

复合三联抗结核药涂层材料(HRZ/PLGA) 在大鼠体内释药特性观察

赵晨¹, 王 骞², 施建党³, 杨宗强³, 何 胤⁴, 岳学锋¹, 王 鹏¹, 王自立³

(1 宁夏医科大学研究生院 750004 银川市; 2 美国南佛罗里达大学 33620 坦佩; 3 宁夏医科大学总医院脊柱骨科 750004 银川市; 4 四川省广元市中心医院骨科 628000)

【摘要】目的:观察复合异烟肼(H)、利福平(R)、吡嗪酰胺(Z)三联抗结核药的聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)涂层材料(HRZ/PLGA)在大鼠体内的释药特性。**方法:**将 84 只成年 SD 大鼠随机分为 A、B、C 三组, 每组 28 只。A 组为复合抗结核药 HRZ/PLGA 涂层材料植入组; B 组为抗结核药 HRZ 植入组; C 组为空白未载药 PLGA 涂层材料植入组, 于术后 1d、3d、1w、2w、4w、6w、8w 时分别麻醉各组大鼠 4 只, 抽取腹腔静脉血液 5ml, 处死后取体内植入材料或药物周边 1cm 的肌肉组织, 应用高效液相色谱法(HPLC)检测肌肉组织及血清中 H、R、Z 三种药物的浓度, 并于 1w、4w 时取血检测肝、肾功能(AST、ALT、Ur、Cr), 2w 及 6w 时取植入局部肌肉组织进行形态学观察。**结果:**A 组在术后 3d 时 HRZ/PLGA 涂层材料周边肌肉组织中三药浓度均达最高, 2w 后药物浓度下降趋势平稳, 8w 时 H、R、Z 三药平均浓度分别为 0.87、0.92、1.61 μ g/g, 均能达到各自 10 倍最低抑菌浓度(MIC); B 组在术后 3d 时植入 HRZ 周边肌肉组织中三药物浓度均达最高, 但药物浓度下降较快, 4w 时三种药物均不能检测到; C 组不能检测到三种药物。A 组肌肉检测药物浓度曲线较 B 组明显平稳、长程。A 组静脉血中三种药物浓度明显低于植入 HRZ/PLGA 涂层材料周边的肌肉组织($P<0.05$)。术后 1w、4w 时各组 AST、ALT、Ur、Cr 与术前比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。2w 时 A 组及 C 组植入局部肌肉组织 HE 染色观察镜下见炎症细胞及 PLGA 降解产生空泡存在, 6w 时炎症细胞及空泡减少, A、B、C 三组未见明显细胞坏死。**结论:**HRZ/PLGA 涂层材料在 SD 大鼠体内释药平稳, 持续时间较长, 可实现体内局部用药的有效缓释; 直接植入体内后组织生物相容性及可塑形性良好, 为脊柱结核病灶清除后复合自体骨的局部有效给药提供了新方法。

【关键词】脊柱结核; 抗结核药; 聚乳酸-羟基乙酸; 体内; 缓释性能; 大鼠

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2016.07.10

中图分类号: R529.2, R318.08 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2016)-07-0635-07

Drug-releasing properties of anti-tuberculosis drugs composite in coating material HRZ/PLGA: a study in rats/ZHAO Chen, WANG Qian, SHI Jiandang, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2016, 26(7): 635-641

【Abstract】Objectives: To observe the sustained-release properties of isoniazid(H), rifampicin(R), pyrazinamide(Z) anti-tuberculosis drugs composite/poly(lactic acid-glycolic acid) in coating material(HRZ/PLGA) in rats. **Methods:** Eighty-four SD adult rats were divided into three groups randomly: HRZ/PLGA group(group A), HRZ group(group B) and the blank copolymer group(group C). Four rats in each group were anesthetized respectively at 1d, 3d, 1w, 2w, 4w, 6w and 8w after surgery, 5ml blood sample was taken through vena cava in each rat. Then rats were killed, and 1cm muscle around the surgery site was obtained. High performance liquid chromatography(HPLC) was applied to detect H, R, Z concentration in the muscle and serum. Liver and kidney functions (AST、ALT、Ur、Cr) were detected at 1w and 4w after surgery, the histopathological changes was observed in muscle tissues of surgery site at 2w and 6w after surgery. **Results:** In group A, H, R, Z reached the highest drug concentration in muscle and plasma at 3d after surgery, and tended to show a

基金项目:国家自然科学基金项目(代码:81360275);宁夏自然科学基金项目(代码:NZ13131)

第一作者简介:男(1990-),医学硕士生,研究方向:脊柱外科

电话:(0951)6743242 E-mail:zhaochen901010@163.com

共同第一作者:王骞 E-mail:jetwang@hotmail.com

通讯作者:施建党 E-mail:shi_jiandang@163.com

stable descent speed after 2w. The H, R, Z concentrations of group A in muscle were 0.87, 0.92, 1.61 $\mu\text{g/g}$ at 8w, which were 10 times as high as their minimum inhibitory concentrations (MIC). The H, R, Z concentrations of group B in muscle reached the highest at 3d after surgery, and dropped sharply, which became undetectable at 4w after surgery. H, R, Z were undetectable in the muscle and plasma of group C. The difference of drug concentration in the muscle and plasma of group A was statistically significant ($P < 0.05$) in the paired t test. In group A, B, C, all the indexes of liver and kidney before surgery, at 1w, and at 4w had no statistical difference ($P > 0.05$). In group A and C, the histopathological of muscle tissues showed some inflammatory cells and empty package, which produced by the degradation of PLGA. The three groups did not have obvious inflammation cell and cell damage. **Conclusions:** HRZ/PLGA can be sustained and gently released with satisfactory biocompatibility and plasticity in rats. This study provides a new method for local effective administration with combined autologous bone after spinal tuberculosis clearing.

[Key words] Spinal tuberculosis; Anti-TB drug; Poly(lactic-co-glycolic acid); In vivo; Slow-release; Rat

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

随着脊柱结核治疗理念的进步和脊柱手术方式的发展,目前认为外科手术可以清除结核病灶,但不能完全清除结核杆菌,抗结核药化疗仍为脊柱结核治愈的根本^[1]。由于脊柱结核病灶中硬化骨易在局部形成天然屏障,抗结核药物到达靶器官之前存在降解及低渗透性,病灶局部难以保证有效的药物浓度;同时,长期口服与静脉应用抗结核药容易导致毒副作用,增加组织和器官损害的发生率,对于存在肝、肾功能不全等系统疾病的患者不能耐受,用药依存性差,成为脊柱结核难以治愈的主要原因^[2,3]。因此,保证病灶局部长效药物浓度及避免造成严重的毒副作用,成为提高脊柱结核疗效的理想措施。据此,我们制备了复合异烟肼(H)、利福平(R)和吡嗪酰胺(Z)三联抗结核药的聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)涂层材料(HRZ/PLGA),体外实验研究结果证实 HRZ/PLGA 涂层材料有优良的载药及药物缓释效果。本研究将 HRZ/PLGA 涂层材料植入大鼠骶棘肌内,观察其药物缓释特性、肝肾毒副作用及生物相容性,为脊柱结核病灶清除后复合自体骨的局部有效给药提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁(SPF)级雄性 SD 大鼠(50~59 日龄,由宁夏医科大学实验动物中心提供),体重 300~360g($335 \pm 13.5\text{g}$),共 84 只。于宁夏医科大学总医院外科学研究室实验动物房标准大鼠饲料饲养。

1.2 材料与仪器

PLGA(90:10,分子量:9.5 万,济南岱罡生物工程有限公司);二氯甲烷(分析纯)、甲醇(分析

纯)、氯化钠(分析纯)、氯化钾(分析纯)、磷酸氢二钠(分析纯)、磷酸二氢钾(分析纯)均购于化学试剂厂;利福平(R)原药、异烟肼(H)原药、吡嗪酰胺(Z)原药均购买于美国 Sigma 公司;R、H、Z 标准对照品均购买于中国药品技术监督管理局;庚烷磺酸钠(中国药品技术监督管理局),乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司)。高效液相色谱仪(HPLC) D-2000(日本日立公司);固定相 CN($5\mu\text{m}$), 250mm $\times$ 4.6mm 色谱柱(美国 Waters 公司);精密电子天平(北京赛多利思科学仪器有限公司);79HW-1 型恒温磁力搅拌器(浙江乐成电器厂);涡旋仪(上海青浦沪西仪器厂);超声波清洗器(深圳市诺赛德精密科技有限公司);真空冷冻干燥机(上海比朗仪器有限公司)。

1.3 HRZ/PLGA 涂层材料的制备

药物配比方案为 H:R:Z=15:15:30,药物总质量与 PLGA 之比为 1:5。避光准确称 R 30mg 和 PLGA 600mg,溶于 10ml 二氯甲烷中,在常温下超声振荡使其完全溶解;再准确称取 H 30mg 溶于甲醇(5ml)中,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 超声振荡使其完全溶解;将上述两种溶液混合在超声振荡下使其完全混合均匀;将预先称好的 Z 60mg 溶于上述混合液中,超声振荡下使其完全分散均匀;将溶有 H、R、Z 三种药物的混合溶液均匀喷涂于预制矩形模具内(长 $\times$ 宽 $\times$ 厚=6 $\times$ 2 $\times$ 0.375cm)冷冻干燥,待其有机溶剂挥发干净后继续涂层至 0.1cm 刻度线处,制备 HRZ/PLGA 涂层材料;空白未载药 PLGA 涂层材料(PLGA 600mg)不加入药物,制备方法同上(图 1)。真空冷冻干燥后密封,钴 60(Co^{60})辐照消毒后-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏备用。

1.4 动物分组

大鼠随机分为 A 组、B 组、C 组, 每组各 28 只。A 组植入复合抗结核药 HRZ/PLGA 涂层材料; B 组植入同比例药量的混合抗结核药 HRZ 粉末; C 组植入未载药 PLGA 涂层材料。

1.5 手术操作

术前大鼠禁食 8h, 自由饮水。用 10% 的水合氯醛 (0.3ml/100g) 腹腔内注射麻醉, 取俯卧位, 固定, 备皮, 安尔碘消毒、铺无菌巾。沿背部作纵行切口, 切开肌膜, 钝性分离右侧骶棘肌。按体重 1.2mg/g 将制备的 HRZ/PLGA 缓释涂层材料卷成圆柱状 (图 2, 每 360mg 材料含 H、R、Z 的剂量分别为 15mg、15mg 及 30mg), 植入 A 组大鼠骶棘肌内; 将抗结核药 H、R、Z 分别按 0.05mg/g、0.05mg/g、0.1mg/g 植入 B 组大鼠骶棘肌内; 将所制备的空白 PLGA 植入 C 组大鼠骶棘肌内。生理盐水冲洗伤口, 逐层缝合切口, 酒精消毒后, 敷料贴附。待麻醉复苏后, 送回动物饲养室, 4 只/笼饲养。实验前后均未给予抗生素或其他药物。

1.6 动物取材

分别于术后 1d、3d、1w、2w、4w、6w、8w 麻醉三组大鼠各 4 只, 取下腔静脉血 5ml, 处死后取植入材料或药物局部毗邻 1cm 范围的肌肉组织。将所取血液及肌肉组织编号后避光、-20℃冰箱保存待检。术后 2w、6w 时取适量植入材料或药物局部的肌肉组织, 放入多聚甲醛溶液中固定, 切片后 HE 染色观察。

1.7 样本检测

将取下的肌肉精确称取 10g, 冷冻干燥后再称重, 计算干湿比, 然后将肌肉组织研磨成粉, 加入超纯水 1ml 进行匀浆, 制成的组织匀浆液进行离心处理, 取上清液测定肌肉中血红蛋白 (Hb) 含

量。将抽取的血液置于肝素钠玻璃采血管中, 离心后得血浆。取组织匀浆液和血浆各 200μl, 向其中加入 1ml 甲醇沉淀蛋白后离心, 取上清液 200μl 经 0.22μm 微孔滤膜过滤后, 置于 -20℃ 冰箱内待检。

采用高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 检测血浆及组织匀浆中药物浓度。色谱条件: WatersCN 色谱柱 (5μm, 250mm、4.6mm); 预柱 SB-C18 (5μm, 4.6mm、12.5mm); 流动相: 0.01mol/L 庚烷磺酸钠 (纯磷酸滴定 pH 值至 2.40): 乙腈 = 45:55; 检测波长 270nm; 柱温 30℃; 进样体积 20μl; 流速 1ml/min。

应用氰化高铁血红蛋白法 (HICN) 测得样本中污染血的 Hb 含量, 经稀释比、干湿重量比以及校正公式计算肌肉组织样本的校正药物浓度。校正浓度 = 组织样本药物浓度 - 组织样本归因血污染的药物浓度, 归因血污染的药物浓度 (μg/g) = 组织匀浆中 Hb/血液中 Hb × K × S × (100 - Ht) / 100^[4], 其中 K 为组织稀释因子, S 为血浆药物浓度 (μg/ml), Ht 为红细胞压积 (%)。

将所取 SD 大鼠静脉血进行生化检测, 记录 AST、ALT、Cr 及 BUN 值。所取肌肉组织固定切片后 HE 染色, 光镜下观察 (HE × 40)。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本均数比较采用 *t* 检验, 多样本均数比较用单采因素方差分析, α 取 0.05。

2 结果

2.1 一般情况

术后饲养观察各组大鼠饮食正常。术后切口

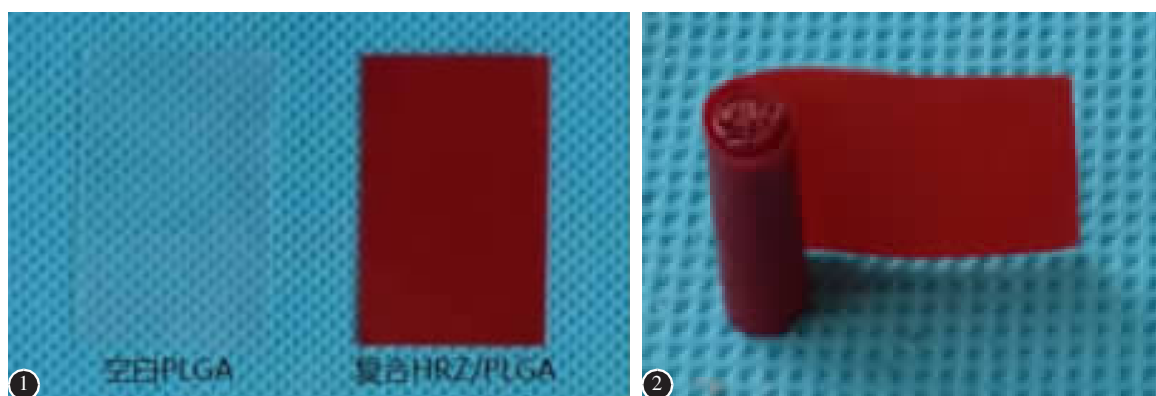


图 1 空白 PLGA (左) 复合 HRZ/PLGA (右) 图 2 植入复合 HRZ/PLGA 形状

Figure 1 PLGA (left), HRZ/PLGA (right) Figure 2 HRZ/PLGA implant shape

感染 A 组 2 只, B 组 1 只, C 组 2 只, 给予更换敷料处理 2~3 周均愈合, 三组均无大鼠异常死亡。

2.2 药物浓度及时间曲线

A 组植入涂层材料周边肌肉和血浆中 H、R、Z 三药的浓度在术后 3d 时均达到最高, 2w 后药物的浓度趋于稳定, 8w 时, 肌肉中 H、R、Z 的浓度分别为: $0.87\mu\text{g/g}$ 、 $0.92\mu\text{g/g}$ 、 $1.61\mu\text{g/g}$, 三种药物浓度均达到了各自的 10 倍最低抑菌浓度(MIC)(表 1); 血浆中 H、R、Z 的浓度分别为 $0.017\mu\text{g/g}$ 、 $0.011\mu\text{g/g}$ 、 $0.083\mu\text{g/g}$, 肌肉和静脉血中 H、R、Z 的药物浓度行配对 t 检验, $t_{\text{H}}=3.27$ ($P=0.003$)、 $t_{\text{R}}=3.89$ ($P=0.003$)、 $t_{\text{Z}}=5.63$ ($P=0.001$), 差异均有统计学意义, 血液中的药物浓度显著低于局部肌肉中的药物浓度。B 组植入药物周边肌肉中 H、R、Z 浓度在术后 3d 时最高, 分别为 $10.93\mu\text{g/g}$ 、 $13.42\mu\text{g/g}$ 、 $17.68\mu\text{g/g}$, 但随时间延长, 于 4w 时均不能检测到 H、R、Z 三种药物(表 2)。C 组不能检测出 H、R、Z 药物。A、B 组术后 1d、3d、1w、2w、4w、6w、8w 时, 肌肉和血浆中 H、R、Z 三种药物浓度与时间关系见图 3~6。A 组药物浓度曲线较 B 组明显平稳、长程。

2.3 肝、肾功能测定

A、B、C 三组术前、术后 1w、术后 4w 时肝、肾功能指标(AST、ALT、Cr 及 BUN 值)见表 3, 各组术后 1w、4w 分别与术前比较均无统计学差异($P>0.05$)。

2.4 组织学形态观察

A 组术后 2w 时可见部分 PLGA 降解产生 CO_2 留下的空泡及肌束间炎症细胞浸润, 6w 时空泡及炎症细胞逐渐减少; B 组 2w 时肌束间质增生, 少量的炎症细胞浸润, 6w 时定型; C 组 2w 时可见 PLGA 溶解后留下的空泡较多, 肌束间有炎症细胞浸润, 6w 时空泡及炎症细胞减少; 三组均未见明显炎症反应及肌肉坏死(图 7)。

3 讨论

在脊柱结核的治疗中, 抗结核药物化疗是结核治愈的根本^[5], 但长程的全身用药难以在病灶局部达到有效杀菌浓度, 容易导致病程延长及耐药结核杆菌产生^[6]。以往骨结核病灶清除术后在术区放置抗结核药物, 但局部有效的药物浓度不能长程维持, 无法彻底杀灭细菌, 治疗效果有限。病灶清除后植入药物缓释系统 (drug delivery

表 1 A 组各时间点肌肉中药物浓度 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

Table 1 Concentration of HRZ in muscle-time curve of group A

时间点 Time point	药物浓度($\mu\text{g/g}$) Concentration of drug		
	异烟肼 H	利福平 R	吡嗪酰胺 Z
1d	1.72 ± 0.33	1.97 ± 0.34	4.65 ± 0.62
3d	4.18 ± 0.42	5.11 ± 0.28	7.93 ± 0.52
1w	3.53 ± 0.54	3.97 ± 0.25	7.04 ± 0.46
2w	2.46 ± 0.79	2.93 ± 0.57	4.99 ± 0.41
4w	1.86 ± 0.35	2.17 ± 0.31	3.91 ± 0.56
6w	1.12 ± 0.21	1.21 ± 0.16	2.86 ± 0.29
8w	0.87 ± 0.32	0.92 ± 0.14	1.61 ± 0.41

表 2 B 组各时间点肌肉中药物浓度 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

Table 2 Concentration of HRZ in muscle-time curve of group B

时间点 Time point	药物浓度($\mu\text{g/g}$) Concentration of drug		
	异烟肼 H	利福平 R	吡嗪酰胺 Z
1d	5.31 ± 0.37	6.19 ± 0.16	11.24 ± 0.23
3d	10.93 ± 0.24	13.42 ± 0.12	17.68 ± 0.39
1w	7.98 ± 0.30	9.24 ± 0.36	13.97 ± 0.45
2w	0.43 ± 0.57	0.26 ± 0.35	3.16 ± 0.44
4w	0	0	0
6w	0	0	0
8w	0	0	0

system, DDS)以达到局部长程、有效的抗结核药物化疗, 减轻全身不良反应, 成为目前治疗脊柱结核的研究重点和热点之一^[7,8]。PLGA 是 FDA 认证的生物降解高分子有机化合物, 具有良好的生物相容性、生物降解性、载药性等优点, 已经广泛应用于 DDS 的实验研究^[9,10]。目前关于 PLGA 或其他聚合物搭载抗结核药物缓释系统的相关文献报道较多, 但大多数的载药系统均存在载药单一、药物缓释时间过快或过慢、制备方法复杂、术中不易塑形固定等问题^[11-14]。刘勇等^[15]采用琼脂双倍稀释法测定表明, H、R、Z 三种一线抗结核药物联合应用于病灶局部其抗菌作用比单独应用 R、H 强 1~2 倍。目前已知 H、R 的体外 MIC 分别为 $0.005\sim 0.5\mu\text{g/ml}$ 和 $0.025\sim 0.05\mu\text{g/ml}$, Z 的 MIC 与细胞内酸碱度相关, pH 值 5.0 时为 $1.5\mu\text{g/ml}$ ^[16], 通常认为有效杀菌浓度为 MIC 的 10 倍^[17]。据此, 我们制备了具有可塑形性的复合三联抗结核药的 HRZ/PLGA 涂层材料, 在前期的体外实验中对其中最佳

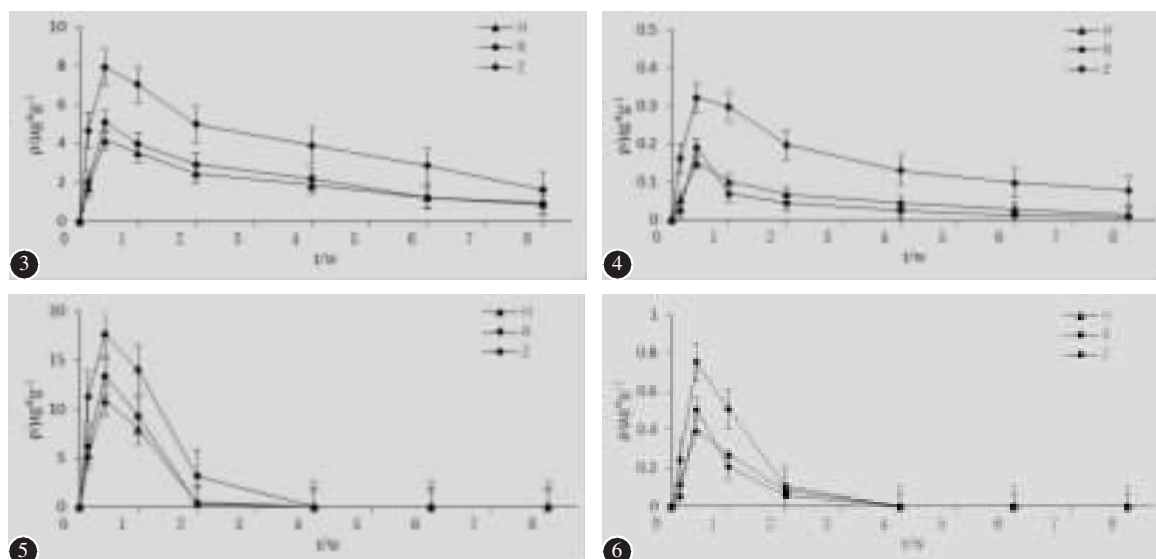


图3 A组肌肉中药物浓度-时间曲线 图4 A组血清中药物浓度-时间曲线 图5 B组肌肉中药物浓度-时间曲线 图6 B组血清中药物浓度-时间曲线

Figure 3 Concentration of HRZ in muscle-time curve(group A) **Figure 4** Concentration of HRZ in serum-time curve (group A) **Figure 5** Concentration of HRZ in muscle-time curve (group B) **Figure 6** Concentration of HRZ in serum-time curve(group B)

表3 术前与术后1、4周时肝肾功

($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Liver and renal function of A, B, C in the preoperative, first and fourth week postoperatively

	术前 Preoperative			术后1周 1 weeks after postoperation			术后4周 4 weeks after postoperation		
	A组 Group A	B组 Group B	C组 Group C	A组 Group A	B组 Group B	C组 Group C	A组 Group A	B组 Group B	C组 Group C
谷草转氨酶 AST(U/L)	184.7±12.1	187.1±13.2	186.1±10.4	218.6±16.8	229.5±19.3	211.6±13.7	194.8±13.2	196.8±13.9	189.7±10.6
谷丙转氨酶 ALT(U/L)	35.4±7.1	35.9±8.5	38.2±8.9	39.6±6.3	45.1±8.8	41.4±5.4	37.6±9.4	38.2±9.7	38.4±8.3
尿素 Ur(mmol/L)	5.3±1.2	5.1±1.5	5.0±1.4	6.0±1.8	5.9±2.3	5.6±1.2	5.5±1.5	5.7±2.0	5.7±1.4
肌酐 Cr(µmol/L)	56.7±5.0	56.3±6.7	55.2±7.7	60.1±7.3	59.5±7.4	63.1±9.4	64.3±10.4	60.5±5.3	68.6±7.8

配药比进行了研究,此涂层材料在体外可以达到均衡、高效、持续释药。

本研究发现 HRZ/PLGA 涂层材料在体内的释药时间明显长于单纯植入 HRZ,并且表现出较平稳的释药曲线。HRZ/PLGA 涂层材料植入体内的早期,涂层材料表面粘附的药物与体液直接接触,迅速扩散,H、R、Z 三种药物释放曲线呈显著上升趋势,但此阶段时间较短;随着时间的进展,涂层表面药物不断减少,PLGA 材料逐层降解,其空隙结构不断暴露,复合的药物从中扩散出,补充因代谢减少的局部药物浓度,同时由于药物含量下降及 PLGA 不断降解,呈现出下降后稳定、长程的释药特点,而且植入涂层材料可塑形为卷筒状,

有效延长了持续释药时间。术后 8w 时,检测 HRZ/PLGA 涂层材料植入周围肌肉组织中 H、R、Z 三种药物仍可达到杀菌浓度。单纯抗结核药 HRZ 植入后迅速与体液直接接触,表现出明显的突释现象,药物浓度短时间内趋向于零,不能保持平缓、持续、有效的药物浓度。

Robbins 等^[18]的研究表明,局部应用抗结核药后,药物可少量入血,经过全身代谢后通过肝肾排泄出体外。HRZ/PLGA 涂层材料及单纯 HRZ 植入肌肉后,H、R、Z 三药在体内缓慢释放,部分药物被缓慢吸收入血并被逐渐清除,静脉血中检测 H、R、Z 三药浓度均明显小于植入周边肌肉组织药物浓度,无明显血药蓄积。但 HRZ/PLGA 涂层材料

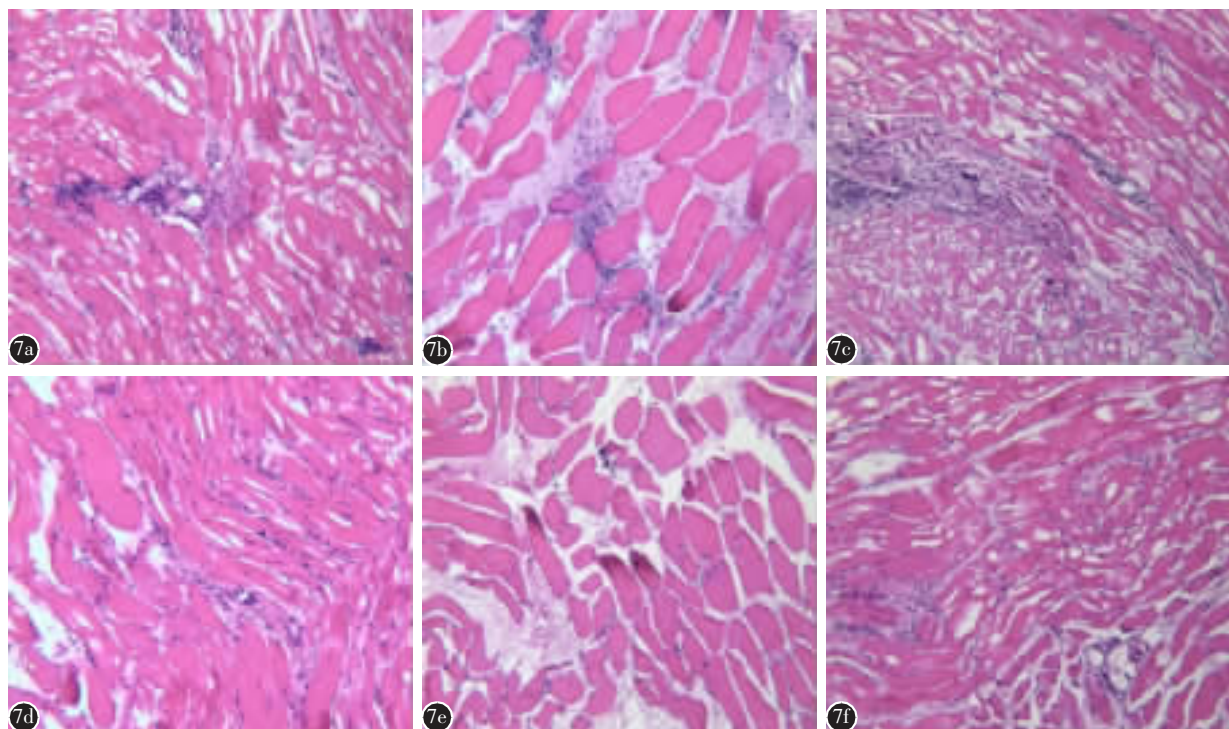


图 7 术后各组大鼠肌肉组织学观察(HE 染色 $\times 10$) a A 组术后 2w 肌束间 PLGA 降解产生 CO_2 留下的空泡及炎症细胞浸润 b B 组术后 2w 肌束间质增生, 少量的炎症细胞浸润 c C 组术后 2w 肌束间 PLGA 降解产生 CO_2 留下的空泡较多, 有明显的炎症细胞浸润 d A 组术后 6w 肌束间空泡及炎症细胞浸润较 2w 时逐渐减少 e B 组术后 6w 肌束间间质增生基本定型, 炎症细胞浸润较 2w 时减少 f C 组术后 6w 肌束间空泡及炎症细胞浸润较 2w 时明显减少

Figure 8 Histological observation of each group after surgery(HE $\times 10$) a Group A 2 weeks after surgery, vacuoles left by degradation of PLGA produce CO_2 and the infiltration of inflammatory cells in the muscle can be seen b Group B 2 weeks after surgery, interstitial cell hyperplasia, a small amount of inflammatory cell in the muscle can be seen c Group C 2 weeks after surgery, more vacuoles left by degradation of PLGA produce CO_2 and significant infiltration of inflammatory cells in the muscle can be seen d Group A 6 weeks after surgery, the vacuoles and inflammatory cell decreased compared with 6 weeks after surgery e Group B 6 weeks after surgery, the phenomenon of interstitial cell hyperplasia was stopped, inflammatory cell decreased compared with 2 weeks after surgery f Group C 6 weeks after surgery, the vacuoles and inflammatory cell significantly decreased compared with 2 weeks after surgery

植入后静脉血中三药浓度较单纯植入 HRZ 明显平稳。检测给药前后的肝、肾功能指标提示均未见明显的肝肾损害。由于 PLGA 由乳酸和羟基乙酸聚合而成,在体内可通过酯键水解断链降解,通过三羧酸循环成为 CO_2 和 H_2O ,无细胞毒性^[19]。A、B、C 三组植入材料或药物后引起肌肉组织局部轻微的炎症反应,同时可见 HRZ/PLGA 涂层材料及 PLGA 涂层材料降解引起的空泡存在,但空泡随时间延长逐渐减少。三组均未见明显炎症细胞集聚及肌肉坏死,组织相容性表现良好。

本研究结果显示,复合三联抗结核药涂层材料(HRZ/PLGA)在体内局部可均衡、持续释药,能够维持局部治疗的有效药物浓度,并可以任意塑

形固定,为后期复合自体骨植入体内的观察研究提供了依据。但本研究尚存在一些不足,由于 R 为极性分子,脂溶性较强,见光易分解,在进行液相检测时存在一定的系统误差;同时,R 在体内转化为乙酰利福平,后者进一步代谢为乙酰化脐^[20],有学者认为应当对其浓度进行检测。有待今后进一步探索,最终为脊柱结核患者病灶清除术后制备优良的局部释药骨修复材料。

4 参考文献

1. 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.

2. 戈朝晖, 王自立, 魏敏吉. 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. Zhang HQ, Wang YX, Guo CF, et al. One-stage posterior focus debridement, fusion, and instrumentation in the surgical treatment of cervicothoracic spinal tuberculosis with kyphosis in children: a preliminary report[J]. Child S Nervous System, 2011, 27(5): 735-742.
4. Roncoroni AJ, Manuel C, Nedjar C, et al. Cefamandole bone diffusion in patients undergoing total hip replacement [J]. Chemotherapy, 1981, 27(3): 166-172.
5. Shi JD, Wang ZL, Geng GQ, et al. Intervertebral focal surgery for the treatment of non-contiguous multifocal spinal tuberculosis[J]. Int Orthop, 2012, 36(7): 1423-1427.
6. Wang Z, Shi J, Geng G, et al. Ultra-short-course chemotherapy for spinal tuberculosis: five years of observation [J]. Eur Spine J, 2013, 22(2): 274-281.
7. Dutt M, Khuller GK. Sustained release of isoniazid from a single injectable dose of poly (DL-lactide-co-glycolide) microparticles as a therapeutic approach towards tuberculosis [J]. Int J Antimicrob Agents, 2001, 17(2): 115-122.
8. 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, 19(21): 1807-1809.
9. Tomoda K, Kojima S, Kajimoto M, et al. Effects of pulmonary surfactant system on rifampicin release from rifampicin-loaded PLGA microspheres[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2005, 45(1): 1-6.
10. Hirota K, Hasegawa T, Nakajima T, et al. Delivery of rifampicin-PLGA microspheres into alveolar macrophages is promising for treatment of tuberculosis[J]. J Control Release, 2010, 142(3): 339-346.
11. Jiang Y, Wang F, Xu H, et al. Development of andrographolide loaded PLGA microspheres: optimization, characterization and in vitro-in vivo correlation [J]. Int J Pharm, 2014, 475(1-2): 475-484.
12. Zhu M, Wang H, Liu J, et al. A mesoporous silica nanoparticulate/ β -TCP/BG composite drug delivery system for osteoarticular tuberculosis therapy[J]. Biomaterials, 2011, 32(7): 1986-1995.
13. 刘江涛, 王永清, 夏侃, 等. 异烟肼聚乳酸缓释体的制备及体内外释药特性[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2008, 18(4): 290-293.
14. 何胤, 杨宗强, 王骞, 等. 复合三联抗结核药聚乳酸-羟基乙酸缓释微球的制备及体外释药特性[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2015, 25(5): 456-461.
15. 刘勇, 张智洁, 王群, 等. 抗结核药复方制剂的体外药效学研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2001, 11(6): 63-64.
16. Khuhawar MY, Rind FMA. Liquid chromatographic determination of isoniazid, pyrazinamide and rifampicin from pharmaceutical preparations and blood[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2002, 766(2): 357-363.
17. 王颀秀. 耐多药结核病的预防 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2006, 29(8): 511-513.
18. Robbins SL. Robbins Pathologic Basis of Disease[M]. Chicago: Saunders, 1994. 75-77.
19. Alcantar NA, Aydil ES, Israelachvili JN. Polyethylene glycol-coated biocompatible surfaces [J]. J Biomed Mater Res, 2000, 51(3): 343-351.
20. Dahl ML, Sjöqvist F. Pharmacogenetic methods as a complement to therapeutic monitoring of antidepressants and neuroleptics[J]. Ther Drug Monit, 2000, 22(1): 114-117.

(收稿日期:2016-06-12 末次修回日期:2016-7-06)

(英文编审 唐翔宇/贾丹彤)

(本文编辑 卢庆霞)

消息

第七届上海微创脊柱外科国际论坛

进入新世纪以来,微创脊柱外科技术的新理论、新技术层出不穷,已日益成为脊柱外科领域的焦点和热点。自 2010 年第一届《上海微创脊柱外科国际论坛》成功举办,论坛已连年成功举办多届,每年都吸引了众多国内外脊柱外科领域的专家和同行参会,成为国内具有相当学术影响力的微创脊柱外科的高端交流平台。依托瑞金医院百年传统和学术传承,由上海交通大学医学院附属瑞金医院骨科主办的第七届上海微创脊柱外科国际论坛将于 2016 年 10 月 14~16 日在上海举行。论坛将坚持国际化方向,广邀国内外脊柱外科名家,聚焦微创脊柱外科前沿,以专题演讲、病例讨论及专家辩论等方式深入讨论微创脊柱外科相关学术热点。论坛还将设立微创脊柱外科手术技术培训班,就脊柱内镜技术、腰椎侧路融合术、通道减压技术等内容进行专题的标本操作培训。与会嘉宾可获得国家级医学教育 I 类学分 10 分。

会议地址:上海市瑞金医院科技楼 2 楼报告厅(上海市瑞金二路 197 号);操作培训地址:上海交通大学医学院解剖实验室(上海市重庆南路 280 号)。

日程:10 月 14 日(星期五)14:00-18:00 报到;10 月 15 日(星期六)8:30-17:30 微创手术技术操作培训;10 月 16 日(星期日)8:00-17:00 上海微创脊柱外科国际论坛。

费用:注册费 800 元/人,会议+操作培训 3800 元/人,住宿费用自理。

联系方式:上海市瑞金二路 197 号,上海瑞金医院骨科,邮编:200025;联系人:虞佩(13818758036);传真:021-54660217;E-mail:shrjspine@163.com。