

· 实验研究 ·

右美托咪定预处理减轻脑缺血-再灌注后的
脑局部炎症反应

张燕 田婕 何振洲 王震虹

【摘要】目的 利用大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型观察右美托咪定预处理减轻脑炎症反应的机制。**方法** 雄性 SD 大鼠 42 只, 体重 220~250 g, 随机分为七组, 每组 6 只: 假手术组(S 组): 大鼠不做任何干预, 只分离一侧颈动脉; MCAO 组(M 组): 阻断一侧颈内动脉血流, 缺血 90 min; D10 组: MCAO 前 30 min 腹腔注射右美托咪定 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$; D50 组: MCAO 前 30 min 腹腔注射右美托咪定 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$; D100 组: MCAO 前 30 min 腹腔注射右美托咪定 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$; DY 组: 腹腔注射右美托咪定 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 前 10 min 给予育亨宾 5 mg/kg; Y 组: MCAO 前 40 min 腹腔注射育亨宾 5 mg/kg。MCAO 后 24 h 采用 TTC 染色法测定脑梗死面积, 神经功能评分法评定脑损伤程度。采用 TUNEL 染色法评估大脑皮层细胞凋亡情况, 采用 Western blot 法检测 AMPK 和磷酸化 AMPK(pAMPK)蛋白含量, 并计算 pAMPK/AMPK 值; 采用 ELISA 法检测脑组织中肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和白细胞介素 1 β (IL-1 β) 含量。缺血-再灌注后第 1、2、5 天评估运动功能。**结果** 与 S 组比较, M 组神经功能评分、脑组织中 TNF- α 和 IL-1 β 含量明显升高, 梗死面积、凋亡细胞数明显增加, 运动功能评分明显降低($P < 0.01$)。与 M 组比较, D10、D50 和 D100 组神经功能评分、脑组织中 TNF- α 和 IL-1 β 含量明显降低, 梗死面积、凋亡细胞数明显减少, pAMPK/AMPK 值、运动功能评分明显升高($P < 0.05$); D50 和 D100 组上述指标改变较 D10 组更为明显($P < 0.05$)。与 D50 组比较, DY 和 Y 组 pAMPK/AMPK 值明显降低($P < 0.01$)。**结论** MCAO 后右美托咪定预处理可以通过激活 AMPK 减轻脑缺血后炎症反应, 保护脑组织, 改善脑功能, 并且高剂量右美托咪定较低剂量的效应更为明显。采用 α_2 肾上腺素能受体拮抗药育亨宾可阻断右美托咪定的这些效应。

【关键词】 右美托咪定; 脑缺血-再灌注; 脑炎症反应

Dexmedetomidine pretreatment attenuates the local inflammation of the cerebral induced by cerebral ischemia-reperfusion ZHANG Yan, TIAN Jie, HE Zhenzhou, WANG Zhenhong. Department of Anesthesiology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China

Corresponding author: WANG Zhenhong, Email: 18621625707@163.com

【Abstract】Objective To observe the mechanism of dexmedetomidine pretreatment alleviating inflammation after a middle cerebral artery occlusion (MCAO) in rats. **Methods** Forty-two male Sprague-Dawley rats, weighing 220-250 g, were assigned into seven experimental groups, 6 in each group. Sham-operation group (group S) only received unilateral isolation of the carotid artery, group MCAO (group M) was blocked one side of internal carotid artery for 90 min, group D10 (dexmedetomidine 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, intraperitoneal injection 30 min before MCAO), group D50 (dexmedetomidine 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, intraperitoneal injection 30 min before MCAO), group D100 (dexmedetomidine 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, intraperitoneal injection 30 min before MCAO), group DY (yohimbine 5 mg/kg, 10 min before dexmedetomidine 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ administrated), group Y (yohimbine 5 mg/kg, intraperitoneal injection 40 min before MCAO). TTC staining was used to determine the area of cerebral infarction and neurological deficit score was used to assess the degree of brain damage 24 h after MCAO. Apoptosis in cortex was histologically assessed using the TUNEL staining method while Western blotting was used to investigate changes in the contents of AMPK and phospho-AMPK (pAMPK) and the rate of pAMPK to AMPK (pAMPK/AMPK) in ischemia cortex was calculated. In addition, concentrations of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin (IL-1 β) were analyzed by ELISA. On the 1st, 2nd

DOI:10.12089/jca.2018.06.017

作者单位: 200127 上海市, 上海交通大学医学院附属仁济医院麻醉科

通信作者: 王震虹, Email: 18621625707@163.com

and 5th day post ischemia reperfusion, the motor function was assessed by a blinded observer.

Results The neurological deficit scores, inflammation (pro-inflammatory cytokines including TNF- α , IL-1 β) levels, the injury area, the number of apoptotic neurons increased and the score of motor function was significantly reduced in group M compared with group S ($P < 0.01$). The neurological deficit scores, levels of TNF- α and IL-1 β , the injury area, the number of apoptotic neurons decreased, and the value of pAMPK/AMPK increased in groups D10, D50 and D100 compared with group M ($P < 0.01$). Additionally, the effect was remarkable in group D50 and D100 compared with group D10 ($P < 0.05$). The value of pAMPK/AMPK was decreased in groups DY and Y compared with group D50 ($P < 0.01$). **Conclusion** These findings suggest that precondition of dexmedetomidine exerted anti-inflammatory effects after MCAO, and the activation of AMPK may be involved in the mechanism, moreover, these effects are more evident in the high dose dexmedetomidine than in the lower dose. Co-administration with yohimbine abolished these effects of dexmedetomidine.

【Key words】 Dexmedetomidine; Cerebral ischemia-reperfusion; Cerebral inflammation

缺血性脑卒中是人类主要死因之一,其发病率和死亡率均增高^[1]。脑缺血后可引起炎症爆发,导致组织损伤和功能障碍^[2]。最新的研究表明,能量代谢障碍参与炎症反应是引起脑缺血损伤的一个重要途径^[3]。单磷酸腺苷(AMP)作为能量代谢通路中的关键核苷酸,控制着整个机体的能量代谢,AMP 蛋白激酶(AMPK)的活性(AMP/ATP 比值)可以作为衡量细胞能量水平的指标^[4]。在病理状态下,AMPK 在神经功能方面起到重要作用^[5]。苏氨酸 172 (Thr172) 磷酸化引发缺血来激活 AMPK^[6]。研究表明,AMPK 的激活对全脑缺血及局灶性脑缺血均有一定的保护作用^[7]。

右美托咪定对包括脑组织在内的不同组织的缺血-再灌注损伤有保护作用^[8],对脓毒症大鼠^[9]和缺血损伤后大鼠^[10]均发挥抗炎作用。然而到目前为止,右美托咪定减轻缺血引起的炎症反应的机制尚未阐明。右美托咪定的抗炎作用是否和 AMPK 的激活有关还未阐明,本实验利用大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型观察右美托咪定预处理减轻大鼠脑炎症反应的机制。

材料与方 法

实验材料与试剂 右美托咪定(批号:16040232)、育亨宾(批号:Y-016-161216)、2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)、戊巴比妥钠。AMPK 和 ELISA 试剂盒抗体、兔抗山羊、山羊抗兔和山羊抗鼠二次抗体。

实验动物与分组 雄性 SD 大鼠 42 只,体重 220~250 g,购自上海交通大学实验动物中心,饲养环境为 12 h/12 h 的光/暗周期,湿度(60±5)%,温度(22±2)℃。大鼠可自主获取水和食物,所有操作程序均按照国家卫生研究院的标准。将 SD 大

鼠随机分为七组,每组 6 只。S 组(假手术组):大鼠不做任何干预,只分离一侧颈动脉;MCAO 组(M 组),阻断一侧颈内动脉血流,缺血 90 min;D10 组:MCAO 前 30 min 腹腔注射右美托咪定 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (溶于生理盐水稀释至 0.25 ml);D50 组:MCAO 前 30 min 腹腔注射右美托咪定 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (溶于生理盐水稀释至 0.25 ml);D100 组:MCAO 前 30 min 腹腔注射右美托咪定 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (溶于生理盐水稀释至 0.25 ml);DY50 组:MCAO 前 40 min 腹腔注射 α_2 肾上腺素能受体拮抗药育亨宾 5 mg/kg(溶于乙醇稀释至 0.25 ml),MCAO 前 30 min 腹腔注射右美托咪定 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (溶于生理盐水稀释至 0.25 ml);Y 组:MCAO 前 40 min 腹腔注射育亨宾 5 mg/kg(溶于乙醇稀释至 0.25 ml)。

MCAO 模型的建立 腹腔注射 3%戊巴比妥钠 50 mg/kg 麻醉大鼠,采用线栓法阻断大鼠一侧颈内动脉血流(分离一侧颈总动脉,切开后向上置入尼龙丝线至颈内动脉,直至感到有阻力为止),约 90 min 后,拔除尼龙线栓开始再灌注,扎紧动脉、缝合,完成缺血-再灌注损伤模型。在整个手术使用过程中使用加热毯和加热灯维持肛温 37℃。

神经功能评分的判定 参照 Bederson 等^[11]评分法进行神经功能缺损评估:0 分,无神经功能缺失;1 分,病灶对侧前爪屈曲;2 分,瘫痪侧不能够对抗来自对侧的推力;3 分,行走时转圈;4 分,摇动或行走时向瘫痪侧倾倒;5 分,神志恍惚或意识丧失。

脑组织梗死体积的测定 脑缺血-再灌注后 24 h 取大鼠脑组织,-20℃冰箱中速冻 20 min 左右,用于切片。沿冠状面切成每片约 2 mm 的脑片 5 片。将脑组织放入 2% TTC 溶液 4 ml 中,避光,37℃温浴 30 min。将脑片置于 10%甲醛溶液中固定。彩色胶卷自然光下拍照,由电子计算机

HPIAS-1000 高清晰度彩色病理图文报告分析系统测出大脑面积、半球面积、梗死灶面积,并根据公式 $V=t(A1+\dots+An)-(A1+An)t/2$ 算出梗死体积。其中 t 为切片厚度, A 为梗死面积。

脑组织 TNF- α 和 IL-1 β 含量的检测 大鼠脑缺血-再灌注后 24 h, 取缺血区脑组织, 采用 ELISA 法检测炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 含量。

脑组织 AMPK 蛋白含量的检测 大鼠脑缺血-再灌注后 24 h, 取缺血区脑组织, 采用 Western blot 法检测脑缺血区的 AMPK 蛋白含量和 Thr172 磷酸化 AMPK(pAMPK, AMPK 活化形式) 含量, 并计算 pAMPK/AMPK 值。

脑组织凋亡的检测 大鼠脑缺血-再灌注后 24 h, 取缺血区脑组织, 采用荧光 TUNEL 双染法检测神经细胞凋亡程度。采用 TUNEL 阳性细胞百分比表示细胞凋亡率。

运动功能的测试 术后第 1、2、5 天, 将大鼠放置在垂直网络板上记录掉落时间(爬板实验), 然后放在平衡木上记录保持平衡的时间(平衡木), 最后为大鼠悬挂在尼龙绳上的时间(悬挂测试)。每项测试的总分为 3 分, 3 项总分为 9 分。

统计分析 采用 GraphPad Prism 5.0 进行数据分析。正态分布计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用单因素方差分析, 组内比较采用重复测量数据方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

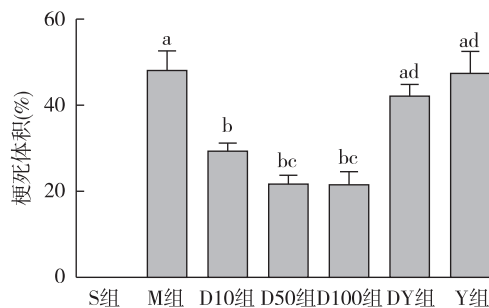
神经功能评分 D10、D50 和 D100 组神经功能评分明显低于 M 组 ($P < 0.01$)。D50 和 D100 组神经功能评分明显低于 D10 组 ($P < 0.05$)。DY 组神经功能评分明显高于 D50 组 ($P < 0.01$)。M 和 Y 组神经功能评分差异无统计学意义(表 1)。

表 1 七组大鼠神经功能评分的比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	神经功能评分
S 组	6	0
M 组	6	3.7 \pm 0.5 ^a
D10 组	6	2.7 \pm 0.5 ^{ab}
D50 组	6	1.7 \pm 0.5 ^{abc}
D100 组	6	1.7 \pm 0.8 ^{abc}
DY 组	6	3.5 \pm 0.6 ^a
Y 组	6	3.5 \pm 0.6 ^a

注:与 S 组比较, ^a $P < 0.01$; 与 M 组比较, ^b $P < 0.01$; 与 D10 组比较, ^c $P < 0.05$; 与 D50 组比较, ^d $P < 0.05$

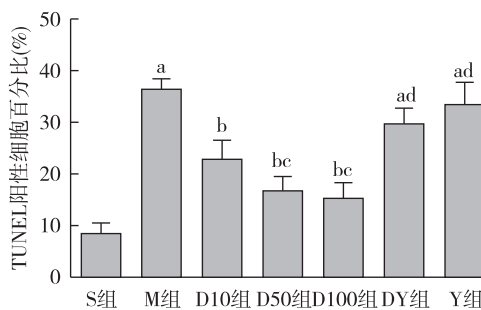
脑组织梗死体积 D10、D50 和 D100 组梗死体积明显小于 M 组 ($P < 0.01$)。D50 和 D100 组梗死体积明显小于 D10 组 ($P < 0.05$)。DY 和 Y 组梗死体积明显大于 D50 组 ($P < 0.01$)。M 和 Y 组梗死体积差异无统计学意义(图 1)。



注:与 S 组比较, ^a $P < 0.01$; 与 M 组比较, ^b $P < 0.01$; 与 D10 组比较, ^c $P < 0.05$; 与 D50 组比较, ^d $P < 0.05$

图 1 七组大鼠脑组织梗死体积的比较

脑组织细胞凋亡率 M 组 TUNEL 阳性细胞明显多于 S 组 ($P < 0.01$)。D10、D50 和 D100 组 TUNEL 阳性细胞明显少于 M 组 ($P < 0.01$)。D50 和 D100 组 TUNEL 阳性细胞数明显少于 D10 组 ($P < 0.05$)。DY 和 Y 组 TUNEL 阳性细胞数明显多于 D50 组 ($P < 0.05$)。M 和 Y 组 TUNEL 阳性细胞数差异无统计学意义(图 2)。

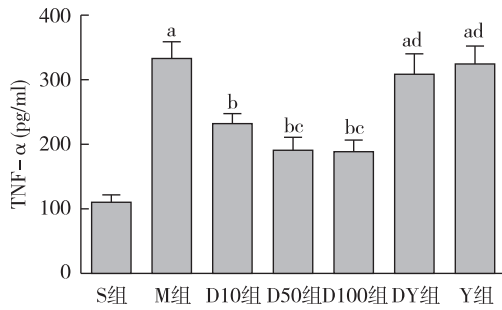


注:与 S 组比较, ^a $P < 0.01$; 与 M 组比较, ^b $P < 0.01$; 与 D10 组比较, ^c $P < 0.05$; 与 D50 组比较, ^d $P < 0.05$

图 2 七组大鼠脑组织凋亡率的比较

脑组织 TNF- α 、IL-1 β 含量 M 组 TNF- α 、IL-1 β 含量明显高于 S 组 ($P < 0.05$)。D10、D50 和 D100 组 TNF- α 和 IL-1 β 含量明显低于 M 组 ($P < 0.01$)。D50 和 D100 组 TNF- α 和 IL-1 β 含量明显低于 D10 组 ($P < 0.05$)。DY 和 Y 组 TNF- α 和 IL-1 β 含量明显高于 D50 组 ($P < 0.05$)。M 和 Y 组 TNF- α 、IL-1 β 含量差异无统计学意义(图 3, 4)。

脑组织 pAMPK 和 AMPK 蛋白含量 与 M 组



注:与 S 组比较,^a $P < 0.01$;与 M 组比较,^b $P < 0.01$;与 D10 组比较,^c $P < 0.05$;与 D50 组比较,^d $P < 0.05$

图 3 七组大鼠脑组织 TNF- α 含量的比较

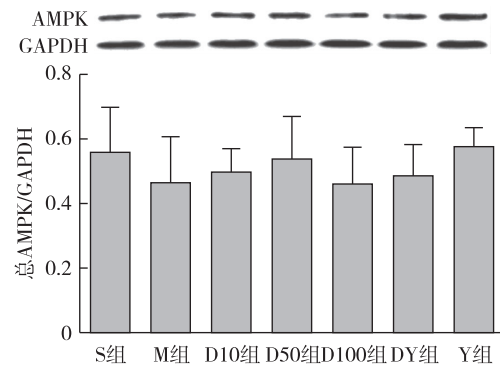
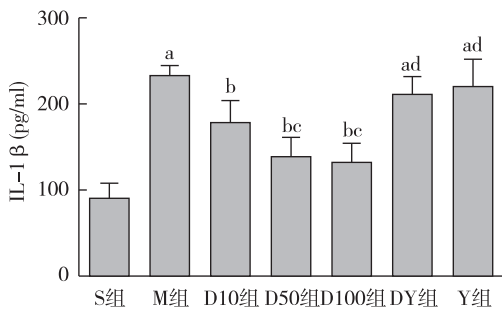


图 6 七组大鼠 AMPK 蛋白含量的比较

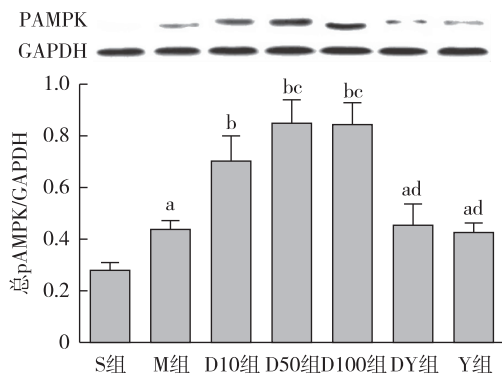


注:与 S 组比较,^a $P < 0.01$;与 M 组比较,^b $P < 0.01$;与 D10 组比较,^c $P < 0.05$;与 D50 组比较,^d $P < 0.05$

图 4 七组大鼠脑组织 IL-1 β 含量的比较

比较, D10、D50、D100 组 pAMPK 含量明显增加($P < 0.01$), AMPK 含量差异无统计学意义(图 5, 6)。

D50 和 D100 组 pAMPK/AMPK 值明显高于 D10 组($P < 0.05$)。DY 和 Y 组 pAMPK/AMPK 值明显低于 D50 组($P < 0.01$), M 组和 Y 组 pAMPK/AMPK 值差异无统计学意义。



注:与 S 组比较,^a $P < 0.01$;与 M 组比较,^b $P < 0.01$;与 D10 组比较,^c $P < 0.05$;与 D50 组比较,^d $P < 0.05$

图 5 七组大鼠 pAMPK 蛋白含量的比较

运动功能 缺血后第 1~5 天, M 组运动功能评分明显低于 S 组($P < 0.01$), D10、D50 和 D100 组运动功能评分明显高于 M 组($P < 0.01$)。D50 和 D100 组运动功能评分明显高于 D10 组($P < 0.05$)。D50 组运动功能评分明显高于 DY 组($P < 0.05$)。M 组和 Y 组运动功能评分差异无统计学意义(表 2)。

表 2 七组大鼠缺血后不同时点运动功能评分的比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	第 1 天	第 2 天	第 5 天
S 组	6	9.0	9.0	9.0
M 组	6	4.0 \pm 0.9 ^a	3.3 \pm 0.8 ^a	3.8 \pm 0.8 ^a
D10 组	6	6.0 \pm 1.1 ^b	6.3 \pm 0.8 ^b	6.7 \pm 0.8 ^b
D50 组	6	7.7 \pm 0.8 ^{bc}	8.0 \pm 0.9 ^{bc}	8.3 \pm 0.9 ^{bc}
D100 组	6	7.8 \pm 0.8 ^{bc}	8.3 \pm 1.3 ^{bc}	8.6 \pm 0.8 ^{bc}
DY 组	6	5.3 \pm 1.0 ^d	4.3 \pm 1.1 ^d	4.6 \pm 1.0 ^d
Y 组	6	4.3 \pm 0.8	4.5 \pm 0.8	4.7 \pm 1.0

注:与 S 组比较,^a $P < 0.01$;与 M 组比较,^b $P < 0.01$;与 D10 组比较,^c $P < 0.05$;与 D50 组比较,^d $P < 0.05$

讨 论

右美托咪定是一种高选择性 α_2 肾上腺素能受体激动药, 具有镇静、抗焦虑、镇痛、抗交感神经活性作用。本研究显示, 右美托咪定预处理可以有效减轻大鼠 MCAO 引起的脑损伤, 明显减轻脑缺血坏死面积, 改善行为学评分; 并且明显抑制缺血后脑皮质的细胞凋亡改善大鼠术后运动功能。此外本研究还观察不同剂量的右美托咪定的作用差异, 发现不同剂量的右美托咪定均有脑保护作用, 而且高剂量右美托咪定(50, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$)的作用较低剂

量(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)更为明显。

近年来已证实炎症反应是诱发脑缺血-再灌注后损伤的重要因素之一^[15], 缓解脑缺血后再灌注引起的炎性过程已经成为目前探索治疗脑缺血的重要研究目标。本研究采用大鼠 MCAO 模型探究右美托咪定预处理对脑缺血后炎症反应的作用。结果显示右美托咪定预处理可以明显降低 MCAO 后 24 h 大鼠脑皮质中 TNF- α 和 IL-1 β 含量, 抑制炎症反应。此外本研究验证了不同剂量右美托咪定对炎症的效应, 发现高剂量右美托咪定较低剂量抗炎作用更加明显。

AMPK 是真核生物广泛存在的能量敏感性蛋白激酶, 在炎症过程中扮演着重要的角色, 激活的 AMPK(Thr172 磷酸化)可明显抑制炎症因子的水平^[13]。本研究首次观察右美托咪定预处理对大鼠 MCAO 后脑皮质 AMPK 功能的影响, 显示不同剂量右美托咪定预处理均能刺激脑组织 AMPK 的活化, pAMPK/AMPK 较 MCAO 大鼠有明显增加, 且高剂量组(D50 组和 D100 组)的作用更为显著(与 D10 组比较)。最新的研究也证实 cAMP 水平的增加可以通过 PKA 的激活抑制 AMPK 功能, 应用 PKA 的抑制剂 H89 可以有效增加 AMPK 的活性^[14]。而右美托咪定被证实可以抑制 PKA 生成^[15]。因此本研究推测右美托咪定通过对 PKA 的抑制进而激活 MCAO 后 AMPK 的活性, 抑制炎症因子水平, 减轻炎症反应。这部分假说需要更多实验来进一步证实。

局部脑缺血-再灌注对脑皮质功能造成严重损害, 该区域是运动功能中枢, 因此本研究还观察了术后近期(5 d)运动功能的改变。MCAO 大鼠术后第 1、2、5 天的运动功能明显受损, 运动功能评分明显下降。经过右美托咪定预处理, 局部脑缺血后运动功能得到了显著改善。

右美托咪定通过 α_2 肾上腺素能受体发挥其神经保护作用, 激活 AMPK 进而抑制脑缺血-再灌注后的炎症反应。联合使用 α_2 肾上腺素能受体拮抗药育享宾可阻断右美托咪定的作用。今后的研究还继续探讨右美托咪定激活 AMPK 的机制, 以阐明抑制炎症的通路。

参 考 文 献

[1] Hankey GJ. Anticoagulant therapy for patients with ischaemic stroke. *Nat Rev Neurol*, 2012, 8(6): 319-328.

- [2] Wong CH, Crack PJ. Modulation of neuro-inflammation and vascular response by oxidative stress following cerebral ischemia-reperfusion injury. *Curr Med Chem*, 2008, 15(1): 1-14.
- [3] Miao Y, Liao JK. Potential serum biomarkers in the pathophysiological processes of stroke. *Expert Rev Neurother*, 2014, 14(2): 173-185.
- [4] Spasi MR, Callaerts P, Norga KK. AMP-activated protein kinase (AMPK) molecular crossroad for metabolic control and survival of neurons. *Neuroscientist*, 2009, 15(4): 309-316.
- [5] Domise M, Vingtdoux V. AMPK in Neurodegenerative Diseases. *EXS*, 2016, 107: 153-177.
- [6] Yang Y, Zhang XJ, Li LT, et al. Apelin-13 protects against apoptosis by activating AMP-activated protein kinase pathway in ischemia stroke. *Peptides*, 2016, 75: 96-100.
- [7] Ashabi G, Khodaghali F, Khalaj L, et al. Activation of AMP-activated protein kinase by metformin protects against global cerebral ischemia in male rats: interference of AMPK/PGC-1 α pathway. *Metab Brain Dis*, 2014, 29(1): 47-58.
- [8] Zeng X, Wang H, Xing X, et al. Dexmedetomidine protects against transient global cerebral ischemia/reperfusion induced oxidative stress and inflammation in diabetic rats. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0151620.
- [9] Xu Y, Zhang R, Li C, et al. Dexmedetomidine attenuates acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mouse through inhibition of MAPK pathway. *Fundam Clin Pharmacol*, 2015, 29(5): 462-471.
- [10] Ren X, Ma H, Zuo Z. Dexmedetomidine postconditioning reduces brain injury after brain hypoxia-ischemia in neonatal rats. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2016, 11(2): 238-247.
- [11] Gionet TX, Thomas JD, Warner DS, et al. Forebrain ischemia induces selective behavioral impairments associated with hippocampal injury in rats. *Stroke*, 1991, 22(8): 1040-1047.
- [12] Wang R, Wang ST, Wang YD, et al. Stress-responsive heme oxygenase-1 isoenzyme participates in Toll-like receptor 4-induced inflammation during brain ischemia. *Neuroreport*, 2016, 27(6): 445-454.
- [13] Yerra VG, Kumar A. Adenosine monophosphate-activated protein kinase abates hyperglycaemia-induced neuronal injury in experimental models of diabetic neuropathy: effects on mitochondrial biogenesis, autophagy and neuroinflammation. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(3): 2301-2312.
- [14] Hurtado de Llera A, Martin-Hidalgo D, Gil MC, et al. The calcium/CaMKK α /beta and the cAMP/PKA pathways are essential upstream regulators of AMPK activity in boar spermatozoa. *Biol Reprod*, 2014, 90(2): 29.
- [15] Gu XY, Liu BL, Zang KK, et al. Dexmedetomidine inhibits tetrodotoxin-resistant Nav1.8 sodium channel activity through Gi/o-dependent pathway in rat dorsal root ganglion neurons. *Mol Brain*, 2015, 8: 15.

(收稿日期: 2017-09-17)