



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103417467 A

(43) 申请公布日 2013. 12. 04

(21) 申请号 201210164095. 1

A61P 35/00(2006. 01)

(22) 申请日 2012. 05. 25

A61P 13/12(2006. 01)

(71) 申请人 王世亮

地址 230041 安徽省合肥市庐阳区亳州路街
道濉溪路 290 号 2 幢 501 号

(72) 发明人 王世亮 许健健 吴永贵 尹情胜

陈殿良 马建华 徐德钧 俞敏

任翠丽 周丽春 邵娟

(51) Int. Cl.

A61K 9/00(2006. 01)

A61K 31/573(2006. 01)

A61K 47/34(2006. 01)

A61P 29/00(2006. 01)

A61P 37/08(2006. 01)

A61P 37/06(2006. 01)

A61P 7/04(2006. 01)

A61P 31/04(2006. 01)

A61P 7/00(2006. 01)

A61P 17/00(2006. 01)

权利要求书1页 说明书9页 附图1页

(54) 发明名称

一种地塞米松植入剂

(57) 摘要

本发明涉及一种地塞米松植入剂及其制备方法、用途与用法。该植入剂为圆柱体,直径 0.2mm~1.2mm、长度 1mm~5mm,由地塞米松药物、聚乳酸、聚乙二醇组成,通过压制制成。该植入剂体内释放 90%药物的时间为 7 天~180 天,可通过植药针经皮穿刺植入肾囊内治疗慢性肾炎,或植入需要长时间给地塞米松治疗的部位行区域性持续长时间的药物治疗。

1. 一种地塞米松植入剂,其特征是,它是一种含有地塞米松药物、聚乳酸和聚乙二醇的固体缓释剂,所述地塞米松药物为地塞米松或醋酸地塞米松。

2. 根据权利要求1所述的一种地塞米松植入剂,其特征是,所述聚乳酸为聚 L- 乳酸、聚 D- 乳酸、聚 D, L- 乳酸中的一种或多种,优选聚 L- 乳酸,聚乳酸数均分子量为 8,000 ~ 60,000。

3. 根据权利要求1所述的一种地塞米松植入剂,其特征是,所述聚乙二醇数均分子量为 1,000 ~ 20,000。

4. 根据权利要求1所述的地塞米松植入剂,其特征是,所述固体缓释剂中各组分的重量比为:

地塞米松药物	5 ~ 60
聚乳酸	35 ~ 90
聚乙二醇	0.5 ~ 40。

5. 根据权利要求1所述的地塞米松植入剂,其特征是,所述固体缓释剂体内释放 90% 药物的时间为 7 天 ~ 180 天。

6. 根据权利要求1所述的地塞米松植入剂,其特征是,所述固体缓释剂的释药特征为释放前期有少量的突释,而中期释放平稳,后期释放缓慢直至药物完全释放。

7. 根据权利要求1所述的地塞米松植入剂,其特征是,所述固体缓释剂为圆柱体,直径 0.2mm ~ 1.2mm,长 1 ~ 5mm,优选直径 0.8mm ~ 1.0mm,长 1.5 ~ 3.0mm。

一种地塞米松植入剂

技术领域

[0001] 本发明涉及一种地塞米松植入剂及其制备方法,尤其涉及一种地塞米松植入剂的组成、形状、大小、释药特性和制备方法。

[0002] 本发明还涉及一种地塞米松植入剂的用途和使用方法。

背景技术

[0003] 地塞米松是一种肾上腺皮质激素类药物,具有抗炎、抗过敏、抗风湿、免疫抑制作用,主要用于治疗严重细菌感染和严重过敏性疾病、各种血小板减少性紫癜、粒细胞减少症、严重皮肤病、器官移植的免疫排斥反应、肿瘤治疗及对糖皮质激素敏感的炎症等。

[0004] 在临床上,地塞米松有 3 种化学形式用作药物:地塞米松、醋酸地塞米松和地塞米松磷酸钠。地塞米松极易自消化道吸收,其血浆半衰期为 190 分钟,组织半衰期为 72 小时,肌注地塞米松磷酸钠或醋酸地塞米松后分别于 1 小时和 8 小时达血药浓度峰值。

[0005] 地塞米松临床上常用于局部炎症的治疗,如眼部炎症、肾炎、关节炎等。

[0006] 慢性肾小球肾炎为临床上常见的一种肾病,目前主要的治疗方法为长期大剂量口服或静脉注射地塞米松等肾上腺皮质激素类药物。这种大剂量皮质激素全身给药方式在治疗的同时也带来了严重的药物毒副作用。

[0007] 为避免这些毒副作用,近年来一些学者研究肾囊内局部注射皮质激素治疗肾炎并取得了较好的效果,在有效治疗肾小球肾炎的同时,避免或大大减少了药物给全身带来的毒副作用。

[0008] 王勇等报道了“肾囊内注射甲基强的松龙治疗原发性肾小球肾炎临床疗效观察”,该研究观察了肾脏脂肪囊(肾囊)内注射甲基强的松龙治疗原发性肾小球肾炎的近期临床治疗效果。研究方法:9 例肾活检证实为原发性肾小球肾炎病人,在 B 超引导下向每侧肾囊内注射甲基强的松龙(MP)40mg,每周 2 次,共 10 次,治疗前后观察病人的尿蛋白、血压及血清白蛋白、肌酐等变化。结果表明 9 例病人中 8 例(88.9%)病人尿蛋白明显减少或转阴性,未发现糖皮质激素副作用。研究结论:肾囊内注射甲基强的松龙为一新的治疗肾小球肾炎的方法,在有效治疗慢性肾小球肾炎的同时可避免或减少全身大剂量给药带来的毒副作用(昆明医学院学报,2010,(4):126-127+131)。

[0009] 李志辉等报道了“肾囊内注射甲泼尼龙治疗儿童难治性紫癜性肾炎”的研究,该研究探讨肾囊内注射甲泼尼龙治疗儿童难治性紫癜性肾炎(HSPN)的疗效。方法:难治性 HSPN 患儿

[0010] 22 例随机分为 3 组:I 组,口服泼尼龙组;II 组,静脉注射大剂量甲泼尼龙组;III 组,肾囊内注射甲泼尼龙组。连续观察 8 周,分别于 0、4、8 周检测患儿 24h 尿蛋白量、血清清蛋白(A1b)、肌酐(Scr)、血浆胆固醇(Cho)。结果:4 周时 3 组 24h 尿蛋白分别为(2.35±1.09)、(0.97±0.37)、(0.99±0.52)g,3 组间有显著差异($P < 0.01$),8 周时 3 组 24h 尿蛋白分别为(2.13±1.68)、(1.57±0.89)、(0.19±0.11)g,3 组间有显著差异($P < 0.05$)。观察治疗期间肾囊注药组患儿血清 A1b、血浆 Cho 渐恢复至正常水平。结论:肾

囊内注射甲泼尼龙可减少难治性 HSPN 儿童尿蛋白排出（实用儿科临床杂志，2006，21（17）：1181-1183）。

[0011] 曾建中等报道了“肾囊内注射地塞米松合并中药治疗肾病综合征疗效观察”的研究，该研究探讨肾脏脂肪囊内注射地塞米松治疗肾病综合征的临床疗效。研究方法：60 例患者均服用中药，分成两组：治疗组 30 例肾病综合征患者在 B 超引导下向每侧肾脂肪囊内注射地塞米松；对照组 30 例口服强的松，治疗前后观察两组患者的尿蛋白、血压、体质量及血清清蛋白、肌酐变化。结果：治疗组 27 例患者尿蛋白明显减轻或转阴性，未发现糖皮质激素副作用。结论：肾囊内注射药物为一种新的治疗方法，在有效治疗肾病综合征的同时可避免或减少全身给药带来的毒副作用（安徽医学，2009，30（10）：1200-1201）。

[0012] 经皮穿刺肾囊内注射给药，虽然药物集中于肾脏病灶部位发挥作用，疗效提高、不良反应减少，肾囊病灶给药较全身给药优势显著，但一次给药治疗周期短（如一周左右），一疗程需多次穿刺给药，多次创伤，不仅给患者造成痛苦，并且肾脏局部药物浓度波动较大，疗效亦有限。

[0013] 在肾囊内植入地塞米松植入剂，长时持续释放地塞米松，使肾脏部位长时间地维持高的药物浓度，使药物集中在肾脏部位发挥作用，同时进入血液的药量少，减少或避免了药物对全身产生的不良反应。既有肾囊内注射给药的优点，又克服了频繁穿刺给药、多次创伤的缺点，是一种更好的肾炎治疗方法。

[0014] 到目前为止，未见有肾囊内植入地塞米松缓释剂治疗肾炎的报道，也未见有用于肾囊内植入治疗慢性肾炎地塞米松植入剂的报道。

[0015] 国内外有眼用地塞米松植入剂，欧洲专利公开号为 EP 0 488 401 A1，公开日期为 1992 年 6 月 30 日，发明创造的名称：“A controlled-release pharmaceutical preparation for intra-ocular implant（一种用于眼部植入的控释药物的制备）”，该申请公开了一种用于眼部植入的控释药物制剂（植入剂）及其制备方法。该植入剂由药物地塞米松与辅料聚乳酸组成，聚乳酸为两种不同分子量的混合物，一种聚乳酸数均分子量为 2,000 ~ 4,000，另一种为 5,000 ~ 7,000，两者比例为 10 : 90 ~ 90 : 10。

[0016] 该植入剂仅由药物地塞米松与辅料聚乳酸组成，无润滑剂、增塑剂成分，其中聚乳酸的

[0017] 分子量较小，聚乳酸是硬而脆的材料，生物降解，且分子量越小降解越快。因而该植入剂性脆、表面粗糙、强度低、易裂碎、易降解，制备过程中植入剂脱模困难。植入剂性能较差，且制备、贮运、使用困难，不适用于经皮穿刺肾囊内植入。

[0018] 美国专利（US2008/0286336A1，2008 年 11 月 20 日公开）“OCULAR IMPLANT MADE BY A DOUBLE EXTRUSION PROCESS（双挤压工艺制备眼用植入剂）”，该申请公开了一种适应于植入眼部的可降解植入剂及其治疗眼部疾病的方法。植入剂的辅料为亲水性和疏水性的聚乳酸-乙醇酸（PLGA）混合物，该植入剂无明显的突释现象，在病灶部位需一段时间后才到达有效浓度。

[0019] 该技术方案不足之处是有三：一是辅料 PLGA 在湿、热条件下易降解，制成的植入剂不稳定，生产、贮藏、运输困难；二是该工艺只适用于热稳定性药物，对于热不稳定的药物，因熔融挤出会导致药物的热分解；三是植入剂在手术时植入眼部，不适用于经皮穿刺肾囊内植入。

发明内容

[0020] 本发明的目的是针对现有技术的不足,提供一种安全有效、质量可控、强度高、表面光洁的治疗慢性肾病的地塞米松植入剂,为慢性肾病的治疗提供一种新制剂,该植入剂通过植药针经皮穿刺植入肾囊,于肾囊内缓慢释放地塞米松,肾脏浓度高、持续时间长,治疗强度大,血药浓度极低,显著提高地塞米松对慢性肾病的疗效,避免或大幅度降低口服或血液给地塞米松对全身的毒性。本发明的植入剂还可治疗局部需要地塞米松长时间治疗的疾病。

[0021] 本发明的另一个目的是减少地塞米松植入剂的组分、简化制备工艺、提高质量及可控性,降低研发、生产、使用成本,更好地服务于社会。

[0022] 为了解决上述技术问题,本发明是通过以下技术方案实现的:

[0023] 本发明提供的一种地塞米松植入剂,它是一种含有地塞米松药物、聚乳酸和聚乙二醇的固体缓释剂,其中:

[0024] 所述地塞米松药物为地塞米松或醋酸地塞米松。

[0025] 所述聚乳酸为聚 L- 乳酸、聚 D- 乳酸、聚 D, L- 乳酸中的一种或多种,优选聚 L- 乳酸,聚乳酸数均分子量为 8,000 ~ 60,000。

[0026] 所述聚乙二醇数均分子量为 1,000 ~ 20,000。

[0027] 本发明植入剂的各组分重量比为:

[0028] 地塞米松药物 5 ~ 60

[0029] 聚乳酸 35 ~ 90

[0030] 聚乙二醇 0.5 ~ 40

[0031] 本发明植入剂的制备方法为压制法,制备过程如下:

[0032] ①粉碎与过筛:分别粉碎各物料,地塞米松和聚乳酸分别过 120 筛,聚乙二醇过 150 筛,得各组分细粉。

[0033] ②称配与混合:按配方称取各组分细粉,混合均匀;

[0034] ③装模:将混合均匀的细粉装于模具内;

[0035] ④成型:在 300Mpa ~ 600Mpa 下压制成型;

[0036] ⑤脱模:从模具内取出植入剂,即得本发明的植入剂。

[0037] 本发明植入剂的形状选为圆柱体,直径一般为 0.2mm ~ 1.2mm,长 1 ~ 5mm,优选直径 0.8mm ~ 1.0mm,长 1.5 ~ 3.0mm。

[0038] 本发明植入剂的释药特征为释放前期有少量的突释,中期释放平稳,后期释放缓慢直至药物完全释放。

[0039] 本发明植入剂的体内释药时间可通过改变处方组成配比进行调节,释放 90% 药物的时间范围为 7 天 ~ 180 天。

[0040] 本发明植入剂的适应症:用于治疗慢性肾炎或局部需要地塞米松持续长时间治疗的疾病。

[0041] 本发明植入剂的使用方法:通过植药针经皮穿刺植入肾囊内治疗慢性肾炎、或通过植药针植入病灶区或需要给药的部位行区域性持续长时间药物治疗。

[0042] 与现有技术相比,本发明的优点是:

[0043] 1. 植入剂释药特征符合慢性肾炎治疗要求：本植入剂释放前期有少量的突释、中期释放平稳、后期释放缓慢直至药物完全释放。使病灶局部在植入药物后很快达到较高的药物浓度，较短时间起到治疗作用，后期缓慢释放药物可使病灶局部在较长时间内维持药物的有效浓度。

[0044] 2. 植入剂治疗慢性肾炎疗效显著，毒性小：本植入剂通过植药针经皮穿刺植入肾囊后，在植入部位持续释放药物，肾脏药物浓度高、持续时间长，作用强度大；血药浓度极低，全身不良反应极小，避免了长期口服或血液给地塞米松导致的严重毒副作用。

[0045] 3. 植入剂体内释药时间调节范围大：植入剂释放 90% 药物的时间可在 7 天～180 天范围内调节，可为 7 天、30 天、60 天、120 天、180 天等。

[0046] 4. 释药特性稳定：本植入剂处方中除活性药物地塞米松药物外，仅有高分子量的聚乳酸和高分子量的聚乙二醇，植入剂中的辅料相互缠绕，不向表面迁移，植入剂释放度不因贮存时间而变化。而现有技术一般用小分子添加剂，制成的植入剂在贮存过程中，内部的小分子向表面迁移，并在表面形成膜，影响释药特性。

[0047] 5. 植入剂强度高：本植入剂用高分子量的聚乙二醇作添加剂，该物质在体系内起润滑、增塑、增韧、增强等作用，并使聚乳酸的强度提高 35%～140%。现有技术用小分子添加剂，强度不提高，反而降低。高强度植入剂能承受更大的压强，可通过长植药针经皮穿刺植入肾脏病灶区或人体其他病灶区。

[0048] 6. 植入剂表面光滑：本发明植入剂中的聚乙二醇具有优良的润滑功能，制成的植入剂表面光滑，使用时非常方便，用植药针向体内植入过程中，植入剂与针管的摩擦力小，不阻塞植药针管道，此外，制备时脱模容易。现有技术用小分子添加剂时，制成的植入剂在贮存过程中，内部的小分子向表面迁移，并在表面形成膜，使用时阻塞针管，严重影响植药治疗。

[0049] 7. 本植入剂稳定性好、有效期长：本植入剂选用高分子量的聚乳酸和高分子量的聚乙二醇作辅料，二者热稳定性较好，与热稳定性较差的聚乳酸-乙醇酸或低分子量的聚乳酸作辅料的植入剂相比，室温下稳定性更好，有效期更长，贮运更方便。

[0050] 8. 本植入剂处方、工艺简单，易于产业化：植入剂处方中，除活性药物与聚乳酸外，只有一种添加剂——高分子量的聚乙二醇，它在制剂中起润滑、促溶、增塑、增韧、增强等多种作用，处方组分少，影响因素少，易控制，且用压制法制备，易产业化。

[0051] 9 本植入剂释药特性容易调节：只通过改变聚乙二醇的用法与用量就可达到改变释药特性的目的。

[0052] 为便于对本发明的理解，对本发明作以下说明：

[0053] 本发明选用高分子量的聚乳酸，尤其选用高分子量的聚 L- 乳酸作辅料制备地塞米松植入剂，优点有三：一是聚乳酸是乳酸的聚合物，在人体内先水解为人体内源性物质乳酸，后酶解为二氧化碳和水被排出体外，对人体无害，生物相容性好、安全；二是高分子量的聚乳酸机械强度大，且高分子量的聚 L- 乳酸的强度更大，用作辅料制成的植入剂机械强度大，能承受经皮穿刺植药针杆的高压强，可用植药针经皮穿刺向病灶内植入；三是高分子量的聚乳酸室温下稳定性好，用其制成的植入剂性能稳定，便于贮运。

[0054] 然而聚乳酸是硬而脆的弱亲水性物质，分子量升高，亲水性下降、硬度和脆性上升，高分子量的聚乳酸用作植入剂辅料的不足之处是：(1) 不能促进或调节地塞米松等水

不溶性药物的溶解性与释放度；(2) 加工性能差，制备植入剂十分困难。用聚乳酸与地塞米松两种组分制成的植入剂，性脆，易碎，不易脱模，释药速率小且释放不完全，不适用。

[0055] 在地塞米松与高分子量的聚乳酸混合物料中加入常用的药用润滑剂，如脂肪酸、脂肪酸酯、脂肪酸盐等，可改善植入剂的脱模性，但不能改善植入剂的脆性，并且植入剂的释放速率减小，后期药物释放很慢且释放不完全。

[0056] 在地塞米松与高分子量的聚乳酸混合物料中加入聚乳酸常用的药用增塑剂，如柠檬酸三丁酯或柠檬酸三乙酯，可改善聚乳酸的加工性能，增加植入剂的韧性，但严重影响植入剂的释药性能，释药速率迅速减小，后期药物释放极慢，药物释放完全程度低。

[0057] 在地塞米松与高分子量的聚乳酸混合物料中加入亲水性促溶剂或致孔剂，如氯化钾、氯化钠、乳糖、葡萄糖、山梨醇、十二烷基硫酸钠、脂肪酸钠等水溶性物质中的一种或几种。可以改变植入剂的释放度，但不能改变植入剂的加工性能与植入剂的脆性。

[0058] 在地塞米松与高分子量的聚乳酸混合物料中同时加入聚乳酸常用药用增塑剂（如柠檬酸三丁酯或柠檬酸三乙酯）、常用药用润滑剂、亲水性促溶剂或致孔剂，植入剂的加工性能和植入剂的韧性可以得到改善，但植入剂由五种或更多的组分组成，处方复杂，影响释放度的因素多，释放度调节十分困难，植入剂释放特性难以控制，植入剂稳定性差。另外，植入剂贮运中，其内的小分子物质向表面迁移形成表面膜，既改变植入剂的释药特性，还使植入剂在经植药针植入体内时阻塞针管，难以进行病灶部位给药。此外，该组成的植入剂另一个缺点是临床前药理毒理研究、临床研究的内容多，耗费巨大，产业化困难大。

[0059] 为了克服上述使用多种添加剂给植入剂的制备和自身性能带来的诸多问题，本发明人经过大量的研究发现：在地塞米松与高分子量的聚乳酸混合物料中加入高分子量的聚乙二醇，既可调节植入剂的释药特性，又可改善聚乳酸的加工性能，增加植入剂的韧性，还可使植入剂表面光滑，容易脱模，此外，还能使植入剂的强度提高 35%~140%。高分子量的聚乙二醇在地塞米松与高分子量的聚乳酸混合物料中同时起润滑、促溶与调节释放度、增塑、增韧、增强的作用。并且，高分子的聚乙二醇不向植入剂表面迁移，植入剂贮存过程中，释药特性不变，植入剂使用时不阻塞植药针针管。

[0060] 该植入剂只使用一种可生物降解的药物高分子添加剂，使本植入剂的处方简单，制备工艺简便，药物的释放特性可调范围较大，释药特性稳定。制成的植入剂强度高、韧性较好、表面光滑，有利于用植药针经皮穿刺向病灶区域植入。

附图说明

[0061] 图 1 横坐标表示植入剂体内释放药物时间 (t)，单位为天 (d)；纵坐标表示植入剂体内释放度 (α / %)；图内 3 条曲线分别表示植入剂 A、B、C 体内释放度 (α / %) 与释药天数 (t/d) 的关系。

具体实施方式

[0062] 以下实施例仅对本发明的进一步说明，不能理解为对本发明任何的限制。

[0063] 实施例 1 制备地塞米松植入剂 (A)

[0064]

组分	重量份
醋酸地塞米松	30
聚 D-乳酸(数均分子量 9,000)	58
聚乙二醇(数均分子量 1,000)	12

[0065] 将上述物料分别粉碎,地塞米松和聚乳酸过 120 筛,聚乙二醇过 150 筛,按处方量称配,共 5g,在混合机中混合均匀,振荡装入孔径为 0.9mm 的 141 孔不锈钢模具内,置 ZR-II 压药机(安徽中人科技有限责任公司研制)中,在 320Mpa 下压制成型,脱模,即得地塞米松植入剂(A)。

[0066] 植入剂易脱模,表面光滑,呈白色圆柱体,直径 0.9mm,长 2.3mm,强度 42MPa,释药 90%的时间为 30 天,见实施例 4 及图 1。

[0067] 实施例 2 制备地塞米松植入剂(B)

[0068]

组分	重量份
地塞米松	20
聚 D, L-乳酸(数均分子量 18,000)	75
聚乙二醇(数均分子量 6,000)	5

[0069] 除压药机压力为 410Mpa 外,其余制备工艺同实施例 1,得地塞米松植入剂(B)。

[0070] 植入剂易脱模,表面光滑,呈白色圆柱体,直径 0.9mm,长 2.1mm,强度 51MPa,释药 90%的时间为 60 天,见实施例 4 及图 1。

[0071] 实施例 3 制备地塞米松植入剂(C)

[0072]

组分	重量份
地塞米松	15
聚 L-乳酸(数均分子量 55,000)	82
聚乙二醇(数均分子量 20,000)	3

[0073] 除压药机压力为 480Mpa 外,其余制备工艺同实施例 1,得地塞米松植入剂(C)。

[0074] 植入剂易脱模,表面光滑,呈白色圆柱体,直径 0.9mm,长 1.9mm,强度 65MPa,释药 90%的时间为 180 天,见实施例 4 及图 1。

[0075] 实施例 4 体内释放度试验

[0076] 取 Wista 大鼠 228 只,分为 I、II、III,共 3 组,各组动物数依次为 54、72 和 102 只,依次设 9、12 和 17 个取样时间点,每个点 6 只动物,依次植入植入剂 A、B、C,每只大鼠右后腿内侧肌肉植入称重后的相应植入剂 1 粒,每组植药后在不同时间点各取 6 只大鼠肌肉残留植入剂,用高效液相色谱法测植入剂中地塞米松的残留量,根据植入药量和剩余药量计算释放度。3 种植入剂 A、B、C 在大鼠体内的释放度见图 1。图 1 表明,实施例 1、实施例 2 和实施例 3 所制备的植入剂 A、B、C 在大鼠体内具有不同的释药特性,释药 90%的时间依次为 30 天、60 天和 180 天。3 条释放特性曲线表明地塞米松植入剂 A、B、C 在释放前期均存在一定程度的突释,而中后期释药缓慢,直到药物释放完毕。

[0077] 实施例 5 药效学试验

- [0078] 1 实验材料
- [0079] 1.1 实验药物
- [0080] 地塞米松植入剂 B；
- [0081] 注射用盐酸阿霉素 10 支,10mg/ 支,由浙江海正药业股份有限公司生产。批准文号:国药准字 H33021980,批号:091001。
- [0082] 1.2 实验动物
- [0083] SD 大鼠 30 只,雄性。体重 180 ~ 220g,南京医科大学实验动物中心提供。合格证号:SCXK(苏)2002-0015
- [0084] 1.3 尿蛋白检测试剂盒(比浊法),上海执诚生物技术有限公司生产。
- [0085] 2 实验方法
- [0086] 2.1 肾病模型的复制
- [0087] 阿霉素肾病模型组于实验开始后第 1 天、第 8 天分别从尾静脉注射阿霉素 4mg/kg(阿霉素按 2g/L 溶于生理盐水中,即 2mL/kg);对照组于实验开始后第 1 天、第 8 天分别从尾静脉注射等容积生理盐水,放入代谢笼内饲养,自由摄食、饮水。14 天时尿蛋白定量>100mg/24h 提示模型复制成功,计入实验。
- [0088] 2.2 分组与治疗
- [0089] 2.2.1 动物分组
- [0090] A:正常对照组:10 只
- [0091] B:肾病模型组:10 只
- [0092] C:肾病模型地塞米松植入剂治疗组:10 只
- [0093] 2.2.2 动物治疗
- [0094] A:正常对照组:不予治疗。
- [0095] B:肾病模型组:不予治疗。
- [0096] C:肾病模型地塞米松植入剂治疗组
- [0097] 鼠称重,按 3%戊巴比妥钠 40mg/kg 腹腔注射麻醉后,于双侧肋脊角连线与背正中线交点处向尾部方向纵行剪开皮肤 1.5cm,分离浅筋膜,剖开腰背筋膜,钝性分离肌肉暴露双侧肾脂肪囊,双侧肾囊内各植入地塞米松植入剂 6mg,缝合背部切口。
- [0098] 2.2.3 观察指标
- [0099] (1) 标本采集
- [0100] 2 组大鼠均于注射阿霉素前 1 天,注射阿霉素后第 14 天、28 天收集 24h 尿液,测量尿量,摇匀后取 3ml 尿,3000r/min 离心 5min,去渣,-20℃冰箱保存待测尿蛋白。正常对照组标本采集方法和时间同上。
- [0101] (2) 常规指标检测方法
- [0102] a、尿蛋白测定方法
- [0103] 采用比浊法在日立 7170 型全自动生化分析仪上分析 24 小时尿蛋白量,样本要求:24 小时尿样,尿样应收集在带盖的容器内,若尿样不能立即被检验,应放在冰箱里。如果 2 小时内不能检验,应加入化学保护剂(如:硼酸,二甲苯)。
- [0104] b、检验方法
- [0105] 1. 基本参数:方法:比浊法、终点法、递增性反应。波长:525nm,温度:37℃。

[0106] 2. 操作 :将样品和试剂平衡至室温。

[0107]

	试剂空白	标准	样品
R1 试剂	1200ul	1200ul	1200ul
标准	--	80ul	--
样品	--	--	80ul
重蒸水	80ul	--	--

[0108] 混匀,37℃ 孵育 5 分钟比照空白测吸光度 A1,再分别加入 R2 试剂 400ul,混匀,37℃ 孵育 5 分钟比照空白测吸光度 A2,计算 ΔA 。

[0109] 3 统计学处理

[0110] 应用 SPSS12.0 统计分析软件对实验数据进行统计学处理,所有数值以均数 \pm 标准差表示,两组间的比较应用方差齐性检验后,采用 t 检验,多组间的比较应用单因素方差分析后,采用 LSD 检验做各组间均数的两两比较。 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

[0111] 4 实验结果

[0112] 4.1 一般情况

[0113] 模型组 20 只大鼠于阿霉素注射后第 5 天均出现不同程度的腹泻,食量下降且活动减少,至第 7 天腹泻停止,活动逐渐恢复。第 3 周出现轻度水肿,以足、腹、睾丸较明显。第 4、占周水肿加重。对照组大鼠健康存活。

[0114] 4.2 各组大鼠尿蛋白的定量分析

[0115] 肾病组尿蛋白第 14 天与 0 天相比明显增加 ($P < 0.01$),第 28 天达高峰,尿蛋白与同期对照组相比均有显著差异;第 28 天地塞米松植入剂组治疗组尿蛋白较肾病组明显减少 ($P < 0.01$)。

[0116] 表 1 三组大鼠尿蛋白比较 (mg/24h) ($n = 10$)

[0117]

时间	对照组	肾病组	地塞米松植入剂组
0 天	9.98 \pm 1.95	10.18 \pm 1.67	10.59 \pm 2.11
14 天	11.57 \pm 2.14	139.41 \pm 15.24#	143.89 \pm 10.78
28 天	12.87 \pm 2.86	184.27 \pm 21.04#	68.02 \pm 12.85##

[0118] # 与对照组比较 $P < 0.01$,## 与肾病组相比 $P < 0.01$

[0119] 5 结果分析

[0120] 蛋白尿是肾脏病的常见表现,也是肾脏病持续进展的重要因素。肾小球性蛋白尿是蛋白尿最常见的原因。我们的研究中,阿霉素肾病大鼠在 14 天时已经出现明显蛋白尿,28 天达到最高峰;临床表现符合微小病变肾病,证明模型制作成功。用地塞米松植入剂干

预治疗后,蛋白尿减少,证明地塞米松植入剂可以有效治疗微小病变肾病。

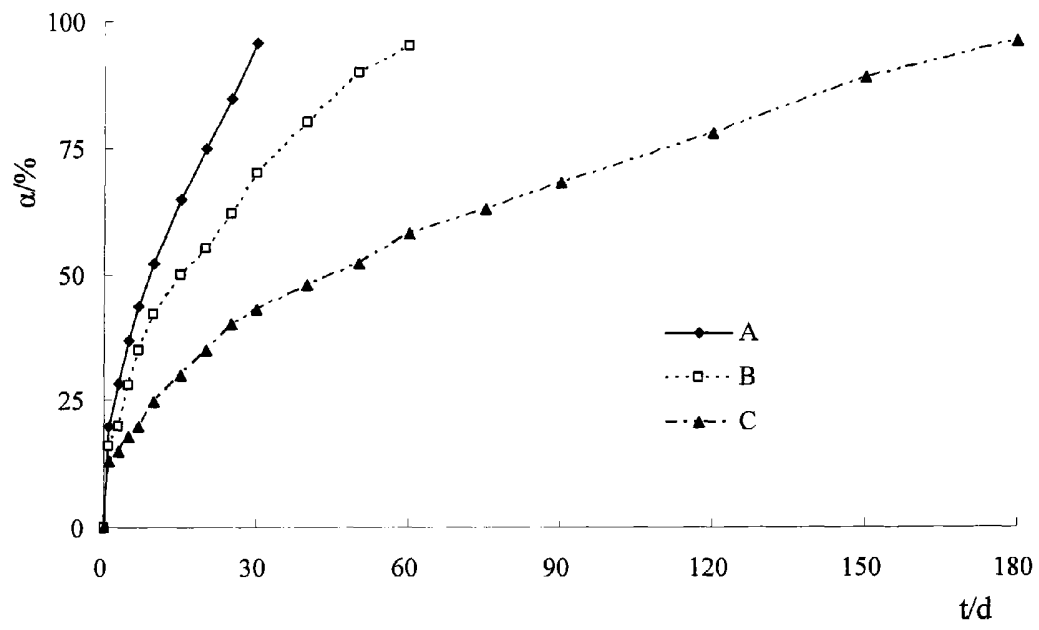


图 1