

目前认为平衡功能的维持,除了需要人体结构的完整对称、大脑平衡反射调节、小脑共济协调系统以及良好的肌力、肌张力外,前庭系统、视觉系统、身体本体感觉系统、手脚的精细触觉等也都起到十分重要的作用^[7]。平衡障碍是脑卒中患者常见的后遗症,对患者进行平衡功能的训练时,在睁眼状态下可训练前庭、视觉、本体觉、手脚精细触觉等感受器,同时维持平衡的能力,闭目状态的训练下则排除了视觉的影响。通过此种平衡训练可改善偏瘫患者常见的身体重心向健侧偏移,患侧肢体的负重能力差等不足,为步行做好充分准备。

通过对视野缺损的训练,可以使患者了解自身的缺陷,学会通过自身姿势的变化来弥补视野不足,从而能改善各种因视野缺损造成的身体姿势异常和步态异常。

综上所述,通过大量反复感觉刺激的输入能够使患者的运动及感觉功能得到更大的改善,提示感觉康复训练在脑卒中后的康复中能起到积极作用,应予以重视,以期最大限度改善患者功能,达到全面

康复的目的。

参 考 文 献

- [1] 胡永善,主编.新编康复医学.上海:复旦大学出版社,2005:172-173.
- [2] 中华神经科学会,中华神经外科学会.各类脑血管疾病诊断要点.中华神经科杂志,1996,29:379-380.
- [3] 燕铁斌,窦祖林,主编.实用瘫痪康复.北京:人民卫生出版社,1999:410-411.
- [4] 张弛,王惠芳.膝关节本体感觉康复研究的进展.中华物理医学与康复杂志,2000,22:373-374.
- [5] 王彤,宋凡,万里,等.偏瘫患者平衡功能测定及相关的分析.中华物理医学与康复杂志,2000,22:12-14.
- [6] Perlau R, Frank C, Fick G. The effect of elastic bandages on human knee proprioception in the uninjured population. Am J Sports Med, 1995, 23:261-265.
- [7] 姚波,金建明,霍文璟,等.老年人下肢伸膝肌力对平衡功能的影响.中华物理医学与康复杂志,2006,28:466-468.

(修回日期:2007-02-03)

(本文编辑:阮仕衡)

· 研究简报 ·

热敏脂质体洛莫司汀热靶向化疗的实验研究

张丙杰 迟令懿 李永刚 祝侠丽 李牧 张娜 滕良珠 朱树干

目前认为,恶性胶质瘤对化疗不敏感的原因可能是在不引起并发症的前提下肿瘤处的药物剂量不足。热敏脂质体组成的纳米储药微囊在生理温度下能保持相对稳定,在高温处则释放所包含的药物,使该处的药物浓度大大提高,与局部间质内热疗起到协同作用,以达到最大程度杀伤肿瘤并减少对正常组织伤害的目的。本研究拟探讨热敏脂质体洛莫司汀(Lomustine)热靶向化疗的合适化疗药物浓度,旨在为热靶向化疗提供理论基础。

材料与方法

一、实验材料

C6 胶质瘤细胞株由山东大学齐鲁医院中心实验室提供;热敏脂质体洛莫司汀冻干粉针和洛莫司汀原料药由山东潍坊制药厂提供,批号为 0407052;四甲基偶氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)为美国 Sigma 公司产品;0.25% 胰蛋白酶为德国 Merck 公司产品;Dulbecco 改良 Eagle 培养基(Dulbecco's modified Eagle's Medium, DMEM)培养液购自美国 Gibc 公司;96 孔细胞培养板为美国 Costar 公司产品;苏州产 YJ-1450 医用净化工作台;湖北黄石产 DHP-781 电热恒温培养箱;日本产 VU2260 紫外分光光度计;芬兰产 Multiskan Mk3 型自动酶标读

数仪;美国产 Force-7 型离心机。

二、实验方法

于含 10% 血清的 DMEM 培养基(加入青霉素 10 万 U/L,链霉素 100 mg/L)中培养大鼠 C6 胶质瘤细胞,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱培养至对数生长期。取贴壁生长的 C6 细胞,在无菌条件下用 Hank 液漂洗 2 次,置于 0.25% 胰蛋白酶中消化,再用 Hank 液漂洗 2 次,制成单细胞悬液。用锥虫蓝测试细胞活性,确定肿瘤细胞活性达 95% 以上,再用含 10% 小牛血清的 DMEM 培养液调整浓度为 $(1 \sim 5) \times 10^8$ 个/L。取上述细胞液 0.1 ml,置于 96 孔细胞培养板中预培养 4 h 后加入配置的药物,每孔 20 μl。

根据所加入药物的不同分为热敏脂质体洛莫司汀组、游离洛莫司汀组(游离组)和对照组,其中游离组药物未被热敏脂质体包裹,对照组仅加入 DMEM 培养液,每组 10 孔。热敏脂质体洛莫司汀组再根据药物不同的稀释倍数分为 3 mg/ml 组(未稀释)、1.5 mg/ml 组(稀释 2 倍)、0.75 mg/ml 组(稀释 4 倍)、0.375 mg/ml 组(稀释 8 倍)和 0.3 mg/ml 组(稀释 10 倍)。各组给予恒温水浴不加热(37℃)、45℃ 加热 10 min 和 45℃ 加热 30 min 三种处理方式。热敏脂质体洛莫司汀均用 DMEM 培养液配制,游离洛莫司汀由 0.9% NaCl、10% 乙醇和 2% Tween 80 于用前配制成溶液,所含洛莫司汀浓度为临床治疗剂量的血峰值(3 mg/ml)。

各组细胞于 37℃、5% CO₂ 中培养 68 h 后,每孔再加入新

作者单位:300192 天津,天津市第一中心医院神经外科(张丙杰、李牧);山东大学(迟令懿、李永刚、祝侠丽、张娜、滕良珠、朱树干)

配制的 0.5% MTT 20 μ l, 离心 10 min, 吸去上清液, 每孔加入 5 g/L 二甲亚砜 20 μ l, 使 MTT 彻底溶解。用 490 nm 滤光片在自动酶标读数仪上比色, 测出每孔吸光度值。

按下列公式计算不同药物浓度和温度下, 洛莫司汀对肿瘤细胞的抑制率。抑制率 = (对照吸光度 - 加药吸光度) / 对照吸光度 $\times 100\%$ 。抑制率 $\geq 30\%$ 为敏感, 抑制率 $< 30\%$ 为不敏感。

三、统计学分析

应用 Excel 2000 软件进行数据分析, 采用单因素方差分析对各组样本吸光率进行两两比较。

结 果

对照组 45℃ 加热 10 min 与不加热时吸光度比较, 差异无

统计学意义 ($P > 0.05$), 对照组加热 30 min 时吸光度明显下降, 与加热 10 min 和不加热时相比, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。不加热时, 3 mg/ml 组与游离组吸光度相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而分别加热 10 min 和 30 min (45℃) 后, 3 mg/ml 组与游离组吸光度相比, 吸光度下降, 抑制率提高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。按热敏脂质体洛莫司汀浓度分析, 不加热以及加热 10 min 和 30 min 时 (45℃), 稀释 8 倍 (0.375 mg/ml 组) 和稀释 10 倍 (0.3 mg/ml 组) 的吸光度比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 且抑制率较低; 其余各组随热敏脂质体洛莫司汀浓度的降低, 吸光度增高, 而抑制率下降; 加热 30 min 时 (45℃), 较低浓度的热敏脂质体洛莫司汀, 仍有较高的肿瘤细胞抑制率。各组吸光度及抑制率结果见表 1。

表 1 各组平均吸光度及抑制率的比较

组 别	不加热		45℃ 加热 10 min		45℃ 加热 30 min	
	吸光度 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	吸光度 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	吸光度 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)
对照组	0.739 $\pm$ 0.089	—	0.785 $\pm$ 0.052	—	0.686 $\pm$ 0.070 ^c	—
游离组	0.495 $\pm$ 0.029	33.04 ^a	0.497 $\pm$ 0.067	36.75 ^a	0.438 $\pm$ 0.033	50.52 ^a
热敏脂质体洛莫司汀组						
3 mg/ml 组	0.478 $\pm$ 0.090	35.35 ^a	0.323 $\pm$ 0.121 ^b	58.87 ^a	0.250 $\pm$ 0.029 ^b	71.69 ^a
1.5 mg/ml 组	0.597 $\pm$ 0.088	19.29	0.567 $\pm$ 0.079	27.82	0.391 $\pm$ 0.067	55.84 ^a
0.75 mg/ml 组	0.617 $\pm$ 0.095	16.62	0.719 $\pm$ 0.059	8.39	0.532 $\pm$ 0.054	39.92 ^a
0.375 mg/ml 组	0.627 $\pm$ 0.066	1.64	0.726 $\pm$ 0.057	5.04	0.625 $\pm$ 0.131	29.45
0.3 mg/ml 组	0.699 $\pm$ 0.079	5.41	0.740 $\pm$ 0.075	5.74	0.619 $\pm$ 0.135	30.13 ^a

注: ^a 抑制率 $\geq 30\%$, 肿瘤细胞对治疗敏感; 与游离组比较, ^b $P < 0.05$; 与不加热及加热 10 min 时吸光度比较, ^c $P < 0.05$

讨 论

目前脑胶质瘤的治疗是以手术及术后的放、化疗为主要手段。然而临床应用化疗效果并不理想, 并且毒副作用明显。热靶向化疗有效地利用了脂质体和热疗的双重优势来提高疗效, 降低毒副作用。在正常的体温下, 脂质体膜呈致密排列的胶晶态, 药物很难透过脂质体膜扩散出来。当脂质体随血液循环经过被加热的靶器官时, 脂质体膜的结构发生变化, 原来排列整齐致密的胶晶态磷脂双分子层在较高温度中变成疏松混乱的液晶态。这种结构的变化导致脂质体膜的通透性发生改变, 脂质体内部包封的药物借助跨膜浓度梯度而大量扩散到靶器官中, 在靶部位形成较高的药物浓度, 对周围的肿瘤细胞产生较强的杀伤作用, 从而起到局部化疗的作用; 还与局部间质内热疗起到协同作用, 最大程度地杀伤肿瘤。因此, 热靶向化疗时, 降低化疗药物浓度也能达到与全身化疗相同的疗效, 从而明显降低化疗药物引起的毒副作用。同时, 在未加热的器官中, 药物浓度比较低, 对正常细胞产生的杀伤作用很小, 故可使化疗药物所致的恶心、呕吐等副作用明显降低, 减轻患者的痛苦, 增加用药的依从性^[1,2]。

为探索合适的热化疗剂量, 我们观察了加热 (45℃ 10 min 和 45℃ 30 min) 和不加热状态下, 不同浓度的热敏脂质体洛莫司汀对肿瘤细胞抑制率的影响, 并与对照组和游离组进行比较。结果显示不加热时, 3 mg/ml 组与游离组吸光度相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而分别加热 10 min 和 30 min (45℃) 后, 3 mg/ml 组与游离组吸光度相比, 吸光度下降, 抑制率提高, 差异

均有统计学意义 ($P < 0.05$)。这说明热敏脂质体包封洛莫司汀对其肿瘤细胞抑制率无明显影响, 而受热后可明显提高抑制率。对照组加热 10 min 与不加热时吸光度比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 对照组加热 30 min 时吸光度明显下降, 与加热 10 min 和不加热时相比, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。这提示我们要提高肿瘤细胞抑制率, 加热时间 (45℃) 应超过 10 min。按热敏脂质体洛莫司汀浓度分析, 不加热以及加热 10 min 和 30 min 时 (45℃), 稀释 8 倍 (0.375 mg/ml 组) 和稀释 10 倍 (0.3 mg/ml 组) 的吸光度比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 且抑制率较低; 其余各组随热敏脂质体洛莫司汀浓度的降低, 吸光度增高, 而抑制率下降。这反映了热敏脂质体洛莫司汀的抗肿瘤作用具有一定的浓度依赖性。且加热 30 min 时 (45℃), 较低浓度的热敏脂质体洛莫司汀, 仍有较高的肿瘤细胞抑制率。

总之, 我们的研究结果显示, 热敏脂质体包封洛莫司汀进行热靶向化疗可以减少洛莫司汀的用量, 减少其毒副作用, 提高抗肿瘤疗效, 为热敏脂质体洛莫司汀热靶向化疗治疗提供了实验基础。

参 考 文 献

- [1] 张灵芝. 脂质体制备及其在生物医学中的应用. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998: 5, 11.
- [2] Zadi B, Gregoriadis G. A novel method for high-yield entrapment of solute into small liposomes. J Liposome Res, 2000, 10: 73-80.

(修回日期: 2006-12-11)

(本文编辑: 吴 倩)