

# UPLC-MS/MS法测定淋巴结结核患者血浆和组织异烟肼浓度的临床价值研究

张宇<sup>1</sup>, 刘小玉<sup>2</sup>, 徐风<sup>2</sup>, 张欢<sup>1</sup>, 丁巧燕<sup>1</sup>, 马丽华<sup>1</sup>, 李思思<sup>1</sup>, 周铭<sup>1</sup>

1. 武汉市肺科医院药学部 (武汉 430030)

2. 武汉市肺科医院外科 (武汉 430030)

**【摘要】目的** 探讨淋巴结结核患者血浆与淋巴结组织中异烟肼浓度的相关性, 发掘其临床价值。**方法** 收集武汉市肺科医院淋巴结结核患者基本信息以及不同时间点静脉血液和手术切除的颈淋巴结组织样本, 建立超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS) 法并定量检测患者血浆和颈淋巴结组织样本中的异烟肼浓度, 分析血浆与淋巴结组织中异烟肼浓度的相关性。**结果** 异烟肼血药浓度及淋巴结组织浓度的线性范围分别为  $0.25\sim 16\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  ( $r=0.999\ 8$ )、 $2\sim 128\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  ( $r=0.998\ 8$ )。各质控样品的精密度、准确度、基质效应等均符合要求。血浆与淋巴结组织中的异烟肼浓度在患者静脉滴注给药后 10 min ( $r_s=0.501\ 1$ ,  $P=0.001$ )、30 min ( $r_s=0.402\ 8$ ,  $P=0.005$ ) 和 60 min ( $r_s=0.614\ 6$ ,  $P=0.001$ ) 均具有正相关性。对淋巴结组织与血浆中的异烟肼浓度比值进行分析, 结果发现在 10, 30, 60 min 时该比值分别为 1.46 (0.62, 3.55), 5.25 (4.61, 11.61), 6.62 (4.42, 10.78)  $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。**结论** 建立的 UPLC-MS/MS 法专属性好, 灵敏度、准确度及精密度高。监测血浆异烟肼浓度可为临床淋巴结结核患者合理使用异烟肼提供参考。

**【关键词】** 淋巴结结核; 异烟肼; 超高效液相色谱串联质谱法

## The clinical value of UPLC-MS/MS method for the determination of plasma and tissue isoniazid concentration in lymph node tuberculosis patients

Yu ZHANG<sup>1</sup>, Xiao-Yu LIU<sup>2</sup>, Feng XU<sup>2</sup>, Huan ZHANG<sup>1</sup>, Qiao-Yan DING<sup>1</sup>, Li-Hua MA<sup>1</sup>, Si-Si LI<sup>1</sup>, Ming ZHOU<sup>1</sup>

1. Department of Pharmacy, Wuhan Pulmonary Hospital, Wuhan 430030, China

2. Department of Surgical, Wuhan Pulmonary Hospital, Wuhan 430030, China

Corresponding author: Ming ZHOU, Email: Lenkezy@163.com

**【Abstract】Objective** To investigate the correlation between isoniazid concentration in plasma and lymph node tissue of patients with lymph node tuberculosis, and to explore its clinical value. **Methods** The basic information of patients with lymph node tuberculosis in our hospital and venous blood samples and neck lymph node tissue samples at different time points were collected. UPLC-MS/MS method was established and isoniazid concentration in plasma and neck lymph node tissue samples was quantitatively detected, and the correlation between isoniazid concentration in plasma and lymph node tissue was analyzed. **Results** The linear range

DOI: 10.12173/j.issn.1008-049X.202303215

基金项目: 武汉市卫生健康科研基金资助项目 (WX21D33、WZ21Q23); 武汉市肺科医院院内资助科研项目 (YNZZ202218、YNZZ202201)

通信作者: 周铭, 硕士, 副主任药师, Email: Lenkezy@163.com

<https://zgys.whuzhmedj.com>

of isoniazid blood concentration and lymph node tissue concentration were  $0.25\text{-}16\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  ( $r=0.999\ 8$ ) and  $2\text{-}128\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  ( $r=0.998\ 8$ ), respectively. The precision, accuracy, and matrix effect of each quality control sample met the requirements. Plasma isoniazid concentration and lymph node tissue isoniazid concentration were significantly correlated at 10 min ( $r_s=0.501\ 1$ ,  $P=0.001$ ), 30 min ( $r_s=0.402\ 8$ ,  $P=0.005$ ) and 60 min ( $r_s=0.614\ 6$ ,  $P=0.001$ ) after intravenous infusion of isoniazid. The ratio of lymph node tissue isoniazid concentration to plasma isoniazid concentration was  $1.46\ (0.62, 3.55)\ \text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$  at 10 min. At 30 min, the ratio was  $5.25\ (4.61, 11.61)\ \text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ . At 60 min, the ratio was  $6.62\ (4.42, 10.78)\ \text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ . **Conclusion** The established UPLC-MS/MS method has good specificity, high sensitivity, accurate and precision. Monitoring plasma isoniazid concentration provides a reference for the rational use of isoniazid in patients with lymphatic tuberculosis.

**【Keywords】** Lymph node tuberculosis; Isoniazid; Ultra performance liquid chromatography-mass spectrum/mass spectrum

结核病是由结核分枝杆菌引起的一种慢性传染性疾病,我国为结核病高负担国家之一,全球排名第二<sup>[1]</sup>。淋巴结结核作为肺外结核最常见的部位之一,约占肺外结核的30%~40%<sup>[2]</sup>,是由结核分枝杆菌经淋巴循环、血液循环或邻近病灶侵入淋巴结,引起淋巴结的慢性炎症,是一种慢性消耗性疾病,病程长且隐匿性强。淋巴结往往发生结核散播,造成淋巴结脓肿,甚至结核淋巴瘘等严重问题,重要脏器周围淋巴组织发生的结核,有可能导致较为严重的神经损伤,严重危害患者健康<sup>[3-5]</sup>。

目前,一线抗结核药物异烟肼为抗淋巴结结核的核心药物<sup>[6-7]</sup>。病灶组织中的药物浓度与临床疗效密切相关,可直接影响疗效<sup>[8]</sup>。然而,受限于淋巴结样本临床采集及前处理的复杂性,国内外检测淋巴结组织中异烟肼药物浓度尚无相关文献报道,故目前异烟肼在淋巴结组织中药物浓度未知。本研究建立超高效液相色谱-串联质谱(ultra performance liquid chromatography-mass spectrum/mass spectrum, UPLC-MS/MS)法检测淋巴结异烟肼浓度,同时分析病灶淋巴结组织与血浆中异烟肼浓度的相关性,为临床治疗淋巴结结核患者提供个体化的给药方案。

## 1 资料与方法

### 1.1 仪器

4500MD型LC-MS/MS系统(美国AB Sciex公司);5810R型台式高速大容量离心机(德国Eppendorf公司);5424R型微量台式高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);KZ-III型组织研磨仪(武汉赛维尔生物有限公司);Milli-Q

Reference型超纯水系统(美国Millipore公司);XSR105DU型十万分之一分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

### 1.2 试剂

异烟肼注射液(西南药业股份有限公司,批号:211204,规格:0.1 g/2 mL);异烟肼对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100578-201903,纯度99%);内标苯海拉明对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100066-200807,纯度99.9%);甲醇、甲酸、二甲亚砜均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

### 1.3 研究对象

本研究经武汉市肺科医院医学伦理委员会审查通过[审批号:武肺伦理(2021)32号],选取2021年7月—2022年10月该院收治的淋巴结结核需要手术治疗的患者。

纳入标准:①符合《临床结核病学》第2版中淋巴结结核诊断标准<sup>[9]</sup>,临床诊断为颈淋巴结结核并择期手术者;②18周岁≤年龄≤65周岁;③治疗方案为异烟肼、利福平、乙胺丁醇、吡嗪酰胺的初治淋巴结结核患者;④同意参加本研究并签署知情同意书。

排除标准:①同时服用肾上腺皮质激素等对异烟肼药物浓度有影响者;②妊娠或哺乳期妇女;③合并人类免疫缺陷病毒阳性、糖尿病以及需长期服用免疫抑制剂者;④合并严重基础疾病、肝肾功能不全或严重遗传病者;⑤病原学诊断结果为耐药者。

共纳入26例淋巴结结核患者,其中男性13例,女性13例,中位年龄27岁。患者一般资料见表1。

表1 患者基本信息 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=26$ )  
Table 1. Basic information of patients  
( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=26$ )

项目	结果
年龄 (岁)	27.6 ± 8.2
国际标准化比值 (INR)	1.07 ± 0.1
D-二聚体 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0.21 ± 0.16
$\gamma$ -谷氨酰转氨酶 ( $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ )	24.8 ± 13.1
丙氨酸氨基转氨酶 ( $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ )	12.8 ± 8.8
白蛋白 ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	38.3 ± 3.6
总蛋白 ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	61.9 ± 5.3
总胆红素 ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	7.2 ± 2.9
尿素 ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	3.3 ± 1.3
肌酐 ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	58.2 ± 11.1
尿酸 ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	398.0 ± 125.6
超敏C反应蛋白 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	10.9 ± 11.4

## 2 方法与结果

### 2.1 分析条件

色谱条件: 色谱柱: Phenomenex Synergi™ Fusion-RP C<sub>18</sub> 柱 (50 mm × 2 mm, 4 μm), 流动相: 0.1% 甲酸水溶液 (A) - 甲醇 (B), 梯度洗脱 (0~0.6 min, 60%B; 0.6~2.9 min, 60%~10%B; 2.9~4.0 min, 10%~60%B), 流速: 0.3 mL · min<sup>-1</sup>; 柱温: 40℃; 进样量: 1 μL。

质谱条件: 正离子多反应监测模式; 气帘气电压: 40 psi; 离子化电压: 4 500 V; 雾化气温度: 650℃; 碰撞气电压: 45 psi; 喷雾气电压: 40 psi; 母离子 138.0 *m/z*, 子离子 121.0 *m/z* 和 93.0 *m/z*; 碰撞电压: 17 eV; 去簇电压: 64 V。内标苯海拉明: 母离子 256.0 *m/z*, 子离子 167.4 *m/z*; 碰撞电压: 27.06 eV; 去簇电压: 21.96 V。

### 2.2 溶液的配制及样品处理

#### 2.2.1 内标溶液

精密称取苯海拉明对照品 1 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 用水溶解并定容至刻度, 得到浓度为 100 μg · mL<sup>-1</sup> 的内标标准品储备液, 用 50% 甲醇稀释成 1 μg · mL<sup>-1</sup> 的内标工作液。

#### 2.2.2 血浆标准品溶液及处理

精密称取异烟肼对照品 4 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 用水溶解并定容至刻度, 得到浓度为 400 μg · mL<sup>-1</sup> 的标准品储备液, 随后依次用空白血浆稀释成浓度为 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25 μg · mL<sup>-1</sup>

的血浆标准品溶液。精密量取 40 μL 血浆标准品溶液, 加入 5 μL 苯海拉明工作液和 755 μL 甲醇, 涡旋混匀后离心 (7 000 × *g*) 10 min, 取上清即得。

#### 2.2.3 淋巴结组织标准品溶液

取空白淋巴结组织, 滤纸擦干外表血液后精确称重, 加入 400 μL/100 mg 甲醇 (含 2.5 μL 苯海拉明工作液) 和 4 颗磁珠, 组织研磨仪匀浆 3 次, 离心 (7 000 × *g*) 10 min, 取上清, 将 400 μg · mL<sup>-1</sup> 的标准品储备液用上述上清液稀释成浓度为 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2 μg · g<sup>-1</sup> 的组织标准品溶液。

检测样品按上述方法配置或匀浆后, 取上清经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后, 按“2.1”项下条件检测。

## 2.3 方法学验证

### 2.3.1 专属性试验

取空白血浆、空白淋巴结组织以及“2.2”项下的血浆标准品溶液、淋巴结组织标准品溶液, 按“2.1”项下方法进样检测, 记录色谱图, 见图 1。结果表明内源性杂质对异烟肼检测无干扰, 方法的专属性较强。

### 2.3.2 标准曲线与定量下限考察

取“2.2”项下的血浆和淋巴结组织系列标准品溶液, 按“2.1”项下方法进样检测, 以异烟肼的质量浓度为横坐标 (*X*), 峰面积为纵坐标 (*Y*), 采用最小加权法 (加权系数为 1/*X*<sup>2</sup>) 进行线性回归, 得血浆异烟肼的线性回归方程:  $Y=1.095 \times 10^5 X - 199.785$  ( $r=0.9998$ ), 淋巴结组织异烟肼的线性回归方程:  $Y=1.331 \times 10^5 X - 1510.028$  ( $r=0.9988$ )。结果表明, 异烟肼血药浓度的线性范围为 0.25~16 μg · mL<sup>-1</sup>, 定量下限为 0.25 μg · mL<sup>-1</sup>; 异烟肼淋巴结组织浓度的线性范围为 2~128 μg · g<sup>-1</sup>, 定量下限为 2 μg · g<sup>-1</sup>。

### 2.3.3 精密度与准确度试验

按“2.2”项下方法配制异烟肼定量下限 (0.25 μg · mL<sup>-1</sup>) 和低、中、高质量浓度 (0.5, 4, 12 μg · mL<sup>-1</sup>) 的血浆质控样品以及异烟肼定量下限 (2 μg · g<sup>-1</sup>) 和低、中、高质量浓度 (5, 40, 120 μg · g<sup>-1</sup>) 的组织质控样品。按“2.1”项下方法连续进样 6 次, 考察日内精密度; 连续测定 3 d, 考察日间精密度; 以实测质量浓度与理论质量浓度进行比较, 考察准确度, 结果见表 2。血浆和组织中异烟肼检测方法的日内、日间精密度以及准确度均符合中国药典 2020 年版的要求<sup>[10]</sup>。

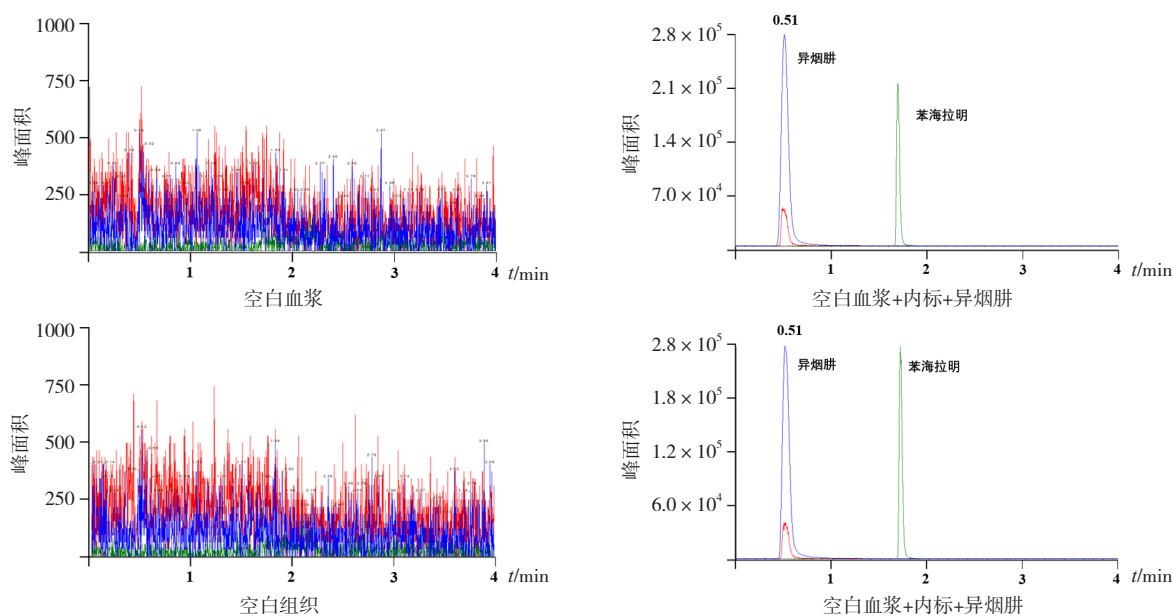


图1 专属性试验色谱图

Figure 1. Chromatogram of specificity test

### 2.3.4 基质效应和萃取回收率

分别用3种方法配制低、中、高质量浓度(0.5, 4, 12  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  和 5, 40, 120  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )的质控样品: 第1组: 取异烟肼对照品适量, 用50%甲醇稀释, 制成低、中、高质量浓度的异烟肼溶液1, 按“2.1”项下方法进样测定, 得峰面积A; 第2组: 取空白血浆或空白淋巴结组织, 加甲醇沉淀蛋白或加甲醇匀浆, 离心后取上清液, 以此上清液作为基质, 制备低、中、高质量浓度的异烟肼溶液2, 按“2.1”项下方法进样测定, 得峰面积B; 第3组: 取异烟肼对照品适量, 用空白血浆或淋巴结组织按“2.2.2”或“2.2.3”项下方法处理, 制成低、中、高浓度的异烟肼溶液3, 再按“2.1”项下方法进样测定, 得峰面积C。按下式分别计算基质效应和萃取回

收率: 基质效应 =  $B/A \times 100\%$ , 萃取回收率 =  $C/B \times 100\%$ 。各质量浓度平行操作5份。结果显示, 血浆检测方法的基质效应为97.5%~104.5%, 萃取回收率为93.8%~97.1%; 淋巴结组织检测方法的基质效应为93.2%~108.6%, 萃取回收率为92.8%~96.1%。表明基质不干扰异烟肼的测定, 符合中国药典2020年版的要求<sup>[10]</sup>。

### 2.3.5 稳定性试验

分别按“2.2.2”和“2.2.3”项下方法配制异烟肼低、中、高质量浓度(0.5, 4, 12  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  和 5, 40, 120  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )的质控样品, 于室温放置6 h、反复冻融(-80~20 $^{\circ}\text{C}$ )3次、-80 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存7 d, 按“2.1”项下方法进样测定, 计算异烟肼的质量浓度, 每份样品重复测定3次。结果各样品在上述条件下稳定性良好。

表2 精密度与回收率试验结果 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 2. Precision and recovery test results ( $\bar{x} \pm s$ )

检测样本	标示血 ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) / 组织 ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 浓度	日内精密度RSD (%) , n=6	日间精密度RSD (%) , n=3	回收率 (%)
异烟肼 (血浆)	0.25	3.5	3.1	96.13 $\pm$ 4.57
	0.5	3.2	5.8	96.71 $\pm$ 5.19
	4	2.5	4.9	95.55 $\pm$ 4.33
	12	2.7	3.1	94.37 $\pm$ 2.67
异烟肼 (组织)	2	2.8	4.0	99.18 $\pm$ 3.21
	5	5.8	7.3	97.18 $\pm$ 1.81
	40	1.3	4.5	102.12 $\pm$ 1.43
	120	2.6	3.5	95.35 $\pm$ 2.94



### 2.3.6 残留效应

分别按“2.2.2”和“2.2.3”项下方法配制质量浓度为  $12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  和  $120 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  的样品，再按“2.1”项下方法进样测定，随后同法测定空白血浆和空白淋巴结组织以考察残留效应。结果显示，在异烟肼相同的保留时间处，空白血浆/淋巴结组织色谱峰峰面积与定量下限质量浓度血浆/淋巴结组织样品色谱峰峰面积的比值均小于 5%，表明残留效应对血浆样品和淋巴结组织样品的测定无明显影响。

### 2.3.7 稀释可靠性

分别按“2.2.2”和“2.2.3”项下方法配制质量浓度为  $12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  和  $120 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  的样品，用空白血浆或组织匀浆稀释 10 倍后，按“2.1”项下方法进样测定，考察稀释可靠性（样品平行操作 5 份）。结果显示，稀释后样品的精密度 *RSD* 小于 10% ( $n=5$ )，准确度为 97.9% 和 98.5%，表明样品用空白血浆或空白组织匀浆稀释 10 倍对其定量分析无明显影响。

## 2.4 样本采集与处理

### 2.4.1 淋巴样本采集与处理

淋巴结结核患者遵循统一治疗方案，异烟肼 0.3 g 溶于 100 mL 0.9% 氯化钠注射液，于切口前静脉滴注给药，分别于给药后 10, 30, 60 min，取患者淋巴结组织（病理诊断为：结核性肉芽肿），滤纸擦干外表血液后精确称重，加入 400  $\mu\text{L}/100 \text{mg}$  甲醇（含 2.5  $\mu\text{L}$  苯海拉明工作液）和 4 颗磁珠，组织研磨仪匀浆 3 次，离心（ $7000 \times g$ ）10 min，取上清液经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后，按“2.1”项下方法进样检测。

### 2.4.2 血液样本采集与处理

取紫色抗凝管（含乙二胺四乙酸二钾）采集患者给药后 10, 30, 60 min 的静脉血 2 mL，离心（ $1000 \times g$ ）10 min 后取上清，每个样品取 40  $\mu\text{L}$  血浆，加入 5  $\mu\text{L}$  苯海拉明工作液和 755  $\mu\text{L}$  甲醇，涡旋混匀后离心（ $7000 \times g$ ）10 min，取上清液经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后，按“2.1”项下方法进样检测。

## 2.5 统计学分析

采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。符合正态分布与方差齐性的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示，两组比较采用独立样本 *t* 检验，多组比较采用单因素方差分析，组间多重比较采用 *q* 检验；非正态分布计量数据以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示，多组比较采用 Kruskal-Wallis *H* 秩和检验，组间多重比较采用 Dunn 检验；采用 Spearman 相关分析评估相关性。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2.6 临床应用

### 2.6.1 患者血浆和淋巴结组织中的异烟肼浓度测定

收集异烟肼给药 10, 30, 60 min 后的手术患者血样和淋巴结组织。按上述方法检测血浆和组织异烟肼浓度，各时间点异烟肼的平均浓度见表 3，分布情况见图 2。血浆中异烟肼浓度各时间的两两比较，差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ），表明静脉注射异烟肼后 1 h 内逐渐代谢，处于消除阶段，而淋巴结组织异烟肼浓度在 10 min 和 30 min 时差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ），表明异烟肼在给药 30 min 后已经在淋巴结组织富集。

### 2.6.2 血浆和淋巴结组织中异烟肼浓度的相关性分析

分别对 10, 30, 60 min 的血浆和淋巴结组织中异烟肼浓度进行相关性分析，结果发现血浆与淋巴结组织中异烟肼浓度在患者静脉滴注给药后 10 min ( $r_s=0.5011$ ,  $P=0.001$ )、30 min ( $r_s=0.4028$ ,  $P=0.005$ ) 和 60 min ( $r_s=0.6146$ ,  $P=0.001$ ) 均具有正相关性（其中  $r_s$  代表相关性强弱， $P$  代表线性关系的显著性），具体见图 3。

分别对 10, 30, 60 min 各患者的淋巴结组织与血浆中异烟肼浓度比值进行分析，结果发现在 10, 30, 60 min 时该比值分别为 1.46 (0.62, 3.55), 5.25 (4.61, 11.61), 6.62 (4.42, 10.78)  $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ，其中 10 min 与 30 min ( $P=0.002$ )、10 min 与 60 min ( $P=0.001$ ) 时该比值差异有统计学意义，而 30 min 与 60 min 时该比值差异无统计学意义（ $P=0.99$ ）。具体见图 4。

表3 患者血浆和淋巴结组织中的异烟肼浓度

Table 3. Concentration of isoniazid in patient plasma and lymph node tissue

组别	10 min	30 min	60 min
血浆 ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	3.50 (2.75, 3.84)	1.97 (1.72, 2.31) <sup>b</sup>	1.47 (0.98, 2.51) <sup>bc</sup>
淋巴结组织 ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	3.92 (1.57, 10.29)	10.29 (8.62, 22.3) <sup>a</sup>	9.02 (3.92, 16.95)

注：与 10 min 比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ，<sup>b</sup> $P < 0.01$ ；与 30 min 比较，<sup>c</sup> $P < 0.05$

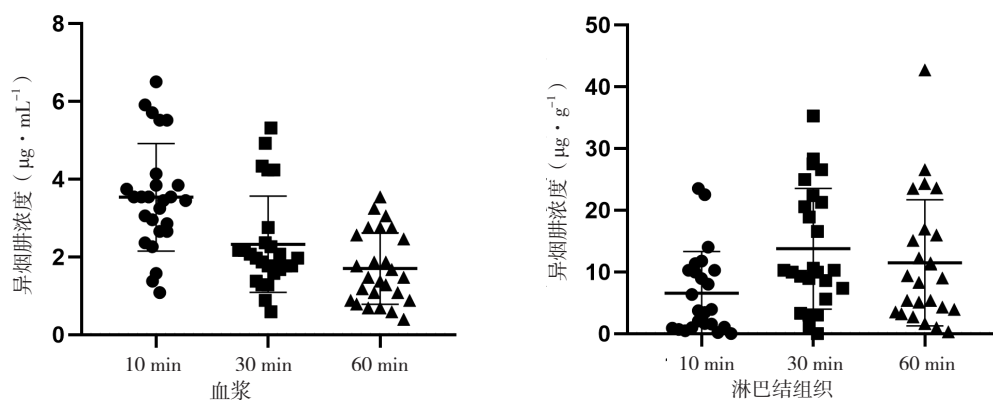


图2 不同时间患者血浆与淋巴结组织中的异烟肼浓度分布

Figure 2. Concentration distribution of isoniazid in plasma and lymph node tissues of patients at different times

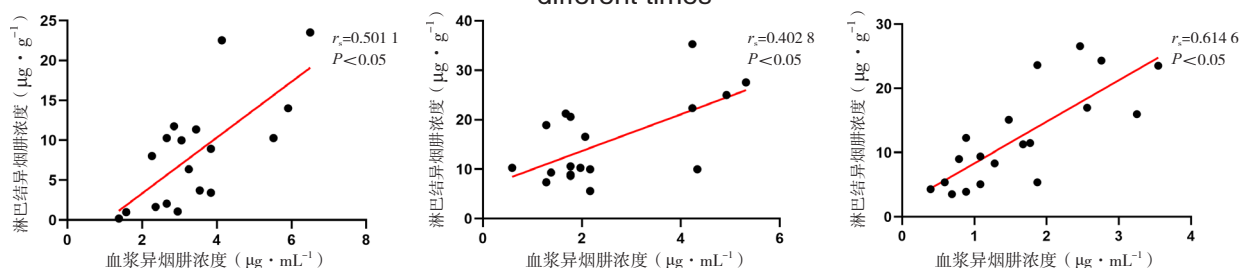


图3 不同时间血浆与淋巴结中异烟肼浓度的相关性分析

Figure 3. Correlation analysis of isoniazid concentrations in plasma and lymph nodes at different times

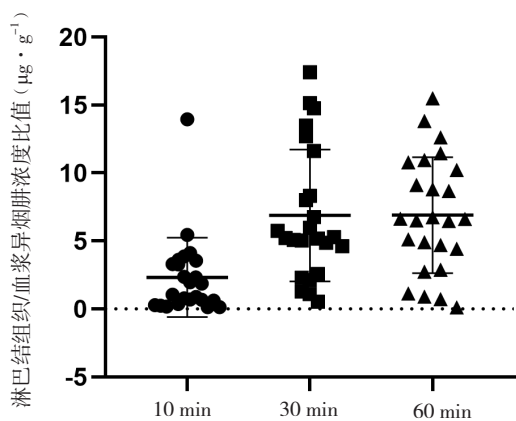


图4 不同时间淋巴结/血浆中异烟肼浓度比值分布

Figure 4. Concentration distribution of isoniazid of lymph node/plasma isoniazid concentration ratios at different times

### 3 讨论

颈淋巴结结核在淋巴结结核中占比超过90%，对人类危害较大<sup>[11-12]</sup>，一线抗结核药物异烟肼为抗颈淋巴结结核的核心药物，而且病灶组织中的药物浓度与临床疗效密切相关。研究发现，采用标准剂量异烟肼治疗的患者，体内血药浓度较大差异（3~7倍）<sup>[13-15]</sup>，但淋巴组织中浓度是

否差异较大、血浆浓度与组织浓度是否存在相关性，尚无文献报道。因此，同时监测异烟肼血药浓度及组织药物浓度，研究血浆-组织中异烟肼浓度相关性，对于淋巴结结核患者个体化药物治疗具有重要意义<sup>[16-18]</sup>。

UPLC-MS/MS法检测药物浓度定性分析结果可靠、准确度高、分析速度快，被用于多种抗结核药物浓度的检测<sup>[19-20]</sup>。本研究首次收集了颈淋巴结结核患者的血液和结核淋巴组织，通过UPLC-MS/MS法进行了异烟肼浓度的定量检测，研究了异烟肼静脉滴注给药后，药物在人体血液以及结核淋巴组织中不同时间节点的浓度，初步研究了异烟肼在人体血液及结核淋巴组织的代谢情况。

首先，通过比较10，30，60 min时患者的血浆和淋巴结组织中异烟肼浓度，发现静脉滴注给药后，血浆异烟肼的浓度在30 min和60 min显著降低（ $P < 0.05$ ），而颈淋巴结组织异烟肼浓度在30 min显著上升（ $P < 0.05$ ），30~60 min无显著变化（ $P > 0.05$ ）。提示血浆中异烟肼可能在0~30 min内逐渐向颈淋巴组织分布，30 min后颈淋巴组织中异烟肼分布与消除趋于平衡，导致颈淋巴结组织中异烟肼浓度趋于平衡。其次，

分析血浆异烟肼与颈淋巴组织中异烟肼的相关性后,发现两者在 10, 30, 60 min 都存在较强的正相关性 ( $P < 0.05$ ),且相关性随着时间延长而增强(60 min 时,  $P < 0.01$ ,  $r_s=0.6146$ )。最后,对以上 3 个时间点的颈淋巴结/血浆异烟肼浓度比值进行分析,结果显示 10 min 时中位值为 1.46; 30 min 时中位值为 5.25; 60 min 时中位值为 6.62,结果显示,静脉滴注异烟肼后,血管内异烟肼可迅速向颈淋巴组织扩散,大约 30 min 达到峰值,此时颈淋巴组织中异烟肼浓度较高,为血浆的 11.46 倍,随后逐渐下降,60 min 时仍然较高。说明异烟肼进入体液循环后,可迅速到达淋巴组织,然后缓慢消除,这可能与淋巴结结构相关。综上所述,临床可通过监测血浆药物浓度为淋巴结结核群体优化给药方案,本研究结果为临床合理使用异烟肼治疗颈淋巴结结核提供参考。

本研究的局限性在于临床样本较少(26 例),基于时间点的淋巴结组织获取较难,这也是人体组织药动学研究的一大难题。今后将继续扩大样本量,丰富采样时间,得到淋巴结结核这一特定人群的血液-组织药动学参数,为淋巴结结核患者的个体化治疗提供理论依据。

## 参考文献

- 1 陆伟,周扬,刘剑君.新中国成立 70 年来我国结核病防治工作的进展与成就[J].中华疾病控制杂志,2019,23(7):754-757,762.[Lu W, Zhou Y, Liu JJ. The progress and achievements of tuberculosis control in China since 1949[J]. Chinese Journal of Disease Control & Prevention, 2019,23(7): 754-757, 762] DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2019.07.003.
- 2 Ramírez-Lapausa M, Menéndez-Saldaña A, Noguero-Arasensio A. Tuberculosis extrapulmonar, una revisión [Extrapulmonary tuberculosis] [J]. Rev Esp Sanid Penit, 2015, 17(1): 3-11. DOI: 10.4321/S1575-06202015000100002.
- 3 Ganchua SKC, White AG, Klein EC, et al. Lymph nodes—the neglected battlefield in tuberculosis[J]. PLoS Pathog, 2020, 16(8): e1008632. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008632.
- 4 邵琤,薛宗锡,游佩涛,等.240 例颈淋巴结结核的回顾性分析[J].新疆医学,2016,46(9):1170-1173.[Shao Z, Xue ZX, You PT, et al. A clinical review of 240 cases of cervical tuberculous lymphadenitis[J]. Xinjiang Medical Journal, 2016, 46(9): 1170-1173.] DOI: CNKI:SUN: XJYL.0.2016-09-027.
- 5 高璐珏,黄子慧,高敏行,等.浅表淋巴结结核患者 401 例临床资料分析与治疗方法探析[J].中华中医药杂志,2020,35(10):5214-5219.[Gao LJ, Huang ZH, Gao MX, et al. Analysis of clinical data and exploration of treatment methods in 401 patients with superficial tuberculous lymphadenitis[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2020, 35(10): 5214-5219.] <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?dbcode=CJFD&filename=BXY202010123>.
- 6 Jawahar MS, Rajaram K, Sivasubramanian S, et al. Treatment of lymph node tuberculosis—a randomized clinical trial of two 6-month regimens[J]. Trop Med Int Health, 2005, 10(11): 1090-1098. DOI: 10.1111/j.1365-3156.2005.01493.x.
- 7 韩丹.异烟肼用于颈淋巴结结核换药 60 例疗效观察[J].内蒙古中医药,2011,30(18):102-103.[Han D. Therapeutic effect of isoniazid on 60 cases of cervical lymph node tuberculosis[J]. Inner Mongolia Journal of Traditional Chinese Medicine, 2011, 30(18): 102-103.] DOI: 10.16040/j.cnki.cn15-1101.2011.18.139.
- 8 Bergogne-Bérézin, E. Predicting the efficacy of antimicrobial agents in respiratory infections—is tissue concentration a valid measure[J]. J Antimicrob Chemother, 1995, 35(3): 363-371. DOI: 10.1093/jac/35.3.363.
- 9 唐神结,主编.临床结核病学.第 2 版[M].北京:人民卫生出版社,2019:478-491.
- 10 中国药典 2020 年版.四部[S].2020:466-472.
- 11 Ketata W, Rekić WK, Ayadi H, et al. Extrapulmonary tuberculosis[J]. Rev Pneumol Clin, 2015, 71(2-3): 83-92. DOI: 10.1016/j.pneumo.2014.04.001.
- 12 刘丽红.彩色多普勒超声诊断颈部淋巴结结核的临床价值[J].影像研究与医学应用,2022,6(12):64-66.[Liu LH. Clinical value of color Doppler ultrasound in the diagnosis of cervical lymph node tuberculosis[J]. Journal of Imaging Research and Medical Applications, 2022, 6(12): 64-66.] DOI: 10.3969/j.issn.2096-3807.2022.12.021.
- 13 黄海荣,王隽,初乃惠.结核病患者 N-乙酰基转移酶 2 编码基因多态性检测与异烟肼合理用药专家共识[J].中国防痨杂志,2021,43(11):1107-1112.[Huang HR, Wang J, Chu NH. Expert consensus on polymorphism

- detection of N-acetyltransferase-2 encoding gene and appropriate isoniazid dosing for tuberculosis patients[J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2021, 43(11): 1107-1112.] DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2021.11.001.
- 14 Alshaikheid M, Romdhane HB, Fredj NB, et al. Isoniazid therapeutic drug monitoring in Tunisian patients with tuberculosis[J]. J Clin Pharmacol, 2021, 61(7): 972-978. DOI: 10.1002/jcph.1813.
  - 15 梁英杰, 亓琳, 韩水, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定人血清中 4 种一线抗结核药物浓度及其临床应用[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2020, 53(3): 49-57. [Liang YJ, Qi L, Han S, et al. Simultaneous determination of four first-line anti-tuberculosis drugs in human serum by HPLC-MS/MS and its clinical application[J] Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis (Natural Science Edition), 2020, 53(3): 49-57.] <http://qikan.cqvip.com/Qikan/Article/Detail?id=7102198257>.
  - 16 Ungcharoen U, Sriplung H, Mahasirimongkol S, et al. The influence of NAT2 genotypes on isoniazid plasma concentration of pulmonary tuberculosis patients in Southern Thailand[J]. Tuberc Respir Dis (Seoul), 2020, 83(Supple 1): S55-S62. DOI: 10.4046/trd.2020.0068.
  - 17 Hansen KK, Nielsen F, Stage TB, et al. Microdialysis as a tool to determine the local tissue concentration of dicloxacillin in man[J]. Br J Clin Pharmacol, 2017, 84(3): 533-541. DOI: 10.1111/bcp.13468.
  - 18 龙芳芳, 王以美, 于锋, 等. 异烟肼抗结核治疗致肝损伤的国内文献综合分析[J]. 药物流行病学杂志, 2016, 25(6): 385-390. [Long FF, Wang YM, Yu F, et al. Systematic review of isoniazid induced liver injury in China[J]. Chinese Journal of Pharmacoepidemiology, 2016, 25(6): 385-390.] DOI: 10.19960/j.cnki.issn1005-0698.2016.06.014.
  - 19 黄银, 陈诚, 杨娇, 等. 多黏菌素治疗呼吸机相关性肺炎患者肺组织浓度与血药浓度关系[J]. 医药导报, 2018, 37(10): 1256-1261. [Huang Y, Cheng C, Yang J, et al. Relationship of polymyxins between intrapulmonary concentration and blood concentration in patients with ventilator-associated pneumonia[J]. Herald of Medicine, 2018, 37(10): 1256-1261.] DOI: CNKI:SUN:YYDB.0.2018-10-032.
  - 20 雷倩, 赵娜, 王皓, 等. 3 种二线抗结核药物血药浓度测定及其影响因素[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(8): 1405-1412. [Lei Q, Zhao Y, Wang H, et al. Determination of plasma concentration of three second-line anti-tuberculous drugs and their influencing factors[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2020, 40(8): 1405-1412.] DOI: 10.16155/j.0254-1793.2020.08.10.

收稿日期: 2023 年 03 月 26 日 修回日期: 2023 年 09 月 25 日  
本文编辑: 周璐敏 钟巧妮