

· 基础研究 ·

聚焦超声激活血卟啉对 H-22 肿瘤细胞的杀伤作用

王攀 王筱冰 刘全宏

【摘要】目的 研究声动力学疗法(SDT)杀伤肿瘤细胞的最佳声照处理时间点,探讨不同强度的聚焦超声激活血卟啉对 H-22 肝癌腹水瘤细胞的杀伤作用。**方法** 采用荧光分光光度法测定血卟啉衍生物(HpD)在 H-22 肿瘤细胞内的富集时间,选择最佳声照处理时间点。采用频率为 1.43 MHz,强度分别为 1 W/cm²、2 W/cm² 和 3 W/cm² 的聚焦超声结合血卟啉作用于 H-22 肿瘤细胞,于不同时间段取材,通过扫描电镜观察细胞表面的超微结构变化,并与单纯血卟啉或单纯超声处理后的细胞进行比较。**结果** 加入 HpD 后 45 min,肿瘤细胞内药物含量最高,作为最佳声照处理时间点。形态学观察显示:单纯血卟啉处理对 H-22 肿瘤细胞仅有轻微影响;单纯超声处理对细胞有一定的损伤作用,并且细胞受损程度随着超声强度的增大和取材时间的延迟而逐渐加重;超声结合血卟啉对细胞的协同杀伤效应在同等条件下显著高于单纯超声处理的细胞。**结论** SDT 对 H-22 肿瘤细胞的损伤效应依赖于超声强度以及声敏剂在细胞内的含量,并且表现出一定的时间相关性变化。

【关键词】 聚焦超声; 血卟啉; H-22; 荧光分光光度法

A preliminary study of the killing effect of focused ultrasound and ultrasound-hematoporphyrin on H-22 tumor cells WANG Pan, WANG Xiao-bing, LIU Quan-hong. College of Life Sciences, Shanxi Normal University, Xi'an 710062, China

Corresponding author: LIU Quan-hong, Email: lshaof@snnu.edu.cn

【Abstract】 Objective To study the killing effect of focused ultrasound activated-hematoporphyrin on H-22 and its optimum exposure time. **Methods** The distribution of hematoporphyrin in H-22 cells was measured by a fluorescence photometer, the ultrastructure changes were evaluated at different time with a scanning electron microscope after treatment with focused ultrasound at the frequency of 1.43 MHz and intensity of 1.0 W/cm², 2.0 W/cm², 3.0 W/cm², respectively, in combination with HpD. **Results** The concentration of HpD in the H-22 cells reached its peak after being added to H-22 tumor cells for 45 minutes, which will produce the best anti-tumor effect when activated by ultrasound. Morphological observation showed that HpD alone had a slight influence on H-22 cells; Ultrasound alone showed an anti-tumor effect on tumor cells, which was dosage-dependent. Ultrasound diathermy in combination with HpD has more effective in terms of its antitumor effect when compared with ultrasound diathermy alone. **Conclusion** The killing effect on H-22 tumor cells of sonodynamic treatment was dependent on the intensity of ultrasound and the content of HpD in the cells, as well as on the time of action of both ultrasound and HpD.

【Key words】 Focused ultrasound; Hematoporphyrin; H-22; Fluorescence photometer

声动力学疗法(sonodynamic therapy, SDT)是一种以超声为动力激活血卟啉(hematoporphyrin, Hp)及其衍生物(hemtoporphyrin derivatives, HpD)治疗癌症的新方法。SDT 利用超声具有深部穿透力并能聚焦于肿瘤局部的作用,用化学方法激活相对无毒的声敏剂分子,产生活性氧自由基,有针对性地杀伤肿瘤细胞^[1]。自 SDT 提出以来,国内、外学者就超声结

合不同的声敏剂对不同的肿瘤组织以及离体培养肿瘤细胞的杀伤效应和作用机制进行了大量的实验研究,并取得了初步成效^[2-7]。然而,对于 SDT 杀伤肿瘤细胞过程的形态学研究报道尚少,并且缺乏 SDT 对某一肿瘤细胞杀伤时的最佳声能与波频的研究数据。因此,本实验应用荧光分光光度法测定了血卟啉在 H-22 腹水瘤细胞内的富集情况,为 SDT 杀伤肿瘤细胞提供最佳的声照处理时间点;采用频率为 1.43 MHz,强度分别为 1 W/cm²、2 W/cm² 和 3 W/cm² 的聚焦超声激活血卟啉并作用于 H-22 肿瘤细胞,不同时间点取材后,通过扫描电镜观察细胞膜表面超微结构的变化,希望为 SDT 杀伤肿瘤细胞的

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870240,30270383);陕西师范大学校级青年基金项目

作者单位:710062 西安,陕西师范大学生命科学学院

通讯作者:刘全宏,Email:lshaof@snnu.edu.cn

应用提供形态学证据。

材料与方法

一、实验动物和材料

实验用 ICR 系健康小白鼠 150 只,雌性,体重 18 ~ 22 g,由陕西省中医药研究院实验动物中心提供。

实验所用血卟啉衍生物为单羟乙基单乙烯基卟啉,由 Sigma 公司提供,用 0.1 mol/L PBS (pH 值 7.2 ~ 7.4) 避光溶解,调节其终浓度为 5.0 mg/ml,过滤灭菌后,分装于 Eppendorf 管中, -20℃ 避光保存。H-22 腹水瘤细胞系由中国医学科学院药物研究所引进,由陕西省中医药研究院实验动物中心提供。

超声装置的 AG-1020 型功率放大器为美国 T&C 公司产品,超声换能器由陕西师范大学应用声学研究所研制,照射用试管为医用一次性薄壁采血管,经测试证实不影响声透率。实验用超声介质为预冷的静置除汽蒸馏水,以避免超声处理过程中热效应的产生。

LS-50B 型荧光磷光发光仪为 Perkin-Elmer 公司产品, F-2500 型荧光分光光度计购自日本 Hitachi 公司。

二、血卟啉荧光激发光谱和荧光发射光谱测定

血卟啉的荧光光谱是其本身的固有属性。用 0.1 mol/L HCl 配制 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 HpD 溶液,直接用荧光磷光发光仪测定 HpD 的荧光激发光谱和荧光发射光谱。

三、血卟啉标准曲线的绘制

用 0.1 mol/L 的 HCl 配制 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 HpD 溶液,然后分别用稀释不同倍数的 0.1 mol/L HCl 配制不同浓度梯度的 HpD,分别于荧光分光光度计上测定样品的荧光强度。

四、血卟啉在 H-22 肿瘤细胞中的富集试验

将 H-22 肿瘤细胞接种于 ICR 系健康小白鼠腹腔,约接种 1 周后收集腹水细胞,重悬于 0.01 mol/L PBS 中 (pH 值 7.2 ~ 7.4),调节细胞密度为 10^6 个/ml,分装于一次性医用采血管中 (0.5 ml/管)。将各管细胞随机分为 1 个对照组和 9 个实验组,每组 3 管。其中对照组每管加入 10 μl 生理盐水,各实验组每管避光加入 10 μl HpD 溶液,37℃ 避光孵育,并分别于加药后即刻及加药后 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120 和 150 min, 共 9 个时间点取材。每个时间点离心收集细胞后,用 PBS 清洗,用 3 ml 生理盐水重悬细胞,每管细胞中加入 1 ml 0.4 mol/L 的 HCl,调节 HCl 终浓度为 0.1 mol/L,沸水浴 10 min,冷却后以 $250 \times g$ 离心 10 min。取上清,用荧光分光光度计测定各样品中 HpD 的荧光强度 (激发波长为 402 nm,发射波长为 596 nm),然后根据 HpD 标准曲线计算各细胞样品中的 HpD 浓度。

五、不同强度超声结合 HpD 杀伤 H-22 肿瘤细胞

H-22 肿瘤细胞接种于 ICR 系健康小白鼠腹腔约 1 周后,收集腹水肿瘤细胞,重悬于 0.01 mol/L PBS 中 (pH 值 7.2 ~ 7.4),调节细胞密度为 10^6 个/ml,分装于一次性医用采血管中 (0.5 ml/管)。将各管细胞随机分为空白对照组、血卟啉组、超声组和超声结合血卟啉组,每组 3 管细胞。其中血卟啉组和超声结合血卟啉组每管分别加入 10 μl 的 HpD 溶液,空白对照组和超声组则加入等量的 PBS。

各管细胞于 37℃ 培养箱内避光孵育 45 min 后,将超声组和超声结合血卟啉组各管细胞悬液分别置于频率为 1.43 MHz,聚焦强度分别为 1 W/cm²、2 W/cm² 和 3 W/cm² 的超声装置中,处理 120 s。整个实验操作过程在红光条件下进行,以避免日光对 HpD 的激发。分别于超声处理后即刻和 37℃ 避光孵育 2 h 后取材,离心收集各组细胞。PBS 洗涤后,用 2.5% 戊二醛于 4℃ 固定 1 h, PBS 洗涤,用 1% 锇酸于 4℃ 下固定 1 h, PBS 洗涤;梯度乙醇脱水,乙酸异戊酯置换;CO₂ 临界点干燥,喷镀。于日立 S-570 型扫描电镜下观察、拍照。

六、统计学分析

实验数据应用 Excel 软件做线性回归分析,采用单因素方差分析进行显著性检验。

结 果

一、HpD 荧光激发光谱和荧光发射光谱

HpD 的最大荧光激发波长为 402 nm,最大荧光发射波长为 596 nm。见图 1。

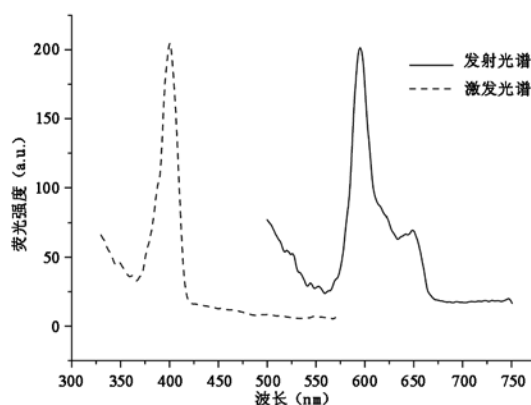


图 1 HpD 的荧光激发光谱和荧光发射光谱

二、HpD 浓度与荧光强度的关系

根据不同浓度的 HpD 溶液测得所对应的荧光强度,绘制出 HpD 浓度-荧光强度标准曲线,见图 2。相关回归分析显示, HpD 浓度与荧光强度呈正相关。回归方程: $y = 375.24x + 8.6924$ ($r = 0.9965$, $P <$

0.05)。

三、HpD 在 H-22 肿瘤细胞内的富集

加药后不同时间点取材,测得细胞内 HpD 荧光强度以及所对应的 HpD 浓度,见表 1。HpD 在 H-22 肿瘤细胞内富集的时间-浓度关系见图 3。结果表明,加入 HpD 后,H-22 肿瘤细胞对 HpD 的吸收有一个随时间变化的过程,细胞内 HpD 的含量先逐渐增加,45 min 时达到峰值,随后开始下降,60 min 以后趋于稳定。

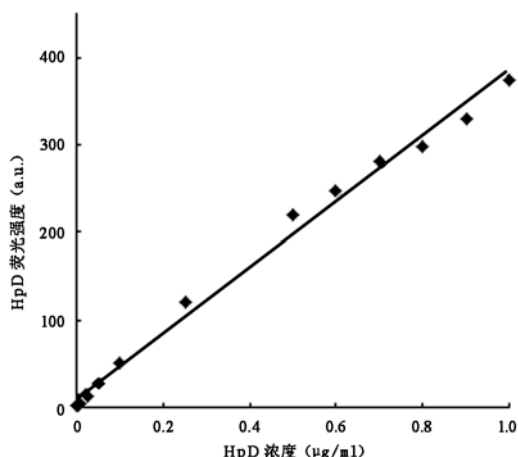


图 2 HpD 浓度-荧光强度标准曲线

表 1 HpD 在 H-22 肿瘤细胞内荧光强度随时间延长的变化

取材时间	荧光强度 (a. u.)	浓度 (μg/ml)
0 min	54.89	0.1231
15 min	82.94	0.1979
30 min	88.03	0.2114
45 min	194.70	0.4956
60 min	89.92	0.2165
75 min	93.54	0.2261
90 min	88.61	0.2130
120 min	72.88	0.1711
150 min	72.93	0.1712

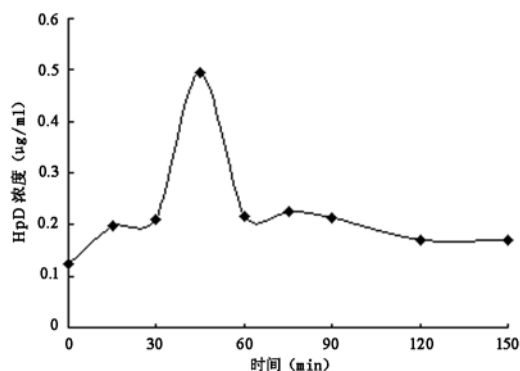


图 3 HpD 在 H-22 肿瘤细胞内随时间延长的浓度变化

四、不同强度的聚焦超声结合 HpD 对 H-22 肿瘤

细胞的杀伤作用

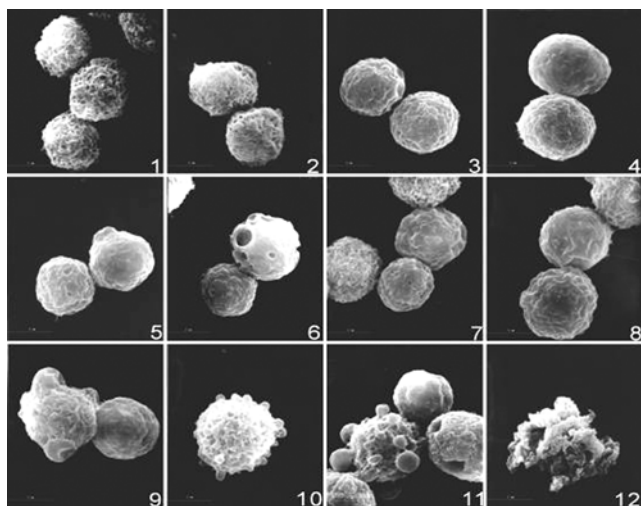
1. 即时取材的各组细胞:扫描电镜下观察到,空白对照组肿瘤细胞多呈圆球形,表面有丰富致密的微绒毛(图 4-1)。超声组中,经强度为 1 W/cm^2 的超声处理细胞与空白对照组无明显差别,仅微绒毛数量稍有减少;经强度为 2 W/cm^2 的超声处理细胞形态变化不太明显,细胞表面微绒毛数量大量减少,有变钝变平的趋势(图 4-2);当超声强度增至 3 W/cm^2 时,细胞形态稍有变形,表面微绒毛锐减,出现不规则的片层结构(图 4-3)。血卟啉组与对照组相比,细胞形态变化不显著。超声结合血卟啉组中,经强度为 1 W/cm^2 的超声处理细胞表面微绒毛锐减(图 4-4);超声强度为 2 W/cm^2 时,细胞表面变得较光滑,受损程度相对较重,部分细胞膜结构破坏,表面出现突起和小孔洞等(图 4-5);当超声强度增至 3 W/cm^2 时,细胞形态发生明显改变,细胞表面出现大量孔状结构,微绒毛全部消失(图 4-6)。

2. 2 h 取材的各组细胞:空白对照组细胞相对于 0 h 取材时几乎没有差别,表面微绒毛丰富而致密。超声组中,超声强度为 1 W/cm^2 时,细胞表面微绒毛几乎消失,部分细胞膜轻微凹陷,表面呈现出规则的片层结构(图 4-7);超声强度为 2 W/cm^2 时,细胞受损程度加重,表面相对光滑,出现大量片层或嵴状结构(图 4-8);超声强度增至 3 W/cm^2 时,细胞明显变形,部分细胞出现粗指状突起(图 4-9)。血卟啉组与空白对照组比较,细胞表面微绒毛仍然较丰富,但锐度稍减小。超声结合血卟啉组中,超声强度为 1 W/cm^2 时,细胞表面微绒毛锐减,大多数细胞变形,出现明显的泡状外突(图 4-10);强度为 2 W/cm^2 时,细胞严重变形,部分细胞呈现典型的“凋亡小体”样结构,部分细胞受损严重,出现膜孔洞,内容物流失(图 4-11);当超声强度增至 3 W/cm^2 时,大多细胞无明显形态,细胞膜受损、细胞质丧失现象严重,个别细胞分裂为残余小体,出现细胞碎片(图 4-12)。

讨 论

SDT 是基于超声和某一种化学物质(声敏剂)的联合效应上,通过使超声聚焦于肿瘤特定部位,激活与肿瘤有亲合性的声敏剂,从而针对性地杀伤肿瘤细胞。加上超声装置简单、价格低廉、操作方便等优点,SDT 被认为是一种前景很好的抗肿瘤方法。

SDT 杀伤肿瘤细胞的一个重要特点是,声敏剂可以在肿瘤细胞内滞留并被超声激活,产生抗肿瘤因子,从而杀伤肿瘤细胞。因此,明确肿瘤细胞内 HpD 的含量是 SDT 疗法的一个重要前提^[8,9]。本实验首先测得 HpD 的荧光光谱特性,通过荧光分光光度法检测血卟



注:1. 空白对照组细胞(即时取材细胞);2. 超声组,超声强度为 2 W/cm^2 (即时取材细胞);3. 超声组,超声强度为 3 W/cm^2 (即时取材细胞);4. 超声结合血卟啉组,超声强度为 1 W/cm^2 (即时取材细胞);5. 超声结合血卟啉组,超声强度为 2 W/cm^2 (即时取材细胞);6. 超声结合血卟啉组,超声强度为 3 W/cm^2 (即时取材细胞);7. 超声组,超声强度为 1 W/cm^2 (2 h 取材细胞);8. 超声组,超声强度为 2 W/cm^2 (2 h 取材细胞);9. 超声组,超声强度为 3 W/cm^2 (2 h 取材细胞);10. 超声结合血卟啉组,超声强度为 1 W/cm^2 (2 h 取材细胞);11. 超声结合血卟啉组,超声强度为 2 W/cm^2 (2 h 取材细胞);12. 超声结合血卟啉组,超声强度为 3 W/cm^2 (2 h 取材细胞)

图4 不同处理组 H-22 肿瘤细胞的扫描电镜观察

啉在 H-22 腹水瘤细胞内的富集情况,为 SDT 杀伤肿瘤细胞提供最佳的超声处理时间点。结果表明,HpD 的最大荧光激发波长为 402 nm ,最大荧光发射波长为 596 nm ,这与文献报道略有差异(最大激发波长 405 nm 、最大荧光发射波长 598 nm)^[10]。我们认为,这可能是由于 HpD 受到不同处理条件的影响,如不同的 pH 值、不同溶剂以及不同温度等,也可能是因为 HpD 在溶液中发生光谱漂移,故需根据现有的实验条件及不同溶剂进行测量,令实验结果更为可靠。富集试验结果显示,加入 HpD 后,H-22 肿瘤细胞内 HpD 含量先逐渐增加,45 min 时达到峰值,之后下降,60 min 以后趋于稳定。提示加药后 45 min,H-22 肿瘤细胞内 HpD 含量最高,被超声激活后可产生最大量的抗肿瘤因子,对肿瘤细胞的杀伤作用最大,故 45 min 即为超声激活血卟啉杀伤肿瘤细胞的最佳声照处理时间点。

我们选择最佳声照处理时间点,采用不同强度的聚焦超声激活血卟啉,通过扫描电镜观察其对不同时间取材的 H-22 肝癌腹水瘤细胞的杀伤作用。实验结果显示,血卟啉组即时取材细胞几乎没有变化,2 h 取材细胞有轻微的改变,表现在微绒毛稍有减少以及有变钝的趋势。这说明血卟啉长时间作用可能会对肿瘤细胞产生一定的损伤,但不足以杀死细胞,与 Malik 等^[11]的研究结果一致。单纯超声作用对 H-22 腹水瘤

细胞有一定的杀伤效应,并且随着超声强度的增大和取材时间的延迟,细胞受损程度逐步加深。即时取材的超声组细胞形态变化不明显,膜表面微绒毛随着超声强度的增加逐渐减少,且变粗变钝,直到消失。2 h 取材的超声组细胞,随着超声强度的增大,部分细胞变形,膜表面出现小泡状突起。单一的超声对细胞的损伤机制目前还不太确定,其对细胞膜表面结构的损伤可能是影响了细胞骨架成分以及细胞膜的通透性^[12,13]。超声结合血卟啉对肿瘤细胞的杀伤效应比同等条件下单纯超声的作用更为明显,这与前期的研究工作结果一致^[14]。实验结果显示,随着超声强度的增大和取材时间的延迟,观察到细胞膜表面出现泡状突起、凋亡小体样结构以及细胞碎片,说明超声激活血卟啉对 H-22 肿瘤细胞可能存在直接杀伤或其它损伤机制。对这种协同作用的解释,目前主要是单线态氧机制及自由基理论等^[15]。该理论认为,声动力学效应是由于超声的空化作用,在空化泡内产生局部高温和高压,出现声致发光现象,激活空化泡内或邻近的 HpD 分子,产生具有细胞毒性的单线态氧,引发膜脂质过氧化,使细胞溶解。但就细胞结构及其生长环境的差异及细胞具有的抗氧化和修复能力而言,最终导致肿瘤细胞死亡可能还存在其他因素的协同作用,有待进一步研究。

总之,迄今为止,SDT 抗肿瘤效应的研究还处于实验探索阶段。所使用的血卟啉衍生物有:血卟啉、卟啉 II、原卟啉、ATX-70 等;所用的超声类型有:单频超声、复频超声和聚焦超声等;细胞存活检测手段包括:台盼蓝拒染法、MTT 法、荧光光谱法、集落形成法等;声动力学机制研究包括:自由基清除剂的使用、电子自旋共振捕捉技术等。声敏剂、超声处理参数、检测方法以及研究所用的生物系统模型可能共同决定了 SDT 的效果^[16,17]。

目前,国外学者侧重于从声化学产生的细胞杀伤作用来研究 SDT 的抗肿瘤机制,本实验通过形态学观察,反映了不同强度的聚焦超声激活血卟啉对 H-22 肿瘤细胞产生的不同程度的损伤,从生物学角度根据肿瘤组织细胞自身结构特点的变化,探讨了细胞从受损到死亡的形态学规律,为 SDT 治疗肿瘤的理论 and 临床应用提供了依据。

参 考 文 献

- [1] Umemura S, Yumita N, Nishigaki R, et al. Mechanism of cell damage by ultrasound in combination with hematoporphyrin. *Jpn J Cancer Res*, 1990, 81: 962-966.
- [2] Yumita N, Nishigaki R, Umemura K, et al. Sonochemical activation of hematoporphyrin: an ESR study. *Radiat Res*, 1994, 138: 171-176.
- [3] Jin ZH, Miyoshi N, Ishiguro K, et al. Combination effect of photody-

- namic and sonodynamic therapy on experimental skin squamous cell carcinoma in C3H/HeN mice. *J Dermatol*, 2000, 27: 294-306.
- [4] Miyoshi N, Igarashi T, Riesz P. Evidence against singlet oxygen formation by sonolysis of aqueous oxygen-saturated solutions of Hematoporphyrin and rose bengal. The mechanism of sonodynamic therapy. *Ultrason Sonochem*, 2000, 7: 121-124.
- [5] Hristov PK, Petrov LA, Russanov EM. Lipid peroxidation induced by ultrasonication in Ehrlich ascitic tumor cells. *Cancer Lett*, 1997, 121: 7-10.
- [6] 刘全宏, 孙世惠, 肖娅萍, 等. 超声激活血卟啉对 S180 细胞杀伤作用及形态学研究. *中国科学 C 辑*, 2003, 46: 253-262.
- [7] 刘全宏, 刘书媛, 齐浩, 等. 声化学诱导艾氏腹水瘤细胞凋亡机制初探. *动物学报*, 2005, 51: 1073-1079.
- [8] 陈祖林, 单治堂, 罗云生, 等. SW480 癌细胞内光敏剂含量检测. *中华物理医学杂志*, 1997, 19: 72-74.
- [9] 于廷和, 蔡汉钟, 伍烽, 等. 低频超声增强阿霉素对卵巢癌细胞毒作用研究. *中华物理医学与康复杂志*, 2001, 23: 26-28.
- [10] 王克琴, 梁亚云. 血卟啉衍生物在生物体内的荧光测定法. *药学通报*, 1986, 21: 84-86.
- [11] Malik Z, Djaldetti M. Destruction of erythroleukemia, myelocytic leukemia and Burkitt lymphoma cells by photoactivated protoporphyrin. *Int J Cancer*, 1980, 26: 495-500.
- [12] Ogawa K, Tachibana K, Uchida T, et al. High-resolution scanning electron microscopic evaluation of cell-membrane porosity by ultrasound. *Med Electron Microsc*, 2001, 34: 249-253.
- [13] Yu T, Huang X, Hu K, et al. Mechanisms of reversal of adriamycin resistance in human ovarian carcinoma cell line by ultrasound. *Int J Gynecol Cancer*, 2004, 14: 76-81.
- [14] 吴二林, 任耀辉, 齐浩, 等. 超声激活血卟啉对腹水型艾氏腹水瘤超微结构的影响. *解剖学报*, 2005, 36: 292-295.
- [15] Worthington AE, Thompson J, Rauth AM, et al. Mechanism of ultrasound enhanced porphyrin cytotoxicity. Part I: a search for free radicals effects. *Ultrasound Med Biol*, 1997, 23: 1095-1105.
- [16] Rosenthal LZ, Sostaric J, Piesz P. Sonodynamic therapy: a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound. *Ultrason Sonochem*, 2004, 11: 349-363.
- [17] Yu T, Wang Z, Mason TJ. A review of research into the uses of low level ultrasound in cancer therapy. *Ultrason Sonochem*, 2004, 11: 95-103.

(修回日期: 2007-07-11)

(本文编辑: 吴倩)

· 短篇论著 ·

低频电刺激治疗小儿脑瘫的临床观察

何正慧 林俊 熊萍 郝玉华 施兰姣 王耀平 李洪

小儿脑性瘫痪(cerebral palsy, CP)是指多种原因引起的脑部器质性损害所致的中枢性运动障碍与姿势异常,可合并智力、言语等功能障碍^[1]。由于 CP 治疗复杂,目前尚无理想疗法。近年来,我们采用低频电刺激配合综合疗法治疗 CP,取得一定的效果,现报道如下。

一、资料与方法

符合全国小儿 CP 座谈会制订的诊断及分类标准^[2]的 CP 患儿 96 例,其中男 61 例,女 35 例。将 96 例患儿随机分为两组,电刺激组患儿 49 例,按年龄段分为 3~5 个月(低龄)11 例,6~12 个月(中龄)16 例,13 个月~3 岁(高龄)22 例;痉挛型 35 例,手足徐动型 7 例,肌张力低下型 3 例,混合型 4 例。对照组患儿 47 例按年龄段分为 3~5 个月(低龄)11 例,6~12 个月(中龄)15 例,13 个月~3 岁(高龄)21 例;痉挛型 33 例,手足徐动型 9 例,肌张力低下型 2 例,混合型 3 例。2 组一般资料经统计学分析,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

对照组采用药物、高压氧、按摩、运动发育疗法、心理行为指导及护理指导综合疗法^[3]。电刺激组在对照组的基础上增加低频电刺激(上海产 JD-2008 脑循环功能治疗仪),频率 50 Hz,电流强度 25 μ A,选择模式 3,根据患者个体敏感度进行调节,主电极置于双侧乳突穴,辅电极置于双侧太阳穴,每次 30 min,每日 1 次,20 d 为 1 个疗程,共 3 个疗程,疗程间隔

10 d。

评定方法:治疗结束后分别进行发育商(development quotient, DQ)评价。DQ 检测采用“0~4 岁小儿发育诊断量表”^[4]。按大运动、精细运动、认知能力、言语、社会适应五方面内容进行评定,然后对相应年龄段的 2 组的 DQ 进行比较。

统计学分析:测得数据用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

二、结果

2 组各年龄段患儿临床疗效的比较见表 1。

三、讨论

目前治疗 CP 的方法很多,我科曾采用多种康复治疗方法对 CP 患儿进行综合治疗,取得了一定的效果^[3]。在此基础上,我们采用低频电磁刺激对 49 例 CP 患儿进行治疗,结果显示,电刺激治疗后,各年龄段患儿在适应性、大运动等方面的 DQ 值明显高于对照组($P < 0.05$);低年龄段精细动作、言语及社交等方面 DQ 有改善,而中、高年段 2 组间差异无统计学意义($P > 0.05$),提示低频电刺激在 CP 的康复方面起到一定的作用,而且应用越早,效果越好。

CP 脑组织坏死区的周围尚存在着相当范围的可逆性损害区带,其恢复机制主要与脑的可塑性有关^[5],即神经功能损伤后,中枢神经系统结构和功能上具有代偿和功能重组能力。近年来国内外研究证明,低频电刺激小脑区可明显增加局部脑血流量。其改善脑循环的主要机制是:①脑内存在一条由小脑