales malignes au sein du péritoine ou de la plèvre, tissus mésothéliaux similaires en termes de constitution et de physiologie. Elle peut être primitive (pseudomyxome ou mésothéliome) ou secondaire, d'origine le plus souvent digestive (colique, gastrique, pancréatique), gynécologique (ovarienne, sein) ou pulmonaire. Les traitements classiques consistent en une chimiothérapie systémique le plus souvent palliative. La cytoréduction chirurgicale associée à la chimiohyperthermie intrapéritonéale (CHIP) est le seul traitement pouvant offrir une survie longue à des patients sélectionnés atteints de carcinose péritonéale [1-4]. Malgré son utilisation clinique courante et le nombre croissant d'équipes chirurgicales réalisant cette intervention dans le monde, certains aspects fondamentaux de la technique restent controversés : l'apport réel de la CHIP après cytoréduction complète, le type de produits utilisé, la durée du bain de chimiothérapie, l'intérêt de l'hyperthermie, l'utilisation de l'hypotonie, de vasoconstricteurs et de l'hyperpression pour augmenter la pénétration des produits dans le péritoine [5, 6]. De plus, deux méthodes de réalisation de la CHIP s'opposent : la méthode ouverte et la fermée. La méthode ouverte ou technique du colisée, consiste en l'instillation du liquide de CHIP au sein de l'abdomen restant largement ouvert; le liquide peut ainsi être brassé et toutes les zones de l'abdomen exposées. La méthode fermée consiste quant à elle à refermer de façon étanche l'abdomen après avoir mis en place les cathéters d'entrée et de sortie du circuit. Son avantage est de diminuer les risques théoriques d'exposition du personnel de bloc aux vapeurs et éclaboussures du liquide de CHIP, mais au prix de circuits préférentiels entre l'entrée et la sortie compromettant l'homogénéité d'exposition des différentes zones abdominales [7, 8]. Néanmoins, aucune supériorité de l'une des méthodes sur l'autre n'a été clairement montrée en pratique clinique.

Le but de la CHIP est d'obtenir une pénétration en profondeur dans le péritoine à une concentration maximale dans l'intention de traiter la maladie microscopique résiduelle à l'issu

de la chirurgie de cytoréduction. L'hyperthermie entre 42°C et 43°C est associée dans l'intention d'optimiser l'effet cytotoxique de la chimiothérapie sur les cellules tumorales, bien que son intérêt ne soit pas prouvé pour toutes les molécules de chimiothérapie [9-11]. En 2006, le groupe de recherche sur les chimiothérapies loco-régionales de l'unité INSERM 866 de Dijon a montré que la chimiothérapie intrapéritonéale (CIP) au cours d'une procédure fermée en hyperpression augmentait la pénétration du cisplatine et la survie de rats porteurs de carcinose péritonéale d'origine colorectale [12]. Au cours du même travail, l'équipe a montré la tolérance hémodynamique du porc à une hyperpression intra-abdominale allant jusqu'à environ 50 cmH₂O pendant 120 minutes. Les bases biologiques et la tolérance hémodynamique de la chimiothérapie intrapéritonéale en technique fermée ont ainsi été posées. En 2010, nous avons mené une comparaison de pénétration tissulaire entre la CHIP ouverte et la CHIP fermée chez le porc. Les procédures ouvertes donnaient des concentrations tissulaires plus importantes et plus homogènes que les procédures fermées dans ce modèle [8].

Concernant la carcinose pleurale, les résultats obtenus en pratique clinique pour le traitement à visée curative des épanchements métastatiques ou des mésothéliomes pleuraux sont beaucoup plus décevants [13-15]. Ceci tient au fait que les néoplasmes pulmonaires primitifs sont souvent plus agressifs et leurs métastases rarement limitées à la plèvre, et que l'état général des patients est souvent plus altéré, contraindiquant des exérèses étendues et plus à risque. Néanmoins, l'optimisation des techniques de chimiothérapie intracavitaire mise en place dans le péritoine pourrait bénéficier à la prise en charge de la carcinose pleurale et améliorer le contrôle local voire la survie des patients [16].

OBJECTIFS

Etant donné les résultats précédents, la démarche suivante à la recherche d'une procédure optimale de CHIP a été d'allier une technique ouverte à l'hyperpression et,

éventuellement, à l'hyperthermie. La première étape a donc consisté d'une part à établir la faisabilité d'une CHIP en hyperpression au cours d'une procédure ouverte, et d'une autre à définir l'apport réel de la pression, de l'hyperthermie et de leur association sur la pénétration tissulaire de l'oxaliplatine comme prérequis indispensable de l'efficacité antitumorale.

La deuxième étape a ensuite consisté à comparer les résultats de ces procédures avec ceux obtenus au cours de procédures fermées, afin d'évaluer si l'hyperpression, plus simple à réaliser et pouvant être plus élevée au cours d'une technique fermée, permettait de contrebalancer les défauts de répartition et pénétration constatés lors des procédures en pression atmosphérique.

L'apport éventuel de l'hyperpression à la chimiothérapie intrapleurale a enfin été évalué en termes de faisabilité, de tolérance et d'efficacité, tout en tenant compte des spécificités des cancers primitifs impliqués le plus souvent dans la carcinose pleurale.

CAVITE PERITONEALE

I MATERIELS ET METHODES

1. Animaux

Trente porcs femelles de race Large White âgés de 3 mois et pesant 60 kg ont été utilisés. Tous ont été accueillis au laboratoire 7 jours avant la procédure pour acclimatation avec une alimentation solide et liquide standard. Six groupes de 5 porcs chacun ont été constitués pour recevoir une CIP, séparés en groupes ouverts, pour les CIP réalisées au cours de procédures ouvertes et en groupes fermés pour les procédures fermées:

GROUPES OUVERTS

- Groupe 1 : Chimiothérapie intrapéritonéale en normothermie (38 °C correspondant à la température normale du porc) et pression atmosphérique.
- Groupe 2 : Chimiothérapie en hyperthermie (42-43°C) et pression atmosphérique.
- Groupe 3 : Chimiothérapie en normothermie (38°C) et hyperpression (25 cmH₂O).
- Groupe 4 : Chimiothérapie en hyperthermie (42-43°C) et hyperpression (25 cmH₂O).

GROUPES FERMES

- Groupe 5 : Chimiothérapie intrapéritonéale en hyperthermie (42-43°C) et hyperpression (25 cmH₂O).
- Groupe 6 : Chimiothérapie en hyperthermie (42-43°C) et forte hyperpression (40 cmH₂O).

Aspects réglementaires

Les expériences se sont déroulées dans la plateforme zootechnique d'Agrosup et au CHU de Dijon. La plateforme a été agréée par la Direction Départementale des Services Vétérinaires,

puis par la Direction de Protection des Populations (numéro d'agrément : A21 210 015 EA). Le Pr Pablo Ortega-Deballon, coordonne les activités des équipes du CHU de Dijon sur cette plateforme et est titulaire d'une autorisation pour réaliser des interventions chirurgicales chez l'animal (21-CAE-092). Les animaux ont été achetés auprès de l'EARL DE PLEIN AIR, située au Hameau de Cruchy, 21 500 Saint Remy (N° EDE 21D27).

Ces protocoles de recherche sont en accord avec les recommandations d'Helsinki et les normes européennes en matière de recherche expérimentale animale. L'accord du Comité d'Ethique pour l'Expérimentation Animale de l'Université de Bourgogne a été obtenu avant de commencer les expériences (N° de protocole : A 1209).

2. Anesthésie

La prémédication a consisté en une injection intramusculaire de 1 g de kétamine, avec 1 ml d'acépromazine (Calmivet[®]) et 1 mg d'atropine. L'induction a été réalisée par une injection intra-veineuse de 1 g de kétamine avant l'intubation trachéale, réalisée en décubitus ventral, puis la ventilation mécanique. L'entretien de l'anesthésie a été poursuivi par isoflurane à 1.5%, sufentanil (Sufenta[®]) à 20 µg/h et bésilate de cisatracurium (Nimbex[®]) débuté par un bolus de 12 mg puis 12 mg/h en intraveineux. Il n'y pas eu d'antibioprophylaxie.

Le monitoring a été assuré par un cardioscope, un saturomètre, avec mesure du débit (L/min) et de l'index cardiaque (L/min/m²) par un système NICO (Novamatrix Medical Systems Inc., Wallingford, CT). La pression artérielle systémique a été surveillée par un cathéter artériel huméral (Sedicath, Plastimed, Saint Leu La Forêt, France) sur un moniteur Hewlett Packard. La pression veineuse centrale a été mesurée par une voie veineuse jugulaire interne.

Une sonde naso-gastrique ainsi qu'une sonde urinaire ont été mises en place, permettant la décompression gastrique et la surveillance de la diurèse. La température œsophagienne a de plus été monitorée.

Le remplissage peropératoire était en moyenne de 2 litres comportant l'association de Ringer Lactate, sérum glucosé à 5%, sérum physiologique, gélatine fluide modifiée (Plasmion[®], Fresenius Kabi France, Sèvres, France) et hydroxyethylamidon (Voluven[®]). Le recours aux amines vaso-pressives (adrénaline et norépinéphrine) n'a pas été nécessaire pour assurer une tension artérielle systolique (TAS) \geq 80 mmHg.

3. Technique chirurgicale

Les animaux ont été placés en décubitus dorsal et une laparotomie médiane a été pratiquée. Trois sondes thermiques (Tyco, USA) ont été placées dans l'abdomen (suturée au diaphragme droit, dans le cul-de-sac de Douglas et au sein du mésentère). La CHIP a été réalisée grâce à l'utilisation d'un circuit continu (Dideco, Italie), d'une pompe à galet (Cobe, Stöckert, Allemagne) et d'un échangeur thermique en cas d'hyperthermie programmée (Dideco, Italie) (figure 1).



Figure 1: Circuit continu de CHIP comprenant une pompe à galet (haut), un échangeur thermique (en bas). La température a été monitorée en continu par un système Bodyterm (haut) et la pression intra-abdominale par une colonne d'eau graduée reliée à un cathéter intra-abdominal (bas).

Deux sondes thermiques supplémentaires ont été placées dans les tubulures d'entrée et de sortie du circuit de réchauffement. Les températures des différents sites (températures centrale, intra-abdominales et du circuit) ont été monitorées en continu et intégrées à l'aide d'un système de contrôle en temps réel (Bodytherm 8180, version 1.2.0, EFS électronique, France). La pression intra-abdominale a été mesurée à l'aide d'un cathéter placé dans l'abdomen et relié à une colonne d'eau dont le zéro a été placé à la partie supérieure de l'abdomen (au niveau de la laparotomie) (figure 1). Ce cathéter a été régulièrement purgé pour en assurer la perméabilité.

Pour les groupes ouverts, l'application de chimiothérapie en pression atmosphérique a été effectuée selon la technique ouverte-fermée mise au point par notre équipe, utilisant un cadre rigide sur un prolongateur caoutchouc agrafée aux berges de l'incision cutanée [17]. Une plaque de plexiglas a isolé la partie supérieure du montage, au sein de laquelle un lap-disk étanche a permis l'accès de la cavité péritonéale à la main du chirurgien, afin de brasser le liquide et de le répartir dans la cavité péritonéale et ses différentes régions anatomiques, en baignant la totalité des surfaces pariétales et viscérales (figure 2). L'abdomen a ensuite été rempli au sérum glucosé à 50 g/l (Baxter, Royaume-Uni) ; quatre litres étant nécessaires pour maintenir le niveau liquide au niveau des berges d'incision.

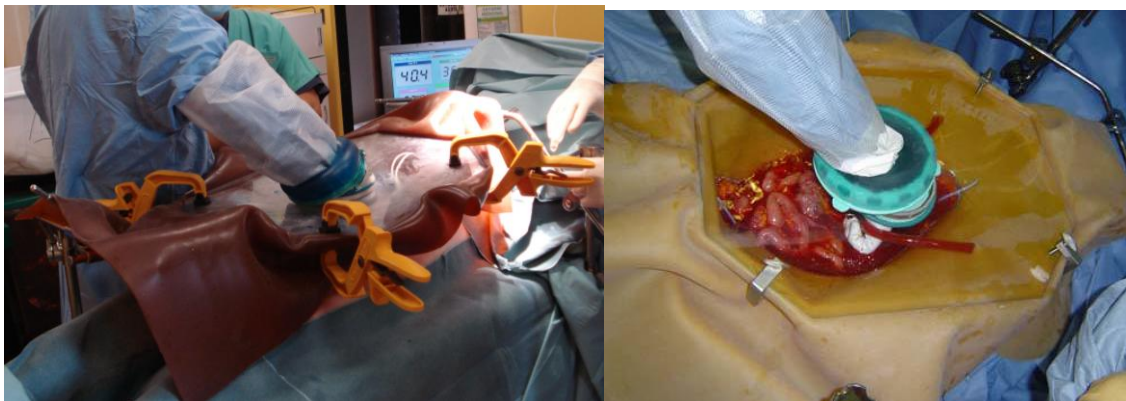


Figure 2 : Chimiothérapie intra-péritonéale réalisée selon la technique ouverte-fermée.

Des expériences préalables ont été réalisées pour la mise au point technique d'un système permettant la réalisation d'une hyperpression en CHIP ouverte. Différentes options techniques se sont soldées par un échec. La première option choisie a été d'élever largement au-dessus de l'abdomen le cadre porteur du prolongateur en latex afin de remplir celui-ci jusqu'à 25 cm au-dessus de l'incision. Le volume nécessaire au remplissage du prolongateur (supérieur à 20 litres) a fait abandonner cette option. La deuxième possibilité testée a été de gonfler le prolongateur sans le surélever avec plus de liquide (ce qui obligeait à un remplissage encore très important). La solution finalement retenue a consistée en une colonne d'expansion verticale en caoutchouc de 40 cm de hauteur permettant de créer le gradient de pression abdominale nécessaire (25 cm H₂O au dessus de la laparotomie), solidarisée de façon étanche aux berges de la laparotomie qui avait été partiellement refermée (figure 3).

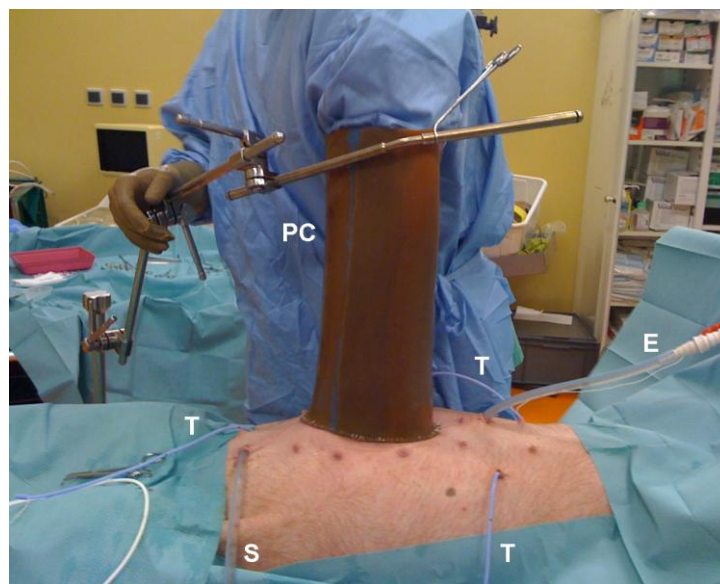


Figure 3: Chimiothérapie intrapéritonéale ouverte en hyperpression. Un prolongateur vertical en caoutchouc (PC), avec sa hauteur graduée en centimètres, est agrafé de façon hermétique aux berges cutanées et maintenu par un cadre métallique. Le prolongateur est rempli avec le perfusât jusqu'à 25 cm. Trois sondes thermiques (T) sont placées au travers de la peau, de la même façon que les cathéters d'entrée (E) et de sortie (S). Des bourses sont effectuées autour de ces sondes et cathéters afin d'assurer l'étanchéité de la procédure.

Selon le principe de Pascal, la pression de cette colonne de liquide s'est répartie de façon uniforme à l'ensemble de la cavité abdominale. L'une des contraintes a été de ne pas

enlever le bras de l'opérateur du cylindre afin d'éviter les variations de pression en cours de procédure (selon le principe d'Archimède). La création de cette espace additionnel à remplir et la distension que l'hyperpression induisait dans la cavité abdominale ont nécessité un remplissage supplémentaire modéré (8 litres au total), qui a été possible sans débordement ni contamination autour du système (15 cm de sécurité entre le niveau liquide et le sommet du prolongateur).

Pour les groupes fermés (groupes 5 et 6), l'application de la chimiothérapie intrapéritonéale en hyperpression a été plus simple (figure 4). Après mise en place de l'ensemble des cathéters de mesure de la température, un cathéter était placé au sein du mésentère et relié à la colonne de liquide pour mesure de la pression intra-abdominale. Le niveau 0 de la colonne de liquide étant placé à la partie supérieure de l'abdomen, la situation intra-abdominale de l'extrémité du cathéter n'influe pas sur la mesure de la pression au sommet de l'abdomen.

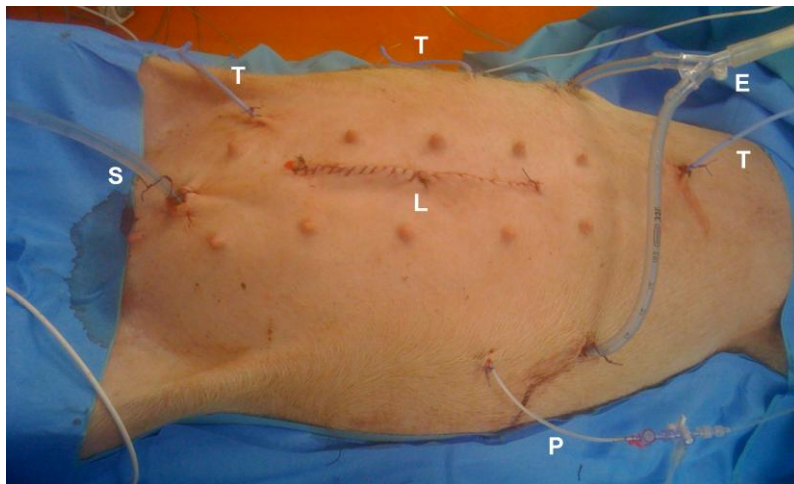


Figure 4 : Chimiothérapie intrapéritonéale fermée en hyperpression. Les sondes thermiques (T), les cathéters d'entrée (E), de sortie (S) et de mesure de la pression (P) sont mis en place avec des bourses. La laparotomie (L) est ensuite fermée de façon étanche.

Deux drains d'entrée du circuit étaient placés dans chaque région sous-phrénique et un drain de sortie dans le pelvis. En cas d'occlusion de l'un des drains, le sens de circulation du circuit était inversé pour retrouver un débit satisfaisant. La paroi abdominale était fermée de

façon étanche par des surjets aponévrotiques, sous-cutanés et cutanés. L'abdomen était ensuite rempli de sérum glucosé jusqu'à obtenir la pression souhaitée : environ 6 litres étaient nécessaires pour obtenir une pression de 25 cmH₂O, alors que 8 litres permettaient de monter la pression à 40 cmH₂O.

L'oxaliplatine (Mylan SAS, France) a été instillée dans la cavité péritonéale lorsque la pression et la température souhaitées étaient atteintes dans chaque compartiment de l'abdomen, marquant le temps 0 de la procédure. La concentration d'oxaliplatine a été la même (150 mg/l) pour chaque groupe et la CHIP durait 30 minutes. Ceci implique que chez les animaux traités en pression, le volume de remplissage abdominal a été supérieur et la dose totale d'oxaliplatine a été proportionnellement augmentée pour maintenir une concentration constante dans le perfusât. Ceci répond au fait que la pénétration tissulaire d'oxaliplatine dépend plus de la concentration que de la dose totale administrée [18]. En fin d'intervention, la cavité péritonéale a été vidée du perfusât (éliminé de façon conforme aux bonnes pratiques d'utilisation des produits cytotoxiques et la législation en vigueur) et lavée par un litre de sérum glucosé à 50 g/l à température ambiante.

4. Prélèvements sanguins, tissulaires et du circuit.

Huit prélèvements sanguins (environ 1 ml) ont été réalisés sur la voie centrale après rinçage de celle-ci: lorsque la pression et la température souhaitées étaient atteintes dans chaque sonde thermique intra-abdominale, définissant le temps 0 avant l'instillation de la chimiothérapie, puis toutes les 10 minutes durant la procédure de CHIP (10, 20 et 30 minutes), et poursuivis après la fin de la CHIP à 40, 50, 60 et 75 minutes de l'instillation de l'oxaliplatine.

Cinq prélèvements du liquide de perfusât (environ 1 ml) ont été réalisés dans le circuit pour chaque animal à 0, 5, 10, 20 et 30 minutes, dans le but d'étudier la distribution de l'oxaliplatine et de rechercher d'éventuelle contamination entre les procédures.

En fin de procédure, 15 prélèvements tissulaires standardisés ont été effectués sur le péritoine viscéral et pariétal utilisant une procédure standardisée au préalable par notre groupe et inspirée du Peritoneal Carcinomatosis Index (PCI) de Paul H. Sugarbaker [8]. Les prélèvements péritonéaux pariétaux ont emporté un fragment de 1 x 1 cm de péritoine pariétal sans graisse ni muscle sous-péritonéal dans les zones suivantes : péritoine péri-incisionnel, diaphragme droit et gauche, gouttières pariéto-coliques droite et gauche, péritoine pelvien droit et gauche. Les prélèvements viscéraux ont compris l'ensemble de la paroi digestive, hormis pour l'estomac, et ont porté sur : l'ovaire, le mésentère, l'estomac (en extra-muqueux), le jéjunum proximal et distal (distant d'un mètre du fait de la masse intestinale plus longue chez le porc que chez l'homme), l'iléon proximal et distal (distant d'un mètre pour les mêmes raisons) et le colon. Chaque prélèvement était lavé dans du sérum glucosé à 50 g/l, puis séché par tamponnement afin d'éliminer la chimiothérapie n'ayant pas pénétré le péritoine mais se situant seulement à sa surface.

Tous les prélèvements ont ensuite été congelés à -20°C jusqu'au dosage de platine. Les animaux ont été euthanasiés en fin de procédure par une injection intraveineuse de pentobarbital (Dolethal®, Vétquinol, France) après fermeture pariétale.

5. Dosage de platine

Les prélèvements tissulaires et liquides ont été pesés et digérés par 5 ml de HNO₃ 65 % et 1 ml de H₂O₂. Le minéralisât a été injecté dans un tube de 10 ml et son volume complété jusqu'à 10 ml par de l'eau ultra-pure. Après cette minéralisation acide, le dosage du platine a été réalisé par Spectrométrie d'Absorption Atomique en Four Graphite (SAAFG). Pour cela,

l'échantillon liquide a été aspiré dans un tube capillaire puis injecté dans un four en graphite porté à haute température (figure 5). Le four qui a la forme d'un tube a reçu quelques microlitres d'échantillon, et par effet « Joule direct » a suivi un programme de température. L'échantillon a d'abord été séché (évaporation du solvant), puis il a été décomposé (simplification de la matrice), et enfin il a été atomisé. Ce programme de température se finissait par une pyrolyse à très haute température qui nettoyait le four de ces résidus éventuels.



Etape	Température (°C)	Durée (s)	Débit de gaz neutre (l/min)
Séchage	85	2,0	3,0
	95	8,0	3,0
	120	10,0	3,0
Minéralisation	1000	5,0	3,0
	1000	20,0	3,0
	1000	2,0	0,0
Atomisation	2700	1,3	0,0
	2700	2,0	0,0
Pyrolyse	2700	1,0	3,0

Figure 5 : SAA 220 Zeeman Varian® et programme de température du four graphite. La spectrométrie d'absorption atomique permet de doser des éléments chimiques en mesurant l'absorption de radiations photoniques de longueur d'onde spécifique par des atomes en phase vapeur. Les radiations sont émises par une lampe à cathode creuse spécifique de l'élément à doser. Les parois de la cathode sont recouvertes d'une couche de l'élément à doser et celui-ci, sous l'effet du courant électrique qui parcourt la cathode passe de l'état fondamental à l'état excité. La désexcitation entraîne l'émission d'une radiation lumineuse spécifique de cette transition. Le faisceau lumineux émis passe au travers de l'échantillon atomisé qui va absorber une partie du rayonnement. La quantité de rayonnement absorbée est proportionnelle à la quantité de l'élément à doser.

Les dosages ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre d'absorption atomique de marque Varian® de modèle 220 Zeeman (correction des absorptions non spécifiques par effet zeeman), possédant un passeur d'échantillons et piloté par le logiciel SpectrAA. Pour le dosage du platine, une lampe spécifique (UltraAA lampe, Varian®) a été utilisée. Cette lampe

à double cathode creuse est une lampe au platine parcourue par un courant de 12 mA. La longueur d'onde de travail a été de 265,9 nm avec une largeur de fente de 0,5 nm permettant la mesure des hauteurs de pic. Les résultats ont été corrigés selon la dilution et le poids du prélèvement initial et la concentration de platine obtenue en mg/kg. Le platine correspondant à environ la moitié de la masse moléculaire de l'oxaliplatine, la concentration d'oxaliplatine peut être calculée en multipliant la concentration de platine par 2,03.

6. Prélèvements pulmonaires

Afin d'évaluer le retentissement sur le parenchyme pulmonaire d'une CHIP en hyperpression, des prélèvements pulmonaires (2 cm x 2 cm) ont été effectués à la fin de la procédure sur les porcs des groupes traités en hyperthermie ouverte et pression atmosphérique (groupe 2) et lors de la plus forte hyperpression intra-abdominale (procédure fermée à 40 cmH₂O : groupe 6). Ils étaient ensuite placés dans du formol tamponné et examinés par le Dr C Charon-Barra, du service d'anatomie pathologique du Centre Georges François Leclerc. Après fixation des pièces, l'examen macroscopique incluait les dimensions de celles-ci et l'aspect du parenchyme pulmonaire. Des recoupes étaient réalisées après 24 heures de fixation, débitant le prélèvement en tranches fines de quelques millimètres d'épaisseur, puis le plaçant dans des cassettes étiquetées. La déshydratation automatisée des tissus consistait ensuite en un passage dans des bains successifs d'alcool de 70° à 100° puis de toluène et enfin de paraffine. Le prélèvement orienté était inclus avec de la paraffine liquide. Le bloc de paraffine était ensuite coupé au microtome après refroidissement, permettant l'obtention de rubans de paraffine de 3 µm d'épaisseur. La coupe était déposée avec de l'eau additionnée d'albumine sur lame, puis placée sur une platine chauffante pour déplisser la coupe et la sécher. La coloration du prélèvement dans un automate comportait une succession d'étapes : déparaffinage, réhydratation, coloration avec l'hémalum éosine safran (HES) et pour finir une

nouvelle déshydratation. Après montage entre lame et lamelle, la lecture au microscope optique permettait l'analyse morphologique du parenchyme pulmonaire et l'évaluation des dommages éventuels causés par l'hyperpression (barotraumatisme).

7. Analyse statistique

Les concentrations de platine en mg/kg, les températures en °C et le temps en minutes ont été présentés en moyenne dans le texte et les figures et utilisés pour l'analyse statistique, après avoir été rentrés dans Excel. Des tests non-paramétriques ont été utilisés pour les concentrations de platine du fait du nombre limité d'animaux dans chaque groupe et dans le but de donner de la robustesse aux résultats. Un test de Kruskal-Wallis a été réalisé pour comparer plus de 2 moyennes. Si une différence existait de manière significative, une comparaison 2 par 2 a été réalisée entre chaque groupe par un test de Mann-Whitney. Les décimales ont toujours été conservées pour les calculs, mais présentées arrondies à 2 décimales pour les concentrations de platine. Une valeur de p inférieure à 0,05 a fait considérer une différence comme significative dans chaque test. Les données ont été colligées et l'analyse statistique effectuées par un programme SPSS (version 10.0).

II RESULTATS

Pour les groupes de porcs traités en hyperthermie (groupes 2, 4, 5 et 6), une température comprise entre 42 et 43 °C a pu être atteinte en 20 minutes tant en ouvert qu'en fermé (la température de la sonde diaphragmatique étant souvent plus froide de 0,5 °C que les autres sondes du fait des échanges thermiques transdiaphragmatiques avec la ventilation pulmonaire). Une fois cette température atteinte, les variations ont ensuite été minimales en cours de procédure. La température centrale a augmenté progressivement jusqu'à atteindre 39,5 °C au maximum (soit + 1,5 °C par rapport à la température physiologique du porc).

Quatre litres de sérum glucosé ont été nécessaires pour remplir la cavité abdominale des animaux traités en pression atmosphérique ouverte (groupes 1 et 2) correspondant au volume habituel utilisé en pratique clinique (2 l/m², un porc de 60 kg ayant une surface corporelle d'environ 1,9 m²). Huit litres ont été nécessaires pour remplir la cavité péritonéale et le prolongateur en latex jusqu'à 25 cm au-dessus de la laparotomie des porcs traités en hyperpression ouverte (groupes 3 et 4). Six à sept litres ont été nécessaires pour obtenir une hyperpression fermée à 25 cmH₂O (groupe 5), alors que huit à dix litres permettaient d'atteindre une forte hyperpression à 40 cmH₂O (groupe 6).

Chez tous les animaux, la concentration initiale d'oxaliplatine dans le perfusât a été la même (150 mg/l), ce qui a impliqué d'augmenter la dose totale délivrée chez les animaux traités en pression (du fait du volume supérieur). La concentration de platine dans le circuit a progressivement diminuée en cours de procédure (du fait de l'absorption tissulaire) sans différence significative entre chaque groupe aux différents temps, ce qui garantissait l'absence de fuite ou de contamination.

Il n'y a pas eu d'évènement indésirable au cours de chacune des procédures, hormis la découverte d'une lésion de brûlure sur une annexe par aspiration de celle-ci dans le drain de sortie au cours d'une procédure fermée en hyperpression du groupe 5 (figure 6).

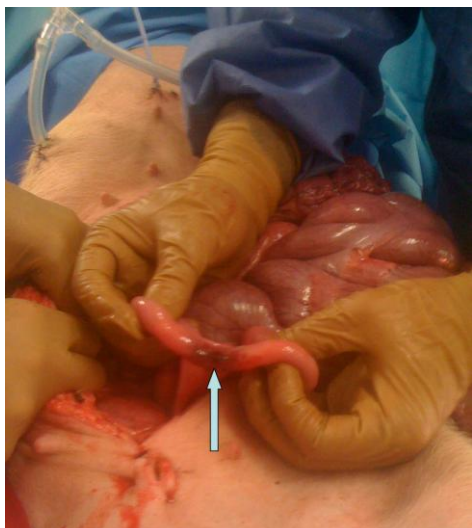


Figure 6 : découverte d'une lésion de brûlure de la trompe droite, causée par l'aspiration de celle-ci dans le drain de sortie pelvien, lors d'une CHIP fermée en hyperpression à 25 cmH₂O.

1. Tolérance hémodynamique et ventilatoire

Il n'y a jamais eu de recours aux amines vasopressives.

Dans les groupes 1 et 2 (pression atmosphérique), le remplissage vasculaire a été de 500 ml permettant de conserver une fréquence cardiaque moyenne à 50 ± 6 /min, une TAS à 90/50 mmHg et une saturation en oxygène entre 97 et 100%. La pression de ventilation a été stable à 10 ± 2 mmHg.

Dans les groupes 3, 4 et 5 (hyperpression à 25 cmH₂O), la fréquence cardiaque est montée à 80 ± 10 /min, mais la TAS a été maintenue à 90/50 mmHg par un remplissage vasculaire de 1 litre. La saturation en oxygène a été stable entre 96 et 100%, alors que la pression de ventilation a augmentée à 15 mmHg. Aucune différence n'a été constatée entre les procédures ouvertes (groupes 3 et 4) et les procédures fermées (groupe 5).

Dans le groupe 6 (forte hyperpression à 40 cmH₂O), la fréquence cardiaque atteignait 120 ± 20 /min, la TAS baissait à 70/40 mmHg malgré un remplissage vasculaire de 2 litres. La saturation en oxygène a été stable entre 96 et 100%, alors que la pression de ventilation augmentait à 35 mmHg.

L'examen histologique des prélèvements pulmonaires des porcs du groupe 6, traités avec la plus forte hyperpression, en comparaison au parenchyme pulmonaire du porc témoin

issu du groupe 2, traités en hyperthermie sans hyperpression, montrait une architecture pulmonaire globalement conservée sans signe majeur de barotraumatisme à type de dommages alvéolaires aigus, d'œdème pulmonaire, de désorganisation architecturale avec remaniements emphysémateux ou d'hémorragie intra alvéolaire diffuse (figure 7).

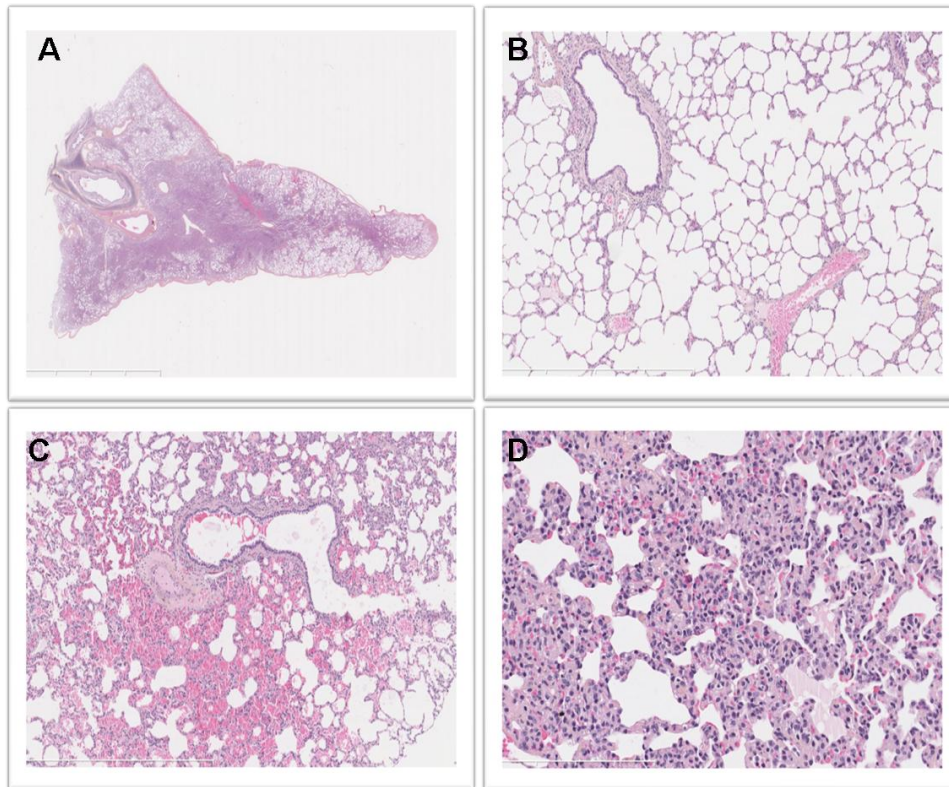


Figure 7 : **A :** Coupe de parenchyme pulmonaire à un faible grossissement, hétérogène, avec des bronches de moyen calibre avec une paroi à armature cartilagineuse et des vaisseaux de moyen calibre. **B :** Les canaux alvéolaires se poursuivent par des sacs alvéolaires sur lesquels s'abouchent de nombreuses alvéoles. Les pneumocytes sont quasi-virtuels. Les cloisons inter alvéolaires sont très fines (tissu conjonctif, quelques fibroblastes et éléments libres, quelques capillaires tapissés d'un endothélium) (x20). **C :** petite zone d'hémorragie intra alvéolaire très focale et réduite (hématies= points rouges) **D :** zone congestive et alvéoles collabées (x20). Cloisons inter alvéolaires plus cellulaires avec quelques éléments libres mononucléés.

On observait simplement pour 3 des porcs du groupe 6 quelques lésions minimales, focales, non spécifiques (petites plages de suffusions hémorragiques). Il faut toutefois souligner que deux porcs du groupe 6 présentaient quelques altérations plus marquées du parenchyme pulmonaire sans pouvoir rattacher formellement ces aspects morphologiques au retentissement de l'hyperpression pulmonaire subie. On notait pour ces 2 derniers des

territoires avec collapsus modéré des alvéoles pulmonaires associé à une légère congestion vasculaire.

2. Absorption systémique d'oxaliplatine

Les concentrations de platine dans le sang durant les 30 minutes de perfusion intrapéritonéale et au cours des 45 minutes suivantes sont représentées dans la figure 8. De façon globale, les concentrations mesurées lors des procédures ouvertes étaient significativement plus importantes que celles observées lors des procédures fermées ($p=0.0001$).

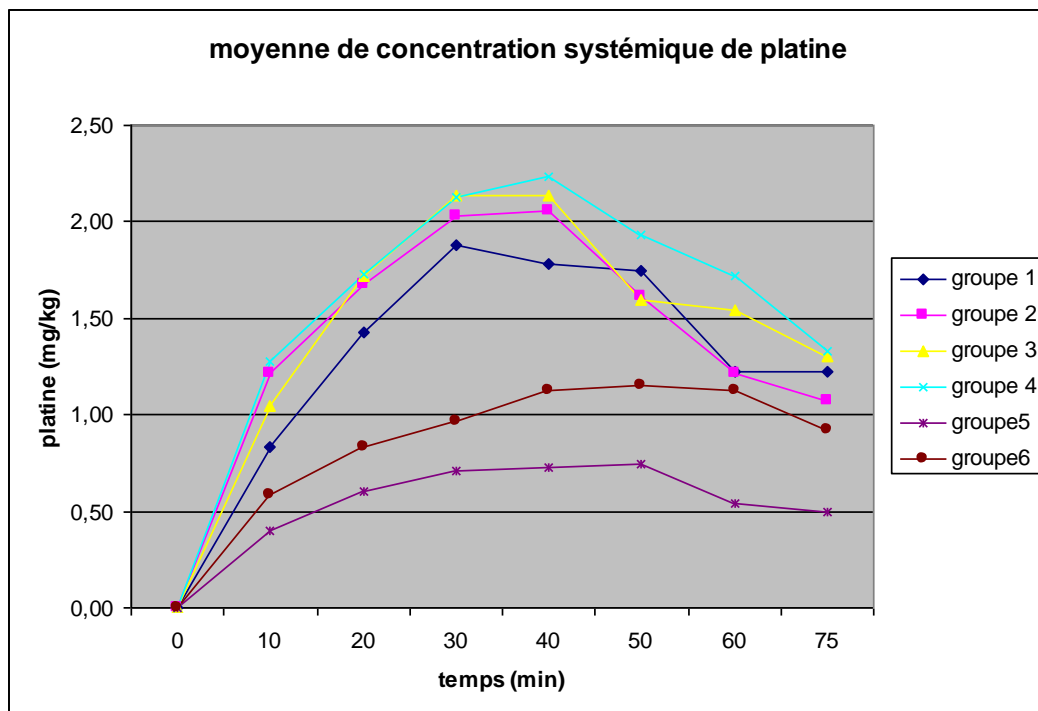


Figure 8: Moyennes des concentrations sanguines de platine au début de la procédure (temps 0 avant instillation de chimiothérapie) puis à 10, 20, 30 (fin de la perfusion intrapéritonéale), 40, 50, 60 et 75 minutes.

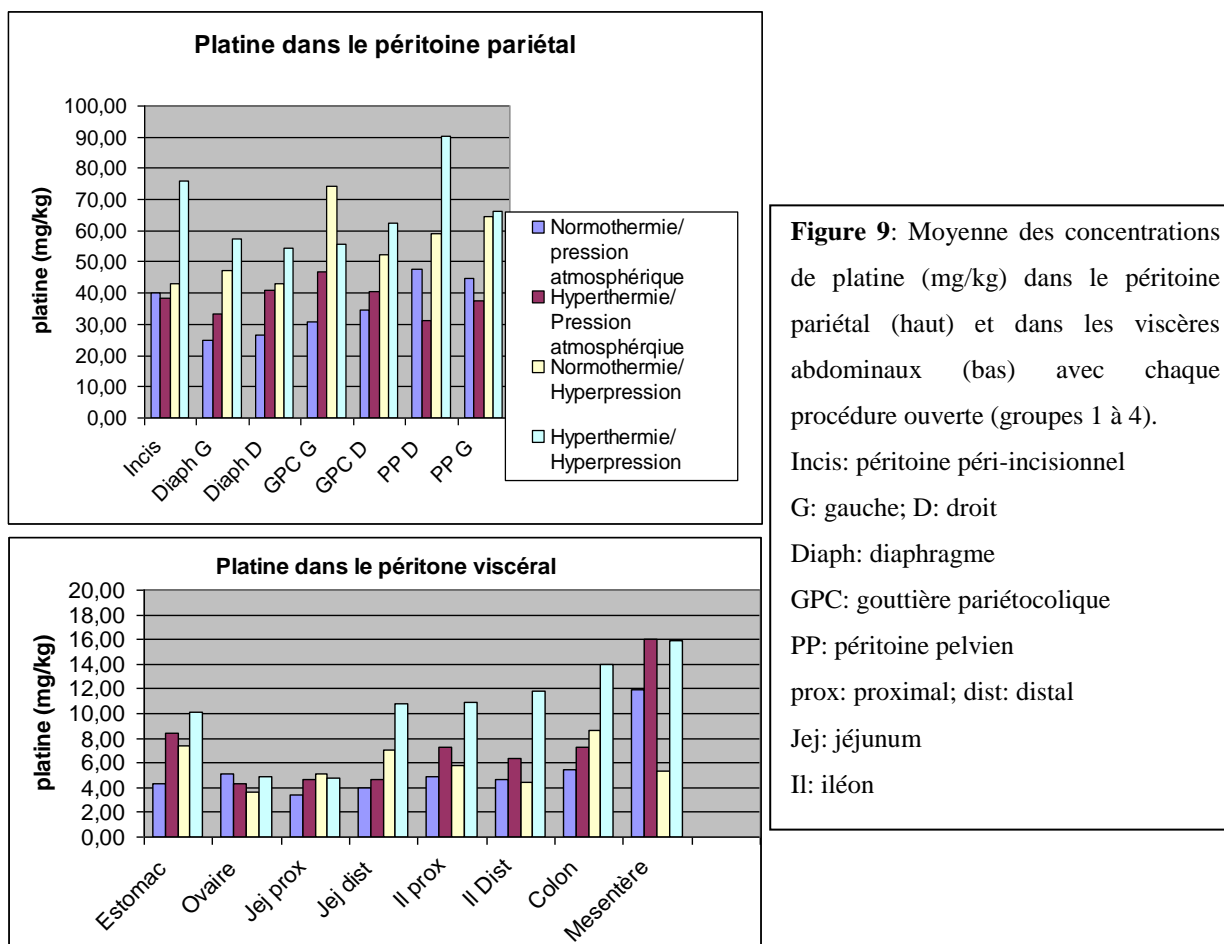
Concernant les procédures ouvertes, la tendance observée vers une augmentation de concentration avec l'hyperpression et l'hyperthermie s'est avérée statistiquement non significative ($p>0.1$ pour chaque comparaison entre les groupes). La concentration maximale

systémique d'oxaliplatine était obtenue à chaque fois vers la fin de la procédure ouverte (entre les minutes 30 à 40) puis décroissait progressivement au cours du temps.

Au sein des procédures fermées, un plateau de concentration était atteint à 20 minutes et durait jusqu'à 50 minutes. Les concentrations mesurées lors de la forte hyperpression à 40 cmH₂O (groupe 6) étaient significativement plus importantes que celles de l'hyperpression à 25 cmH₂O (p=0.0206).

3. Concentrations tissulaires d'oxaliplatine en procédures ouvertes

Les concentrations tissulaires de platine obtenues dans chaque groupe sont représentées dans la figure 9 et le tableau 1.



La différence entre les 4 groupes ouverts était significative (chi² de Kruskal-Wallis: 18.44, p = 0.0004 pour les surfaces péritonéales et chi² de Kruskal-Wallis: 24.05, p < 0.0001

pour les surfaces viscérales). Dans le groupe de base (groupe 1), la moyenne de concentration de platine dans les prélèvements pariétaux (35.62 mg/kg) était 6 fois plus élevée que dans les prélèvements viscéraux (5.48 mg/kg). Quand l'**hyperthermie** était réalisée en pression atmosphérique (groupe 2), la concentration de platine dans les prélèvements viscéraux était significativement plus importante que dans le groupe 1 (7.99 mg/kg contre 5.48 mg/kg respectivement dans les groupes 2 et 1; $p = 0.0014$), mais l'apport de la température était moins franc pour les surfaces pariétales (38.73 mg/kg contre 35.62 mg/kg respectivement dans les groupes 2 et 1; $p = 0.2545$).

Pour les animaux traités par **hyperpression intra-abdominale** seule (groupe 3 en normothermie), les moyennes de concentrations de platine étaient significativement plus importante dans les prélèvements viscéraux (6.95 mg/kg contre 5.48 mg/kg respectivement dans les groupes 3 et 1; $p = 0.0058$) et pariétaux (53.61 mg/kg contre 35.62 mg/kg respectivement dans les groupes 3 et 1; $p = 0.0044$) que celles du groupe basal (groupe 1). Lorsque l'apport de l'hyperthermie et de l'hyperpression sont comparés (groupes 2 et 3), la différence est clairement en faveur de l'hyperpression pour les prélèvements pariétaux (53.61 mg/kg contre 38.73 mg/kg respectivement dans les groupes 3 et 2; $p = 0.0268$), alors qu'elle n'est pas significative pour les prélèvements viscéraux (6.95 mg/kg contre 7.99 mg/kg respectivement dans les groupes 3 et 2; $p = 0.9391$).

L'association de **l'hyperthermie et de l'hyperpression** intra-abdominale (groupe 4) a permis d'obtenir les plus importantes concentrations de platine que ce soit dans les prélèvements pariétaux (66.16 mg/kg) ou viscéraux (10.39 mg/kg). Comparées au groupe traité par hyperthermie seule (groupe 2), la moyenne de ces concentrations tissulaires de platine était significativement plus importante que ce soit dans les zones pariétales (66.16 mg/kg contre 38.73 mg/kg respectivement dans les groupes 4 et 2; $p = 0.0002$) ou dans les zones viscérales (10.39 mg/kg contre 7.99 mg/kg respectivement dans les groupes 4 et 2; $p =$

0.0174). Lorsqu'elles sont comparées aux moyennes de concentrations obtenues chez les animaux traités par hyperpression seule (groupe 3), les moyennes obtenues par l'association de l'hyperthermie et de l'hyperpression sont plus importantes dans les prélèvements viscéraux (10.39 mg/kg contre 6.95 mg/kg respectivement dans les groupes 4 et 3; $p = 0.0267$), alors que la différence n'atteint pas le seuil de significativité pour le péritoine pariétal (66.16 mg/kg contre 53.61 mg/kg respectivement dans les groupes 4 et 3; $p = 0.31$).

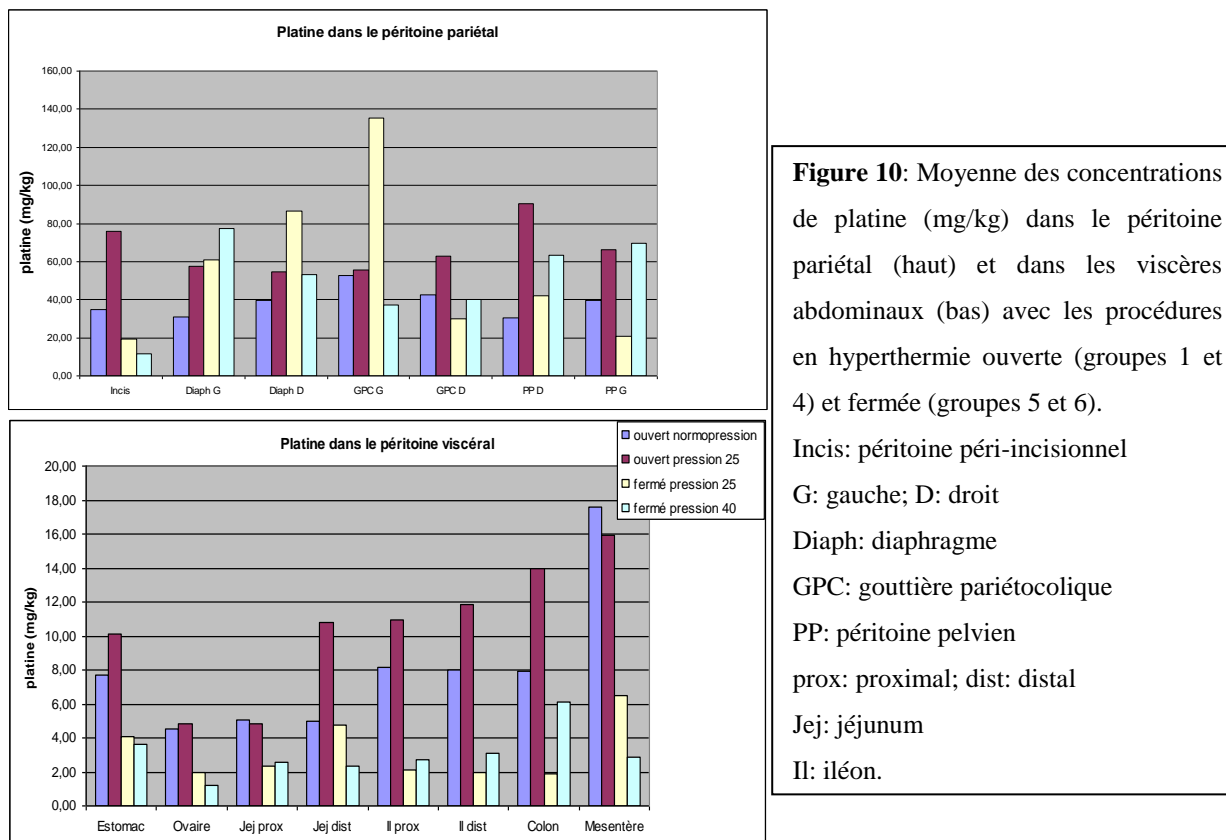
Tableau 1: Moyenne et écart-types des concentrations de platine dans les prélèvements pariétaux et viscéraux obtenues pour chaque procédure ouverte.

Groupes	Moyenne des concentrations de platine dans le péritoine pariétal (mg/kg)	Moyenne des concentrations de platine dans les viscères (mg/kg)
1 Ouvert Normothermie (38°C) Pression atmosphérique	35.62 ± 8.81	5.48 ± 0.70
2 Ouvert Hyperthermie (42-43°C) Pression atmosphérique	38.73 ± 7.74	7.99 ± 1.66
3 Ouvert Normothermie (38°C) Hyperpression (25 cmH₂O)	53.61 ± 10.32	6.95 ± 1.46
4 Ouvert Hyperthermie (42-43°C) Hyperpression (25 cmH₂O)	66.16 ± 13.03	10.39 ± 3.49

4. Concentrations tissulaires d'oxaliplatine en procédures fermées

Les concentrations tissulaires de platine obtenues dans chaque groupe traité en hyperthermie (2, 4, 5 et 6) sont représentées dans la figure 10 et le tableau 2. Il existait une différence significative entre ces 4 groupes, que ce soit dans le péritoine pariétal ou viscéral

(chi2 de Kruskal-Wallis: 10.02 dans le péritoine pariétal, $p = 0.0184$; chi2 de Kruskal-Wallis: 71.83 dans le péritoine viscéral, $p < 0.0001$).



Lorsque l'hyperpression à 25 cmH₂O était réalisée au cours d'une CHIP fermée (groupe 5), la concentration moyenne de platine obtenue dans le péritoine pariétal n'était pas significativement différente de celle du groupe traité en pression atmosphérique ouverte (groupe 2) (56.39 mg/kg vs. 38.73 mg/kg, $p = 0.0799$), mais était inférieure à celle obtenue dans le groupe des CHIP ouverte en hyperpression à 25 cmH₂O (groupe 4) ($p = 0.0331$). Dans le péritoine viscéral, la concentration moyenne du groupe 5 était nettement inférieure à celle du groupe 2 (3.2 mg/kg vs. 7.99 mg/kg, $p < 0.0001$) et du groupe 4 (3.2 mg/kg vs. 10.39 mg/kg, $p < 0.0001$).

Lorsque l'hyperpression était augmentée à 40 cmH₂O en fermé (groupe 6), la concentration moyenne en platine dans le péritoine pariétal n'était pas différente de celle des

animaux traités en ouvert sans hyperpression (groupe 2) (48.57 mg/kg vs. 38.73 mg/kg, $p=0.0567$), ni de celle du groupe 5 traité en hyperpression fermée à 25 cmH₂O (56.39 mg/kg, $p=0.2567$). Elles restaient en revanche inférieures à celle des porcs chez qui une CHIP en hyperpression ouverte à 25 cmH₂O avait été appliquée (66.16 mg/kg, $p=0.1903$). Dans le péritoine viscéral, les concentrations étaient inférieures à celle du groupe 2 (3.05 mg/kg vs. 7.99 mg/kg, $p < 0.0001$) et groupe 4 (10.39 mg/kg, $p < 0.0001$). A l'inverse, il n'y avait pas de différence significative avec celle obtenue dans le groupe 5 (3.2 mg/kg, $p= 0.8918$).

Tableau 2: Moyenne et écart-types des concentrations de platine dans les prélèvements pariétaux et viscéraux obtenues pour chaque procédure en hyperthermie.

Groupes	Moyenne des concentrations de platine dans le péritoine pariétal (mg/kg)	Moyenne des concentrations de platine dans les viscères (mg/kg)
2 Ouvert Hyperthermie (42-43°C) Pression atmosphérique	38.73 ± 7.74	7.99 ± 1.66
4 Ouvert Hyperthermie (42-43°C) Hyperpression (25 cmH₂O)	66.16 ± 13.03	10.39 ± 3.49
5 Fermé Hyperthermie (42-43°C) Hyperpression (25 cmH₂O)	56.39 ± 28.14	3.2 ± 1.87
6 Fermé Hyperthermie (42-43°C) Forte Hyperpression (40 cmH₂O)	48.57 ± 26.56	3.05 ± 1.68

III DISCUSSION

1. Méthodologie

Un pré requis évident pour que la chimiothérapie intra-cavitaire soit efficace, qu'elle soit intra-abdominale ou intra-pleurale, est que les médicaments antitumoraux utilisés puissent parvenir le plus possible dans les profondeurs du tissu, au moins autant que le font les cellules tumorales. Ce passage à travers la barrière abdominale ou thoracique doit être en quantité suffisante pour être efficace [19]. Traditionnellement la limite de cette pénétration est de 2,5 mm, ce qui explique qu'elle ait été choisie comme la taille maximale acceptable pour un résidu tumorale après cytoréduction chirurgicale (définissant ainsi le concept de CC-0) [20-22]. De nombreuses études ont été faites à la recherche de drogues ayant une meilleure pénétration et activité, ainsi que de méthodes pour potentialiser ces propriétés : la durée du bain de chimiothérapie, l'hyperthermie, l'hypo-osmolarité, l'utilisation de vasoconstricteurs et l'hyperpression intra-abdominale [11, 18, 23-28]. Certaines méthodes de potentialisation ont été transposées à la pratique clinique alors même que leur efficacité n'était pas clairement établie. Les comparaisons entre ces méthodes manquent cruellement, de même que les données pharmacocinétiques et pharmacodynamiques pour prouver leur intérêt et leur apport réel pour chaque molécule. Par exemple, l'utilité de l'hyperthermie ou des vasoconstricteurs avec des sels de platine n'implique pas nécessairement leur intérêt lors de l'utilisation de la mitomycine C ou des taxanes [9]. L'hyperthermie s'avère même délétère pour la gemcitabine [29]. De plus, les résultats obtenus sont très hétérogènes (de la même façon que les moyens choisis pour évaluer l'intérêt de chaque procédé) et ne sont pas nécessairement applicables du moment où plusieurs conditions ou paramètres changent dans la même étude.

Les modèles précliniques sont essentiels pour obtenir des données sur l'effet de chaque méthode sur l'absorption de différent produit. Ils sont d'autant plus indispensables du fait du petit nombre de patients éligibles à un traitement de chimiothérapie loco-régionale, empêchant de multiplier les essais cliniques comparant chaque facteur d'optimisation de la procédure. Il n'est malheureusement pas possible de travailler sur un modèle de carcinose péritonéale chez le porc, modèle animal le plus proche de l'homme pour la pathologie abdominale, du fait des échecs de greffe tumorale péritonéale lors des tentatives chez cet animal, hormis dans une seule étude datant de 2000 et n'ayant pas donné suite à d'autres travaux [30]. Au cours des travaux préliminaires à ces projets, nous avons ainsi cherché à greffer des cellules tumorales de mélanome B16, dont l'agressivité et la capacité à se greffer après injection locale sont reconnues. Malheureusement, ces injections n'ont pas permis la création de nodules tumoraux, ni dans le foie ni dans le péritoine porcin. A l'inverse, le rat peut se voir greffer des cellules cancéreuses humaines dans la cavité péritonéale, mais il ne peut servir de modèle en ce qui concerne la technique chirurgicale (il n'est pas possible d'atteindre des pressions abdominales aussi importantes que 25 cmH₂O) et reste très approximatif en termes pharmacologiques. La CHIP s'adressant aux patients ayant bénéficié d'une cytoréduction tumorale complète macroscopiquement, la distribution de l'oxaliplatine dans le péritoine et les organes du porc peut servir de critère de substitution pour valider la meilleure technique. En effet, la pénétration de l'oxaliplatine et du cisplatine dans la paroi abdominale sans carcinose est semblable à celle dans les résidus tumoraux après cytoréduction [12, 18, 31]. Cela nous permet d'en déduire que le présent modèle porcin est approprié pour estimer la pénétration de chimiothérapie après cytoréduction chirurgicale maximale chez l'humain.

Une autre limite pouvant être reprochée à notre modèle expérimental est l'absence de cytoréduction chirurgicale préalable à la chimiothérapie intra-péritonéale, qui pourrait

modifier l'absorption tissulaire d'oxaliplatine. Cependant, il a été montré à maintes reprises que la cytoréduction ne modifie pas l'absorption tissulaire de chimiothérapie [19, 20, 24]. Ce type de modèle reproduit donc les phénomènes obtenus en pratique clinique dans les surfaces abdominales sur une maladie résiduelle après cytoréduction chirurgicale, même si les valeurs absolues pourraient éventuellement différer de façon marginale.

La méthode de prélèvement au niveau du péritoine viscéral inclut la totalité de la paroi viscérale (hormis pour l'estomac), garantissant une homogénéité entre les prélèvements de chaque animal ; ceci implique des fragments plus épais que les prélèvements pariétaux (ne concernant que le péritoine) et une dilution de la chimiothérapie dans une profondeur plus grande. Ce choix technique peut en partie expliquer la forte concentration obtenue dans les surfaces pariétales par rapport aux viscérales, ce qui a été le cas dans tous les travaux précédents utilisant le même modèle [8].

2. Hyperthermie

L'oxaliplatine est actuellement le médicament de chimiothérapie le plus utilisé par la plupart des équipes pour les protocoles de CHIP visant à traiter les carcinomes d'origine colorectale, et l'hyperthermie permet d'augmenter la pénétration tissulaire de cet anti-tumoral [1, 10, 18, 31, 32]. Notre travail confirme cet effet de l'hyperthermie entre 42 et 43 °C et précise que cette action est plus marquée sur le péritoine viscéral que sur le péritoine pariétal. La vasodilatation induite par la chaleur peut expliquer cet effet sur les viscères abdominaux qui sont richement vascularisés, mais cette hypothèse seule impliquerait une augmentation du passage systémique d'oxaliplatine. Cette tendance existe mais n'est pas significative dans nos résultats, peut être en raison du nombre limité de données. D'autres hypothèses pour expliquer ce phénomène sont envisageables, comme l'augmentation de la perméabilité interstitielle induite par la chaleur [33].

Paradoxalement, Piché et al ont trouvé une diminution du passage systémique d'oxaliplatine chez les rats traités avec hyperthermie [10]. Nous ne trouvons pas d'explication physiopathologique à leurs résultats, qui s'opposent aux données disponibles jusqu'à présent. Leur travail présente à notre avis quelques faiblesses méthodologiques importantes. Tout d'abord, les auteurs n'ont réalisé qu'un seul prélèvement tissulaire pariétal, et tous nos travaux montrent que la pénétration varie entre le péritoine viscéral et pariétal. De la même façon, l'effet de la plupart des moyens utilisés pour augmenter la pénétration (hyperthermie, hyperpression, vasoconstricteurs, hypo-osmolarité) varie selon le site péritonéal [25, 26, 34]. De plus, l'analyse statistique de ce travail n'a pas été optimale, l'utilisation de tests paramétriques (ANOVA) étant peu adaptée à la comparaison de groupes contenant peu de valeurs très dispersées; par ailleurs, les auteurs n'ont pas fourni la valeur p du coefficient de régression linéaire. Enfin, le modèle murin est certainement moins proche de l'humain que le modèle porcin sur le plan pharmacologique.

3. Hyperpression ouverte

Dans un précédent travail de notre groupe, une CIP fermée en hyperpression avait montré une meilleure pénétration de cisplatine et une augmentation de survie dans un modèle murin de carcinose péritonéale d'origine colo-rectale [12]. L'effet de l'hyperpression a aussi été suggéré par le groupe de Toulouse au cours d'études expérimentales de CHIP en laparoscopie chez le porc, durant laquelle doit exister une certaine hyperpression, malheureusement non mesurée par les auteurs [35, 36]. D'après nos résultats, cet effet se joue principalement au niveau des zones pariétales (mais est aussi présent au niveau viscéral), suggérant une action complémentaire avec l'hyperthermie, dont l'action est surtout viscéral, pour l'optimisation de l'efficacité de la technique de CHIP. De plus, une action synergique est montrée par le fait que l'association de l'hyperthermie et de l'hyperpression permet d'obtenir

les concentrations les plus importantes dans tous les sites de prélèvements tissulaires péritonéaux. Même si ces deux facteurs associés pourraient augmenter le passage systémique d'oxaliplatine (la différence est non significative mais la tendance existe), les concentrations sanguines restent toujours inférieures aux concentrations mesurées lors des cures intraveineuses classiques de ce médicament (environ 17 mg/kg de platine lors d'une cure d'oxaliplatine systémique à 85 mg/m²). Il n'y a donc pas de toxicité supplémentaire systémique à craindre d'une CHIP en hyperpression à l'oxaliplatine [37-39].

Nous avons choisi de travailler sur des concentrations constantes d'oxaliplatine (150 mg/l) et non sur une quantité fixe calculée sur la surface corporelle de l'animal (460 mg/m² étant la quantité habituelle d'oxaliplatine utilisée en pratique clinique) afin d'éviter un biais de dilution entre les groupes traités par 4 ou 8 litres. Il est par ailleurs établi dans les études pharmacologiques publiées dans la littérature que la pénétration tissulaire d'oxaliplatine est beaucoup plus dépendante de la concentration que de la dose totale administrée [10, 18]. Ceci a donc permis de comparer des groupes homogènes entre eux, la pénétration tissulaire dépendant surtout de la concentration de chimiothérapie dans le perfusât et celle-ci étant constante et égale dans les 6 groupes étudiés [10].

Le prototype de montage destiné à réaliser une CHIP en hyperpression et présenté dans ce travail a permis d'établir la faisabilité d'une approche combinant une hyperthermie entre 42 et 43°C et une hyperpression à 25 cmH₂O durant une procédure ouverte. Ce système correspond sur le plan pharmacologique à une technique ouverte, permettant l'homogénéité de concentration et de chaleur du liquide de CHIP. Il permet un accès à l'ensemble de la cavité péritonéale pour un brassage constant du perfusât et une ouverture de l'ensemble des espaces péritonéaux (arrière cavité des épiploons, cul-de-sac de Douglas, régions sous-phréniques, espace inter-hépatorenal). La pression intra-abdominale étant induite par une augmentation de volume du liquide infusé, il en résulte une distension abdominale puis une

élévation du liquide au-dessus de la laparotomie nécessitant un plus grand volume de perfusât (4 l pour les groupes traités en pression atmosphérique (1 et 2) contre 8 l pour les groupes traités en hyperpression à 25 cmH₂O). Selon le principe de Pascal, dans un liquide en équilibre de masse volumique uniforme, la pression est la même en tout point du liquide et cela aussi longtemps que ces points sont à la même profondeur. De plus, la différence des pressions en deux points est égale à la différence de hauteur de niveau des deux points. Toute pression exercée sur un liquide se transmet par lui intégralement et dans toutes les directions. Dans ce modèle, la pression est donc uniforme à différentes hauteurs de l'abdomen tant qu'il n'y a pas de cloisonnement des espaces intra-abdominaux (ce qui nécessite donc un brassage permanent du liquide). Ces principes obligeaient donc à laisser le bras dans la colonne de liquide afin de conserver un niveau constant de liquide, et donc une pression constante.

4. Hyperpression fermée

Le besoin d'optimisation technique a donc justifié la comparaison avec les méthodes fermées de CHIP, au cours desquelles l'hyperpression peut plus facilement être réalisée par simple augmentation du volume instillé, de façon tout aussi sûre que les procédures utilisées en pratique clinique, et à des seuils plus élevés. En effet, le procédé de réalisation de l'hyperpression en ouvert était limité par la longueur du bras de l'opérateur et du prolongateur, 25 cm étant la hauteur maximale. La limite maximale de pression en CHIP fermée n'est quant à elle que celle de la tolérance générale de l'animal, principalement circulatoire et ventilatoire. Ce niveau a été établi à 40 cmH₂O dans notre modèle sans recours aux amines vasopressives, conformément à nos travaux antérieurs [12]. Bien qu'aucune étude de la fonction respiratoire à distance de l'intervention n'ait été réalisée, l'absence de lésion histologique pulmonaire plaide pour la tolérance globale de l'hyperpression jusqu'à ce niveau.

De plus, la tolérance hémodynamique et ventilatoire chez l'homme est plus élevée, dépassant 50 cmH₂O.

Dans le même modèle expérimental, les procédures ouvertes ont prouvé leur supériorité sur les procédures fermées en termes de pénétration et d'homogénéité de la diffusion d'oxaliplatine [8]. Il était donc capital de savoir si l'hyperpression permettait de compenser ces défauts, ainsi que de connaître l'effet d'une hyperpression encore plus importante, afin d'établir quelle est la meilleure méthode pour réaliser une CHIP en hyperpression et à quel niveau de pression. Au vu des résultats observés sur l'effet de l'hyperthermie au cours d'une CHIP à l'oxaliplatine, nous avons choisi de ne faire varier que la méthode de CHIP (ouvert versus fermé) et le niveau de pression (25 cmH₂O versus 40 cmH₂O, ce dernier seuil n'étant atteint qu'en fermé). Les CHIP fermées ont donc toutes été réalisées en hyperthermie, et leurs résultats comparés aux groupes ouverts traités eux aussi en hyperthermie. La tolérance de chaque procédure ouverte ou fermée a été bonne, bien qu'une lésion thermique soit survenue au cours d'une CHIP fermée. Ceci a déjà été décrit en pratique clinique et correspond dans notre activité à un argument supplémentaire pour la procédure ouverte, au cours de laquelle le brassage continu évite le contact permanent du même organe contre le drain d'entrée ou de sortie du circuit et une dernière inspection lors de la fermeture pariétale permet de déceler une lésion thermique [40, 41].

L'étude des concentrations sanguines de platine a montré une cinétique différente et surtout un moindre passage systémique de la chimiothérapie au cours des CHIP fermées, mais ceci ne peut être considéré comme un avantage en faveur des procédures fermées. En effet, les concentrations maximales observées en ouvert sont très inférieures à celle observées au cours des cures d'oxaliplatine intraveineuses en pratique clinique. De plus, cela correspond plus à une pénétration moins importante et moins homogène au sein du péritoine, principalement dans les surfaces viscérales qui sont plus vascularisées [19, 27, 33]. En effet, la comparaison

des concentrations péritonéales de platine montre que l'hyperpression à 25 cmH₂O permet à la CHIP fermée (groupe 5) d'égaliser la CHIP en pression atmosphérique ouverte (groupe 2) dans le péritoine pariétal, mais reste inférieure dans le péritoine viscéral. Ceci renforce l'idée que l'effet de l'hyperpression joue sur toutes les surfaces péritonéales, mais de façon plus marquée dans le péritoine pariétal. Dans les deux régions péritonéales, l'hyperpression ne compense en revanche aucunement les défauts de la CHIP fermée, les concentrations tissulaires observées étant très inférieures à celle observée au cours des CHIP ouverte en hyperpression (groupe 4). Les conclusions sont strictement identiques lorsque l'hyperpression était augmentée à 40 cmH₂O (groupe 6) : aucune différence avec les concentrations observées à 25 cmH₂O en fermé (groupe 5), une infériorité par rapport à la CHIP ouverte sans hyperpression (groupe 2) dans le péritoine viscéral, et une infériorité très nette dans les deux régions péritonéales par rapport à la CHIP en hyperpression ouverte (groupe 4). Ceci semble suggérer un effet de saturation de la pression, et ne pousse donc pas à chercher tous les moyens techniques d'augmenter la pression au-delà de 25 cmH₂O.

La méthode ouverte semble donc le meilleur moyen de réaliser une CHIP associant l'hyperpression à 25 cmH₂O et l'hyperthermie, facteurs augmentant de façon synergique la pénétration de l'oxaliplatine et donc l'efficacité attendue de la procédure. Néanmoins, le modèle actuel de réalisation de l'hyperpression doit être amélioré afin de sécuriser de façon plus satisfaisante le personnel travaillant autour du patient et de rendre plus aisé le brassage et l'accès de l'opérateur à la cavité péritonéale. L'étanchéité du sommet du prolongateur pourrait ainsi être obtenue en installant un Gelpport selon le même principe que celui mis en place dans la technique de CHIP ouverte – fermée [17]. La réalisation de l'hyperpression par une insufflation de CO₂ identique à la cœlioscopie pourrait quant à elle permettre de travailler sur un volume constant (et une quantité de chimiothérapie constante) tout en gardant le bras de l'opérateur à une hauteur plus habituelle, garantissant l'efficacité du brassage qui reste pour

nous l'un des facteurs clés expliquant les différences observées entre les méthodes ouvertes et fermées. Le matériel spécifique de CHIP, notamment les gants chirurgicaux, doit lui aussi être testé en condition d'hyperpression pour s'assurer de son étanchéité et vérifier l'absence de majoration du risque encouru par les personnels soignants en salle opératoire [42-47]. Des expériences sont actuellement en cours dans ce sens

Une autre voie de recherche est la nécessité de déterminer si l'augmentation du niveau de pression peut augmenter de façon proportionnelle la profondeur de la pénétration tissulaire. Ce facteur reste en effet une limite majeure de la CHIP, la chimiothérapie ne pénétrant que sur quelques millimètres. Ceci pourrait être évalué par des prélèvements tissulaires en épaisseur (SAA couplée à une topographie des prélèvements) en mesurant la concentration de platine à différentes hauteurs. Des techniques de fluorescence sont ainsi utilisées par l'équipe de Reymond au cours de la chimiothérapie intrapéritonéale aérosolisée, afin d'évaluer la profondeur de pénétration de la chimiothérapie [48]. Malheureusement cela n'est pas possible avec les platines car ils n'ont pas de fluorescence. L'intérêt de l'hyperpression mérite de plus d'être étudié au cours de CHIP utilisant d'autres molécules, comme la mitomycine C. Enfin, l'apport de l'hyperpression doit être évalué dans la cavité pleurale afin de tenter d'améliorer les résultats de la chimiothérapie intrapleurale, qu'elle soit palliative pour améliorer le contrôle local des épanchements pleuraux métastatiques ou à visée curative pour le traitement des mésothéliomes pleuraux ou des primitifs du poumon avec carcinose pleurale [13-16, 49, 50]. C'est dans cette optique que nous avons travaillé sur la tolérance à l'hyperpression intrapleurale, pour laquelle beaucoup moins de données sont disponibles, que ce soit en termes de niveau maximal tolérable, d'association à une résection ou à des produits de chimiothérapie.

CAVITE PLEURALE

Les résultats obtenus en pratique clinique pour le traitement à visée curative de la carcinose pleurale sont beaucoup plus décevants que ceux obtenus pour les carcinoses péritonéales [13-15]. Les principales cibles visées sont les épanchements métastatiques ou les mésothéliomes pleuraux. Peu de données de pharmacologie et de pharmacodynamie sont disponibles quant à la chimiothérapie intrapleurale. Les bénéfices observés dans la cavité péritonéale grâce à l'apport de l'hyperpression peuvent théoriquement optimiser les résultats de la chimiothérapie loco-régionale dans le thorax, mais nécessitent préalablement des travaux de faisabilité et de tolérance, ainsi qu'une phase *in vitro* permettant de choisir les produits de chimiothérapie les plus adaptés aux tumeurs visées.

I MATRIELS ET METHODE

1. Cytotoxicité in vitro

Aucune chimiothérapie n'est utilisée de façon consensuelle par les équipes pratiquant des travaux expérimentaux sur la chimiothérapie intrapleurale. La gemcitabine et le cisplatine ont été choisis pour mener ces travaux d'optimisation, du fait de leur activité cytotoxique rapide et de leur large spectre antitumoral contre les tumeurs le plus souvent responsables de carcinose pleurale (poumon, colon, ovaire, sein, mésothéliome). Leurs activités antitumorales contre les cellules humaines de cancer du sein (T47, MCF7), du poumon (H348, H1650), du colon (SW480, HCT116) et de l'ovaire (OVCAR3, IGROV1) ont été testées *in vitro* par notre groupe afin de choisir la meilleure chimiothérapie et la dose adéquate aux travaux *in vivo* [51]. L'objectif du test quantitatif de clonogénicité est de tuer au moins 80% des cellules cancéreuses après 60 minutes d'exposition à la chimiothérapie. Les cellules cancéreuses ont été obtenues auprès de la firme ATCC (Rockville, USA), hormis pour les cellules IGROV1, offertes par le Dr J. Benard [52].

Les cellules cancéreuses ont été mises en culture dans un plateau de 24 puits en faible densité (50×10^4 cellules par puits) durant 48 heures. Elles ont ensuite été exposées durant 60 minutes à la chimiothérapie. Elles ont de nouveau été cultivées dans un milieu de culture sans chimiothérapie durant 7 jours. Les cellules survivantes ont été fixées à l'éthanol pur et marquées au violet crystal à 1%. Après lavage à l'eau et à une élution contenant de l'acide acétique à 33%, la densité optique a été lue à 550 nm grâce à un spectrophotomètre. Le taux de survie cellulaire était calculé par le rapport de la densité optique des puits traités sur celle des puits contrôles non traités

2. Faisabilité et tolérance in vivo

Vingt-et-un porcs de même race, âge et fournisseur que ceux des travaux portant sur la cavité péritonéale ont été utilisés. L'acclimatation, l'induction et la sédation anesthésique ont été équivalentes, sans intubation bronchique sélective. Le volume courant de ventilation était maintenue entre 500 et 600 ml à une fréquence de 25/min, adapté à la saturation en oxygène (SaO_2). La TAS, la fréquence cardiaque (F_c), le tracé d'électrocardiogramme, la température nasale, la SaO_2 , le débit cardiaque (D_c en l/min) et l'index cardiaque (I_c en l/min/m²) ont été mesurés grâce au système NICO (Novamatrix Medical Systems Inc., Wallingford, CT). Une antibioprofylaxie associant 2 g d'amoxicilline et acide clavulanique était administrée avant l'incision. Le remplissage vasculaire était adapté aux données d'échographie cardiaque, sans recours aux amines vasopressives. L'analgésie postopératoire comportait 50 mg de tramadol et 2 g de paracétamol.

Le tableau 3 résume les différentes procédures qui ont compris des infusions intrapleurales sans résection associée, des infusions avant ou après résection pulmonaire et des infusions de chimiothérapie.

Pour les **procédures percutanées** sans résection, les animaux étaient placés en décubitus dorsal. Deux cathéters pleuraux (Pleurocath[®], Prodimed, Plessis-Bouchard, France) étaient insérés dans le 5^{ème} espace intercostal, l'un pour le remplissage et l'autre pour la mesure de la pression intrapleurale (figure 11). Du sérum salé isotonique (9 g/l NaCl) était instillé par gravité par paliers progressifs jusqu'à la limite de tolérance hémodynamique ($Fc > 150/\text{min}$, $TAS < 45 \text{ mmHg}$, $Dc < 3 \text{ l/min}$) ou respiratoire ($SaO_2 < 80\%$, Pression de ventilation $> 45 \text{ cmH}_2\text{O}$).

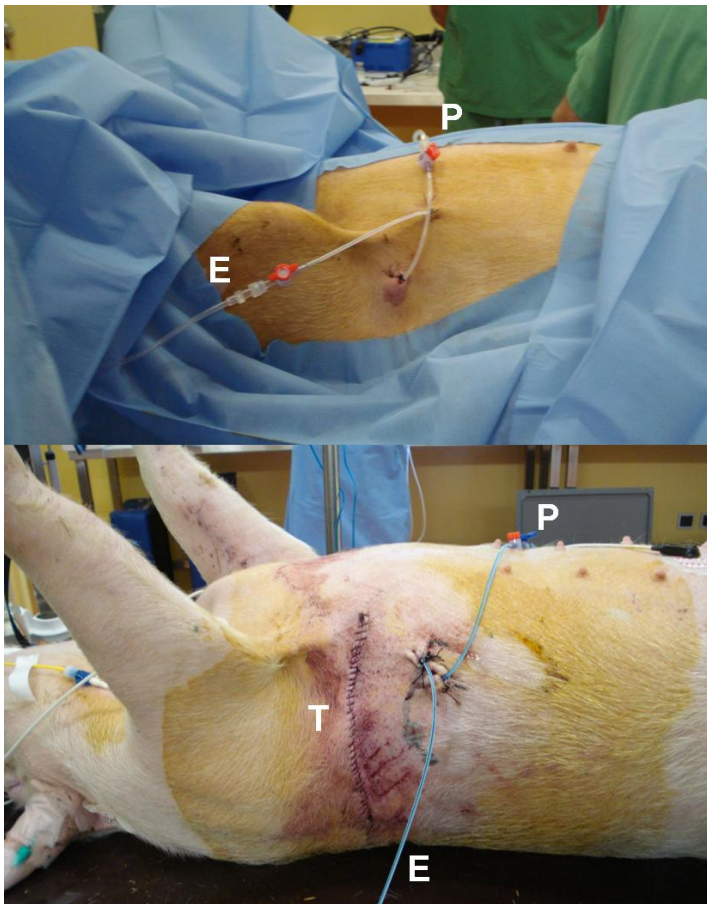


Figure 11: mise en place des cathéters pleuraux pour instillation du liquide (E) et mesure de la pression (P) au cours de procédure percutanée sans résection associée (haut) ou après résection par thoracotomie (T) (bas).

Six **pneumonectomies droites** ont été réalisées avant l'infusion pleurale. L'animal était placé en décubitus latéral gauche pour réalisation d'une thoracotomie dans le 5^{ème} espace intercostal droit. La bronche accessoire du lobe supérieur droit, constante chez le porc, était liée. La bronche souche, l'artère et les veines pulmonaires étaient liées et la pneumonectomie

emportait le lobe inférieur accessoire. La paroi thoracique était refermée sur un cathéter pleural pour l'infusion.

Les animaux survivants étaient réveillées et placés en box pour surveillance quotidienne durant 30 jours, jusqu'à l'euthanasie par Dolethal[®] (Vetoquinol, France) et l'autopsie. La surveillance biologique incluait une numération formule sanguine, la natrémie, la kaliémie et la créatininémie avant et après la chirurgie et aux 3^{ème}, 7^{ème}, 14^{ème} et 28^{ème} jours postopératoires.

3. Chimiothérapie intrapleurale

Pour les 5 animaux ayant reçu une chimiothérapie intrapleurale, le cisplatine (Sigma-Aldrich, L'Isle d'Abeau, France) et la gemcitabine (Lilly, Suresnes, France) ont été dilués dans du sérum sale isotonique à 30 mg/l et 100 mg/l respectivement, puis chauffés à 37°C avant instillation. Des dosages sanguins et du liquide pleural ont été effectués à 0, 10, 20, 30, 40, 50 et 60 minutes après le début de l'instillation. Les prélèvements ont été centrifugés et congelés à -20°C jusqu'au dosage. La concentration de platine était dosée selon la même méthode que pour les travaux intrapérionéaux, par SAA. La gemcitabine et son dérivé le 2,2-difluoro-2-deoxyuridine (dFdU) ont été dosés selon la méthode décrite par Bowen et al [53]. Le sérum des prélèvements sanguins a été séparé du sang complet et les protéines précipitées au méthanol après addition de gemcitabine et dFdU isotopiques (¹³C gemcitabine et ¹⁵N dFdU). Les prélèvements de liquide pleural étaient simplement dilués dans l'eau distillée. Les prélèvements étaient ensuite dérivés au dansyl chlorique, puis les dérivés dansyl extraits avec de l'éther méthyl tributyl, évaporés et dissous dans un mélange d'acétonitril et d'eau (25/75). Les dosages étaient ensuite effectués par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à une spectrométrie de masse. La séparation chromatographique était réalisée par une colonne Atlantis[®] (3 µm, 100 x 2.1 mm – Waters, USA) et les transitions utilisées

étaient 497.0, 111.9, 500.0, 114.9, 498.1, 236.9, 501.0 et 115.8 respectivement pour les dérivés dansyl de la gemcitabine, la gemcitabine isotopique, le dFdU et le dFdU isotopique. Cette méthode a permis une quantification limite de 0.01 µg/ml et était constante dans les moyennes de concentrations mesurées.

Tableau 3: récapitulatif des procédures réalisées, des pressions intrapleurales et de la tolérance hémodynamique.

animaux	côté	pneumonectomie	chimiothérapie	pression (cmH₂O) / temps (min)	suites
1 2	G	Non	Non	15 / 5	Fuites de gauche à droite
3 4	D	Non	Non	15 / 30	Bonne tolérance
5 6				20 / 30	Variations hémodynamiques modérées
7				20 / 60	
8				25 / 5	Variations hémodynamiques majeures mais réversibles
9 10				25 / 5	Mort per-opératoire
11	D	Avant instillation	Non	15 / 15	Fuites de droite à gauche
12				20 / 5	Mort per-opératoire
13				15 / 15	Variations hémodynamiques majeures mais réversibles Mort postopératoire
14 15 16				20 / 40	Variations hémodynamiques modérées Mort postopératoire
17 18 19 20 21	D	Non	Cisplatine (30 mg/l) + Gemcitabine (100 mg/l)	20 / 60	Variations hémodynamiques modérées Pas de morbidité Symphyse pleurale ++

Les variations hémodynamiques modérées sont définies par une chute de la TAS et du débit cardiaque nécessitant un remplissage vasculaire. Quand la chute persiste, les variations sont majeures, et réversibles si la vidange pleurale permet la survie de l'animal, et mortelles dans le cas contraire.

II RESULTATS

1. Tolérance à la pression intrapleurale

Deux animaux (1 et 2) ont eu une **instillation pleurale dans le thorax gauche**. A un palier de pression d'environ 15 cmH₂O, une rupture de la plèvre médiastinale a entraîné une fuite de liquide vers la cavité pleurale droite confirmée chez les 2 porcs par échographie per opératoire et autopsie ultérieure. La pression ne pouvait donc plus être maintenue et la défaillance hémodynamique (chute de la TAS et du débit cardiaque) a entraîné la mort des animaux. Du fait de la fragilité et de la finesse de la plèvre médiastinale chez le porc, la suite des travaux a été menée dans la cavité pleurale droite.

Deux animaux (3 et 4) ont ensuite eu un **remplissage pleural dans le thorax droit**. Une hyperpression de 15 cmH₂O était bien tolérée durant 30 minutes avec des variations hémodynamiques légères (augmentation de 25% de la Fc et diminution de 15% de la TAS et de 10% du Dc et de l'Ic). Le palier de pression suivant à 20 cmH₂O a été atteint chez 3 animaux (5, 6 et 7) durant 30 ou 60 minutes. Quatre litres de sérum salé isotonique ont été nécessaires pour atteindre cette pression. Les chutes de TAS et de Dc ont nécessité de ralentir l'instillation pleurale à partir de 15 cmH₂O, puis 500 ml ont permis de maintenir la pression durant 1 heure. A cette pression, la pression inspiratoire de crête atteignait 45 cmH₂O. La pression intrapleurale a été augmentée à 25 cmH₂O chez les 3 animaux suivants (8, 9 et 10), mais entraînait une chute de TAS à moins de 40 mmHg et de l'Ic en dessous de 1.5 l/m²/min (tableau 4). Cette instabilité hémodynamique était de plus associée à des signes d'ischémie sur le tracé d'électrocardiogramme. La vidange de la cavité pleurale a permis chez un animal de corriger cette défaillance hémodynamique, à l'inverse des 2 autres animaux décédés malgré la vidange pleurale, le remplissage vasculaire et le massage cardiaque.

Tableau 4: Moyenne et déviation-standards des données hémodynamiques et respiratoires aux différents paliers de pression intrapleurale.

Paliers de pression	Fréquence cardiaque (/min)	Tension Artérielle Systolique (mmHg)	Débit cardiaque (l/min)	Saturation en Oxygène (%)	Pression Inspiratoire de Crête (cm H₂O)
0 cm H₂O	99.2 +/- 10.9	69.7 +/- 10.9	7.1 +/- 1	98.9 +/- 0.9	27.7 +/- 4.1
15 cm H₂O	124.5 +/- 5.6	59.8 +/- 9.3	6.3 +/- 0.9	90.1 +/- 0.7	35 +/- 3.2
20 cm H₂O	140.3 +/- 8.9	48.9 +/- 8.5	4.8 +/- 0.7	90.3 +/- 1	45.2 +/- 2.8
25 cm H₂O	158 +/- 7.3	40.2 +/- 4.5	2.8 +/- 0.6	86.2 +/- 2.3	49.8 +/- 3.8

L'étude hémodynamique détaillée a fait l'objet de la thèse d'exercice du Dr Olivier Eap, soutenue à Dijon.

Les possibilités d'association avec une **résection pulmonaire** ont ensuite été testées. Trois animaux ont donc eu une **pneumectomie suivie de l'instillation pleurale** (11, 12 et 13). La défaillance hémodynamique, avec signes échographiques et électriques, apparaissait alors dès le palier de 15 cmH₂O de pression intrapleurale. Une fuite de la plèvre droite vers la plèvre gauche est survenue chez le porc 11, provoquant sa mort. L'animal suivant (12) est mort lors de la tentative de monter la pression à 20 cmH₂O. Enfin le porc 13 a survécu à la procédure réduite à une pression de 15 cmH₂O pendant 15 minutes après la résection, mais est décédé au premier jour postopératoire. Les trois animaux suivants (14, 15 et 16) ont eu une séquence inversée, comprenant **l'instillation pleurale suivie de la résection pulmonaire**. La pression intrapleurale à un palier de 20 cmH₂O était facilement tolérée durant 30 minutes après remplissage de la cavité par 4 litres de sérum salé en décubitus dorsal. Après vidange de la plèvre, les animaux étaient tournés en décubitus latéral gauche et une pneumectomie était effectuée. Malgré une bonne tolérance de l'ensemble de la procédure et l'absence de

complication per-opératoire, les 3 animaux sont morts au premier jour postopératoire d'une probable détresse respiratoire aigüe.

2. Choix de chimiothérapie et de la dose

La gemcitabine et le cisplatine ont été testé séparément et en association avec le but de tuer au moins 80% des différentes cellules cancéreuses humaines après 60 minutes d'exposition *in vitro* (figure 12). L'objectif était atteint avec l'association de 100 mg/l de gemcitabine et 30 mg/l de cisplatine contre les cellules cancéreuses pulmonaires (H458, H1650) et du sein (T47, MCF7), mais pas pour les cancers coliques (SW480, HCT116). Les 2 lignées de cancer ovarien (OVCAR3 and IGROV1) étaient extrêmement sensibles à cette association.

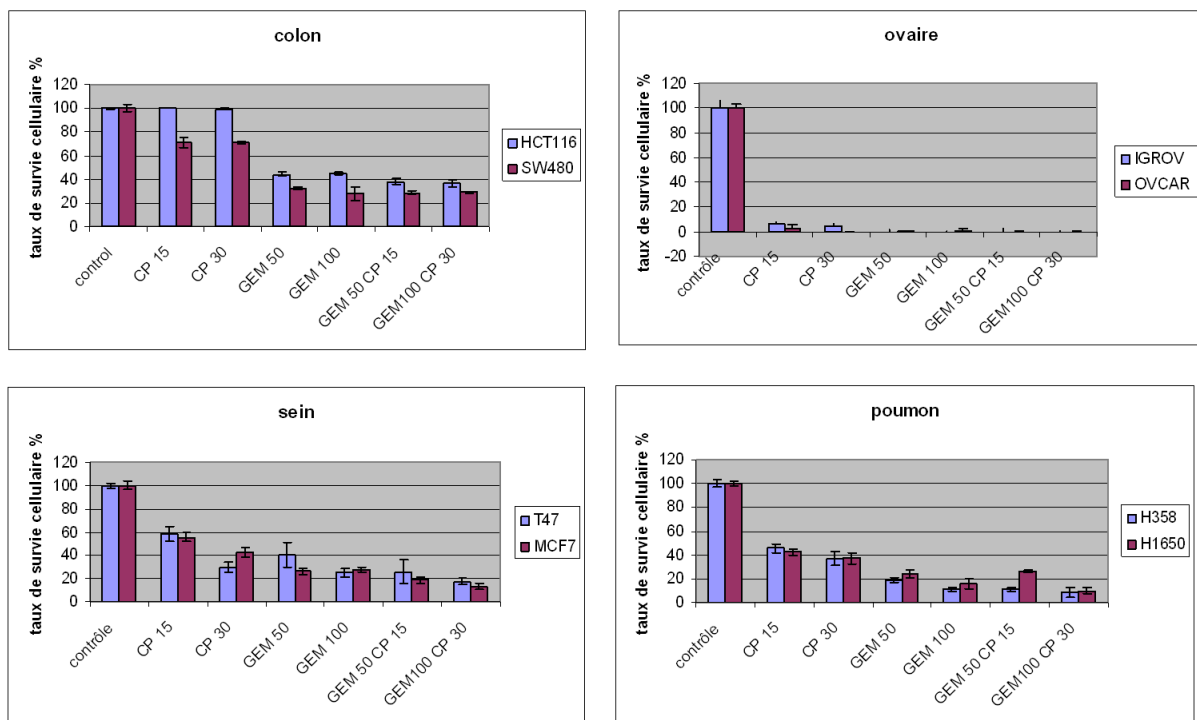


Figure 12: Etude *in vitro* de l'effet du cisplatine à 15 mg/l (CP 15) et 30 mg/l (CP 30), et de la gemcitabine à 50 mg/l (GEM 50) et 100 mg/l (GEM 100) sur des cellules humaines de cancer du colon, du sein, du poumon et de l'ovaire. La survie cellulaire était mesurée 7 jours après une exposition de 60 minutes aux produits de chimiothérapie ou à leur association.

3. Tolérance à une chimiothérapie intrapleurale en hyperpression

La chimiothérapie intrapleurale en hyperpression associant 100 mg/l de gemcitabine et 30 mg/l de cisplatine a été réalisée chez 5 animaux (17 à 21), avec une bonne tolérance. Une pression de 20 cmH₂O a pu être maintenue pendant 40 minutes (animal 17) ou 60 minutes (18 à 21). Tous les animaux ont survécu à la procédure dans un état clinique satisfaisant, sans signe de toxicité médullaire (pas de leucopénie, d'anémie ou de thrombopénie) ou rénale (pas de variation de la créatininémie) au cours du suivi biologique durant le mois postopératoire. L'autopsie réalisée à un mois montrait dans chaque cas une symphyse pleurale très importante et l'examen anatomopathologique des prélèvements tissulaires pulmonaires était sans particularité.

Les résultats pharmacocinétiques sont regroupés dans le tableau 5 et ont montré une concentration stable de cisplatine tout au long de la procédure avec une concentration systémique très faible. De la même façon, la concentration de gemcitabine restait élevée dans le liquide pleural, sans être métabolisé de façon importante en dFdU, et avec une concentration systémique faible. Ainsi, la concentration sérique des 2 médicaments restaient inférieure à 0.1% de leur concentration pleurale respective confirmant ainsi l'existence d'une barrière pleuro-plasmatisque.

Tableau 5: Moyennes et déviation-standards des concentrations de cisplatine, gemcitabine et dFdU dans les prélèvements sanguins et pleuraux toutes les 10 minutes à partir du moment où le palier de 20 cmH₂O a été atteint et la chimiothérapie introduite (animaux 17 à 21).

Temps (min)	Cisplatine sérique (mg/l)	Cisplatine pleural (mg/l)	Gemcitabine sérique (µg/ml)	Gemcitabine pleurale (µg/ml)	dFdU sérique (µg/ml)	dFdU pleural (µg/ml)
0	0.0435 ± 0.01	21.06 ± 4.81	0.00	99.8 ± 12.8	0.00	0.13 ± 0.01
10	0.0585 ± 0.01	21.06 ± 2.15	0.11 ± 0.05	108 ± 13.5	0.04 ± 0.01	0.11 ± 0.08
20	0.09 ± 0.005	22.71 ± 1.21	0.14 ± 0.03	95.7 ± 9.6	0.07 ± 0.03	0.12 ± 0.01
30	0.0465 ± 0.007	21.51 ± 0.89	0.18 ± 0.01	101 ± 1.8	0.08 ± 0.05	0.14 ± 0.07
40	0.114 ± 0.12	19.92 ± 0.98	0.17 ± 0.02	91.9 ± 9.4	0.09 ± 0.06	0.13 ± 0.06
50	0.108 ± 0.008	22.335 ± 1.51	0.23 ± 0.03	93.7 ± 11.8	0.10 ± 0.09	0.13 ± 0.05
60	0.132 ± 0.024	21.87 ± 1.82	0.27 ± 0.02	98 ± 12.3	0.21 ± 0.08	0.14 ± 0.09

III DISCUSSION

La chimiothérapie intrapleurale a déjà fait l'objet de plusieurs études pour le traitement des épanchements pleuraux métastatiques, avec des résultats décevants [13-16, 49, 50]. En utilisant les mêmes parallèles avec la cavité péritonéale, l'hyperthermie a été proposée pour augmenter la pénétration tissulaire de la chimiothérapie et augmenter ainsi la cytotoxicité [15, 16]. La suite logique de nos travaux portant sur l'apport de l'hyperpression à la pénétration de la chimiothérapie dans le péritoine a donc été d'exporter ces résultats à la cavité pleurale, du fait des similitudes histologiques et physiologiques entre le péritoine et la plèvre [19, 54, 55]. Néanmoins, la faisabilité d'une hyperpression intrapleurale, ainsi que son retentissement hémodynamique et respiratoire, étaient jusqu'à présent inconnus. Le seul modèle s'en rapprochant est l'étude hémodynamique du pneumothorax hypertensif. Mais, bien entendu, celle-ci n'était pas transposable dans la mesure où la présence du liquide avec son poids propre, et la position opératoire (souvent en décubitus latéral), rendent les situations totalement différentes [56].

L'hyperpression intrapleurale s'est avérée plus difficile à réaliser chez le porc que l'hyperpression intrapéritonéale. Le palier de 25 cmH₂O n'a jamais pu être atteint dans des conditions hémodynamiques et respiratoires satisfaisantes. A l'inverse, le palier inférieur (20 cmH₂O) était bien supporté pendant une heure. La pression inspiratoire en plateau, devant rester sous les 35 cmH₂O afin d'éviter un barotraumatisme pulmonaire, n'était pas mesurable sur la machine utilisée lors de ces travaux [57]. Néanmoins, le réveil satisfaisant, les bons paramètres hémodynamiques et de SaO₂ ainsi que l'absence de fibrose sur les prélèvements histologiques pulmonaires un mois plus tard font conclure à une bonne tolérance hémodynamique et respiratoire de ce palier, malgré des pressions inspiratoires de crête élevées. Le remplissage doit être lent, d'environ une heure pour les 4 litres nécessaires pour

atteindre cette hyperpression, et adapté aux variations hémodynamiques et respiratoires, qui surviennent principalement entre 15 et 20 cmH₂O. La surveillance échographique a permis d'adapter au mieux le remplissage vasculaire, optimisant la tolérance hémodynamique. En cas de défaillance majeure, la vidange rapide de la cavité pleurale pouvait permettre de rétablir la situation. Les facteurs limitant l'augmentation de la pression intrapleurale ont semblé être plus liés à la compression médiastinale (cœur, aorte, veine cave) qu'à la compression du poumon controlatéral. En effet, par analogie avec le pneumothorax suffocant, le problème est plus souvent hémodynamique que lié aux problèmes d'oxygénation [56, 58]. Dans nos travaux, les premiers paramètres chutant étaient le débit cardiaque et la tension artérielle systolique, avant la chute de la saturation en oxygène. L'optimisation de la tolérance est donc passée par une instillation lente du liquide et un remplissage vasculaire adapté, plutôt qu'une diminution du volume courant et une augmentation de la fréquence respiratoire. Néanmoins, l'ensemble de ces paramètres peut être adapté et dépend de plus du modèle animal utilisé.

Bien qu'il soit le modèle animal le plus proche de l'homme quant à l'anatomie et la physiologie cardio-respiratoire, le modèle porcin a quelques limites. Comme l'homme, le porc a 2 plèvres séparées, à l'inverse du rat qui a une plèvre unique. Mais la plèvre médiastinale porcine est très fine et fragile, avec un accollement des plèvres droite et gauche sans tissu ou organe interposé. Ceci explique les fuites constatées de la plèvre gauche vers la droite chez les 2 premiers animaux, par rupture de la plèvre médiastinale dès 15 cmH₂O de pression intrapleurale. A l'inverse, le remplissage de la cavité droite n'a pas provoqué de brèche médiastinale, probablement parce que le lobe pulmonaire accessoire inférieur se plaquait contre la plèvre médiastinale et la protégeait. Chez l'homme, ces problèmes ne sont pas attendus du fait de l'épaisseur de la plèvre et de l'absence de grande zone d'accolement entre les plèvres droite et gauche [58]. Cela est conforté par le fait que le pneumothorax, même hypertensif, ne devient que très rarement bilatéral. La seconde limite du modèle porcin est la

mauvaise tolérance de cet animal à la pneumonectomie, expliquant les décès survenus chez tous les animaux pour lesquels une résection était associée à l'hyperpression intrapleurale [59]. Durant cette résection, la plèvre médiastinale doit être parfaitement respectée pour éviter les fuites de liquide vers la cavité pleurale controlatérale. De plus, la tolérance hémodynamique à l'hyperpression est mauvaise après résection, 15 cmH₂O étant la limite de tolérance constatée après pneumonectomie, confirmant le rôle protecteur du poumon même affaissé sur le médiastin. A l'inverse, les porcs ayant une hyperpression intrapleurale avant la résection ont bien évidemment eu la même tolérance que ceux sans résection. Ces facteurs liés au modèle animal ont donc limité l'évaluation préclinique du traitement à visée curative du mésothéliome associant cytoréduction complète par pleuro-pneumonectomie et chimiothérapie intrapleurale en hyperpression. Ils expliquent de plus la forte mortalité de ces manipulations (10/21), alors que les 5 derniers animaux ayant reçu une chimiothérapie intrapleurale en hyperpression sans résection ont tous survécu. La dernière limite du modèle porcine est l'absence de carcinose pleurale afin d'évaluer l'effet cytotoxique in vivo d'une chimiothérapie intrapleurale en hyperpression, comme cela a été le cas dans nos travaux d'optimisation de la chimiothérapie intrapéritonéale. Des modèles de carcinose existent chez le rat, mais la cavité pleurale unique est incompatible avec une hyperpression intrapleurale qui affaiblirait les 2 poumons, comme lors de la rupture de la plèvre médiastinale chez le porc [50]. Malgré ces limites, la bonne tolérance hémodynamique et respiratoire des huit porcs ayant subi une hyperpression intrapleurale à 20 cmH₂O sans (animaux 5 à 7) et avec chimiothérapie (animaux 17 à 21) confirment que cette procédure est faisable et bien tolérée jusqu'à ce palier. Ce travail a été basé sur les similitudes entre la plèvre et le péritoine en termes de pénétration tissulaire de la chimiothérapie, mais les travaux suivants devront inclure des prélèvements tissulaires pour valider l'augmentation de cette pénétration dans la plèvre par l'hyperpression, comme ceux réalisés dans les manipulations abdominales.

La chimiothérapie intrapleurale associant cisplatine et gemcitabine dilués dans 4 litres de sérum physiologique a été bien tolérée pendant 1 heure dans le thorax droit avec une hyperpression de 20 cmH₂O. Ces molécules de chimiothérapie ont été choisies du fait de leur action cytotoxique rapide contre de nombreuses lignées cellulaires humaines des cancers fréquemment responsables de carcinose pleurale. De plus, cette association est synergique contre le cancer bronchique et le mésothéliome [60, 61]. Chez le porc de 50-60 kg, les doses utilisées de 30 mg/l de cisplatine dans 4 litres de sérum, soit 120 mg en dose total, et de 100 mg/l de gemcitabine, soit 400 mg en dose total, correspondent aux doses administrées en intra-veineux en pratique clinique humaine (120 mg de cisplatine et 1500 mg de gemcitabine pour un patient de 60 kg). Le métabolisme de la gemcitabine en dFdU inactif a été négligeable dans la plèvre, mais plus important dans le sang, comme constaté lors des administrations intraveineuses (environ 30%). Le faible passage systémique de ces 2 produits de chimiothérapie explique l'absence de différence de tolérance per-opératoire entre les animaux traités par une chimiothérapie intrapleurale et ceux ayant une hyperpression intrapleurale sans chimiothérapie. Il explique de plus l'absence de toxicité hématologique, rénale, nerveuse ou digestive constatée lors du suivi clinique et biologique. Enfin, la bonne évolution clinique et l'absence de fibrose histologique 1 mois après la procédure montrent l'absence de toxicité locale pulmonaire après l'exposition à la chimiothérapie.

La symphyse pleurale mise en évidence lors de l'autopsie 1 mois après chimiothérapie intrapleurale en hyperpression est un avantage de cette procédure, puisqu'un des objectifs de prise en charge des épanchements pleuraux métastatiques est la diminution de la récurrence par une pleurodèse habituellement réalisée par talcage.

CONCLUSIONS

La chimiothérapie intrapéritonéale en hyperthermie (42-43°C) et hyperpression (25 cm H₂O) est faisable et bien tolérée dans ce modèle expérimentale proche de l'humain. Cette étude montre que ces deux facteurs augmentent la pénétration tissulaire de l'oxaliplatine au cours d'une procédure ouverte. L'apport de l'hyperthermie est plus important sur les surfaces viscérales, alors que l'hyperpression est efficace sur les surfaces pariétales et viscérales. Leur association est possible et permet d'obtenir les concentrations tissulaires d'oxaliplatine les plus importantes sans augmenter le passage systémique.

Dans ce modèle, l'hyperpression ne permet pas de compenser les défauts de pénétration et d'homogénéité des méthodes fermées par rapport aux méthodes ouvertes de délivrance de la chimiothérapie intrapéritonéale, même lorsqu'elle est augmentée au seuil de tolérance hémodynamique de 40 cmH₂O. Une CHIP ouverte en hyperpression à 25 cmH₂O à l'oxaliplatine pourrait permettre d'améliorer l'efficacité de la CHIP et la survie des patients porteurs de carcinose péritonéale.

Les travaux suivants vont s'attacher à étudier l'effet de l'hyperpression sur la profondeur de pénétration de l'oxaliplatine, en dosant le platine dans les tissus sous-péritonéaux. Des dosages de platine à la face interne des gants utilisés lors des procédures en hyperpression permettront de plus de rechercher une éventuelle augmentation du risque d'exposition du personnel.

L'étude de l'hyperpression pour améliorer les résultats de la chimiothérapie intrapleurale a nécessité en premier lieu une étude de faisabilité et de tolérance hémodynamique. Dans un modèle porcin, une procédure utilisant du cisplatine (30 mg/l) et de la gemcitabine (100 mg/l) pour une chimiothérapie intrapleurale en hyperpression à 20 cmH₂O s'est avérée faisable et bien tolérée sur le plan hémodynamique et respiratoire durant une intervention sans résection. La tolérance liée à l'exposition à la chimiothérapie est aussi favorable, tant sur le plan systémique que local. Ces résultats peuvent ouvrir la voie à de

nouveaux traitements palliatifs, dans le cadre des épanchements pleuraux métastatiques récidivants, ou curatifs, dans le cadre du mésothéliome.

La suite de ces travaux consistera à évaluer par des prélèvements tissulaires pleuraux et sous pleuraux l'apport de l'hyperpression en termes de quantité de chimiothérapie pénétrant dans la plèvre et en profondeur.

BIBLIOGRAPHIE

1. Elias D, Lefevre JH, Chevalier J et al. Complete cytoreductive surgery plus intraperitoneal chemohyperthermia with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *J Clin Oncol* 2009; 27: 681-5.
2. Verwaal VJ, van Ruth S, de Bree E et al. Randomized trial of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy and palliative surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 3737-43.
3. Cao C, Yan TD, Black D et al. A systematic review and meta-analysis of cytoreductive surgery with perioperative intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 2152-65.
4. Esquivel J, Elias D, Baratti D et al. Consensus statement on the loco regional treatment of colorectal cancer with peritoneal dissemination. *J Surg Oncol* 2008; 98: 263-7.
5. Esquivel J. Technology of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in the United States, Europe, China, Japan, and Korea. *Cancer J* 2009; 15: 249-54.
6. Glehen O, Cotte E, Kusamura S et al. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy: nomenclature and modalities of perfusion. *J Surg Oncol* 2008; 98: 242-6.
7. Elias D, Antoun B, Goharin A et al. Research on the best chemohyperthermia technique of treatment of peritoneal carcinomatosis after complete resection. *Int J Surg Invest*. 2000; 1: 431-9.
8. Ortega-Deballon P, Facy O, Jambet S et al. Which method to deliver heated intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin? An experimental comparison of open and closed techniques. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1957-63.

9. Klaver YL, Hendriks T, Lomme RM et al. Hyperthermia and intraperitoneal chemotherapy for the treatment of peritoneal carcinomatosis: an experimental study. *Ann Surg* 2011; 254: 125-30.
10. Piché N, Leblond FA, Sidéris L et al. Rationale for heating oxaliplatin for the intraperitoneal treatment of peritoneal carcinomatosis. A study of the effect of heat on intraperitoneal oxaliplatin using a murine model. *Ann Surg* 2011; 254: 138-44.
11. Facy O, Radais F, Ladoire S et al. Comparison of hyperthermia and adrenaline to enhance the intratumoral accumulation of cisplatin in a murine model of peritoneal carcinomatosis. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; 30: 4.
12. Esquis P, Consolo D, Magnin G et al. High intra-abdominal pressure enhances the penetration and antitumor effect of intraperitoneal cisplatin on experimental peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg* 2006; 244: 106-12.
13. Ohta Y, Shimizu Y, Matsumoto I et al. Management of malignant pleural effusion by multimodality treatment including the use of paclitaxel administered by 24-hour intrathoracic infusion for patients with carcinomatous pleuritis. *J Exp Clin Cancer Res* 2006; 25: 15-9.
14. Perng RP, Wu MF, Lin SY et al. A phase I feasibility and pharmacokinetic study of intrapleural paclitaxel in patients with malignant pleural effusions. *Anticancer Drugs* 1997; 8: 565-73.
15. de Bree E, van Ruth S, Baas P et al. Cytoreductive surgery and intraoperative hyperthermic intrathoracic chemotherapy in patients with malignant pleural mesothelioma or pleural metastases of thymoma. *Chest* 2002; 121: 480-7.
16. Verschraegen CF. Intracavitary therapies for mesothelioma. *Curr Treat Options Oncol* 2001; 2: 385-94.

17. Benoit L, Cheynel N, Ortega-Deballon P et al. Closed hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with open abdomen: a novel technique to reduce exposure of the surgical team to chemotherapy drugs. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 542-6.
18. Elias D, Bonnay M, Puizillou JM et al. Heated intraoperative intraperitoneal oxaliplatin after complete resection of peritoneal carcinomatosis: pharmacokinetic and tissue distribution. *Ann Oncol* 2002; 13: 267-72.
19. Jacquet P, Sugarbaker PH. Peritoneal-plasma barrier. *Cancer Treat Res* 1996; 82: 53–63.
20. Sugarbaker PH. Intraperitoneal chemotherapy for treatment and prevention of peritoneal carcinomatosis and sarcomatosis. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 115-22.
21. Baratti D, Kusamura S, Deraco M. The Fifth International Workshop on Peritoneal Surface Malignancy (Milan, Italy, December 4-6, 2006): methodology of disease-specific consensus. *J Surg Oncol* 2008; 98: 258-62.
22. González-Moreno S. Peritoneal Surface Oncology: A progress report. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32: 593-6.
23. Glehen O, Kwiatkowski F, Sugarbaker PH et al. Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a multi-institutional study. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3284-92.
24. Sugarbaker PH. Intraperitoneal chemotherapy and cytoreductive surgery for the prevention and treatment of peritoneal carcinomatosis and sarcomatosis. *Semin Surg Oncol* 1998; 14: 254-61.
25. Chauffert B, Favoulet P, Polycarpe E et al. Rationale supporting the use of vasoconstrictors for intraperitoneal chemotherapy with platinum derivatives. *Surg Oncol Clin N Am* 2003; 12: 835-48.

26. Tsujitani S, Oka A, Kondo A et al. Administration in a hypotonic solution is preferable to dose escalation in intraperitoneal cisplatin chemotherapy for peritoneal carcinomatosis in rats. *Oncology* 1999; 57: 77-82.
27. Jacquet P, Stuart OA, Chang D et al. Effects of intra-abdominal pressure on pharmacokinetics and tissue distribution of doxorubicin after intraperitoneal administration. *Anticancer Drugs* 1996; 7: 596–603.
28. Guardiola E, Chauffert B, Delroeux D et al. Intraoperative chemotherapy with cisplatin and epinephrine after cytoreductive surgery in patients with recurrent ovarian cancer: a phase I study. *Anticancer Drugs* 2010; 21: 320-5.
29. Muller M, Cherel M, Dupré PF et al. Chimiothérapie hyperthermique intra-péritonéale : étude in vitro. *La Lettre du Gynécologue* 2009 ; 344 : 19-23.
30. Reymond MA, Tannapfel A, Schneider C et al. Description of an intraperitoneal tumour xenograft survival model in the pig. *Eur J Surg Oncol* 2000; 26: 393–7.
31. Elias D, Raynard B, Bonnay M et al. Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin alone and in combination with intraperitoneal irinotecan: pharmacologic studies. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32: 607-13.
32. Ferron G, Dattéz S, Gladieff L et al. Pharmacokinetics of heated intraperitoneal oxaliplatin. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 62: 679-83.
33. Heldin CH, Rubin K, Pietras K et al. High interstitial fluid pressure: an obstacle in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 806–13.
34. Kondo A, Maeta M, Oka A et al. Hypotonic intraperitoneal cisplatin chemotherapy for peritoneal carcinomatosis in mice. *Br J Cancer* 1996; 73: 1166-70.
35. Gesson-Paute A, Ferron G, Thomas F et al. Pharmacokinetics of oxaliplatin during open versus laparoscopically assisted heated intraoperative intraperitoneal chemotherapy (HIPEC): an experimental study. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 339-44.

36. Thomas F, Ferron G, Gesson-Paute A et al. Increased tissue diffusion of oxaliplatin during laparoscopically assisted versus open heated intraoperative intraperitoneal chemotherapy (HIPEC). *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 3623-4.
37. Minchinton AI, Tannock IF. Drug penetration in solid tumours. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 583-92.
38. Duvillard C, Benoit L, Moretto P et al. Epinephrine enhances penetration and anti-cancer activity of local cisplatin on rat sub-cutaneous and peritoneal tumors. *Int J Cancer* 1999; 81: 779-84.
39. Favoulet P, Magnin G, Guillard JC et al. Pre-clinical study of the epinephrine-cisplatin association for the treatment of intraperitoneal carcinomatosis. *Eur J Surg Oncol* 2001; 27: 59-64.
40. Younan R, Kusamura S, Baratti D et al. Bowel complications in 203 cases of peritoneal surface malignancies treated with peritonectomy and closed-technique intraperitoneal hyperthermic perfusion. *Ann Surg Oncol* 2005; 12: 910-8.
41. Kusamura S, Younan R, Baratti D et al. Cytoreductive surgery followed by intraperitoneal hyperthermic perfusion: analysis of morbidity and mortality in 209 peritoneal surface malignancies treated with closed abdomen technique. *Cancer* 2006; 106: 1144-53.
42. Konate A, Poupon J, Villa A et al. Evaluation of environmental contamination by platinum and exposure risks for healthcare workers during a heated intraperitoneal perioperative chemotherapy (HIPEC) procedure. *J Surg Oncol* 2011; 103: 6-9.
43. Stuart OA, Stephens AD, Welch L et al. Safety monitoring of the coliseum technique for heated intraoperative intraperitoneal chemotherapy with mytomicin C. *Ann Surg Oncol* 2002; 9: 186-91.

44. Schmid K, Boettcher MI, Pelz JO et al. Investigations on safety of hyperthermic intraoperative intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) with mitomycin C. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32: 1222-5.
45. Guerbet M, Goullé JP, Lubrano J. Evaluation of the risk of contamination of surgical personnel by vaporization of oxaliplatin during the intraoperative hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC). *Eur J Surg Oncol* 2007; 33: 623-6.
46. Gonzalez-Bayon L, Gonzalez-Moreno S, Ortega-Perez G. Safety considerations for operating room personnel during hyperthermic intraoperative intraperitoneal chemotherapy perfusion. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32: 619-24.
47. Ortega-Deballon P, Facy O, Laluc G et al. Enquête sur le sentiment de sécurité du personnel en fonction de la technique de chimiohyperthermie intrapéritonéale. Etude comparative entre méthode ouverte et semi-ouverte. *J Visc Surg* 2010; 147: 79-83.
48. Solaß W, Hetzel A, Nadiradze G et al. Description of a novel approach for intraperitoneal drug delivery and the related device. *Surg Endosc* 2012; 26: 1849-55.
49. Van der Speeten K, Stuart OA, Mahteme H et al. A pharmacologic analysis of intraoperative intracavitary cancer chemotherapy with doxorubicin. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 63: 799-805.
50. Lardinois D, Jung FJ, Opitz I et al. Intrapleural topical application of cisplatin with the surgical carrier Vivostat increases the local drug concentration in an immune-competent rat model with malignant pleuromesothelioma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 131: 697-703.
51. Ortega-Deballon P, Facy O, Consolo D et al. Hypoxic single-pass isolated hepatic perfusion of hypotonic cisplatin: safety study in the pig. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 898-906.

52. Teyssier JR, Bénard J, Ferre D et al. Drug-related chromosomal changes in chemoresistant human ovarian carcinoma cells. *Cancer Genet Cytogenet* 1989; 39: 35-43.
53. Bowen C, Wang S, Licea-Perez H. Development of a sensitive and selective LC-MS/MS method for simultaneous determination of gemcitabine and 2,2-difluoro-2-deoxyuridine in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009; 877: 2123-9.
54. Dedrick RL, Myers CE, Bungay PM et al. Pharmacokinetic rationale for peritoneal drug administration in the treatment of ovarian cancer. *Cancer Treat Rep* 1978; 62: 1-11.
55. Chang MY, Sugarbaker DJ. Innovative therapies: intraoperative intracavitary chemotherapy. *Thorac Surg Clin* 2004; 14: 549-56.
56. Barton ED, Rhee P, Hutton KC et al. The pathophysiology of tension pneumothorax in ventilated swine. *J Emerg Med* 1997; 15: 147-53.
57. Hager DN, Krishnan JA, Hayden DL et al; ARDS Clinical Trials Network. Tidal volume reduction in patients with acute lung injury when plateau pressures are not high. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 1241-5.
58. Leigh-Smith S, Harris T. Tension pneumothorax – Time for a re-think? *Emerg Med J* 2005; 22: 8-16.
59. Iglesias M, Jungebluth P, Petit C et al. Extracorporeal lung membrane provides better lung protection than conventional treatment for severe postpneumonectomy noncardiogenic acute respiratory distress syndrome. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135: 1362-71.
60. Blanco R, Solé J, Montesinos J et al; ACROSS. Induction chemotherapy with cisplatin and gemcitabine followed by concurrent chemoradiation with twice-weekly

gemcitabine in unresectable stage III non-small cell lung cancer: final results of a phase II study. *Lung Cancer* 2008; 62: 62-71.

61. Opitz I, Lardinois D, Arni S et al. Local recurrence model of malignant pleural mesothelioma for investigation of intrapleural treatment. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007; 31: 773-8.

ANNEXES

High Pressure Enhances the Effect of Hyperthermia in Intraperitoneal Chemotherapy With Oxaliplatin

An Experimental Study

Olivier Facy, MD,*† Sophie Al Samman, MD,† Guy Magnin, MD,‡ Francois Ghiringhelli, MD, PhD,* Sylvain Ladoire, MD, PhD,* Bruno Chauffert, MD,* Patrick Rat, MD,*† and Pablo Ortega-Deballon, MD, PhD*†

Background: Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) achieve good results in selected patients with peritoneal carcinomatosis. High intra-abdominal pressure could enhance the penetration of chemotherapy drugs. The aim of this study was to compare the effects of high pressure and hyperthermia when used separately and when combined in terms of blood and tissue absorption of oxaliplatin in a swine model of intraperitoneal chemotherapy.

Methods: Four groups of 5 pigs each underwent laparotomy and open intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin at a constant concentration (150 mg/L) for 30 minutes in normothermia and atmospheric pressure (group 1), or hyperthermia (42°C) and atmospheric pressure (group 2), or normothermia and high pressure (25 cm H₂O) (group 3), or hyperthermia and high pressure (group 4). High pressure was achieved through a water column over the abdomen. Systemic absorption and abdominal tissue mapping of the penetration of oxaliplatin in each group were studied.

Results: Blood concentrations of oxaliplatin were similar in the different groups. Hyperthermia achieved higher concentrations in visceral surfaces ($P = 0.0014$), but not in parietal surfaces. High pressure enhanced diffusion of the drug in both the visceral and parietal peritoneum ($P = 0.0058$ and $P = 0.0044$, respectively). The combination of hyperthermia and high pressure significantly increased the penetration of oxaliplatin and achieved the highest tissue concentrations (10.39 mg/kg vs 5.48 mg/kg; $P = 0.00001$ in the visceral peritoneum, and 66.16 mg/kg vs 35.62 mg/kg; $P = 0.0003$ in the parietal peritoneum).

Conclusions: Open high-pressure HIPEC with oxaliplatin is feasible in the pig. Hyperthermia enhances diffusion in the visceral peritoneum, whereas high pressure is effective in the visceral and parietal peritoneum. The combination of the two achieves the highest tissue concentrations of oxaliplatin.

(*Ann Surg* 2012;00:1–5)

Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) gives results in selected patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal origin.^{1,2} There is now strong evidence that this technique is the best therapeutic choice in patients with peritoneal malignancies.^{3,4} Despite its wide clinical use, some fundamental aspects of the technique remain controversial: the interest of hyperthermia, vasoconstrictors, and high pressure to enhance the penetration of different chemotherapy drugs, the added bene-

fit of HIPEC once macroscopically complete cytoreductive surgery has been achieved, and the precise drug delivery method.^{5,6} One of the challenges of HIPEC is to achieve deep penetration and a high concentration of chemotherapy drugs within the abdominal tissues. Hyperthermia is widely used to this end, even though it is not effective with all chemotherapy drugs.^{7–9} Five years ago, our group showed that high pressure closed intraperitoneal chemotherapy with cisplatin increased cisplatin penetration into the peritoneum, and increased survival in rats with peritoneal carcinomatosis of colorectal origin.¹⁰ As open techniques of HIPEC might achieve better tissue concentrations than closed techniques according to a previous experimental work,¹¹ we hypothesized that high pressure could be achieved during open HIPEC. Besides evaluating the feasibility of a high-pressure open intraperitoneal chemotherapy, the aim of this study was to assess the effect of high pressure and hyperthermia separately and in combination in terms of tissue penetration of oxaliplatin.

MATERIALS AND METHODS

Animals

Twenty 3-month-old large white female pigs weighing 50 to 60 kg were used. All of the pigs were allowed to acclimatize to the laboratory environment for 7 days with free access to standard food and water. They were then operated on and killed at the end of the procedure with an intravenous injection of pentobarbital (Dolethal, Vétéquinol, France). This project was approved by the Animal Ethics Committee of the University of Burgundy, France.

Anesthesia

Anesthesia was induced by intramuscular injection of 5 to 10 mg/kg ketamine + 1 mg atropine and then completed by intravenous ketamine and sufentanil until endotracheal intubation. The animals were maintained under anaesthesia by isoflurane (minimum alveolar concentration = 1), intravenous sufentanil, and cisatracurium. The airway pressure was measured with the ventilator itself. Heart rate, electrocardiogram, oesophageal temperature, and oxygen blood saturation were measured using the NICO system (Novamatrix Medical Systems Inc, Wallingford, CT) and recorded every 5 minutes. Fluid resuscitation was achieved with isotonic saline and Ringer lactate with a mean volume of 2 L per pig.

Surgical Technique

A large midline laparotomy was performed to access the abdomen. Three temperature probes (Tyco, Houston, TX, USA) were placed inside the abdomen (diaphragm, mesentery, and Douglas space), and 2 other probes were positioned inside the inflow and the outflow tubes. IPEC was performed using a closed continuous circuit (Dideco, Modena, Italy), a roller pump (Cobe, Stöckert, Germany), a heat exchanger (Dideco, Italy), and an integrated system of real-time temperature control and monitoring (Bodytherm 8180, version 1.2.0; EFS électronique, Montagny, France). A continuous

From the *INSERM Unit 866, Equipe Avenir; Departments of †Digestive Surgical Oncology; and ‡Anaesthesiology, University Hospital, Dijon, France.

Disclosure: This work was supported by research grants from the French National League against Cancer (comité Grand Est) and from the University Hospital of Dijon—Regional Council of Burgundy (France). Oxaliplatin was provided free of charge by Mylan SAS, France. No other commercial sponsorship or conflict of interest is declared.

Reprints: Pablo Ortega Deballon, MD, PhD, Service de Chirurgie Digestive et Cancérologique, Centre Hospitalier Universitaire du Bocage, 14 rue Gaffarel, 21079 Dijon cedex, France. E-mail: pablo.ortega-deballon@chu-dijon.fr.

Copyright © 2012 by Lippincott Williams & Wilkins

ISSN: 0003-4932/12/00000-0001

DOI: 10.1097/SLA.0b013e3182582b38

recording was obtained for the flow and the temperature at each thermal probe. Intra-abdominal pressure was recorded through a Palmer needle with its extremity at the root of the mesentery and connected to a column of water.

IPEC was then performed according to the following schedule:

Group 1 (normothermia, isobaric): five pigs underwent 30 minutes of semiopen IPEC at 38°C with 150 mg/L of oxaliplatin (Mylan SAS, France) in 4 L of 50 g/L glucose (Baxter, UK). The technique was performed using a covered abdominal cavity expander, with constant stirring of the liquid and sequential opening of the peritoneal spaces.¹²

Group 2 (hyperthermia, isobaric): five pigs underwent 30 minutes of semiopen HIPEC at 42°C with 150 mg/L of oxaliplatin in 4 L of 50 g/L glucose, in a similar way to that described for group 1.

Group 3 (normothermia, hyperbaric): five pigs underwent 30 minutes of semiopen IPEC at 38°C with 150 mg/L of oxaliplatin in 8 L of 50 g/L glucose. High intra-abdominal pressure (25 cm H₂O) was achieved using a vertical graduated cylindrical latex expander stapled to the edges of the laparotomy in a watertight way. It permitted open access to the whole abdominal cavity with constant stirring of the liquid and sequential opening of the peritoneal spaces (Fig. 1). According to Pascal's principle, the pressure induced by this column of liquid was uniformly transferred to the whole abdominal cavity. The surgeon's arm remained in the cylinder throughout the procedure to avoid pressure oscillations according to Archimedes' principle.

Group 4 (hyperthermia, hyperbaric): five pigs underwent 30 minutes of semiopen HIPEC at 42°C with 150 mg/L of oxaliplatin in 8 L of 50 g/L glucose, in a similar way to that described for group 3.

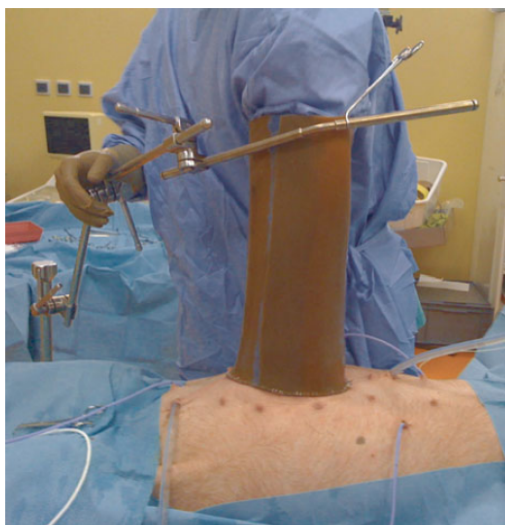


FIGURE 1. Device for high-pressure intraperitoneal chemotherapy: a vertical latex expander is hermetically stapled to the skin and stabilized on the arm of a Thompson retractor. The expander is filled to a height of 25 cm with the liquid and allows access to the whole abdominal cavity. According to Pascal's principle, the pressure induced by the weight of the water column is uniformly transmitted to the entire abdominal cavity. Three thermal probes (blue on the picture) are placed to monitor the temperature within the abdomen, as well as in the outflow and the inflow catheters (transparent tubes).

After the procedure, the fluid containing the chemotherapy drug was aspirated, the abdominal cavity was washed with 1 L of 50 g/L glucose and these fluids were disposed of in accordance with French regulations for the disposal of chemotherapy drugs.

Blood, Circuit, and Tissue Sampling

Seven blood samples were collected for each animal at different times: at time 0 (when the temperature reached at least 38°C or 42°C in all thermal probes), and every 10 minutes during the 30-minute HIPEC procedure. Blood samples were also collected after the end of the procedure, at 40, 50, 60, and 75 minutes from time 0. Five samples of peritoneal fluid were collected in the circuit for each animal at 0, 5, 10, 20, and 30 minutes.

At the end of the procedure, standardized tissue samples from the parietal and visceral peritoneum were harvested according to a previously described peritoneal map inspired by Sugarbaker's Peritoneal Carcinomatosis Index.¹¹ Samples of bowel always comprised a full-depth fragment. All samples were immediately frozen at -20°C until the platinum assay. The visceral peritoneum tissues included the stomach, the ovary, the proximal and distal jejunum, the proximal and distal ileum, and the colon and mesentery. The parietal peritoneum tissues included the incision, the left and right diaphragm, the left and right paracolic gutter, and the left and right pelvic parietal peritoneum.

Platinum Assay

The tissues or an aliquot of 1 mL of whole blood were weighed and digested with 5 mL HNO₃ 65% + 1 mL H₂O₂ in a microwave oven. The mineralisat was poured into a 10 mL tube, and the volume completed to 10 mL with ultra pure water. The platinum concentration was measured with a high-resolution continuum source atomic absorption spectrometer (ContrAA 700, AnalytikJena, Germany). The results were corrected according to the dilution and the sample weight and a concentration in mg/kg was obtained. Platinum is about half of the molecular mass of oxaliplatin; to convert platinum concentrations into oxaliplatin concentrations, the first must be multiplied by 2.03.

Statistical Analysis

Concentrations of platinum (mg/kg), temperature (°C), and time (minutes) are presented as means ± standard deviation in the text and tables. Nonparametric tests were used to analyze the concentrations of platinum. A Kruskal-Wallis test was performed to compare more than 2 means, and if different, the Mann-Whitney test was used for 2 × 2 comparisons between groups. Decimals were always conserved for the calculations, but only 2 decimals are shown for platinum concentrations. A 2-tailed *P* value lower than 0.05 was considered significant for all tests. Data collection and statistical calculations were performed using SPSS (version 10.0; SPSS Inc, Chicago, IL) software.

RESULTS

All of the procedures were uneventful, and no intraoperative complications were observed. Variations in abdominal temperature were minimal once the desired temperature was reached. Platinum concentrations in the circuit progressively decreased throughout the procedure, with no significant difference between the groups at any time.

Hemodynamic Tolerance

In groups 1 and 2, fluid resuscitation of 500 mL was performed, with a mean heart rate (HR) of 50 ± 6 beats per minute, stable arterial pressure at approximately 90/50 mm Hg, and blood oxygen saturation between 97% and 100%. The ventilation pressure was stable at 10 ± 2 mm Hg.

In groups 3 and 4 (high intra-abdominal pressure), there was a mild increase in the mean HR (65 ± 10 minutes) but arterial pressure was maintained at 90/50 mm Hg with fluid resuscitation of 1 L. The ventilation pressure increased to 15 mm Hg and oxygen saturation remained in a range between 96% and 100%.

Systemic Absorption of Oxaliplatin

The concentrations of platinum in peripheral blood during intraperitoneal chemotherapy and in the 45 minutes after the procedure are presented in Figure 2. Neither hyperthermia nor high pressure clearly affected the systemic absorption of oxaliplatin ($P > 0.1$ for all comparisons among groups). The maximal blood concentration was obtained at the end of the procedure (30 minutes) and then decreased progressively.

Tissue Concentration of Oxaliplatin

The tissue concentrations of platinum obtained in each group are presented in a synthetic way in the Table and site-by-site in Figure 3. There were significant differences between the groups (Kruskal-Wallis test: 18.44, $P = 0.0004$, in the peritoneal surfaces and Kruskal-Wallis test: 24.05, $P < 0.0001$, in the viscera). In the basal group (group 1), the mean platinum concentration in the parietal peritoneum was 35.62 mg/kg and in the visceral peritoneum 5.48 mg/kg. When hyperthermia was performed alone (group 2), the concentration of platinum in the visceral samples was significantly higher (7.99 mg/kg vs 5.48 mg/kg in groups 2 and 1, respectively; $P = 0.0014$), but this effect was less marked in the parietal peritoneum (38.73 mg/kg vs 35.62 mg/kg in groups 2 and 1, respectively; $P = 0.2545$).

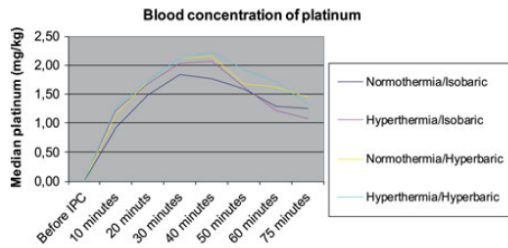


FIGURE 2. Blood concentrations of platinum before starting the procedure and at 10, 20, 30 (end of the intraperitoneal perfusion), 40, 50, 60, and 75 minutes. There was no significant difference between the groups at any time.

TABLE. Mean Platinum Concentrations \pm Standard Deviation in the Parietal and Visceral Tissue Samples Achieved With Each Modality of Intraperitoneal Chemotherapy

Group	Platinum Concentration in the Parietal Peritoneum (mg/kg)	Platinum Concentration in the Visceral Peritoneum (mg/kg)
1 (control group)	35.62 \pm 8.81	5.48 \pm 0.70
2 (hyperthermia)	38.73 \pm 7.74	7.99 \pm 1.66
3 (high pressure)	53.61 \pm 10.32	6.95 \pm 1.46
4 (hyperthermia and high pressure)	66.16 \pm 13.03	10.39 \pm 3.49

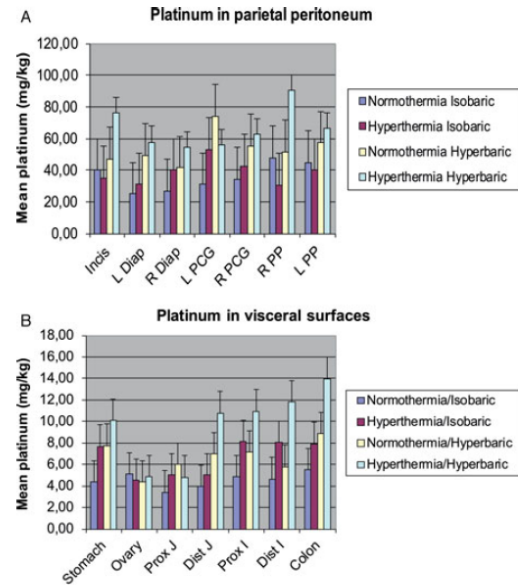


FIGURE 3. Mean platinum concentration (mg/kg) and standard deviation in the parietal peritoneum (A) and the abdominal viscera (B) with each technique of intraperitoneal chemotherapy. The global Kruskal-Wallis test showed a significant difference in the parietal group ($P = 0.0004$) and in the visceral group ($P < 0.0001$). Incis indicates parietal peritoneum close to the laparotomy; L, left; R, right; Diap, diaphragm; PCG, paracolic gutter; PP, pelvic peritoneum; Gastr, posterior aspect of the stomach; Ovar, ovary; Prox, proximal; Dist, distal; J, jejunum; I, ileum.

When *high intra-abdominal pressure* was applied (group 3), the concentration of platinum was significantly higher in both the visceral (6.95 mg/kg vs 5.48 mg/kg; $P = 0.0058$) and parietal peritoneum (53.61 mg/kg vs 35.62 mg/kg; $P = 0.0044$) than in group 1. When high pressure and hyperthermia were compared (groups 3 and 2), the difference clearly favored high pressure in the parietal peritoneum (53.61 mg/kg vs 38.73 mg/kg; $P = 0.0268$), whereas they were not significantly different in the viscera (6.95 mg/kg vs 7.99 mg/kg; $P = 0.9391$).

When *hyperthermia and high pressure were combined* (group 4), the highest mean concentrations of platinum were reached, both in the parietal (66.16 mg/kg) and in the visceral peritoneum (10.39 mg/kg). In group 4, the concentration of platinum in both the parietal surfaces (66.16 mg/kg vs 38.73 mg/kg; $P = 0.0002$) and the viscera (10.39 mg/kg vs 7.99 mg/kg; $P = 0.0174$) was higher than that with hyperthermia alone (group 2). Compared with the concentration of platinum achieved when high pressure was performed alone (group 3), that achieved with combined hyperthermia and high pressure was higher in the viscera (10.39 mg/kg vs 6.95 mg/kg; $P = 0.0267$), but the difference did not reach statistical significance in the parietal peritoneum (66.16 mg/kg vs 53.61 mg/kg; $P = 0.31$).

DISCUSSION

A major concern when anticancer drugs are used for intraperitoneal or intrapleural chemotherapy is their ability to cross the peritoneal or pleural barrier and to penetrate deeply into the tissues.¹³

Several methods have been assessed to enhance the penetration of the drugs into the tissue and to improve their efficacy, both in preclinical and clinical studies: duration of the bath, hyperthermia, vasoconstrictors, hypoosmolarity, and high intra-abdominal pressure.^{9,14–20} However, comparisons between these methods are lacking, as are pharmacokinetic and pharmacodynamic data to prove their effect. Furthermore, the results obtained with one drug are not necessarily the same as those with another.^{7,8} Preclinical models are essential to provide data about the effects of all these factors on different chemotherapy drugs.

HIPEC with oxaliplatin is currently the most widely used therapeutic protocol for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin in Europe, as hyperthermia has been shown to increase the tissue penetration of oxaliplatin.^{1,8,16,21,22} We have confirmed here the enhancing effect of hyperthermia during open HIPEC, which is stronger in the visceral peritoneum than in the parietal peritoneum. Heat-induced vasodilatation in the richly irrigated abdominal viscera may explain this effect, but the lack of any increase in the systemic concentration of the drug with hyperthermia also suggests other factors, such as an increase in interstitial permeability.²³

In a previous study, high-pressure closed intraperitoneal chemotherapy was shown to increase the penetration of cisplatin and to improve survival in a murine model of peritoneal carcinomatosis of colorectal origin.¹⁰ The enhancing effect of pressure on the penetration of oxaliplatin has also been suggested in an experimental study of laparoscopic HIPEC.^{24,25} Interestingly, according to our results, the effect of pressure is more marked in the parietal peritoneum (although also present in the viscera), whereas the effect of hyperthermia is more marked in the visceral peritoneum. This suggests that the 2 techniques complement each other to optimize the effect of intraperitoneal chemotherapy and offer a global treatment for peritoneal carcinomatosis. Furthermore, a multiplying effect was found when high pressure and temperature were combined in group 4, leading to the highest concentrations of all groups in the 15 sites of the peritoneal sampling map. Moreover, the combination of hyperthermia and high pressure did not increase the systemic absorption of oxaliplatin, which was always lower than blood concentrations obtained during systemic chemotherapy. This method is therefore unlikely to increase the toxicity of oxaliplatin.

Closed technique allows more simply high intraperitoneal pressure. However, previous experimental data suggest a more homogeneous distribution and better penetration with open techniques.¹¹ That is why we chose to perform open high-pressure HIPEC in this study. An ongoing experimental work is comparing closed to open hyperbaric HIPEC. The simple prototype presented in this work confirms the feasibility of an approach combining hyperthermia and high pressure during open HIPEC. As high intraperitoneal pressure distended the abdominal cavity, additional volumes of perfusate were required in groups 3 and 4. However, the concentration of oxaliplatin in the perfusate was constant. This allowed the groups to be compared, as it is well known that the systemic absorption and the tissue penetration of oxaliplatin are more influenced by the concentration in the perfusate than by the total dose.^{8,16} Finally, this method made it possible to combine hyperthermia and high pressure and thus achieve concentrations of oxaliplatin in both the parietal and in the visceral peritoneum that were higher than that achieved by either method separately. In terms of safety, this device could be improved to perform open abdomen closed HIPEC as previously described.^{12,26} It would be also interesting to assess if high pressure increases the drug penetration through the surgical gloves.

An intra-abdominal pressure of 50 cm H₂O (40 mm Hg) for 2 hours was found to be safe in pigs undergoing a closed normothermic procedure without chemotherapy.¹⁰ Further studies could assess the enhancing effect of different levels of pressure in open HIPEC to

determine the targeted pressure before starting a clinical phase I study.

It could be argued that one limit of this study is the absence of previous cytoreductive surgery or residual disease which might modify oxaliplatin absorption. This is due to the absence of an animal model of peritoneal carcinomatosis close to that in humans. However, even if the total amount of drug absorbed changed, the enhancing effect would remain. To have an anticancer effect, the drugs must penetrate into the tissue. Moreover, it has been shown that the penetration of drugs into tumor tissue is similar to that at the normal peritoneal surface.^{10,16} We therefore believe that these experiments accurately depict what will happen after complete cytoreductive surgery and in the presence of residual disease.

In conclusion, intraperitoneal chemotherapy with hyperthermia (42°C–43°C) and high pressure (25 cm H₂O) is feasible and well-tolerated. This experimental study shows that both hyperthermia and high pressure enhance the tissue penetration of oxaliplatin during open intraperitoneal chemotherapy. The effect of hyperthermia is more marked in visceral surfaces, whereas high pressure is effective in both the peritoneal and the parietal surfaces. It is possible to combine them using an open technique of HIPEC. This combination achieves the highest tissue concentrations of oxaliplatin, whereas systemic absorption is not significantly higher. Given the complementary nature of these techniques, their combination may provide an optimal global treatment for peritoneal carcinomatosis. A phase I study is now warranted in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal origin to confirm the safety and the efficacy of this procedure in humans.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Philip Bastable for revising the manuscript; Matthieu Boulin, PharmD, for his help with the chemotherapy drugs; Philippe Pointaire, MD, for his help and his mastery of animal anesthesia; Jean-Luc Beltramo, PhD, for the platinum assay; Edouard Harly, Jean-Baptiste Lequeu, and the Agrosup staff (Véronique Julliard, VetMedD, and Stéphane Hanson) for their kind welcome and their care of the animals.

REFERENCES

- Elias D, Gilly F, Boutitie F, et al. Peritoneal colorectal carcinomatosis treated with surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: retrospective analysis of 523 patients from a multicentric French study. *J Clin Oncol*. 2010;28:63–68.
- Verwaal VJ, van Ruth S, de Bree E, et al. Randomized trial of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy and palliative surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2003;21:3737–3743.
- Cao C, Yan TD, Black D, et al. A systematic review and meta-analysis of cytoreductive surgery with perioperative intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *Ann Surg Oncol*. 2009;16:2152–2165.
- Esquivel J, Elias D, Baratti D, et al. Consensus statement on the loco regional treatment of colorectal cancer with peritoneal dissemination. *J Surg Oncol*. 2008;98:263–267.
- Esquivel J. Technology of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in the United States, Europe, China, Japan, and Korea. *Cancer J*. 2009;15:249–254.
- Glehen O, Cotte E, Kusamura S, et al. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy: nomenclature and modalities of perfusion. *J Surg Oncol*. 2008;98:242–246.
- Klaver YL, Hendriks T, Lomme RM, et al. Hyperthermia and intraperitoneal chemotherapy for the treatment of peritoneal carcinomatosis: an experimental study. *Ann Surg*. 2011;254:125–130.
- Piché N, Leblond FA, Sidéris L, et al. Rationale for heating oxaliplatin for the intraperitoneal treatment of peritoneal carcinomatosis. A study of the effect of heat on intraperitoneal oxaliplatin using a murine model. *Ann Surg*. 2011;254:138–144.
- Facy O, Radais F, Ladoire S, et al. Comparison of hyperthermia and adrenaline to enhance the intratumoral accumulation of cisplatin in a murine model of peritoneal carcinomatosis. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011;30:4.

10. Esquis P, Consolo D, Magnin G, et al. High intra-abdominal pressure enhances the penetration and antitumor effect of intraperitoneal cisplatin on experimental peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg*. 2006;244:106–112.
11. Ortega-Deballon P, Facy O, Jambet S, et al. Which method to deliver heated intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin? An experimental comparison of open and closed techniques. *Ann Surg Oncol*. 2010;17:1957–1963.
12. Benoit L, Cheynel N, Ortega-Deballon P, et al. Closed hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with open abdomen: a novel technique to reduce exposure of the surgical team to chemotherapy drugs. *Ann Surg Oncol*. 2008;15:542–546.
13. Jacquet P, Sugarbaker PH. Peritoneal-plasma barrier. *Cancer Treat Res*. 1996;82:53–63.
14. Glehen O, Kwiatkowski F, Sugarbaker PH, et al. Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a multi-institutional study. *J Clin Oncol*. 2004;22:3284–3292.
15. Sugarbaker PH. Intraperitoneal chemotherapy and cytoreductive surgery for the prevention and treatment of peritoneal carcinomatosis and sarcomatosis. *Semin Surg Oncol*. 1998;14:254–261.
16. Elias D, Bonnay M, Puizillou JM, et al. Heated intraoperative intraperitoneal oxaliplatin after complete resection of peritoneal carcinomatosis: pharmacokinetic and tissue distribution. *Ann Oncol*. 2002;13:267–272.
17. Chauffert B, Favoulet P, Polycarpe E, et al. Rationale supporting the use of vasoconstrictors for intraperitoneal chemotherapy with platinum derivatives. *Surg Oncol Clin N Am*. 2003;12:835–848.
18. Tsujitani S, Oka A, Kondo A, et al. Administration in a hypotonic solution is preferable to dose escalation in intraperitoneal cisplatin chemotherapy for peritoneal carcinomatosis in rats. *Oncology*. 1999; 57: 77–82.
19. Jacquet P, Stuart OA, Chang D, et al. Effects of intra-abdominal pressure on pharmacokinetics and tissue distribution of doxorubicin after intraperitoneal administration. *Anticancer Drugs*. 1996;7:596–603.
20. Guardiola E, Chauffert B, Delroeu D, et al. Intraoperative chemotherapy with cisplatin and epinephrine after cytoreductive surgery in patients with recurrent ovarian cancer: a phase I study. *Anticancer Drugs*. 2010;21:320–325.
21. Elias D, Raynard B, Bonnay M, et al. Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin alone and in combination with intraperitoneal irinotecan: pharmacologic studies. *Eur J Surg Oncol*. 2006;32:607–613.
22. Ferron G, Dattéz S, Gladieff L, et al. Pharmacokinetics of heated intraperitoneal oxaliplatin. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2008;62:679–683.
23. Heldin CH, Rubin K, Pietras K, et al. High interstitial fluid pressure: an obstacle in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2004;4:806–813.
24. Gesson-Paute A, Ferron G, Thomas F, et al. Pharmacokinetics of oxaliplatin during open versus laparoscopically assisted heated intraoperative intraperitoneal chemotherapy (HIPEC): an experimental study. *Ann Surg Oncol*. 2008;15:339–344.
25. Thomas F, Ferron G, Gesson-Paute A, et al. Increased tissue diffusion of oxaliplatin during laparoscopically assisted versus open heated intraoperative intraperitoneal chemotherapy (HIPEC). *Ann Surg Oncol*. 2008;15: 3623–3624.
26. Ortega-Deballon P, Facy O, Laluc G, et al. Enquête sur le sentiment de sécurité du personnel en fonction de la technique de chimiohyperthermie intrapéritonéale. Etude comparative entre méthode ouverte et semi-ouverte. *J Visc Surg*. 2010;147:79–83.



RESEARCH

Open Access

High-pressure intrapleural chemotherapy: feasibility in the pig model

Olivier Facy^{1,2*}, Pierre-Benoit Pages³, Pablo Ortega-Deballon^{1,2}, Guy Magnin⁴, Sylvain Ladoire^{1,5}, Bernard Royer^{6,7}, Bruno Chauffert¹ and Alain Bernard³

Abstract

Background: The usual treatments for pleural malignancies are mostly palliative. In contrast, peritoneal malignancies are often treated with a curative intent by cytoreductive surgery and intraperitoneal chemotherapy. As pressure has been shown to increase antitumor efficacy, we applied the concept of high-pressure intracavitary chemotherapy to the pleural space in a swine model.

Methods: Cisplatin and gemcitabine were selected because of their antineoplastic efficacy *in vitro* in a wide spectrum of cancer cell lines. The pleural cavity of 21 pigs was filled with saline solution; haemodynamic and respiratory parameters were monitored. The pressure was increased to 15-25 cm H₂O. This treatment was associated with pneumonectomy in 6 pigs. Five pigs were treated with chemotherapy under pressure.

Results: The combination of gemcitabine (100 mg/l) and cisplatin (30 mg/l) was highly cytotoxic *in vitro*. The maximum tolerated pressure was 20 cm H₂O, due to haemodynamic failure. Pneumonectomy was not tolerated, either before or after pleural infusion. Five pigs survived intrapleural chemotherapy associating gemcitabine and cisplatin with 20 cm H₂O pressure for 60 min.

Conclusions: High-pressure intrapleural chemotherapy is feasible in pigs. Further experiments will establish the pharmacokinetics and determine whether the benefit already shown in the peritoneum is also obtained in the pleura.

Keywords: intrapleural intracavitary chemotherapy, pressure, pig model

Background

Malignant pleural effusion is a common evolution of many cancers, including breast, lung or ovarian cancer. Today pleural mesothelioma is more frequent due to occupational exposure to asbestos [1]. Whereas peritoneal carcinomatosis may be treated by cytoreductive surgery followed by intraperitoneal chemotherapy with curative intent, the treatment of malignant pleural effusion is generally purely palliative [2,3]. Chemical or physical pleural abrasion, pleurodesis with sclerosing agents or talc are palliative treatments usually administered with concomitant systemic chemotherapy. Their objective is to alleviate the dyspnea but not to sterilize the pleural tumor [4]. As the pleura has the same histology as the peritoneum, we hypothesized that isolated pleural

carcinomatosis could sometimes be treated with curative intent, as for the peritoneum, through the surgical resection of macroscopic malignant tissue associated with optimal intrapleural chemotherapy. Furthermore, this treatment may enhance local control of malignant pleural effusion. The major mechanism of failure for intracavitary chemotherapy is poor drug penetration into the depth of the tumor nodules and contaminated serous tissue [5]. We recently proposed increasing infusion pressure in the abdomen in order to enhance diffusion of the anticancer drug into the peritoneum [6]. The aim of the present study was to assess the set-up and the feasibility of high-pressure intrapleural chemotherapy for the treatment of pleural malignancies using a pig model. Due to their wide antitumor spectrum demonstrated by *in vitro* tests, we selected gemcitabine and cisplatin, and evaluated tolerance to this

* Correspondence: olivier.facy@chu-dijon.fr

¹INSERM Unit 866, Equipe Avenir, Dijon, France

Full list of author information is available at the end of the article



© 2012 Facy et al; licensee BioMed Central Ltd. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

combination of drugs when used for high-pressure intrapleural chemotherapy.

Methods

In vitro cytotoxicity assay

The antitumor activity of cisplatin and gemcitabine against human breast (T47, MCF7), lung (H348, H1650), colon (SW480, HCT116) and ovarian (OVCAR3, IGROV1) cancer cell lines was evaluated according to a quantitative clonogenic assay in order to choose the drug and the doses for further in vivo experiments [7]. The target was to kill at least 80% of these human cancer cells after a 60 min of in vitro treatment. Cells were obtained from ATCC (Rockville, MD) except for IGROV1 cells, which were a gift from Dr J. Benard [8]. Briefly, cancer cells were seeded at low density (50×10^4 /well) in 24-well tissue culture plates for 48 hours before 60 minutes of exposure to the drugs. The cells were cultivated again in a drug-free culture medium for 7 days. Surviving adherent cells were fixed with pure ethanol and stained with 1% crystal violet. After washing with water and dye elution with 33% acetic acid, the optical density (OD) was read at 550 nm on a spectrophotometer. Survival was calculated as the OD in treated wells compared with that in untreated control wells.

Animals

Before the experiment, 21 3-month-old large white female pigs, weighing 50-60 kg were allowed to acclimatize to the laboratory environment for 7 days with free access to standard food and water. The Animal Ethics Committee of the University of Burgundy, France approved the experiments (A0809).

Anesthesia

Anesthesia was induced by intramuscular injection of 1 g ketamine + 1 mg atropine then completed with intravenous ketamine and sufentanil until the endotracheal intubation, without selective bronchic intubation. The animals were maintained under anesthesia by isoflurane (1.5%), intravenous sufentanil and cisatracurium. The tidal volume was maintained between 500 and 600 ml with a frequency of 25/min, adapted to the oxygen blood saturation. The bladder was catheterized to measure urine output. Systolic systemic arterial blood pressure (SAP) was monitored through a catheter inserted into the brachial artery. The heart rate (HR), electrocardiogram, nasal temperature, oxygen blood saturation (OS), cardiac output (CO in l/min) and cardiac index (CI in l/min/m²) were measured using the NICO system (Novamatrix Medical Systems Inc., Wallingford, CT). Antibio prophylaxis with 2 g. of amoxicilline + clavulanic acid was given before the incision. Fluid resuscitation

was achieved with isotonic saline, Ringer lactate and gelatine solution (Plasmion, Fresenius Kabi France, Sèvres, France) according to cardiologic ultrasonography parameters. No vasoactive drugs were used. Tramadol and paracetamol were prescribed for postoperative analgesia.

Surgery

The anesthetized pigs were placed in the supine position. Two pleural catheters (Pleurocath[®], Prodimed, Plessis-Bouchard, France), one for infusion and one for pressure recording, were inserted into the pleural cavity through the 5th intercostal space. Saline solution was perfused by gravity in increasing steps until haemodynamic or respiratory intolerance was achieved. Six pigs underwent right pneumonectomy either before or after the pleural infusion. Right thoracotomy was performed in the 5th intercostal space with the animals lying in left lateral decubitus. The accessory bronchial branch to the right superior lobe, always present in pigs, was ligated. The right bronchial branch, the pulmonary vein and artery were then ligated and pneumonectomy was performed including the accessory inferior lobe. The thoracic wound was closed on a pleural catheter if postoperative infusion was scheduled. Surviving animals had a daily visit and were kept in licensed animal facilities for 30 postoperative days until they were killed with Dolethal[®] (Vetoquinol, France) and autopsied. Biological parameters (blood cell count, and serum levels of sodium, potassium and creatinine) were recorded before and after the surgery, and then on postoperative days 3, 7, 14 and 28.

Anticancer drugs

Cisplatin (Sigma-Aldrich, L'Isle d'Abeau, France) and gemcitabine (Lilly, Suresnes, France) were diluted in isotonic saline solution (9 g/l NaCl) at 100 mg/l and 30 mg/l respectively and warmed to 37°C.

Drug assay

Systemic blood and pleural liquid were sampled in five pigs at 0, 10, 20, 30, 40, 50 and 60 minutes after the beginning of the procedure. The samples were centrifuged and kept frozen at -20°C until the assays. The platinum concentration was measured by atomic absorption spectrometry (AAS) using a Zeeman atomic absorption spectrometer (Spectra-A; Varian, Les Ulis, France). Gemcitabine and 2,2-difluoro-2-deoxyuridine (dFdU) were assayed following the method described by Bowen et al [9]. Briefly, the serum was separated from whole blood samples and underwent protein precipitation by methanol after the addition of internal standards (13C and 15N isotopic gemcitabine and dFdU). Pleural liquid samples were simply diluted in distilled water.

These serum and pleural samples were then derivatized with dansyl chloride, and dansyl-derivatives were extracted with methyl tertiary-butyl ether, evaporated and dissolved in a mixture of acetonitril and water (25/75). The samples were then assayed using high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with Thermo Scientific tandem mass spectrometry. Chromatographic separation was performed using an Atlantis® column (3 µm, 100 × 2.1 mm - Waters, USA) and the transitions used were 497.0 → 111.9, 500.0 → 114.9, 498.1 → 236.9 and 501.0 → 115.8 for the dansyl-derivatives of gemcitabine, isotopic gemcitabine, dFdU and isotopic dFdU, respectively. This method yielded a quantification limit of 0.010 µg/ml and was linear over the range of the concentrations studied.

Results

Tolerance to intrapleural pressure

Two pigs (**animals 1 and 2**) underwent percutaneous pleural infusion into the left thorax. At a pressure of about 15 cm H₂O (11.5 mmHg), the mediastinal pleura broke in both pigs and the filled right pleural cavity was confirmed by ultrasonography and autopsy. Intrapleural pressure could not be maintained, haemodynamic parameters (systemic arterial pressure, cardiac output) failed and the animals died. Due to this fragility of the mediastinal pleura in the pig, further experiments were always performed on the right pleura (table 1).

Two pigs underwent a percutaneous procedure in the right thorax (**animals 3 and 4**). A pressure of 15 cm H₂O was well tolerated for 30 minutes, with slight haemodynamic modifications (SAP showed a 15% decrease, HR increased by 25%, OS and CO decreased by 10%). A sustained pressure of 20 cm H₂O (15.4 mmHg) on the pleura was obtained for 30 min or 60 min in 3 other animals (**5, 6 and 7**). This pressure was obtained in 1 hour by pleural filling with 4 l of isotonic saline solution. However, the fall in the systemic arterial pressure and cardiac output made it necessary to slow down the pleural inflow, mainly when a pleural pressure of 15 to 20 cm H₂O was reached. The slow infusion of a mean of 500 ml of additional saline was required to maintain pleural pressure at 20 cm H₂O. At this time of the procedure, the peak inspiratory pressure reached 45 cm H₂O. Increasing pleural pressure to 25 cm H₂O (20 mmHg) was tested in three animals (**8, 9 and 10**), but resulted in a decrease in systemic arterial pressure to below 40 mm Hg, and in the cardiac index to below 1.5 l/m²/min (table 2). Haemodynamic instability was associated with ECG signs of ischemia. In one animal, haemodynamic failure was reversible after emptying the pleural cavity but two other pigs died despite emptying, fluid resuscitation and cardiac massage.

Pleural pressure was then combined with pneumonectomy corresponding to the treatment of mesothelioma. Three pigs had lung resection followed by pleural

Table 1 Synthesis of methods and results of all animals treated.

Pig	Side	Pneumonectomy	Chemotherapy	Pressure (cmH ₂ O)/time (min)	Outcomes
1 2	Left	No	No	15/5	Left to right pleural filling
3 4	Right	No	No	15/30	Well tolerated
5 6	Right	No	No	20/30	Moderate haemodynamic changes
7	Right	No	No	20/60	
8	Right	No	No	25/5	Major but reversible haemodynamic instability
9 10	Right	No	No	25/5	Peroperative death
11	Right			15/15	Controlateral breach
12		Before infusion	No	20/5	Peroperative death
13				15/15	Major but reversible haemodynamic instability Postoperative death
14 15 16	Right	After infusion	No	20/40	Moderate haemodynamic changes Postoperative death
17 18 19 20 21	Right	No	Cisplatin (30 mg/l) Gemcitabin (100 mg/l)	20/60	Moderate haemodynamic changes No morbidity Pleurodesis

Moderate haemodynamic changes are defined as a decrease in arterial pressure and cardiac output requiring vascular resuscitation. When haemodynamic modifications persisted, they were major, and reversible if emptying saved the animal, or lethal if not.

Table 2 Mean and standard deviations of haemodynamic and respiratory parameters before (0 mmHg) and during infusion (15, 20 and 25 mmHg).

Intrapleural pressure	Heart Rate (/min)	Systolic Systemic Arterial Pressure (mmHg)	Cardiac Output (l/min)	Oxygen Saturation (%)	Ventilation pressure (cm H ₂ O)
0 cm H ₂ O	99.2 +/- 10.9	69.7 +/- 10.9	7.1 +/- 1	98.9 +/- 0.9	27.7 +/- 4.1
15 cm H ₂ O	124.5 +/- 5.6	59.8 +/- 9.3	6.3 +/- 0.9	90.1 +/- 0.7	35 +/- 3.2
20 cm H ₂ O	140.3 +/- 8.9	48.9 +/- 8.5	4.8 +/- 0.7	90.3 +/- 1	45.2 +/- 2.8
25 cm H ₂ O	158 +/- 7.3	40.2 +/- 4.5	2.8 +/- 0.6	86.2 +/- 2.3	49.8 +/- 3.8

infusion (11, 12 and 13). Severe haemodynamic, electric and ultrasonographic alterations occurred with 15 cm H₂O pleural pressure. The first pig presented right to left filling and died. The second pig also died when we attempted to increase the pressure to 20 cm H₂O. The third animal survived the operation (but the infusion had to be shortened to 15 minutes at a pressure of 15 cm H₂O), but died on the first post-operative day. Three animals had the reverse sequence, with the pleural infusion first, and then the right lung resection (14, 15 and 16). An intrapleural pressure of 20 cm H₂O was easily tolerated for 30 minutes after filling with a mean of 4 l of saline solution infused in dorsal decubitus. After emptying the pleura, the animals were placed on their left sides and pneumonectomy was performed. Despite immediate survival, the 3 animals died on the first post-operative day.

Selection of an active combination of drugs

Gemcitabine and cisplatin were tested alone or in combination with the target to kill at least 80% of various human cancer cells after 60 minutes of in vitro treatment (Figure 1). The objective was achieved with a combination of 100 mg/l gemcitabine and 30 mg/ml cisplatin for lung (H458, H1650) and breast (T47, MCF7) cancer cells but not for colon cancer cells (SW480, HCT116). Both ovarian cancer cell lines (OVCAR3 and IGROV1) were extremely sensitive to both drugs.

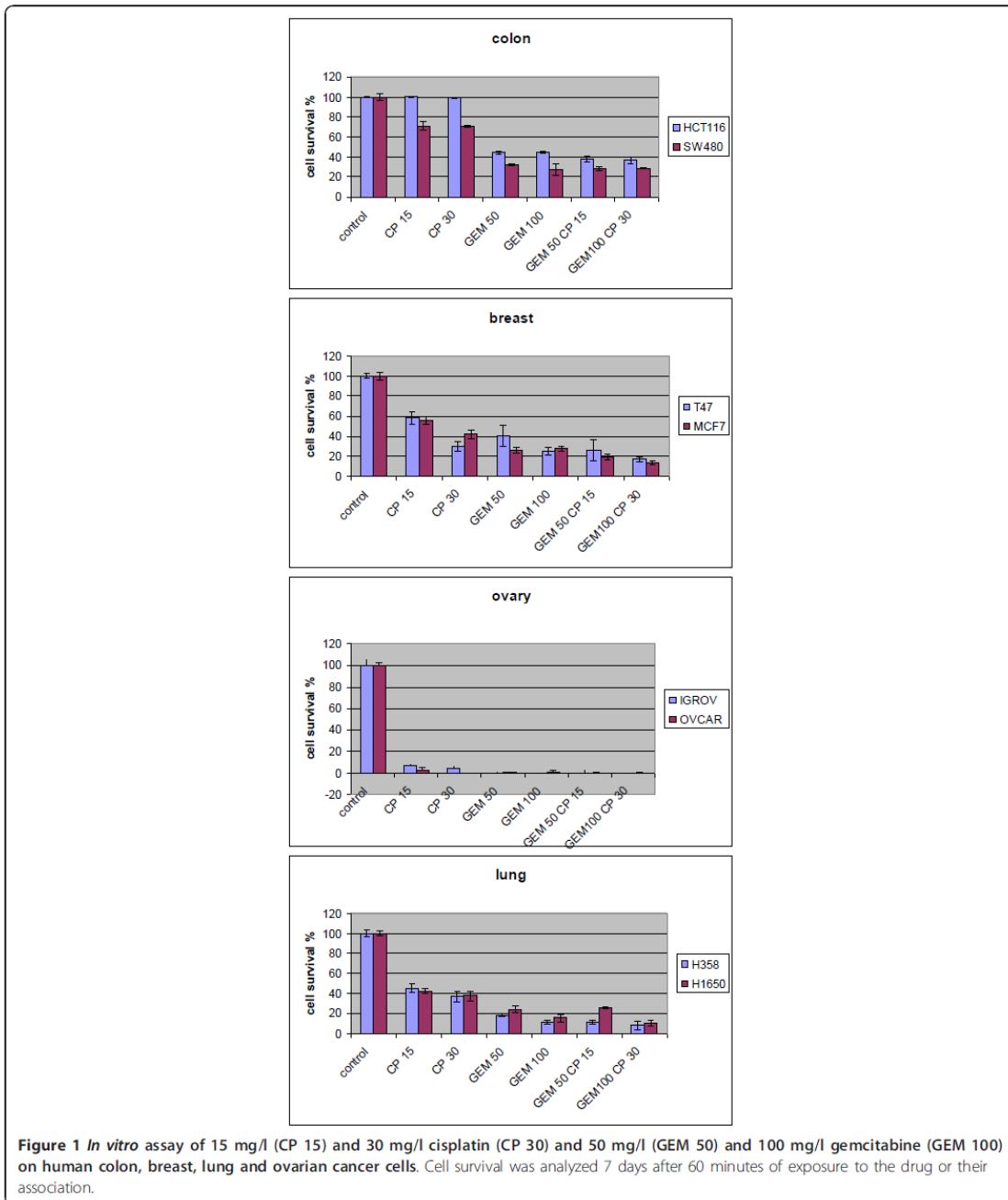
Tolerance to intrapleural chemotherapy with pressure

Intrapleural hyperpressure chemotherapy combining 30 mg/l cisplatin and 100 mg/l gemcitabine for 60 min was finally performed in 5 animals (17, 18, 19, 20 and 21). The intrapleural chemotherapy was well tolerated. A pressure of 20 cm H₂O was maintained for 40 (animal 17) or 60 min (animals 18, 19, 20 and 21). All of the animals survived with a normal clinical status, as well as normal blood cell count, creatinine and ionogram during the first month. At autopsy, tight pleurodesis was

observed, and pathological examination of pulmonary samples showed a normal parenchyma. Pharmacokinetic analysis showed a stable pleural concentration of cisplatin throughout the infusion with a low systemic concentration. In the same way, constant high levels of gemcitabine were achieved in the pleural cavity. Almost no gemcitabine was metabolized to dFdU. Systemic levels of both drugs were very low, less than 0.1% of the pleural infusion.

Discussion

Intrapleural chemotherapy has been used for a long time to treat malignant pleural effusion, but its efficacy is poor [10-15]. Some physical parameters, like hyperthermia, which is usually associated with intraperitoneal chemotherapy, are used to enhance drug uptake in cancer cells and cytotoxicity [13,14]. We previously demonstrated that increasing the abdominal pressure by filling the closed abdominal cavity resulted in the increased penetration of cisplatin into peritoneal tumor nodules and enhanced its antitumor activity in a murine model [6,16]. One of the known limits of anticancer drugs in intracavitary treatment is their poor penetration into tissues [5,17], due to the peritoneal barrier, which is histologically the same as the pleural barrier [18,19]. Extrinsic pressure could counterbalance the interstitial pressure, which is high in solid tumors (18 cm H₂O in breast cancer, 27 cm H₂O in cervical cancer, 23 to 41 cm H₂O for head and neck cancer, 47 cm H₂O in renal cancer, and 7 to 37 cm H₂O in melanoma xenografts) [20]. Moreover, increased pressure in the cavities counteracts the hydraulic capillary pressure, which limits the diffusion of anticancer drugs from the cavity into tumor nodules. A pressure of 50 cm H₂O (40 mm Hg) can easily be achieved for 2 hr in the abdomen of ventilated pigs after an average infusion of 8 l saline solution [6]. In non-ventilated rats, an abdominal pressure of only 26 cm H₂O (22 mm Hg) was achievable after infusion of an average of 120 ml in 300-350 g animals. Nevertheless, this low level of pressure resulted in a 3-fold



increase in platinum concentration in the tumour nodules compared with the same administration without hyperpressure. As a consequence, rats bearing millimetric peritoneal carcinomatosis were cured after

intraperitoneal cisplatin chemotherapy with pressure whereas rats which received conventional intraperitoneal injections were not [6]. This prompted us to assess the feasibility of pleural infusion with hyperpressure.

Intrapleural pressure is more difficult to achieve than abdominal pressure in pigs. In the present study, a pressure of 25 cm H₂O could not be reached in the right pleura of ventilated pigs. A lower level (20 cm H₂O) was well tolerated for up to 1 hr. The inspiratory plateau pressure, necessarily lower than 35 cm H₂O, was not measurable in our ventilation machine [21]. Nevertheless, the clinical tolerance was good despite a high peak inspiratory pressure. Performing lung biopsies at the end of the procedure and monitoring of ventilatory parameters (like plateau pressure) may increase the safety of this approach. A pressure of 20 cm H₂O was sufficient to at least double the concentration of platinum in peritoneal tumour nodules in rats (unpublished data). Pleural filling had to be slow (average 1 hour for 4 l). Monitoring of the pleural pressure made it possible to adapt filling to haemodynamic changes which appeared above 15 cm H₂O. Vascular filling was modified according to cardiac ultrasonography monitoring. In the case of major haemodynamic failure, quick pleural emptying made it possible to reverse the situation. Factors which limit pleural pressure appear to be related more to mediastinal compression (heart, aorta, vena cava) than to the contralateral lung compression. Poor tolerance to increased pressure in the pleural compartment is well known, whatever the cause (tension pneumothorax or liquid effusion). This is more related to haemodynamics than to oxygenation disturbances [22,23]. In our experience, the first two parameters that dropped were cardiac output and systemic arterial pressure, before the fall in blood oxygen saturation. We think that the best ways to enhance tolerance to this procedure are slow infusion and efficient vascular filling. These appear better than decreasing tidal volume and increasing ventilation frequency.

Despite the well-known similarities to humans in terms of anatomy and physiology, the pig model has some drawbacks. Like humans, pigs have two separate pleural cavities, while rats have a single pleural space. However the mediastinal separation is thin and fragile in the pig. As a consequence, filling the left pleura twice resulted in fluid leakage to the right through a mediastinal breach, which occurred at a pressure of only 15 cm H₂O. In contrast, filling the right pleura did not result in pleural breach. This is probably due to a protective effect of the median inferior lobe in the right pleural space. In humans, the separation between the right and left pleural compartments is thicker and the risk of leakage is probably similar after left or right infusion, given that any difference between the left or right pleura is not typical in clinical conditions, like hypertensive pneumothorax [23]. The second drawback is the poor tolerance of pigs to pneumonectomy, which is consistent with the findings of other authors [24]. Moreover the

thin mediastinal pleura must be carefully protected during right lung resection because of the risk of injury and leakage. In addition, haemodynamic tolerance to pleural filling was poor (15 cm H₂O was barely tolerated) when previous pneumonectomy had been performed. In contrast, initial pleural filling followed by pneumonectomy was tolerated just as well as in animals without lung resection. This is a major limit of the pig model for the preclinical evaluation of high-pressure intrapleural chemotherapy and lung resection as a treatment for mesothelioma. The thin mediastinal pleura and the poor tolerance to pneumonectomy explain the high mortality rate of our intrapleural chemotherapy setup (10/21). Nevertheless, all of the animals that underwent high-pressure intrapleural chemotherapy without lung resection survived the procedure. Another limitation is the lack of a model of pleural carcinomatosis in the pig, which could be used to evaluate the antitumor effect of high-pressure intrapleural chemotherapy. Models of malignant pleural effusion exist in rats, but rats have a single pleural space thus precluding high-pressure pleural infusion [15]. This experimental model is based on the similarities between the peritoneum and pleura, but the interest of high-pressure to increase the penetration of chemotherapy in pleura has to be proved in further studies, with tissue samples in the same way as in peritoneal studies [25].

Chemotherapy associating cisplatin and gemcitabine was well tolerated when diluted in 4 l of saline solution and maintained for 40 to 60 min in the right pleural cavity under a constant pressure of 20 cm H₂O. In this study, we selected cisplatin and gemcitabine for their rapid cytotoxic effect against a variety of human cell lines originating from cancers that frequently affect the pleura. Moreover, the cisplatin/gemcitabine combination is synergistic on lung cancer and mesothelioma [26,27]. We used 30 mg/l (120 mg for 4 l) cisplatin and 100 mg/l (400 mg for 4 l) gemcitabine for intrapleural chemotherapy in 50-60 kg pigs. These total doses are in the range of those used for intravenous administration in patients (i.e. 120 mg cisplatin and 1500 mg gemcitabine for a 60-kg patient treated for lung cancer). The metabolism of gemcitabine to inactive dFdU was negligible in the pleura, but greater in the blood (on average 30%). As a consequence of this low systemic diffusion, no intra-operative changes were recorded in chemotherapy-treated animals as compared to those which received drug-free saline in the pleural space. This low systemic diffusion is also of interest with regard to the absence of potential toxicity. Animals did well during the operation and until the autopsy 1 month later, without neurological, haematological, or renal toxicity. The pleural adhesions seen at the autopsy could be an advantage as they ensure solid pleurodesis and reduce the risk of recurrent

pleural effusion. Five pigs were necessary for this tolerance study given the good peri-operative tolerance of the drug-free filling group (3 pigs for the 20 cmH₂O level of pressure). Future studies to establish the pharmacokinetics of high-pressure intrapleural chemotherapy precisely (both in the blood and the tissue) at different levels of pressure will contribute to the next step of this research program.

Conclusion

This feasibility study reports for the first time the concept of high-pressure intrapleural chemotherapy. In pigs, this technique using cisplatin and gemcitabine was well tolerated in the absence of pneumonectomy at 20 cmH₂O. Given the similarity between the pleura and peritoneum, high-pressure could enhance the penetration of drugs with minimal systemic diffusion, but this needs to be assessed in further experiments.

Acknowledgements

This paper was supported by research grants from the French National League against Cancer, from the Regional Council of Burgundy and from the University Hospital of Dijon (France). We thank Philip Bastable for his help in revising the manuscript, and Olivier Eap and Philippe Pointaire for their kind help in the experiments.

Author details

¹INSERM Unit 866, Equipe Avenir, Dijon, France. ²Department of Digestive Surgical Oncology, University Hospital, Dijon, France. ³Department of Thoracic Surgery, University Hospital, Dijon, France. ⁴Department of Anaesthesiology, University Hospital, Dijon, France. ⁵GF Leclerc Regional Anticancer Center, Dijon, France. ⁶Laboratory of Clinical Pharmacology, University Hospital, Besançon, France. ⁷INSERM, UMR645, Besançon, France.

Authors' contributions

OF performed the experiments and drafted the manuscript. PBP performed the experiments. POD participated in the design of the study (in vivo) and performed the statistical analysis. GM participated in the experiments (haemodynamic parameters). BR performed the assay. SL participated in the design of the study (in vitro). BC and AB conceived the study, and participated in its design and coordination. All authors read and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 28 December 2011 Accepted: 6 February 2012
Published: 6 February 2012

References

- Martin-Ucar AE, Nakas A, Edwards J, Waller DA: Case-control study between extrapleural pneumonectomy and radical pleurectomy/decortication for pathological N2 malignant pleural mesothelioma. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007, **31**:765-70.
- Glehen O, Kwiatkowski F, Sugarbaker PH, Elias D, Levine EA, De Simone M, Barone R, Yonemura Y, Cavaliere F, Quenet F, Gutman M, Tentes AA, Lorimier G, Bernard JL, Bereder JM, Porcheron J, Gomez-Portilla A, Shen P, Deraco M, Rat P: Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a multi-institutional study. *J Clin Oncol* 2004, **22**:3284-92.
- Verwaal VJ, van Ruth S, de Bree E, van Sloothen GW, van Tinteren H, Boot H, Zoetmulder FA: Randomized trial of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy and palliative surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2003, **21**:3737-43.
- Stathopoulos GT, Moschos C, Loutrari H, Kollintza A, Psallidas I, Karabela S, Magkouta S, Zhou Z, Papiiris SA, Roussos C, Kalomenidis I: Zoledronic acid is effective against experimental malignant pleural effusion. *Am J Respir Crit Care Med* 2008, **178**:50-9.
- Los G, Mutsaers PH, Lenglet WJ, Baldew GS, McVie JG: Platinum distribution in intraperitoneal tumors after intraperitoneal cisplatin treatment. *Cancer Chemother Pharmacol* 1990, **25**:389-94.
- Esquis P, Consolo D, Magnin G, Pointaire P, Moretto P, Ynsa MD, Beltramo JL, Drogoul C, Simonet M, Benoit L, Rat P, Chauffert B: High intra-abdominal pressure enhances the penetration and antitumor effect of intraperitoneal cisplatin on experimental peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg* 2006, **244**:106-12.
- Ortega-Deballon P, Facy O, Consolo D, Magnin G, Tixier H, Simonet M, Rat P, Chauffert B: Hypoxic single-pass isolated hepatic perfusion of hypotonic cisplatin: safety study in the pig. *Ann Surg Oncol* 2010, **17**:898-906.
- Teyssier JR, Bénard J, Ferre D, Da Silva J, Renaud L: Drug-related chromosomal changes in chemoresistant human ovarian carcinoma cells. *Cancer Genet Cytogenet* 1989, **39**:35-43.
- Bowen C, Wang S, Licea-Perez H: Development of a sensitive and selective LC-MS/MS method for simultaneous determination of gemcitabine and 2,2-difluoro-2-deoxyuridine in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009, **877**:2123-9.
- Ohta Y, Shimizu Y, Matsumoto I, Watanabe G: Management of malignant pleural effusion by multimodality treatment including the use of paclitaxel administered by 24-hour intrathoracic infusion for patients with carcinomatous pleuritis. *J Exp Clin Cancer Res* 2006, **25**:15-9.
- Peng RP, Wu MF, Lin SY, Chen YM, Lin JY, Whang-Peng J: A phase I feasibility and pharmacokinetic study of intrapleural paclitaxel in patients with malignant pleural effusions. *Anticancer Drugs* 1997, **8**:565-73.
- Van der Speeten K, Stuart OA, Mahteme H, Sugarbaker PH: A pharmacologic analysis of intraoperative intracavitary cancer chemotherapy with doxorubicin. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009, **63**:799-805.
- Verschraegen CF: Intracavitary therapies for mesothelioma. *Curr Treat Options Oncol* 2001, **2**:385-94.
- de Bree E, van Ruth S, Baas P, Rutgers EJ, van Zandwijk N, Witkamp AJ, Zoetmulder FA: Cytoreductive surgery and intraoperative hyperthermic intrathoracic chemotherapy in patients with malignant pleural mesothelioma or pleural metastases of thymoma. *Chest* 2002, **121**:480-7.
- Lardinois D, Jung FJ, Opitz I, Rentsch K, Latkoczy C, Vuong V, Varga Z, Rousson V, Günther D, Bodis S, Stahel R, Weder W: Intrapleural topical application of cisplatin with the surgical carrier Vivostat increases the local drug concentration in an immune-competent rat model with malignant pleuromesothelioma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006, **131**:697-703.
- Jacquet P, Stuart OA, Chang D, Sugarbaker PH: Effects of intra-abdominal pressure on pharmacokinetics and tissue distribution of doxorubicin after intraperitoneal administration. *Anticancer Drugs* 1996, **7**:596-603.
- Dedrick RL, Myers CE, Bungay PM, DeVita VT Jr: Pharmacokinetic rationale for peritoneal drug administration in the treatment of ovarian cancer. *Cancer Treat Rep* 1978, **62**:1-11.
- Jacquet P, Sugarbaker PH: Peritoneal-plasma barrier. *Cancer Treat Res* 1996, **82**:53-63.
- Chang MY, Sugarbaker DJ: Innovative therapies: intraoperative intracavitary chemotherapy. *Thorac Surg Clin* 2004, **14**:549-56.
- Heldin CH, Rubin K, Pietras K, Ostman A: High interstitial fluid pressure: an obstacle in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004, **4**:806-13.
- Hager DN, Krishnan JA, Hayden DL, Brower RG, ARDS Clinical Trials Network: Tidal volume reduction in patients with acute lung injury when plateau pressures are not high. *Am J Respir Crit Care Med* 2005, **172**:1241-5.
- Barton ED, Rhee P, Hutton KC, Rosen P: The pathophysiology of tension pneumothorax in ventilated swine. *J Emerg Med* 1997, **15**:147-53.
- Leigh-Smith S, Harris T: Tension pneumothorax - Time for a re-think? *Emerg Med J* 2005, **22**:8-16.
- Iglesias M, Jungebluth P, Petit C, Matute MP, Rovira I, Martínez E, Catalan M, Ramirez J, Macchiarini P: Extracorporeal lung membrane provides better lung protection than conventional treatment for severe

- postpneumonectomy noncardiogenic acute respiratory distress syndrome. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008, **135**:1362-71.
25. Ortega-Deballon P, Facy O, Jambet S, Magnin G, Cotte E, Beltramo JL, Chauffert B, Rat P: **Which method to deliver heated intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin? An experimental comparison of open and closed techniques.** *Ann Surg Oncol* 2010, **17**:1957-63.
 26. Blanco R, Solé J, Montesinos J, Mesía C, Algara M, Terrasa J, Gay M, Domenech M, Bastus R, Bover I, Nogué M, Vadell C, ACROSS: **Induction chemotherapy with cisplatin and gemcitabine followed by concurrent chemoradiation with twice-weekly gemcitabine in unresectable stage III non-small cell lung cancer: final results of a phase II study.** *Lung Cancer* 2008, **62**:62-71.
 27. Opitz I, Lardinois D, Arni S, Hillinger S, Vogt P, Odematt B, Rousson V, Weder W: **Local recurrence model of malignant pleural mesothelioma for investigation of intrapleural treatment.** *Eur J Cardiothorac Surg* 2007, **31**:773-8.

doi:10.1186/1477-7819-10-29

Cite this article as: Facy et al.: High-pressure intrapleural chemotherapy: feasibility in the pig model. *World Journal of Surgical Oncology* 2012 **10**:29.

OPTIMISATION DES TECHNIQUES DE CHIMIOThERAPIE INTRACAVITAIRE

AUTEUR : Olivier Facy

Introduction. L'efficacité de la chimiothérapie intracavitaire dépend de la pénétration du produit au sein du péritoine (CHIP) ou de la plèvre. L'hyperthermie et l'hyperpression peuvent augmenter cette pénétration. Ce travail étudie leur effet intrapéritonéal, puis établit la méthode optimale pour les délivrer. L'étude de la faisabilité et de la tolérance d'une hyperpression intrapleurale est essentielle pour transposer ces bénéfices à la cavité thoracique.

Méthodes. Quatre groupes de porcs ont reçu une CHIP ouverte avec de l'oxaliplatine à une concentration constante (150 mg/l) pendant 30 minutes en normothermie ou hyperthermie (42-43°C) ; et en pression atmosphérique ou hyperpression (25 cmH₂O). Deux groupes ont reçu une procédure fermée en hyperthermie et hyperpression ou forte hyperpression (40 cmH₂O). L'absorption systémique et tissulaire d'oxaliplatine a été étudiée. La tolérance d'une perfusion pleurale a été étudiée chez 21 porcs avec ou sans résection associée, avec ou sans chimiothérapie (cisplatine + gemcitabine), à divers niveaux de pression de 15 à 25 cmH₂O.

Résultats. L'hyperthermie augmente les concentrations de platine dans les surfaces viscérales (p=0.0014), alors que l'hyperpression l'augmente dans les surfaces viscérales et pariétales (respectivement p= 0.0058 et p= 0.0044). L'association des deux facteurs permet d'obtenir les concentrations les plus importantes dans le péritoine viscéral (p= 0.00001) et pariétal (p= 0.0003). Les concentrations obtenues lors des procédures fermées sont inférieures à celles obtenues en ouvert, même lorsque la pression atteint 40 cmH₂O. Une chimiothérapie intrapleurale à 20 cmH₂O sans résection associée est le niveau maximal toléré durant 60 minutes.

Conclusion. Au cours d'une CHIP, l'hyperthermie augmente la pénétration d'oxaliplatine dans le péritoine viscéral, alors que l'hyperpression est efficace dans le péritoine viscéral et pariétal. Leur association est synergique et la procédure ouverte semble la meilleure pour la délivrer. Une chimiothérapie intrapleurale est faisable à 20 cmH₂O dans ce modèle.

MOTS CLES: CHIP, hyperthermie, hyperpression, carcinose péritonéale, carcinose pleurale