doi:10.11659/jjssx.03E020177

·基础研究·

不同品牌骨水泥中抗生素的释放特性研究

宋夏楠,韩天宇,纪振钢,周大鹏 (北部战区总医院骨科,辽宁 沈阳 110016)

[摘 要] **目的** 探讨不同品牌的骨水泥对不同抗生素释放的影响。**方法** 将骨水泥样品分为4组,每组6个样本:A组,40 g Palacos骨水泥中混入2 g万古霉素;B组,40 g Palacos骨水泥中混入2 g头孢他啶;C组,40 g Copal骨水泥中混入2 g万古霉素;D组,40 g Copal骨水泥中混入2 g头孢他啶。制作成直径(10±1)mm、高(20±1)mm的骨水泥圆柱,每组6个,在体外用磷酸盐缓冲溶液(PBS)浸泡,取4 h、8 h、16 h、24 h、48 h、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d、2周、3周、4周、6周的样本,并应用高效液相色谱仪测定药物洗脱浓度。**结果** 在为期6周的洗脱过程中,对于万古霉素的释放,A组Palacos骨水泥前3 d优于C组Copal骨水泥,而5 d到6周时C组Copal骨水泥优于A组Palacos骨水泥;对于头孢他啶的释放,B组Palacos骨水泥在洗脱周期内优于D组Copal骨水泥。**结论** 万古霉素前期释放及头孢他啶释放选择Palacos骨水泥更佳,万古霉素中后期释放选择Copal骨水泥更佳,在临床中需根据已知敏感抗生素添加于适当的骨水泥载体中来发挥其功效。

[关键词] 抗生素;骨水泥;假体周围感染;释放特性;Palacos;Copal

[中图分类号] R619+.3;R684 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-03-30

Release characteristics of antibiotics in different brands of bone cement

SONG Xia-nan, HAN Tian-yu, JI Zhen-gang, ZHOU Da-peng (Department of Orthopedics, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang Liaoning 110016, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of different antibiotics mixed with different brands of bone cement on drug release. **Methods** The samples were divided into 4 groups, with 6 samples in each group. Group A: 40 g Palacos bone cement mixed with 2 g vancomycin; group B: 40 g Palacos bone cement mixed with 2 g ceftazidime; group C: 40 g Copal bone cement mixed with 2 g vancomycin; group D: 40 g Copal bone cement mixed with 2 g ceftazidime. Each sample was made into a cylinder shape with a diameter of (10±1) mm and a height of (20±1) mm. Samples were immersed in phosphate buffered saline in vitro. Take samples at 4 hours, 8 hours, 16 hours, 24 hours, 48 hours, 3 days, 4 days, 5 days, 6 days, 7 days, 2 weeks, 3 weeks, 4 weeks, and 6 weeks. The concentrations of antibiotics were determined by using high-performance liquid chromatography. **Results** During the 6 weeks elution process, statistical analysis results showed that the release of vancoycin in the Palacos bone cement was better than that in the Copal bone cement in the first 3 days, but from 5 days to 6 weeks the results were just on the contrary; the release of ceftazidime in the Palacos bone cement was better than that in the Copal bone cement during the 6 weeks elution process. **Conclusion** It is better to choose Palacos bone cement for the release of vancomycin and ceftazidime in the early stage, and Copal bone cement for the release of vancomycin in the middle and later stage. It is necessary to add the known sensitive antibiotics to the appropriate bone cement carrier to play its role and meet the clinical needs.

Keywords: antibiotic; bone cement; prosthetic joint infections; release characteristic; Palacos; Copal

关节置换术可以明显改善患者关节畸形、疼痛、活动受限等症状,但存在相关并发症,其中感染是最严重的并发症之一。假体周围感染治疗时间长、难度大、花费高,需要大剂量全身静脉应用及口服抗生素来控制,毒副作用较大。抗生素骨水泥用于治疗假体周围感染,患者局部释放较高浓度的抗生素,使感染情况好转。假体周围感染治疗分为两个阶段:第一阶段需移除原关节假体,植入带有抗生素的聚甲基丙烯酸甲酯(polymethyl methac-rylate,PMMA)骨水泥临时占位,一方面利用载抗生素骨水泥(antibiotic-loaded bone cement,ALBC)在局部释放出高浓度的抗生素以控制感染,另一方面占位器可起到填充空腔的作用,防止软组织收缩[1-3];第二阶段为感染控制后行再次翻修。目前,一些在关节置换中起固定作用的骨水泥也用于制作占位器,但骨水泥品牌众多,对各类抗生素的释放效果也有所不同,本研究选取Palacos及Copal两种品牌的PMMA骨水泥。已证明可放入PMMA骨水泥中的抗生素包括万古霉素、庆大霉素、利福平、妥布霉素、头孢菌素、美罗培南等[4-7]。因细菌不同,本研究对革兰氏阳性菌及革兰氏阴性菌分别选取的敏感抗生素为万古霉素和头孢他啶。本研究将万古霉素和头孢他啶分

[基金项目] 辽宁省自然科学基金(20180551082)

[通信作者] 周大鹏,E-mail:me3210@163.com

别混入 Palacos 及 Copal 品牌的 PMMA 骨水泥后观察其释放特性,以确定两种抗生素在何种骨水泥载体中释放更佳,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

PMMA 骨水泥(Palacos Lv Heraeus 公司,德国)、PMMA 骨水泥(Copal Heraeus 公司,德国)、万古霉素(Eli Lilly 公司,日本)、头孢他啶(齐鲁制药有限公司)、岛津 10A 高效液相色谱仪、自动计时装置、自制骨水泥模具。

1.2 方法

1.2.1 样本制作 骨水泥样品分为 4 组,每组 6 个:A 组,40 g Palacos 骨水泥中混入 2 g 万古霉素;B 组,40 g Palacos 骨水泥中混入 2 g 头孢他啶;C 组,40 g Copal 骨水泥中混入 2 g 万古霉素;D 组,40 g Copal骨水泥中混入 2 g 头孢他啶。利用自制骨水泥模具,每组制作成 6 个直径(10 ± 1)mm、高(20 ± 1)mm 的骨水泥圆柱体试件。

1.2.2 PBS 液制作 将 2.958 g 磷酸二氢钾溶于 130 mL 甲醇 + 870 mL 纯化水中,再经过混匀、超滤、排气泡,最终制备成 pH 为 7.30 的 PBS 液。

1.2.3 洗脱实验 将各组骨水泥圆柱放入无菌玻璃瓶内,在37 ℃恒温下分别加入 5 mL 的 PBS 液至完全浸泡,每 24 h 更换 PBS 液 1 次,取4 h、8 h、16 h、24 h、48 h、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d、2 周、3 周、4 周、6 周试样液,并应用高效液相色谱仪在波长 236 nm 下测定药物洗脱浓度。其中头孢他啶约在 5 min 时出现洗脱峰,万古霉素则约在 16 min 时出现洗脱峰。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 20.0 进行统计学分析,并行正态性及方差齐性检验,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用单因素方差分析法处理数据。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

各个时间点测量出的抗生素浓度见表 1。经统计分析得出,A 组 0 ~ 3 d 万古霉素的洗脱浓度较 C 组高,差异有统计学意义($P < 0.05$);A 组与 C 组在 4 d 时比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);A 组 5 d 至 6 周的万古霉素洗脱浓度较 C 组低,差异有统计学意义($P < 0.05$);B 组在各个时间点头孢他啶的洗脱浓度均较 D 组高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 各组不同时间点万古霉素及头孢他啶的洗脱浓度($\bar{x} \pm s$,μg/mL)

时间	万古霉素			头孢他啶		
	A 组	C 组	*P*	B 组	D 组	*P*
4 h	136.17 ± 7.24	105.40 ± 6.27	0.000	353.19 ± 2.94	200.80 ± 11.3	0.000
8 h	503.80 ± 26.87	275.05 ± 16.49	0.000	402.86 ± 9.89	366.53 ± 33.26	0.011
16 h	46.31 ± 2.3	13.65 ± 0.23	0.000	93.71 ± 3.33	84.55 ± 3.04	0.006
24 h	20.75 ± 0.76	14.76 ± 1.64	0.000	40.03 ± 2.42	35.01 ± 1.95	0.002
48 h	34.89 ± 1.24	21.98 ± 0.95	0.000	92.91 ± 5.03	73.49 ± 1.68	0.000
3 d	20.88 ± 1.79	14.96 ± 1.27	0.000	25.68 ± 2.31	23.48 ± 1.37	0.021
4 d	11.81 ± 0.43	10.74 ± 1.03	0.166	18.77 ± 1.36	11.71 ± 0.23	0.000
5 d	5.57 ± 0.11	9.85 ± 0.35	0.000	15.87 ± 1.24	9.09 ± 0.28	0.000
6 d	5.20 ± 0.12	8.42 ± 0.14	0.000	13.33 ± 1.92	5.36 ± 0.14	0.000
7 d	5.10 ± 0.18	7.40 ± 0.16	0.000	10.77 ± 0.67	5.18 ± 0.11	0.000
2 周	3.96 ± 0.07	4.88 ± 0.28	0.006	8.21 ± 0.41	4.94 ± 0.23	0.000
3 周	1.95 ± 0.19	2.77 ± 0.13	0.004	4.69 ± 0.21	0	0.000
4 周	0.83 ± 0.04	2.50 ± 0.22	0.000	4.48 ± 0.22	0	0.000
6 周	0	0.77 ± 0.01	0.000	0.79 ± 0.08	0	0.000

3 讨论

假体周围感染是关节置换术后可能发生的一种严重并发症,其在带来严重经济负担的同时,还会给患者造成严重的身体损害甚至是残疾[8-9]。虽然临床已经使用多种策略治疗假体周围感染,但两阶段治疗仍然是当前的金标准,即取出感染的假体,并将由抗生素骨水泥制成的临时占位器插入髋关节或膝关节[10]。

抗生素骨水泥作为占位器,于假体取出后通过局部释放出较高浓度的抗生素以控制感染。这项技术已使用多年,期间有学者对 ALBC 的洗脱特性进行了深入研究,认为许多因素改变了抗生素在水泥中的释放,包括添加到水泥中的抗生素的数量、类型以及水泥的孔隙率和表面特性等[11]。有研究还发现可将各种可溶性添加剂(填料)加入到丙烯酸水泥中以增加抗生素的洗脱,包括细菌纤维素、木糖醇、壳聚糖和甘氨酸等[8]。

抗生素在不同品牌骨水泥中的释放情况不同,目前尚无一种品牌骨水泥对各种抗生素释放均非常满意,且何种品牌骨水泥对于某一抗生素释放的效果最佳也未成定论。对于不同抗生素的需求,需选择释放更佳的骨水泥品牌用于制作占位器,最大限度地提高抗生素释放效率,进而提高治疗效果和成本效益。已有许多学者针对以上问题进行相关的研究及探索[12-15]。Penner 等[12]将万古霉素和妥布霉素分别混入 Palacos-R、CMW1、CMW3 这 3 种骨水泥中并进行为期 9 周的洗脱,结果显示,CMW1、CMW3 中的万古霉素与妥布霉素释放均少于 Palacos-R 中的释放,故该研究认为 Palacos-R 中抗生素的洗脱优于 CMW。Cerretani等[13]研究发现,单用万古霉素时,CMW1 水泥中的释放优于 Palacos R 和 Simplex P,但当加入两种抗生素后,其结论有所不同,于是将 2 g 万古霉素与 2 g 亚胺培南 - 西司他丁联用后,Simplex P 和 Palacos R 水泥中万古霉素的释放优于 CMW1,与之前单用万古霉素时相反。Wahlig 等[14]则认为庆大霉素在 Palacos R 中的释放是最佳的。也有研究发现,Copal 骨水泥中庆大霉素比 Palacos R-G 骨水泥释放更多且能更有效减少生物膜形成[15]。

Palacos 骨水泥应用于控制感染已经多年,被认为是世界上最好的骨水泥;Copal 骨水泥是一种较新品牌的骨水泥,对于其抗生素释放的研究不如 Palacos 骨水泥深入。有研究证实,最常引起人工关节感染的是耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌和革兰氏阴性需氧杆菌[16]。万古霉素与头孢他啶已被证明可放置于 PMMA 骨水泥中,并可以析出[17-18]。本研究对革兰氏阳性菌及阴性菌分别选取万古霉素和头孢他啶。万古霉素作为糖肽类抗生素,其作用机理是抑制细菌细胞壁合成,对多种革兰氏阳性菌均有良好抗菌作用[19]。头孢他啶作为第三代抗生素,其抗菌作用机制为影响细菌细胞壁的合成,导致细菌溶菌死亡,对革兰氏阳性菌及革兰氏阴性菌有良好且较广泛的抗菌作用,并可对假单胞菌起作用[16]。本研究将万古霉素和头孢他啶分别混入两种品牌的骨水泥中,比较其释放情况,结果显示,对于万古霉素的释放,Palacos 骨水泥前期优于 Copal 骨水泥,而到中后期 Copal 骨水泥优于 Palacos 骨水泥;对于头孢他啶的释放,Palacos 骨水泥优于 Copal骨水泥,但其原因尚未可知,可能与制作工艺、骨水泥孔隙率等有关。骨水泥中抗生素的释放更多,时间更持久,可以更好地预防及控制感染,是众多骨科医生所追求的。因此,本研究建议当药敏结果为万古霉素,且只是短时间作为占位器控制感染时,可考虑 Palacos 骨水泥,而若需长期放置可考虑选择 Copal 骨水泥;而药敏结果为头孢他啶时,选择 Palacos 骨水泥更佳。本研究未行药敏试验及临床试验,其最终临床效果有待进一步研究。

综上,不同品牌的骨水泥载体均会影响其中抗生素的洗脱特性,需根据已知敏感抗生素添加于适当的骨水泥载体中来发挥其功效,满足临床需要。

[参考文献]

[1] Boelch S,Jordan M,Arnholdt J,et al. Antibiotic elution and compressive strength of gentamicin/vancomycin loaded bone cements are considerably influenced by immersion fluid volume[J]. J Mater Sci Mater Med,2019,30(2):29. doi:10.1007/s10856-019-6229-7.

[2] Boelch SP,Rueckl K,Fuchs C,et al. Comparison of elution characteristics and compressive strength of biantibiotic-loaded pmma bone cement for spacers: Copal® spacem with gentamicin and vancomycin versus Palacos® R+G with vancomycin[J]. Biomed Res Int,2018:4323518. doi:10.1155/2018/4323518.

[3] Paz E,Sanz-Ruiz P,Abenojar J,et al. Evaluation of elution and mechanical properties of high-dose antibiotic-loaded bone cement: comparative "in vitro" study of the influence of vancomycin and cefazolin[J]. J Arthroplasty,2015,30(8):1423-1429. doi:10.1016/j.arth.2015.02.040.

[4] Ruben GL,Alejandro PM,Ramón AL,et al. Elution kinetics,antimicrobial activity,and mechanical properties of 11 different antibiotic loaded acrylic bone cement[J]. Diagn Microbiol Infect Dis,2014,78(1):70-74. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.09.014.

[5] Chang Y,Tai CL,Hsieh PH,et al. Gentamicin in bone cement:a potentially more effective prophylactic measure of infectionin joint arthroplasty[J]. Bone Joint Res,2013,2(10):220-226. doi:10.1302/2046-3758.210.2000188.

[6] Penner MJ,Masri BA,Duncan CP. Elution characteristics of vancomycin and tobramycin combined in acrylic bone-cement[J]. J Arthroplasty,1996,11(8):939-944. doi:10.1016/s0883-5403(96)80135-5.

[7] Bistolfi A,Ferracini R,Albanese C,et al. PMMA-based bone cements and the problem of joint arthroplasty infections: status and new perspectives[J]. Materials (Basel),2019,12(23):4002. doi:10.3390/ma12234002.

[8] Slane J,Gietman B,Squire M. Antibiotic elution from acrylic bone cement loaded with high doses of tobramycin and vancomycin[J]. J Orthop Res,2018,36(4):1078-1085. doi:10.1002/jor.23722.

[9] Sultan AA,Samuel LT,Umpierrez E,et al. Routine use of commercial antibiotic-loaded bone cement in primary total joint arthroplasty: a critical analysis of the current evidence[J]. Ann Transl Med,2019,7(4):73. doi:10.21037/atm.2018.11.50.

[10] Anagnostakos K,Fink B. Antibiotic-loaded cement spacers-lessons learned from the past 20 years[J]. Expert Rev Med Devices,2018,15(3):231-245. doi:10.1080/17434440.2018.1435270.

[11] Sundblad J,Nixon M,Jackson N,et al. Altering polymerization temperature of antibiotic-laden cement can increase porosity and subsequent antibiotic elution[J]. Int Orthop,2018,42(11):2627-2632. doi:10.1007/s00264-018-4135-0.

doi:10.11659/jjssx.02E020056

·基础研究·

Roux-en-Y 胃旁路术降低肥胖 2 型糖尿病大鼠肝脂毒性的探究

唐恺欣[1],马南希[2],李雪松[1],何 冰[1] (1.中国医科大学附属盛京医院内分泌科,辽宁 沈阳 110004;2.沈阳市红十字会医院内分泌科,辽宁 沈阳 110013)

[摘 要] **目的** 观察 Roux-en-Y 胃旁路术(RYGB)后 2 周肥胖 2 型糖尿病(T2DM)大鼠肝脂肪代谢及交感神经活性变化,探讨 RYGB 降低肝脂毒性的可能机制。**方法** 将 32 只大鼠随机分为正常对照组、肥胖 T2DM 组、RYGB 假手术组和 RYGB 手术组,每组 8 只;除正常对照组大鼠外,其余 24 只采用高脂饮食联合腹腔注射 30 mg/kg 链脲佐菌素(STZ)诱导肥胖 T2DM 大鼠模型。采用清醒状态扩展高胰岛素 - 正血糖钳夹技术评估术后 2 周大鼠肝胰岛素的敏感性,酶法检测大鼠血浆和肝组织中三酰甘油(TG)及游离脂肪酸(FFA)含量,Western blot 检测大鼠肝组织中二酰甘油酰基转移酶 2(DGAT2)、磷酸化激素敏感性脂肪酶(p-HSL)、肉碱棕榈酰转移酶(CPT1A)、微粒体三酰甘油转运蛋白(MTTP)和酪氨酸羟化酶(TH)的蛋白表达,ELISA 检测血浆 NE 浓度。**结果** 与肥胖 T2DM 组和 RYGB 假手术组相比,术后 2 周 RYGB 手术组大鼠体质量降低,血浆 TG 及 FFA 减少,血糖恢复正常水平,肝胰岛素敏感性指数提高近 1 倍($P<0.05$),肝组织内 TG 含量下降超 80%($P<0.05$),FFA 下降近 50%($P<0.05$),肝组织内 DGAT2 蛋白表达减少($P<0.05$),MTTP 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$),p-HSL、CPT1A 和 TH 蛋白表达显著增加($P<0.05$)。各组大鼠血浆 NE 浓度比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** RYGB 能够减少肝内脂肪蓄积,改善肝胰岛素抵抗。术后肝组织局部交感神经活性上调,肝脂肪分解代谢增强可能是肝脂肪蓄积减少的机制之一。

[关键词] Roux-en-Y 胃旁路术;2 型糖尿病;肥胖;交感神经;脂代谢
[中图分类号] R589.2 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-02-15

Roux-en-Y gastric bypass reduces hepatic lipid toxicity in obese type 2 diabetic rats

TANG Kai-xin[1], MA Nan-xi[2], LI Xue-song[1], HE Bing[1] (1. Department of Endocrinology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang Liaoning 110004; 2. Department of Endocrinology, Shenyang Red Cross Hospital, Shenyang Liaoning 110013, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of Roux-en-Y gastric bypass on hepatic sympathetic nerve activity and lipometabolism in obese type 2 diabetic rats 2 weeks later, and its possible mechanism is explored. **Methods** A total of 32 rats were randomly divided into normal control group, obese type 2 diabetic group, RYGB sham group and RYGB group, with 8 rats in each group. In addition to the normal control group, the remaining 24 rats were treated with high-fat diet combined with intraperitoneal injection of 30 mg/kg streptozotocin (STZ) to induce the obese T2DM rat model. The hyperinsulinemic-euglycemic clamp with tracer infusion was completed to assess insulin sensitivity.

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81570765)
[通信作者] 何 冰,E-mail:hebing7557@163.com

[12] Penner MJ, Duncan CP, Masri BA. The in vitro elution characteristics of antibiotic-loaded CMW and Palacos-R bone cements[J]. J Arthroplasty, 1999, 14(2): 209 - 214. doi: 10.1016/s0883 - 5403(99)90128 - 6.
[13] Cerretani D, Giorgi G, Fornara P, et al. The in vitro elution characteristics of vancomycin combined with imipenem-cilastatin in acrylic bone-cements: a pharmacokinetic study[J]. J Arthroplasty, 2002, 17(5): 619 - 626. doi: 10.1054/arth.2002.32184.
[14] Wahlig H, Dingeldein E. Antibiotics and bone cements: experimental and clinical long-term observations[J]. Acta Orthop Scand, 1980, 51(1): 49 - 56. doi: 10.3109/17453678008990768.
[15] Ensing GT, van Horn JR, van der Mei HC, et al. Copal bone cement is more effective in preventing biofilm formation than Palacos R-G[J]. Clin Orthop Relat Res, 2008, 466(6): 1492 - 1498. doi: 10.1007/s11999 - 008 - 0203 - x.
[16] Martínez-Moreno J, Merino V, Núcher A, et al. Bioactivity of ceftazidime and fluconazole included in polymethyl methacrylate bone cement for use in arthroplasty[J]. J Arthroplasty, 2017, 32(10): 3126 - 3133. doi: 10.1016/j.arth.2017.04.057.
[17] Hsu YH, Hu CC, Hsieh PH, et al. Vancomycin and ceftazidime in bone cement as a potentially effective treatment for knee periprosthetic joint infection[J]. J Bone Joint Surg Am, 2017, 99(3): 223 - 231. doi: 10.2106/JBJS.16.00290.
[18] Boelch SP, Jordan MC, Arnholdt J, et al. Loading with vancomycin does not decrease gentamicin elution in gentamicin premixed bone cement[J]. J Mater Sci Mater Med, 2017, 28(7): 104. doi: 10.1007/s10856 - 017 - 5915 - 6.
[19] Klapkova E, Nescakova M, Melichercik P, et al. Vancomycin and its crystalline degradation products released from bone grafts and different types of bone cement[J]. Folia Microbiol (Praha), 2020, 65(3): 475 - 482. doi: 10.1007/s12223 - 019 - 00752 - w.

(编辑:杨 颖)