

· 论著 ·

钙通道阻滞剂预防大鼠椎板切除术后硬膜外瘢痕粘连的实验研究

王志强¹ 王玉光¹ 贾鹏¹ 刘未¹ 张赛²

(1. 武警后勤学院附属医院骨科, 天津 300162; 2. 武警后勤学院附属医院脑科医院, 天津 300162)

【摘要】目的 观察局部应用维拉帕米干预对预防椎板切除术后瘢痕粘连的效果并探讨其作用机制。**方法** 选择健康成年 Wistar 大鼠 72 只, 按随机数字表法分为 3 组, 每组 24 只。完全切除大鼠 L1~L2 椎板制备动物模型; 维拉帕米治疗组术后皮肤缝合前在椎板切除区域给予 2.5 mg/mL 维拉帕米生理盐水溶液 2 mL 干预, 溶剂对照组术后给予等量生理盐水, 模型组术后不进行任何处理。术后每周行 BBB 评分判定神经根和脊髓损伤情况; 术后 4 周评估硬膜外瘢痕粘连 Rydell 分级, 并用比色法测定瘢痕组织中羟脯氨酸含量, 用免疫组化法分析波形蛋白表达水平, 用反转录 - 聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测肿瘤坏死因子 - α (TNF- α)、白细胞介素 - 6 (IL-6) 和转化生长因子 - β 1 (TGF- β 1) 等炎性因子的 mRNA 表达情况。**结果** 硬膜外瘢痕粘连 Rydell 分级显示, 溶剂对照组和模型组手术区局部可见重度粘连, 而维拉帕米治疗组硬膜外瘢痕粘连有所减轻。与模型组比较, 维拉帕米治疗组羟脯氨酸含量明显降低 ($\mu\text{g}/\text{mg}$: 35.41 ± 3.66 比 51.02 ± 3.02 比 $P < 0.05$), 而溶剂对照组降低不明显 (49.44 ± 2.14 , $P > 0.05$)。免疫组化分析显示: 溶剂对照组和模型组均可见局部有增生明显且致密的胶原纤维形成, 且与硬膜粘连, 并可见不成熟的纤维细胞; 维拉帕米治疗组可见薄状且松散的纤维增生, 局部与硬膜未见紧密粘连形成。与模型组比较, 维拉帕米治疗组波形蛋白表达明显降低 [吸光度 (A) 值: 72.19 ± 11.28 比 155.69 ± 24.61 , $P < 0.05$], 而溶剂对照组降低不明显 (A 值: 145.27 ± 21.37 比 155.69 ± 24.61 , $P > 0.05$)。RT-PCR 结果显示, 与模型组比较, 维拉帕米治疗组 TNF- α 、IL-6 和 TGF- β 1 mRNA 相对表达量均显著下调, 溶剂对照组变化不明显 (以模型组为 1, 溶剂对照组和维拉帕米治疗组 TNF- α mRNA 的相对表达量分别为 0.96 和 0.26, IL-6 mRNA 的相对表达量分别为 0.95 和 0.42, TGF- β 1 mRNA 的相对表达量分别为 0.92 和 0.39, 均 $P < 0.05$)。**结论** 椎板切除术后局部应用维拉帕米在预防硬膜外粘连方面具有显著疗效, 可明显抑制成纤维细胞及炎性细胞增生, 且安全有效。

【关键词】 椎板切除术; 硬膜外粘连; 维拉帕米; 羟脯氨酸; 腰椎手术失败综合征

A experimental study of calcium channel blockers on prevention of epidural fibrosis formation after laminectomy in rats Wang Zhiqiang*, Wang Yuguang, Jia Peng, Liu Wei, Zhang Sai. *Department of Orthopedics, Affiliated Hospital, Logistics University of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China
Corresponding author: Zhang Sai, Brain Hospital of Affiliated Hospital, Logistics University of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China; Email: lucy0203@sohu.com

【Abstract】Objective To investigate the effect of verapamil on the prevention of epidural fibrosis or scar adhesion after laminectomy in rats, and to explore its possible mechanism. **Methods** A controlled double-blinded study was conducted; 72 healthy adult Wistar rats underwent complete laminectomy at L1-L2 level, and according to the random digit table, they were divided into three groups: verapamil treatment group, vehicle control group and model group, 24 in each group. In verapamil treatment group, before skin incision was closed, 2 mL of 2.5 mg/mL verapamil solution was used to interfere in the region of the laminectomy, in vehicle control group, equal volume of normal saline was given in the operative field and in model group no any special management was applied postoperatively. In postoperative period, BBB scoring method was used every week to evaluate nerve root and spinal cord injury situation. Rydell grading of epidural scar adhesion was evaluated 4 weeks after laminectomy, the hydroxyproline content was detected by chromatometry, the level of protein expression of vimentin was analyzed by immunohistochemical method, the mRNA expressions of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) etc. inflammatory factors were detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** Rydell grading of epidural scar adhesion showed that the scar severe adhesion in the operative field was found in vehicle control group and model group, and in verapamil treatment group was not obvious. Compared with the model group, the content of hydroxyproline in verapamil treatment group was significantly decreased ($\mu\text{g}/\text{mg}$: 35.41 ± 3.66 vs. 51.02 ± 3.02 , $P < 0.05$), while in vehicle control group, the decrease was not significant (49.44 ± 2.14 , $P > 0.05$). The immunohistochemistry analysis showed: after laminectomy, in the laminectomy sites of control group and model group, dense epidural scar tissue with widespread adhesions to dura mater was observed; however, loose or little epidural scar

doi: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.01.012

基金项目: 天津市滨海新区医药卫生科技计划项目(2011BHKL003)

通讯作者: 张赛, Email: lucy0203@sohu.com

adhesion was seen in verapamil treatment group. Compared with model group, the protein expression of vimentin in verapamil treatment group was decreased significantly [absorbance (*A*) value: 72.19 ± 11.28 vs. 155.69 ± 24.61 , $P < 0.05$], but the decrease was not obvious in vehicle control group (*A* value: 145.27 ± 21.37 vs. 155.69 ± 24.61 , $P > 0.05$). RT-PCR results showed: compared with model group, mRNA expressions of TNF- α , IL-6 and TGF- β 1 were decreased significantly in verapamil treatment group, and the changes were not significant in vehicle normal saline control group (if the model group was 1, the mRNA relative expressional levels of TNF- α in vehicle control group and verapamil treatment group were respectively 0.96 and 0.26, of IL-6 were 0.95 and 0.42, and of TGF- β 1 were 0.92 and 0.39, all $P < 0.05$).

Conclusions Verapamil has significant effect on preventing postlaminectomy peridural adhesion, its local application can inhibit proliferation of fibrous and inflammatory cells, and the method used in this study is safe and effective.

【Key words】 Laminectomy; Epidural fibrosis; Verapamil; Hydroxyproline; Failed back syndrome

腰椎板切除术是救治保守治疗无效的腰骶部椎间盘病变及椎管狭窄病变的手术方式^[1]。据报道,全球有超过100万的患者不得不通过腰椎板切除术治疗其腰骶部病变产生的局部和双下肢放射性疼痛^[2]。1981年Burton等^[3]首次报道了腰椎手术失败综合征(FBSS),FBSS是指术后患者腰背部放射性疼痛仍持续或复发,部分患者症状甚于术前^[4]。导致FBSS出现的原因有很多,包括手术适应证把握不当、术者操作经验不足、减压范围不彻底、责任椎体选择不当等^[5],但最主要的原因是硬膜外纤维化(EF)导致的粘连^[6-8]。EF是腰椎板切除术后过度增生的瘢痕组织与硬膜、神经根产生非正常的粘连、挤压效应,从而产生了临床患者术后出现的肌无力、放射性疼痛、麻木、冷暖觉过敏等症状^[9-11]。有人认为这是由于椎板切除术后造成的创伤破坏了硬膜外空间,术后局部过度炎症反应刺激了成纤维细胞增殖,增殖的成纤维细胞分泌了大量胶原纤维,胶原纤维彼此凝结逐渐形成致密的瘢痕组织,而瘢痕组织的粘连收缩使硬膜和神经根受到非正常牵拉和挤压,从而产生了上述症状^[11-14]。

对腰椎板切除术后出现EF产生FBSS的研究显示,在椎板切除术后的犬模型上进行自体脂肪移植重建硬膜外脂肪的探索^[15],以期达到避免胶原纤维与硬膜和神经根接触的目的,结果显示取得了一定的疗效,但也产生了一定的问题,移植的脂肪不易存活,易发生液化,在脊髓手术区域形成了液化腔,极易感染。此外,也有学者提出给FBSS患者行二次手术^[16],对于椎管区域的手术,二次手术面临着获益小、风险大、易伤神经根的问题,并且二次手术对于术者的外科手术经验要求也很高。另外也有学者提出采用明胶海绵、药物凝胶、蜂蜜等材料局部应用^[17-19],这些材料虽然已经被证实一定程度上可以抑制EF的发生,但排异反应和远期疗效似乎已经成为一个不可逾越的障碍。近来也有学者提出术后采用非甾体药物和一些抗肿瘤药物进行干预^[20-22],

似乎也都取得了一定的成绩,但这些方法因为药物的毒性、不良反应和昂贵的价格难以在临床进一步推广开展。另外,最近有学者提出采用基因治疗的方式对EF进行干预^[23],能较好地抑制硬膜外瘢痕增生,但该方法在可操作性和患者接受认同度方面表现不佳,虽然为预防EF提出了一个新的思路和角度,并对EF的致病机制作出了贡献,但距离临床应用尚有很大距离。迄今为止,尚没有一种理想的方法可在临床应用中取得成功或得到广泛认同。

近年来采用局部应用钙通道阻滞剂维拉帕米的方法来治疗烧伤后产生的瘢痕疙瘩及预防外科手术后瘢痕的形成^[24],无论是对预防再灌注损伤还是关节手术后的关节粘连都有一定的效果^[25-27]。本研究将围绕钙通道阻滞剂维拉帕米局部应用的方法预防大鼠椎板切除术后粘连的疗效展开研究,为未来临床硬膜外纤维化的发生机制及解决办法提供新的思路和实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物分组及制模方法^[27-28]和处理:选择成年健康Wistar大鼠72只,雌雄各半,由天津医科大学动物实验中心提供,许可证编号:SYXK(津)2014-0003。将动物按随机数字表法分为模型组、维拉帕米治疗组和溶剂对照组,每组24只。腹膜注射10%的水合氯醛(3mL/kg)麻醉大鼠。手术采用在L1~L2水平后入路方式,对L1~L2椎板进行完全切除^[29];维拉帕米治疗组皮肤缝合前每只大鼠椎板切除区域给予2.5mg/mL的维拉帕米生理盐水溶液2mL^[27];溶剂对照组给予等量生理盐水;模型组术后不进行任何处理。术后常规预防感染,肌肉注射青霉素10kU/kg,每日2次,连用3d。

1.2 伦理学:本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 神经行为学评分:各实验组大鼠分别于制模前和处死前进行BBB神经功能行为评分^[30-31],以判

定大鼠术中是否存在脊髓或神经根损伤。

1.3.2 瘢痕粘连情况:术后4周开始在每周行BBB神经行为学评分,结束后每组随机选出6只大鼠重新麻醉,取原切口进入,逐层切开皮肤、浅筋膜、深筋膜、瘢痕组织,2人以双盲原则观察大鼠术野炎症反应、局部出血、瘢痕组织增生粘连情况并综合判定Rydell评分^[31-32],具体评分标准见表1。

表1 Rydell评分标准

分数	评分标准
0分	未见硬膜粘连与硬膜外瘢痕组织
1分	硬膜粘连与硬膜外瘢痕组织较轻,且容易分离
2分	硬膜粘连与硬膜外瘢痕组织较重,强行分离易造成严重出血和硬膜撕裂
3分	硬膜紧密粘连与硬膜外瘢痕组织严重,无法分离,强行分离易造成脊髓或神经根损伤

1.3.3 羟脯氨酸含量测定:人体蛋白质中以胶原蛋白含羟脯氨酸的量最多,而胶原蛋白是构成纤维结缔组织中胶原纤维的主要成分,因此可作为衡量纤维瘢痕生长情况的指标^[33]。术后4周,每组随机取6只大鼠,收集L1~L2硬膜外瘢痕组织标本,酸水解法稀释处理后,紫外分光光度仪检验样品中羟脯氨酸的吸光度(A)值,根据羟脯氨酸标准品的浓度与吸光度的比值计算出样品中羟脯氨酸含量。本实验液层厚度为1cm。根据每个样本的吸光度与标准曲线对照或带入回归方程即可得出样品中羟脯氨酸的浓度。

1.3.4 免疫组化法测定波形蛋白含量:观察各组大鼠胶原纤维细胞生成情况,并用吸光度法半定量鉴定。术后4周,每组随机取6只大鼠,以生理盐水经心脏灌注,再以4%多聚甲醛水溶液固定,完整取下L1节段椎体(去除皮肤及浅筋膜,含硬膜外瘢痕组织),用10%甲醛和10%硝酸混合液固定、脱钙,10d后以注射器针头试探性插入,如无骨性组织阻挡感,说明脱钙成功。取出样品于磷酸盐缓冲液(PBS)中洗涤5h,石蜡包埋后再行组织切片、染色,于光镜下观察。

1.3.5 反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测各组大鼠肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素(IL-6)和转化生长因子-β1(TGF-β1)的mRNA表达:术后4周,每组随机取6只大鼠,取L1~L2硬膜外瘢痕组织标本,研磨、裂解、匀浆,提取RNA,应用反转录酶反转录合成cDNA第一链,最后对所需片段进行PCR扩增^[34-35]。TNF-α、IL-6、

TGF-β1及内参照三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)引物由宝生物工程(大连)有限公司设计合成。采用RT-PCR检测各细胞因子的mRNA表达,以模型组为1,计算治疗组与模型组mRNA的相对表达量。

1.4 统计学处理:使用SPSS 13.0软件进行数据处理,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用ANOVA方差分析,方差不齐用Dunnett's T3检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物健康状况分析:共纳入Wistar大鼠72只,无行为、精神及饮食异常现象,亦无感染迹象。所有大鼠存活至取材,状态良好。无脱失。

2.2 各组大鼠神经行为学评分:各组大鼠术后每周的BBB评分均为21分。结合术中操作所见,所有大鼠的神经根和脊髓未被损伤,均可被纳入研究。

2.3 各组大鼠硬膜外粘连情况大体观察:术后4周,模型组和溶剂对照组粘连程度严重,手术区域纤维组织增生情况严重,呈致密粘连状,且炎症反应较为剧烈,血管增生明显,易于出血;维拉帕米治疗组粘连明显减轻,且硬膜外瘢痕呈松散状,粘连不明显,部分有薄膜样弱粘连。具体Rydell评分结果见表2。

表2 各组大鼠Rydell评分情况

动物序号	模型组 Rydell评分(分)		维拉帕米治疗组 Rydell评分(分)		溶剂对照组 Rydell评分(分)	
	助手I	助手II	助手I	助手II	助手I	助手II
1	3	3	1	0	3	3
2	3	3	0	0	3	3
3	3	3	0	0	3	3
4	3	3	0	0	3	2
5	2	3	0	0	3	3
6	3	3	0	1	2	3

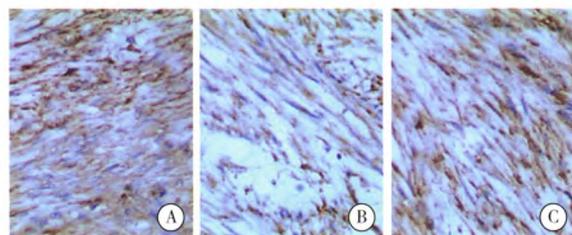
2.4 羟脯氨酸含量测定(表3):与模型组比较,维拉帕米治疗组羟脯氨酸含量明显减少($P < 0.05$),溶剂对照组差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表3 各组大鼠羟脯氨酸含量和波形蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	羟脯氨酸(μg/mg)	波形蛋白(A值)
模型组	6	51.02 ± 3.02	155.69 ± 24.61
维拉帕米治疗组	6	35.41 ± 3.66 ^a	72.19 ± 11.28 ^a
溶剂对照组	6	49.44 ± 2.14	145.27 ± 21.37

注:与模型组比较,^a $P < 0.05$

2.5 各组波形蛋白表达水平比较(表3;图1):免疫组化可见波形蛋白阳性的胶原纤维细胞着深棕色、细胞核着浅蓝色或深蓝色。溶剂对照组和模型组可见浓厚而大量致密的胶原纤维,并可见大量波形蛋白阳性细胞存在;维拉帕米治疗组可见状薄而松散的胶原纤维,同时波形蛋白阳性细胞明显少于其他两组。免疫组化半定量分析可见,维拉帕米治疗组波形蛋白表达较模型组明显降低($P<0.05$),溶剂对照组与模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。



注:A为模型组;B为维拉帕米治疗组;C为溶剂对照组

图1 各组波形蛋白表达水平比较(免疫组化 高倍放大)

2.6 各组TNF- α 、IL-6、TGF- β 1的mRNA表达水平比较(表4):术后4周,维拉帕米组TNF- α 、IL-6、TGF- β 1的mRNA表达水平均较模型组明显降低(均 $P<0.01$),溶剂对照组变化不明显(均 $P>0.05$)。

表4 各组TNF- α 、IL-6、和TGF- β 1的mRNA表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	TNF- α mRNA	IL-6 mRNA	TGF- β 1 mRNA
模型组	6	1.00	1.00	1.00
维拉帕米治疗组	6	0.26 ^a	0.42 ^a	0.39 ^a
溶剂对照组	6	0.96	0.95	0.92

注:与模型组比较, $^aP<0.05$

3 讨论

据统计,有高达8%~40%的患者在经历了腰椎管手术后会出现FBSS的症状,24%的FBSS患者已经被证实术后持续性症状与EF瘢痕组织增生有直接关系。根据我们临床观察发现,如果患者术前责任椎体及病变范围越大,那么患者术后罹患硬膜外粘连的可能性就越大。对于硬膜外粘连的预防,基于EF的病生理机制,可以发现具有抗炎、抑制胶原蛋白合成和成纤维细胞增殖作用的药物可以降低EF的程度。基于这一指导思想,人们陆续发现一些药物可以用来预防硬膜外粘连的发生,如丝裂霉素C、免疫抑制剂、类固醇激素、胞磷胆碱等。本研究选用大鼠并施以腰椎板切除术作为研究对象,

局部应用钙通道阻滞剂进行干预,结果表明,维拉帕米水醇溶液在预防硬膜外粘连方面具有一定疗效,Rydell评分降低,椎板开窗局部胶原沉积有明显改善,炎性活动和成纤维细胞增殖被抑制,局部波形蛋白的表达量也明显降低,这意味着维拉帕米治疗组大鼠椎板开窗的损伤局部胶原含量明显降低。至此,从组织学层面上证实了维拉帕米水醇溶液局部应用可以通过抑制成纤维细胞的增殖和胶原蛋白沉积的途径达到抑制硬膜外粘连的效果^[36]。为了进一步证实维拉帕米局部应用可以对椎板开窗局部的炎性活动产生抑制作用,本研究采用RT-PCR观察了维拉帕米水醇溶液对炎性因子(TNF- α 、IL-6和TGF- β 1)mRNA表达的影响,结果表明,其mRNA水平在维拉帕米治疗组均显著降低,在Rydell评分过程中观察到维拉帕米治疗组瘢痕组织范围最小,在切割过程中其出血量也较少,表明其内血管再生较少,同时瘢痕组织周围炎性渗出吸收后残腔也较溶剂对照组明显少。表明维拉帕米局部应用具有明确抑制炎性活动的作用。

本研究目前的设计仍存在一些限制,如仅应用了一种浓度的维拉帕米;同时在不同浓度的药物研究过程中,药物的系统生物安全性研究也应该被纳入进来;由于生物力学因素的影响,也应该尝试采用一些非爬行动物进行研究。

参考文献

- [1] Li Z, Tang J, Hou S, et al. Four-year follow-up results of transforaminal lumbar interbody fusion as revision surgery for recurrent lumbar disc herniation after conventional discectomy [J]. J Clin Neurosci, 2015, 22(2): 331-337.
- [2] Henky J, Yasuda M, Arifin MZ, et al. Trumpet laminectomy microdecompression for lumbar canal stenosis [J]. Asian Spine J, 2014, 8(5): 667-674.
- [3] Burton CV, Kirkaldy-Willis WH, Yong-Hing K, et al. Causes of failure of surgery on the lumbar spine [J]. Clin Orthop Relat Res, 1981, (157): 191-199.
- [4] Markman JD, Kress BT, Frazer M, et al. Screening for neuropathic characteristics in failed back surgery syndromes: challenges for guiding treatment [J]. Pain Med, 2015, 16(3): 520-530.
- [5] Desai MJ, Nava A, Rigoard P, et al. Optimal medical, rehabilitation and behavioral management in the setting of failed back surgery syndrome [J]. Neurochirurgie, 2015, 61(Suppl 1): S66-76.
- [6] Rabb CH. Failed back syndrome and epidural fibrosis [J]. Spine J, 2010, 10(5): 454-455.
- [7] Braverman DL, Slipman CW, Lenrow DA. Using gabapentin to treat failed back surgery syndrome caused by epidural fibrosis: a report of 2 cases [J]. Arch Phys Med Rehabil, 2001, 82(5): 691-693.
- [8] Samy Abdou M, Hardy RW Jr. Epidural fibrosis and the failed back surgery syndrome: history and physical findings [J]. Neurol Res, 1999, 21(Suppl 1): S5-8.
- [9] Turkoglu E, Tuncer C, Dinc C, et al. The effect of etanercept on spinal epidural fibrosis in a postlaminectomy rat model [J]. Turk

- Neurosurg, 2014, 24(4): 506-511.
- [10] Key JA, Ford LT. Experimental intervertebral-disc lesions [J]. J Bone Joint Surg Am, 1948, 30A(3): 621-630.
- [11] Bryant MS, Bremer AM, Nguyen TQ. Autogeneic fat transplants in the epidural space in routine lumbar spine surgery [J]. Neurosurgery, 1983, 13(4): 367-370.
- [12] Jamison DE, Hsu E, Cohen SP. Epidural adhesiolysis: an evidence-based review [J]. J Neurosurg Sci, 2014, 58(2): 65-76.
- [13] Turkoglu E, Dinc C, Tuncer C, et al. Use of decorin to prevent epidural fibrosis in a post-laminectomy rat model [J]. Eur J Pharmacol, 2014, 724: 86-91.
- [14] Borcek AO, Borcek P, Civi S, et al. Hyperbaric oxygen in epidural fibrosis: is there a potential for treatment? [J]. Turk Neurosurg, 2013, 23(5): 607-610.
- [15] da Costa RC, Pippi NL, Graça DL, et al. The effects of free fat graft or cellulose membrane implants on laminectomy membrane formation in dogs [J]. Vet J, 2006, 171(3): 491-499.
- [16] Zhang K, Zhao J, Su W, et al. Immunomodulatory effectiveness of liecotelone in preventing epidural fibrosis in post-laminectomy rat [J]. Eur J Orthop Surg Traumatol, 2015, 25(Suppl 1): S63-68.
- [17] Gunaldi O, Erdogan S, Guclu DG, et al. "Honey" can prevent epidural fibrosis development after laminectomy: an experimental study [J]. Turk Neurosurg, 2014, 24(6): 849-854.
- [18] Dogulu F, Durdag E, Cemil B, et al. The role of FloSeal in reducing epidural fibrosis in a rat laminectomy model [J]. Neurol Neurochir Pol, 2009, 43(4): 346-351.
- [19] Mastronardi L, Pappagallo M, Tatta C. The Oxiplex/SP gel-morphine compound after lumbar microdiscectomy in the management of postoperative pain. Report of 20 cases [J]. Surg Neurol, 2005, 64(1): 75-78.
- [20] Sandoval MA, Hernandez-Vaquero D. Preventing peridural fibrosis with nonsteroidal anti-inflammatory drugs [J]. Eur Spine J, 2008, 17(3): 451-455.
- [21] Cemil B, Tun K, Kaptanoglu E, et al. Use of pimecrolimus to prevent epidural fibrosis in a postlaminectomy rat model [J]. J Neurosurg Spine, 2009, 11(6): 758-763.
- [22] Yan L, Li X, Wang J, et al. Immunomodulatory effectiveness of tacrolimus in preventing epidural scar adhesion after laminectomy in rat model [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 699(1-3): 194-199.
- [23] Zhang C, Kong X, Liu C, et al. ERK2 small interfering RNAs prevent epidural fibrosis via the efficient inhibition of collagen expression and inflammation in laminectomy rats [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 444(3): 395-400.
- [24] Boggio RF, Boggio LF, Galvão BL, et al. Topical verapamil as a scar modulator [J]. Aesthetic Plast Surg, 2014, 38(5): 968-975.
- [25] 张昱,王阶.中医药防治心肌缺血/再灌注损伤的研究进展[J].中国中西医结合急救杂志,2002,9(1):52-54.
- [26] 山峰,李堃,马承泰,等.维拉帕米和生脉注射液抗大鼠肝脏缺血/再灌注损伤的作用研究[J].中国中西医结合急救杂志,2007,14(1):35-38.
- [27] 杨斌,丘岳,王柳萍,等.广西山银花绿原酸体外抗炎作用及分子机制研究[J].中国药理学通报,2009,25(4):542-545.
- [28] Zhang C, Kong X, Zhou H, et al. An Experimental Novel Study: Angelica sinensis Prevents Epidural Fibrosis in Laminectomy Rats via Downregulation of Hydroxyproline, IL-6, and TGF- β 1 [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 291814.
- [29] Siqueira EB, Kranzler LI, Dharkar DD. Fibrosis of the dura mater: A cause of "failed back" syndrome [J]. Surg Neurol, 1983, 19(2): 168-170.
- [30] 殷铭,徐又佳.大鼠脊髓损伤后CBS和BBB评分比较研究[J].中国血液流变学杂志,2012,22(3):398-400.
- [31] Zhang C, Kong X, Ning G, et al. All-trans retinoic acid prevents epidural fibrosis through NF- κ B signaling pathway in post-laminectomy rats [J]. Neuropharmacology, 2014, 79: 275-281.
- [32] Rydell N. Decreased granulation tissue reaction after installment of hyaluronic acid [J]. Acta Orthop Scand, 1970, 41(3): 307-311.
- [33] Honnegowda TM, Kumar P, Udupa P, et al. Effect of limited access dressing on hydroxyproline and enzymatic antioxidant status in nonhealing chronic ulcers [J]. Indian J Plast Surg, 2014, 47(2): 216-220.
- [34] 马中富,黄帆,高劲松,等.以cDNA为内参标RT-PCR定量检测心肌细胞内p53和Bcl-2基因mRNA表达量的方法研究[J].中华危重病急救医学,2002,14(10):597-601.
- [35] 张青,徐剑铖,毛宝龄,等.内毒素致伤大鼠肺组织TNF- α 、IL-6的mRNA表达及NF-IL6活化研究[J].中华危重病急救医学,2001,13(9):523-526.
- [36] 王道新,曹晓建,汤长华.神经生长因子对损伤脊髓组织一氧化氮生成的影响[J].中华危重病急救医学,2001,13(7): 417-419.

(收稿日期:2015-11-02)

(本文编辑:邸美仙 李银平)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对离心操作描述的有关要求

表示离心加速作用时,可以重力加速度(g)的倍数形式表达,例如:6000× g 离心10 min;或者以r/min描述,但此时需在给出离心机转速的同时给出离心半径,例如:离心半径8 cm,12 000 r/min离心10 min。

本刊对作者署名的一般要求

同时具备以下3项条件者方可署名为作者:①参与选题和设计,或参与资料的分析和解释者;②起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容者;③能对编辑部的修改意见进行核修,在学术上进行答辩,并最终同意该文发表者;④除负责本人的研究贡献外,同意对研究工作的诚信问题负责。对文章中的各主要结论,均必须至少有1位作者负责。作者中如有外籍作者,应征得本人同意,并在投稿时向编辑部提供相应证明材料,并应用其本国文字和中文同时注明通讯地址,地名以国家公布的地图上的英文名为准。集体署名的论文必须明确对该文负责的关键人物,以通讯作者的形式将其姓名、工作单位、邮政编码及Email地址脚注于论文题名页。通讯作者一般只列1位,由投稿者确定。整理者姓名列于文末,如需注明协作组成员,则于文末参考文献前列出协作组成员的单位及姓名。作者排序应在投稿前确定,在编排过程中不应再改动,确需改动时须出示单位证明,并附全部作者签名的作者贡献说明。