



· 论 著 ·

经鼻腔给药的替莫唑胺脑靶向制剂对大鼠胶质瘤的疗效观察

孙晓谦, 陈家康^{通讯作者} (广西柳州市工人医院神经外科, 广西柳州 545005)

摘要: **目的** 观察经鼻腔给药的替莫唑胺脑靶向制剂对大鼠胶质瘤的效果。**方法** 通过接种 C6 胶质瘤细胞, 获得 40 只大鼠胶质瘤模型, 将其随机分为 A、B、C、D 四组, 每组各 10 只。A 组采用静脉注射替莫唑胺, B 组采用口服替莫唑胺、C 组经鼻腔脑靶向制剂, D 组采用生理盐。对其进行治疗后, 观察大鼠肿瘤的大小、生存期以及病理学改变。**结果** C 组的大鼠脑胶质瘤的体积增长明显低于其他三组, 其中位生存时间明显高于其他三组。经 HE 染色证明所有大鼠均接种胶质瘤, C 组的 PCNA 表达低于其它三组。所有数据对比差异显著, 具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 经鼻腔给药的替莫唑胺脑靶向制剂对能够有效抑制肿瘤细胞增长, 可作为治疗脑胶质瘤的新型制剂, 加深研究。

关键词: 鼻腔给药 C6 胶质瘤细胞 替莫唑胺 靶向制剂

中图分类号: R739.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187 (2016) 11-048-02

胶质瘤是较为常见的颅内肿瘤, 其起源于脑部的神经胶质细胞, 发病率约占颅内肿瘤的 40%。近年来, 原发性的恶性脑肿瘤的发生率逐渐升高, 恶性胶质瘤浸润生长, 尽管可以进行手术切除治疗, 但是复发率极高, 并且放疗无法治疗部分类型的胶质瘤, 使患者产生化疗药物耐药情况, 因此, 脑胶质瘤的治疗成为了临床上备受关注的问题^[1]。替莫唑胺属于咪唑四嗪类抗肿瘤药物, 其生物利用度高, 可通过血脑屏障, 且抗肿瘤谱广。替莫唑胺在国内均以胶囊剂、冻干粉针剂等形式销售, 其服用剂量较大, 价格昂贵, 使用后可能出现畸形、生殖器官毒性等副作用, 不仅带给患者巨大的经济负担, 其预后效果不理想。本文通过建立大鼠 C6 胶质瘤模型, 观察了替莫唑胺经鼻腔给药治疗脑胶质瘤的效果, 现将结果报告如下:

1 资料与方法

1.1 细胞株及主要试剂 ① C6 胶质瘤细胞 (购于中国科学院典型培养保藏委员会细胞库); ② 小牛血清、DMEM 培养液、胰蛋白酶 (由杭州四季青生物技术有限公司提供); ③ 10% 水合氯醛 (由解放军总医院提供); ④ 骨蜡 (购于德国 Tuliggen 公司); ⑤ 氯化钠溶液 (北京双鹤药业); ⑥ 吖酚蓝染液、Hanks 液。

1.2 试验器材 ① 大鼠脑立体定位仪; ② 电子注射泵; ③ 微量移液器; ④ IMT-413 型倒置显微镜; ⑤ 电热恒温培养箱; ⑥ 电动牙科钻; ⑦ CO₂ 培养箱; ⑧ 离心机; ⑨ 培养瓶及 10μl 微量注射器。

1.3 研究方法

1.3.1 细胞培养 将大鼠 C6 胶质瘤置于 10% 小牛血清 DMEM 完全培养液中培养, 每隔 24h 更换 1 次培养液。培养瓶放入消化离心后的 0.25% 胰酶, 加入培养液, 待细胞密度达到 70%—80%, 将 0.25% 胰酶消化, 将收集的消化液离心后去掉上层的清液, 吹打 Hanks 液支撑细胞悬液放置于 1—2×10⁵/ul, 37℃ 水中保存, 吖酚蓝染液排斥检测细胞活力 > 25%。每只大鼠接种 1—2×10⁶/ul。

1.3.2 细胞接种 测量大鼠的体重并标记, 以 3.5ml/kg 的 10% 水合氯醛丰腹腔注射麻醉大鼠, 将大鼠头部毛发剃去, 消毒后铺好洞巾。于内眦连线与头部正中矢状面的交点处向后延伸剪开 1.5cm 的切口, 分离头骨后, 确定右侧尾核靶点位于冠状缝后方 1mm, 矢状缝后 3mm, 使用电子牙科钻打开头颅。将大鼠固定于立体定位仪上, 10μl 微量注射剂抽取 C6 细胞悬液, 于骨孔处入针至硬膜下 6mm, 在退回 1mm, 将自动进液器的注射速度设置为 1μl/min, 注射 10min, 结束后留针 10min。骨蜡封闭骨孔后, 生理盐水冲洗, 缝合切口。

1.3.3 分组及治疗 本次实验中共有 40 只建模成功的大鼠, 将其随机分为 A、B、C、D 四组, 每组各 10 只。A 组采用静脉注射替莫唑胺 25mg/kg; B 组采用口服替莫唑胺 25mg/kg; C 组经鼻腔脑靶向制剂 25mg/kg; D 组采用生理盐。所有

大鼠连续治疗 5d。

1.4 观察指标 接种后 1d 使用磁共振检查, 使用 GE Discovery MR750 3.0T 设备厚礼处理平台测量肿瘤的体积, 对比治疗前后肿瘤体积的变化。

1.5 病理学及免疫组织化学检查 经过影像学检查后, 从每组随机抽取 5 只大鼠进行心脏灌流, 将大脑取出后使用 4% PBS 多聚甲醛液固定, 24—48h 后进行病理学检查。剩余的大鼠观察接种肿瘤后的生存时间。

1.6 统计学方法 采用 SPSS16.0 系统软件统计分析资料; 其中计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 并用 t 检验; 计数资料用 χ^2 检验 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 肿瘤体积增长情况 A 组大鼠的肿瘤体积增大值平均为 (34.17±3.55) mm³, B 组平均值为 (35.11±3.31) mm³, C 组平均值为 (12.21±2.48) mm³, D 组平均值为 (60.17±4.13) mm³。D 组未经任何治疗的大鼠肿瘤体积增长值明显高于其他三组, 而 C 组经鼻腔给药的肿瘤体积增长明显低于其他三组, 对比差异显著 ($P < 0.05$), 具有统计学意义。

2.2 生存期对比 40 只大鼠在接种后皮毛失去光泽, 运动量大量减少, 有部分大鼠出现腹泻等情况。接种两周后部分大鼠出现偏袒、眼周淤血及鼻出血等情况, 并开始出现死亡, 直至 40 天全部死亡。四组大鼠的中位生存期时间分别为: A 组 18d、B 组 20.5d、C 组 32d、D 组 20d。可见 C 组大鼠的中位生存时间明显高于其他三组, 对比差异显著 ($P < 0.05$), 具有统计学意义。

2.3 病理学检查结果 所有大鼠脑实质内均可见多片状不规则的肿瘤病灶, 肿瘤细胞的分裂值较为旺盛, 符合脑胶质瘤的病理表现, 见图 1。部分肿瘤组织中央的片状不规则液化, 坏死灶内的肿瘤细胞出现溶解。

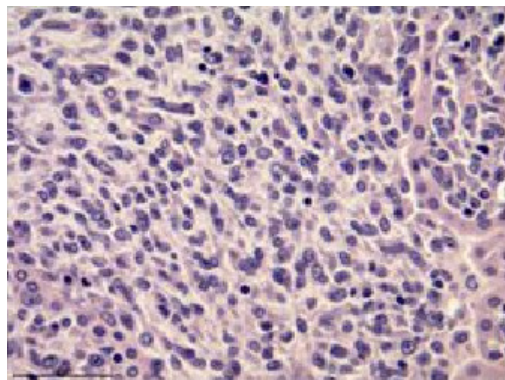


图 1: 脑胶质瘤病灶

3 讨论

(下转第 50 页)



较高。如何有效的对疾病进行预防及控制已经成为目前临床中急需解决的问题。因此,对慢性宫颈炎患者进行相关知识的普及与教育十分必要。

传统的健康教育只是口头简单的向患者及家属灌输宫颈炎方面的知识,缺乏人性化的沟通与交流,护士与患者间也缺乏良性互动。被动的接受教育使得患者不能很好的消化所接收到的疾病知识,疾病预防知晓率依旧较低,遵医行为也不注重,直接对健康教育效果造成影响。而互动式健康教育则是建立在护患友好沟通,关系平等的基础上的一种双向性护理方式,通过建立良好的护患关系,提高患者对护士的信任。互动式护理健康教育可以有效提高患者对宫颈炎疾病的了解,

改善其治疗的态度,提高其治疗依从性。这不仅有助于患者的身体康复,还能很好地缓解护患关系,减轻护理人员的负担。互动式的健康教育使患者从单纯灌输式的单向交流向有组织、有计划、有实施、有评价的双向交流转化,注重与患者的人性化互动,鼓励患者提问题,让患者表达内心的真实的想法与感受,并就其关心的内容进行讨论。从而更好地预防宫颈炎炎症,降低发病率。

综上所述,对宫颈炎患者行互动式的健康教育护理,能有效提升患者的疾病预防知晓率与遵医行为,患者的治疗效果得到了较大的提升,焦虑程度也明显改善,体现了人性化的服务理念,使患者对医院的满意度上升,具有临床推广价值。

表 2: 比较互动式健康教育后两组患者遵医行为 n (%)

组别	n	坚持遵医嘱治疗	正确阴道放药	自我进行护理	按疗程治疗	按时复查
观察组	187	176 (94.1)	174 (93.0)	182 (97.3)	175 (93.6)	18 (96.3)
对照组	183	123 (67.2)	143 (78.1)	112 (61.2)	121 (66.1)	12 (69.9)
χ^2		43.173	16.745	73.948	43.597	45.903
p		< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01

参考文献

[1] 周芳. 临床观察连续性护理健康教育在慢性宫颈炎患者中的应用[J]. 中国医药指南, 2014, 12(17): 390-391.

[2] 李秀芬, 李秀英, 方淑芹, 等. 优质护理在妇科门诊宫颈电

圈切除术治疗中的应用[J]. 中国实用护理杂志, 2014, 30(9):57-59.

[3] Kristi M, Frieda B, Kathleen VD, et al. Cost Effectiveness of treatment strategies for cervical infection among women at high risk in Madagascar[J]. Sexually Transmitted Disease, 2013, 34(3):1-5.

(上接第 47 页)

图像存在差异^[4]。通过对本文所选 100 例患者的研究显示,和病理检查结果进行对比,超声诊断敏感度为 50.0%,特异度为 90.0%,其中敏感度比较低的原因主要为漏诊,由于中央区淋巴结的位置相对比较深,内部结构比较复杂,声束通过此部位的难度比较大,从而导致漏诊率比较高,超声诊断中央区淋巴结转移阳性率为 34.3%,侧颈部淋巴结转移阳性率为 80.0%,主要因为侧颈部淋巴结转移和正常淋巴结形态、血流

以及大小存在显著差异,更加容易分辨,所以超声诊断阳性率显著高于中央区淋巴结转移^[5]。

综上所述,针对甲状腺癌颈部淋巴结转移采取超声检查,主要表现为低回声,椭圆形或是圆形,边界模糊,对于颈部淋巴结诊断特异度比较高,同时对侧颈部淋巴结转移的诊断敏感度比较高,能够成为诊断甲状腺癌颈部淋巴结转移的主要方式,具有临床推广价值。

表 1: 超声对于不同区域淋巴结转移以及单个和多个淋巴结转移的诊断阳性率对比 [例 (%)]

不同区域	病理例数	超声诊断阳性	超声诊断阴性	淋巴结转移个数	病理例数	超声诊断阳性	超声诊断阴性
中央区淋巴结	35	12 (34.3)	23 (65.7)	单个	35	8 (22.9)	27 (77.1)
侧颈部淋巴结	25	5 (20.0)	20 (80.0)	多个	25	15 (60.0)	10 (40.0)
χ^2			18.77				5.04
P			0.01				0.02

参考文献

[1] 黄崑, 赵一, 刘艳君, 等. 甲状腺癌颈部淋巴结转移的超声诊断及分布研究[J]. 中国全科医学, 2013, 16(33):3995-3997.

[2] 丁秋丽, 房世保, 姜彩云, 等. 甲状腺癌颈部淋巴结转移的超声表现及对临床治疗的意义[J]. 中国中西医结合影像学杂志, 2014, 12(5):478-479, 482.

[3] 栗晨, 王辉, 栗玉彬, 等. 彩色多普勒超声及超声造影对甲状腺癌

颈部淋巴结转移的诊断价值[J]. 中华超声影像学杂志, 2014, 23(10):918-919.

[4] Steinkamp HJ, Cornehl M, Hosten N, et al. Cervical lymphadenopathy: ratio of long-to short-axis diameter as a predictor of malignancy[J]. Br J Radiol, 2015, 68(807): 266-270.

[5] Langer JE, Mandel SJ. Sonographic imaging of cervical lymph nodes in patients with thyroid cancer[J]. Neuroimaging Clin N Am, 2013, 18(3): 479-489.

(上接第 48 页)

大鼠 C6 胶质瘤模型的生物学特性与人体胶质瘤的相似,成功建模后肿瘤呈现出浸润性生长、形成新生血管等,因此,可作为理想的人脑胶质瘤动物模型^[2]。替莫唑胺(TMZ)是一种咪唑四嗪类化合物,目前国内上市销售的仅有胶囊剂,服用剂量较大,且成本昂贵,容易产生副作用,不利于推广使用^[3]。而传统的全身性化疗药物多为水溶性,相对分子量较大,无法透过血脑屏障,难以维持药物浓度,因此,寻求一种更加安全的替莫唑胺给药方式显得尤为重要^[4]。在本次研究中,可以发现经 TMZ 鼻腔脑靶向药物组合的治疗效果显著,通过鼻腔给药,可以避免药物通过血脑屏障,降低了药物的毒副作用,直接作用于脑部,在用药后,大鼠的肿瘤体积增长明显低于

其他三组,中位生存时间明显高于其他三组,说明经鼻腔脑靶向给药可作为一种新剂型在脑胶质瘤的治疗中推广使用。

参考文献

[1] 李颖, 高永良, 刘刚等. 经鼻腔给药的替莫唑胺脑靶向制剂对大鼠胶质瘤的治疗效果[J]. 南方医科大学学报, 2014, (5):631-635.

[2] 肖顺武, 张学军, 代垠等. 外源性硫化氢诱导大鼠神经胶质瘤血管形成机制的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, (18):1849-1851.

[3] 王震, 李凯强, 陈秉宇等. 乌骨藤粗提物对大鼠胶质瘤 C6 细胞的体外实验研究[J]. 浙江医学, 2015, 37(10):809-811, 819.

[4] 宋杨英, 张建军, 程天军等. IL-18 基因转染对大鼠胶质瘤体内生长及肿瘤细胞凋亡的影响[J]. 河北北方学院学报(自然科学版), 2016, 32(2):11-15.