

创伤本身可引起血-脑脊液屏障完整性的破坏,提高药物的通透性^[2]。本研究通过观察手术创伤对顺铂通过血-脑脊液屏障的影响,探讨术中使用化学治疗药物治疗脑胶质瘤的可行性和安全性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2009年6月至2011年6月在安阳市人民医院进行手术治疗的脑胶质瘤患者,病例纳入标准:(1)影像学证实的幕上首发或复发脑胶质瘤,必要时行术中冰冻切片病理检查;(2)无严重心、肝、肾功能异常,无严重消瘦或已出现恶病质;(3)血常规检查正常,白细胞计数 $\geq 3 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$,血小板计数 $\geq 70 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$;(4)Karnofsky评分 > 60 分;(5)预期生存期 > 3 个月;(6)年龄18~70岁,未合并其他恶性肿瘤,女性为非孕妇或非哺乳期;(7)术前知情同意并签署化学治疗同意书。共纳入脑胶质瘤患者24例,根据治疗方法分为术前给药组和术中给药组,每组12例。术前给药组:男5例,女7例,年龄29~68岁,平均 (41.8 ± 3.2) 岁;术中给药组:男6例,女6例,年龄32~69岁,平均 (42.0 ± 2.9) 岁。2组患者性别、年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经过医院伦理委员会批准。

1.2 药物、试剂与仪器 注射用顺铂(山东齐鲁制药有限公司,国药准字H37021357),氯化镍(天津科密欧生物公司),二乙基二硫代氨基甲酸酯(diethyldithiocarbamate, DDTC)(天津科密欧生物公司),210型高效液相色谱仪、325紫外检测器、数据处理工作站(美国Varian Prostar),JY-92超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.3 治疗方法 化学治疗方案:顺铂 $30 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$,第1~3天静脉注射,每28d为1个周期,共3个周期。术前给药组患者于麻醉开始时静脉泵入顺铂 $30 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$,持续时间为30min,泵入顺铂结束后30min打开硬脑膜,取血浆、肿瘤组织、肿瘤周围组织及脑脊液标本。术中给药组:切硬脑膜同时静脉泵入顺铂 $30 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$,持续时间为30min,于泵入顺铂结束后30min、肿瘤全切除前,取血浆、肿瘤组织、肿瘤周围组织及脑脊液标本。

1.4 标本采集与处理

1.4.1 血液标本 2组患者在泵入顺铂结束后30min采集外周静脉血3mL,立即置于 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的高速离心机中离心10min,取上清液1mL,于液氮罐中保存备测;所采集的血液标本要避免溶血。

1.4.2 脑脊液标本 2组患者在泵入顺铂结束后30min,根据肿瘤部位,穿刺侧脑室,引流出2mL无血液污染的清亮脑脊液(引流脑脊液同时具有降低

颅内压的作用)。要求1次穿刺成功,不能有血液混入脑脊液,否则会严重影响实验结果。

1.4.3 肿瘤及其周围组织标本 2组患者在泵入顺铂结束后30min,手术取肿瘤组织和肿瘤周围组织(非功能区瘤旁2cm内),纱布吸尽脑组织表面血渍,称取约1.0g,于液氮罐中保存备测。

1.5 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)检测标本中顺铂质量浓度

1.5.1 色谱条件 Varian Microsorb-MV-C18色谱柱(250mm \times 4.6mm,5 μm),柱温40 $^{\circ}\text{C}$ 。紫外检测波长:254nm,流动相:甲醇:水=72:28,流速:1.2mL \cdot min $^{-1}$;进样量:10 μL 。

1.5.2 血浆中顺铂质量浓度检测 于10mL有塞试管内加入待测血浆样本500 μL ,0.06mol \cdot L $^{-1}$ Na₂CO₃溶液500 μL ,涡旋混匀,加入内标液(10.0mg \cdot L $^{-1}$ NiCl₂水溶液)40 μL ,新配制的质量分数为0.5%DDTC溶液(DDTC溶于0.1mol \cdot L $^{-1}$ NaOH)100 μL ,涡旋混匀,于37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温衍生反应30min,冷却至室温,加入乙醚2mL萃取,3000r \cdot min $^{-1}$ 离心5min,吸取乙醚液置于另一试管中,37 $^{\circ}\text{C}$ 氮气流吹干,残渣溶于200 μL 氯仿中,取10 μL 进样,进行HPLC样品内标法分析。

1.5.3 肿瘤及其周围组织中顺铂质量浓度检测 组织样本准确称取0.8g,反复冻融3次使细胞破裂,加入800 μL 生理盐水,超声波匀浆,3000r \cdot min $^{-1}$ 离心5min后取上清液,后续过程同血浆样本处理。

1.5.4 脑脊液中顺铂质量浓度检测 检测步骤同血浆样本方法。

1.6 药物毒副作用评价 在第1个治疗周期后,观察2组患者的不良反应发生情况。

1.7 统计学处理 应用SPSS 13.0软件进行统计分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用两独立样本 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 2组患者标本中顺铂质量浓度比较 结果见表1。2组患者血浆和肿瘤组织中顺铂质量浓度比较差异均无统计学意义($P > 0.05$);术中给药组患者脑脊液和肿瘤周围组织中顺铂质量浓度显著高于术前给药组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 2组患者不良反应比较 术前给药组患者发生骨髓抑制1例,恶心、呕吐3例,不良反应发生率为33.3%;术中给药组患者发生骨髓抑制1例,恶心、呕吐2例,不良反应发生率为25.0%,2组患者不良反

应发生率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 2组患者给药30 min后血浆、脑脊液、肿瘤及肿瘤周围组织中顺铂质量浓度比较

Tab. 1 Comparison of mass concentration of cisplatin in plasma, cerebrospinal fluid, tumor tissues and peritumoral tissues after 30 minutes of medication between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	血浆/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	脑脊液/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	肿瘤组织/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	肿瘤周围组织/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
术前给药组	12	4.39 ± 0.71	0.39 ± 0.03	1.05 ± 0.18	1.06 ± 0.08
术中给药组	12	4.03 ± 0.72	0.48 ± 0.06	1.14 ± 0.20	1.16 ± 0.12
<i>t</i>		1.191	4.130	1.215	2.561
<i>P</i>		>0.05	<0.05	>0.05	<0.05

3 讨论

化学治疗是颅内肿瘤重要的辅助治疗手段,然而,许多脑肿瘤的血-脑脊液屏障是完整的,约30%的星形胶质细胞瘤患者脑增强磁共振或CT扫描可不出现增强效应^[3],95%以上的药物无法透过完整的血-脑脊液屏障而达到有效的治疗浓度^[4]。目前可逆性开放血-脑脊液屏障的方法较多,如利用高渗透性、血管活性物质、具有芳香开窍作用的中药等开放血-脑脊液屏障,但这些方法存在对病灶无治疗作用、不利于长期用药等缺点。研究认为,在脑肿瘤化学治疗中开放血-脑脊液屏障,其治疗有效率达54%~81%^[5]。多年来临床应用甘露醇破坏血-脑脊液屏障,但其作用至今还未被Ⅲ期研究证实^[6]。甘露醇对正常脑内皮细胞的破坏相比于肿瘤的内皮细胞持续时间更长,这种差异将造成药物在正常脑组织比在肿瘤组织中的浓度更高,毒性损害作用更强。

脑损伤早期血-脑脊液屏障开放可能与脑组织机械损伤及血管内皮损害有关。Baldwin等^[7]用辣根过氧化物酶作示踪物观察血-脑脊液屏障通透性后发现,局部皮层损伤灶和海马区伤后5 min受伤部位出现浓染,第1次血-脑脊液屏障开放在5 min至3 h,第2次在1~5 d;这与局部组织生物化学、血管活性物质改变及自由基的产生等因素有关^[8]。利用手术创伤开放血-脑脊液屏障进行化学治疗,在增加肿瘤周围药物浓度的同时,减少了药物的毒副作用。

顺铂的半衰期极短,药物代谢动力学为二室开放模型,呈双相性, $T_{1/2\alpha}$ 为25~49 min, $T_{1/2\beta}$ 为58~73 h^[9]。由于血-脑脊液屏障在创伤后30 min已出现明显的通透性开放,因此将给药后30 min的药物浓度作为目标浓度。本研究结果显示,2组患者血浆和肿瘤组织中顺铂质量浓度比较差异均无统计学意义,未能得出术中给药可获得更高的肿瘤组织内药物浓度,可能与不同病理类型的胶质瘤血运差异有关,高级别胶质瘤血运丰富,多见瘤内出血及

坏死,低级别胶质瘤内血管少,组织学形态较规则有序;处理标本时的人为因素也可导致所测结果与实际结果存在误差;另外,本研究标本量较少,也可能是影响结果的因素。大多数胶质瘤在原地2 cm以内的范围内复发,因此,选择肿瘤周围2 cm内非功能区采集肿瘤周围组织标本,能够整块切除,药物浓度受组织病理类型的影响较小。本研究结果显示,术中给药组患者脑脊液和肿瘤周围组织中顺铂质量浓度显著高于术前给药组;这表明手术创伤能够造成肿瘤周围组织血-脑脊液屏障开放,手术中化学治疗,顺铂更容易透过血-脑脊液屏障,获得较高的药物浓度。卡莫司汀和顺铂联合化学治疗脑胶质瘤的副作用相对较轻,一般可以耐受。本研究显示,2组患者不良反应发生率比较差异无统计学意义。在化学治疗过程中,要定时进行血象和肝、肾功能检查,密切注意药物的毒副作用,必要时调整药物剂量及化学治疗方案。

综上所述,本方法操作简单,不增加手术困难和术后并发症,且能够开放血-脑脊液屏障,促进顺铂透过血-脑脊液屏障,提高药物浓度,为临床用药提供了依据,但其长期疗效仍需进一步对照研究。

参考文献:

- [1] 江涛,王忠诚. 构建胶质瘤综合治疗体系[J]. 河北医药,2007,29(1):3-6.
- [2] Khasraw M, Lassman A B. Advances in the treatment of malignant gliomas[J]. *Curr Oncol*,2010,12(1):26-33.
- [3] Nakata H, Yoshimine T, Murasawa A, et al. Early blood-brain barrier disruption after high-dose single-fraction irradiation in rats[J]. *Acta Neurochir*,1995,136(1/2):82-87.
- [4] Lesniak M S, Langer R, Brem H. Drug delivery to tumors of the central nervous system[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*,2001,1(3):210-216.
- [5] Régina A, Demeule M, Laplante A, et al. Multidrug resistance in brain tumors: roles of the blood-brain barrier[J]. *Cancer Metastasis Rev*,2001,20(1/2):13-25.
- [6] Hall W A, Doolittle N D, Daman M, et al. Osmotic blood-brain barrier disruption chemotherapy for diffuse pontine gliomas[J]. *J Neurooncol*,2006,77(3):279-284.
- [7] Baldwin S A, Fugaccia I, Brown D R, et al. Blood-brain barrier breach following cortical contusion in the rat[J]. *J Neurosurg*,1996,85(3):476-481.
- [8] Kanner A A, Marchi N, Fazio V, et al. Serum S100beta: a noninvasive marker of blood-brain barrier function and brain lesions[J]. *Cancer*,2003,97(11):2806-2813.
- [9] Jacobs S S, Fox E, Dennie C, et al. Plasma and cerebrospinal fluid pharmacokinetics of intravenous oxaliplatin, cisplatin, and carboplatin in nonhuman primates[J]. *Clin Cancer Res*,2005,11(4):1669-1674.