

· 实验研究 ·

下胸段硬膜外阻滞对失血性休克-复苏大鼠肠黏膜上皮细胞凋亡的影响

蔡宇平 肖锦容 郑婉静 许玉城 吴黄辉 陈国忠 王丽萍

【摘要】 目的 探讨下胸段硬膜外阻滞对失血性休克-复苏大鼠肠黏膜上皮细胞凋亡的影响。**方法** 健康成年雄性 SD 大鼠 64 只, 3 月龄, 体重 280~320 g, 硬膜外置管成功, 随机分为四组, 每组 16 只: 假手术组(Sham 组)、休克-复苏组(HSR 组)、下胸段硬膜外注射生理盐水+休克-复苏组(NS 组)、下胸段硬膜外阻滞+休克-复苏组(TEA 组)。Sham 组仅行硬膜外置管, 不实施失血性休克, 其余三组均采用改良 Chaudry 法制备失血性休克-复苏模型, 放血前 30 min TEA 组硬膜外注射 0.075% 罗哌卡因 100 μ l/kg, NS 组注入等量生理盐水, HSR 组不给予硬膜外注射。复苏后 2 h 采用化学反应法测定肠黏膜丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性, 采用 TUNEL、免疫组化法分别测定肠黏膜细胞凋亡和 Bcl-2、Bax 蛋白含量。**结果** 与 Sham 组比较, HSR 组、NS 组和 TEA 组肠黏膜 Chiu 评分、MDA 含量、Bax 蛋白含量、上皮细胞凋亡指数明显增高($P < 0.05$), SOD 活性明显降低($P < 0.05$)。与 HSR 组和 NS 组比较, TEA 组 Chiu 评分、MDA 含量、Bax 蛋白含量、上皮细胞凋亡指数明显降低($P < 0.05$), SOD 活性和 Bcl-2 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)。**结论** 下胸段硬膜外阻滞可增强肠黏膜抗氧化、抗凋亡能力, 从而抑制黏膜上皮氧化应激和细胞凋亡, 保护肠黏膜屏障功能, 以促进失血性休克-复苏后生存。

【关键词】 硬膜外阻滞; 失血性休克; 肠黏膜上皮; 凋亡

Effect of lower thoracic epidural block on intestinal epithelial cell apoptosis during hemorrhagic shock and resuscitation in rats CAI Yuping, XIAO Jinrong, ZHENG Wanjing, XU Yucheng, WU Huanghui, CHEN Guozhong, WANG Liping. Department of Anesthesiology, Fuzhou General Hospital of PLA, Clinical Medical School of Fuzhou General Hospital in Fujian Medical University, Clinical Medical School of Fuzhou General Hospital in Anhui Medical University, Fuzhou 350025, China
Corresponding author: WANG Liping, Email: wlping0716@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of lower thoracic epidural block on intestinal epithelial cell apoptosis during hemorrhagic shock and resuscitation in rats. **Methods** Sixty-four male SD rats placed with lower thoracic epidural catheter were randomly divided into four groups ($n=16$ each): group Sham (sham operation), group HSR (hemorrhagic shock and resuscitation), group NS (hemorrhagic shock and resuscitation+epidural saline 100 μ l/kg), and group TEA (hemorrhagic shock and resuscitation+epidural 0.075% ropivacaine 100 μ l/kg). The hemorrhagic shock was made described by Chaudry. Rats were resuscitated by transfusing shed blood and normal saline 60 min after hemorrhagic shock. Malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD) activity, and protein expression of Bax and Bcl-2 in intestinal epithelium were detected, and epithelial apoptosis index was calculated at 2 h after resuscitation. **Results** Compared with group Sham, intestinal epithelial MDA, Bax expression and epithelial apoptosis were significantly increased, while SOD activity were markedly decreased in groups HSR, NS and TEA ($P < 0.05$). Compared with groups HSR and NS, intestinal epithelial MDA, Bax expression and epithelial apoptosis were significantly decreased, while SOD activity and Bcl-2 expression were markedly increased in group TEA ($P < 0.05$). **Conclusion** Lower thoracic epidural block can enhance the antioxidant and anti-apoptotic ability, and inhibit the oxidative stress and cell apoptosis of intestinal epithelium. Therefore, it can promote the survival rate after hemorrhagic shock and resuscitation through protecting intestinal barrier.

【Key words】 Epidural block; Hemorrhagic shock; Intestinal mucosa epithelium; Apoptosis

DOI:10.12089/jca.2018.04.013

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(31700740); 福建省自然科学基金面上项目(2015J01410); 全军医学科技青年培育项目(14QN036); 福州总医院医学科技研究计划(2014J01)

作者单位: 350025 福州市, 解放军福州总医院 福建医科大学福总临床医学院 安徽医科大学福总临床医学院 麻醉科

通信作者: 王丽萍, Email: wlping0716@163.com

失血性休克-复苏引起的肠黏膜缺血-再灌注损伤,可破坏肠道屏障功能,导致细菌移位、内毒素吸收,引起全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),甚至导致多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),增加休克-复苏患者的病死率,因此保护肠黏膜屏障功能是改善休克-复苏患者预后的重要环节^[1]。研究表明,下胸段硬膜外阻滞可增加胃肠黏膜微循环灌注,促进胃肠动力恢复,发挥抗氧化应激、抗炎、抗凋亡作用,以减轻肠系膜动脉阻断/开放引起的肠缺血-再灌注损伤^[2~6]。然而,对失血性休克-复苏引起的肠损伤的保护作用尚不明确。因此本研究拟探讨下胸段硬膜外阻滞对失血性休克-复苏大鼠肠黏膜上皮细胞凋亡的影响及其可能机制。

材料与方法

实验动物 健康成年雄性 SD 大鼠,3 月龄,体重 280~320 g,购自福建医科大学实验动物中心。

大鼠硬膜外置管 参照文献^[7]介绍的方法行硬膜外置管。腹腔注射 10% 水合氯醛 3 ml/kg 麻醉下,俯卧位固定,以 L₄ 棘突为中心消毒,纵行切开皮肤,暴露 L_{3~4} 棘突根部,将预充无菌生理盐水的 PE-10 管(ID 0.28 mm, OD 0.61 mm)置入硬膜外腔,并向头侧置管约 1.5 cm,使导管尖端位于 T₁₀~T₁₂,将导管另一端引出背部,接微量注射器行负压实验以避免导管置入蛛网膜下腔。置管后向管腔内注入肝素生理盐水 10 μ l 封管,逐层缝合后涂抹金霉素眼膏预防感染,术毕单笼饲养。于置管后第 2 天经导管给予 2% 利多卡因 100 μ l/kg,给药后大鼠出现双侧下肢肌力明显减退、对钳夹等伤害性刺激无明显逃避反应、阻滞区体表温度升高视为硬膜外置管成功。

失血性休克-复苏模型构建 硬膜外置管成功后 3 d,参照文献^[8]介绍的方法,采用改良 Chaudry 法制备失血性休克-复苏模型。腹腔注射 10% 水合氯醛 3 ml/kg 麻醉后仰卧固定,采用 24 G 套管针行左侧股动脉、右侧颈内静脉置管。左侧股动脉的导管经三通阀与换能器连接多功能生理记录仪用于监测血流动力学、放血、采集血液标本,右颈内静脉的导管用于回输血液及液体复苏,导管中均预充 25 U/ml 肝素生理盐水 0.3 ml 抗凝。经左股动脉快速(10 s)放血至 MAP 达 40 mm Hg,维持 60 min 后,经右颈内静脉回输放出的全部血液及 2 倍量平

衡液。

动物分组及处理 硬膜置管成功的 64 只大鼠依据随机数字表法分为四组($n=16$):假手术组(Sham 组)、休克-复苏组(HSR 组)、下胸段硬膜外注射生理盐水+休克-复苏组(NS 组)、下胸段硬膜外阻滞+休克-复苏组(TEA 组)。Sham 组仅进行动、静脉置管,不实施失血性休克,其余三组均采用改良 Chaudry 法制备失血性休克-复苏模型。TEA 组于放血前 30 min 时硬膜外注射 0.075% 罗派卡因(批号:31005)100 μ l/kg,NS 组注入等容量生理盐水,HSR 组不给予硬膜外注射。

血流动力学监测 采用 ALC-MPA 动物监护系统记录大鼠置管后(T₁)、硬膜外给药后(T₂)、休克 30 min(T₃)、复苏 30 min(T₄)、1 h(T₅)和 2 h(T₆)的 MAP 和 HR。

肠黏膜病理组织形态学观察 于 T₆ 时每组取 6 只大鼠,距回肠末端 5 cm 取回肠 1 cm,以 10% 甲醛固定,石蜡包埋,每只各取一张切片(8 μ m),HE 染色,光镜下观察肠黏膜病理变化并由同一个病理医师按照 Chiu 评分标准^[12]评价回肠上皮损伤指数。

肠黏膜上皮细胞凋亡检测 上述石蜡切片每只各取一张,参照 TUNEL 凋亡试剂盒步骤操作,高倍镜下($\times 200$)细胞核呈棕褐色为 TUNEL 阳性的凋亡细胞。随机选取 5 个不同视野,计算凋亡细胞指数=阳性细胞数/(阳性细胞数+阴性细胞数) $\times 100\%$,取平均值。

肠黏膜上皮 Bcl-2、Bax 蛋白含量检测 上述石蜡切片每只各取一张,参照 Bcl-2、Bax 免疫组化试剂盒步骤操作,高倍镜下($\times 200$)细胞浆呈现棕褐色的细胞为 Bcl-2 或 Bax 阳性细胞。每张切片随机选取 5 个不同视野,计算 Bcl-2 或 Bax 表达量=阳性细胞数/(阳性细胞数+阴性细胞数) $\times 100\%$,取平均值。

MDA 含量与 SOD 活性测定 于 T₆ 时每组 6 只大鼠,在距回肠末段 6 cm 用载玻片轻轻刮取并收集回肠黏膜上皮细胞,−80℃ 分装冻存,采用化学反应法测定丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性,具体操作步骤参照说明书,实验重复 3 次,取平均值。

生存分析 每组剩余 10 只大鼠每日固定时间观察复苏开始 72 h 内的生存情况作为事件终点,存活超过 72 h 视为长期存活,采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线。

统计分析 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,不同时点比较采用重复测量方差分析,组间比较采用单因素方差分析及 SNK 法。生存曲线的比较采用 Log-rank 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

与 Sham 组比较, $T_3 \sim T_6$ 时 HSR 组、NS 组和 TEA 组 MAP 明显降低,HR 明显增快($P < 0.05$); T_2 时 TEA 组 MAP 明显低于其他三组,HR 明显慢于其他三组($P < 0.05$)(表 1)。

光镜下见 Sham 组大鼠肠黏膜绒毛完整,上皮间隙无扩张;NS 组和 HSR 组可见肠黏膜绒毛水肿、片状坏死、脱落改变,顶端与固有层分离伴有固有层毛细血管暴露、出血和溃疡;TEA 组肠黏膜绒毛损伤程度较轻,大部分结构正常。与 Sham 组比较,HSR 组、NS 组和 TEA 组肠黏膜 Chiu 评分明显增高($P < 0.05$);TEA 组肠黏膜 Chiu 评分明显低于 HSR 组和 NS 组($P < 0.05$)(图 1)。

与 Sham 组比较,HSR 组、NS 组和 TEA 组肠黏膜 MDA 含量明显升高,SOD 活性明显降低($P < 0.05$);但 TEA 组肠黏膜 MDA 含量明显低于 HSR 组和 NS 组($P < 0.05$),SOD 活性明显高于 HSR 组和 NS 组($P < 0.05$)(表 2)。

Sham 组大鼠全部长期存活。与 Sham 组比较,HSR 组、NS 组大鼠复苏后 24、48、72 h 的生存率分别为 37.5%、22.1%、12.7%,明显低于 Sham 组($P < 0.01$);TEA 组大鼠复苏后 24、48、72 h 的生存率分别为 100%、51.6%、40.8%,明显高于 HSR 组和 NS 组($P < 0.05$)(图 2)。

与 Sham 组比较,HSR 组、NS 组和 TEA 组肠黏膜 Bax 蛋白含量、上皮细胞凋亡指数明显升高($P < 0.01$),但 TEA 组肠黏膜 Bax 蛋白含量和上皮细胞凋亡指数明显低于 HSR 组和 NS 组($P < 0.05$)。TEA 组肠黏膜 Bcl-2 蛋白含量明显高于其他三组($P < 0.05$)(表 3 和图 3)。

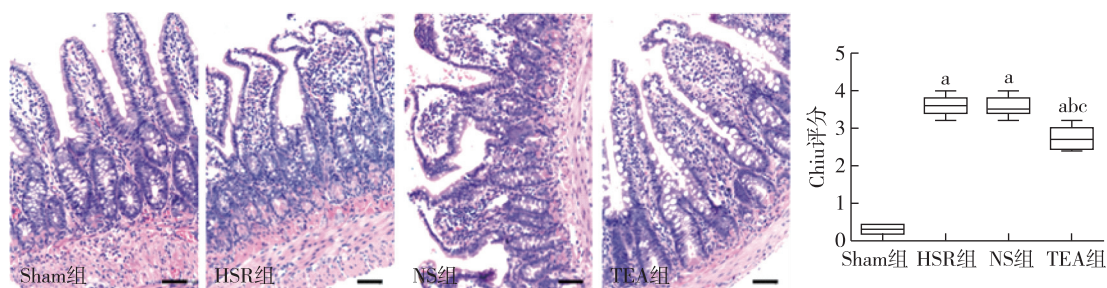
讨 论

失血性休克时全身血流重新分布,导致内脏血

表 1 四组大鼠不同时点 MAP 和 HR 的比较($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	只数	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6
MAP (mm Hg)	Sham 组	16	110.3 $\pm$ 8.9	118.1 $\pm$ 8.9	122.3 $\pm$ 5.1	119.3 $\pm$ 4.2	119.9 $\pm$ 4.4	115.0 $\pm$ 4.1
	HSR 组	16	118.1 $\pm$ 5.6	119.9 $\pm$ 4.5	40.2 $\pm$ 5.4 ^a	106.8 $\pm$ 9.2 ^a	107.1 $\pm$ 11.8 ^a	106.9 $\pm$ 8.6 ^a
	NS 组	16	113.8 $\pm$ 5.6	116.2 $\pm$ 5.8	39.7 $\pm$ 6.8 ^a	105.0 $\pm$ 12.1 ^a	107.3 $\pm$ 15.7 ^a	109.5 $\pm$ 9.5 ^a
	TEA 组	16	113.1 $\pm$ 9.3	103.9 $\pm$ 11.3 ^{abc}	38.4 $\pm$ 3.1 ^a	99.4 $\pm$ 11.4 ^a	100.5 $\pm$ 13.2 ^a	99.8 $\pm$ 13.4 ^a
HR (次/分)	Sham 组	16	402.4 $\pm$ 37.2	400.3 $\pm$ 18.9	401.9 $\pm$ 27.8	400.1 $\pm$ 42.5	403.8 $\pm$ 20.8	401.3 $\pm$ 14.6
	HSR 组	16	403.1 $\pm$ 22.3	397.1 $\pm$ 25.4	469.6 $\pm$ 29.8 ^a	435.6 $\pm$ 40.2 ^a	430.8 $\pm$ 38.0 ^a	427.9 $\pm$ 46.8 ^a
	NS 组	16	401.6 $\pm$ 44.5	401.9 $\pm$ 29.3	468.0 $\pm$ 29.1 ^a	437.1 $\pm$ 54.3 ^a	429.5 $\pm$ 33.8 ^a	425.5 $\pm$ 36.8 ^a
	TEA 组	16	402.1 $\pm$ 25.7	372.4 $\pm$ 38.4 ^{abc}	457.0 $\pm$ 31.4 ^a	425.5 $\pm$ 47.4 ^a	420.4 $\pm$ 38.6 ^a	420.1 $\pm$ 32.2 ^a

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 HSR 组比较,^b $P < 0.05$;与 NS 组比较,^c $P < 0.05$



注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 HSR 组比较,^b $P < 0.05$;与 NS 组比较,^c $P < 0.05$

图 1 四组大鼠肠黏膜 HE 染色($\times 200$)及 Chiu 评分的比较

表 2 四组大鼠肠黏膜 MDA 含量和 SOD 活性的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	MDA (nmol/mgprot)	SOD (U/mgprot)
Sham 组	6	3.22±0.62	14.37±1.62
HSR 组	6	7.19±0.14 ^a	5.92±1.27 ^a
NS 组	6	7.33±0.98 ^a	6.61±1.11 ^a
TEA 组	6	5.52±0.57 ^{abc}	10.62±0.89 ^{abc}

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 HSR 组比较,^b $P < 0.05$;与 NS 组比较,^c $P < 0.05$

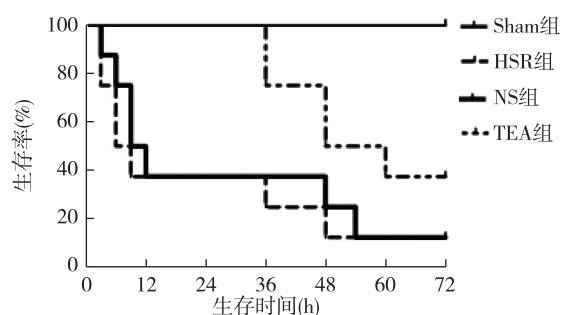


图 2 四组大鼠复苏后 72 h 生存曲线

供急剧减少,因肠黏膜具有高代谢特性和特殊的绒毛微血管结构,故对缺血、缺氧极为敏感;复苏后,重新得到血供的肠黏膜组织经历了缺血-再灌注损伤,引起肠黏膜屏障功能破坏,导致细菌移位、内毒素吸收,可诱发 SIRS 甚至 MODS^[1]。因此,减轻肠黏膜缺血-再灌注损伤、保护肠黏膜屏障功能是促进

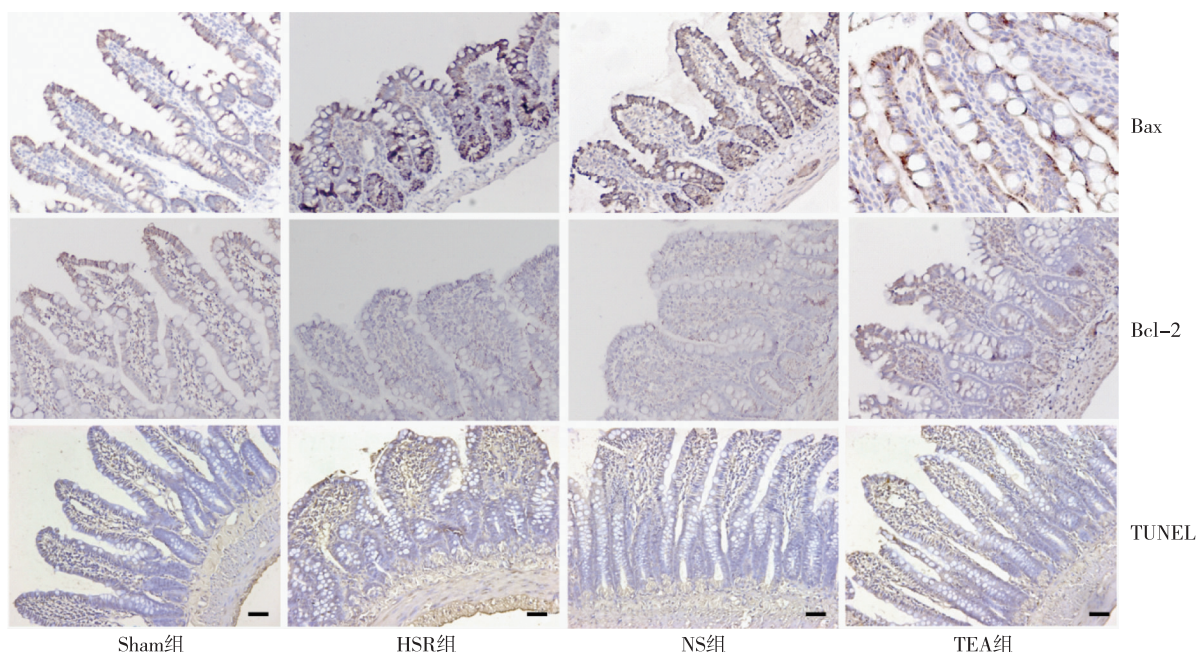
表 3 四组大鼠肠黏膜 Bax、Bcl-2 蛋白含量与上皮细胞凋亡指数的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	Bax (%)	Bcl-2 (%)	凋亡指数 (%)
Sham 组	6	10.79±3.40	11.87±1.68	4.51±1.09
HSR 组	6	48.03±6.17 ^a	10.29±1.18	30.91±1.91 ^a
NS 组	6	48.55±6.46 ^a	10.93±0.78	29.45±4.45 ^a
TEA 组	6	36.52±16.62 ^{abc}	17.41±1.22 ^{abc}	21.17±5.07 ^{abc}

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 HSR 组比较,^b $P < 0.05$;与 NS 组比较,^c $P < 0.05$

休克-复苏患者预后的重要治疗措施。本实验构建了大鼠失血性休克-复苏模型,发现预先实施下胸段硬膜外阻滞可减轻失血性休克-复苏引起的肠黏膜氧化损伤和细胞凋亡,提高复苏后 72 h 的生存率,可能与下胸段硬膜外阻滞增加肠黏膜抗氧化酶 SOD 活性和抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达有关。

氧化应激是失血性休克-复苏引起肠黏膜损伤的重要致病机制^[9,10]。研究表明,胸段硬膜外阻滞通过阻断交感神经和伤害性刺激传入,以减少去甲肾上腺素释放,从而改善肠血流灌注,降低氧化损伤,促进肠功能恢复^[2~4,6]。此外,胸段硬膜外阻滞还可降低促炎细胞因子,如 IL-6 等的释放,增加抗炎因子,如 IL-10、IL-4 等来减轻炎症反应^[5,9];通过抑制去甲肾上腺素释放减少 TNF- α 含量,以抑制白细胞的聚集、粘附和激活,从而改善缺血-再灌注后

图 3 四组大鼠肠黏膜 Bax、Bcl-2 蛋白含量免疫组织化学染色($\times 200$)及细胞凋亡 TUNEL 染色($\times 200$)

肠道微循环^[4~6]。本实验结果显示,预先行下胸段硬膜外阻滞可明显提高肠黏膜 SOD 活性,以减少随后失血性休克-复苏导致的肠黏膜 MDA 生成,抑制肠黏膜细胞氧化应激损伤,其机制可能是硬膜阻滞诱导一氧化氮合酶(nitric oxidase synthase, NOS),进而诱导 NO 信号分子生成^[11]。

肠黏膜上皮细胞凋亡是失血性休克-复苏导致肠黏膜屏障损害的另一重要因素^[12]。研究表明,胸段硬膜外阻滞减轻肠缺血-再灌注导致的上皮细胞凋亡,与抑制肠道白细胞黏附、巨噬细胞激活,减少炎症介质和细胞因子释放有关^[5]。同时,胸段硬膜外阻滞也能阻断节前交感神经、减少儿茶酚胺释放、降低肾上腺素对巨噬细胞表面粘附分子,如 L-选择素等的上调作用,从而抑制巨噬细胞激活、渗出及上皮细胞凋亡^[6, 13]。本研究结果显示,失血性休克-复苏后肠黏膜细胞存在大量细胞凋亡,而预先给予下胸段硬膜外阻滞可促进 Bcl-2 表达,从而抑制凋亡相关蛋白 Bax 表达,降低肠黏膜上皮细胞凋亡,发挥肠道保护作用。

研究表明,静脉注射罗哌卡因减轻皮肤痛觉敏化、抑制肠道炎症反应的有效剂量,是硬膜外神经阻滞有效剂量的 10~20 倍^[14]。本研究采用低浓度、小剂量罗哌卡因行下胸段硬膜外神经阻滞,推测即使有一定量的罗哌卡因进入体循环,也不能达到有效血浆浓度施加对肠道黏膜屏障的影响,同时亦能排除罗哌卡因的全身作用。

本研究是在构建失血性休克-复苏模型之前,预先给予小剂量、低浓度罗哌卡因行下胸段硬膜外阻滞这一预处理方式,而非在休克时施加,因此对休克-复苏过程中的 MAP、HR 影响小,可通过上调抗氧化酶 SOD 活性、抗凋亡蛋白 Bcl-2 来预防随后的肠黏膜损伤。

综上所述,下胸段硬膜外阻滞可增强肠黏膜抗氧化、抗凋亡能力,从而抑制黏膜上皮氧化应激和细胞凋亡,保护肠黏膜屏障功能,以促进失血性休克-复苏后生存。

参 考 文 献

- [1] Fishman JE, Sheth SU, Levy G, et al. Intraluminal nonbacterial intestinal components control gut and lung injury after trauma hemorrhagic shock. *Ann Surg*, 2014, 260(6): 1112-11120.
- [2] Schaper J, Ahmed R, Perschel FH, et al. Thoracic epidural anesthesia attenuates endotoxin-induced impairment of gastrointestinal organ perfusion. *Anesthesiology*, 2010, 113(1): 126-133.
- [3] Daudel F, Freise H, Westphal M, et al. Continuous thoracic epidural anesthesia improves gut mucosal microcirculation in rats with sepsis. *Shock*, 2007, 28(5): 610-614.
- [4] Freise H, Lauer S, Anthonsen S, et al. Thoracic epidural analgesia augments ileal mucosal capillary perfusion and improves survival in severe acute pancreatitis in rats. *Anesthesiology*, 2006, 105(2): 354-359.
- [5] Bedirli N, Akyürek N, Kurtipek O, et al. Thoracic epidural bupivacaine attenuates inflammatory response, intestinal lipid peroxidation, oxidative injury, and mucosal apoptosis induced by mesenteric ischemia/reperfusion. *Anesth Analg*, 2011, 113(5): 1226-1232.
- [6] Schaper J, Wagner A, Enigk F, et al. Regional sympathetic blockade attenuates activation of intestinal macrophages and reduces gut barrier failure. *Anesthesiology*, 2013, 118(1): 134-142.
- [7] 周波,陈国忠. 改良导管固定法在硬膜外阻滞大鼠模型构建中的应用. *中国比较医学杂志*, 2012, 11(1): 37-40.
- [8] Robinson DA, Wang P, Chaudry IH. Pentoxifylline restores the depressed cardiac performance after trauma-hemorrhage and resuscitation. *J Surg Res*, 1996, 66(1): 51-56.
- [9] Xiong W, Xu S, Li H, et al. Moderate hypothermia ameliorates enterocyte mitochondrial dysfunction in severe shock and reperfusion. *J Surg Res*, 2016, 200(1): 250-259.
- [10] Zeng Z, Yang Y, Dai X, et al. Polydatin ameliorates injury to the small intestine induced by hemorrhagic shock via SIRT3 activation-mediated mitochondrial protection. *Expert Opin Ther Targets*, 2016, 20(6): 645-652.
- [11] Onan IS, Onan B, Korkmaz AA, et al. Effects of thoracic epidural anesthesia on flow and endothelium of internal thoracic artery in coronary artery bypass graft surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2011, 25(6): 1063-1070.
- [12] Diebel ME, Diebel LN, Manke CW, et al. Early tranexamic acid administration: a protective effect on gut barrier function following ischemia/reperfusion injury. *J Trauma Acute Care Surg*, 2015, 79(6): 1015-1022.
- [13] Sodhi CP, Jia H, Yamaguchi Y, et al. Intestinal epithelial TLR-4 activation is required for the development of acute lung injury after trauma/hemorrhagic shock via the release of HMGB1 from the gut. *J Immunol*, 2015, 194(10): 4931-4939.
- [14] Yeri H, Andreas RG, Patrick W, et al. Systemic ropivacaine diminishes pain sensitization processes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study in healthy volunteers. *Pain Ther*, 2014, 3(1): 45-58.

(收稿日期:2017-08-31)