

·综述·

微渗透泵在药理学研究中的应用

周玖瑶, 丑安, 华静(广州中医药大学, 广东 广州 510006)

摘要: 微渗透泵是一种理想的新型动物实验性持续给药系统。作者介绍了微渗透泵的结构组成、作用原理、主要给药方法, 阐述其在药理学研究中的应用现状, 分析了微渗透泵在肾脏疾病动物模型应用中所存在的问题, 并提出了相应的对策, 建议进一步将微渗透泵应用到现代药理的研究热点中, 为药理学研究提供新的方法与手段。

关键词: 微渗透泵; 给药方法; 动物模型; 药理研究

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)01-0104-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.028

微渗透泵(mini osmotic pump)是利用渗透压提供药物释放的驱动力, 将所需要注射的药物或待测试剂按要求持续的、定量、定点缓释到需要给药的部位, 能在恒定的状态下持续地观察化学物质在动物体内的作用情况。微渗透泵的渗透速度与被释放试剂的理化性质无关, 因而适用于多种试剂, 包括蛋白质、多肽、生长因子、抗生素、化疗药、激素、类固醇及其他短效期的化合物。不同规格的微渗透泵的大小、承载药量、流率和可用时间均有不同, 能够多方面满足不同的科研需求, 目前已成功应用于多个学科的实验动物研究中, 为研究者提供了一种方便、可靠、费用低廉的可控给药方法。

1 微渗透泵结构组成和作用原理

微渗透泵由渗透压泵、用于血管或特定部位给药的配套导管或用于脑部灌注的脑注入套件以及检测用于注射的化学物质是否能用渗透压泵注射的化学兼容性检测套件组成。渗透压泵为胶囊状, 最内由柔韧的非渗透性膜围成药池, 外层是一层刚性半透膜, 中间是渗透层, 称为等渗盐袖套, 泵体封口处为流量调节器。渗透压泵可被埋植在实验动物的皮下或者腹腔, 渗透层与泵体埋植组织之间高渗透压导致组织内水分通过泵体外层的刚性半透膜进入泵体, 从而挤压由柔韧的非渗透性膜组成的药池, 使药池内的试剂以预定的速度释放^[1], 见图 1。

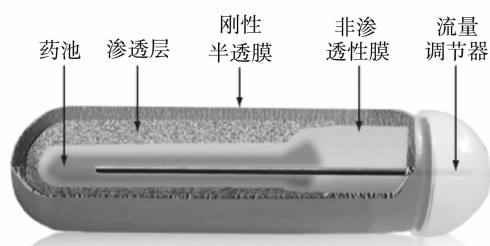


图 1 渗透压泵的结构(引自 DURECT 公司)

Figure 1 Structure of the osmotic pressure pump (Quoted from DURECT Corporation)

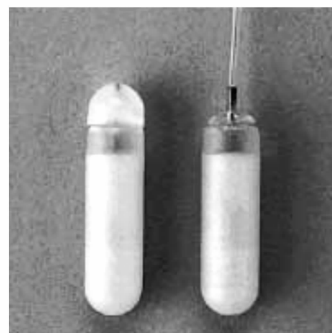


图 2 渗透压泵与导管的连接图(引自 DURECT 公司)

Figure 2 Connection of the osmotic pressure pump and the catheter (Quoted from DURECT Corporation)

微渗透泵配套的导管主要是用于血管及特定部位的给药。只需取出渗透压泵的流量调节器的白色塑料帽, 将导管套入露出的钢管上, 然后根据实验

收稿日期: 2012-10-17

作者简介: 周玖瑶, 男, 教授, 医学博士, 博士生导师。研究方向: 中药作用机理研究。Email: yaoli@gzhtcm.edu.cn。通讯作者: 丑安, 硕士研究生, 研究方向: 中药药理学。Email: chouan@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81072978); 广东省自然科学基金重点项目(S2011020005170); 教育部博士点基金项目(20114425110011)。

研究需要将渗透泵合理地埋入实验动物体内, 渗透泵便可通过导管将药物或待测试剂输送到血管、脊髓、大脑以及其他的器官或组织, 见图 2。脑灌注套件主要是用于针对性的中枢神经系统的给药, 可将试剂以持续稳定的速度输注至大脑局部, 克服了多数药物或试剂不能通过血脑屏障以及传统的脑部注射给药法的缺点。

2 微渗透泵给药方法

微渗透泵可以针对特定部位给药, 如脊髓、颅腔、血管、肝脏、脾脏等脏器、肿瘤或创伤处, 主要给药方法有脑部给药、皮下或腹腔给药、特定部位给药。

2.1 脑部给药 将渗透压泵埋植在脑部附近皮下, 脑灌注套件被固定在脑部目标区域, 两者通过导管连接, 如此便将药物或待测试剂输送进脑部。Erwan Dupont 等^[3]以大鼠为实验动物, 先用戊巴比妥钠($60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉, 以前卤定位, 旁开 3 mm, 后开 3.5 mm, 向下 0.8 mm, 插入脑灌注套件钢管, 然后用牙科水泥将针头固定在头骨上。将泵体埋入大鼠背部皮下后缝合皮肤, 伤口用聚烯吡酮黄处理。

2.2 皮下或腹腔给药 皮下或腹腔给药方法操作相对较容易, 泵体植入的部位可以是颈部皮下、背部或者腹部皮下, 也可以直接埋入腹腔, 研究者可以根据实验需要选择最合适的植入部位^[4-5]。

2.3 特定部位给药 微渗透泵植入实验动物皮下、腹腔后, 再通过导管将药物送到膀胱、胃肠、子宫、静脉、动脉等空腔脏器或局部组织(动脉壁、骨、眼、肌肉、肿瘤内、外周神经等), 从而达到特定部位给药的目的。张靖华等^[6]在建立免疫性内耳病模型时, 在手术显微镜下通过耳后手术进路在听泡开一小口, 将一小片吸附 $5.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 钥孔贻血蓝蛋白(keyhole limpet hemocyanin, KLH)的明胶海绵放置于圆窗龛, 不取出。用地塞米松在圆窗附近局部冲洗, 然后将已灌注 0.2 mL 地塞米松磷酸钠注射液($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的微渗透泵前端接软管, 置于圆窗膜的明胶海绵上(上次手术放置), 然后用骨水泥固定软管封住听泡缺口并缝合切口, 并把泵体植入背部皮下。实验通过微渗透泵圆窗给药, 结果表明该给药方案对所有实验动物的听力都有明显改善。Florence E. Perrin 等^[7]利用微渗透泵进行坐骨神经给药。实验选用成年 BALB/c 雌性小鼠, 将其深度麻醉后暴露右侧坐骨神经并在其大腿中部位置作一个水平切口。微渗透泵注入药物并埋入小鼠背部皮下。微渗透泵上连接一根聚乙烯导管, 并将导管插入坐骨神经切口处, 然

后将切口缝合, 并用纤维蛋白胶密封。Michael C. Alley 等^[8]利用微渗透泵, 将聚乙烯导管插入颈静脉直接给药。首先, 在裸鼠颈静脉留置一根导管, 然后在接种人体肿瘤异种移植前, 驯化小鼠数天。瘤接种 5 天之后将渗透泵植入小鼠体内, 在植入前 12~16 h 将待测试剂装载进微渗透泵。移去渗透泵外端的硅酮覆盖片, 使其外端暴露出来, 便于之后与导管连接。用 15 μL 的待测试剂冲洗静脉导管, 然后将其直接连接到微渗透泵上。给药第 5 天后, 移去微渗透泵, 密封导管末端。

3 微渗透泵在药理学研究中的应用

微渗透泵给药造模与传统给药方法相比, 具有很多明显的优点, 并已广泛应用于实验动物造模及药理研究中, 其中许多已成为经典的实验动物模型。

3.1 阿尔茨海默病模型(Alzheimer's disease, AD) 吴树亮等^[9]为观察神经干细胞对 AD 的治疗作用, 用微渗透泵侧脑室内灌注丝氨酸 / 苏氨酸蛋白磷酸酯合成酶 1 和 2 抑制剂 Okadaic acid(OA)建立 AD 动物模型, 并用神经干细胞来治疗。76 d 后处死大鼠, 分别用硫磺素 -S 法和镀银法检测大鼠海马中老年斑和神经元纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFT)形成情况, 进而观察神经干细胞对 AD 的治疗作用。电镜下, 由变性的双股螺旋纤维所组成, 这是公认的 AD 的主要病理改变之一, 说明用微渗透泵侧脑室内缓慢灌注 OA 可成功建立稳定的 AD 动物模型。李文德等^[10-11]以恒河猴为实验动物, 用微渗透泵脑内注入 β 淀粉样蛋白 1-42 (Beta amyloid 1-42, $A\beta$ 1-42)和 thiorphan 建立恒河猴 AD 模型。实验给药 50 d 后剖杀动物并取材, 用 HE 染色及免疫组化的方法观察。结果显示, 海马结构神经元萎缩, 噬神经元现象增多, 小胶质细胞增生, 胆碱乙酰转移酶(ChAT)阳性细胞减少, 神经胶质纤维酸性蛋白(GFAP)阳性细胞增多, 表明该法可成功建立 AD 恒河猴模型。复制渗透泵 AD 模型为一种侵入性手术, 对脑局部侵入给药可能会诱导炎症反应, 为避免以上情况, Karim A. Alkadhi^[12]调整了微渗透泵的输注速率、输注量等, 成功制备了 $A\beta$ 大鼠 AD 模型。

3.2 心肌肥大模型 郑凌云^[13]选用 SD 大鼠, 将装载血管紧张素 II (Ang II) 的渗透泵植入大鼠皮下以建立大鼠心肌肥大模型, 左室与体质量比值显示模型搭建成功。Stacey L. House 等^[14]将微渗透泵植入转基因小鼠背部皮下, 可控释放异丙肾上腺素建立心肌肥大模型, 并通过超声心动图, 肌细胞截面积和组织学检查, MAPK 信号途径和 MAPK 磷酸化免疫印迹

等方法,探讨成纤维细胞生长因子(Fibroblast growth factor 2, FGF2)对转基因小鼠心肌肥厚的作用。

3.3 低肾素高血压模型 Atta U. Shahbaz 等^[15]在探讨高血压并心脏纤维化的分子途径和心肌保护策略的实验中,用装载有醛固酮的微渗透泵植入SD雄性大鼠的皮下,建立低肾素高血压模型。

3.4 肾脏疾病动物模型 肾脏疾病是一类严重危害人类健康的疾病。国内外有许多研究者致力于研究肾脏疾病的致病机理、治疗方法,涉及到多种肾脏疾病动物模型,其中,阳离子化的小牛血清白蛋白(C-BSA)肾炎模型是非常经典的肾病模型。其免疫发病机制和人类肾小球肾炎非常近似,是一种经典的免疫复合物肾小球肾炎模型。制备方法是以C-BSA和弗氏不完全佐剂皮下注射预免疫1周后,每日1次于耳静脉或尾静脉注射C-BSA 4周。其机理是带正电的C-BSA与肾小球基底膜上的带负电部位结合“植入”在肾小球基底膜上,使机体产生相应抗体与抗原在原位形成免疫复合物^[16-18]。但是本模型制作中存在如下缺点:(1)静脉注射C-BSA,操作难度大;(2)反复多次周期性的注射导致C-BSA在血液和组织中浓度周期性的波动,影响C-BSA作用活性;(3)重复的注射造成实验动物的情绪波动(痛苦和压力),影响生物效应。渗透缓释泵在肾脏疾病模型中的应用目前未见相关报道。作者^[19]首次引入渗透缓释泵技术优化传统C-BSA肾炎模型,并观察真武汤对该模型大鼠的治疗作用。结果表明,运用渗透缓释泵技术能成功复制大鼠C-BSA肾炎模型,且能简化实验操作,减轻动物痛苦,优化药物动力学特征,提高造模的稳定性和成功率,为肾炎动物模型发病机理及药理研究提供新颖、可行有效的造模方法。同时,真武汤可减轻该模型肾脏免疫病理损伤,减少尿蛋白含量、改善肾功能、降低血脂,对肾脏有保护作用。

3.5 其他 刘秀梅等^[20]采用微渗透泵脑内注入给药方案向大鼠纹状体内注入抽动秽语(Tourette syndrome, TS)综合征患者血清,诱导大鼠发生免疫,从而成功建立了TS大鼠实验动物模型。姬媛媛等^[21]采用微渗透泵皮下埋植的方法注入Ang II诱导大鼠炎症反应,建立大鼠炎症反应模型。

4 展望

目前,微渗透泵因具有持续稳定给药和药物直接到达靶器官的给药优点,在现代药理学中应用非常广泛,涉及到药理学、药物动力学、动物模型构

建、药物及分子筛选等许多领域,并已经有大量的文献报道。但从上述的文献报道显示,微渗透泵植入后,有时会出现聚乙烯管断裂、实验动物出现感染或皮下水肿的现象,因此实验模型的成功率仍是一个值得注意的问题。实验必须严格按照微渗透泵操作要求进行,尤其注意细节操作,比如保证植入的微渗透泵不携带致病菌,微渗透泵完成给药后,应及时从动物体内取出。在模型复制成功后,应细心饲养动物,预防感染。笔者认为,应进一步将微渗透泵应用到现代药理的研究热点中,例如肾脏病、心血管疾病等动物模型的建立,为这些疾病的病理机制及其治疗药物的开发研究提供可靠的研究手段。

参考文献:

- [1] Treeuwes F, Yun SI. Principles of the design and operation of generic osmotic pumps for the delivery of semisolid or liquid drug formulations[J]. Ann Biomed Eng, 1976, 4(4): 343-353.
- [2] Mairs RJ, Wideman CL, Angerson WJ, et al. Comparison of different methods of intracerebral administration of radioiododeoxyuridine for glioma therapy using a rat model[J]. British Journal of Cancer, 2000, 82(1): 74-80.
- [3] Dupont E, Stevens L, Cochon L, et al. ERK is involved in the reorganization of somatosensory cortical maps in adult rats submitted to hindlimb unloading[J]. Plosone, 2011, 6(3): 17564.
- [4] Miyasaka EA, Raghavan S, Gilmont, RR. et al. In vivo growth of a bio-engineered internal anal sphincter: comparison of growth factors for optimization of growth and survival[J]. Pediatr Surg Int, 2011, 27(2): 137-143.
- [5] Pagliarunga S, Fisette A, Munkonda M, et al. The effects of acylation stimulating protein supplementation VS antibody neutralization on energy expenditure in wild type mice[J]. BMC Physiology, 2010, 23(10): 4.
- [6] 张靖华, 吴皓. 免疫性内耳病模型的建立及地塞米松圆窗和全身给药的疗效[J]. 上海交通大学学报, 2007, 27(1): 26-28.
- [7] Perrin FE, Lacroix S, Avile's-Trigueros M, et al. Involvement of monocyte chemoattractant protein-1, macrophage inflammatory protein-1a and interleukin-1b in Wallerian degeneration[J]. Brain, 2005, 128: 854-866.
- [8] Alley MC, Hollingshead MG, Pacula-Cox CM, et al. SJG-136 (NSC 694501), a novel rationally designed dna minor groove inter-strand cross-linking agent with potent and broad spectrum antitumor activity: part 2: efficacy evaluations[J]. Cancer Research, 2004, 64: 6700-6706.
- [9] 吴树亮, 金连弘, 李竹英, 等. 阿尔茨海默病动物模型的建立及神经干细胞对阿尔茨海默病的治疗作用[J]. 2004, 8(19): 3734-3736.
- [10] 李文德, 吴玉娥, 闽凡贵, 等. 淀粉样β蛋白1-42和thiorphan对恒河猴海马结构的影响[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(2): 186-190.
- [11] 胡为民, Frautschy SA. β-淀粉样肽鼠脑室内灌注制作阿尔茨海默病动物模型的实验技术研究[J]. 山西医科大学学报, 2004, 35(4): 336-337.
- [12] Alkadhi KA. Chronic stress and Alzheimer's disease-like pathogenesis in a rat model: prevention by nicotine[J]. Current Neuropharmacology,

2011, 9: 587-597.

- [13] 郑凌云. 利用人源性血管紧张素 II 构建大鼠心肌肥大模型的方法[J]. 卫生职业教育, 2005, 23(14): 117-118.
- [14] House SL, House BE, Glascock B, et al. Fibroblast growth factor 2 mediates isoproterenol-induced cardiac hypertrophy through activation of the extracellular regulated kinase[J]. Mol Cell Pharmacol, 2010, 2(4): 143-154.
- [15] Shahbaz AU, Sun Y, Bhattacharya SK, et al. Fibrosis in hypertensive heart disease: molecular pathways and cardioprotective strategies[J]. J Hypertens, 2010, 28(1): S25-S32.
- [16] Wu CC, Chen JS, Chen SJ, et al. Kinetics of adaptive immunity to cationic bovine serum albumin-induced membranous nephropathy[J]. Kidney Int, 2007, 72(7):831-840
- [17] 周玖瑶, 廖雪珍, 李锐. 肾复康对大鼠 C-BSA 肾炎的药理作用[J]. 广州中医药大学学报, 2000, 17(4): 342-347.
- [18] Wu SH, Wu XH, Liao PY, et al. Signal transduction involved in protective effects of 15(R/S)-methyl-1-lipoxygenase A4 on mesangiolipid-errative nephritis in rats[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty acids, 2007, 76(3): 173-180.
- [19] 丑安, 周玖瑶, 周园, 等. 真武汤对 C-BSA 渗透泵肾小球肾炎大鼠的治疗作用[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(6): 626-630.
- [20] 刘秀梅, 王玉伟, 初清. 纹状体内微量灌注 Tourette 综合征患者血清对大鼠刻板行为的影响[J]. 中国心理卫生杂志, 2010, 24(1): 69-72.
- [21] 姬媛媛, 刘俊田, 王志东, 等. 非诺贝特对血管紧张素 II 诱导的大鼠炎性反应的干预研究[D]. 西安: 西安交通大学医学院药理学系, 2008: 55-56.

(编辑: 梁进权)

(上接第 65 页)

本研究结果显示, 模型组大鼠肺内支气管平滑肌层及气道壁明显增厚, 上皮下胶原蛋白大量沉积; 姜辛夏颗粒能明显减轻哮喘大鼠的哮喘症状和支气管黏膜的炎症反应, 抑制 I、III、V 型胶原的合成, 缩小哮喘大鼠支气管总管壁面积、内壁面积及平滑肌面积, 其作用强度与地塞米松组相近, 说明姜辛夏颗粒可能通过抑制 I 型、III 型、V 型胶原蛋白的表达, 减小支气管壁的厚度, 减轻气道壁结构的病理变化, 从而达到预防和治疗哮喘气道重建的目的。

参考文献:

- [1] 林耀广. 现代哮喘病学[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2004: 160.
- [2] 余巍巍, 蔡双启. 哮喘大鼠肺内神经生长因子表达与气道炎症的相关性[J]. 武汉大学学报(医学版), 2011, 32(4): 469-472.

(上接第 96 页)

暴露的矿物质种类和数量不同是造成同一批样品测得 PSL 计数值有差异的最主要因素。本方法要求对待测样品进行粉碎处理正是为了让其中的矿物质充分暴露; 取混匀后的粉末约 2.0 g 是保证质地不同的绝大多数样品均能平铺于培养皿的底部, 且测定的面积大小固定, 更利于数据的一致性。

强光照射会造成 PSL 计数值的下降, 故同一份样品连续测定则计数值明显下降, 在强光下放置后的样品计数值明显下降。所以, 未测样品应在暗处保存, 尽量在暗处取样, 并以第一次测定的结果为准。

综上, 所建方法在灵敏度、准确度、稳定性方面均能满足鉴别要求, 与欧盟方法比较, 更适合中药产品, 判定规则更加简洁明确, 判定结果的准确度与欧盟方法一致, 甚至优于欧盟方法。

- [3] 张玉英, 李玲, 唐俊峰, 等. 姜辛夏冲剂对哮喘大鼠气道炎症的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(1): 122-123.
- [4] 张玉英, 何云义, 惠朋利, 等. 姜辛夏颗粒对支气管哮喘大鼠肺组织基质金属蛋白酶及其抑制剂含量的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(2): 30-32.
- [5] 迟磊, 符州, 戴继宏, 等. 过敏性哮喘大鼠模型的建立[J]. 重庆医学, 2003, 32(4): 429-431.
- [6] 闻玉梅. 天然免疫与中西医结合[J]. 中西医结合学报, 2004, 2(1): 1-2.
- [7] 张元元, 陆党芝. 支气管哮喘气道重塑的研究进展[J]. 大理学院学报, 2006, 5(8): 59-62.
- [8] 李明才, 何韶衡. 转化生长因子 β 在哮喘气道炎症与重塑中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(8): 1527-1530.
- [9] Lambert RKBR, Wiggs K, Kuwano JC, et al. Functional Significance of increased airway smooth muscle in asthma and COPD[J]. J Appl Physiol, 1993, 74: 2771-2781.

(编辑: 梁进权)

参考文献:

- [1] 赵永富, 汪昌保, 王超. 辐射灭菌技术在制药业上的最新应用进展[J]. 核农学报, 2006, 20(2): 143-147.
- [2] 张立雯, 江英桥, 林彤, 等. 中药辐照检测研究现状概述[J]. 中药材, 2011, 34(3): 482-487.
- [3] EN 13751(2002). Foodstuffs Detection of irradiated food using photo-stimulated luminescence[S]. Brussels: European Committee of Standardization.
- [4] Gökü Bayram, Henry Delincée. Identification of irradiated Turkish foodstuffs combining various physical detection methods[J]. Food Control, 2004, 15: 81-91.
- [5] Alberti A, Corda U, Fuochi P, et al. Light-induced fading of the PSL signal from irradiated herbs and spices[J]. Radiation Physics and Chemistry, 2007, 76: 1455-1458.
- [6] 毕福钧, 张立雯, 林彤, 等. 脉冲光激发系统法检测辐照中药材方法的建立[J]. 中草药, 2012, 43(11): 2279-2283.

(编辑: 宋威)