

· 综述 ·

特定抗生素致聋的药物途径和意义

李弘喆¹, Peter Steyger¹, 曾凡钢²

¹ Department of Otolaryngology/Head and Neck Surgery, Oregon Hearing Research Center, Oregon Health and Science University, Portland, Oregon 97239, United States of America

² Hearing and Speech Research Laboratory, Department of Otolaryngology/Head and Neck Surgery, University of California, Irvine, California 92697, United States of America

【中图分类号】 R978.12

【文献标识码】 A

【文章编号】 1672-2922(2013)02-302-03

1 氨基甙类药物及其耳毒性

以庆大霉素为主的氨基甙类药物为广谱抗生素,于临床应用已有六十余年。这类抗生素可用于多种细菌感染性疾病,包括术前术后用药和肺结核的治疗^[1]。在国内多用于治疗由革兰氏阴性杆菌引起的脑膜炎以及中或重度肠道感染,而在欧美国家则用于防止早产新生儿败血症。

氨基甙类抗生素易溶于水,耐热,耐酸碱具有的良好的药物稳定性,但同时也具有特定的耳毒性和肾毒性。内耳毛细胞是听觉及平衡感受器的关键结构,其溶酶体和线粒体对氨基甙类药物有显著的聚集效应^[2]。利用这一特点,临幊上可以进行局部用药,用于损毁前庭毛细胞,达到治疗顽固性眩晕的目的^[3]。哺乳动物内耳耳蜗中的听觉毛细胞不同于肾脏的外皮细胞,没有再生功能,受到药物损害后,一旦凋亡,听力将永久性受损。

尽管新一代的抗生素已不断开发,氨基甙类药物仍然是治疗细菌感染的有效武器。尤其是用于对抗近年来出现的多耐药菌株,仍然需要氨基甙类抗生素^[4]。而且这类药物价格低廉,在发展中国家普遍使用,是目前全球药物性致聋的元凶。静脉注射的氨基甙类药物是如何进入内耳并到达毛细胞的呢?对于这个问题尚无明确答案。显然,加强对这个问题的认知,对减低或消除氨基甙类药物的耳毒性,指导临幊适当使用药物具有重要意义。

2 氨基甙类药物进入内耳毛细胞的可能途径

DOI:10.3969/j.issn.1672-2922.2013.02.034

基金项目:美国国立卫生研究院,国立耳聋与其它交流障碍研究所(NIH-NIDCD R03DC011622 and DC04555)

第一作者简介:李弘喆,高级研究员,研究方向:听觉生理学。

通讯作者:李弘喆 lihao@ohsu.edu

类似于血脑屏障,内耳中的血液迷路屏障可以有效地阻断各类水合性大分子进入内耳。而毛细胞正是位于这样特殊的内耳液体之中(图1)。内耳中主管听觉感受的耳蜗中含有两种成分不同的液体。一种是与细胞内液类似的内淋巴液,密封于耳蜗迷路的中阶。另一种是与胞外体液类似的外淋巴液,处于迷路的鼓阶和前庭阶。内淋巴液富含离子钾,而少含钠离子和钙离子,浓度各为 157, 1.3, 0.023 mM, 外淋巴液则各项浓度为 4.2, 148, 1.3 mM^[5]。紧密的细胞间连接有效地阻断了这两种淋巴液间离子交换。有趣的是,柱状的毛细胞参与了这个紧密连接,致使自身同时浸浴在这两种液体中:带有纤毛的顶端面向内淋巴,而侧壁和底端则浸泡在外淋巴液中。那么,氨基甙类药物选择了哪种淋巴液作为主要途径进入毛细胞呢?

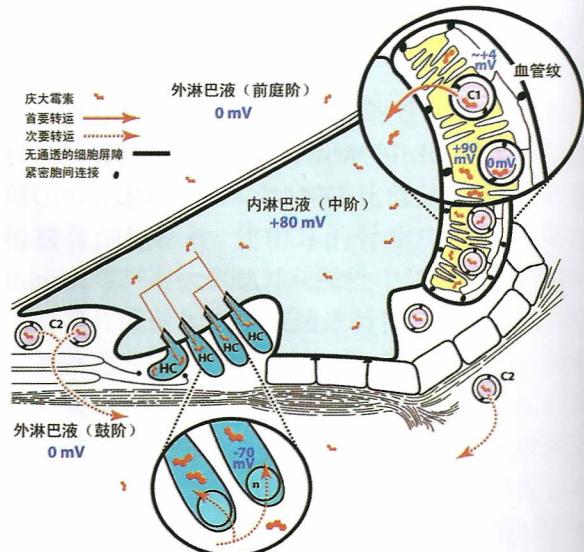


图1 以庆大霉素为例的氨基甙类药物进入内耳毛细胞的途径,以及耳蜗中电生理微环境的示意图。HC为听毛细胞;n为其细胞核;C1为血管纹中的毛细血管;C2为耳蜗中其它的毛细血管。

经由内淋巴液,从毛细胞顶部进入是一种可能途径。耳蜗侧壁的血管纹具有强大离子的转运功能。血管纹中有丰富的毛细血管,是维持内淋巴液微环境的重要结构。它维持着内淋巴液的高钾浓度,和正80毫伏内淋巴电位。由于毛细胞本身的静息电位是负70毫伏,这样毛细胞顶端细胞膜内外的电压差高达150毫伏。在这个大电压差的驱动下,内淋巴液中的阳离子都具有朝向毛细胞的势能。氨基甙类药物溶解的在生理pH环境下带有正电荷,而位于毛细胞顶端的纤毛上有对机械力进行能量转换的通道^[6],在顶端连接牵拉下,毛细胞顶端的机械能离子通道开放,允许钾钙等阳离子进入毛细胞,致使细胞去极化,并最终导致听神经产生动作电位。

近年来,大量的研究集中于阐述机械能离子通道的结构与作用机制,但组成该通道的具体蛋白质尚不明确^[7]。在离体培养环境下,多种药物,包括试验性替代染料(如FM1-43)以及荧光标记药物(如GTTR)的确可以通过机械能离子通道进入细胞^[8,9]。除了机械能离子通道之外,位于毛细胞顶端的其它的非特异性阳离子通道也可能参与对氨基甙类药物的转运,包括P2X2^[10],TRPA1^[11],TMC2^[12]等通道。另外,免疫组化实验显示,静脉注射的氨基甙类药物,也可能最终由细胞内吞作用通过毛细胞顶部^[13,14]。综上所述,氨基甙类药物进入内耳毛细胞的潜在途径是:由血液经血管纹主动转运进入内淋巴,从毛细胞顶端纤毛上的机械能离子通道,或通过包括内吞作用在内的其它方式进入细胞。

经由外淋巴液,从毛细胞侧壁或底部是另一种可能途径。八十年代初利用放射免疫的实验手段研究了庆大霉素药物代谢水平,对血浆及两种内耳的淋巴液进行采样测试;对大鼠静脉进行灌注给药,在庆大霉素血浆浓度平稳之后,内耳外淋巴的药物浓度明显高于内淋巴的浓度^[15,16]。外淋巴液的高浓度,使人们认为药物由血液进入外淋巴,进而经侧壁或底部进入毛细胞。这一观点甚至收录于教科书中^[17]。

3 我们的实验

利用耳蜗灌流技术,我们在活体动物上检验了这两种潜在的药物途径^[18]。我们首先配制了庆大霉素和德州红的共轭产物(GTTR),作为氨基甙类的荧光探针^[19]。首先检测内淋巴液途径,GTTR静脉注射到豚鼠体内,同时用人工合成的外淋巴液对耳蜗迷路的鼓阶进行灌流,以防止药物通过毛细胞的侧壁

和底部进入。实验结果显示,静脉注射后,毛细胞和血管纹组织中都聚集有大量的药物。其次检测外淋巴途径,将对应于静脉给药的外淋巴浓度的GTTR添加到人工合成的外淋巴液中,并对耳蜗的鼓阶进行灌流。尽管药物通过外淋巴液接触到毛细胞的侧壁和底部,实验结果显示其毛细胞药物聚集量远少于由内淋巴液途径进入的药物聚集量。

上述在体实验证明,氨基甙类药物主要是由血液经血管纹主动转运,跨越血液迷路屏障进入内淋巴和毛细胞。进而,内淋巴液正80毫伏的电位将带正电荷的氨基甙类药物驱赶到带负电位的毛细胞中,这可以解释内淋巴采样中只能发现较低的药物浓度,同时进一步支持毛细胞顶端纤毛上的机械能离子通道对药物的通透作用,并且与毛细胞比周围支持细胞对药物有更强的聚集作用的事实相符。

4 当前的问题与展望

在内耳中关于氨基甙类药物的转运机制,还有更多的问题期待我们来解答。其中首要问题就是:在血管纹中,什么样的生物分子机制将水合性氨基甙类药物主动转运,从而通过血液迷路屏障?血管纹中哪一类细胞具有这个机制?这些问题的答案将直接推动抗耳毒性药品的研发。另外,利尿剂^[20],噪声暴露^[21],血管紧张肽^[22],以及炎症反应都会加重氨基甙类药物的耳毒性。这类耳毒性的强化作用,是否是由于药物在内耳中转运效率的提高而造成的?尽管外淋巴液途径是次要的转运途径,但其转运能力可能在病理条件下加强^[23]。再者,氨基甙类药物在细胞内与靶位蛋白结合,产生具有细胞毒性的活性氧(ROS)。在这种情况下,药物在内耳中转运是否会进一步以正反馈的形式提高?

可以预见,这些未来的科研成果不仅会令我们对氨基甙类药物的耳毒性有进一步的认识,而且对理解营养成分及其他化学药品在内耳的转运,以及在其它器官的转运都会有积极意义。这包括血脑屏障,血液肾过滤,肾脏重吸收,以及胎盘的转运模式。从遗传学角度,药物耳毒性与其它内耳损伤机制,包括噪音致聋,老年性听力丧失的关系密切。近期对于线粒体RNA基因多态性的遗传学研究表明,中国人是氨基甙类药物耳毒作用的高危人群^[24,25]。千分之1.2的国人携带一种特定的,12S线粒体rRNA的单核苷酸突变导致的遗传缺陷^[25],即A1555G。这个突变增加了12S线粒体rRNA与氨基甙类药物的

结合程度^[26],影响到线粒体内正常的蛋白合成^[27]。仅仅单次使用氨基甙类抗生素,即可导致这些人听力及前庭功能受损。在中国,这种特定的突变约占氨基甙类药物耳毒性患者的30%^[28]。从这些数据可以进一步推断,中国的氨基甙类药物耳毒敏感人群可能高达总人口的千分之4。总之,对氨基甙类药物的转运机制的认识,对中国及其他亚洲国家人群具有更加深远的意义。新的认知将扩展药物耳毒性的拮抗手段,有利于延缓内耳毛细胞及其它辅助性细胞的衰老,保持人类的听觉敏感度。

致谢: 作者诚挚感谢石勇兵,高志强医师对本文初稿的评论及建议。

参考文献

- Forge A, Schacht J. Aminoglycoside antibiotics. *Audiol Neurotol*, 2000, 5(1): 3–22.
- 伍越, 郑静, 郑斌娇, 等. 氨基糖苷类抗生素耳毒性的保护和修饰. *中华耳科学杂志*, 2012, 10(2): 260–269.
- Brantberg K, Bergenius J, Tribukait A. Gentamicin treatment in peripheral vestibular disorders other than Meniere's disease. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 1996, 58(5): 277–279.
- Durante-Mangoni E, Grammatikos A, Utili R, Falagas ME. Do we still need the aminoglycosides? *Int J Antimicrob Agents*, 2009, 33 (3): 201–205.
- Wangemann P, Schacht J. Homeostatic mechanisms in the cochlea. In: *The cochlea* (eds. Dallos, P, Popper, AN, Fay, RR), 1996, 130–185 (Springer-Verlag, New York).
- Beurg M, Evans MG, Hackney CM, Fettiplace R. A large-conductance calcium-selective mechanotransducer channel in mammalian cochlear hair cells. *J Neurosci*, 2006, 26(43): 10992–11000.
- Gillespie PG, Muller U. Mechanotransduction by hair cells: models, molecules, and mechanisms. *Cell*, 2009, 139(1): 33–44.
- Marcotti W, van Netten SM, Kros CJ. The aminoglycoside antibiotic dihydrostreptomycin rapidly enters mouse outer hair cells through the mechano-electrical transducer channels. *J Physiol*, 2005, 567(Pt 2): 505–521.
- Alharazneh A, Luk L, Huth M, et al. Aminoglycosides rapidly and selectively enter inner ear hair cells via mechanotransducer channels. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22347.
- Li H, Lo P, Wang Q, Karasawa T, Steyger PS. Noise exposure facilitates gentamicin uptake in outer hair cells in vivo. In: *The 33rd ARO Midwinter Research Meeting*, Vol. 33 242 (Anaheim, CA, 2010).
- Corey DP, Garcia-Anoveros J, Holt JR, et al. TRPA1 is a candidate for the mechanosensitive transduction channel of vertebrate hair cells. *Nature*, 2004, 432(7018): 723–730.
- Kawashima Y, Geleoc GS, Kurima K, et al. Mechanotransduction in mouse inner ear hair cells requires transmembrane channel-like genes. *J Clin Invest*, 2011, 121(12): 4796–4809.
- Hashino E, Sheri M. Endocytosis of aminoglycoside antibiotics in sensory hair cells. *Brain Res*, 1995, 704(1): 135–140.
- Hiel H, Schamel A, Erre JP, et al. Cellular and subcellular localization of tritiated gentamicin in the guinea pig cochlea following combined treatment with ethacrynic acid. *Hear Res*, 1992, 57(2): 157–165.
- Tran Ba Huy P, Manuel C, Meulemans A, Sterkers O, Amiel C. Pharmacokinetics of gentamicin in perilymph and endolymph of the rat as determined by radioimmunoassay. *J Infect Dis*, 1981, 143 (3): 476–486.
- Tran Ba Huy P, Meulemans A, Wassef M, et al. Gentamicin persistence in rat endolymph and perilymph after a two-day constant infusion. *Antimicrob Agents Chemother*, 1983, 23(2): 344–346.
- 丁大连, 亓卫东, 曲雁, Salvi RJ. 耳毒性药物总论. In: *内耳科学* (eds. 丁大连, 蒋涛, 亓卫东, 曲雁, Salvi, RJ), 2010.
- Li H, Steyger PS. Systemic aminoglycosides are trafficked via endolymph into cochlear hair cells. *Sci Rep*, 2011, 1(159).
- Dai CF, Mangiardi D, Cotanche DA, Steyger PS. Uptake of fluorescent gentamicin by vertebrate sensory cells in vivo. *Hear Res*, 2006, 213(1–2): 64–78.
- Yamane H, Nakai Y, Konishi K. Furosemide-induced alteration of drug pathway to cochlea. *Acta Otolaryngol Suppl*, 1988, 447: 28–35.
- Li H, Wang Q, Steyger PS. Acoustic Trauma Increases Cochlear and Hair Cell Uptake of Gentamicin. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19130.
- Koo JW, Wang Q, Steyger PS. Infection-mediated vasoactive peptides modulate cochlear uptake of fluorescent gentamicin. *Audiol Neurotol*, 2011, 16(6): 347–358.
- Li H, Steyger PS. Sensory cell uptake of ototoxic compounds: the key to understanding ototoxic synergy? *ENT & audiology news*, 2012, 21(1): 3.
- Hutchin T, Haworth I, Higashi K, et al. A molecular basis for human hypersensitivity to aminoglycoside antibiotics. *Nucleic Acids Res*, 1993, 21(18): 4174–4179.
- Wang QJ, Zhao YL, Rao SQ, et al. Newborn hearing concurrent gene screening can improve care for hearing loss: a study on 14,913 Chinese newborns. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2011, 75(4): 535–542.
- Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet*, 1993, 4(3): 289–294.
- Hobbie SN, Akshay S, Kalapala SK, et al. Genetic analysis of interactions with eukaryotic rRNA identify the mitoribosome target in aminoglycoside ototoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(52): 20888–20893.
- Shen Z, Zheng J, Chen B, et al. Frequency and spectrum of mitochondrial 12S rRNA variants in 440 Han Chinese hearing impaired pediatric subjects from two otology clinics. *J Transl Med*, 2011, 9: 4.

(收稿日期: 2012-8-15 审核: 高峰)