

重组人红细胞生成素治疗大鼠急性脊髓损伤的用药时间窗探讨

万 勇¹, 徐 磊², 梁堂钊¹, 谢显彪¹, 龙光华¹, 李佛保¹

(1 中山大学附属第一医院脊柱外科 510080 广州市; 2 安徽省人民医院骨科 230001 合肥市)

【摘要】目的:探讨腹腔注射重组人红细胞生成素(rHuEPO)治疗大鼠急性脊髓损伤(ASCI)的用药时间窗。**方法:**采用显微血管夹夹伤雌性 SD 大鼠 T10 脊髓建立脊髓急性损伤模型,将造模成功后的 40 只大鼠随机分为 A、B、C、D、E 组,每组 8 只。A、B、C、D 组分别于损伤后即刻、1h、3h 和 6h 腹腔注射 rHuEPO 5000IU/kg, E 组损伤后立即腹腔注射等量生理盐水,作为对照组。各组大鼠于术后 1d、3d、5d、7d 进行 BBB 运动学评分,并于术后 3d、7d 用 TUNEL 染色和 caspase-3 免疫组化染色法检测各组大鼠脊髓神经细胞凋亡情况。**结果:**术后 1d、3d 各组大鼠 BBB 评分无统计学差异($P>0.05$); 5d 时 A、B、C 三组 BBB 评分均高于 D、E 两组($P<0.01$), A、B、C 三组间与 D、E 组间无统计学差异($P>0.05$); 7d 时 D 组 BBB 评分高于 E 组($P<0.01$), 但低于 A、B、C 三组($P<0.01$), 而 A、B、C 三组间无统计学差异($P>0.05$)。损伤后 3d、7d, A~D 组的 TUNEL、caspase-3 染色阳性细胞均高于 E 组, 且损伤后 7d 时 D 组 TUNEL 染色阳性细胞数高于 A、B、C 三组($P<0.05$), A、B、C 三组间无统计学差异; 损伤后 3d, D 组 caspase-3 染色细胞阳性率高于 A、B、C 三组($P<0.05$), A、B、C 三组间无统计学差异($P>0.05$), 损伤后 7d, A~D 组间无统计学差异($P>0.05$)。**结论:**大鼠 ASCI 后 3h 内给予 rHuEPO 可以显著改善运动功能恢复情况, 并抑制伤后脊髓神经细胞凋亡现象的发生; 伤后 6h 给药效果较差。

【关键词】急性脊髓损伤; 重组人红细胞生成素; 治疗; 细胞凋亡; 大鼠

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2010.09.15

中图分类号: R683.2, R965.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2010)-09-0759-06

Effect of recombinant human erythropoietin administrated at different time point on neurofunction recovery after acute SCI: an experimental study on rat model/WAN Yong, XU Lei, LIANG Tangzhao, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2010, 20(9): 759-764

【Abstract】Objective: To identify the effect of recombinant human erythropoietin (rHuEPO) administrated at different time point on neurofunction recovery after SCI. **Method:** An acute spinal cord injury (ASCI) animal model was induced by clip of T10 spinal cord. After ASCI, forty female rats were randomly divided into five groups with eight rats in each group. Groups A, B, C and D received 5000IU/kg of rHuEPO by intraperitoneal injection at 0 min, 1 hour, 3 hours and 6 hours after ASCI respectively, with single dose for each group. Group E received the same dose of saline solution immediately after ASCI. BBB motor function score was recorded at 4 post-injury time points (1, 3, 5, 7 days), and TUNEL staining and anti-active caspase-3 staining was used to evaluate the cell apoptosis at 3, 7 days after injury. **Result:** BBB score at 1 day and 3 days among each group showed no difference ($P>0.05$), while at 5 days after injury, BBB score of group A, B and C were higher than that of group D and E ($P<0.01$). No significant intergroup difference were noted among group A, B, C and group D, E ($P>0.05$). At 7 days after injury, BBB score of group D was higher than group E ($P<0.01$), while lower than group A, B and C ($P<0.01$), and no difference were noted among group A, B and C ($P>0.05$). At 3 and 7 days after injury, the number of TUNEL-positive cells in group A, B and C was significantly less than those in group E ($P<0.01$), and TUNEL-positive cells in group D were more than those in group A, B and C at 7 days after injury ($P<0.05$), no difference were noted among group A, B and C ($P>0.05$). Caspase-3 positive cells in group D were more than those in group A, B and C at 3 days after injury

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (编号: 06021294)

第一作者简介: 男 (1965-), 副教授, 医学博士, 研究方向: 脊柱肿瘤、创伤和退变性疾病

电话: (020) 87755766-8898 E-mail: liangyuzhaowang@163.com

($P < 0.05$), while no difference were noted among group A, B and C ($P > 0.05$). At 7 days after injury, no difference were noted among group A, B, C and D ($P > 0.05$) with regard to caspase-3 positive cells ($P < 0.05$).

Conclusion: Administration of rHuEPO within 3 hours after ASCI can significantly improve motor function and inhibit neuron apoptosis, while this effect remains fair when administered over 6 hours after ASCI.

【Key words】 Acute spinal cord injury; Recombinant human erythropoietin; Pharmacotherapy; Apoptosis; Rat

【Author's address】 Department of Spine Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou, 510080, China

急性脊髓损伤(acute spinal cord injury, ASCI)是常见的外伤及脊柱外科手术严重并发症,至今仍缺乏有效的治疗措施。探索快速有效的药物治疗一直是 ASCI 的研究热点。近 10 年来,重组人红细胞生成素(recombinant human erythropoietin, rHuEPO)对脑缺血和急性脊髓损伤后神经元功能的保护作用得到证实^[1-6]。Brines 等^[1]的研究表明, rHuEPO 治疗脑缺血存在 6h 的起效时间窗。但其对急性脊髓损伤(ASCI)后的脊髓神经元保护作用如何,是否也同样存在起效时间窗目前尚无相关研究。本研究对 ASCI 大鼠在损伤后不同时间点腹腔注射 rHuEPO, 观察大鼠后肢运动功能及脊髓神经细胞凋亡情况, 旨在探讨 rHuEPO 对 ASCI 后脊髓神经元保护作用的用药时间窗。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

rHuEPO 注射液(10000IU/支, 沈阳三生制药, 国药准字 S20010001), 多聚甲醛(北京化学试剂公司), TUNEL 试剂盒, 兔抗大鼠 caspase-3 多克隆抗体, 即用型 SABC 试剂盒, DAB 显色试剂盒(均为武汉博士德生物制品有限公司产品), 显微血管夹(宁波市成和显微器械厂)。

1.2 动物模型建立及分组

清洁级雌性 SD 大鼠, 体重(200 ± 20)g, 由中山大学动物实验中心提供。腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉大鼠, 咬除 T10 椎板至双侧椎弓根, 暴露硬脊膜。用通过等变形测定受力为 1.2N 的相同规格显微血管夹夹伤 T10 脊髓, 1min 后松开血管夹。将造模成功的 40 只大鼠随机分为 5 组(A~E 组), 每组 8 只。A~D 组分别于 ASCI 后立即、1h、3h、6h 腹腔注射 rHuEPO (5000IU/kg); E 组 ASCI 后即予等量生理盐水腹腔注射, 作为对照组。

1.3 行为学评价方法

于术前, 术后 1d、3d、5d 和 7d 对 5 组大鼠行 BBB 运动功能评分, 1d、3d 每组 8 只, 5d、7d 每组

4 只。由 3 位熟悉评分标准但非本实验参加者进行评分。

1.4 细胞凋亡检测

损伤后 3d、7d 时各取 4 只大鼠, 用水合氯醛(6ml/kg)腹腔内注射麻醉后, 打开胸腔, 以 7 号半输液器针头插入大鼠左心房直至主动脉内, 剪开右心耳, 生理盐水 100ml 快速灌注心脏, 再以 4% 多聚甲醛快速灌注约 15min 后, 控制滴速(20 滴/min)再灌注 3h。心脏灌注固定后, 将完整的脊髓组织剥离, 取出伤段脊髓头尾端各 2cm, 用磷酸缓冲液(PBS)清洗组织后, 置于 4% 多聚甲醛中保存。常规石蜡包埋, 以损伤处为中心上下各 3mm 小心横断脊髓成上、中、下三段, 以该横断面为观察面, 各取连续切片 2 张, 片厚 5 μ m, 制作石蜡切片, 分别作 TUNEL 染色和 SABC 法行 caspase-3 免疫组织化学染色观察细胞凋亡情况。每个切片选取脊髓灰质区 10 个不重叠的视野($\times 400$)观察, 用 Image-Pro Plus 5.1 软件分析其阳性细胞率。TUNEL 染色细胞核中有棕黄或棕褐色颗粒者为阳性细胞, 即凋亡细胞。caspase-3 免疫组织化学染色细胞内见棕黄色颗粒者为阳性细胞。

1.5 统计学分析

数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 应用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析(ANOVA), 并用 SNK 法完成各组间均值的两两比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

脊髓损伤前大鼠 BBB 评分均为 21 分, 术后各时间点 BBB 评分见表 1。术后 1d 天和 3d 时各组之间的评分差异无统计学意义($P > 0.05$); 5d 时 B 组评分高于 A 组 ($P < 0.05$), A、C 组间和 B、C 组间无统计学差异 ($P > 0.05$), D 组和 E 组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), A、B、C 三组评分无统计学差异, 但均高于 D、E 组 ($P < 0.05$); 7d 时 A、B、C、D 组评分均优于 E 组 ($P < 0.05$), A、B、C 组评分高

表 1 术后 1、3、5、7d 时各组大鼠 BBB 评分

			($\bar{x} \pm s$)	
	术后 1d (n=8)	术后 3d (n=8)	术后 5d (n=4)	术后 7d (n=4)
0h 给药(A 组)	0	1.50±1.05	4.33±0.58 ^{①②③}	9.00±1.01 ^②
1h 给药(B 组)	0	1.67±0.52	6.33±0.58 ^{①②}	7.67±1.53 ^{①②}
3h 给药(C 组)	0	1.33±1.21	4.67±1.16 ^{①②}	7.67±1.16 ^{①②}
6h 给药(D 组)	0	1.00±0.89	2.33±0.57	4.33±0.58 ^①
对照组(E 组)	0	0.33±0.52	1.33±1.16	1.67±0.58

注:①与 E 组比较 $P<0.01$;②与 D 组比较 $P<0.05$;③与 B 组比较 $P<0.05$

于 D 组($P<0.05$), A、B、C 组间无统计学意义($P>0.05$)。说明 6h 给药在损伤后 5d 时疗效不明显, 7d 时较对照组有所改善, 但效果较前 3 组差。

镜下可见损伤范围固定, 损伤段脊髓变细, 有大量坏死, 囊腔及空洞形成, 周围有炎性细胞浸润, 胶质细胞增生, 白质区有部分正常结构, 脊髓灰-白质界限尚清楚。TUNEL 染色显示脊髓损伤后凋亡现象明显, 各组术后 3d 棕褐色凋亡细胞较 7d 多。阳性细胞多位于脊髓前、后角。术后 3d 和 7d 时 A~D 组凋亡细胞数明显少于 E 组 ($P<0.01$)。3d 时 D 组凋亡细胞数较 B 组多($P<0.05$), A、B、C 组间和 A、C、D 组间无统计学差异 ($P>0.05$)。术后 7d 时, A~C 组凋亡细胞数较 D 组少 ($P<0.05$), A、B、C 组间无明显差异 ($P>0.05$) (图 1、2, 表 2)。

Caspase-3 免疫组化染色显示损伤脊髓组织

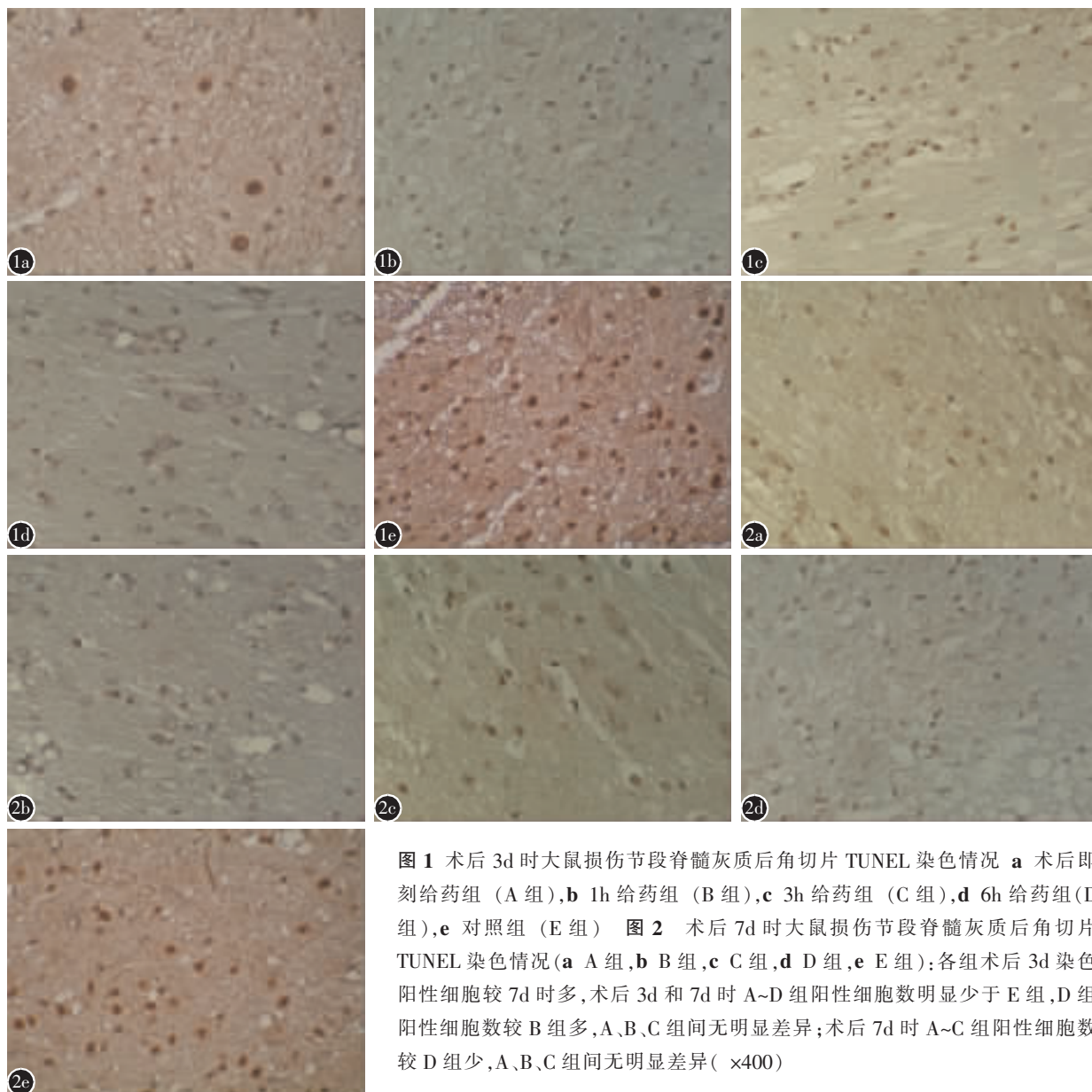


图 1 术后 3d 时大鼠损伤节段脊髓灰质后角切片 TUNEL 染色情况 a 术后即刻给药组 (A 组), b 1h 给药组 (B 组), c 3h 给药组 (C 组), d 6h 给药组 (D 组), e 对照组 (E 组) 图 2 术后 7d 时大鼠损伤节段脊髓灰质后角切片 TUNEL 染色情况 (a A 组, b B 组, c C 组, d D 组, e E 组): 各组术后 3d 染色阳性细胞较 7d 时多, 术后 3d 和 7d 时 A~D 组阳性细胞数明显少于 E 组, D 组阳性细胞数较 B 组多, A、B、C 组间无明显差异; 术后 7d 时 A~C 组阳性细胞数较 D 组少, A、B、C 组间无明显差异 ($\times 400$)

中均可观察到内含棕黄色颗粒的细胞,着色部位同 TUNEL 基本一致,可见于神经元细胞和少突胶质细胞,多位于脊髓前、后角。同 TUNEL 表现相似,各组 7d 时的凋亡细胞阳性率比 3d 减少,且

各治疗组均较对照组低 ($P<0.05$),A-D 组间无统计学意义($P>0.05$),3d 时 D 组的凋亡细胞阳性率较 A~C 组高 ($P<0.05$),A、B、C 组间无明显差异 ($P>0.05$)(图 3、4,表 3)。

表 2 术后 3、7d 时各组 TUNEL 阳性细胞数
($\bar{x}\pm s, n=4$)

	术后 3d	术后 7d
0h 给药(A 组)	25.0±5.34 ^①	15.6±6.82 ^{①②}
1h 给药(B 组)	22.1±9.02 ^{①②}	20.6±5.96 ^{①②}
3h 给药(C 组)	26.7±10.33 ^①	17.3±4.66 ^{①②}
6h 给药(D 组)	37.6±13.53 ^①	30.2±7.71 ^①
对照组(E 组)	68.6±15.41	44.9±11.57

注:①与 E 组比较 $P<0.05$;②与 D 组比较 $P<0.05$

表 3 术后 3、7d 时各组 caspase-3 阳性率
($\bar{x}\pm s, n=4, \%$)

分组	术后 3d	术后 7d
即刻给药(A 组)	22.3±7.30 ^{①②}	17.1±5.18 ^①
1h 给药(B 组)	24.1±9.25 ^{①②}	15.6±2.40 ^①
3h 给药(C 组)	22.0±5.34 ^{①②}	15.0±4.47 ^①
6h 给药(D 组)	31.4±6.65 ^①	21.4±2.54 ^①
对照组(E 组)	55.4±8.86	42.4±8.99

注:①与 E 组比较 $P<0.05$;②与 D 组比较 $P<0.05$

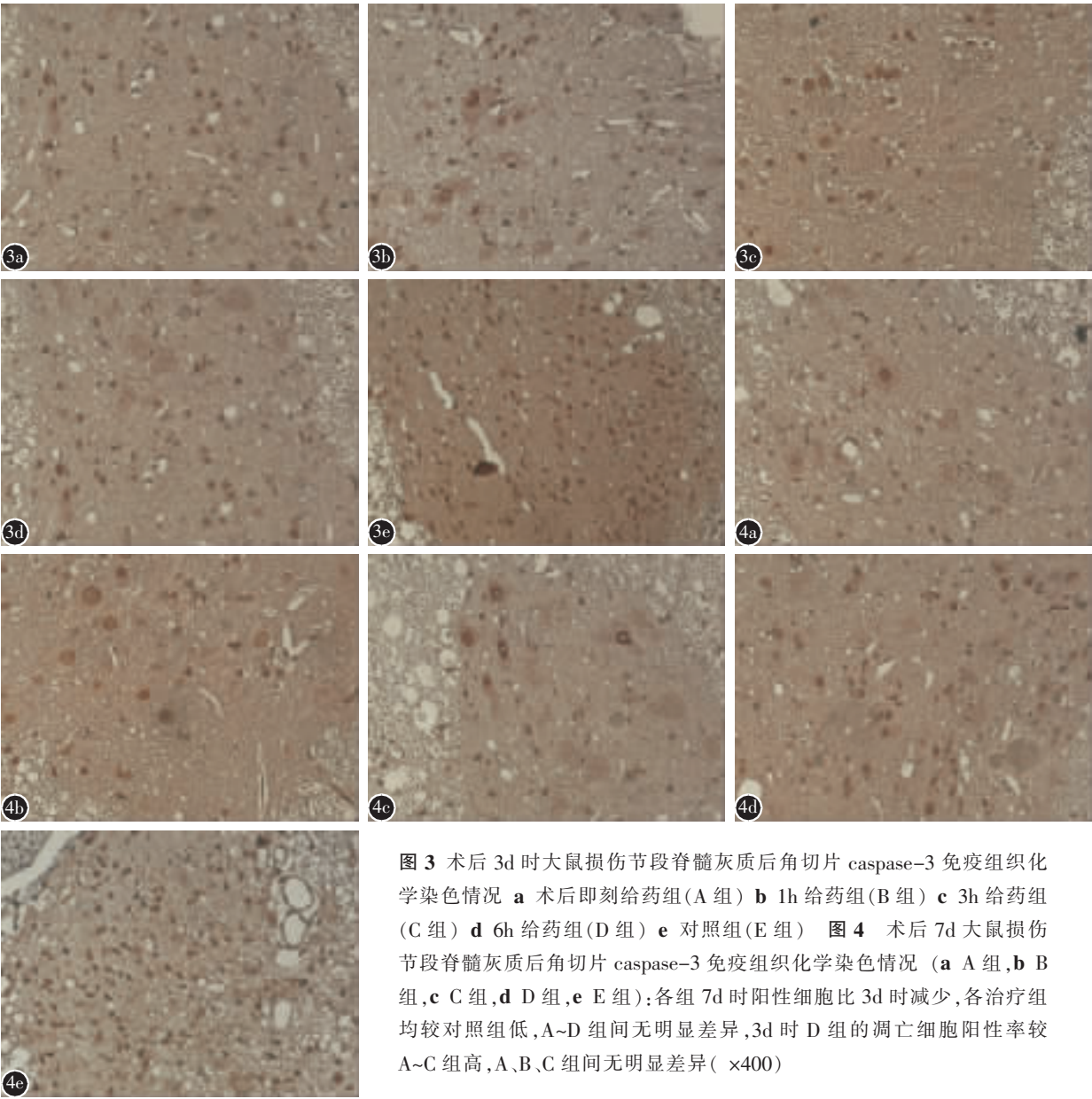


图 3 术后 3d 时大鼠损伤节段脊髓灰质后角切片 caspase-3 免疫组织化学染色情况 a 术后即刻给药组(A 组) b 1h 给药组(B 组) c 3h 给药组(C 组) d 6h 给药组(D 组) e 对照组(E 组) 图 4 术后 7d 大鼠损伤节段脊髓灰质后角切片 caspase-3 免疫组织化学染色情况 (a A 组, b B 组, c C 组, d D 组, e E 组);各组 7d 时阳性细胞比 3d 时减少,各治疗组均较对照组低,A~D 组间无明显差异,3d 时 D 组的凋亡细胞阳性率较 A~C 组高,A、B、C 组间无明显差异(×400)

3 讨论

rHuEPO 是一种多效应细胞因子,对多种组织如心肌组织、毛细血管内皮细胞、肾脏管状上皮细胞以及中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 等均具有保护作用^[1,7,8]。其神经保护功效在多种动物的多种 CNS 疾病模型如脑缺血模型、蛛网膜下腔血肿模型、实验性自身免疫性脑脊髓炎模型和急性脊髓损伤模型等得到验证^[9,10]。

有研究证实脑外伤应用 EPO 的治疗时间窗为 6h^[1],治疗 ASCI 是否也存在起效时间窗尚不清楚。本研究通过对大鼠 ASCI 模型不同时间点局部注射 rHuEPO,观察其后肢运动功能恢复及脊髓神经细胞凋亡情况,探讨 rHuEPO 用于 ASCI 的用药时间窗。采用短暂性血管夹夹伤脊髓模型,即利用显微血管夹固定的闭合力,造成大鼠 T10 脊髓损伤,可重复性高^[2,11]。所有大鼠在造模后第 1 天 BBB 评分均为 0 分,说明动物模型建立成功。

TUNEL 和 caspase-3 免疫组织化学染色结果均显示,各组大鼠脊髓损伤后 3d 脊髓内凋亡细胞较多,7d 时各组均较前减少,和 Arishima 等^[12]及 Nakahara 等^[13]的报道相似。他们认为凋亡细胞在脊髓损伤后 24h 开始增多,3d 达到高峰,随后逐渐减少,直至第 7d。目前多数学者认为脊髓损伤后神经细胞凋亡是引起脊髓坏死和神经功能丧失的重要原因,细胞凋亡是脊髓损伤后继发性损伤所致,而 EPO 可以通过降低 caspase-3 表达来抑制凋亡,保护 ASCI 后的神经细胞^[14]。还有研究表明 ASCI 后,4h 内中性粒细胞已经聚集在血管周围,在伤后 8~24h 达到高峰^[15]。Agnello 等^[16]研究表明 EPO 可以减弱大鼠 ASCI 后的白细胞浸润。Yang 等^[15]的研究表明,ASCI 时促炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 高表达,TNF- α 作为主要的炎症因子,可以增强白细胞的增殖分裂,而 EPO 则通过抑制 TNF- α 和促进 IL-10 的表达来抑制凋亡^[17]。EPO 还可以抑制 IL-6 来减弱诱导型一氧化氮合成酶 (iNOS) 的活性来减轻脊髓继发性损伤,促进神经恢复^[18]。

本研究 BBB 评分结果表明,损伤后 6h 给药组在伤后 7d 时虽然可以改善大鼠后肢运动功能,但相比于即刻给药组、1h 给药组和 3h 给药组疗效明显较差。在伤后 7d 时,立即给药组、1h 给药组和 3h 给药组的凋亡细胞数比 6h 给药组明显减少;伤后 3d 时,caspase-3 染色结果显示 6h 给药

组的凋亡细胞阳性率比即刻给药组、1h 给药组和 3h 给药组高。这也提示 6h 给药组的疗效较即刻给药组、1h 给药组和 3h 给药组差。由此推断,rHuEPO 用于 ASCI 也存在时间窗。其原因可能是:(1)药代动力学因素和血脑屏障的存在^[1,19,20]:rHuEPO 通过与其受体 EPOR 结合通过血脑屏障,随着外周血药浓度的提高,损伤局部 rHuEPO 达到其有效浓度需要一定的时间。药代动力学显示外周性给予 rHuEPO 后 18h 脑内血药浓度达到峰值,而外伤患者仅为 4h,提示了血脑屏障的存在^[21]。脑损伤后 12~24h 炎症因子如白介素 1 β (IL-1 β)、巨噬细胞炎症蛋白 2 (MIP-2)^[21]、凝血酶敏感素-2 (TSP-1)、转化生长因子 β (TGF- β)^[22] 表达达到高峰,由此推断必需在 6h 内给药方能在炎症高峰期达到脑内血药浓度,而且越快越好。我们的研究结果也证实了这一点。(2)rHuEPO 的神经保护功能需要激活一些基因并表达蛋白,因此需要一定的时间,或者是“潜伏期”。Siren 等^[23]研究表明,rHuEPO 可以上调神经细胞上 B 细胞淋巴瘤/白血病-X 基因长片段 (Bcl-XL) 的表达,抑制细胞凋亡。Viviani 等^[24]的研究证明 rHuEPO 能诱发神经细胞出现短暂性 Ca²⁺内流,并通过激活 Ca²⁺敏感性转录因子 (CREB) 来上调脑源性神经营养因子 (BDNF) 的表达。因此,外周性给予 rHuEPO 到达中枢神经系统损伤局部并发挥神经保护功效需要一定的时间。

4 参考文献

1. Siren AL, Fasshauer T, Bartels C, et al. Therapeutic potential of erythropoietin and its structural or functional variants in the nervous system[J]. *Neurotherapeutics*, 2009, 6(1): 108-127.
2. Kontogeorgakos VA, Voulgaris S, Korompilias AV, et al. The efficacy of erythropoietin on acute spinal cord injury: an experimental study on a rat model [J]. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2009, 129(2): 189-194.
3. Fumagalli F, Madaschi L, Brenna P, et al. Single exposure to erythropoietin modulates nerve growth factor expression in the spinal cord following traumatic injury: comparison with methylprednisolone[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 578(1): 19-27.
4. 王金光, 郑启新, 郭晓东. 重组人红细胞生成素与 β -七叶皂甙钠治疗大鼠脊髓损伤的实验研究[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2003, 13(11): 673-677.
5. Lapchak PA. Carbamylated erythropoietin to treat neuronal injury: new development strategies[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2008, 17(8): 1175-1186.
6. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, et al. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain

- injury[J].Proc Natl Acad Sci,2009,97(19):10526-10531.
7. Comin-Colet J,Ruiz S,Cladellas M,et al.A pilot evaluation of the long-term effect of combined therapy with intravenous iron sucrose and erythropoietin in elderly patients with advanced chronic heart failure and cardio-renal anemia syndrome;influence on neurohormonal activation and clinical outcomes[J].J Card Fail,2009,15(9):727-735.
 8. Ksiazek P, Ksiazek A. Can human recombinant erythropoietin (rHuEPO) be considered as cardiological medicine[J]?Przegl Lek,2005,62(Suppl 2):22-25.
 9. 张为,申勇,丁文元,等.促红细胞生成素对实验性脊髓损伤治疗作用的研究进展[J].中国脊柱脊髓杂志,2005,15(5):311-313.
 10. Matis GK,Birbilis TA.Erythropoietin in spinal cord injury[J].Eur Spine J,2009,18(3):314-323.
 11. Poon PC,Gupta D,Shoichet MS,et al.Clip compression model is useful for thoracic spinal cord injuries;histologic and functional correlates[J].Spine,2007,32(25):2853-2859.
 12. Arishima Y,Setoguchi T,Yamaura I,et al.Preventive effect of erythropoietin on spinal cord cell apoptosis following acute traumatic injury in rats[J].Spine,2006,31(21):2432-2438.
 13. Nakahara S,Yone K,Sakou T, et al. Induction of apoptosis signal regulating kinase 1(ASK1) after spinal cord injury in rats: possible involvement of ASK1-JNK and -p38 pathways in neuronal apoptosis [J].J Neuropathol Exp Neurol,1999,58(5):442-450.
 14. Okutan O,Solaroglu I,Beskonakli E,et al. Recombinant human erythropoietin decreases myeloperoxidase and caspase-3 activity and improves early functional results after spinal cord injury in rats[J].J Clin Neurosci,2007,14(4):364-368.
 15. Yang L,Blumbergs PC,Jones NR,et al. Early expression and cellular localization of proinflammatory cytokines interleukin-1 β ,interleukin -6,and tumor necrosis factor - α in human traumatic spinal cord injury[J].Spine,2004,29(9):966-971.
 16. Agnello D,Bigini P,Villa P, et al. Erythropoietin exerts an anti-inflammatory effect on the CNS in a model of experimental autoimmune encephalomyelitis [J].Brain Res,2002,952(1):128-134.
 17. Tuna M,Polat S,Erman T, et al. Effect of anti-rat interleukin-6 antibody after spinal cord injury in the rat:inducible nitric oxide synthase expression,sodium-and potassium-activated,magnesium-dependent adenosine-5'-triphosphatase and superoxide dismutase activation,and ultrastructural changes[J].J Neurosurg Spine,2001,95(1 Suppl):64-73.
 18. Okada S,Nakamura M,Mikami Y, et al. Blockade of interleukin-6 receptor suppresses reactive astrogliosis and ameliorates functional recovery in experimental spinal cord injury [J].J Neurosci Res,2004,76(2):265-276.
 19. Banks WA,Jumbe NL,Farrell CL,et al.Passage of erythropoietic agents across the blood-brain barrier;a comparison of human and murine erythropoietin and the analog darbepoetin alfa[J].Eur J Pharmacol,2004,505(1-3):93-101.
 20. Statler PA,McPherson RJ,Bauer LA,et al. Pharmacokinetics of high-dose recombinant erythropoietin in plasma and brain of neonatal rats[J].Pediatr Res,2007,61(6):671-675.
 21. Lieutaud T,Andrews PJ,Rhodes JK,et al. Characterization of the pharmacokinetics of human recombinant erythropoietin in blood and brain when administered immediately after lateral fluid percussion brain injury and its pharmacodynamic effects on IL-1 β and MIP-2 in rats [J].J Neurotrauma,2008,25(10):1179-1185.
 22. Fang XQ,Fang M,Fan SW,et al. Protection of erythropoietin on experimental spinal cord injury by reducing the expression of thrombospondin-1 and transforming growth factor-beta[J].Chin Med J (Engl),2009,122(14):1631-1635.
 23. Siren AL,Fratelli M,Brines M,et al. Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and in metabolic stress[J].Proc Natl Acad Sci,2001,98(7):4044-4049.
 24. Viviani B,Bartesaghi S,Corsini E, et al. Erythropoietin protects primary hippocampal neurons increasing the expression of brain-derived neurotrophic factor[J].J Neurochem,2005,93(2):412-421.
- (收稿日期:2009-12-16 修回日期:2010-05-26)
(英文编审 蒋欣/郭万首)
(本文编辑 卢庆霞)

消息

第三届全国脊柱非融合与融合新技术研讨班通知

国际脊柱功能重建学会中国分会(SASCB)、《中国脊柱脊髓杂志》编辑部、中国人民解放军海军总医院、中国人民解放军空军总医院、中国人民解放军总参总医院定于 2010 年 10 月 15~17 日在北京联合举办第三届全国脊柱非融合与融合新技术研讨班。届时将邀请国内该领域著名专家和学者一起探讨脊柱非融合与融合领域的基本理论,重点介绍临床应用技术及最新进展,并针对临床疑难问题及病例开展讨论。主要包括:人工椎间盘置换、同种异体椎间盘置换、椎间关节成形术、棘突间动态固定、各种脊柱前路融合等技术和要点。研讨班将安排专门时间进行病例讨论及争论性发言,欢迎各位参会代表携带病例进行交流讨论。参会者可获得国家级一类继续教育学分。报名方式:欢迎以 E-mail 方式和手机短信报名。报名时请注明姓名、性别、职称、单位、联系电话、详细通讯地址、E-mail 地址等。研讨班会务费:800 元,食宿统一安排,费用自理。联系人:北京海军总医院骨科 何勃(13381207186 ,E-mail:bjheqing@sina.com),冀桂珍(010-68780323, E-mail:nghortho@yahoo.com.cn)。