

· 基础研究 ·

A 型肉毒毒素对神经病理性疼痛大鼠钠离子通道 Nav1.3 和钠电流的影响

陈曦 杨雨菡 蔡庆 梁森 胡昔权

中山大学附属第三医院康复医学科, 广州 510630

通信作者: 胡昔权, Email: xiquhu@hotmail.com

【摘要】 目的 探讨 A 型肉毒毒素 (BoNT/A) 对神经病理性疼痛大鼠背根神经节 (DRG) 神经元中钠通道 Nav1.3 和功能性钠电流的影响。**方法** 建立保留性神经损伤 (SNI) 病理性疼痛模型, 将造模成功大鼠根据注射溶液的不同按随机数字表法分为生理盐水注射组 (注射生理盐水) 和 BoNT/A 注射组 (注射 BoNT/A), 每组 9 只; 另取 9 只大鼠设为假手术组, 只分离暴露坐骨神经分支, 但不做神经结扎手术。术后第 5 天在一侧足底皮下注射 BoNT/A (7 U/kg 和 15 U/kg) 或等量的生理盐水, 检测注射后不同时间点 (给药后第 3 天、第 7 天和第 14 天) 大鼠机械撤足阈值的改变。采用 Western Blot 检测观察给药后第 7 天和第 14 天 BoNT/A 对各组大鼠 DRG 神经元中 Nav1.3 蛋白表达的影响, 用电生理膜片钳检测 BoNT/A 对各组大鼠功能性河豚毒素敏感型 (TTX-S) 钠电流的影响。**结果** 足底皮下注射 BoNT/A 可显著升高外周神经损伤后下降的机械触痛阈 ($P < 0.001$), 缓解神经病理性疼痛。SNI 术后 DRG 神经元中 Nav1.3 蛋白表达明显上调 ($P < 0.001$), BoNT/A 干预后第 7 天和第 14 天的 Nav1.3 蛋白表达显著下调 ($P < 0.01$); BoNT/A 可降低 SNI 术后增大的 TTX-S 钠电流 ($P < 0.05$)。**结论** BoNT/A 可调控 Nav1.3 钠通道蛋白表达, 影响功能性 TTX-S 钠电流, 发挥改善神经病理性疼痛的作用。

【关键词】 外周神经损伤; 神经病理性疼痛; A 型肉毒毒素; 钠通道; 背根神经节

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81871849); 国家自然科学基金青年基金项目 (81301674)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.09.001

The effect of botulinum neurotoxin type A on Nav1.3 sodium channels and sodium currents in animals modeling neuropathic pain

Chen Xi, Yang Yuhan, Cai Qing, Liang Sen, Hu Xiquan

Department of Rehabilitation Medicine, The Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China

Corresponding author: Hu Xiquan, Email: xiquhu@hotmail.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of botulinum neurotoxin type A (BoNT/A) on Nav1.3 sodium channels and the function of sodium current in neuropathic pain. **Methods** Eighteen adult rats had a spared nerve injury (SNI) induced and then were randomly divided into a saline group and a BoNT/A group, each of 9. Another 9 rats formed a fake operation group. Five days after the SNI, BoNT/A (7U/kg or 15U/kg) or saline was subcutaneously administered into the plantar surface of a hindpaw. On the 3rd, 7th and 14th day after the injection, the SNI rats' paw withdrawal threshold was measured. On the 7th and 14th day the expression of Nav1.3 protein in dorsal root ganglion (DRG) neurons was examined using western blotting, while any change in the functional tetrodotoxin-sensitive (TTX-S) current was recorded using the patch clamp technique. **Results** Administration of BoNT/A at either 7U/kg or 15U/kg significantly increased the SNI-induced mechanical allodynia. The expression of Nav1.3 protein in DRG neurons increased significantly after the SNI, but had decreased significantly by the 7th and 14th day after the administration of BoNT/A. BoNT/A significantly decreased the current density in TTX-S sodium channels in DRG neurons following SNI. **Conclusion** Administration of BoTN/A affects the expression of Nav1.3 protein and functional TTX-S current, relieving neuropathic pain.

【Key words】 Peripheral nerve injury; Neuropathic pain; Botulinum neurotoxin type A; Sodium channels; Dorsal root ganglia

Funding: The National Natural Science Foundation of China (81871849), China's National Youth Natural Science Foundation (81301674)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.09.001

外周神经损伤可引起神经病理性疼痛,表现为顽固的自发性疼痛(无任何刺激下感觉疼痛)、痛超敏(痛阈下降,非伤害性刺激即引起疼痛)和痛觉过敏(轻微疼痛刺激可引起强烈痛反应),发作时痛感明显,且在损伤愈合后仍长时间存在,严重影响患者的生活质量,目前尚无满意的治疗方案^[1]。因此,探究神经病理性疼痛的发病机制和寻找新的治疗靶点是多年来疼痛研究和康复的热点。

神经病理性疼痛的发病机制较为复杂,研究发现外周神经或组织损伤后可促进炎症因子和介质释放,使疼痛传入神经的兴奋性增高,痛觉感受器发生敏化;作为初级感觉传入的背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)神经元在外周神经损伤后可产生异常的自发放电,参与慢性疼痛的产生^[2];DRG 神经元中电压依赖性钠离子通道(voltage-gated sodium channels, VGSCs)在神经损伤后异常放电中发挥着重要作用^[3]。VGSCs 有多达 10 种亚型,其中 Nav1.3 亚型因在病理性疼痛过程中的异常表达与痛敏行为关系密切而受到显著关注^[4],观察神经病理性疼痛过程中钠离子通道结构或功能的可塑性改变,对研究其发病机制有重要意义。

肉毒毒素是肉毒杆菌产生的一种神经毒素,其中毒力最强的 A 型肉毒毒素(botulinum neurotoxin type A, BoNT/A)被最早批准应用于实验和临床研究。早期在临床主要用于抑制肌肉收缩,治疗斜视、肌张力障碍、痉挛状态等;之后大量临床研究证实,BoNT/A 对各种疼痛也有较好疗效^[5-6];BoNT/A 的镇痛机制可能不依赖于其放松肌肉的作用,在肌张力恢复正常后或非肌痉挛引起的疼痛中 BoNT/A 的镇痛作用依然存在^[7],所以 BoNT/A 的镇痛作用可能存在其他的机制。近期国外部分研究^[9-10]发现,BoNT/A 可能通过调控 DRG 神经元中一些离子通道^[8]及炎症因子(白介素、P 物质等)发挥镇痛作用,但钠离子通道是否参与 BoNT/A 的镇痛机制目前研究甚少见报道。本课题组前期研究^[11]发现,BoNT/A 调控钠通道亚型 Nav1.8 对缓解腰 5 脊神经前根切断所致的神经病理性疼痛有重要意义,但 BoNT/A 是否还能调控其它亚型钠通道尚未见有报道。本研究通过观察 BoNT/A 对外周保留性神经损伤(spared nerve injury, SNI)模型大鼠神经病理性疼痛的镇痛效果及其对 DRG 神经元中 Nav1.3 蛋白表达和功能性钠电流的影响,旨在探讨和了解 BoNT/A 镇痛作用的可能机制。

材料与方法

一、实验动物

选取由中山大学实验动物中心提供的 200 g 左右的成年雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,分笼饲养,安静

环境,室温保持在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 和 50% ~ 60% 的湿度,白天黑夜循环照明。神经元分离培养和电生理实验所用化合物购自美国 SIGMA 公司;A 型肉毒毒素(保妥适)由美国艾尔建公司生产;河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)购自江苏泰州康特生物科技有限公司。

二、大鼠 SNI 造模及分组

SNI 模型大鼠的制作方法和标准均参照已发表文献^[12]的方法,用 2% 氟烷麻醉大鼠,剪掉大鼠一侧大腿毛发,消毒手术部位后剪开大腿外侧皮肤后分离肌肉,暴露坐骨神经及其三个分支(腓肠神经、腓总神经和胫神经)。丝线紧紧结扎腓总神经和胫神经,并从结扎远端剪掉 2 ~ 4 mm,注意不要损伤腓肠神经。术后动物在无外界刺激情况下出现自发撤足反应且持续性后爪屈曲收缩视为造模成功^[12]。

将造模成功大鼠根据注射溶液的不同按随机数字表法分为生理盐水注射组(注射生理盐水)和 BoNT/A 注射组(注射 BoNT/A),每组 9 只;另取 9 只大鼠设为假手术组,只分离暴露坐骨神经分支,但不做神经结扎手术。所有术后大鼠伤口均经无菌盐水冲洗后分层缝合,避免不必要的出血和感染等因素对实验的影响。本研究方案由中山大学实验动物伦理委员会批准(SYSU-IACUC-2020-B1112),所有实验都尽量减轻动物的痛苦并按照有关实验原则操作。

三、给药方法

BoNT/A 组在 SNI 造模成功后第 5 天行一侧的足底皮下注射,分别于给药后第 3 天、第 7 天和第 14 天,测试大鼠机械触痛阈的变化情况。因过小剂量($<3.5 \text{ U/kg}$)的 BoNT/A 短时间内无明显作用,而过大剂量($>30 \text{ U/kg}$)的 BoNT/A 可能会松弛肌肉干扰实验,故选择 BoNT/A 的注射剂量为 7 U/kg 和 15 U/kg 。大鼠麻醉后暴露一侧足底,用微量注射器吸取按大鼠体重计算好剂量的 BoNT/A 小心注射于足底,注意避免损伤血管及穿破皮下导致药物渗漏。

四、痛觉行为学测试

机械刺激撤足阈值测试采用“up-down”方法^[13],每组测试大鼠数量为 9 只。选用 8 根强度对数递增的 von Frey 纤维丝,将大鼠置于底部为金属网的透明玻璃箱内安静 10 ~ 15 min 后,用不同强度 von Frey 纤维丝刺激大鼠足底部皮肤。每次刺激持续 2 ~ 3 s,每一个强度应用 10 次,间隔时间 5 min。大鼠出现舔舐后爪行为或快速抬起后爪表示为阳性反应。计算 50% 的阳性反应阈值为大鼠的撤足反射阈值。

五、分离和培养 DRG 神经元

用酶消化法分离和培养 DRG 神经元^[11],将大鼠置于冰袋上,取出椎间孔中腰₄₋₅背根神经节,分离剪碎后转移到含有胰酶(0.4 mg/ml)和胶原酶(0.6 mg/ml)

的细胞培养基 (Dulbecco's modified eagle medium/Ham's F12 nutrient medium, DMEM/F12) 中, 35 °C 振荡消化 30 min, 用巴氏吸管吹打以分散细胞后离心 5 min (离心半径 15 cm, 1000 r/min), 加入含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基终止消化, 分离上清液后再次离心, 然后种在包被多聚赖氨酸的小玻片上, 放置于温箱内 (5% CO₂, 37 °C)。

六、免疫蛋白印迹 (Western blot) 检测

参考前期已发表文献^[14]用 Western blot 检测各组大鼠 DRG 神经元中 Nav1.3 蛋白表达量, 每组实验数量为 4 只大鼠。将处死后的大鼠置于冰上, 取出大鼠 L₄-L₅ 段的 DRG, 修剪后剪碎并加入裂解液 (SDS Lysis Buffer), 再按 1:100 比例加入蛋白酶/磷酸酶抑制剂 (博士德, 武汉), 将混合液置于冰上用细胞破碎仪破碎细胞 3 min 得到蛋白液。4 °C 离心 15 min (离心半径 8.6 cm, 14000 r/min), 取上清液加入上样缓冲液沸水中煮沸 10 min。用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离至目的蛋白到合适位置, 取下凝胶湿法电转至聚偏氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜, 经过含 5% 脱脂奶粉 TBST 溶液室温封闭 1 h 后, 抗 Nav1.3 抗体 (1:200, 兔来源多克隆抗体, 以色列 Alomone Labs) 一抗孵育 4 °C 过夜。次日, 甲烷盐缓冲液 (tris buffered saline with tween, TBST) 清洗 PVDF 膜后用辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的二抗 (1:2000, 美国 Cell Signaling Technology 公司) 孵育 1 h。漂洗后加入化学发光液, 暗室曝光, 显影, 定影, 对灰度值进行定量分析。

七、电生理膜片钳实验

将分离培养的 DRG 神经元细胞种植于小玻片上, 放入置于倒置显微镜上的固定灌流槽内, 给氧并持续灌流。在安静环境下调节微操纵仪使电极贴附神经元

细胞后给予负压吸引, 待达到稳定高阻封接后进行快电容补偿, 用负压或电击破膜并补偿慢电容, 形成全细胞记录模式。实验各组选取 9~10 个神经元进行电生理记录。使用德国 HEKA EPC10 放大器和配套软件采集并分析数据。使用美国 Sutter P87 拉制仪制作电极电阻 1~3 MΩ 的玻璃微电极。串联电阻和漏电流均给予补偿以减少实验误差。电流采样频率为 5 kHz, 滤过频率为 2 kHz。电极内、外液及钠电流记录方法参见前期文献^[15]。

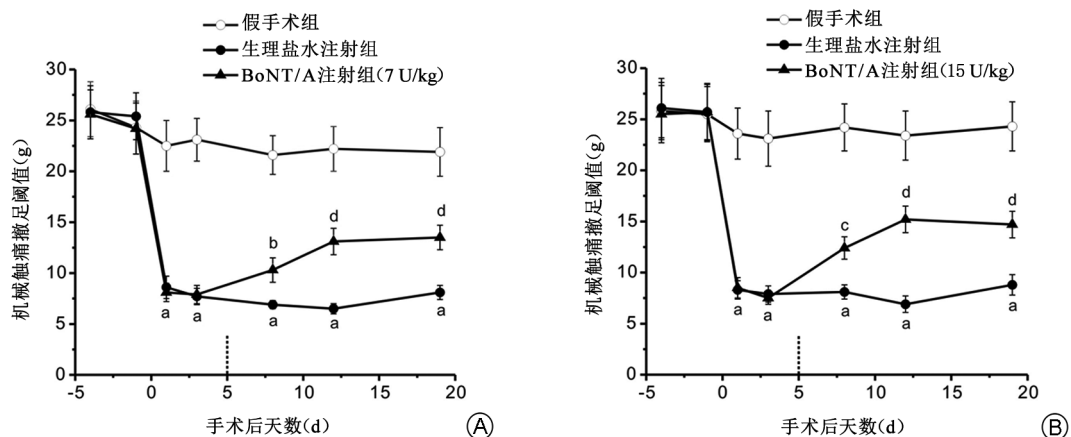
八、统计学方法

使用 SPSS 20.0 版统计软件对所得数据进行统计学分析处理, 实验结果以均数±标准误 (mean±SE) 表示。不同组间的数据比较用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 处理; 行为学 50% 撤足阈值 (g) 使用配对秩和检验 (Wilcoxon Signed Ranks Test)。P<0.05 认为差异有统计学意义。

结 果

一、BoNT/A 可缓解 SNI 引起的神经病理性疼痛

与假手术组比较, SNI 术后第 1 天, SNI 模型大鼠的机械刺激撤足阈值显著下降, 至少可持续到术后第 19 天 (P<0.001)。SNI 术后第 5 天一侧足底皮下注射 BoNT/A (7 U/kg) 后第 3 天大鼠的机械刺激撤足阈值即出现明显上升 (P<0.05, 与生理盐水注射组比较), 且随着时间的延长其缓解疼痛效果逐渐明显, 注射后第 7 天和第 14 天机械撤足阈值均显著上升 (P<0.001, 与生理盐水注射组比较), 详见图 1A。注射 15 U/kg 的 BoNT/A 注射组与注射 7 U/kg 的 BoNT/A 作用效果类似且更为明显, 注射后第 3 天可见痛阈显著升高 (P<0.01, 与生理盐水注射组比较), 持续到给药后第 14 天作用仍十分明显 (P<0.001, 与生理盐水注射组比较), 详见图 1B。



注: A 为 BoNT/A (7 U/kg) 给药后各组大鼠机械触痛阈比较; B 为 BoNT/A (15 U/kg) 给药后各组大鼠机械触痛阈比较; 与假手术组比较, ^aP<0.001; 与生理盐水注射组比较, ^bP<0.05, ^cP<0.01, ^dP<0.001, 虚线为给药时间点

图 1 各组大鼠不同时间点的足底机械触痛阈比较

二、BoNT/A 对初级传入神经元中 Nav1.3 蛋白表达的影响

Western Blot 检测结果显示,假手术组大鼠 L₄-L₅ DRG 神经元中 Nav1.3 蛋白表达量很低(图 2),SNI 显著升高了神经元中 Nav1.3 的蛋白表达($P<0.001$,与假手术组比较)。行为学检测后,选用 7 U/kg 的 BoNT/A 注射剂量,观察在 SNI 大鼠注射后第 7 天和第 14 天时间点的 DRG 神经元中 Nav1.3 钠通道蛋白表达变化情况,结果显示,BoNT/A 显著下调了 Nav1.3 蛋白表达水平($P<0.01$,与生理盐水注射组比较),详见图 3。

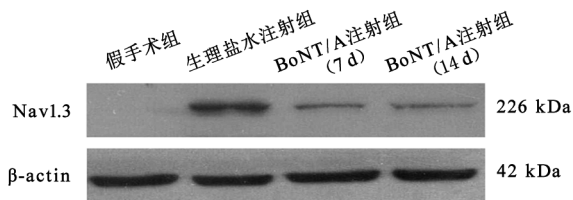
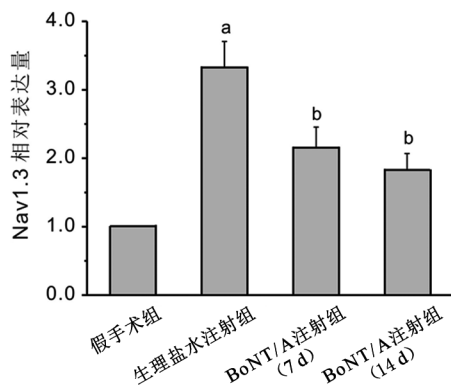


图 2 各组大鼠 DRG 神经元中的 Nav1.3 蛋白表达



注:与假手术组比较,^a $P<0.001$;与生理盐水注射组比较,^b $P<0.01$

图 3 各组大鼠 DRG 神经元中 Nav1.3 蛋白相对表达量的比较

三、BoNT/A 对 DRG 神经元中功能性河豚毒素敏感型(tetrodotoxin-sensitive, TTX-S)钠电流的影响

电生理方法检测 SNI 术后 DRG 神经元中 TTX-S 峰电流密度(pA/pF)的变化及 BoNT/A(7 U/kg)注射 7 d 和 14 d 后对 TTX-S 峰电流密度的影响(图 4),结果显示,SNI 术后 DRG 神经元中 TTX-S 电流密度与假手术组相比,显著增大($P<0.01$);BoNT/A 注射 7 d 和 14 d 后,DRG 神经元中 TTX-S 的电流密度与生理盐水注射组相比,显著减小($P<0.05$),详见图 5。

讨 论

基础研究和临床实践均发现 BoNT/A 对各种疼痛有较好的治疗效果,但其镇痛机制仍在不断探索中。近期对 BoNT/A 的机制研究发现,BoNT/A 可能通过调控离子通道、神经递质或疼痛相关因子改善由神经损伤或炎症引起的病理性疼痛^[8-9,16],但与疼痛产生密

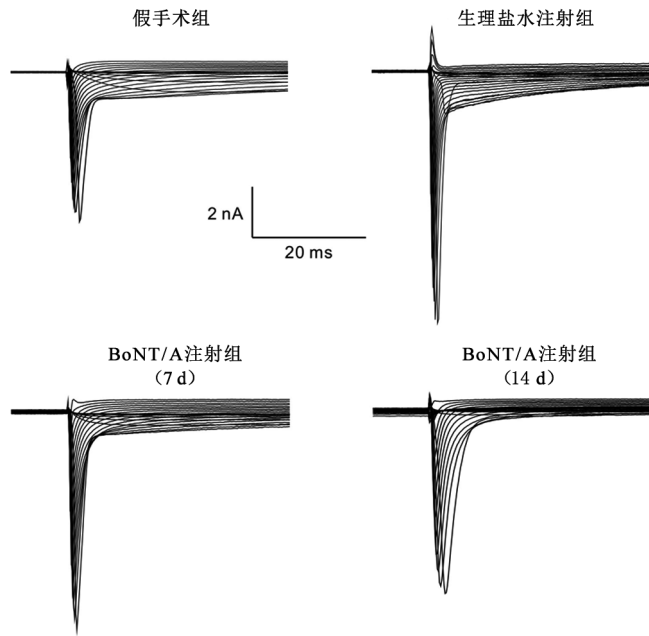
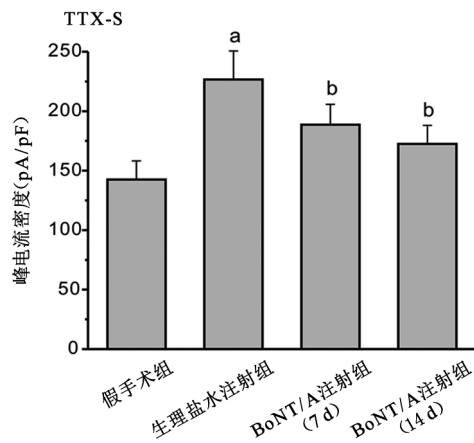


图 4 各组大鼠 DRG 神经元中 TTX-S 钠电流记录图



注:与假手术组比较,^a $P<0.01$;与生理盐水注射组比较,^b $P<0.05$

图 5 各组大鼠 DRG 神经元中 TTX-S 钠电流密度的比较

切相关的钠离子通道是否参与了 BoNT/A 的镇痛机制目前所知甚少,我们近期的研究发现 BoNT/A 可调控钠通道亚型 Nav1.8 缓解疼痛^[11],但 BoNT/A 是否还能调控其他亚型钠通道的表达或功能还未见深入研究。本研究在外周神经损伤所致神经病理性疼痛模型(SNI)大鼠上发现 BoNT/A 可显著和迅速地缓解 SNI 介导的神经病理性疼痛症状,通过分子生物学方法发现 BoNT/A 干预后可显著下调 SNI 后表达上调的 Nav1.3 蛋白水平,最后利用膜片钳方法检测 BoNT/A 可降低 TTX-S 钠电流密度。

A 型肉毒毒素是最早被发现并批准应用于临床的肉毒毒素,近年来被广泛用于治疗各种常见病理性疼痛,如头痛、三叉神经痛、疱疹后神经痛、脑卒中后肩痛、骨性关节炎、膀胱疼痛综合征等^[5,6,17-18],且其镇痛

机制不依赖于其放松肌肉的作用。在疼痛模型动物上的研究也发现, BoNT/A 可缓解坐骨神经结扎引起的机械痛敏和热痛敏症状^[19]。本研究通过使用损伤腓总神经和胫神经的 SNI 疼痛模型复制了神经病理性疼痛, 发现 SNI 术后不同时间点(第 1、3、8、12、19 天)大鼠机械触痛阈迅速下降, 至术后 19 天的时间点仍较明显。由于过小剂量(<3.5 U/kg)的 BoNT/A 短时间内无明显作用, 而过大剂量(>30 U/kg)的 BoNT/A 会出现明显松弛肌肉作用, 因此本研究选择 7 U/kg 和 15 U/kg 的 BoNT/A 在 SNI 大鼠一侧足底皮下注射, 发现注射 3 d 后大鼠机械触痛阈显著升高, 在上述测试时间点的镇痛效果持续, 一直到给药后 14 d(即术后第 19 天)效果仍然显著, 这与其它在慢性坐骨神经挤压伤、脊神经结扎等所致病理性疼痛模型上发现局部注射 BoNT/A 可迅速缓解神经病理性疼痛症状, 且持续时间长达 3 周左右的研究发现相一致^[20-21]。

目前有关 BoNT/A 影响 DRG 神经元发挥镇痛作用的机制研究主要有调控 TRPV1 通道^[22]、影响白介素水平^[10]、调节疼痛相关因子如 P 物质^[9]和降钙素基因相关肽(CGRP)^[23]的表达等方面, 但不可忽视的是, DRG 神经元中电压依赖性钠离子通道(VGSCs)与神经损伤后异常电活动和病理性疼痛的发生发展密切相关。在行为学实验明确了 BoNT/A 的镇痛效应基础上, DRG 神经元中 VGSCs 的表达或功能调控是否参与了 BoNT/A 的镇痛机制, 是本研究关注的科学问题。

大量研究发现, 神经损伤后 VGSCs 是决定 DRG 神经元中异位放电和高兴奋性的重要因素, 其结构或者功能的改变可直接调控中枢和外周神经系统神经元的兴奋性。研究发现在损伤的神经末端有钠通道的异常集聚, 应用钠通道阻断剂可抑制 DRG 神经元的异位放电, 有效缓解疼痛症状^[3]。TTX-S 钠通道是 VGSCs 的主要类型之一, 分布在 DRG 神经元中与病理性疼痛密切相关的 TTX-S 亚型主要是 Nav1.3 和 Nav1.7。Nav1.3 在大鼠胚胎神经系统中表达较高, 但出生后表达逐渐下降, 至成年时的脊髓和 DRG 细胞内几乎没有或相对较少表达, 但在神经损伤后成年大鼠 DRG 神经元中可出现 Nav1.3 的再表达^[24]。本研究也发现, SNI 术后 DRG 神经元中 Nav1.3 的蛋白表达水平显著上调, 而 BoNT/A 注射后 7 天和 14 天 SNI 大鼠 Nav1.3 蛋白表达显著下调, 表明 BoNT/A 对神经损伤后再表达的 Nav1.3 钠通道存在下调作用。但改变了蛋白的表达是否能影响功能性钠电流? 为解决这一问题, 本研究用电生理方法观察了 BoNT/A 对钠电流的影响。由于 Nav1.3 是外周神经损伤后 TTX-S 中唯一上调的钠通道^[25], 本身具备快速激活、失活和快速恢复的动力学特征, 且其表达增加与神经损伤引起的 TTX-S 钠电

流失活后快速恢复的转化相平行, 因此目前认为神经损伤后 TTX-S 钠电流改变与 Nav1.3 表达增加相关。本研究参照我们前期的膜片钳记录方法^[15]记录 TTX-S 钠电流, 通过对 TTX-S 峰值电流密度分析发现, SNI 术后 TTX-S 钠电流密度显著增大, 这与发现 SNI 上调 Nav1.3 蛋白表达的结果相平行; BoNT/A 注射后 7 天和 14 天均可显著减小 SNI 术后增大的 TTX-S 电流, 提示对 Nav1.3 和 TTX-S 电流的调控可能是 BoNT/A 发挥镇痛效应的重要作用机制之一。但钠通道包括很多亚型, BoNT/A 的镇痛机制中不能排除存在调控其他亚型钠通道的可能; 此外, 由于尚未出现明确的特异性钠通道亚型阻断剂, 除 Nav1.3 之外是否有其他亚型 TTX-S 钠通道(如 Nav1.7)参与了 BoNT/A 对 TTX-S 钠电流的影响, 目前还不能明确, 有待于今后更深入的研究。

综上所述, BoNT/A 可显著缓解 SNI 介导的神经病理性疼痛, 其机制可能与调控 DRG 神经元中 Nav1.3 蛋白表达和功能性 TTX-S 钠电流有关。

参 考 文 献

- [1] Raghavendra V, Tanga F, Rutkowski MD, et al. Anti-hyperalgesic and morphine-sparing actions of propentofylline following peripheral nerve injury in rats: mechanistic implications of spinal glia and proinflammatory cytokines[J]. *Pain*, 2003, 104(3): 655-664. DOI: 10.1016/s0304-3959(03)00138-6.
- [2] Liu X, Eschenfelder S, Blenk KH, et al. Spontaneous activity of axotomized afferent neurons after L5 spinal nerve injury in rats[J]. *Pain*, 2000, 84(2-3): 309-318. DOI: 10.1016/s0304-3959(99)00211-0.
- [3] Ritter AM, Ritchie C, Martin WJ. Relationship between the firing frequency of injured peripheral neurons and inhibition of firing by sodium channel blockers[J]. *J Pain*, 2007, 8(4): 287-295. DOI: 10.1016/j.jpain.2006.09.002.
- [4] Hains BC, Klein JP, Saab CY, et al. Upregulation of sodium channel Nav1.3 and functional involvement in neuronal hyperexcitability associated with central neuropathic pain after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(26): 8881-8892. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.23-26-08881.2003.
- [5] Argoff CE. A focused review on the use of botulinum toxins for neuropathic pain[J]. *Clin J Pain*, 2002, 18(6 Suppl): s177-s181. DOI: 10.1097/00002508-200211001-00010.
- [6] 张杰, 王强, 王增春, 等. 膀胱内注射肉毒毒素对膀胱疼痛综合征疼痛程度影响的 Meta 分析[J]. *中国康复理论与实践*, 2016, 22(10): 1222-1226. DOI: 10.3969/j.issn.1006-9771.2016.10.024.
- [7] Freund B, Schwartz M. Temporal relationship of muscle weakness and pain reduction in subjects treated with botulinum toxin A[J]. *J Pain*, 2003, 4(3): 159-165. DOI: 10.1054/jpai.2003.435.
- [8] Fan C, Chu X, Wang L, et al. Botulinum toxin type A reduces TRPV1 expression in the dorsal root ganglion in rats with adjuvant-arthritis pain[J]. *Toxicon*, 2017, 133: 116-122. DOI: 10.1016/j.toxicon.2017.05.001.
- [9] Matak I, Tékus V, Bölcskei K, et al. Involvement of substance P in

- the antinociceptive effect of botulinum toxin type A: evidence from knockout mice[J]. *Neuroscience*, 2017, 358: 137-145. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.06.040.
- [10] Zychowska M, Rojewska E, Makuch W, et al. Participation of pro- and anti-nociceptive interleukins in botulinum toxin A-induced analgesia in a rat model of neuropathic pain[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 791: 377-388. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.09.019.
- [11] 陈曦, 郑淑慧, 胡昔权, 等. A 型肉毒毒素调控钠离子通道 Nav1.8 缓解神经病理性疼痛的作用[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2014, 35(6): 801-806. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2014.0133.
- [12] Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain[J]. *Pain*, 2000, 87(2): 149-158. DOI: 10.1016/s0304-3959(00)00276-1.
- [13] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. *J Neurosci Methods*, 1994, 53(1): 55-63. DOI: 10.1016/0165-0270(94)90144-9.
- [14] Pang RP, Xie MX, Yang J, et al. Downregulation of CIC-3 in dorsal root ganglia neurons contributes to mechanical hypersensitivity following peripheral nerve injury[J]. *Neuropharmacology*, 2016, 110(Pt A): 181-189. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2016.07.023.
- [15] Chen X, Pang RP, Shen KF, et al. TNF- α enhances the currents of voltage gated sodium channels in uninjured dorsal root ganglion neurons following motor nerve injury[J]. *Exp Neurol*, 2011, 227(2): 279-286. DOI: 10.1016/j.expneurol.2010.11.017.
- [16] Hong B, Yao L, Ni L, et al. Antinociceptive effect of botulinum toxin A involves alterations in AMPA receptor expression and glutamate release in spinal dorsal horn neurons[J]. *Neuroscience*, 2017, 357: 197-207. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.06.004.
- [17] 王琳, 吴艺玲, 脱森, 等. 关节腔注射 A 型肉毒毒素治疗卒中后肩痛的疗效观察[J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 32(1): 48-52. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1242.2017.01.011.
- [18] 原永康, 王红斌, 贾博, 等. 局部注射 A 型肉毒毒素治疗带状疱疹后遗神经痛的疗效观察[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2015, 37(9): 694-695. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.09.014.
- [19] 申文, 苏小虎, 张井浪, 等. 肉毒毒素 A 对慢性坐骨神经结扎大鼠机械痛敏和热痛敏的影响[J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(12): 1592-1595.
- [20] Luvisetto S, Marinelli S, Cobianchi S, et al. Anti-allodynic efficacy of botulinum neurotoxin A in a model of neuropathic pain[J]. *Neuroscience*, 2007, 145(1): 1-4. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2006.12.004.
- [21] Park HJ, Lee Y, Lee J, et al. The effects of botulinum toxin A on mechanical and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain[J]. *Can J Anaesth*, 2006, 53(5): 470-477. DOI: 10.1007/BF03022619.
- [22] Xiao L, Cheng J, Zhuang Y, et al. Botulinum toxin type A reduces hyperalgesia and TRPV1 expression in rats with neuropathic pain[J]. *Pain Med*, 2013, 14(2): 276-286. DOI: 10.1111/pme.12017.
- [23] 范成雷, 初晓, 王开乐, 等. A 型肉毒毒素关节腔注射对佐剂性关节炎疼痛大鼠背根神经节中降钙素基因相关肽表达的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2016, 38(9): 652-658. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2016.09.003.
- [24] Black JA, Cummins TR, Plumpton C, et al. Upregulation of a silent sodium channel after peripheral, but not central, nerve injury in DRG neurons[J]. *J Neurophysiol*, 1999, 82(5): 2776-2785. DOI: 10.1152/jn.1999.82.5.2776.
- [25] Kim CH, Oh Y, Chung JM, et al. The changes in expression of three subtypes of TTX sensitive sodium channels in sensory neurons after spinal nerve ligation[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 2001, 95(1-2): 153-161. DOI: 10.1016/s0169-328x(01)00226-1.

(修回日期: 2020-08-12)

(本文编辑: 汪 玲)

• 外刊撷英 •

Physical medicine and rehabilitation and pulmonary rehabilitation for COVID-19

ABSTRACT This analysis extrapolates information from prior studies and experiences to bring PM&R perspective and intervention to the multidisciplinary treatment of COVID-19. The purpose of pulmonary rehabilitation in COVID-19 patients is to improve symptoms of dyspnea, relieve anxiety, reduce complications, minimize disability, preserve function and improve quality of life. Pulmonary rehabilitation during the acute management of COVID-19 should be considered when possible and safe and may include nutrition, airway, posture, clearance technique, oxygen supplementation, breathing exercises, stretching, manual therapy, and physical activity. Given the possibility of long-term disability, outpatient post-hospitalization pulmonary rehabilitation may be considered in all patients hospitalized with COVID-19.

【摘自: Wang TJ, Chau B, Lui M, et al. Physical medicine and rehabilitation and pulmonary rehabilitation for COVID-19. *Am J Phys Med Rehabil*, 2020, Sep, 99(9): 769-774. DOI: 10.1097/PHM.0000000000001505.】