

载三联抗结核药硫酸钙/氨基酸聚合物 人工骨体内缓释实验研究

德向研¹, 施建党², 王自立², 冯丹妮¹, 刘海涛¹, 丛晓明¹

(1 宁夏医科大学 750004 银川市; 2 宁夏医科大学总医院脊柱外科 750004 银川市)

【摘要】目的:观察载异烟肼、利福平、吡嗪酰胺三联抗结核药硫酸钙/氨基酸聚合物人工骨在大鼠体内的缓释效果。**方法:**取 6~7 周龄 SD 大鼠 80 只, 随机分为实验组与对照组, 实验组载三联抗结核药人工骨植入大鼠骶脊肌内, 40 只; 对照组植入空白未载药人工骨于大鼠骶脊肌内, 40 只; 术后 1d、3d、1 周、2 周、4 周、6 周、8 周、12 周处死大鼠, 每次处死实验组、对照组大鼠各 5 只, 应用高效液相色谱法检测大鼠植入人工骨局部周边组织及血液中三种药物浓度, 2 周及 6 周时 HE 染色观察大鼠肝、肾病理组织学变化。**结果:**植入载三联抗结核药人工骨局部周边 1cm 肌肉组织中, 术后 1d、3d、1 周、2 周、4 周、6 周、8 周、12 周时, 高效液相色谱法检测异烟肼为 $4.09 \pm 0.56 \mu\text{g/ml}$ 、 $2.45 \pm 1.33 \mu\text{g/ml}$ 、 $2.12 \pm 1.56 \mu\text{g/ml}$ 、 $1.58 \pm 4.12 \mu\text{g/ml}$ 、 $2.09 \pm 2.35 \mu\text{g/ml}$ 、 $2.31 \pm 1.44 \mu\text{g/ml}$ 、 $4.26 \pm 2.17 \mu\text{g/ml}$ 、 $3.79 \pm 0.49 \mu\text{g/ml}$; 利福平为 $4.02 \pm 1.14 \mu\text{g/ml}$ 、 $1.90 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$ 、 $1.88 \pm 0.90 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.79 \pm 1.08 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.86 \pm 0.44 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.89 \pm 0.98 \mu\text{g/ml}$ 、 $3.92 \pm 1.09 \mu\text{g/ml}$ 、 $3.57 \pm 0.22 \mu\text{g/ml}$; 吡嗪酰胺为 $460.87 \pm 1.41 \mu\text{g/ml}$ 、 $440.91 \pm 1.69 \mu\text{g/ml}$ 、 $430.21 \pm 0.86 \mu\text{g/ml}$ 、 $340.73 \pm 1.45 \mu\text{g/ml}$ 、 $320.85 \pm 2.0 \mu\text{g/ml}$ 、 $270.61 \pm 1.0 \mu\text{g/ml}$ 、 $230.38 \pm 0.48 \mu\text{g/ml}$; 12 周时植骨块局部组织, 周边 1cm 肌肉组织异烟肼、利福平、吡嗪酰胺能达到 10 倍最低抑菌浓度, 静脉血三种药物平均浓度为 $2.79 \mu\text{g/ml}$ 、 $2.02 \mu\text{g/ml}$ 、 $4.38 \mu\text{g/ml}$ 低于植骨块局部周边浓度; 肝、肾组织组织病理学检查未见损伤。**结论:**载三联抗结核药硫酸钙/氨基酸聚合物人工骨体内释放平稳, 可实现体内局部用药缓释; 其可直接植入体内, 对肝、肾组织无明显药物损伤。

【关键词】抗结核药; 硫酸钙/氨基酸聚合物; 人工骨; 体内缓释; 大鼠

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2013.06.10

中图分类号: R529.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2013)-06-0531-06

Triple anti-tuberculosis drugs calcium sulfate/amino acid polymer artificial bone complex in vivo sustained release, an experimental study/DE Xiangyan, SHI Jiandang, WANG Zili, et al/Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2013, 23(6): 531-536

【Abstract】Objectives: To observe the control release of complex of isoniazid, rifampicin, pyrazinamide triple anti-tuberculosis drugs calcium sulfate/amino acid polymer artificial bone in rats. **Methods:** 80 SD rats with the age of 6-7 weeks, were randomly divided into the experimental group and the control group, the experimental group ($n=40$) was implanted with triple anti-tuberculosis drugs bone in sacral spinal muscular; while the control group ($n=40$) was implanted with blank boneonly. 1 day, 3 days, 1 week, 2 weeks, 4 weeks, 6 weeks, 8 weeks, 12 weeks after transplantation, 5 rats in each group were killed, high performance liquid chromatography assay rats were used to test the drug concentration in sample tissue and blood, HE stainings of rat liver and kidney were used for histological tests. **Results:** The triple anti-tuberculosis drugs bone in soft tissue of 1cm surrounding tissue after 1 day, 3 days, 1 week, 2 weeks, 4 weeks, 6 weeks, 8 weeks, 12 weeks days measured by High Performance Liquid Chromatography isoniazid was $4.09 \pm 0.56 \mu\text{g/ml}$, $2.45 \pm 1.33 \mu\text{g/ml}$, $2.12 \pm 1.56 \mu\text{g/ml}$, $1.58 \pm 4.12 \mu\text{g/ml}$, $2.09 \pm 2.35 \mu\text{g/ml}$, $2.31 \pm 1.44 \mu\text{g/ml}$, $4.26 \pm 2.17 \mu\text{g/ml}$, $3.79 \pm 0.49 \mu\text{g/ml}$ respectively; the rifampin was $4.02 \pm 1.14 \mu\text{g/ml}$, $1.90 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$, $1.88 \pm 0.90 \mu\text{g/ml}$, $0.79 \pm 1.08 \mu\text{g/ml}$,

基金项目: 国家自然科学基金项目 (代码: 81060149)

第一作者简介: 男 (1983-) 在读研究生, 研究方向: 脊柱结核

并列第一作者: 施建党, 男 (1968-), 主任医师, 博士, 研究方向: 脊柱外科

电话: (0951) 4913967 E-mail: de_xiang_yan@163.com

通讯作者: 王自立 E-mail: wangzlnx@126.com

$0.86 \pm 0.44 \mu\text{g/ml}$, $0.89 \pm 0.98 \mu\text{g/ml}$, $3.92 \pm 1.09 \mu\text{g/ml}$, $3.57 \pm 0.22 \mu\text{g/ml}$; the pyrazinamide was $460.87 \pm 1.41 \mu\text{g/ml}$, $440.91 \pm 1.69 \mu\text{g/ml}$, $430.21 \pm 0.86 \mu\text{g/ml}$, $340.73 \pm 1.45 \mu\text{g/ml}$, $320.85 \pm 2.0 \mu\text{g/ml}$, $270.61 \pm 1.0 \mu\text{g/ml}$, $230.38 \pm 0.48 \mu\text{g/ml}$; the concentration in tissue 12 weeks later, reached 10 times the minimum inhibitory concentration. The average concentration of three drugs in venous blood were $2.79 \mu\text{g/ml}$, $2.02 \mu\text{g/ml}$, $4.38 \mu\text{g/ml}$ respectively; histopathology showed no liver and kidney damage. **Conclusions:** The complex of triple anti-tuberculosis drugs calcium sulfate/amino acid polymer artificial bone can reach control release in vivo, meanwhile it is of no adverse reaction to liver and kidney tissue.

[Key words] Anti-tuberculosis drugs; Calcium sulfate/amino acid polymer; Artificial bone; Vivo sustained release; Rat

[Author's address] Ningxia Medical University, 750004, Yinchuan, China

脊柱结核常规抗结核治疗方法口服与静脉给药难以保证病灶局部足够的药物浓度,是脊柱结核治疗的难点之一^[1-3],持续较低的药物浓度可导致病程延长、结核杆菌耐药的出现。局部药物释放系统是目前脊柱结核治疗研究的热点^[4],局部药物释放系统(drug delivery system, DDS)是通过延缓药物在体内释放的过程,从而达到延长药物作用目的的制剂^[5],因其在局部能达到高的药物浓度,同时血药浓度低,不造成严重的毒副作用。目前已研究过的不同局部载药缓释系统,存在载药单一、释药过快或过慢以及人工骨材料不能降解等^[6-8]。本研究拟通过研究材料:载异烟肼、利福平、吡嗪酰胺三联抗结核药硫酸钙/氨基酸聚合物人工骨材料植入周边肌肉组织,观察血液中药物浓度和肝肾组织病理学的研究,进行大鼠体内药物缓释特性研究,为载三联抗结核药人工骨体内抗结核特性提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 实验动物为清洁(SPF)级 SD 大鼠(由宁夏医科大学实验动物中心提供)。体重 $300 \sim 400 \text{g}$, 平均为 $300 \pm 39.3 \text{g}$; $50 \sim 59$ 日龄; 雄性, 共 80 只。实验室动物房饲养, 喂清洁级饲料。

1.1.2 试剂与仪器 高效液相色谱仪(HPLC)D-2000(日本日立公司); CN($5 \mu\text{m}$), $250 \text{mm} \times 4.6 \text{mm}$ 色谱柱(美国 Waters 公司); 低温高速离心机 ALLEGRA6(美国 Beckman 公司); 异烟肼(INH)、利福平(RFP)、吡嗪酰胺(PZA)原药(美国 Sigma 公司); INH、RFP、PZA 标准对照品(中国药品技术监督检验所); 庚烷磺酸钠(中国药品技术监督检验所); 硫酸钙/氨基酸聚合物 5g(四川国纳公司)。

1.2 研究方法

1.2.1 载三联抗结核药物人工骨的制备 根据本研究系列研究中的载药人工骨力学性能检测结果(此实验结果由四川国纳公司提供), 参考单一利福平与硫酸钙的混合比值是: 硫酸钙: 聚乳酸: 氯化钠: 利福平 = $1:1:2:0.08$ (质量比), 其中硫酸钙与聚乳酸为缓释载体, 氯化钠为致孔剂, 氯化钠晶体颗粒大小为 $180 \sim 250 \mu\text{m}$ ^[9]。我们依据口服给药剂量、三种药物最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)得出不同的混合比值后, 再依据载药人工骨力学性能检测结果选用硫酸钙: 聚氨基酸: INH: RFP: PZA = $9:1:0.2:0.2:0.6$, 压缩强度均值为 11.78MPa , 为测试结果中压缩强度均值最高的配比, 故选择此配比, 并通过前期体外缓释试验验证。避光密闭环境, 称取硫酸钙/氨基酸聚合物、INH、RFP、PZA 分别为 0.5g 、 0.01g 、 0.01g 及 0.03g 。研磨至粉状, 涡旋混合器振荡混合均匀后, 加入 0.3ml 高纯水, 倒入模具加压固定 10min 后脱模, 制备好的材料为 $1.0 \times 1.2 \times 1.0 \text{cm}$ 圆柱体, 平均重量为 0.7g , 避光密闭条件下放置 2h 干燥, 环氧乙烷灭菌后封存。未载药空白材料未加入三种抗结核药, 制作过程同上。

1.2.2 动物分组 80 只 SPF 级 SD 大鼠, 随机分为实验组与对照组, 每组各 40 只。实验组为植入载三联抗结核药物人工骨大鼠组; 对照组为植入未载药空白人工骨大鼠组。

1.2.3 手术操作 术前大鼠禁食 12h , 可自由饮水。3%戊巴比妥钠溶液(30mg/kg)腹腔内麻醉。取俯卧位, 固定, 备皮。安尔碘消毒、铺单。沿背部骶脊部作纵形切口, 切开肌膜, 将人工骨材料植入肌肉内。生理盐水冲洗伤口, 逐层缝合切口。红霉素药膏涂抹切口, 敷料贴附。待麻醉复苏后, 送回饲养室。实验前后均未给予抗生素或其他药物。

1.3 动物取材

按实验计划时间,分别于术后第 1d、3d、7d、2 周、4 周、6 周、8 周和 12 周处死动物取材,每次处死实验组、对照组各 5 只。切开腹部后,立即取下腔静脉血 2ml。术后第 2 周、6 周处死动物时(每组 5 只),取适量肝右叶、右侧肾组织,放入多聚甲醛溶液中固定,HE 染色观察。人工骨毗邻的周边 1cm 范围的肌肉组织,标号为 A;取距离 1.5cm 范围的肌肉组织,标号为 B。称重,各取 1g,将血液及肌肉组织标本避光、低温保存,备行高性能液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)检测 HRZ 浓度。

1.4 实验检测内容

我们采用 CN(5 μ m),250mm $\times$ 4.6mm 色谱柱;流动相为甲醇:乙腈=55:44,0.01mol/L 庚烷磺酸钠(PH2.2),检测波长 270nm;进样体积 20 μ l。对采取肌肉组织和血液通过 HPLC 检测 HRZ 的浓度。得出术后 1d、3d、7d、2 周、4 周、6 周、8 周和 12 周时药物释出部分占投入药物总量的百分比,观察

不同时间段 HRZ 浓度变化,研究载三联抗结核药人工骨体内缓释效果。

1.5 统计分析方法

数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,SPSS 17.0 分析,单因素方差分析(One-Way ANOVA)分析统计, $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

人工骨材料植入后,各组大鼠伤口愈合良好。其中实验组死亡 2 只,对照组中死亡 1 只,为保证实验数据的准确性,立即补充。术后伤口感染实验组 3 只,对照组 1 只,但 2~3 周后均自行愈合。术后饲养中,体重增长平稳,饮食正常无厌食、大、小便正常。实验组与对照组均未出现排异反应。

载三联抗痨药人工骨体内缓释药物测定应用 HPLC 检测载三联抗痨药人工骨体内缓释药物释出情况表 1~3。A 组(人工骨比邻的周边 1cm 范围的肌肉组织标记为 A 组)、B 组(人工骨比邻的周

表 1 实验组大鼠植入载三联抗结核药人工骨后血液中 HRZ 值 (μ g/ml, $n=5$)

Table 1 The HRZ concentration in venous blood after implantation of contained triple anti-tuberculosis drugs

	1d	3d	1w	2w	4w	6w	8w	12w
INH	2.09 $\pm$ 0.36	2.47 $\pm$ 1.03	2.08 $\pm$ 1.37	1.76 $\pm$ 1.12	1.88 $\pm$ 0.95	2.21 $\pm$ 1.44	2.26 $\pm$ 2.17	2.79 $\pm$ 0.49
RFP	1.82 $\pm$ 1.04	2.03 $\pm$ 0.19	1.74 $\pm$ 0.95	0.52 $\pm$ 1.24	0.51 $\pm$ 0.56	0.72 $\pm$ 0.71	1.78 $\pm$ 1.19	2.02 $\pm$ 0.21
PZA	5.87 $\pm$ 1.41	6.91 $\pm$ 1.69	6.21 $\pm$ 0.86	4.73 $\pm$ 1.45	3.28 $\pm$ 2.05	5.08 $\pm$ 0.94	6.59 $\pm$ 1.03	4.38 $\pm$ 0.48

注:静脉血中 INH 值 $F=4.633(P<0.05)$, RFP 值 $F=14.165(P<0.05)$, PZA 值 $F=4.633(P<0.05)$

Note: In venous blood INH value $F=4.633(P<0.05)$, RFP value $F=14.165(P<0.05)$, PZA value $F=4.633(P<0.05)$

表 2 载三联抗结核药人工骨体内缓释药物 A 组值 (μ g/ml, $n=5$)

Table 2 The value of group A after implantation of contained triple anti-tuberculosis drugs

	1d	3d	1w	2w	4w	6w	8w	12w
INH	4.09 $\pm$ 0.56	2.45 $\pm$ 1.33	2.12 $\pm$ 1.56	1.58 $\pm$ 4.12	2.09 $\pm$ 2.35	2.31 $\pm$ 1.44	4.26 $\pm$ 2.17	3.79 $\pm$ 0.49
RFP	4.02 $\pm$ 1.14	1.90 $\pm$ 0.11	1.88 $\pm$ 0.90	0.79 $\pm$ 1.08	0.86 $\pm$ 0.44	0.89 $\pm$ 0.98	3.92 $\pm$ 1.09	3.57 $\pm$ 0.22
PZA	460.87 $\pm$ 1.41	440.91 $\pm$ 1.69	430.21 $\pm$ 0.86	340.73 $\pm$ 1.45	320.85 $\pm$ 2.05	320.15 $\pm$ 0.94	270.61 $\pm$ 1.03	230.38 $\pm$ 0.48

注:A 组中 INH 值 $F=145.376(P<0.05)$, RFP 值 $F=467.459(P<0.05)$, PZA 值 $F=956.949(P<0.05)$

Note: Group A INH value $F=145.376(P<0.05)$, RFP value $F=467.459(P<0.05)$, PZA value $F=956.949(P<0.05)$

表 3 载三联抗结核药人工骨体内缓释药物 B 组值 (μ g/ml, $n=5$)

Table 3 The value of group B after implantation of contained triple anti-tuberculosis drugs

	1d	3d	1w	2w	4w	6w	8w	12w
INH	3.78 $\pm$ 0.65	2.26 $\pm$ 1.28	1.94 $\pm$ 1.37	2.49 $\pm$ 1.91	2.37 $\pm$ 2.42	2.68 $\pm$ 1.73	3.84 $\pm$ 1.15	3.55 $\pm$ 0.39
RFP	3.56 $\pm$ 1.15	1.94 $\pm$ 0.15	1.27 $\pm$ 0.67	0.72 $\pm$ 1.48	0.77 $\pm$ 1.44	0.87 $\pm$ 1.08	3.77 $\pm$ 1.45	3.45 $\pm$ 0.29
PZA	360.82 $\pm$ 1.42	370.69 $\pm$ 1.07	310.83 $\pm$ 1.26	350.44 $\pm$ 2.45	360.28 $\pm$ 1.03	360.93 $\pm$ 1.68	310.22 $\pm$ 1.01	300.37 $\pm$ 0.54

注:B 组中 INH 值 $F=111.71(P<0.05)$, RFP 值 $F=518.579(P<0.05)$, PZA 值 $F=14.165(P<0.05)$

Note: Group B INH value $F=111.71(P<0.05)$, RFP value $F=518.579(P<0.05)$, PZA value $F=14.165(P<0.05)$

边 1.5cm 范围的肌肉组织标记为 B 组)根据实验结果显示在 12 周时 HRZ 浓度均能达到 10 倍 MIC^[8],术后各时间段单因素方差分析(One-Way ANOVA),A 组中 INH 值 $F=145.376$ ($P<0.05$),RFP 值 $F=467.459$ ($P<0.05$),PZA 值 $F=956.949$ ($P<0.05$);B 组中 INH 值 $F=111.71$ ($P<0.05$),RFP 值 $F=518.579$ ($P<0.05$),PZA 值 $F=14.165$ ($P<0.05$);静脉血中 INH 值 $F=4.633$ ($P<0.05$),RFP 值 $F=14.165$ ($P<0.05$),PZA 值 $F=4.633$ ($P<0.05$)。

实验组 2 周时,大鼠肝脏切片,HE 染色表明巨噬细胞、肝细胞未见明显异常。肝血窦、肝板、小叶间静脉未见异常。实验组肾脏切片 HE 染色,6 周时与对照组比较,表明肾皮质、肾小管、近端小管、远端小管均未见异常,对照组均未见异常(图 1~4)。

3 讨论

病灶局部抗结核药物浓度及其作用时间在杀灭结核杆菌过程中起着关键的作用。王自立等^[1,2]研究发现口服抗结核药时脊柱结核病灶局部药物浓度不足,难以达到有效的抗结核作用。文献报道异烟肼、利福平和吡嗪酰胺对结核菌的 MIC 分别为 $0.05\mu\text{g/ml}$ 、 $0.05\mu\text{g/ml}$ 、 $20\mu\text{g/ml}$,一般最低杀菌浓度为最低抑菌浓度的 10 倍^[5,10]。如何提高病灶局部药物浓度,使其达到杀灭细菌浓度成为目前脊柱结核治疗研究的热点。病灶局部缓释药物植入可能成为优异的解决策略。在本研究之前已完成了载三联抗结核药人工骨体外缓释实验、载药人工骨力学性能检测实验,并对该材料的微观结构与力学强度进行了分析与对比,获得抗结核药与人工骨材料的最佳配比。本研究通过对所研制

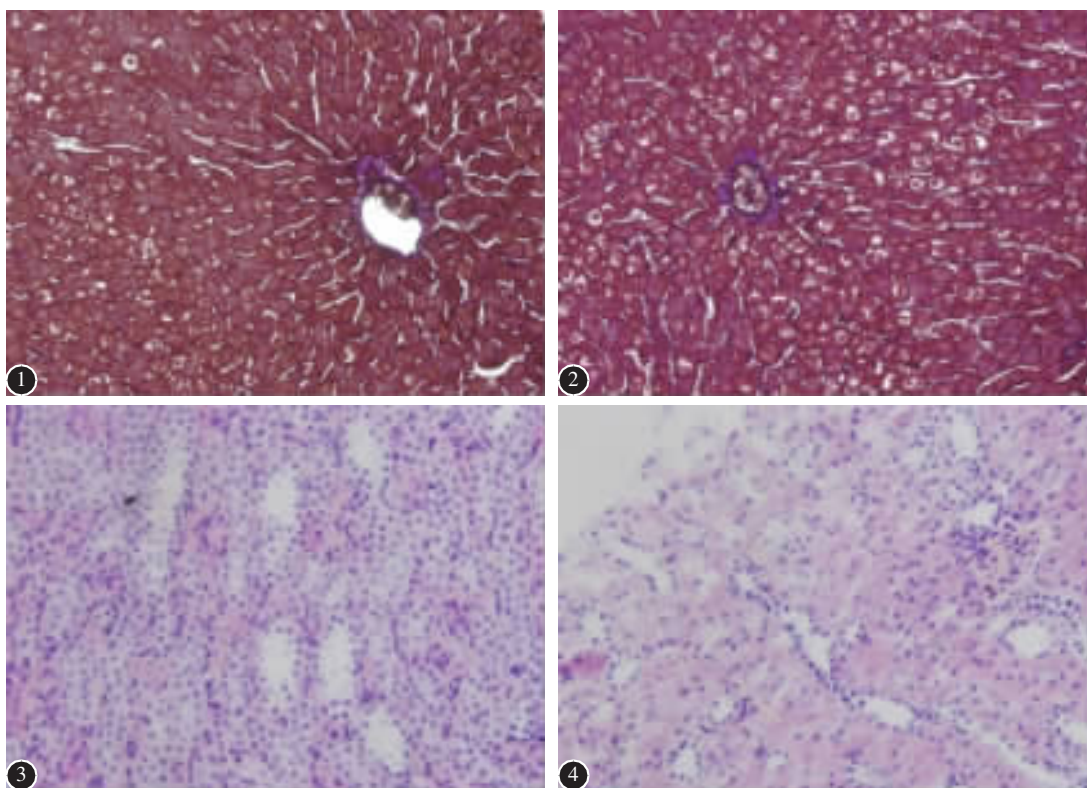


图 1 实验组术后 2 周大鼠肝组织肝门管区,巨噬细胞、肝细胞形态正常;肝血窦、肝板、小叶间静脉未见异常(HE $\times 40$)
图 2 对照组术后 2 周大鼠肝组织肝门管区,巨噬细胞、肝细胞/肝血窦、肝板、小叶间静脉未见异常(HE $\times 40$) 图 3 实验组术后 6 周 HE 染色表明肾皮质、肾小管、近端小管、远端小管未见异常(HE $\times 40$) 图 4 对照组术后 6 周肾皮质、肾小管、近端小管、远端小管未见异常,无药物损害(HE $\times 40$)

Figure 1 Experimental group postoperation 2 weeks, hepatic portal area macrophages, liver cells were normal morphology, with no abnormal of hepatic sinusoid, liver board and interlobular veins(HE $\times 40$) **Figure 2** Control group postoperation 2 weeks, hepatic portal area macrophages, liver cells were normal morphology, with no abnormal of hepatic sinusoid, liver board and interlobular veins(HE $\times 40$) **Figure 3** Experimental group postoperation 6 weeks, no abnormal of renal cortex, renal tubular, proximal tubule and distal tubule (HE $\times 40$) **Figure 4** Control group postoperation 6 weeks, no abnormal of renal cortex, renal tubular proximal tubule and distal tubule(HE $\times 40$)

的载三联抗结核药硫酸钙/氨基酸聚合物人工骨植入大鼠体内模拟局部用药观察研究,发现载药人工骨在大鼠肌肉组织中可以平稳缓释,能够达到长时间的杀菌浓度,并对大鼠全身及肝肾组织的无毒性影响。为后期载三联抗结核药人工骨的体内抗结核及成骨试验提供依据等。

A、B 组 HRZ 释放浓度趋势较平缓,说明载三联抗结核药人工骨在体内可缓慢持续的释放,能维持局部治疗有效的药物浓度。INH、RFP、PZA 均可维持高于 10 倍结核分枝杆菌最低抑菌浓度,直到第 12 周。A、B 组中 INH、RFP、PZA 在 3d 时释出部分占药物投放总量的 10.8%、11.9%、20.1%。目前关于药物缓释体、微球缓释系统的多数文献报道,药物初期的突释现象是多数药物工作者的共同存在的问题,本研究中将氨基酸转化成吗啉二酮或吗啉二酮衍生物,然后在合适的引发剂引发下与丙交酯进行共聚^[11,12],以氯化钠为致孔剂合成缓释载体,3d 时的测得的药物释放比例低于突释效应定义中 40%^[13],在本研究 1 周后的检测中均可平稳释放,人工骨材料在大鼠肌肉中缓释效果好。缓释体释药速率和聚合物的理化特性有关,包括聚合物的亲水性、结晶性、生物可降解性等。不同的聚合物制备的缓释载体可能产生不同的释药特性^[13]。本研究中测得 3d 内的药物释出低于投药量的 21%,3d 后释放平稳,均可维持高于 10 倍结核分枝杆菌最低抑菌浓度。孙淑珍、陈安民等用羟基磷灰石陶瓷作为利福平载体治疗骨结核的研究表明,该缓释系统植入后能在体内至少维持 27 周的有效药物浓度,临床治疗 44 例骨结核患者疗效满意^[14]。但其采用材料缺点是工艺复杂,不能任意塑性。张泽华等^[15]采用同种异体骨复合纤维蛋白多聚体作为利福平缓释载体,虽然药物缓释可以维持有效杀菌浓度达 42d,但其材料制作过程复杂,且采用单一抗结核药利福平,效果难以与三联抗结核药相比拟。本研究采用三联抗结核药局部治疗,符合结核病治疗的联合用药原则,对结核分枝杆菌的杀灭有了更大的效力。并且材料制作过程简单,可以术中任意塑性。A、B 两组的实验结果充分的说明药物局部的缓释的释放范围,对后期植入体内脊柱结核组织局部浓度的测定提供依据。

静脉血液药物浓度检测,HRZ 血药浓度低于肌肉组织中血药浓度,说明抗结核药物在体内缓

慢释放,可以有微量 HRZ 进入血液,血药浓度平稳,无蓄积,减少对机体产生的全身毒副作用,同时在局部肌肉组织能达到有效的药物浓度。由于载三联抗结核药人工骨植入于大鼠骶脊部肌肉中,根据文献报道,局部用药,药物少量入血后,通过全身代谢最后排泄到体外^[16],与人工骨植入病灶骨组织中代谢方式不同,我们通过 HRZ 静脉血液药物浓度检测与肌肉组织中 HRZ 药物浓度进行对比发现 12 周时,局部肌肉组织药物浓度均高于静脉血液中的浓度。

张炜、杨慧媛等^[19,20]抗结核药物致小鼠肝细胞线粒体损伤的研究和异烟肼利福平合用致大鼠肝损伤的实验模型中提及肝损伤的发生是药物在肝脏的毒性代谢产物和它的解毒过程失衡的结果。本研究植入大鼠体内的载三联抗结核药人工骨在保证局部有效药物浓度的同时,从组织病理学的角度上对肝、肾组织的毒性作用影响较小,无明显肝肾毒性。研究中仍然存一些待解决的问题,如标本取样时发现载药人工骨在肌肉组织中降解到中期时,载药人工骨的抗压力不高问题,叶向阳等^[21]在新型抗结核多孔磷酸钙骨水泥缓释载体的制备与性能中提及材料抗压强度低于常规抗压强度,人工骨抗压力不高需进一步改进;对于水溶性的 INH 等突释现象的解决在后续实验中进一步改进。

4 参考文献

1. Oga M, Arizono T, Takasita M, et al. Evaluation of the risk of instrumentation as a foreign body in spinal tuberculosis [J]. Spine, 1993, 18(13): 1890-1894.
2. 戈朝晖,王自立,魏敏吉,等. 脊柱结核病灶中抗痨药物浓度的测定[J]. 中华骨科杂志, 2005, 25(2): 97-101.
3. Wang Z, Ge Z, Jin W, et al. Treatment of spinal tuberculosis with ultrashort-course chemotherapy in conjunction with partial excision of pathologic vertebrae[J]. Spine J, 2007, 7(6): 671-681.
4. 燕荣帅,李力韬,张泽华. 耐利福平脊柱结核的分子药敏检测及药物缓释系统的研究进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2011, 21: 1807-1809.
5. Jutte PC, Rutgers SR, Van Altena R, et al. Penetration of isoniazid, rifampicin and pyrazinamide in tuberculous pleural effusion and psoas abscess[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2004, 8 (11): 1368-1372.
6. 张阳德,赵志坚,张浩伟,等. 纳米药物的药代动力学研究进展[J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16(7): 1028-1031.
7. Chono S, Tanino T, Seki T, et al. Efficient drug delivery to

- alveolar macrophages and lung epithelial lining fluid following pulmonary administration of liposomal ciprofloxacin in rats with pneumonia and estimation of its antibacterial effects [J]. Drug development and industrial pharmacy, 2008, 34 (10): 1090-1096.
8. Raman C, Berklund C, Kim K, et al. Modeling small-molecule release from PLG microspheres: effects of polymer degradation and nonuniform drug distribution[J]. J Controlled Release, 2005, 103(1): 149-158.
9. 应小樟, 徐华梓, 彭磊, 等. 利福平硫酸钙植入剂的研制与相关性能检测[J]. 温州医学院学报, 2007, 7(1): 50-55.
10. 陆宇, 王彬, 郑梅琴, 等. 应用 Alamar Blue 和 MTT 测定抗结核药物最低抑菌浓度的研究[J]. 中国防痨杂志, 2007, 29 (6): 499-501.
11. Helder J, Dijkstra PJ, Feijen J. In vitro degradation of glycine/DL-lactic acid copolymers [J]. J Biomed Mater Res, 1990, 24(8): 1005-1020.
12. Buwalda SJ, Dijkstra PJ, Feijen J. Biodegradable, in situ forming poly (ethylene glycol)-poly (lactide) hydrogels by Michael addition chemistry[J]. J Control Release, 2011, 152 (Suppl 1): e199-201.
13. 龙娜, 吕竹芬. 微球缓释系统的突释现象及其影响因素[J]. 中国药师, 2010, 13(3): 421-423.
14. 谭金海, 陈振光, 魏任雄, 等. 多孔碳酸钙陶瓷的细胞相容性研究[J]. 中华实验外科杂志, 2005, 22(10): 1250-1251.
15. 张泽华, 罗飞, 张劲松, 等. 冻干同种异体髂骨作为支架材料的性能研究[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(11): 1069-1072.
16. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins Pathologic Basis of Disease[M]. 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1999. 1-49.
17. Emanuel Rubin. Essential Pathology[M]. 3rd ed. Philadelphia: Susan Kaze, 2001. 1-23.
18. Shi XT, Wang YJ, Ren L, et al. Novel mesoporous silica-based antibiotic releasing scaffold for bone repair [J]. Acta Biomater, 2009, 5(5): 1697-707.
19. 张炜, 张冰, 郝金奇, 等. 抗结核药致肝细胞线粒体的氧化损伤[J]. 中华传染病杂志, 2011, 29(11): 659-663.
20. 杨慧媛, 宋育林, 许建明, 等. 异烟肼利福平合用致大鼠肝损伤的实验模型[J]. 安徽医科大学学报, 2008, 43(2): 185-189.
21. 叶向阳, 甄平, 李晓飞, 等. 新型抗结核多孔磷酸钙骨水泥缓释载体的制备与性能研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2010, 23 (18): 1981-1986.
- (收稿日期: 2013-03-05 末次修回日期: 2013-05-23)
(英文编审 蒋欣/贾丹彤)
(本文编辑 彭向峰)

消息

中国中西医结合学会脊柱医学专业委员会第六届学术年会征文通知

中国中西医结合学会脊柱医学专业委员会第六届学术年会定于 2013 年 7 月 19~20 日在北京召开, 本次会议的主题为上颈椎伤病诊疗原则、脊柱融合与非融合治疗的选择、脊柱微创和中西医结合手术与非手术治疗等临床热点问题, 采用疑难病例报告、与会专家讨论和总结点评等互动形式交流。届时还将邀请著名脊柱外科专家进行专题讲座。热烈欢迎中西医脊柱外科同仁参与支持我们的学术活动。本次会议授予国家 I 类继续医学教育项目学分。

征文范围: 脊柱相关疾病的中医、西医及中西医结合基础和临床研究; 上颈椎伤病诊疗新技术; 脊柱微创、融合与非融合治疗; 椎间盘源性疾病的非手术诊疗手段; 脊柱脊髓损伤的康复和功能重建。

投稿要求: 文稿必须具有科学性、先进性和实用性, 论点明确, 论据充分; 500 字左右摘要及全文, 包括研究目的、方法、结果和结论; 论文应为未公开发表的文章; 论文请注明作者姓名、单位、通讯地址、邮编、手机和工作电话和 e-mail 地址。请通过电子邮件发送论文, 不接受纸质稿件, 邮件主题为: 论文题目。

投稿邮箱: dongliang-526@163.com。截稿日期: 2013 年 6 月 15 日。

联系地址: 卫生部中日友好医院脊柱外科(100029)。

联系电话: 13167571545(董亮); 13811083187(杨峰)。