

STANOVENIE PLATINY V KRVNOM SÉRE ONKOLOGICKÝCH PACIENTOV METÓDOU ATÓMOVEJ ABSORPČNEJ SPEKTROMETRIE S ELEKTROTERMICKOU ATOMIZÁCIOU

INGRID HAGAROVÁ, JANA KUBOVÁ, MAREK BUJDOŠ a PETER MATÚŠ

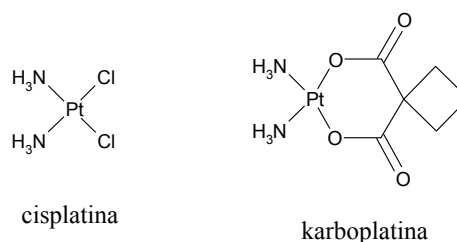
Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Geologický ústav, Mlynská dolina G, 842 15 Bratislava
hagarova@fns.uniba.sk

Došlo 9.12.10, prijaté 3.3.11.

Kľúčové slová: platina, krvné sérum, atómová absorpčná spektrometria s elektrotermickou atomizáciou, hmotnostná spektrometria s indukčne viazanou plazmou

Úvod

Štúdium využitia koordinačných zlúčenín platiny v protinádorovej chemoterapii je predmetom celosvetového záujmu. Do prvej generácie platinových derivátov patrí cis-diammin-dichloroplatinatý komplex (generický názov cisplatina; štruktúrny vzorec vid' obr. 1). História cisplatiny¹ spojená s jej syntézou a opisom siaha do roku 1844, avšak jej „medicínska“ história sa začala datovať až po objavení jej pozoruhodných biologických účinkov. Možno hovoriť o roku 1965, kedy Rosenberg a jeho spolupracovníci² zistili, že produktom elektrolyzy pri použití platinovej elektródy je aj cisplatina, ktorá inhibuje delenie baktérií. Následne uskutočnili sériu experimentov³ na testovanie vplyvu rôznych koordinačných zlúčenín platiny na ľudské nádorové bunky umelo implantované do potkanov. Táto štúdia zistila, že cisplatina bola najefektívnejšia zlúčenina z celej skupiny testovaných. Využitie cisplatiny v protinádorovej chemoterapii u ľudí⁴ sa datuje od roku 1971. Značné nežiadúce vedľajšie účinky cisplatiny (predovšetkým nefrotoxicita, neurotoxicita, nauzea a dávenie, ototoxicita, hypersenzitivita, toxické poškodenie zraku a mnohé ďalšie)⁵, ale v niektorých prípadoch aj rezistencia voči jej pôsobeniu viedli k snahe obmedziť jej používanie⁶ a vyvinúť druhú generáciu platinových cytostatík, ku ktorej patrí diammin(1,1-cyklobutándikarboxylato)-platnatý komplex (generický názov karboplatina; štruktúrny vzorec vid' obr. 1). Karboplatina bola po prvý krát použitá pri chemoterapeutickej liečbe ľudí⁴ v roku 1980. Odtedy prebehlo mnoho klinických štúdií porovnávajúcich účinky cisplatiny a karboplatiny^{7–11} v širokom spektre nádorových ochorení. Aj napriek tomu,



Obr. 1. Štruktúrne vzorce cisplatiny a karboplatiny

že nie vo všetkých prípadoch bolo možné konštatovať lepšie výsledky liečby s využitím karboplatiny v porovnaní s cisplatinou, v súčasnosti karboplatina nahradila cisplatinu pri liečbe mnohých nádorových ochorení⁴ (vrátane karcinómu ovárií). Významná aktivita karboplatiny v liečbe karcinómu ovárií, rýchla odozva na začatú liečbu a do značnej miery znížená nefrotoxicita v porovnaní s cisplatinou má za následok zvýšenie kvality života pacientiek podrobujúcich sa chemoterapeutickej liečbe karboplatinou.

Nielen voľba účinného cytostatika, ale aj stanovenie a aplikácia správnej dávky zvoleného cytostatika¹² je jeden z hlavných faktorov, ktorý ovplyvňuje dosiahnutie pozitívneho výsledku chemoterapeutickej liečby. Stanovenie dávky podľa telesnej hmotnosti alebo veľkosti povrchu tela sa v mnohých prípadoch ukázalo byť nevhodným základom pre dávkovanie cytostatík¹³. Je to predovšetkým z toho dôvodu, že cytostatiká sú výrazne metabolizované a vylučované pečeňou a telesný povrch nekoreluje s kapacitou pečeňových funkcií¹³. V takýchto prípadoch je preto potrebné uskutočniť detailné farmakokinetické štúdie podávaného cytostatika a následne zo zistených farmakokinetických parametrov stanoviť správnu dávku podávaného cytostatika. V prípade platinových cytostatík je možné farmakokinetické štúdie vykonať s použitím vhodnej validovanej metódy, ktorá slúži na spoľahlivé stanovenie platiny v odobratých biologických vzorkách.

Z mnohých analytických metód používaných na stanovenie platiny v rôznych typoch vzoriek možno spomenúť atómovú absorpčnú spektrometriu s elektrotermickou atomizáciou (ETA-AAS), röntgenovú fluorescenčnú spektroskopiu (XRF), neutrónovú aktivačnú analýzu (NAA), atómovú emisnú spektrometriu s indukčne viazanou plazmou (ICP-AES), hmotnostnú spektrometriu s indukčne viazanou plazmou (ICP-MS). Z uvedených k najčastejšie používaným pri analýze biologických vzoriek^{14–21} patrí ETA-AAS. Je to z dôvodu vysokej analytickej špecifity, citlivosti, presnosti, potreby malých objemov vzoriek a v neposlednom rade aj relatívne nízkym finančným nákladom.

Cieľom tejto práce je optimalizovať a validovať postup pre stanovenie platiny vo vzorkách krvného séra onkologických pacientiek metódou ETA-AAS.

Experimentálna časť

Použité prístroje a zariadenia

Na stanovenie platiny bol použitý atómový absorpčný spektrometer firmy Perkin-Elmer 3030 (USA) s elektrotermickým atomizátorom HGA-600 v spojení s automatickým podávačom vzoriek AS-70 tej istej firmy. Pre korekciu pozadia bol použitý korektor pozadia využívajúci Zeemanov jav. Ako ochranný plyn bol použitý argón. Merania boli robené na pyrolytických grafitových kvetách firmy Perkin-Elmer. Dávkovaný objem vzoriek bol 20 μl . Pre vyhodnotenie boli použité plochy píkov. Ako zdroj žiarenia bola použitá výbojka s dutou katódou pre Pt (Perkin-Elmer) pracujúca pri 20 mA. Zvolená vlnová dĺžka bola 265,9 nm a šírka štrbiny bola 0,7 nm. Teplotný program pre stanovenie Pt je uvedený v tabuľke I.

Pre validáciu vypracovanej metódy stanovenia boli získané výsledky porovnané s výsledkami získanými metódou hmotnostnej spektrometrie s indukčne viazanou plazmou (ICP-MS). Na stanovenie platiny bol v tomto prípade použitý hmotnostný spektrometer s indukčne viazanou plazmou firmy Perkin Elmer (Sciex Elan 6000). Hmotnostný spektrometer bol vybavený pravouhlým zhmlovačom, dvojplášťovou hmlovou komorou a niklovými kónusmi. Experimentálne parametre po optimalizácii boli nastavené na: prietoková rýchlosť kvapalnej vzorky 620 $\mu\text{l min}^{-1}$, prietoková rýchlosť plynu v zhmlovači 0,9 l min^{-1} a výkon plazmy 1200 W. Monitorované izotopy platiny boli: ^{194}Pt , ^{195}Pt , ^{196}Pt a ^{198}Pt . Odčítanie signálu trvalo 50 ms, s počtom skenov na opakovanie 20, čo pri počte opakovaní 5 predstavovalo celkový integračný čas pre každý izotop 5 s. Detektor pracoval v duálnom režime.

Chemikálie a roztoky

Všetky použité chemikálie boli čistoty p.a. Zásobné roztoky platiny a ródia (obidva 1000 mg l^{-1}) boli získané od firmy Merck (Darmstadt, SRN). Kalibračné roztoky platiny (0,20–2,00 $\mu\text{mol l}^{-1}$) boli pripravené v 0,2% HNO_3 (v/v) (Merck) nezávislým riedením zo zásobného roztoku tesne pred použitím. Zásobný roztok ródia bol použitý pri príprave vzoriek na meranie metódou ICP-MS (ako vnútorný štandard s výslednou koncentráciou 0,094 $\mu\text{mol l}^{-1}$). Triton X-100 bol získaný od firmy Sigma-Aldrich

(Steinheim, SRN). Pracovné roztoky s rôznou koncentráciou Tritonu X-100 boli pripravené rozpustením vhodného množstva Tritonu X-100 v deionizovanej vode. Zásobné roztoky boli uskladnené v polyetylénových nádobách pri teplote 4 °C.

Vzorky

Vzorky krvného séra onkologických pacientiek boli dodané Národným onkologickým ústavom v Bratislave. Vzorky krvi od žien, ktoré sa podrobujú chemoterapeutickej liečbe karcinómu ovárií (dostávajúce karboplatinu v kombinácii s paklitaxelom) boli odoberané pred infúziou, na konci infúzie (v čase 0,5 h) a následne v časoch 1, 2, 3, 6, 12 a 24 h od ukončenia infúzie. Odoberané vzorky boli centrifugované a krvné sérum bolo odseparované dodržiavajúc protokol platný pre prácu v klinických laboratóriách.

Vzorky krvného séra boli uskladnené pri $-20\text{ }^\circ\text{C}$ v polyetylénových mikroskúmavkách. Pred samotnou analýzou boli vzorky rozmrazené pri laboratórnej teplote a opatrne premiešané.

Pracovný postup

Vzorky krvného séra pre stanovenie platiny metódou ETA-AAS boli riedené 0,2% (v/v) Tritonom X-100 priamo v 2ml autosamplerových nádobkách. Zriedené vzorky krvného séra boli následne dávkované do grafitovej kvety (20 μl).

Vzorky krvného séra pre stanovenie platiny metódou ICP-MS boli riedené 2% (m/v) HNO_3 . Ku každej nariadenej vzorke bolo pridané Rh (použitý ako vnútorný štandard), ktorého výsledná koncentrácia bola 0,094 $\mu\text{mol l}^{-1}$.

Výsledky a diskusia

Optimalizácia teplotného programu

Pri optimalizácii teplotného programu pri ETA-AAS stanovení sledovaného analytu patrí k najdôležitejším krokom voľba vhodnej pyrolyzačnej a atomizačnej teploty. S ohľadom na komplexnú vzorku biologického charakteru, ktorá bola analyzovaná bez predchádzajúceho rozkladu si

Tabuľka I

Teplotný program pre stanovenie Pt vo vzorkách krvného séra metódou ETA-AAS

Krok	Teplota [$^\circ\text{C}$]	Čas nárastu [s]	Čas zotrvania [s]	Prietok argónu [ml min^{-1}]
Sušenie	110	20	30	250
Pyrolýza	1400	20	30	250
Atomizácia	2550	0	4	0
Čistenie	2650	1	3	250

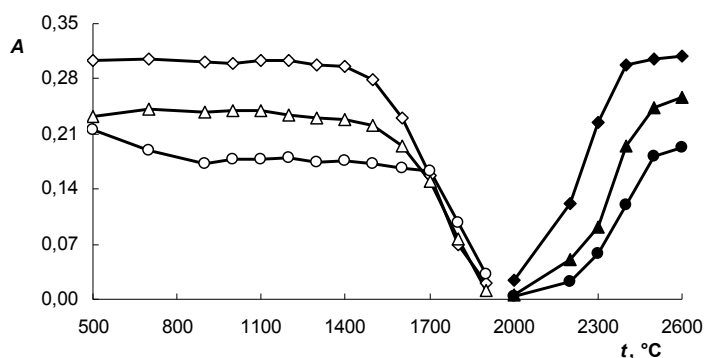
tento krok vyžaduje patričnú pozornosť. V tomto prípade bola krivka termického rozkladu meraná v rozmedzí teplôt 500–1900 °C pri konštantnej atomizačnej teplote 2500 °C. Pri meraniach bol použitý roztok platiny s koncentráciou 2,0 $\mu\text{mol l}^{-1}$, pripravený v 0,2% (v/v) HNO_3 , 0,2% (v/v) Tritone X-100 a v zriedenej vzorke krvného séra (použitá vzorka krvného séra obsahovala < 0,032 $\mu\text{mol l}^{-1}$ Pt). Ako je z nameraných závislostí uvedených na obr. 2 zrejme, maximálnu pyrolyzačnú teplotu 1400 °C je možné použiť pri roztokoch pripravených v 0,2% (v/v) HNO_3 , 1500 °C je to v prípade roztokov pripravených v 0,2% (v/v) Tritone X-100 a až 1700 °C je možné použiť pre reálne vzorky krvného séra. Z uvedených zistení bola nakoniec zvolená teplota 1400 °C. Táto pyrolyzačná teplota bola použitá v teplotnom programe pri kalibrácii a následne aj pri analýze vzoriek krvného séra.

Atomizačná krivka bola meraná v rozmedzí teplôt 2000–2600 °C pri konštantnej pyrolyzačnej teplote 1400 °C. Aj v tomto prípade boli použité roztoky platiny s koncentráciou 2,0 $\mu\text{mol l}^{-1}$ pripravené v už spomínaných médiách (0,2% (v/v) HNO_3 , 0,2% (v/v) Tritone X-100 a zriedenej vzorke krvného séra). Z nameraných závislostí uvedených na obr. 2 je zrejme, že v prípade roztokov pripravených v 0,2% (v/v) HNO_3 je možné použiť atomizačnú teplotu 2400 °C a 2500 °C je to pri roztokoch pripravených v 0,2% (v/v) Tritone X-100 a v reálnych vzorkách krvného séra. V teplotnom programe bola nakoniec zvolená

atomizačná teplota 2550 °C použitá pri kalibrácii a následne aj pri analýze vzoriek krvného séra. Celý teplotný program pre stanovenie Pt v krvnom sére metódou ETA-AAS je uvedený v tabuľke I.

Výber koncentrácie Tritonu X-100 vhodnej na riedenie vzoriek krvného séra

V snahe využiť čo možno najjednoduchšiu predúpravu vzoriek krvného séra pre stanovenie analytu metódou ETA-AAS, sme v predchádzajúcej práci pri stanovení selénu²² porovnali výsledky získané priamo po nariadení vhodným tenzidom a výsledky získané po rozklade v autoklávoch za zvýšeného tlaku. Priame stanovenie po nariadení vzoriek Tritonom X-100 s vhodnou koncentráciou viedlo k získaniu spoľahlivých výsledkov s minimalizáciou manipulácie so vzorkami (čo bolo spojené s úsporou času ako aj vyhnutím sa nožnej kontaminácii). Prídanie tenzidu sa odporúča pre dosiahnutie reprodukovateľného sušenia²³, čo následne vedie k dosahovaniu reprodukovateľných výsledkov analýzy. V tomto prípade je však potrebné zvoliť vhodnú koncentráciu použitého tenzidu. Pre výber vhodnej koncentrácie Tritonu X-100 boli v tejto práci odskúšané rôzne koncentrácie v rozmedzí 0,05–1,60 % (v/v). Pri uvedených medzných koncentráciách Tritonu X-100 boli dosahované najvyššie relatívne štandardné odchýlky (RSD) získaných výsledkov. Pohy-



Obr. 2. Pyrolyzačné a atomizačné krivky pre platínu (0,040 nmol v 20 μl) pripravenú v 0,2 % (v/v) HNO_3 (\diamond a \blacklozenge), 0,2 % (v/v) Tritone X-100 (\triangle a \blacktriangle) a reálnej vzorke krvného séra (\circ a \bullet)

Tabuľka II

Porovnanie výsledkov vyhodnotených metódou kalibračnej krivky (MKK) a metódou prídavku štandardu (MPŠ)

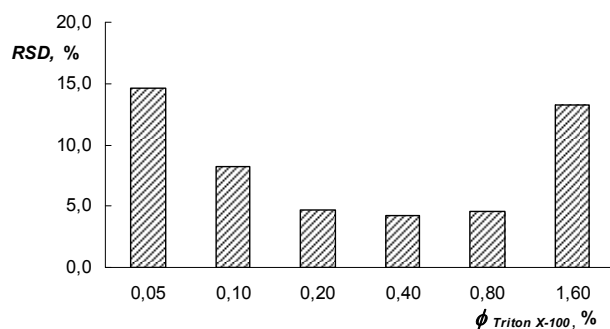
Číslo vzorky	Stanovená koncentrácia Pt \pm SD [$\mu\text{mol l}^{-1}$]		
	MKK ^a	MKK ^b	MPŠ
1	81,5 \pm 2,1	93,3 \pm 2,4	80,7 \pm 3,1
2	47,9 \pm 1,6	55,4 \pm 1,8	47,3 \pm 2,2
3	37,4 \pm 2,0	42,4 \pm 1,6	36,8 \pm 2,8
4	30,7 \pm 1,5	35,0 \pm 2,2	29,2 \pm 2,6

^a Kalibračné roztoky boli pripravené v 0,2% (v/v) HNO_3 ; ^b kalibračné roztoky boli pripravené v 0,2% (v/v) Tritone X-100

bovali sa okolo 15 % (obr. 3). Je zrejmé, že najnižšia testovaná koncentrácia nepostačovala na reprodukovateľné sušenie vzoriek krvného séra. Pri koncentrácii Tritonu X-100 1,6% (v/v) bola viskozita vzoriek tak vysoká, že samotné injektovanie vzoriek bolo problematické a nereprodukovateľné. Pri testovaných koncentráciách Tritonu X-100 0,2; 0,4 a 0,8 % (v/v) sa pohybovali RSD do 5 % (obr. 3). Nakoniec Triton X-100 s koncentráciou 0,2 % (v/v) bol zvolený a použitý na riedenie vzoriek krvného séra pred samotným stanovením platiny metódou ETA-AAS.

Kalibrácia

V snahe využiť čo možno najjednoduchší spôsob vyhodnotenia výsledkov pri priamej analýze vzoriek krvného séra boli navzájom porovnané dva spôsoby vyhodnotenia, a to metódou kalibračnej krivky (MKK) a metódou prídavku štandardu (MPŠ). Pri MKK boli kalibračné štandardy pripravené v 0,2% (v/v) HNO₃ (MKK-1) a 0,2% (v/v) Tritone X-100 (MKK-2). Zatiaľ čo neboli zistené žiadne štatisticky významné rozdiely medzi výsledkami vyhodnotenými metódami MKK-1 a MPŠ, v prípade porovnania výsledkov vyhodnotených metódami MKK-2 a MPŠ tomu



Obr. 3. Relatívne štandardné odchýlky (RSD) dosiahnuté pri riedení vzoriek krvného séra Tritonom X-100 s rôznou koncentráciou

Tabuľka III

Porovnanie stanovených koncentrácií Pt metódami ETA-AAS a ICP-MS

Vzorka	Stanovená koncentrácia Pt ± SD [μmol l ⁻¹]		Vzorka	Stanovená koncentrácia Pt ± SD [μmol l ⁻¹]	
	ICP-MS	ETA-AAS		ICP-MS	ETA-AAS
A	31,4 ± 0,98	32,5 ± 1,13	I	11,9 ± 0,88	11,2 ± 0,94
B	36,2 ± 1,20	37,4 ± 2,05	J	0,36 ± 0,04	0,56 ± 0,05
C	36,1 ± 1,44	35,6 ± 1,79	K	12,9 ± 1,09	13,8 ± 1,17
D	32,1 ± 1,58	33,6 ± 2,02	L	17,0 ± 1,15	17,2 ± 1,29
E	25,4 ± 1,06	24,8 ± 1,49	M	19,4 ± 1,22	18,1 ± 0,98
F	11,8 ± 0,78	12,9 ± 1,19	N	10,1 ± 0,77	11,5 ± 1,00
G	1,44 ± 0,16	1,61 ± 0,12	O	8,22 ± 0,63	8,10 ± 0,72
H	0,98 ± 0,09	0,90 ± 0,08	P	47,1 ± 1,85	47,9 ± 2,66

tak nebolo ($P < 0,05$). Získané výsledky sú uvedené v tabuľke II. Na základe týchto zistení boli nakoniec v celej práci výsledky vyhodnocované pomocou metódy kalibračnej krivky s použitím kalibračných štandardov pripravených v 0,2% (v/v) HNO₃.

Analytické parametre

Citlivosť. Medza dôkazu (LOD) a medza stanovenia (LOQ) pre platinu boli vypočítané používajúc štandardnú odchýlku (SD) pre 10 meraní slepého pokusu. Pre LOD to bol trojnásobok a pre LOQ desaťnásobok SD. Výsledná hodnota LOD bola 0,032 μmol l⁻¹ a výsledná hodnota LOQ bola 0,107 μmol l⁻¹.

Linearita. Pre zistenie maximálneho rozsahu kalibrácie bola pripravená sada kalibračných roztokov v rozmedzí 2,0–2,5 μmol l⁻¹, ktoré boli následne analyzované ako vzorky. Najvyššia zistená koncentrácia, pri ktorej relatívna chyba stanovenia sa pohybovala v rozmedzí ± 10 % v porovnaní so správnou (pripravenou) koncentráciou bola 2,15 μmol l⁻¹.

Presnosť. RSD pre analyzované vzorky sa pohybovali do 9 %.

Výťažnosť. K dvanástim vzorkám krvného séra na troch rôznych koncentračných úrovniach bolo pridaných 0,10 μmol l⁻¹ Pt. Následne sa vzorky analyzovali používajúc zoptimalizovaný postup stanovenia metódou ETA-AAS. Zo získaných výsledkov sa zistila výťažnosť, ktorá sa pohybovala v rozmedzí 101 ± 5 %.

Správnosť. Keďže sme nemali k dispozícii certifikovaný referenčný materiál krvného séra s certifikovanými koncentraciami Pt, pre overenie správnosti navrhnutého postupu sme použili nezávislú detekčnú metódu, a to ICP-MS. Pre porovnanie bolo použitých 16 vzoriek s rôznymi koncentraciami Pt. Výsledky získané obidvoma spektrometrickými metódami sú uvedené v tabuľke III. Výsledky boli porovnané vypočítajúc relatívne chyby stanovenia podľa vzťahu:

$$RCHS(\%) = \frac{|C_{Pt}(ETA-AAS) - C_{Pt}(ICP-MS)|}{C_{Pt}(ICP-MS)} \cdot 100$$

kde RCHS – relativná chyba stanovenia (%); $C_{Pt}(ETA-AAS)$ – priemerná koncentrácia Pt stanovená metódou ETA-AAS ($\mu\text{mol l}^{-1}$); $C_{Pt}(ICP-MS)$ – priemerná koncentrácia Pt stanovená metódou ICP-MS ($\mu\text{mol l}^{-1}$).

Relatívne chyby stanovenia neprekročili 12 % ani pri najnižších nameraných koncentráciách.

Záver

Pre spoľahlivé stanovenie platiny v krvnom sére onkologických pacientiek metódou ETA-AAS je možné použiť priamo nariadenie vzoriek 0,2% (v/v) Tritonom X-100, pre vyhodnotenie výsledkov použiť metódu kalibračnej krivky (pri využití kalibračných roztokov pripravených v 0,2% (v/v) HNO_3), v teplotnom programe použiť teplotu termického rozkladu 1400 °C a teplotu atomizácie 2550 °C. Lineárny rozsah kalibrácie je 0,11–2,15 $\mu\text{mol l}^{-1}$, zistené LOD je 0,032 $\mu\text{mol l}^{-1}$. Výťažnosť pre vzorky pripravené s prídavkom platiny sa pohybovala v rozmedzí $101 \pm 5 \%$, RSD analyzovaných vzoriek sa pohybovala do 9 %. Správnosť navrhnutého postupu stanovenia platiny metódou ETA-AAS bola overená porovnaním získaných výsledkov s výsledkami získanými metódou ICP-MS. Relatívne chyby stanovenia neprekročili 12 % ani pri najnižších nameraných koncentráciách.

Uvedený zoptimalizovaný postup stanovenia Pt vo vzorkách krvného séra metódou ETA-AAS je v súčasnosti využívaný pri farmakokinetických štúdiách porovnávajúcich intravenózne a intraperitoneálne dávkovanie karboplatiny (použitej v kombinácii s paklitaxelom) pri liečbe karcinómu ovárií.

Časť práce bola podporená grantom Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva SR a Slovenskej akadémie vied VEGA č. 1/0257/10. Naše poďakovanie tiež patrí MUDr. Tomášovi Minárikovi (Národný onkologický ústav v Bratislave) za dodanie vzoriek krvného séra onkologických pacientiek.

LITERATÚRA

- Peyrone M.: Ann. Chemie Pharm. 51, 1 (1844).
- Rosenberg B., Van Camp L., Krigas T.: Nature 205, 698 (1965).
- Rosenberg B., Van Camp L., Trosko J. E., Mansour V. H.: Nature 222, 385 (1969).
- Desoize B., Madoulet C.: Crit. Rev. Oncol. Hemat. 42, 317 (2002).
- Arany I., Safirstein R. L.: Semin. Nephrol. 23, 460 (2003).
- Belani C. P.: Semin. Oncol. 31, 23 (2004).
- Rixe O., Ortuzar W., Alvarez M., Parker R., Reed E., Paull K., Fojo T.: Biochem. Pharmacol. 52, 1855 (1996).
- Murry D. J.: Pharmacotherapy 17, 140S (1997).
- Go R. S., Adjei A. A.: J. Clin. Oncol. 17, 409 (1999).
- Vermorken J. B., Huinink W. W. T., Eisenhauer E. A., Favalli G., Belpomme D., Conte P. F., Kaye S. B.: Ann. Oncol. 4, 41 (1993).
- O'Dwyer P. J., Stevenson J. P., Johnson S. W.: Drugs 59, 19S (2000).
- Zufia L., Aldaz A., Castellanos C., Giráldez J.: J. Chromatogr., B 764, 457 (2001).
- Tomiška M., Adam Z., Kalous O., Mayer J.: Klinicka Onkologie 14, 8 (2001).
- Terwogt J. M. M., Tibben M. M., Welbank H., Schellens J. H. M., Beijnen J. H.: Fresenius J. Anal. Chem. 366, 298 (2000).
- Vouillamoz-Lorenz S., Bauer J., Lejeune F., Decosted L.A.: J. Pharm. Biomed. Anal. 25, 465 (2001).
- Tibben M. M., Rademaker-Lakhai J. M., Rice J. R., Stewart D. R., Schellens J. H. M., Beijnen J. H.: Anal. Bioanal. Chem. 373, 233 (2002).
- Zimmermann S., Messerschmidt J., von Bohlen A., Sures B.: Anal. Chim. Acta 498, 93 (2003).
- Brouwers E. E. M., Tibben M. M., Joerger M., van Tellingen O., Rosing H., Schellens J. H. M., Beijnen J. H.: Anal. Bioanal. Chem. 382, 1484 (2005).
- Chappuy M., Caudron E., Bellanger A., Pradeau D.: J. Hazard. Mater. 176, 207 (2010).
- Najafi N. M., Shahparvizi S., Rafati H., Ghasemi E., Alizadeh R.: J. Pharm. Biomed. Anal. 53, 58 (2010).
- da Costa A. C., Vieira M. A., Luna A. S., de Campos R. C.: Talanta 82, 1647 (2010).
- Hagarová I., Žemberyová M.: Chem. Listy 99, 34 (2005).
- Jacobson B. E., Lockitch G.: Clin. Chem. 34, 709 (1988).

I. Hagarová, J. Kubová, M. Bujdoš, and P. Matúš
(Geological Institute, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic): **Determination of Platinum in Blood Serum of Chemotherapy Patients by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry**

The aim of this work was to optimize and validate a simple and rapid method for the direct determination of total platinum in blood serum of chemotherapy patients. The method is based on the quantification of platinum by electrothermal atomic absorption spectrometry (ET-AAS) with the Zeeman background correction after appropriate dilution of samples with 0.2% (v/v) Triton X-100 using the optimized temperature program (pyrolysis and atomization temperatures 1400 °C and 2550 °C, respectively). The validated range of quantification was 0.11–2.15 $\mu\text{mol l}^{-1}$, RSD was better than 9 %. The accuracy was checked by comparing the results with those obtained by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The optimized ET-AAS method is now successfully used for investigation of some pharmacokinetic parameters in a clinical study comparing intravenous and intraperitoneal infusion of carboplatin (combined with paclitaxel).