

УДК 543:615.2

ОЦЕНКА ТКАНЕВОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПЛАТИНЫ МЕТОДОМ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Колпакова Н.А.¹, Смышляева Е.А.¹, Завьялов А.А.², Добродеев А.Ю.²,
Тузиков С.А.², Антипов С.А.²

¹Томский политехнический университет; ²НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН, Томск

Методом инверсионной вольтамперометрии изучено распределение платины по биологическим тканям у больных раком легкого III стадии, получавших цисплатину в качестве радиосенсибилизатора для усиления лучевого воздействия при проведении интраоперационной лучевой терапии. Максимальная концентрация платины была определена в опухолевой ткани (29.9 мг/кг), в сравнении с регионарными лимфатическими узлами (3.7 мг/кг), легочной тканью (1.7 мг/кг) и периферической кровью (0.8 мг/кг).

Одной из важных проблем современной онкологии является лечение рака легкого, так как в последнее время наблюдается резкое нарастание заболеваемости и смертности от этого заболевания в большинстве промышленно развитых стран. В настоящее время рак легкого прочно занял лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости населения планеты. Наряду с ростом заболеваемости отмечено увеличение частоты смертности при раке данной локализации [4]. Ежегодно от рака легкого в мире умирает около 1 миллиона человек [8].

Основным методом лечения рака легкого остается хирургический, который является методом выбора при I – II стадиях заболевания, но у 60 – 70 % больных диагностируется III стадия процесса, когда чисто хирургическое лечение носит условно-радикальный характер.

В связи с этим разработка новых и усовершенствование уже имеющихся методов комбинированного лечения злокачественных новообразований является одной из актуальнейших проблем современной онкологии. Сочетание хирургического лечения с лучевой терапией позволяет существенно улучшить отдаленные результаты лечения рака легкого [9,10].

В последнее время при раке легкого используется метод интраоперационной лучевой терапии (ИОЛТ), позволяющий подвести эффективную однократную дозу облучения непосредственно на зоны регионарного метастазирования [5]. Совершенствование метода интраоперационной лучевой терапии может быть связано с увеличением разовой дозы облучения. Однако это неизбежно приведет к увеличению числа послеоперационных осложнений и летальности, что полностью будет нивелировать положительный эффект высокой однократной дозы облучения. Экспериментальными работами было показано, что оптимальной однократной дозой облучения при раке легкого является 15 – 20 Гр., так как более высокие дозы облучения вызывают необратимые патоморфологические изменения в тканях легкого и органах средостения [11].

Более перспективным подходом повышения эффективности лучевой терапии является использование радиосенсибилизаторов. Этот вопрос обсуждается на протяжении многих лет и в настоящее время сформулирован как проблема управления радиочувствительностью или более точно – управление тканевыми реакциями на облучение.

С точки зрения клинической радиобиологии, радиосенсибилизация вне зависимости от действия модифицирующего агента (до или после облучения), а также от наличия или отсутствия его собственного цитотоксического эффекта вызывает усиление действия лучевой терапии [3].

По мере изучения препаратов платины выяснилось многообразие механизмов их действия: кроме непосредственного токсического влияния на опухоль они ингибируют репарацию суб- и потенциально летальных лучевых повреждений, тем самым, повышая степень резорбции опухоли, при чем для этого необходимы дозы значительно меньшие, чем терапевтические [1].

Установлено, что комплексы платины проникают в ядро опухолевой клетки и ингибируют синтез ДНК, в основном за счет внутринитчатого сшивания ДНК. При облучении ионизирующим излучением фрагмента ДНК, содержащего атом платины, наблюдается расщепление ДНК в местах локализации атома платины. Разрыв цепей ДНК связан с селективным поглощением ионизирующего излучения атомами платины. Как известно, ионизирующее излучение поглощается веществом в результате фотоэффекта на внутренних оболочках атомов, входящих в состав молекул вещества. Вероятность захвата фотонов атомами платины в 20- 200 (в случае резонансного поглощения на L- уровне) раз превышает вероятность захвата атомами H, C, N, O, P. Следовательно, практически вся поглощенная молекулой энергия фотона выделяется на атоме платины. В результате фотоэффекта атом платины переходит в высокоэнергетическое состояние с “дыркой” на L-уровне. Заполнение этого уровня сопровождается эмиссией нескольких оже-электронов с внешних орбиталей атома платины и приводит к образованию много-

зарядного положительного иона Pt^{n+} . Локальный радиолит оже-электронами и реакции нейтрализации положительного заряда приводят в конечном итоге к разрыву, повреждению 2-й спирали ДНК и, как результат, к гибели опухолевой клетки [2].

Реализация радиосенсибилизирующего эффекта цисплатина на прямую зависит от концентрации препарата в опухолевой ткани в зоне облучения в момент ИОЛТ, что обеспечивает усиление повреждающего действия лучевой терапии на опухолевые клетки без существенного воздействия на нормальные.

Целью данного исследования являлось инверсионно-вольтамперометрическое изучение степени накопления платины, вводимой в виде препарата цисплатин в качестве радиосенсибилизатора, в биологических тканях у больных раком легкого во время сеанса интраоперационного облучения.

Цисплатин вводился по разработанной нами схеме внутривенно капельно 3-хкратно: ежедневно за 2 дня до операции и в день операции за 2 часа до облучения в дозе 6 мг/м^2 . Выполнялась радикальная операция (в объеме пневмонэктомии или лобэктомии) и ИОЛТ в разовой очаговой дозе 15 Гр на зоны регионарного метастазирования. При пневмонэктомии в зону облучения включались: трахеобронхиальный угол, зона нижних бифуркационных лимфоузлов, паратрахеальная и паравенозная клетчатка. В случае удаления доли легкого в зону облучения дополнительно включалась прикорневая часть оставшейся доли с находящимися в ней бронхопульмональными лимфоузлами при верхней лобэктомии и ретроперикардальная зона при локализации опухоли в нижней доле. Забор исследуемых биологических тканей проводился непосредственно после ИОЛТ.

Объектами исследования служили образцы опухоли, регионарных лимфатических узлов, перифери-

ческой крови и легочной ткани у больных раком легкого III стадии.

Инверсионно-вольтамперометрическое исследование образцов на содержание платины проводили с использованием вольтамперометрического анализатора СТА (ООО "ИТМ" г. Томск) в комплекте с IBM. Для анализа использовали трехэлектродную ячейку, в которой рабочий электрод представляет собой импрегнированный полиэтиленом ртутно-графитовый электрод (РГЭ), работающий в режиме "in situ". Электродом сравнения служил насыщенный хлорид-серебряный электрод, вспомогательным – графитовый стержень диаметром 0.2–0.5 см. Все измерения проводили в фоне 1 М HCl, который готовили разбавлением 6 М HCl бидистиллятом. Основные растворы, используемые для оценки содержания платины в пробе, готовили в 3 М HCl из стандартных образцов платины. Стандартный раствор ртути (II) с концентрацией 1.3 мг/л готовили из соли $Hg(NO_3)_2 \cdot H_2O$.

Известно, что инверсионно-вольтамперометрическое определение платины в хлоридных растворах на графитовом электроде возможно только при электроосаждении осадка в присутствии постороннего металла [6,7]. Поэтому электроконцентрирование платины на поверхность графитового электрода осуществляли при потенциале электролиза $E = -0.8 \text{ В}$ совместно с электроконцентрированием ртути. Время накопления варьировалось в зависимости от содержания платины (IV) в анализируемой пробе.

На рис. 1. представлена анодная инверсионная вольтамперограмма электроокисления осадка платина-ртуть с поверхности РГЭ. Пик при $E = +0.15 \text{ В}$ соответствует процессу окисления фазовой ртути с поверхности графитового электрода, а величина пика при $E = +0.35 \text{ В}$ пропорциональна концентрации платины (IV) в анализируемом растворе.

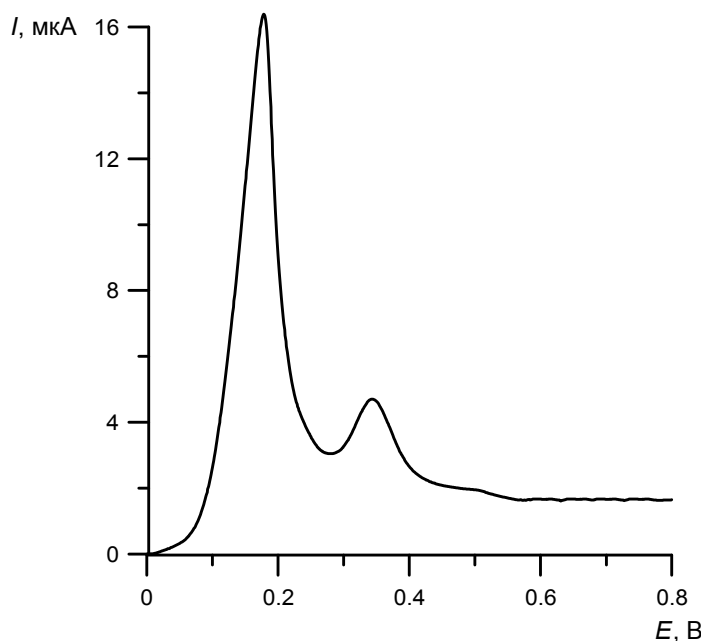


Рис. 1. Вольтамперная кривая электроокисления осадка Pt-Hg с поверхности РГЭ. Потенциал электролиза $E_0 = -0.8 \text{ В}$. Время накопления 120 с. $C_{Pt} = 0.08 \text{ мг/л}$

Для инверсионно-вольтамперометрического определения платины необходимо перевести анализируемый образец в раствор. Для этого навеску анализируемой пробы высушивали до постоянной массы. Затем пробу обрабатывали 3.0 мл перегнанной HNO_3 . Повторную обработку пробы проводили смесью 2.0 мл HNO_3 и 1.0 H_2O_2 . Раствор выпаривали при 80°C досуха, после чего пробу прокалывали в муфеле при $T \approx 300^\circ\text{C}$. Обрабатывали пробу H_2O_2 до полного удаления угольных включений. Если зола была неоднородна, повторно обрабатывали смесью HNO_3 и H_2O_2 . В случае ее однородности, осадок охлаждали до комнатной температуры, растворяли в

2.0 мл смеси HNO_3 и H_2O_2 (1:3), выпаривали, обрабатывали перегнанной HCl при нагревании до $70-80^\circ\text{C}$ и выпаривали до влажных солей. Из подготовленного по такой методике образца платина переходит в форму PtCl_6^{2-} , идентичную форме нахождения платины в стандартном растворе.

Приготовленную пробу перед анализом разбавляли до 10 мл раствором 1 М HCl . Из полученного минерализата для определения платины отбирали аликвоту, объемом 1.0–3.0 мл.

Концентрацию платины (IV) в анализируемом объекте определяли методом стандартных добавок (Рис. 2).

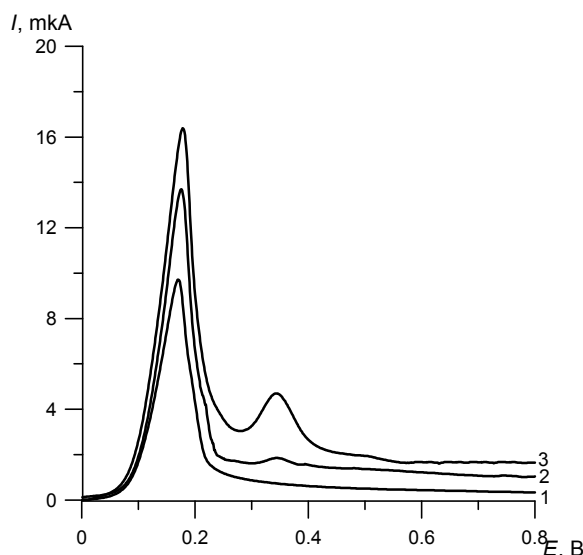


Рис. 2. Пример вольтамперограммы холостого определения (1), пробы (2) и добавки (3). Потенциал электролиза $E_0 = -0.8 \text{ В}$. Время накопления 120 с.

Анализ объектов исследования показал, что при внутривенном введении цисплатина наибольшая концентрация содержалась в опухолевой ткани ($29.9 \pm 0.081 \text{ мг/кг}$), затем в регионарных лимфатических узлах ($3.7 \pm 0.247 \text{ мг/кг}$) и наименьшее количество в легочной ткани ($1.7 \pm 0.117 \text{ мг/кг}$) и периферической крови ($0.8 \pm 0.086 \text{ мг/кг}$).

Высокая концентрация цисплатина в первичной опухоли и лимфатических узлах, которые так же поражены опухолевым процессом, объясняется тропностью данного препарата к опухолевым клеткам, в отличие от здоровых тканей (легочной паренхимы) и крови, минимальная концентрация платины в которой обусловлена особенностями фармакокинетики цисплатина в организме больного в момент проведения сеанса ИОЛТ.

Полученные результаты содержания платины позволяют подтвердить предположение о правильности разработанной схемы внутривенного введения цисплатина, которая обеспечивает адресное поступление радиосенсибилизатора в опухоль и позволяет добиться максимального насыщения препаратом опухолевых клеток, в сравнении с легочной тканью и кровью. Это позволяет усилить лучевое воздействие интраоперационной лучевой терапии на зоны регионарного метастазирования, и таким образом улучшить результаты комбинированного лечения за счет со-

кращения количества локорегионарных рецидивов и увеличения продолжительности безрецидивного периода.

Литература

1. Антипов С. А. Применение цисплатина с интраоперационным облучением в комбинированном лечении рака желудка: Автореф. дис. канд. мед. наук.-Томск, 2000.- 26 с.
2. Гроховский С. Л., Зубарев В. Е. Специфическое расщепление 2-х спиральной ДНК, индуцированное ионизацией атома платины рентгеновским облучением // Доклады Академии наук СССР.- 1990.- Т. 313.- № 6. С. 1500- 1504.
3. Дарьялова С. Л. и др. Использование противоопухолевых препаратов в качестве модификаторов реакции злокачественных опухолей на лучевую терапию // Современные тенденции развития лекарственной терапии опухолей. М., 1998.- С. 76.
4. Двойрин В. В., Аксель Е. М., Герасименко В. Н. Состояние онкологической помощи населению России и некоторых других стран СНГ в 1993 году // М., ОНЦ РАМН.- 1994.- 126 с.
5. Зырянов Б. Н., Афанасьев С. Г., Завьялов А. А., Мусабаева Л. И. Интраоперационная лучевая терапия.-Томск: Изд-во STT,- 1999.- 277 с.

6. Колпакова Н.А., Немова Н.Н., Стромберг А.Г. // Журн. анал. химии. 1971. Т.26. №6. С.1217.
7. Колпакова Н.А., Шифрис Б.С., Швец Л.А., Кропоткина С.В. // Журн. анал. химии. 1991. Т.46. №10. С.1910.
8. Отчет о состоянии здравоохранения в мире. 1995 год: ликвидация разрывов // Всемирный форум здравоохранения. ВОЗ.- Женева.- 1995.- Т. 16.- № 4.- С. 44- 54.
9. Харченко В. П., Чхиквадзе В. Д., Галил-Оглы Г. А. и др. Рак легкого: 30- летний опыт хирургического и комбинированного лечения. // Вопросы онкологии.- 1999.- Т. 45.- № 1.- С. 72- 76.
10. Харченко В. П., Чхиквадзе В. Д., Галил-Оглы Г. А. и др. Лечение рака легкого. // Вопросы онкологии.- 1999.- Т. 45.- № 2.- С. 184- 187.
11. de Boer W.J., Mehta D.M., Hoekstra H.J. The short and long term effects of intraoperative electron beam radiotherapy (IORT) on thoracic organs after pneumonectomy an experimental study in the canine model. // Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1999, Sep 1, p. 501.

Estimation of fabric distribution of platinum by a method of inverse voltamperometry at onkological of the patients

Kolpakova N.A., Smyishlyeva E.A., Zavalov A.A., Dobrodeev A.Yu., Tuzikov S.A., Antipov S.A.

Feasibility of determining the platinum content in biological tissues of lung cancer patients by the method of inverse voltamperometry was studied. The highest cisplatin concentration was observed in tumor tissues (29.9 mg/kg) compared with regional lymphatic nodes (3.7 mg/kg)? lung tissue (1.7 mg/kg) and peripheral blood (0.8 mg/kg). The data obtained allowed one to use cisplatin as a radiosensitizer for radiation enhancement intraoperative radiation therapy in patients with stage III lung cancer.