

UNIVERSITATEA „POLITEHNICA” DIN TIMIȘOARA

Facultatea de Chimie Industrială și Ingineria Mediului

ORDODI LAURENTIU VALENTIN

TEZĂ DE DOCTORAT

**STUDII PRIVIND ELABORAREA, PROIECTAREA ȘI
REALIZAREA UNEI INSTALAȚII EXPERIMENTALE
PENTRU EPURAREA REZIDUURILOR CITOSTATICE
REZULTATE ÎN TRATAMENTELE ONCOLOGICE**

- REZUMAT -

**Conducător științific:
Prof. dr. ing. DELIA PERJU**

2010

Introducere

Progresele tehnologice spectaculoase din ultimele decenii precum și creșterea nivelului de trai și a speranței de viață, în special în zonele puternic industrializate ale lumii, s-au realizat cu prețul afectării drastice a mediului înconjurător.

Activitatea medicală, atât cea de diagnostic cât și în special cea de tratament, expune zi de zi atmosfera, apele și solul la acțiunea unor substanțe care în cantități mici nu au un efect poluant evident, dar care se acumulează în timp și pot duce la adevărate dezastre ecologice.

Urmărind alinierea României la acest deziderat major al momentului, în lucrarea de față s-a dorit realizarea unui studiu aprofundat al metodelor electrochimice de protecție a mediului înconjurător față de deșeurile citotoxice rezultate în urma activităților medicale oncologice. Este cunoscut faptul că medicamentele antineoplazice, cunoscute sub denumirea generică de citostatice, au pe lângă activitatea antitumorală, o serie de efecte adverse deloc neglijabile printre care se numără proprietățile teratogene, mutagene și nu de puține ori chiar oncogeneza. Aceste efecte nedorite apar cel mai frecvent la pacienții care beneficiază de un astfel de tratament, însă nu trebuie omis faptul că prin eliminarea lor în mediul înconjurător odată cu deșeurile provenite de la pacienți, precum și cantitățile de medicamente rămase neutilizate, se vor acumula în mediul înconjurător, producând profunde alterări ale ecosistemelor.

În contextul celor prezentate anterior, prin prezenta teză de doctorat ne-am îndreptat atenția în direcția studierii posibilităților de elaborare, proiectare și realizare ca prototip de referință a unei microinstalații, care având performanțe bune să poată fi utilizată la epurarea deșeurilor rezultate din activitatea medicală oncologică.

Microinstalația realizată este în totalitate de concepție proprie fiind alcătuită din trei părți componente distincte: sistemul de pregătire al probei, microreactorul electrochimic și sistemul de automatizare împreună cu calculatorul de proces.

Cea mai importantă componentă este microreactorul electrochimic a cărui principiu de functionare se pretează foarte bine scopului propus: favorizarea reacțiilor de oxidare anodică și generarea unor cantități de clor liber (acid hipocloros, hipocloriti și clor fizic dizolvat) cu un consum redus de electricitate și într-un timp cât mai scurt.

Microinstalația experimentală a fost testată atât din punct de vedere funcțional cât și al performanțelor tehnice legate de obiectivele propuse.

Pentru testarea microinstalației s-au utilizat următoarele metode:

- fizico – chimice
- matematice prin utilizarea tehnicilor de modelare statistică
- biologice prin utilizarea tehnicilor de culturi celulare și experimentelor pe animale de laborator.

Cercetările efectuate în cadrul acestei lucrări se referă la următoarele aspecte:

1. Elaborarea, proiectare și realizarea sub forma unui model experimental, a unei microinstalații de epurare a deșeurilor citostatice rezultate din activitatea medicală oncologică.
2. Testarea microinstalației realizate prin utilizarea metodelor menționate anterior pentru cinci substanțe medicamentoase citostatice care au fost administrate unor loturi de pacienți, urmărindu-se neutralizarea substanțelor citostatice eliminate prin urina acestor pacienți.
3. Utilizarea avantajelor oferite de tehnicile de modelare matematică pentru studierea dependențelor existente între diferiți parametri indicatori care garantează randamente de epurare cât mai ridicate.
4. Elaborarea unei metodologii simple de operare a microinstalației de epurare realizate utilizând calculatorul de proces.
5. Obținerea unor observații interesante asupra desfășurării proceselor de distrugere a substanțelor citostatice, prin studiul datelor obținute în urma determinărilor efectuate înainte, în cursul și la finalul ciclului de funcționare al microreactorului electrochimic.
6. Analiza prin metode biologice a produselor rezultate în urma epurării, în vederea determinării citotoxicității reziduale.

Având în vedere atât conținutul cât și modul de abordare și rezolvare al obiectivelor propuse spre a fi atinse, lucrarea elaborată are un puternic caracter interdisciplinar (inginerie chimică, automatizări, electronică, modelare statistică, chimie organică, medicină, farmacie), încercând astfel să satisfacă cerințele actuale ale unei teze de doctorat, să răspundă astfel unor exigențe științifice teoretice și mai ales aplicative.

Obiectivele lucrării:

Principalele obiective ale acestei lucrări sunt:

1. Realizarea unei documentații bibliografice cu privire la nivelul actual al cunoașterii în domeniul epurării deșeurilor citostatice rezultate din activitatea medicală oncologică.
2. Elaborarea, proiectarea și realizarea unei microinstalații experimentale care să permită epurarea deșeurilor citotoxice rezultate din activitatea medicală oncologică.
3. Testarea microinstalației și prelucrarea matematică a datelor experimentale obținute prin determinări complexe fizico-chimice și de citotoxicitate.
4. Determinarea prin calcul a indicatorilor de performanță, care reflectă eficiența epurării efectuate în microinstalația experimentală.
5. Analiza prin metode biologice a produselor rezultate în urma epurării, în vederea determinării citotoxicității reziduale.
6. Elaborarea unei teorii proprii cu privire la modul în care are loc mecanismul de degradare prin oxidare electrochimică a substanțelor citostatice care au fost utilizate la testarea microinstalației.

1. Microinstalația experimentală

Microinstalația experimentală propusă este alcătuită din trei părți componente distincte montate pe un șasiu comun:

- sistemul de pregătire a probei
- microreactorul electrochimic
- sistemul de automatizare.

În figura 24 este prezentat ansamblul microinstalației experimentale.

Fiecare din aceste părți componente este la rândul sau alcătuită din mai multe subansamble evidențiate în figura 1.

Atât sistemul de pregătirea a probei cât și microreactorul electrochimic sunt controlate de către sistemul de automatizare care include și calculatorul de proces. Trebuie menționat că întreaga microinstalație poate fi comandată atât de către calculatorul de proces cât și direct de către operator prin intermediul comenzilor manuale.

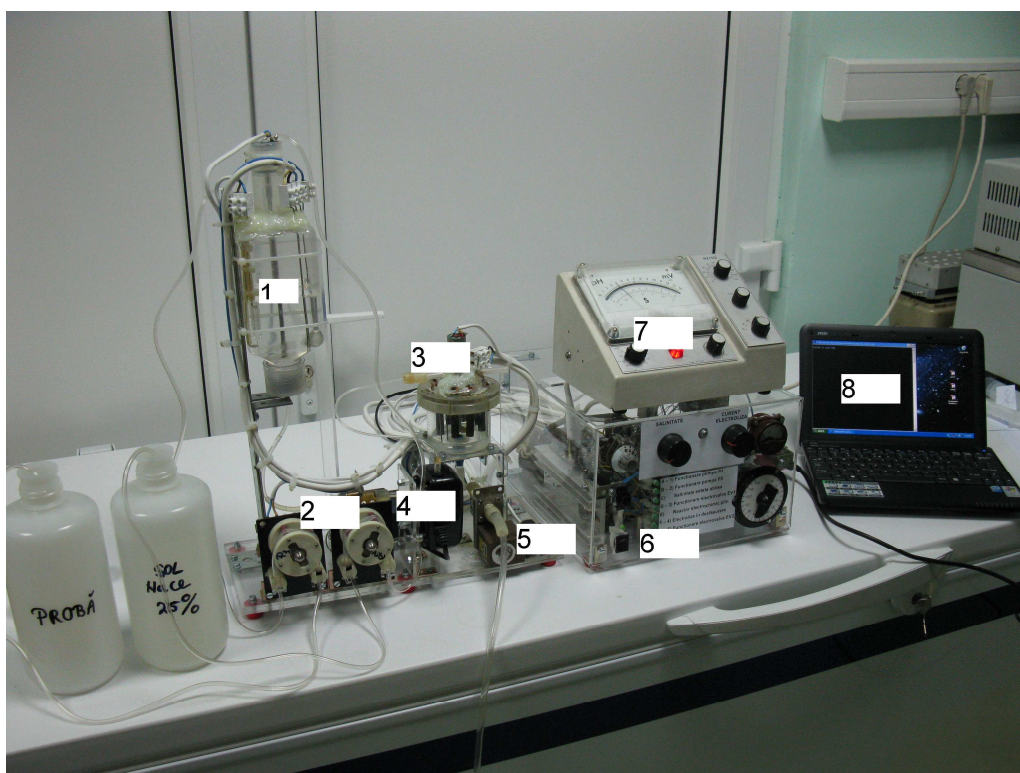


Figura 1. Microinstalația experimentală (vedere de ansamblu).

Componentele principale și subansamblele acestora:

1. Vas de amestec
2. Pompe peristaltice
3. Microreactor electrochimic
4. Microcompresor
5. Electrovalvă
6. Modul electronic
7. Conductometru
8. Calculator de proces.

În figură se observă recipientul care conține proba ce urmează să fie epurată precum și recipientul care conține soluția de saramură 25% necesară aducerii probei la salinitatea dorită.

1.1. Funcționarea microinstalației experimentale.

Funcționarea microinstalației experimentale se poate urmări în mod facil pe schema de principiu a dispozitivului experimental care este prezentată în figura 2. Sunt evidențiate aici dispozitivele hidraulice și pneumatice, fluxurile de materiale precum și plasarea senzorilor aferenți:

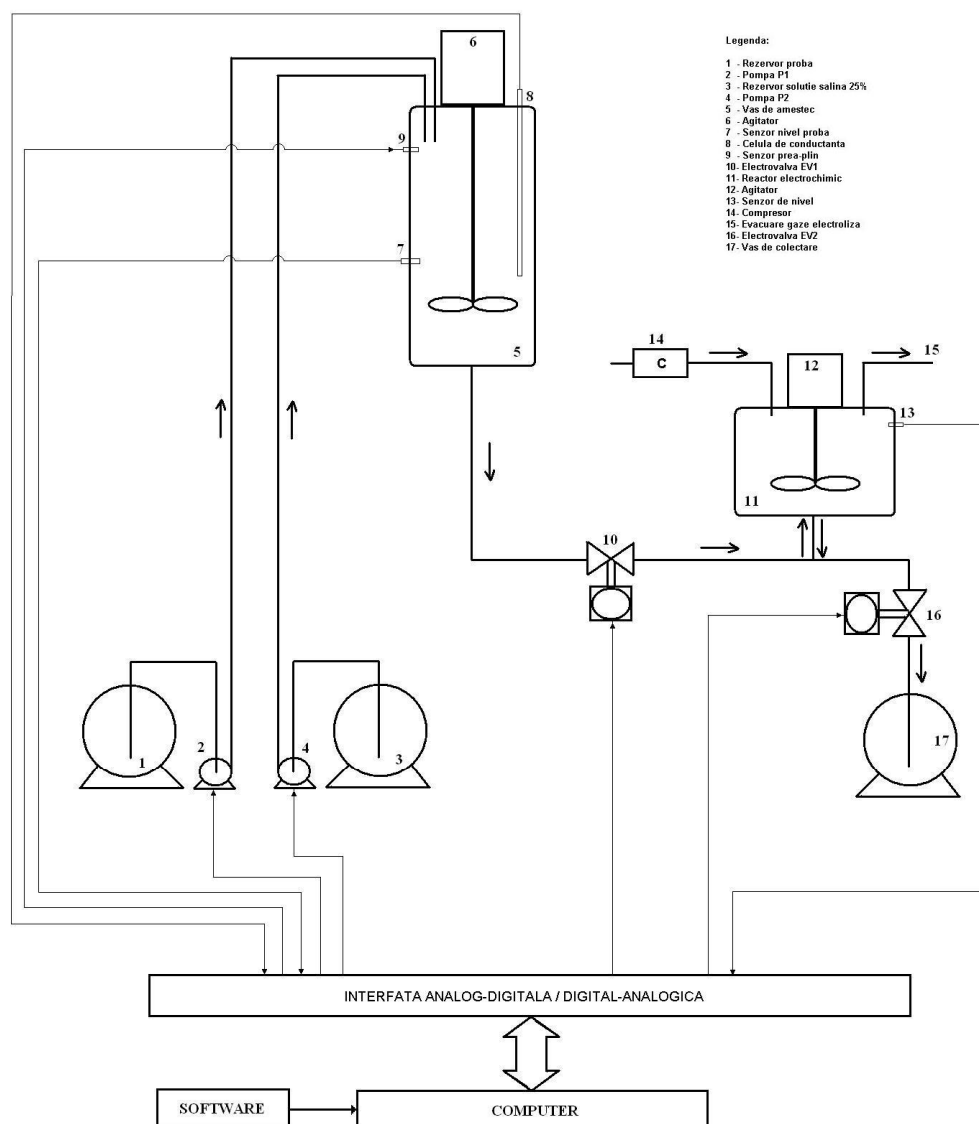


Figura 2. Schema bloc a microinstalației experimentale.

Proba care conține citostaticul/citostaticele ce trebuie epurate este aspirată cu ajutorul pompei peristaltice P1 (Fig. 2-2) din rezervorul cu apă uzată. Aceasta ajunge în vasul de amestec (Fig. 2-5) pe care îl umple până la un nivel prestabilit corespunzător unui volum de 300 ml fapt detectat cu ajutorul unui senzor de conductanță (Fig. 2-7) care comandă oprirea pompei P1. Vasul de amestec este prevăzut cu un dispozitiv de agitare (Fig. 2-6) care realizează omogenizarea continuă a probei. În momentul în care se încheie preluarea probei intră în funcțiune pompa P2 (Fig. 2-4) care introduce o

soluție de saramură 25% din rezervorul 2 (Fig. 2-3). O celulă de conductanță (Fig 2-8) existentă în vasul de amestecare măsoară permanent conductanța probei deci indirect salinitatea acesteia. Pe măsură ce se introduce un volum din ce în ce mai mare de saramură conductanța probei crește, fapt sesizat de către sistemul de conducere electronic care prin intermediul calculatorului de proces, în momentul atingerii salinității setate de operator oprește pompa P2. În acest moment conținutul vasului de amestec (citostaticul în soluție salină) este trimis către microreactorul electrochimic. În cazul în care apare o funcționare anormală a unei pompe, a senzorului de nivel pentru probă sau a celulei de conductanță și se ajunge la umplerea exagerată a vasului de amestec, un alt senzor (Fig. 2-9) plasat la nivelul marginii superioare a vasului de amestec generează un semnal de alarmă și întreaga microinstalație este oprită.

Alimentarea microreactorului electrochimic (Fig 2-11) se face prin curgere liberă. Pe traseul de alimentare se găsește electrovalva EV1 (Fig. 2-10) care este deschisă până când se atinge nivelul maxim de umplere al reactorului electrochimic, fapt sesizat de către un senzor de conductanță plasat în reactor. (Fig. 2-13). În momentul în care microreactorul este plin începe electroliza sub curent constant care durează un timp fixat de operator. În tot timpul desfășurării electrolizei amestecul de reacție este omogenizat cu ajutorul unui agitator plasat în reactor (Fig. 2-12). Curentul de electroliză este reglabil în intervalul 0 – 2 A și este menținut constant de către un dispozitiv de automatizare electronic, pentru a evita creșterea sa pe măsura încălzirii electrolitului (sursa de alimentare a reactorului electrochimic). După încheierea electrolizei microreactorul electrochimic este golit prin intermediul electrovalvei EV2 (Fig. 2-16) într-un recipient de colectare (Fig. 2-17). După ce microreactorul electrochimic e gol ciclul se reia automat și un nou volum de soluție ajunge în electrolizor în vederea epurării.

Atât vasul de amestecare cât și microreactorul electrochimic sunt prevăzute cu ștuțuri pentru colectarea de probe în timpul procesului în vederea analizelor fizico-chimice.

Microreactorul electrochimic mai este prevăzut cu un sistem de eliminare a gazelor rezultate în urma electrolizei, acestea fiind evacuate în afara spațiului de lucru (Fig. 2-14,15).

Acest sistem constă dintr-un compresor care generează un flux de aer comprimat cu un debit de 500 ml/minut care "spală" gazele produse în timpul electrolizei. Datorită acestui sistem gazele rezultate prin electroliză sunt în mod eficient evacuate din reactor prin ștuțul de evacuare a gazelor situat pe capacul reactorului.

Concluzii generale ale studiului

Este cunoscut faptul că medicamentele antineoplazice, cunoscute sub denumirea generică de citostatice, au pe lângă activitatea antitumorală, o serie de efecte adverse deloc neglijabile printre care se numără proprietățile teratogene, mutagene și nu de puține ori chiar oncogeneza. Aceste efecte nedorite apar cel mai frecvent la pacienții care beneficiază de un astfel de tratament, însă nu trebuie omis faptul că prin eliminarea lor în mediul înconjurător odată cu deșeurile provenite de la acești pacienți, precum și cantitățile de medicamente rămase neutilizate, se vor acumula în mediul înconjurător, producând profunde alterări ale ecosistemelor.

Tehnicile electrochimice de epurare a deșeurilor citotoxice oferă o serie de avantaje distincte față de cele uzuale cum este incinerarea.

Tinând cont de faptul că activitatea medicală, atât cea de diagnostic cât și în special cea de tratament, expune zi de zi atmosfera, apele și solul la acțiunea unor substanțe care în cantități mici nu au un efect poluant evident, dar care se acumulează în timp și pot duce la adevărate dezastre ecologice, în prezenta lucrare ne-am propus să efectuăm o serie de studii referitoare la posibilitatea epurării reziduurilor (urina) provenite de la pacienții care au beneficiat de tratamente oncologice chimioterapice.

În acest sens în lucrare s-a elaborat, proiectat și realizat o microinstalație experimentală care să permită epurarea deșeurilor citostatice rezultate din activitatea medicală oncologică.

Studiile abordate în lucrare au un caracter interdisciplinar pentru care s-a făcut apel la mai multe domenii ale științei cum ar fi: chimie organică, medicină, farmacie, inginerie chimică, automatizări, informatică, matematică statistică, modelare

matematică, precum și la utilizarea unor programe de calcul specifice: Microsoft Office 2003, Statistica 6, C++.

Analizând cu atenție conținutul lucrării se poate aprecia că obiectivele propuse au fost în totalitate atinse și îndeplinite, după cum urmează:

1. Realizarea unei documentații bibliografice cu privire la nivelul actual al cunoașterii în domeniul epurării deșeurilor citostatice rezultate din activitatea medicală oncologică.

Obiectivul a fost realizat prin studierea unui număr mare de referințe bibliografice de actualitate din țară și străinătate inclusiv cele proprii. S-au prezentat diverse tehnologii de epurare a deșeurilor citostatice, insistând asupra celor electrochimice cu referire mai ales la reactoarele electrochimice cu densități de curent asimetrice.

2. Elaborarea, proiectarea și realizarea unei microinstalații experimentale care să permită epurarea deșeurilor citotoxice rezultate din activitatea medicală oncologică.

Microinstalația experimentală construită este alcătuită din trei părți componente distincte montate pe un șasiu comun:

- sistemul de pregătire a probei,
- microreactorul electrochimic,
- sistemul de automatizare.

Fiecare din aceste părți are în componență mai multe subansamble. Atât sistemul de pregătire a probei cât și microreactorul electrochimic sunt controlate de către sistemul de automatizare care include și calculatorul de proces. Trebuie menționat că întreaga microinstalație poate fi comandată atât de către calculatorul de proces cât și direct de către operator prin intermediul comenzilor manuale.

Este de menționat faptul că anumite elemente constructive ale părților componente sunt de concepție proprie și anume:

- Vasul de amestecare al probei cu soluția de sare,
- Microreactorul electrochimic,
- Unele module ale sistemului de automatizare: sursa de alimentare a microreactorului electrochimic, sursa de alimentare a reguletoarelor

electronice, regulatorul discontinuu de nivel al vasului de amestecare, etajele de comandă ale pompelor peristaltice și electrovalvelor.

3. Testarea microinstalației și prelucrarea matematică a datelor experimentale obținute prin determinări complexe fizico-chimice și de citotoxicitate.

Funcționarea microinstalației experimentale a fost testată în privința următoarelor aspecte:

- Producția de clor liber în cursul electrolizei unor soluții de clorură de sodiu cu diverse concentrații în limitele 0 – 10 g/ dl.
- Eficiența epurării unor ape reziduale sintetice cu conținut de substanțe citostatice în diverse concentrații prin metode fizico-chimice.
- Propunerea unor mecanisme teoretice care să explice degradarea citostaticelor luate în studiu, în condițiile din reactorul electrochimic.
- Eficiența epurării unor ape reziduale reale (urină provenită de la pacienți care au urmat diverse tratamente chimioterapice) prin metode fizico-chimice.
- Analiza prin metode biologice a produșilor rezultați în urma epurării (efluentul de la microreactorul electrochimic) în vederea determinării citotoxicității reziduale.

Aspectele menționate au fost studiate pe baza datelor experimentale obținute la testarea instalației experimentale în cazul epurării apelor reziduale sintetice și reale (urină) cu conținut de substanțe citostatice: melphalan, doxorubicină, metotrexat, ciclofosamidă și ifosamidă.

Prin modul original de concepție al microinstalației experimentale, sunt favorizate reacțiile de interes: oxidarea electrochimică la anod și oxidarea chimică în masa de reacție prin speciile reactive ale clorului liber. Aceste mecanisme combinate duc la degradarea avansată a agenților citostatici.

Determinările experimentale au arătat ca unele dintre substanțele citostatice luate în studiu sunt foarte sensibile la oxidare, degradându-se foarte repede, pe când altele se degradează greu (figura 3). Din acest considerent s-a ales ca durata procesului de epurare să fie 90 de minute pentru toate probele.

Toate probele supuse epurării au fost analizate cromatografic, respectiv fluorimetric pentru dozarea compușilor de interes precum și pentru urmărirea procesului de degradare a acestora.

În vederea acestor determinări, toate probele recoltate în cursul desfășurării procesului de electroliză precum și la sfârșitul acestuia au fost tratate corespunzător pentru neutralizarea clorului liber rezidual, astfel încât să fie evitată orice degradare a substanțelor din momentul prelevării din microreactorul electrochimic și până în momentul analizei.

În cadrul determinărilor experimentale s-au măsurat concentrațiile substanțelor citotoxice utilizate la testarea microinstalației experimentale înainte de inițierea procesului de epurare, în decursul acestuia la diferite intervale de timp și la final.

Rezultatele obținute prin analiza și interpretarea cromatogramelor sunt prezentate în tabelele corespunzătoare fiecărei substanțe citostatice în parte.

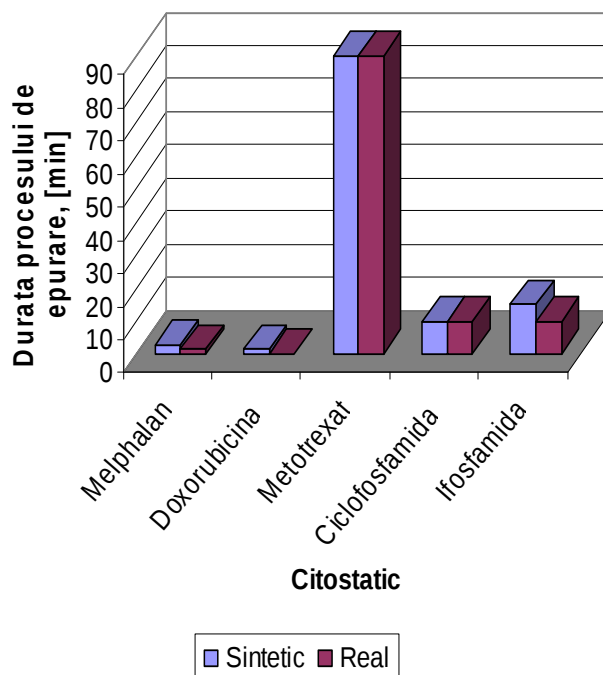


Figura 3. Viteza de degradare a compușilor citostatici luați în studiu

4. Determinarea prin calcul a indicatorilor de performanță, care reflectă eficiența epurării efectuate în microinstalația experimentală.

În cadrul lucrării, drept indicator principal de performanță al microinstalatiei experimentale s-a adoptat „randamentul de epurare” care a fost definit ca raportul dintre concentrația finală și cea inițială (de referință) a agentului citostatic folosit, raportat procentual.

În tabelul I. sunt prezentate valorile randamentelor de epurare pentru cele cinci substanțe citostatice folosite la testarea microinstalatiei experimentale.

Tabel I. Randamentul de epurare al citostaticelor

	Melphalan	Doxorubicină	Metotrexat	Ciclofosfamidă	Ifosfamidă
Randament de epurare ape sintetice (%)	99,93	99,7	99	99,7	99,9
Randament de epurare ape reale (urină) (%)	99,82	93,99	98,5	98,8	99,4

Din tabel se observă că randamentele de epurare au valori ridicate ceea ce confirmă faptul că instalația funcționează în condiții bune și în consecință procesul de epurare se desfășoară normal.

5. Analiza prin metode biologice a produselor rezultate în urma epurării, în vederea determinării citotoxicității reziduale.

După încheierea epurării probele au fost analizate din punct de vedere al citotoxicității prin determinări „in vitro” pe culturi de celule și „in vivo” pe animale de laborator, comparativ cu probele neepurate.

Atât determinările efectuate pe culturi de celule cât și cele pe animale de laborator confirmă rezultatele obținute prin determinările fizico-chimice (concentrațiile citostaticelor).

Citotoxicitatea efluenților epurați este semnificativ redusă în raport cu citotoxicitatea probelor inițiale.

6. Elaborarea unei teorii proprii cu privire la modul în care are loc mecanismul de degradare prin oxidare electrochimică a substanțelor citostatice care au fost utilizate la testarea microinstalației.

Pentru fiecare agent citostatic în parte s-a elaborat o schemă principială a mecanismului de degradare prin oxidare electrochimică. S-a pornit de la premisa că citostaticul supus epurării se va degrada până la dioxid de carbon și apă +/- amoniac (în cazul prezenței azotului în molecula respectivă). Această degradare se desfășoară cu generarea unor compuși intermediari potențial citotoxici care sunt dificil de pus în evidență în condițiile de desfășurare ale experimentelor.

Ca atare se poate considera că microinstalația de epurare realizată prezintă o serie de avantaje deosebite cum ar fi: gabarit redus, performanțe funcționale bune, randament de epurare ridicat. Aceste avantaje recomandă utilizarea principiilor și conceptelor care au stat la baza elaborării microinstalației prezentate, la realizarea unor instalații de dimensiuni adecvate instituțiilor sanitare cu profil oncologic.

Bibliografie selectivă:

1. **Valentin Ordodi**, Gabriela-Alina Dumitrel, Alexandra Gruia, Mihai Iacob, Aurel Felix Mic, Gheorghița Jinescu, Delia Perju., Electrochemical micro-installation for cytostatic waste depuration, Revista de chimie 2010 – in press.
2. **Ordodi LV**, Păunescu V, Mic AA, Ionac M, Săndesc D, Mic FA. A small scale oxygenator for cardiopulmonary bypass in rats. The international Journal of Artificial Organs 2006, 29(8).

3. **Ordodi LV**, Mic AF, Mic AA, Săndesc D, Păunescu V. *A simple device for intubation of rats*. Lab Animal 2005; 34(8).
4. **Ordodi LV**, Paunescu V, Mic AA, Gabor L, Ionac M, Toma O, Săndesc D, Mic FA., *A Pressure Controlled Rat Ventilator with Electronically Preset Respirations*. Artificial Organs 2006; 30(2).
5. Nicoleta G Hadaruga, Daniel I Hadaruga, Virgil Paunescu, Calin Tatu, **Valentin L Ordodi**, Geza Bandur, Alfa X Lupea. *Thermal stability of the linoleic acid/alpha and beta cyclodextrin complexes*. Food Chemistry, September 2005, 99, 500–508.
6. Nikola M. Pavlovic' William H. Orem, Calin A. Tatu, Harry E. Lerch, Joseph E. Bunnell' Gerald L. Feder, Emina N. Kostic and **Valentin L. Ordodi**. *The Role of Lecithin Cholesterol Acyltransferase and Organic Substances from Coal in the Etiology of Balkan Endemic Nephropathy: A New Hypothesis*. Food and chemical toxicology, 2008; 46, 949–954
7. Daniel I. Hădărugă, Nicoleta G. Hădărugă, Geza N. Bandur, Adrian Riviș, Corina Costescu, **Valentin L. Ordodi**, Aurel Ardelean, *Berberis vulgaris extract/ β -cyclodextrin nanoparticles: synthesis and characterization*, Revista de chimie 2010 – in press.