

【药效学评价】

草质素苷对香烟烟雾所致慢性阻塞性肺疾病大鼠治疗作用及主要作用机制研究

刘巨旗, 朱艺欣, 刘光金*

延安大学附属医院东关心脑血管专科病区 药剂科, 陕西 延安 716000

摘要: 目的 探讨草质素苷对香烟烟雾所致慢性阻塞性肺疾病(COPD)大鼠治疗作用及主要作用机制。方法 将40只Wistar大鼠随机分为对照组、模型组和草质素苷低、高剂量(50、100 mg/kg)组,除对照组外,其余各组大鼠采用香烟熏法制备COPD模型,连续烟熏30 d,并于每日烟熏结束1 h后,对各组大鼠进行ig给药处理。末次给药后24 h,取大鼠左右侧肺组织,采用HE染色观察大鼠左侧部分肺组织病理学变化;取另一份左侧肺组织,制备组织匀浆,试剂盒法检测过氧化氢酶(CAT)、血红素加氧酶(HO-1)、8-羟基脱氧鸟苷(8-OHDG)及髓过氧化物酶(MPO)含量。取右侧肺组织,平均分为4份,采用免疫组化法观察其中嗜酸性粒细胞趋化因子(Eotaxin)、嗜酸性粒细胞蛋白(ECP)、巨噬细胞炎症蛋白-1 α (MIP-1 α)及淀粉样蛋白A(SAA)炎症因子的阳性表达情况,并观察相对表达量。结果 HE染色结果显示,草质素苷低、高剂量组大鼠肺组织中肺泡间隔变薄及炎症细胞浸润等病理变化程度均不及模型组;与模型组比较,草质素苷低、高剂量组大鼠肺组织匀浆中CAT、HO-1含量均显著升高,8-OHDG、MPO含量则均显著降低($P<0.05$)。免疫组化检测结果表明,草质素苷低、高剂量组大鼠Eotaxin、ECP、MIP-1 α 及SAA的阳性表达程度均不及模型组,且蛋白的相对表达量均明显降低($P<0.05$)。结论 草质素苷对香烟烟雾所致COPD具有较好的保护作用,主要机制可能与其抗氧化及抗炎活性有关。

关键词: 草质素苷; 香烟; 慢性阻塞性肺疾病; 抗氧化; 抗炎

中图分类号: R962.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2019)04-0606-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.04.002

Protective effects and primary mechanisms of rhodionin at cigarette smoke induced chronic obstructive pulmonary disease in rats

LIU Juqi, ZHU Yixin, LIU Guangjin

Department of Pharmacy, Dongguan Cardio-Cerebrovascular Speciality Ward, Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, China

Abstract: **Objective** To study the protective effects and primary mechanisms of rhodionin in the cigarette smoke induced chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in rats. **Methods** Totally 40 Wistar rats were randomly divided into control group, model group, rhodionin low and high dose (50 and 100 mg/kg) group. The method of cigarette smoke was used to establish the model in the groups except control group for consecutive 30 d. The low dose group and high dose group were treated by rhodionin with the dose of 50 mg/kg and 100 mg/kg and other groups were treated by saline everyday 1 h after the cigarette smoke was given. The lung were obtained in the groups 24 h after the last treatment. Then the histopathological changes in part of left lung in the rats were observed by HE staining. The tissue homogenate of other part of left lung was performed; The levels of catalase (CAT), heme oxygenase (HO-1), 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHDG) and myeloperoxidase (MPO) were detected. The right lung was divided into four parts and the immunohistochemistry was performed to observe the expression of eotaxin, eosinophilic cationic protein (ECP), macrophage inflammatory protein-1 (MIP-1 α) and amyloid protein A (SAA) and the relative transcript levels of those proteins were observed. **Results** Histopathological results showed that the alveolar septum thinning and inflammatory cell infiltration in low dose group and

收稿日期: 2018-06-09

基金项目: 陕西省中医管理局中医药科研课题(15-LC064)

第一作者: 刘巨旗(1969—), 陕西咸阳, 专科, 主管药师, 研究方向为药物的机制研究与临床治疗。

*通信作者: 刘光金, 男(1972—), 本科, 副主任药师。E-mail: ydfyLiuguangjin@163.com

high dose group were significantly improved than model group. Compared with the model group, the levels of CAT and HO-1 were significantly increased, while 8-OHdG and MPO levels were significantly decreased in high dose group and low dose group ($P < 0.05$). Immunohistochemical staining indicated that, compared with the model group, the positive expression of eotaxin, ECP, MIP-1 α and SAA in high dose group and low dose group were significantly lower ($P < 0.05$). The results of semi-quantitative analysis show that, the relative transcript levels of eotaxin, ECP, MIP-1 α and SAA in high dose group and low dose group were significantly lower than model group ($P < 0.05$). **Conclusion** Rhodionin could promote the cigarette smoke induced chronic obstructive pulmonary disease in rats and the primary mechanism may be the effect of the compound has good anti-oxidant and anti-inflammatory activities.

Key words: rhodionin; cigarette smoke; chronic obstructive pulmonary disease; antioxidant; anti-inflammation

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是以气流受限不完全可逆为主要特征的呼吸系统疾病之一,具有发病率高、治疗难度大及死亡率高等特点,已成为严重威胁人类生命健康的重要公共卫生问题^[1-2]。诸多研究结果证实,吸烟是造成COPD的主要因素之一,香烟烟雾不仅可刺激肺部细胞合成大量核变形白细胞,引起呼吸道氧化应激损伤,还能够造成周围血管内皮损伤,最终导致严重的肺部损伤,加剧COPD的发展^[3-4]。由此可见,如何对香烟烟雾所致COPD展开行之有效的治疗是临床亟需解决的重大课题。近年来,中药复方制剂及中药单体化合物因较好的疗效被大量用于COPD等多种呼吸系统疾病的治疗^[5]。草质素苷是一种提取自景天科植物大花红景天干燥根及根茎的中药单体化合物,有清热润肺、滋补强壮等功效^[6]。尽管有部分研究结果显示,草质素苷对于哮喘等呼吸系统疾病具有较好的效果,但关于其用于香烟烟雾所致COPD的研究未见报道。本研究观察了草质素苷对香烟烟雾所致COPD的治疗作用,以期为该天然产物的临床新应用提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级Wistar雄性大鼠40只,体质量(210 $\pm$ 15)g,由西安交通大学科研实验中心提供,并由该中心代饲养,动物实验设施使用证编号SCXK(甘)2017-16-0471,实验动物质量合格证编号SCXK(陕)2017-4832。本研究开展前,对所有大鼠进行7d的适应性喂养,喂养条件为12h昼夜、55%湿度、自由饮水饮食、标准饲料及室温等,正式研究时条件与适应性喂养一致。

1.2 药品与主要试剂

香烟(好猫牌;陕西宝鸡卷烟厂;尼古丁0.9mg/支;焦油12mg/支;烟气一氧化碳量13mg/支);草质素苷(美国Sigma公司,批号0998231);一抗嗜酸性粒细胞趋化因子(Eotaxin)、嗜酸性阳离子蛋

白(ECP)、巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α)及淀粉样蛋白A(SAA)抗体(美国Sigma公司,批号分别为08902131、10920392、08982123、24891831)。Eotaxin、ECP、MIP-1 α 及SAA二抗(美国Sigma公司,批号分别为48790231、48990234、11909384、19039384);过氧化氢酶(CAT)、血红素加氧酶(HO-1)、8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)及髓过氧化物酶(MPO)检测试剂盒(美国Sigma公司,批号分别为46734572、47847947、99579438及35795741);苏木精-伊红(HE)染色所需染色液均购自武汉安达科技有限公司(批号2017118723)。

1.3 主要仪器

LY-21型石蜡切片机(德国社安得生物科技有限公司);HY-867型奥林匹斯显微照相仪及Image-proplus 6.0显微图像分析软件(日本Olympus公司);GH-8型烟熏箱(规格0.5m $\times$ 0.5m $\times$ 0.5m;美国安义生物技术有限公司);高速离心机(OP-90型,美国安文安捷生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 造模及给药方法

Wistar大鼠随机分为对照组、模型组和草质素苷低、高剂量(50、100mg/kg)组,每组10只。按照文献^[7]中方法制备香烟烟雾所致COPD大鼠模型:除对照组外,将其余各组大鼠置于烟熏箱中,被动吸烟10支/次,1h/次,1次/d,连续烟熏30d,每日烟熏结束1h后,对各组大鼠进行ig给药处理,对照及模型组均ig给予等量生理盐水。

2.2 标本处理及检测方法

末次给药后24h,采用颈椎脱臼法处死各组大鼠,取左右侧肺组织,保存于-80℃冰箱中待检测。取左侧肺,将其平均分为2份,取其中1份,依次进行10%甲醛溶液固定、脱水、浸蜡处理、透明、石蜡包埋及切片,并采用HE染色观察大鼠肺组织病理组织学变化情况;取另一份左侧肺组织,采用玻璃匀浆器制备组织匀浆,采用高速离心机分离组织匀

浆液(3 000 r/min 离心 5 min),取上清,采用酶联免疫双抗体法检测其中 8-OHdG、CAT、MPO 及 HO-1 含量。取右侧肺组织,平均分为 4 份,依次采用切片、脱蜡、水化、一抗结合、抗原修复、二抗结合、复染及封片处理,根据试剂盒说明书中方法对 Eotaxin、ECP、MIP-1 α 及 SAA 等炎症因子进行免疫组化处理,并采用光学显微镜观察其阳性表达情况,并利用图像采集系统进行拍照,采用 Image-proplus 6.0 图像分析软件观察大鼠肺组织中 Eotaxin、ECP、MIP-1 α 及 SAA 的相对表达量。

2.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验进行两两比较,采用方差分析进行多组比较。

3 结果

3.1 草质素苷对大鼠肺组织病理学表现的影响

HE 染色结果显示,对照组大鼠肺组织中肺泡间隔正常、肺泡结构清晰且无充血及炎症细胞浸润;模型组大鼠肺组织中肺泡间隔明显变薄,相邻肺泡存在广泛性融合等肺气肿表现,肺泡间隔中成纤维细胞明显增多,肺泡内存在明显充血及炎症细胞浸润。草质素苷低、高剂量组大鼠肺组织中肺泡间隔呈现一定程度的变薄、相邻肺泡未见广泛性融合,肺泡内存在一定的炎症细胞浸润,但病理变化情况均不及模型组。见图 1。

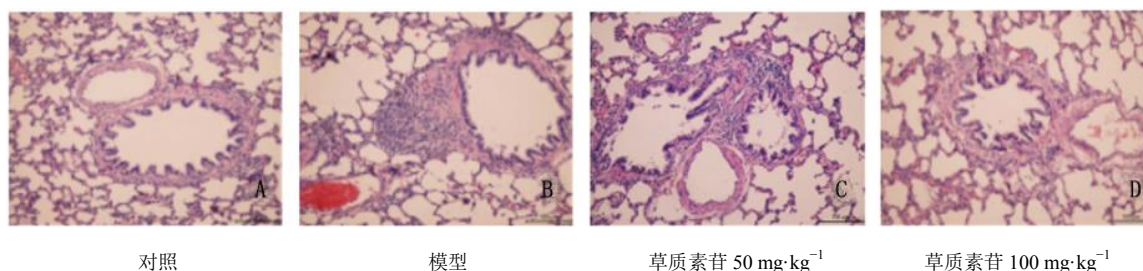


图 1 草质素苷对大鼠肺组织病理学表现的影响(HE 染色, $\times 200$)

Fig. 1 Effect of rhodionin on histopathological manifestations of lung in rats (HE dyeing, $\times 200$)

表 1 草质素苷对大鼠肺组织氧化应激指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effects of rhodionin on oxidative stress indicators in lung tissues of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	CAT/(U·mL ⁻¹)	HO-1/(ng·mL ⁻¹)	8-OHDG/(mg·L ⁻¹)	MPO/(U·mL ⁻¹)
对照	—	8.56 $\pm$ 0.85	11.21 $\pm$ 1.13	1.45 $\pm$ 0.14	3.56 $\pm$ 0.34
模型	—	1.78 $\pm$ 0.17 [#]	2.57 $\pm$ 0.23 [#]	6.78 $\pm$ 0.68 [#]	12.24 $\pm$ 1.25 [#]
草质素苷	50	3.66 $\pm$ 0.39 [*]	6.24 $\pm$ 0.67 [*]	4.56 $\pm$ 0.43 [*]	7.90 $\pm$ 0.78 [*]
	100	5.82 $\pm$ 0.53 [*]	8.89 $\pm$ 0.87 [*]	2.46 $\pm$ 0.25 [*]	5.73 $\pm$ 0.56 [*]

与对照组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

3.2 草质素苷对大鼠肺组织氧化应激指标的影响

与对照组比较,模型组大鼠肺组织匀浆中 CAT、HO-1 含量均显著降低,8-OHDG、MPO 含量均显著增高($P < 0.05$);与模型组比较,草质素苷低、高剂量组大鼠肺组织匀浆中 CAT、HO-1 含量均显著增高,8-OHDG、MPO 含量均显著降低($P < 0.05$)。见表 1。

3.3 草质素苷对大鼠肺组织炎症因子表达的影响

免疫组化检测结果表明,模型组大鼠肺组织中 Eotaxin、ECP、MIP-1 α 、SAA 均呈现强阳性表达,对照组则仅偶有阳性表达,草质素苷低、高剂量组大鼠中上述炎症因子均有不同程度的阳性表达,但其表达程度均不及模型组,见图 2。半定量分析结果表明,与对照组比较,模型组大鼠肺组织 Eotaxin、ECP、MIP-1 α 、SAA 蛋白相对表达量均明显增高($P < 0.05$);与模型组比较,草质素苷低、高剂量组大鼠肺组织 Eotaxin、ECP、MIP-1 α 及 SAA 相对表达量均明显降低($P < 0.05$);见表 2。

4 讨论

COPD 是临床发病率最高的呼吸系统疾病之一,治疗不及时可造成患者出现呼吸困难、二氧化碳潴留及缺氧等临床症状,严重甚至可危及患者生命^[8]。目前,临床对于 COPD 的发病机制仍未研究清楚,但有自身免疫系统紊乱、蛋白酶-抗蛋白酶失调、氧化应激紊乱及炎症反应等多种假说被提出,

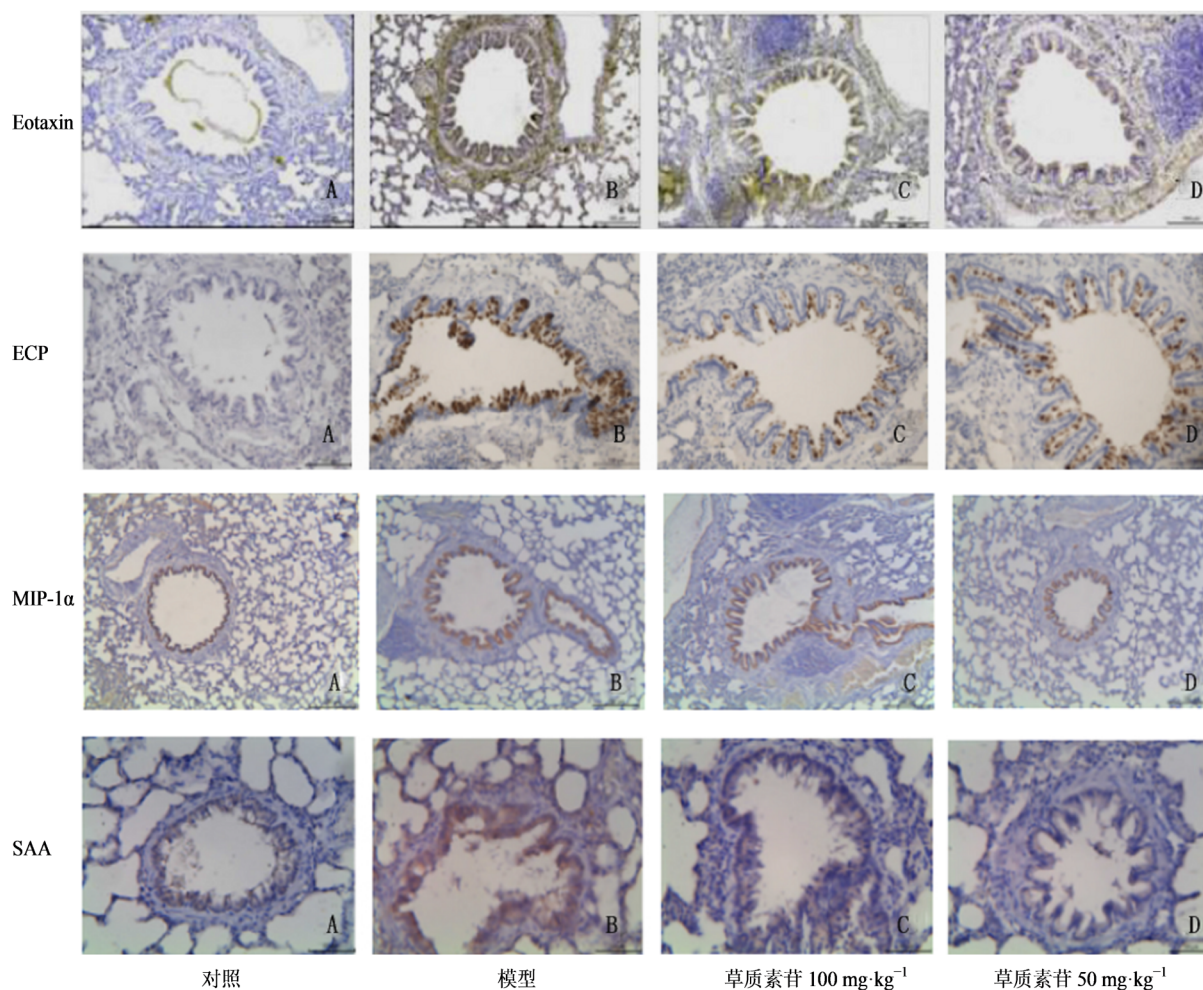


图2 草质素苷对大鼠肺组织 Eotaxin、ECP、MIP-1 α 、SAA 蛋白表达情况的影响(免疫组化, SP 法, 200 $\times$)

Fig. 2 Effects of rhodionin on expression of Eotaxin, ECP, MIP-1 α and SAA in rat lung tissue (immunohistochemistry, SP method, 200 $\times$)

表2 草质素苷对大鼠肺组织炎症因子表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of rhodionin on expression of inflammatory factors in lung tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Eotaxin 相对表达量	ECP 相对表达量	MIP-1 α 相对表达量	SAA 相对表达量
对照	—	5.34 $\pm$ 0.67	5.98 $\pm$ 0.69	3.74 $\pm$ 0.31	6.89 $\pm$ 0.62
模型	—	100.00 $\pm$ 0.00 [#]	100.00 $\pm$ 0.00 [#]	100.00 $\pm$ 0.00 [#]	100.00 $\pm$ 0.00 [#]
草质素苷	100	34.67 $\pm$ 3.46 [*]	37.48 $\pm$ 3.75 [*]	29.56 $\pm$ 2.93 [*]	31.45 $\pm$ 3.15 [*]
	50	47.45 $\pm$ 4.37 [*]	49.24 $\pm$ 4.93 [*]	44.78 $\pm$ 4.38 [*]	51.46 $\pm$ 5.26 [*]

与对照组比较:[#] $P < 0.05$; 与模型组比较:^{*} $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

其中多数临床证据显示,涉及巨噬细胞及中性粒细胞等多种炎症细胞的呼吸道慢性炎症反应可能是引发 COPD 的重要因素^[9]。大量临床研究结果证实,吸烟是 COPD 的主要危险因素之一,而吸烟者出现 COPD 的发病率是未吸烟者的 12 倍,且超过 90% 的 COPD 患者具有吸烟史,即使是对于肺功能正常且无症状的吸烟者而言,其外周气道、中央气道、肺

泡及肺血管中仍可观察到严重的炎症改变,故吸烟可对 COPD 的发生及发展产生明显影响,且吸烟时间越长、吸烟量越大,吸烟者出现 COPD 的概率也越高^[10-11]。由此可见,如何对吸烟所引起的 COPD 展开行之有效的治疗是临床亟需解决的一大课题。

香烟烟雾所致 COPD 模型是该疾病研究中的经典模型,具有造模期间实验动物死亡率低、造模成

功率高及方法简单等优点,故被广泛用于 COPD 的新药研发及发病机制研究^[12]。本研究结果表明,模型组大鼠接受香烟烟雾处理后全部出现肺部病理学变化且无大鼠死亡,再次证明该模型的可靠性及稳定性。草质素苷主要提取自景天科植物大花红景天的干燥根和根茎,具有较好的滋补强壮,清热润肺的功效^[13]。现代药学研究结果显示,草质素苷能够有效改善哮喘大鼠的肺功能,其主要机制可能与该化合物具有较好的抗氧化及抗炎活性有关^[14]。尽管临床已对草质素苷治疗多种呼吸系统疾病展开了一定的研究,但对于其抗 COPD 的研究则基本未见开展,鉴于草质素苷具有较强的抗氧化及抗炎的活性基础,本研究采用香烟烟雾所致 COPD 模型作为研究对象,观察了草质素苷对 COPD 大鼠的治疗作用,并通过检测其对肺部氧化应激及炎症因子的影响来探讨该药物的作用机制,期望为草质素苷的新临床应用提供一定的依据。

研究结果表明,CAT 是催化局部过氧化氢的主要酶,可有效改善过氧化氢所导致的肾脏损伤^[15];HO-1 则具有较强的抗氧化活性,能够防止呼吸道上皮细胞及肺血管内皮细胞因香烟所引起的氧化性损伤^[16];8-OHdG 是活性氧攻击肺部细胞 DNA 分子的鸟嘌呤碱基而合成的氧化性代谢产物,是反映呼吸道细胞 DNA 氧化损伤的主要标志物之一^[17];MPO 可催化肺部产生大量硝基酪氨酸等氧化剂,造成肺部局部抗氧化防御机制失调,最终引起氧化应激性损伤^[18]。另有研究结果显示,Eotaxin 能够加剧嗜酸性粒细胞及中性粒细胞对肺间质的趋化作用,从而加剧肺部组织损伤^[19];ECP 则可诱导肺部嗜酸性粒细胞及肥大细胞释放组胺,引起局部水肿;而 MIP-1 α 则能够促进肥大细胞等炎症细胞的浸润作用,从而促进局部炎症反应^[20];SAA 能够有效反映 COPD 患者呼吸道炎症程度,是一种特异性炎症因子^[21]。

本研究中,草质素苷高、低剂量组大鼠肺组织中肺泡间隔变薄及炎症细胞浸润等病理变化均不及模型组,提示草质素苷可有效改善香烟烟雾所致 COPD 大鼠肺部病变。进一步研究结果表明,草质素苷高、低剂量组大鼠肺组织中 CAT、HO-1 含量明显高于模型组,而 8-OHdG、MPO 含量均明显低于模型组,且 Eotaxin、ECP、MIP-1 α 及 SAA 等炎症因子表达量均明显低于模型组,提示草质素苷具有较强的抗炎及抗氧化活性,此作用可能是该化合物可改善香烟烟雾所致 COPD 大鼠肺部病理变化的的主

要机制。

草质素苷对香烟烟雾所致 COPD 大鼠肺部病变具有较好的改善作用,其主要机制可能与该化合物的抗炎及抗氧化活性密切相关。本研究对于草质素苷的具体作用机制的探讨不够深入,有待于更进一步研究。

参考文献

- [1] 吴亮亮,颜春松.慢性阻塞性肺疾病并发症研究进展[J].中国老年学,2016,36(16):4127-4130.
- [2] 孙倩倩.慢性阻塞性肺疾病合并症研究进展[J].安徽医学,2017,38(5):668-671.
- [3] 谢娟,张莹,张山,等.吸烟对老年慢性阻塞性肺疾病患者ICS/LABA治疗疗效的影响[J].中国临床医学,2016,23(1):34-37.
- [4] 梁建华.长期吸烟慢性阻塞性肺疾病患者炎症因子表达水平与体质指数的相关性研究[J].国际呼吸杂志,2016,36(19):1454-1457.
- [5] 闫香桂,吴国芳,黄芬,等.中医药治疗稳定期慢性阻塞性肺疾病研究进展[J].中医学报,2016,31(9):1284-1288.
- [6] 李青,宋志前,曾林燕,等.大花红景天中草质素苷含量分析[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(2):114-115.
- [7] 孙敬方.动物实验方法学[M].人民卫生出版社,2001,198-201.
- [8] 赵莹,唐文慧,韩丽丽,等.慢性阻塞性肺疾病患者吸烟和戒烟状况初析[J].首都医科大学学报,2016,37(5):579-582.
- [9] 陈刘通,廖晨,涂洪波,等.吸烟及全身炎症反应与慢性阻塞性肺疾病患者中发生肺动脉高压的相关性研究[J].第三军医大学学报,2016,38(11):1293-1296.
- [10] 阎萍,张纳新,曾金洁,等.吸烟对慢性阻塞性肺疾病患者炎症反应及和肽素水平的影响[J].中国老年学,2016,36(15):3754-3756.
- [11] 王飞,周苑频,夏建军,等.吸烟与慢性阻塞性肺疾病患者肺部结构改变的相关性[J].临床肺科杂志,2018,23(1):17-20.
- [12] 张兰英,张婧,欧阳瑶.烟熏诱导慢性阻塞性肺疾病小鼠模型的建立及验证[J].山东医药,2016,56(32):35-38.
- [13] 乔燕,刘学波.草质素体外清除自由基及抑制蛋白质氧化的作用[J].食品科学,2013,34(17):106-110.
- [14] Li T, Zhang H. Identification and comparative determination of rhodionin in traditional tibetan medicinal plants of fourteen *Rhodiola* species by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection and electrospray ionization-mass spectrometry[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2008, 56(6): 807-814.

- [15] 于德玲, 王昌留. 过氧化氢酶的研究进展 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2016, 25(2): 189-194.
- [16] Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, et al. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism [J]. Cell Mol Life Sci, 2016, 73(17): 3221-3247.
- [17] 朴恩谊, 徐立红. 8-OHdG在医学领域的应用与研究进展 [J]. 中国细胞生物学学报, 2012, 34(5): 493-499.
- [18] 李安宁, 吴越, 姚振, 等. 基于髓过氧化物酶的分子探针成像研究进展 [J]. 放射学实践, 2017, 32(9): 984-989.
- [19] Ahmadi Z, Hassanshahi G, Khorramdelazad H, et al. An overlook to the characteristics and roles played by eotaxin network in the pathophysiology of food allergies: allergic asthma and atopic dermatitis [J]. Inflammation, 2016, 39(3):1253-1267.
- [21] Rojas-Dotor S, Segura-Méndez N H, Miyagui-Namikawa K, et al. Expression of resistin, CXCR3, IP-10, CCR5 and MIP-1 α in obese patients with different severity of asthma [J]. Biol Res, 2013, 46(1): 13-20.
- [22] Madsen A M, Thilsing T, Belum J, et al. Occupational exposure levels of bioaerosol components are associated with serum levels of the acute phase protein Serum Amyloid A in greenhouse workers [J]. Environ Health, 2016, 20(15): 9.

(上接第605页)

- postoperative pain in patients undergoing lower limb surgery [J]. J Pain Res, 2017, 10: 2471-2477.
- [19] Yadav G, Jain G, Singh M. Role of flupirtine in reducing preoperative anxiety of patients undergoing craniotomy procedure [J]. Saudi J Anaesth, 2017, 11(2): 158-162.
- [20] Scheurer MCJ-F. DEGAM (German College of General Practitioners and Family Physicians) S1 Handlungsempfehlung Nackenschmerzen June 2016 [S].
- [21] Pohl M. S2k-Leitlinie Zervikale Radikulopathie. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie 2017, AWMF Registernummer: 030/082 [S].
- [22] Glocker F X. Lumbale Radikulopathie. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie 2012; AWMF Registernummer: 030/058 [S].
- [23] Bauer J, Böhle E, Bork H. Leitlinie zur konservativen - und rehabilitativen Versorgung bei Bandscheibenverfall mit radikulärer Symptomatik. Deutsche Gesellschaft für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie (DGOOC) 2014, AWMF Register Nr. 033/048 [S].
- [24] Bundesärztekammer (BÄK) KBK, Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF). Nationale Versorgungs Leitlinie Nicht-spezifischer Kreuzschmerz - Langfassung, 2. Auflage. Version 1. 2017 [S].
- [25] Wiffen P J, Derry S, Moore R A. Tramadol with or without paracetamol (acetaminophen) for cancer pain [J]. Cochr Data Syst Rev, 2017(5). DOI: 10.1002/14651858.CD012508.pub2.
- [26] Straube A. Therapie des episodischen und chronischen Kopfschmerzes vom Spannungstyp und anderer chronischer täglicher Kopfschmerzen. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie 2014; AWMF-Registernummer: 030/077 [S].
- [27] 科达得龙(马来酸氟吡汀胶囊)说明书 [EB/OL]. (2012-11-23)[2019-02-14]. <https://www.baiji.com.cn/goods-8369.html>.
- [28] 成都苑东生物制药股份有限公司. 马来酸氟吡汀胶囊 [EB/OL]. (2016-02-05)[2019-02-14]. <https://www.jianke.com/product/849889.html>.