

# 构建蠕动泵模型的关键因素

齐跃东\*, 杨杰, 张晓坚<sup>#</sup>(郑州大学第一附属医院药学部, 郑州 450052)

中图分类号 G353.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)29-2772-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.29.29

**摘要** 目的:介绍并分析蠕动泵模型构建过程中的关键因素。方法:在PubMed数据库中以“*in vitro kinetic model*”或“*in vitro pharmacodynamic model*”分别与“antibiotic”组合检索,初筛得到122篇文献,以文中有详细叙述模型构建过程为二次筛选条件得到有效文献11篇;再在中国知网、万方数据库以“药动学模型”或“蠕动泵模型”分别与“抗菌药物”组合检索,得到文献2篇,检索截止时间为2014年5月28日。综述蠕动泵模型构建的核心组成、关键因素和实际应用中的问题等。结果与结论:蠕动泵模型主要包含储液室、中央室和废液室,其分别模拟了药物的吸收、代谢与排泄过程,整个装置处于37℃的工作环境中。该模型构建的关键因素包括流速控制、半透膜的选择、系统环境,实际应用中应重点关注药物与细菌应充分接触、中央室的容积选择应视情况而定。此模型并非适用于所有抗菌药物的代谢情况研究。

**关键词** 蠕动泵模型;体外研究;药动学模型;综述

在抗菌药物体外研究中,单一的体外药效学研究往往并不能满足研究者的需求。例如抗菌药物的活性,除了体外药效学要求测得某种抗菌药物对特定细菌的药物敏感性,即最低抑菌浓度(MIC)或最低杀菌浓度(MBC)外,药物浓度时间曲线下面积(AUC)等药动学参数同样重要,因为诸如AUC/MIC这种综合药动/药效学(PK/PD)参数才更能让结果真实可靠。而细菌清除率、细菌对药物的耐药变迁等研究亦需要药动学研究的支持。

瑞典的Lowdin E等<sup>[1]</sup>较早开展了一种通过蠕动泵、培养瓶和半透膜等组成的模拟给药系统模型,并通过该模型研究了青霉素对酿脓链球菌的抗生素后效应。该模型陆续被应用到了抗菌药物体外药效学评价、细菌耐药突变等<sup>[2]</sup>研究中。然而目前国内该模型的应用较少,梁蓓蓓<sup>[3]</sup>应用蠕动泵进行模拟,实现了左氧氟沙星对金黄色葡萄球菌的PK/PD研究。因为该模型至今并未商品化,在实际研究过程中,需要研究者针对不同的抗菌药物特点,例如肉汤溶解度差、对温度敏感、体内分布差异大等自行建模,单一模型的套用并不能够做到全部研究适用,研究者往往还需要对其进行进一步优化才能满足实际需求。因此,本文通过检索国内外关于蠕动泵模型的相关文献,在介绍该模型构建过程的基础上,结合实际应用过程中可能存在的问题进行分析,以期国内研究者更好地使用该模型提供参考。

## 1 文献来源与方法

检索截止时间为2014年5月28日,以“*in vitro kinetic model*”或“*in vitro pharmacodynamic model*”分别与“antibiotic”组合检索PubMed数据库中与其相关的文献,初筛得到122篇文献,以文中有详细叙述模型构建过程为二次筛选条件得到有效文献11篇;再以“药动学模型”或“蠕动泵模型”分别与“抗菌药物”组合检索中国知网、万方数据库中与其相关的文献,得到有效文献2篇。本文针对13篇有效文献,主要从蠕动泵模型构建的核心组成、关键因素和实际应用中的问题等方面进行综述。

\* 副主任药师。研究方向:药事管理、药动学。电话:0371-66913047。E-mail:53212711@qq.com

<sup>#</sup> 通信作者:主任药师。研究方向:药事管理、临床药学。电话:0371-66913047。E-mail:jiebridgesyeung@hotmail.com

## 2 蠕动泵模型的构成

体外PK/PD研究蠕动泵模型主要包含3个部分:储液室、中央室和废液室。储液室中新鲜液体(不含药)经蠕动泵以恒速( $v$ )进入中央室,与此同时中央室液体以相同速度 $v$ 流进废液室收集。3个部分模拟了药物的吸收、代谢与排泄过程,整个装置处于37℃的工作环境中。蠕动泵模型示意图见图1。

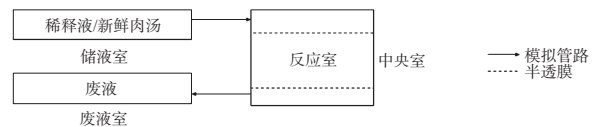


图1 蠕动泵模型示意图

中央室又称反应室,液体被半透膜分隔为两部分,细菌与抗菌药物在反应室中相互作用,模拟体内抗菌药物发挥药理作用的过程。中央室应有加入药物的加样孔,亦具备取样孔,以便于监测药物浓度。在工作状态下,中央室给药,半透性的孔径允许营养素、药物及代谢产物等小分子物质自由穿过半透膜两侧,而细菌则被隔离在中央室中。为了使药液浓度在中央室中均匀分布,中央室同时置于磁力搅拌器的工作环境下。与房室模型中央室等概念相类似,蠕动泵模型实际上构建了一个出口以同一速度消除的一室模型。在一开始药物通过加样孔进入中央室,此时中央室内药物浓度( $c_0$ )即为初始药物浓度,根据药动学公式 $c=c_0 \times e^{-kt}$ ,式中 $c$ 为实时药物浓度, $t$ 为给药时间, $k$ 为消除速率常数,其中 $k=v/U$ , $U$ 为中央室体积, $v$ 为流速。通过推算可得到 $c=c_0 \times e^{-(v/U)t}$ 或者 $\ln c = \ln c_0 - (v/U) \times t$ , $t_{1/2}$ 的计算公式为 $v=U \times (0.693/t_{1/2})$ 。由此根据实际药动学参数可以确定中央室容积和流速的关系式, $AUC_{0-24h}=(c_0-c_{24h})/k$ ;同时,中央室中被隔离的细菌亦可实时进行涂板计数或药物敏感性复测等,以此来研究药物与细菌的实时作用情况。

## 3 蠕动泵模型构建的关键因素

### 3.1 流速

在蠕动泵模型构建过程中,首先应注意中央室与储液室和废液室是否相连接,液体流入与流出的速度是否相同,中央室与废液室相连管路通过泵进行速度控制,然后根据中央室在密闭状态下体积一定,那么新鲜肉汤即从储液室以相同速度进入中央室。在实际应用中,由于中央室同时具备加药孔和取样孔,很难做到完全密闭。因此,实际上可以用同一型号的蠕动泵在两个管路以同一速度将液体泵入或者泵出;或者

采用同一泵体,接用双泵头,这样速度控制更加准确。

### 3.2 半透膜

由于一般的球菌直径和杆菌长度都在 $1\ \mu\text{m}$ 以上,目前蠕动泵模型的构建中研究者普遍选择半透膜为 $0.45\ \mu\text{m}$ 的孔径。实际上,半透膜的孔径并非越小越好,即便是 $0.45\ \mu\text{m}$ 的孔径也可能造成堵塞。有研究指出,在半透膜内侧有的研究者置入了一个预过滤层<sup>[1,4]</sup>,也有未置入预过滤层的<sup>[2]</sup>。如果缺少预过滤层很可能出现膜孔堵塞,但对于一些药理学研究的特殊情况,比如防耐药突变的研究,实验时间通常要超过24 h,预过滤层的置入可能会对流速等造成一定影响。因此膜孔径的选择以不堵塞的前提下尽可能小为宜,加入预过滤层也可考虑,但无疑大大增加了建模难度。

### 3.3 系统环境

由于中央室不可能做到完全密闭,因此整个系统应置于无菌环境中。系统模拟人体内环境,温度应控制在 $37\ ^\circ\text{C}$ 。系统局部,如储液室等可处于恒温水浴中。肉汤一般选择为MHB(Mueller-Hinton broth,肉汤品牌),但并非唯一,诸如对鲍曼不动杆菌的体外研究中,美国临床和实验室标准协会(CLSI)规定该菌株培养肉汤应选择MH II B<sup>[5]</sup>。其他如肉汤的pH调节等,均应根据具体研究的细菌而定,而不能完全套用文献中已构建的模型。

## 4 重点问题分析

### 4.1 药物与细菌的充分接触

在蠕动泵模型的研究过程中,药物和细菌是否能够充分接触,并在中央室内达到分布均匀,其在很大程度上会影响到实验结果的真实性。虽然中央室处于磁力搅拌器的工作环境中,但是如果中央室容积选择较小,而同时流速较快,就会出现药物尚未充分发挥抑菌作用就被“代谢”的可能。为了避免药物分布不均匀的问题,首先要做到“临用现配”,特别是难溶性药物,可以在加入前溶于较小体积的肉汤中,在0时加入或随泵出新鲜肉汤的前端流入中央室。

目前在不同的蠕动泵模型应用研究中,中央室内部的构建大致可以分为构型I和构型II两种情况。构型I<sup>[1-8]</sup>,半透膜位于中央室内部,通过磁力转子的搅拌,药物在中央室内分布比较均匀,而且药物与细菌能够达到充分接触,最大程度上解决了分布不均匀的问题。构型II<sup>[9-13]</sup>是选择在中央室外再形成一个液体回路,有一个高速泵的作用使整个系统药物浓度维持相对平衡,这样模型的温度易于控制,模型构建难度也下降了许多。然而实际应用中,可能构型II的药物分布和药物与细菌充分接触的问题都不如构型I理想,而且若想在研究过程中复测细菌的耐药变迁等,还要在回路外的中空纤维反应装置中取样,在高速泵的作用下这种操作几乎不可能完成。此外构型II的取样过程中,由于液体循环流速较大,容易造成液体渗漏或污染等,实验结果的可信度自然也不如构型I高。中央室示意图见图2。

### 4.2 中央室的容积

中央室容积的选择亦不尽相同,大致上有 $25\ \text{ml}$ <sup>[1]</sup>、 $60\ \text{ml}$ <sup>[6]</sup>、 $100\ \text{ml}$ <sup>[4,8]</sup>、 $110\ \text{ml}$ <sup>[2,7]</sup>和 $500\ \text{ml}$ <sup>[3,5]</sup>这5种情况。给药时间在24 h内,研究抗菌药物的药动学多选择 $60\ \text{ml}$ 和 $110\ \text{ml}$ ;研究抗菌药物防耐药突变浓度及细菌耐药恢复生长等药动学特殊情况时,多选择 $110\ \text{ml}$ 和 $500\ \text{ml}$ 。如果中央室容积过小可能会出现药物和细菌接触不充分的问题,而在防耐药突变研究中,由于细菌的富集浓度高,中央室可选择较大的容积。为了观察细菌24、36、48 h的恢复生长情况,给药时间往往大于24 h,取样次数也较多(48 h内取样近10次),中央室内液体体积变化大,由此中央室容积较小可能带来较大的实验结果偏差。中

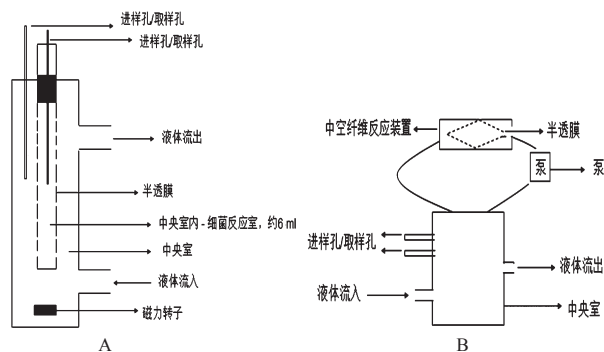


图2 中央室示意图

A. 构型I; B. 构型II

室选择较大体积可能会在一定程度上减小这种误差,但另一方面,中央室体积较大的情况下,若选择构型I,既要维持在 $37\ ^\circ\text{C}$ 环境中,又要置于磁力搅拌器工作状态下,同时还要有半透膜的密闭,体积庞大的中央室无疑使整体模型的构建异常困难。

## 5 结语

蠕动泵只是构建了一室模型,这也就意味着考虑到不同药物的实际代谢情况,此模型并非适用于所有抗菌药物。本文结合笔者实践中遇到的问题,分析了该模型构建过程中的一些关键因素,包括流速控制、半透膜的选择、系统环境,实际应用应重点关注药物与细菌应充分接触、中央室的容积选择视情况而定,以期引起研究者的重视,并更深入地研究其合理应用。

## 参考文献

- [1] Löwdin E, Odenholt I, Bengtsson S, *et al.* Pharmacodynamic effects of sub-MICs of benzylpenicillin against *Streptococcus pyogenes* in a newly developed in vitro kinetic model[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996, 40(11): 2 478.
- [2] Olofsson SK, Marcusson LL, Komp Lindgren P, *et al.* Selection of ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* in an in vitro kinetic model: relation between drug exposure and mutant prevention concentration[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2006, 57(6): 1 116.
- [3] 梁蓓蓓. PK/PD参数预测金黄色葡萄球菌感染的疗效和抑制细菌耐药突变的系列研究[D].北京:解放军军医进修学院, 2009: 44-77.
- [4] Bonapace CR, Friedrich LV, Bosso JA, *et al.* Determination of antibiotic effect in an in vitro pharmacodynamic model: comparison with an established animal model of infection[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46(11): 3 574.
- [5] 杨杰. 多粘菌素E联合左氧氟沙星对MDR-AB防耐药突变研究[D].郑州:郑州大学, 2012: 44-53.
- [6] Firsov AA, Lubenko IY, Smirnova MV, *et al.* Enrichment of fluoroquinolone-resistant *Staphylococcus aureus*: simulating ciprofloxacin concentrations simulated at the upper and lower portions of the mutant selection window[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(6): 1 924.
- [7] Gustafsson I, Löwdin E, Odenholt I, *et al.* Pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters for antimicrobial effects of cefotaxime and amoxicillin in an in vitro kinetic model[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(9): 2 436.

# 几种新型小分子核糖核酸与类风湿性关节炎关系的研究进展

任丹阳\*,李惠英,韩慧韵,孙建明\*(昆明医科大学附属儿童医院,昆明 650034)

中图分类号 R969;R966 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)29-2774-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.29.30

**摘要** 目的:为临床治疗类风湿性关节炎(RA)提供思路和参考。方法:以“小分子核糖核酸”“类风湿性关节炎”“microRNAs”“miRNAs”等为关键词,组合查询2006—2013年万方数据库和PubMed数据库中有关小分子核糖核酸(microRNAs或miRNAs)和RA的研究文献,对miRNAs在RA中的研究进展进行综述。结果与结论:共查询到文献130篇,其中有效文献29篇。共有11种miRNAs和RA关系的研究,包括miRNA-221/222、miRNA-323-3p、miRNA-146a、miRNA-155、miRNA-223、miRNA-24、miRNA-26a、miRNA-125a-5p、miRNA-18a、miRNA-34a、miRNA-203等。其在人RA或动物RA模型的滑膜组织或滑膜细胞中均有不同程度的表达;加强对miRNAs与RA关系的研究,对明确RA的发病机制具有重要意义,同时也可临床提供治疗或诊断的潜在靶点。

**关键词** 小分子核糖核酸;类风湿性关节炎;免疫系统;成纤维滑膜细胞;治疗靶点

类风湿性关节炎(RA)是一种累及多关节的以关节滑膜炎为主要病变的免疫性疾病,其发病机制至今尚不清楚。RA的特点主要是滑膜组织的激活和增殖以及在与骨和软骨连接处的关节滑膜中形成破坏性的血管翳。近几年来,小分子核糖核酸(microRNAs或miRNAs)与RA的关系被国内外专家所重视,并逐渐成为热点。

miRNAs是一类单链的、长度为18~24碱基的、小的非编码RNA分子,其不能有效使用一种后转录方式调节目标基因的表达,但能与靶向信使核糖核酸(mRNA)的3'-非翻译区(UTR)结合,导致翻译抑制或影响mRNA的稳定<sup>[1]</sup>。依靠靶向mRNA和miRNA之间的基本配对,miRNA或分裂mRNA(完全的配对)或抑制翻译(不完全的配对)。尽管一些方法被用来预测潜在的mRNA靶点,但几种miRNAs已被确证指向特定的mRNA。本文以“小分子核糖核酸”“类风湿性关节炎”“microRNAs”“miRNAs”等为关键词,组合查询2006—2013年万方数据库和PubMed数据库中有关miRNAs和RA的研究文献,对miRNAs与RA关系的研究进展进行综述。结果共查询到文献130篇,其中有效29篇,现报道如下。

## 1 miRNAs与RA的关系

miRNAs已被筛选出多种,但近年来,国内外学者主要对

miRNA-221/222、miRNA-323-3p、miRNA-146a、miRNA-155、miRNA-223、miRNA-24、miRNA-26a、miRNA-125a-5p、miRNA-18a、miRNA-34a、miRNA-203等与RA的关系进行了研究。

### 1.1 miRNA-221/222和miRNA-323-3p

滑膜细胞是使人类RA病理发生改变的关键细胞。Pandis I等<sup>[2]</sup>研究显示,肿瘤坏死因子(TNF)转基因小鼠模型与正常对照组小鼠比较,转基因小鼠滑膜细胞的病理学发生了完全改变。通过比较鼠和人的关节剖面,专家发现二者有重叠区域,更重要的是明确了miRNA-221/222、miRNA-323-3p与RA滑膜细胞的关系。其中,在人的RA滑膜细胞中,miRNA-323-3p的表达是上调的,这一作用表明miRNA-323-3p和RA关系的密切性居于首位。更明显的是,miRNA-323-3p可加速Wnt通路的激活。此外,miRNA-323-3p的过量表达会导致 $\beta$ -连环蛋白、杆菌肽的负调节基因的表达水平降低,其原因可能是miRNA-323-3p调节钙黏蛋白信号通路。在各种人肿瘤和RA滑膜细胞中,miRNA-221/222是一种明确过量表达的miRNAs集簇,通过促进细胞增殖、抑制凋亡、加速细胞融合,可调节癌细胞的致癌改变<sup>[3-4]</sup>。

### 1.2 miRNA-146a

在胶原诱导的大鼠关节炎模型中,体外外源性双带miR-

[8] Kim SW, Lee DG, Choi SM, et al. Once-daily gentamicin administration for community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in an in vitro pharmacodynamic model: preliminary reports for the advantages for optimizing pharmacodynamic index[J]. *Yonsei Med J*, 2010, 51(5):722.

[9] Louie A, Deziel MR, Liu W, et al. Impact of resistance selection and mutant growth fitness on the relative efficacies of streptomycin and levofloxacin for plague therapy [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(8):2 661.

[10] Gumbo T, Louie A, Deziel MR, et al. Pharmacodynamic evidence that ciprofloxacin failure against tuberculosis is not due to poor microbial kill but to rapid emergence of re-

sistance[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(8): 3 178.

[11] Drusano GL, Sgambati N, Eichas A, et al. Effect of administration of moxifloxacin plus rifampin against *Mycobacterium tuberculosis* for 7 of 7 days versus 5 of 7 days in an in vitro pharmacodynamic system[J]. *MBio*, 2011, doi:10.1128/mBio.00108-11.

[12] Louie A, Heine HS, VanScoy B, et al. Use of an in vitro pharmacodynamic model to derive a moxifloxacin regimen that optimizes kill of *Yersinia pestis* and prevents emergence of resistance[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(2):822.

[13] Louie A, VanScoy BD, Brown DL, et al. Impact of spores on the comparative efficacies of five antibiotics for treatment of *Bacillus anthracis* in an in vitro hollow fiber pharmacodynamic model[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(3):1 229.

(收稿日期:2014-04-08 修回日期:2014-05-29)

\* 药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:0871-63306254。E-mail:rendy007@126.com

# 副主任药师。研究方向:临床药学、药事管理。电话:0871-63306254。E-mail:sjmz2@163.com