

万古霉素 - 脂质体对兔股骨头置换感染模型预防作用的实验研究

周 强[△] 李 颖 吴继明 杨俊生 童樑成

(解放军第 454 医院骨科 江苏 南京 210002)

摘要 目的:制备万古霉素脂质体抗生素缓释系统,研究该缓释系统在治疗兔人工股骨头置换术后感染中的作用,为临床的进一步应用提供理论基础和实验依据。方法:建立兔人工股骨头置换术后感染模型,将配置好的万古霉素-脂质体药物释放系统、万古霉素于术中即分别放入关节腔及髓腔内,同时设对照组。大体观察左侧髋关节及观察右侧髋关节的活动度。实验动物于人工股骨头置换术后即刻、第 4、8 周,分别行髋关节 X 线摄片检查。实验动物建立感染模型 6 周后,分别取关节腔内肉芽组织或假膜组织,观察细菌生长情况,计数细菌菌落。并用 4% 的甲醛溶液固定组织,石蜡包埋(骨组织先用 EDTA 脱钙处理) HE 染色,光镜观察组织炎细胞浸润状况。实验动物建立感染模型术前和术后第 1、3、6 周后,测定血清 C-反应蛋白和血沉的变化。结果:成功建立了兔人工股骨头置换术后感染模型,各组兔人工股骨头置换术后股骨头均在位,经万古霉素-脂质体药物释放系统治疗后,万古霉素-脂质体组翻修术后 8 周 X 线结果提示关节间隙清晰,无明显骨缺损即透亮线形成,而万古霉素-骨水泥组置换术前后对比片,无明显变化。对照组感染未控制者术后 6 周 X 线结果显示,关节间隙模糊,假体及股骨结合部出现轻度骨吸收。细菌培养结果显示,空白对照组中实验动物细菌感染率为 100%,而加入万古霉素后,万古霉素-PMMA 组的实验动物细菌感染率为 33.3%,显著降低;万古霉素-脂质体组实验动物细菌感染率为 16.7%,与万古霉素-PMMA 组相比,感染率显著降低($P<0.05$),联合应用万古霉素-PMMA 和万古霉素-脂质体,与其它组相比较,感染率显著降低($P<0.05$),提示这种模式具有良好的抑菌效果。病理组织切片,发现实验动物建立感染模型 6 周后,空白对照组中实验动物感染人工股骨头周围股骨组织明显充血及炎性细胞浸润,万古霉素-PMMA 组、万古霉素-脂质体组和万古霉素-脂质体组+万古霉素-PMMA 的实验动物,炎性细胞浸润明显减少,提示术后关节周围细菌感染得到了有效的抑制。与术前相比较,各组 CRP 均显著升高($P<0.01$),而经过万古霉素-PMMA 组、万古霉素-脂质体组和万古霉素-脂质体组+万古霉素-PMMA 治疗的实验动物,CRP 均显著低于空白对照组中实验动物($P<0.05$)。结论:本实验中首先建立兔人工股骨头置换术后感染模型,并观察了万古霉素-脂质体药物释放系统对兔人工股骨头置换术后感染的效应,通过 X 线检查、细菌培养、病理组织切片观察以及血清 C-反应蛋白和血沉变化的测定,结果表明,通过上述方法制备的万古霉素脂质体对于人工股骨头置换术后感染具有良好的预防和治疗作用,为临床的进一步应用提供了初步的实验基础和理论依据。

关键词 万古霉素 脂质体 股骨头置换 术后早期感染 预防作用

中图分类号:R816.8 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)23-4433-05

The Use of Vancomycin Lipidosome in Postoperative Infection after Artificial Femoral Head Replacement: an Experiment Study in Rabbits

ZHOU Qiang[△], LI Ying, WU Ji-ming, YANG Jun-sheng, TONG Liang-cheng

(Department of Orthopaedics, Nanjing 454 Hospital of PLA, Nanjing, Jiangsu, 210002, China)

ABSTRACT Objective: To prepare the vancomycin lipidosome as an antibiotic delivery system and to describe its characteristic. To observe infection controls when vancomycin lipidosome was employed to manage hemiprosthetic hip joints infection in rabbits. **Methods:** To establish the postoperative infection model of rabbit after artificial femoral head replacement. Through the method of X-ray analysis, to observe the change of articulation coxae. By bacterium culturing, to analysis the growth of bacterium in articulation coxae. They were placed on culture media of agar which had been inoculated 1.5×10^8 CFU of MRSE, and the inhibitory zones were measured after incubated at 37 for 24 hours. HE staining can help us observe the inflammation in articulation coxae after artificial femoral head replacement. We also detected the change of C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate. **Results:** After artificial femoral head replacement, there are no significant difference for the concentration of vancomycin in rat plasma. X-ray demonstrated the hemiprosthetic hip joints space clouding in the adjacent bone tissues. The cultures of MRSE showed an positive result up to 8.3% in vancomycin lipidosome- vancomycin impregnated PMMA group, and that were 16.7% and 33.3% respectively in vancomycin lipidosome group and vancomycin impregnated PMMA group. From the results of HE staining, there are significant inflammatory cell infiltrations in the control group, and it was reduced in the other groups in the adjacent bone tissues. It was suggested that there were much less inflammatory cells infiltration in the adjacent bone tissue if the infection was controlled. After 1×10^8 CFU of MRSE was injected into the joints right after

作者简介:周强(1977-),男,主治医师,医学硕士研究生,主要研

究方向:从事关节外科专业 电话:15850659091,

E-mail: zq20052006@163.com

(收稿日期:2012-02-23 接受日期:2012-03-20)

the hip arthroplasty, the cultures of MRSE were positive in all animals and the levers of CRP and ESR were elevated quickly($P<0.01$). And comparing with the control group, the levers of CRP and ESR decreased in the other groups. **Conclusion:** We established the vancomycin liposome delivery system successfully which have well stability, high envelop rate and characteristic of drug released slowly in vitro. and in vivo. It also have the significant bacteriostasis effect in vitro and in vivo. This study objectively demonstrated that the outcome of hip joints infection improves significantly when vancomycin liposome is employed.

Key words: Vancomycin; Liposome; Artificial femoral head replacement; Drug released slowly; Postoperative infection early; Precaution effect

Chinese Library Classification(CLC): R816.8 Document code: A

Article ID:1673-6273(2012)23-4433-05

前言

人工关节置换能减轻关节疼痛,恢复关节功能,但术后感染仍是人工关节置换术的严重并发症之一,治疗相当困难^[1]。全身应用抗生素不仅价格昂贵、毒副作用大,而且由于病变处瘢痕组织增生、血供差,血中抗生素难以在局部达到有效杀菌浓度。作为药物载体的脂质体是第四代新型靶向给药技术,具有很好的生物相容性及靶向性,能有效地提高药物的稳定性和治疗指数,较少毒副作用,发挥优良的药动力学参数特性。万古霉素是一种糖肽类抗生素,主要抑制细菌细胞壁合成中期肽聚糖的生成,改变细胞质膜,具有强大的杀菌作用。我们通过薄膜分散法制备万古霉素脂质体,并考察其质量特性,结果显示我们制备的万古霉素脂质体,稳定性好,粒径大小均匀,包封率高,具有体外缓慢释药的特性。本实验中,我们建立兔人工股骨头置换术后感染模型,通过细菌培养、X线检查、CRP、ESR检测及组织学检查,观察万古霉素脂质体在治疗兔人工股骨头置换术后感染中作用,评价这一缓释系统的作用,为临床的进一步应用提供理论基础和依据。

1 材料

1.1 实验材料

兔人工股骨头假体^[2-4]:根据兔股骨近端髓腔形态取模,以不锈钢为材料,表面镀铬处理,股骨柄表面制成棱形。高精度数控机床加工兔人工股骨头。测量新西兰白兔 3 kg 10 只,测量平均股骨头直径为 (6.56 ± 0.50) mm,颈长度为 (1.88 ± 0.10) mm,颈干角为 $(118.43 \pm 2.50)^\circ$,髓腔直径为 (4.57 ± 0.10) mm。实验兔股骨于术前经 C 臂机检查,以保证假体与髓腔匹配。假体由南京工业大学电光研究所协助加工制作(图 1)。

1.2 主要试剂

万古霉素(美国 Lilly 公司);

20%乙二胺四乙酸溶液(EDTA)(上海化学试剂总厂)。

2 方法

2.1 建立兔人工股骨头置换术后感染模型

将金黄色葡萄球菌的菌种植于保存培养基中,并置于 4℃ 冰箱中保存,使用前 1d 复温,置于马血琼脂培养皿中,37℃ 培养 1d,将细菌用生理盐水配成菌液,以 VITEK 比浊仪粗测细菌浓度后,血细胞计数板精确计数,即刻使用。

手术过程^[5-7]:随机选健康成年新西兰白兔 48 只,分为 4 组:万古霉素-脂质体局部药物释放系统组、万古霉素-脂质体

组+万骨霉素-PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)、万骨霉素-PMMA、空白对照组,每组 12 只。以 3%戊巴比妥钠 30 mg/kg 静脉麻醉成功后,取左侧髋关节外侧弧形切口,分离肌肉,横行切开关节囊,切断圆韧带,使髋关节脱位暴露股骨头。咬骨钳横行截除股骨头后,以髓腔锉扩髓至可适合假体。实验置入假体并压实,使假体颈部与肱骨解剖颈平齐。万古霉素骨水泥组(骨水泥聚甲基丙烯酸由德国 LINK 公司惠赠),待骨水泥成团状时压入髓腔并植入假体,直至凝固。复位髋关节,逐层缝合。兔人工股骨头置换、缝合切口以后,将 1×10^6 金黄色葡萄球菌液 1 mL 注入左侧髋关节内制成兔人工股骨头置换术后感染模型。Southwood 等^[8]认为在股骨的髓质部分注入 1×10^3 CFU 的金黄色葡萄球菌就能造成所有的假体周围感染。另学者报告,接种 1×10^9 CFU 的 MRSE 可造成 100% 的人工关节模型感染^[9]。术后分笼喂养,肢体不制动,随意活动,6 周后处死动物。

兔人工股骨头假体制作:根据兔股骨近端髓腔形态取模,以不锈钢为材料,表面镀铬处理,股骨柄表面制成棱形。高精度数控机床加工兔人工股骨头。测量新西兰白兔 3 kg 10 只,测量平均股骨头直径为 (6.56 ± 0.50) mm,颈长度为 (1.88 ± 0.10) mm,颈干角为 $(118.43 \pm 2.50)^\circ$,髓腔直径为 (4.57 ± 0.10) mm。实验兔股骨于术前经 C 臂机检查,以保证假体与髓腔匹配。假体由南京工业大学电光研究所协助加工制作。

2.2 抗生素、局部药物释放系统使用

将配置好的万古霉素-脂质体药物释放系统、万骨霉素于术中即分别放入关节腔及髓腔内,同时设对照组。

2.3 检测指标

① 大体观察:左侧髋关节切口愈合情况,是否有红、肿、窦道,观察右髋关节的活动度。

② X 线片检查:实验动物于人工股骨头置换术后即刻、第 4、6 周,分别行髋关节 X 线摄片检查。摄片条件:动物仰卧,0.05S 曝光,机器设置为 55 KV,100 mA。

③ 细菌学检测:实验动物建立感染模型 6 周后,分别取关节腔内肉芽组织或假膜组织, pH7.4 无菌 PBS 液清洗三次,无菌滤纸吸干水分,称重,取标本 0.1g, pH7.4 无菌 PBS 液 0.5 mL 匀浆,“L”棒均匀涂布于马血琼脂平皿,37℃ 培养 24 h,观察细菌生长情况,计数细菌菌落。判断感染标准为 3 个组织标本中有 2 个或 2 个以上均培养出 MRSE 者为阳性,低于这一标准者为阴性。细菌数量 = 细菌菌落(CFU)/组织重量(g)。

④ 病理学检查:实验动物建立感染模型 6 周后,分别在关节囊及股骨各取组织 1 块,每块重约 0.5g,用 4%的甲醛溶液固定,石蜡包埋(骨组织先用 EDTA 脱钙处理),切片,厚 5 μ m,

HE 染色, 光镜观察组织炎细胞浸润状况。

⑤ 血清 C- 反应蛋白和血沉的测定 :实验动物建立感染模型术前和术后第 1、3、6 周后 ,于耳缘静脉抽取静脉血 5 mL ,离心(2500 转 / 分 5 分钟)后制备血清 ,分别用特种蛋白分析仪检测血清 C- 反应蛋白(C-reactive protein,CRP) ,自动血沉仪检测血沉(erythrocyte sedimentation rate,ESR)。

2.4 统计学处理

实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS10.0 统计软件进行处理,不同组同一指标用独立样本 t 检验。

3 结果

3.1 大体观察

万古霉素 - 脂质体组翻修术后 6 周切口愈合佳 ,均无红肿渗出等感染症状。万古霉素 - 脂质体组翻修术后 6 周 ,有一例出现切口红肿 ,少量渗出。对照组术后 6 周 7 只切口出现窦道、流脓 ,关节明显活动受限。

3.2 X 线检查结果

兔人工股骨头置换术后立即行 X 线检查 ,万古霉素 - 脂质体组翻修术后 8 周 X 线结果 ,关节间隙清晰 ,股骨头在位 ,无明显骨缺损即透亮线形成。万古霉素 - 骨水泥组置换术后对比片 ,无明显变化。对照组感染未控制者术后 6 周 X 线结果 ,关节脱位 ,节间隙模糊 ,假体及股骨结合部出现轻度骨吸收。

3.3 细菌培养

实验动物建立感染模型 6 周后 , 分别取关节腔内组织 , 37℃ 培养 , 观察细菌生长情况 ,结果如下表所示 :空白对照组中实验动物细菌感染率为 100% ,而加入万古霉素后 ,万古霉素 -PMMA 组的实验动物细菌感染率为 33.3% ,显著降低 ;万古霉素 - 脂质体组实验动物细菌感染率为 16.7% ,与万古霉素 -PMMA 组相比 , 感染率显著降低 (P<0.05) ;联合应用万古霉素 -PMMA 和万古霉素 - 脂质体 ,与其它组相比较 ,感染率显著降低(P<0.05) ,提示这种模式具有良好的抑菌效果。

表 1 各组细菌培养结果
Table 1 Results of bacterial culture of each group

分组 Group	动物数量 Animal quantity	阳性 Masculine	阴性 Negative	感染率 Infection rate
空白对照组(Blank compare group)	12	12	0	100%
万古霉素 -PMMA (Vancomycin -PMMA group)	12	4	8	33.3%
万古霉素 - 脂质体(Vancomycin lipidosome group)	12	2	10	16.7%
万古霉素 - 脂质体组 + 万古霉素 -PMMA (Vancomycin lipidosome- vancomycin impregnated PMMA group)	12	1	11	8.3%

3.4 病理学结果

实验动物建立感染模型 6 周后 ,空白对照组中实验动物感染人工股骨头周围股骨组织明显充血及炎性细胞浸润 ,万古霉素 -PMMA 组、万古霉素 - 脂质体组和万古霉素 - 脂质体组 + 万古霉素 -PMMA 的实验动物 ,炎性细胞浸润明显减少 ,提示术后关节周围细菌感染得到了有效的抑制。

3.5 血清 CRP 及血沉的测定

实验动物建立感染模型术前和术后第 1、3、6 周后 ,于耳缘静脉抽取静脉血 ,分别测定血清 C- 反应蛋白和血沉的变化 ,结果如下表所示。

实验动物建立感染模型术后 ,与术前相比较 ,CRP 均显著升高(P<0.01) ,而经过万古霉素 -PMMA 组、万古霉素 - 脂质体组和万古霉素 - 脂质体组 + 万古霉素 -PMMA 治疗的实验动物 ,CRP 均显著低于空白对照组中实验动物(P<0.05)。

表 2 各组 CRP 的变化(mg/L)
Table 2 Results of CRP of each group (mg/L)

分组 Group	术前 Preoperative	术后 1 周 Postoperative 1weeke	术后 3 周 3week	术后 6 周 6week
空白对照组(Blank compare group)	0.55± 0.1	9.87± 0.7	7.98± 0.9	5.61± 0.5
万古霉素 -PMMA (Vancomycin -PMMA group)	0.59± 0.2	7.21± 0.5	4.15± 0.3	2.28± 0.5
万古霉素 - 脂质体 (Vancomycin lipidosome group)	0.53± 0.1	6.42± 0.4	3.29± 0.4	1.97± 0.3
万古霉素 - 脂质体组 + 万古霉素 -PMMA (Vancomycin lipidosome- vancomycin impregnated PMMA group)	0.55± 0.1	5.98± 0.6	1.28± 0.1	0.82± 0.1

表 3 各组 ESR 的变化(mm/h)
Table 3 Results of ESR of each group (mm/h)

分组 Group	术前 Preoperative	术后 1 周 Postoperative 1week	术后 3 周 3 week	术后 6 周 6 week
空白对照组 (Blank compare group)	2.05± 0.1	13.32± 1.1	12.98± 0.7	9.23± 0.4
万古霉素 -PMMA (Vancomycin -PMMA group)	1.92± 0.2	11.13± 0.9	8.46± 0.5	4.33± 0.3
万古霉素 -脂质体 (Vancomycin lipidosome group)	1.83± 0.1	10.73± 0.2	6.32± 0.4	3.72± 0.3
万古霉素 -脂质体组 + 万古霉素 -PMMA (Vancomycin lipidosome- vancomycin impregnated PMMA group)	2.11± 0.1	9.01± 0.2	5.21± 0.3	2.54± 0.3

实验动物建立感染模型术后，与术前相比较，ESR 均显著升高(P<0.01)，而经过万古霉素 -PMMA 组、万古霉素 -脂质体组和万古霉素 -脂质体组 + 万古霉素 -PMMA 治疗的实验动物，ESR 均显著低于空白对照组中实验动物(P<0.05)，其中万古霉素 -脂质体组 + 万古霉素 -PMMA 组实验动物的 ESR 在 6 周后接近于术前正常水平。

4 讨论

随着人工关节置换术的应用，许多关节疾病患者疼痛减轻，关节功能恢复。但术后感染仍是人工关节置换术的严重并发症之一，治疗相当棘手，其引起的手术效果欠佳或手术失败的病例逐渐增加，给患者带来沉重的生理、心理和经济负担，目前国内外学者意见尚不统一。Itasaka 等^[10]认为术中细菌残留、术后体内潜在感染灶的细菌扩散及经血液播散是细菌进入人工关节的基本来源途径。细菌进入关节后，产生细胞外粘多质，形成生物膜和有利于增殖的微环境，加上局部血供差，全身应用抗生素难以对细菌产生有效杀灭作用，从而导致感染发生^[11-13]。Konig 等^[14]发现，已形成生物膜的细菌对抗生素的杀灭耐受性比同种游离细菌要高 50~500 倍，而生物膜形成 7 d 以上的细菌要高 500~5 000 倍。

因此，探讨可在体内缓释致病菌高度敏感抗生素的新的缓释系统，将有利于人工关节置换术后感染的治疗。自 1970 年，Buchholz 等将庆大霉素加入聚甲基丙烯酸骨水泥中预防人工关节置换术后感染得到普遍认可。脂质体是近年来广泛应用的新型药物传递系统，可提高药物的稳定性，调节或改变药物的释放特性和方式，可以延长药物的作用时间，降低毒副作用，脂质体在生物体内可降解，安全性高，易于制备，是理想的载体系统^[15-16]。万古霉素是一种糖肽类抗生素，主要抑制细菌细胞壁合成中期肽聚糖的生成，改变细胞质膜，具有强大的杀菌作用，目前被认为是治疗骨与关节感染最有效的抗生素之一，对其耐药菌株极少^[17-19]。

本实验中首先建立兔人工股骨头置换术后感染模型，将配置好的万古霉素 -脂质体药物释放系统、万骨霉素于术中即分别放入关节腔及髓腔内，同时设对照组。通过大体观察左侧髋关节切口愈合情况以及右髋关节的活动度。X 线检查结果显示，各组兔人工股骨头置换术后股骨头均在位，提示模型兔人工股骨头置换模型建立成功，万古霉素 -脂质体组翻修术后 8

周 X 线结果提示关节间隙清晰，无明显骨缺损即透亮线形成，而万古霉素 -骨水泥组置换术前后对比片，无明显变化。对照组感染未控制者术后 6 周 X 线结果显示，关节间隙模糊，假体及股骨结合部出现轻度骨吸收。

实验动物建立感染模型 6 周后，细菌培养结果显示，空白对照组中实验动物细菌感染率为 100%，而加入万古霉素后，万古霉素 -PMMA 组的实验动物细菌感染率为 33.3%，显著降低；万古霉素 -脂质体组实验动物细菌感染率为 16.7%，与万古霉素 -PMMA 组相比，感染率显著降低(P<0.05)，联合应用万古霉素 -PMMA 和万古霉素 -脂质体，与其它组相比较，感染率显著降低(P<0.05)，提示这种模式具有良好的抑菌效果。病理组织切片，发现实验动物建立感染模型 6 周后，空白对照组中实验动物感染人工股骨头周围股骨组织明显充血及炎性细胞浸润，万古霉素 -PMMA 组、万古霉素 -脂质体组和万古霉素 -脂质体组 + 万古霉素 -PMMA 的实验动物，炎性细胞浸润明显减少，提示术后关节周围细菌感染得到了有效的抑制。

CRP 与感染成正相关，其水平变化与感染变化基本一致^[20]。实验动物建立感染模型术前和术后第 1、3、6 周后，于耳缘静脉抽取静脉血，分别测定血清 C-反应蛋白和血沉的变化，结果显示，与术前相比较，CRP 均显著升高(P<0.01)，而经过万古霉素 -PMMA 组、万古霉素 -脂质体组和万古霉素 -脂质体组 + 万古霉素 -PMMA 治疗的实验动物，CRP 均显著低于空白对照组中实验动物(P<0.05)。

利用脂质体与生物细胞膜亲和力强的特征，将抗生素包裹在脂质体内可提高抗菌效力，对耐药菌可重新获得治疗效果，能较好地满足人们的用药要求，是目前医药界致力于研究的一种新剂型。局部药物释放系统在髋关节置换早期预防感染的应用是一种新的治疗思路，结合临床常规治疗可能会提高预防感染的效果。我们的实验采用兔人工股骨头置换术后污染模型，探讨万古霉素 -脂质体局部药物缓释系统在初次人工髋关节置换术早期预防感染中的作用，结果表明，通过上述方法制备的万古霉素脂质体对于人工股骨头置换术后感染具有良好的预防和治疗作用，为临床的进一步应用提供了初步的实验基础和理论依据。

参考文献 (References)

[1] Haddad FS, Muirhead-Allwood SK, Manktelow AR, et al. Two stage uncemented revision hip arthroplasty for infection[J]. Bone Joint Surg

- (Br),2000,82(5):689-692
- [2] 王子明,王爱民,唐桂阳.兔人工股骨头置换后感染模型的建立及万古霉素-聚甲基丙烯酸甲酯的预防作用[J].中华创伤杂志,2002,18(11):667-670
- Wang Zi-ming, Wang Ai-min, Tang Gui-yang. Establishment of hemiprosthetic hip infection model and role of Vancocin2loaded polymethylmethacrylate in prophylaxis of infections in rabbits[J]. Chin J Traumatol,2002,18(11):667-670
- [3] 吴宇黎,王继芳,卢世璧,等.人工关节假体感染动物模型的建立[J].中华骨科杂志,1999,19:236-238
- Wu Yu-li, Wang Ji-fang, Lu Shi-bi, et al. Establishment of an Animal Model of Infected Prosthesis [J]. Chinese Journal of Orthopaedics, 1999,19:236-238
- [4] Southwood RT, Rice JL, McDonald PJ, et al. Infection in experimental arthroplasties[J]. Clin Orthop,1987,(224):33-36
- [5] 王子明,王爱民,唐桂阳.万古霉素-聚甲基丙烯酸甲酯在兔人工股骨头感染一期翻修中的作用[J].中国修复重建外科杂志,2006,20:634-639
- Wang Zi-ming, Wang Ai-min, Tang Gui-yang. Effect of Vancomycin-Loaded Polymethylmethacrylate on One-Stage Revision Arthroplasty in Treating Experimental Hemiprosthetic Hipinfections of Rabbits[J]. Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery,2006,20:634-639
- [6] M agnan B, Regis D, Biscaglia R, et al. Preformed acrylic bone cement spacer loaded with antibiotics: use of two 2 stage procedure in 10 patients because of infected hips after total replacement[J]. Acta Orthop Scand,2001,72(6):591-594
- [7] Taggart T, Kerry RM, Norman P, et al. The use of vancomycin-impregnated cement beads in the management of infecti- on of prosthetic joints [J]. Bone Jo int Surg (Br),2002,84 (1):70-72
- [8] Southwood RT, Rice JL, McDonald PJ, et al. Infection in experimental arthroplasties[J]. Clin Orthop,1987,(224):33-36
- [9] Cremieux AC, Carbon C. Experimental models of bone and prosthetic joint infections[J]. Clin Infect Dis,1997,25:129-130
- [10] Itasaka T, Kawai A, Sato T, et al. Diagnosis of infection after total hip arthroplasty[J]. Orthop Sci,2001,6(4):320-326
- [11] Gotz F. Staphylococcus and biofilms[J]. Mol Microbiol, 2002,43(6):1367-1378
- [12] Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, et al. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty [J]. Clin Microbiol,1998,36:2932-2939
- [13] Eveillard M, Mertl P, Caliarelli B, et al. Risk of deep infection in first-intention total hip replacement. Evaluation concerning a continuous series of 790 cases[J]. Presse Med,2001,30(38):1868-1871
- [14] Konig DP, Schierholz JM, Hilgers RD, et al. In vitro adherence and accumulation of Staphylococcus epidermidis RP 62 A and taphylococcus epidermidis M7 on four different bone cements. Langenbecks Arch Surg,2001,386:328-332
- [15] Hottiger MO, Dam TN, Nickoloff BJ, et al. Liposome-mediated gene transfer into human basal cell carcinoma [J]. Gene Ther,1999,6(12):1929-1935
- [16] Kaur IP, Garg A, Singla AK, Aggarwal D. Vesicular systems in ocular drug delivery: an overview[J]. Int J Pharm,2004,269(1):1-14
- [17] Chohfi M, Langlais F, Fourastier J, et al. Pharmacokinetics, uses, and limitations of vancomycin-loaded bone cement [J]. Int Orthop,1998,22(3):171-177
- [18] Kouri D, Gallou F, Kenzi A, et al. Thereapeutique infection a staphylocoques. [J]. Encycl Med Chir,1998,7:7-10
- [19] Gautier H, Daculsi G, Merle C. Association of vancomycin and calcium phosphate by dynamic compaction: in vitro characterization and micro biological activity[J]. Biomaterials,2001,22:2481-2487
- [20] Niskanen RO, Ko rkala O, Pammo H. Serum C2reactive protein levels after total hip and knee arthroplasty [J]. Bone Jo int Surg(Br), 1996,78 (3):431-433

(上接第 4441 页)

- [12] Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, et al. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling [J]. Cytokine & growth factor reviews,2004,15(6):457-475
- [13] Ohazama A, Courtney JM, Sharpe P. Opg, Rank, and Rankl in tooth development: co-ordination of odontogenesis and osteogenesis[J]. Journal of dental research,2004,83(3):241-244
- [14] Dougall WC, Chaisson M. The RANK/RANKL/OPG triad in cancer-induced bone diseases[J]. Cancer and Metastasis Reviews,2006,25(4):541-549
- [15] Kuhn MC, Willenberg HS, Schott M, et al. Adipocyte-secreted factors increase osteoblast proliferation and the OPG/RANKL ratio to influence osteoclast formation [J]. Molecular and Cellular Endocrinology,2011,27(6):141-149
- [16] Kuhn MC, Scherbaum WA, Schinner S. Positive effect of human adipocyte-secreted factors on human osteoblast proliferation and the OPG/RANKL ratio in vitro [J]. Molecular and Cellular Endocrinology,2010,12 (5):569-573
- [17] Malliga DE, Wagner D, Fahrleitner-Pammer A. The role of osteoprotegerin (OPG) receptor activator for nuclear factor kappaB ligand (RANKL) in cardiovascular pathology-a review [J]. WMW Wiener Medizinische Wochenschrift,2011,161(23-24):565-570
- [18] 张秀珍,杨黎娟.淫羊藿甙对大鼠成骨细胞护骨素, RANKL 表达的影响[J].中华内分泌代谢杂志,2006,22(3):222-225
- Zhang Xiu-zhen, Yang Li-juan. Icariin on rat osteoblast osteoprotegerin, affect the expression of RANKL [J]. The Chinese Journal of Endocrinology and metabolism,2006,22(3):222-225
- [19] Hodgkinson A, Aaron J, Horsman A, et al. Effect of oophorectomy and calcium deprivation on bone mass in the rat [J]. Clinical science and molecular medicine,1978,54(4):439