

ПРОТОНАКТИВИРУЕМЫЕ ИОННЫЕ ТОКИ В НЕЙРОНАХ СПИНАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ КРЫС И ДЕЙСТВИЕ НА НИХ КЕТАНОВА

Поступила 12.07.2012.

В условиях первичной культуры с использованием метода фиксации потенциала в конфигурации “целая клетка” и внутриклеточной перфузии были исследованы кинетика десенситизации токов, активируемых в нейронах дорсальнокорешковых ганглиев (ДКГ) крыс кратковременным смещением внеклеточного рН до 6,0, и изменения этих токов под действием кетанова. Все наблюдаемые протонактивируемые токи соответственно временным характеристикам затухания можно было разделить на три группы: с моноэкспоненциальной быстрой, моноэкспоненциальной медленной и биэкспоненциальной кинетиками десенситизации. Нейроны с быстрой моноэкспоненциальной кинетикой, в свою очередь, разделялись на две подгруппы. В подгруппе нейронов 1А постоянная времени десенситизации τ варьировала в пределах 160–250 мс ($n = 32$), а в подгруппе 1Б – 250–1500 мс ($n = 26$). Нейроны с постоянной времени десенситизации 1500–5000 мс были отнесены к подгруппе 2А ($n = 11$), а клетки с наиболее медленным затуханием токов сформировали подгруппу 2Б ($\tau > 5000$ мс, $n = 7$). Клетки группы 3, у которых токи демонстрировали биэкспоненциальную кинетику десенситизации, имели постоянную времени спада «быстрой» экспоненты 200–600 мс ($n = 21$). В условиях аппликации кетанова в концентрации 100 мкМ постоянная времени десенситизации рН-индуцированных токов в большинстве исследованных нейронов ДКГ уменьшалась на 15–20 %. В нейронах подгруппы 2А (затухание «моноэкспоненциальных» токов с $\tau = 1500$ –5000 мс) токи под влиянием 100 мкМ кетанова демонстрировали не только ускорение десенситизации на 10–20 %, но и снижение амплитуды на 12–22 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: протонактивируемые ионные каналы, сенсорные нейроны, кинетика десенситизации рецептора, противовоспалительные обезболивающие препараты, кетанов (триметамин кеторолака).

ВВЕДЕНИЕ

Ацидификация межклеточной среды является одним из существенных факторов, сопровождающих воспалительный процесс. Первичные сенсорные нейроны системы болевой чувствительности реагируют на закисление среды генерацией входящих протонактивируемых токов. Известно, что в мембране нервных клеток существуют протончувствительные ионные каналы (ASIC) нескольких типов [1–6], которые ответственны за генерацию упомянутых токов.

Агенты, которые специфически угнетают активность нейронов, входящих в систему ноцицепции,

¹ Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев (Украина).

Эл почта: petrushenko@biph.kiev.ua (Е. А. Петрушенко).

позволяют в той или иной степени нейтрализовать чувство боли (желательно без вмешательства в другие физиологические процессы и возможных побочных эффектов). Для устранения воспалительного процесса и боли в медицине широко применяются нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). Одним из таких препаратов является кетанов (триметамин кеторолака), который обладает выраженным обезболивающим действием. Предполагается, что механизм его действия связан в основном с неспецифическим ингибированием циклооксигеназы и подавлением синтеза провоспалительных простагландинов – производных арахидоновой кислоты. В ряде работ, однако, высказываются предположения о том, что обезболивающее действие НПВП может основываться и на других механизмах, в частности на подавлении

активности протончувствительных ионных каналов [7–10].

Мы исследовали изменения кинетики протонактивируемых ионных токов в мембране первичных афферентных нейронов (клеток дорсальнокорешковых ганглиев – ДКГ) крыс под действием упомянутого анальгетика (кетанова).

МЕТОДИКА

Получение изолированных нейронов. Эксперименты были проведены на нейронах ДКГ, полученных от 10–12-дневных крыс линии Вистар и находящихся в условиях первичной культуры. Ганглии выделяли у животного, подвергнутого декапитации после предварительной эфирной анестезии. Выделение проводилось в модифицированной среде Далбекко (DME, D5648) с добавлением натрия бикарбоната; раствор постоянно насыщался карбогеном (95 % O₂ + 5 % CO₂). Сразу после препарирования ганглии помещали в чашку Петри со средой, охлажденной до 4 °С. Для ферментативной обработки ганглии переносили в среду, содержащую в себе 3 мг/мл трипсина и 1 мг/мл коллагеназы (тип IV) и инкубировали при температуре 33–34 °С в течение 30 мин. Отмывание от смеси ферментов проводилось в условиях комнатной температуры двукратно со сменой среды. Затем ганглии переносили на дно чашек Петри с 2 мл среды для инкубации, включающей в себя 90 % DME, 10 % сыворотки эмбрионов телят (FCS) и 0.02 % гентамицина сульфата. Ткань ганглиев диспергировали, последовательно пропуская через стеклянные пипетки с диаметрами отверстия 1.0 и 0.5 мм. Чашки Петри с суспензией клеток помещали в инкубатор при 37 °С на 30 мин; культивирование проводили в среде воздуха, обогащенного CO₂ до 5 %. Регистрацию токов выполняли через 3–24 ч после начала инкубации.

Регистрация трансмембранных токов. Для регистрации ионных токов через мембрану исследуемых нейронов применяли метод «пэтч-клэмп» в конфигурации «целая клетка» и внутриклеточную перфузию с использованием стеклянных микропипеток [11]. Микропипетки изготавливали по методу Неера и соавт. [12]. Диаметр отверстия микропипетки составлял 3–4 мкм; она заполнялась внутриклеточным раствором, содержащим в себе 110 mM KF и 20 mM Tris-HCl (pH 7.3).

После установления гигаомного плотного контакта и прорыва клеточной мембраны пипетку с

клеткой с помощью манипуляторов помещали в стеклянную трубку, заполненную внеклеточным раствором 1 следующего состава (в миллимолях на 1 л): NaCl – 130, KCl – 5, CaCl₂ – 2, MgCl₂ – 1, HEPES – 20 (pH 7.4). В процессе эксперимента раствор 1 заменяли раствором 2 с пониженным pH (6.0). Данный раствор имел следующий состав (в миллимолях на 1 л): NaCl – 130, KCl – 5, CaCl₂ – 2, MgCl₂ – 1, MES – 20; pH доводили до нужного значения раствором NaOH.

Использование в наших экспериментах устройства «прыгающий столик» («Pharma Robot», Украина) и электромагнитного клапана позволяло производить весьма быструю (в течение 15–20 мс) замену внеклеточного раствора. Время регистрации токов обычно составляло 5–10 с.

Исследования на клетках начинались после стабилизации видимых потенциалзависимых токов и тока утечки. Стеклянную трубку с клеткой и микропипеткой перемещали из внеклеточного раствора 1 в раствор 2. После регистрации протонактивируемого тока проводилось отмывание клетки исходным раствором.

Аппроксимация кривых десенситизации. Кривые десенситизации аппроксимировали соответственно следующим формулам [3]:

В случаях моноэкспоненциальной кинетики: $I = I_0 + A \exp(-t/\tau)$, где I – ток в момент времени t , I_0 – недесенситизирующийся компонент тока, A – величина затухания тока в момент времени t ; τ – постоянная времени затухания.

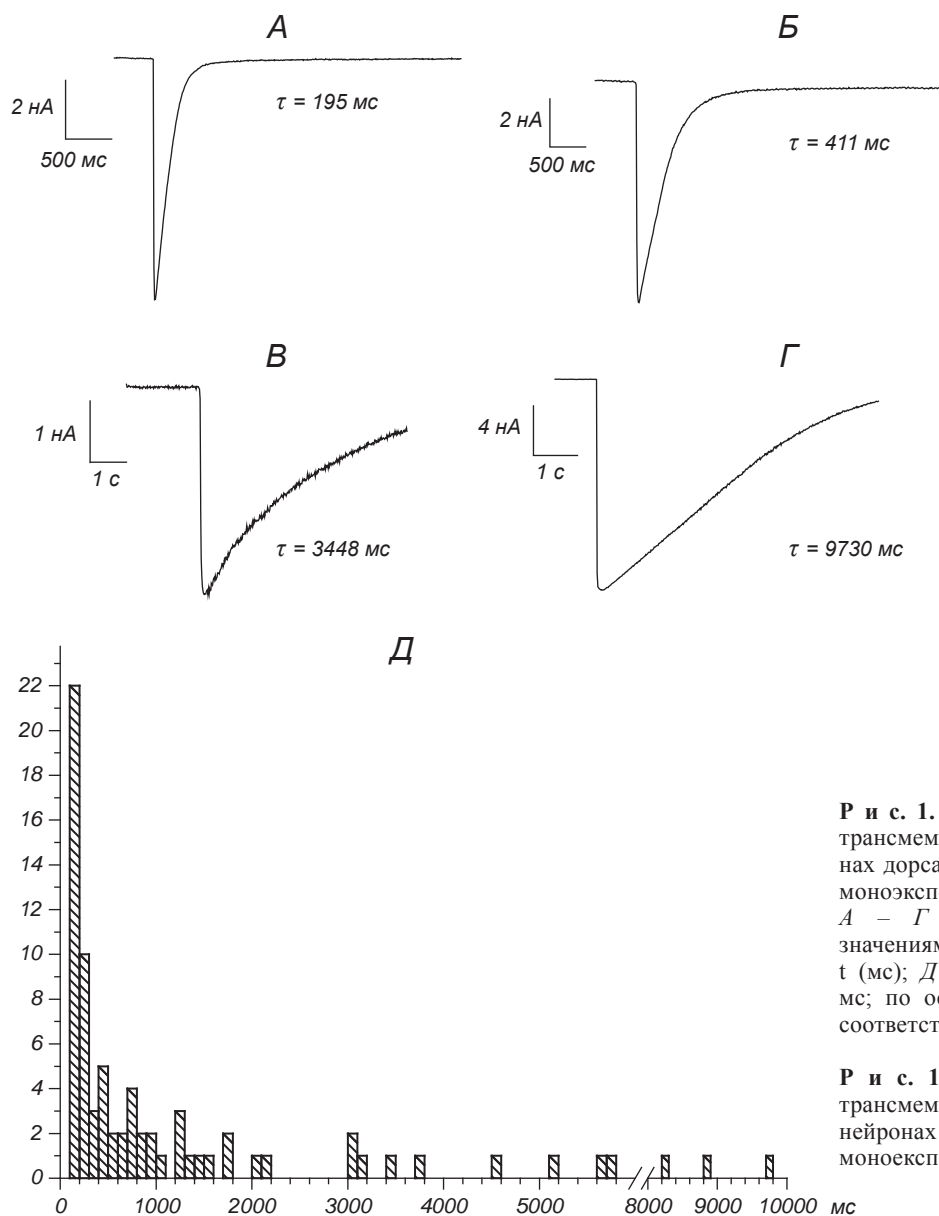
В случаях биэкспоненциальной кинетики: $I = I_0 + A_{\text{fast}} \exp(-t/\tau_{\text{fast}}) + A_{\text{slow}} \exp(-t/\tau_{\text{slow}})$, где I – ток в момент времени t , I_0 – недесенситизирующийся ток, A_{fast} и A_{slow} – амплитуды «быстрого» и «медленного» компонентов соответственно, τ_{fast} и τ_{slow} – постоянные времени затухания этих компонентов соответственно.

Для формулы (1) $I_0 + A = 1$; в случае формулы (2) $I_0 + A_{\text{fast}} + A_{\text{slow}} = 1$.

Перед процедурой аппроксимации каждую кривую нормировали относительно максимума отрицательного значения тока.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Всего были исследованы 103 нейрона, изолированных из ДКГ крыс. Под действием снижения pH внеклеточного раствора до 6.0 в большинстве тестированных нейронов наблюдались входящие токи



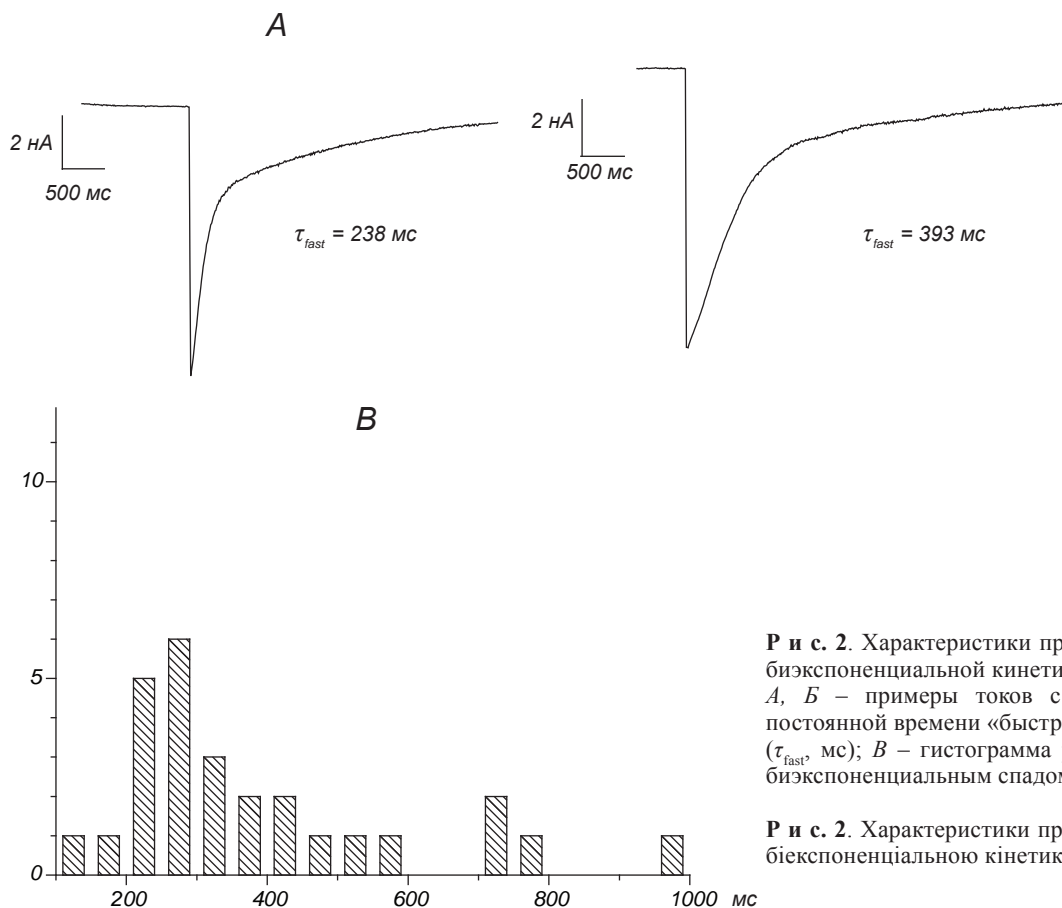
Р и с. 1. Характеристики протонактивируемых трансмембранных токов, наблюдаемых в нейронах дорсальнокорешковых ганглиев и имеющих моноэкспоненциальную кинетику спада. А – Г – примеры токов с различными значениями постоянной времени затухания t (мс); Д – гистограмма (по оси абсцисс – τ , мс; по оси ординат – количество нейронов с соответствующей τ).

Р и с. 1. Характеристики протонактивованих трансмембранных струмів, які спостерігалися в нейронах дорсальнокорінцевих гангліїв і мали моноекспоненціальну кінетику спаду.

амплитудой 1–17 нА, активирующиеся в течение десятков миллисекунд и затухающие в течение 1–20 с.

Анализ кинетики спада рН-индуцированных токов (т. е. десенситизации соответствующих каналов) позволил дифференцировать клетки с моно- и биэкспоненциальным характером этих процессов. Из 103 исследованных нами клеток в 76 нейронах наблюдались токи с моноэкспоненциальным затуханием, а в 27 клетках (26 %) данный процесс был биэкспоненциальным. Кинетика спада токов характеризовалась весьма высокой вариабельностью; у нейронов с моноэкспоненциальной десенситизаци-

ей протонактивируемых каналов значения постоянной времени τ варьировали от 100–150 мс до 8–10 с (рис. 1). Как видно из данного рисунка, в пределах упомянутой выше общей выборки согласно характеристикам рН-индуцированных токов можно было выделить две группы, каждая из которых, в свою очередь, разделялась на две подгруппы. Наиболее многочисленную группу составляли нейроны с относительно «быстрыми» протонактивируемыми токами. В подгруппе 1А (клетки с быстрым моноэкспоненциальным затуханием токов) τ находилась в границах 160–250 мс ($n = 32$). Для подгруппы 1Б были характерны значения τ от 250 до 1500 мс



Р и с. 2. Характеристики протонактивируемых токов с биэкспоненциальной кинетикой спада. *А, Б* – примеры токов с различными значениями постоянной времени «быстрого» компонента затухания (τ_{fast} , мс); *В* – гистограмма распределения нейронов с биэкспоненциальным спадом. По оси абсцисс – τ_{fast} , мс.

Р и с. 2. Характеристики протонактивованих струмів з біекспоненціальною кінетикою спаду.

($n = 26$). Подгруппа 2А включала в себя клетки с промежуточными значениями τ (1500–5000 мс; $n = 11$). Нейроны с наиболее медленным моноэкспоненциальным затуханием рН-индуцированных токов вошли в подгруппу 2Б ($\tau > 5000$ мс; $n = 7$).

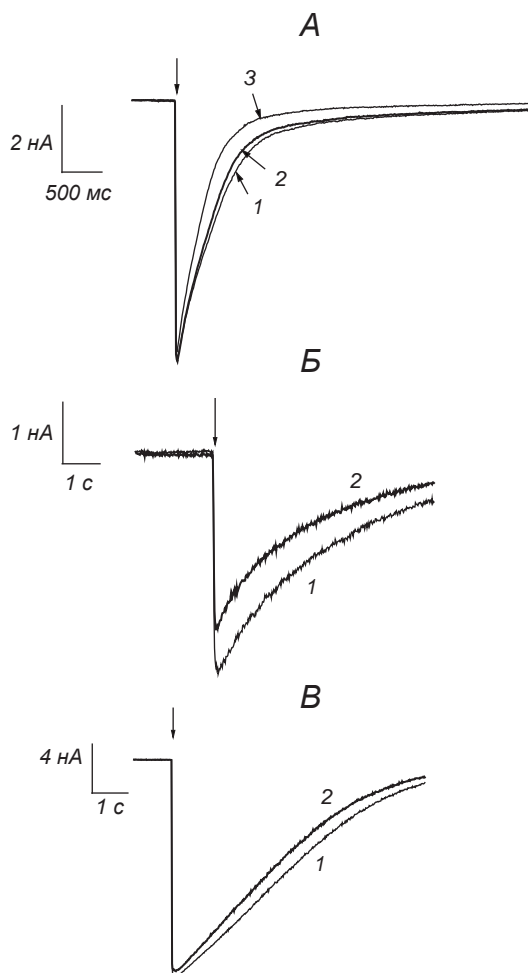
На рис. 2 представлены результаты вычислений кривых затухания токов, которые аппроксимировались двумя экспонентами, в 27 исследованных клетках ДКГ. Постоянная времени второй экспоненты биэкспоненциальных токов подробно не исследовалась, поскольку ее значения были весьма велики и переменны.

Как видно из рис. 2, у большинства нейронов, в которых токи характеризовались указанной биэкспоненциальной кинетикой десенситизации соответствующих рецепторов, постоянная времени спада быстрой экспоненты τ_{fast} варьировала от 200 до 600 мс ($n = 21$). В двух клетках наблюдались биэкспоненциальные токи с постоянной времени «быстрой» экспоненты τ_{fast} менее 200 мс, а в четырех τ_{fast} превышала 600 мс.

Результаты исследования изменений характеристик затухания различных рН-активируемых токов под действием кетанова показали, что данный фармакологический агент обычно вызывал уменьшение постоянной времени спада таких токов. Незначительный эффект кетанова наблюдался уже при его концентрации 10 мкМ. Под влиянием 50–100 мкМ кетанова постоянная времени затухания моноэкспоненциальных «быстрых» токов во всех случаях уменьшалась приблизительно на 15–20 % (рис. 3, А).

У биэкспоненциальных протонактивируемых токов постоянная времени спада «быстрой» экспоненты (τ_{fast}) также снижалась на 15–20 %, как и в условиях моноэкспоненциальных токов.

Постоянная времени затухания «медленных» моноэкспоненциальных токов подгруппы 2А с промежуточными значениями скорости данного процесса ($\tau = 1500–5000$ мс) уменьшалась на 10–20 % (рис. 4, Б). Однако необходимо отметить, что у токов, наблюдаемых в нейронах этой подгруппы, под



Р и с. 3. Влияние кетанова на протонактивируемые трансмембранные токи в нейронах дорсальнокорешковых ганглиев.

А – «быстрые» токи в нейроне группы 1: 1 – в контроле (стрелкой указан момент снижения pH внеклеточного раствора до 6.0); 2 – в условиях действия 20, 3 – 50 мкМ кетанова. *Б* – токи в нейроне подгруппы 2А: 1 – в контроле, 2 – в условиях действия 100 мкМ кетанова. *В* – токи в нейроне подгруппы 2Б. Обозначения те же, что и на рис. *Б*, 2.

Р и с. 3. Вплив кетанова на протонактивовані трансмембранні струми в нейронах дорсальнокорінцевих гангліїв.

действием кетанова происходило не только заметное уменьшение постоянной времени спада, но и падение амплитуды на 12–22 %.

Постоянная времени спада «медленных» моноэкспоненциальных токов в нейронах подгруппы 2Б со значениями $\tau > 5000$ мс уменьшалась на 10–15 % (рис. 3, *В*). Амплитуда токов в клетках этой подгруппы под действием 100 мкМ кетанова не изменялась.

ОБСУЖДЕНИЕ

Протонуправляемые ионные каналы (ASIC) относятся к подсемейству тетродотоксинчувствительных натриевых каналов, образуемых белками-дегенеринами (NaC/DEG). Первичные последовательности молекул этих белков образуют два трансмембранных домена и внеклеточную петлю. Предполагается, что первый трансмембранный домен участвует в формировании поры и обеспечи-

вает селекцию ионов [3]. В чувствительных нейронах ДКГ млекопитающих субъединицы ASIC могут образовывать гомо- и гетеромультимерные каналы; окончательный результат определяется экспрессией тех или иных генов, кодирующих в исследуемых клетках разные субъединицы. На сегодняшний день в спинальных нейронах идентифицированы следующие субъединицы ASIC: ASIC1 (формы а и b), ASIC2 (формы а и b) и ASIC3 (DRASIC). Точные комбинации субъединиц, функционирующих в природных протонактивируемых ионных каналах, пока не установлены, но оба вида гомо- и гетеромерных каналов, вероятно, сосуществуют [4, 6, 10, 13–18]. ASIC-каналы, сформированные из разных субъединиц, характеризуются различной кинетикой индуцированных токов. Гетеромерные каналы ASIC1a+3, ASIC1b+3 и ASIC2a+3 отличаются меньшими значениями временных параметров десенситизации, чем соответствующие гомомерные каналы [10, 13–16].

Учитывая параметры рассчитанной нами кинетики затухания различных протонактивируемых токов, а также данные литературы, можно предположить следующее соответствие между описанными видами токов и известными видами каналов ASIC.

Моноэкспоненциальные «быстрые» токи в клетках подтипа 1А с крайними значениями τ десенситизации 160–250 мс могут, видимо, переноситься через каналы ASIC2, которые присутствуют в больших механочувствительных нейронах ДКГ [9]. За моноэкспоненциальные «быстрые» токи подтипа 1Б ($\tau = 250$ –1500 мс), возможно, ответственны каналы ASIC3 ($pH_{50} = 6.2$ –6.7). Моноэкспоненциальные же «медленные» токи в нейронах подтипа 2А ($\tau = 1500$ –5000 мс), вероятно, переносятся через каналы ASIC1a ($pH_{50} = 6.2$ –6.8) [14–16].

Наиболее «медленные» моноэкспоненциальные токи в клетках подтипа 2Б ($\tau > 5000$ мс) могут пе-

реноситься через каналы ASIC1b (ASIC-бета). Эти каналы активируются при значениях pH 5.9–6.4 и, в отличие от ASIC1a, не пропускают ионов Ca^{2+} . Необходимо упомянуть, что каналы ASIC1b встречаются только в соматосенсорных нейронах ДКГ малого и большого диаметров, но отсутствуют в симпатических нейронах [14, 15, 17, 18].

К каналам с биэкспоненциальной кинетикой десенситизации могут относиться гетеромерные каналы ASIC1a+3, ASIC1b+3, ASIC1a+2a+3, ASIC1b+2a+3 и ASIC2a+3. Среднее значение постоянной времени десенситизации первой экспоненты у токов этой группы (τ_{fast}) составляло 317 ± 114 мс ($n = 21$). Известно, что для каналов ASIC 2a+3 характерны наличие постоянного компонента в кинетике десенситизации и большие значения проводимости [15, 16, 19–22].

Исследование изменения кинетики десенситизации pH-чувствительных каналов под действием различных фармакологических агентов представляет очевидный интерес в аспекте поиска как эффективных обезболивающих препаратов, так и молекулярных зондов, позволяющих изучать свойства различных субъединиц каналов ASIC и идентифицировать разные типы и подтипы этих каналов.

Считается, что механизм действия противовоспалительных препаратов главным образом основывается на их ингибирующем влиянии на фермент циклооксигеназу, необходимую для синтеза простагландинов [7, 8, 23]. С другой стороны, высказывалось предположение [24], что обезболивающее действие кетанова может быть связано с действием на нейроны ЦНС и не обусловлено влиянием на рецепторы простагландинов или опиоидов. Были получены ряд данных об ингибирующем влиянии НПВП как на активность pH-чувствительных ионных каналов в нейронах спинальных ганглиев, так и на индуцированное воспалением повышение экспрессии таких каналов [9].

Мы исследовали влияние кетанова на pH-активируемые токи в первичных сегментарных соматосенсорных нейронах (нейронах ДКГ) крысы. Как выяснилось, данный препарат в концентрации 100 мкМ обуславливал ускорение десенситизации протонактивируемых токов, что отражалось в некотором уменьшении постоянной времени указанного процесса. У большинства токов при этом каких-либо изменений амплитуды не обнаруживалось. В то же время у токов с моноэкспоненциальным затуханием и значениями τ 1500–5000 мс (подгруппа 2A) амплитуда токов под влиянием 100 мкМ кета-

нова заметно (на 12–22 %) снижалась. Мы предполагаем, что такие токи переносятся через каналы ASIC1a. По данным Бенсона и соавт. [14], каналы ASIC1a десенситизируются с моноэкспоненциальной кинетикой и $\tau = 1400$ –5000 мс. Функционирование этих каналов связывают с развитием болевых ощущений при ишемии и воспалении. Необходимо отметить, что для каналов ASIC1a, в отличие от других каналов семейства ASIC, был найден высокоспецифический блокатор палмотоксин-1 [13]. Кроме того, оказалось, что протонактивируемые токи, опосредованные каналами ASIC1a, под влиянием 0.5 мМ таких НПВП, как диклофенак, флурбипрофен и ибупрофен, подавляются [10].

Таким образом, влияние кетанова на протонактивируемые токи, характеризующиеся промежуточными значениями скорости десенситизации ($\tau = 1500$ –5000 мс), заметно более выражено, чем на токи с иными характеристиками затухания. Поскольку есть основания полагать, что такие токи переносятся через каналы ASIC1a, относительно специфически связанные с генерацией болевых сигналов, не исключено, что именно упомянутый выше аспект действия кетанова имеет особое отношение к анальгетическим эффектам данного препарата.

О. А. Петрушенко¹

ПРОТОНАКТИВОВАНИ ІОННІ СТРУМИ В НЕЙРОНАХ СПІНАЛЬНИХ ГАНГЛІВ ШУРІВ І ДІЯ НА НИХ КЕТАНОВА

¹ Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).

Резюме

В умовах первинної культури з використанням методу фіксації потенціалу в конфігурації “ціла клітина” та внутрішньоклітинної перфузії були досліджені кінетика десенситизації струмів, активованих у нейронах дорсальнокорінцевих гангліїв (ДКГ) шурів короткочасним зміщенням позаклітинного pH до 6.0, і зміни цих струмів під впливом кетанова. Всі спостережені протонактивовані струми відповідно часових характеристик можна було поділити на три групи: з моноекспоненціальною швидкою, моноекспоненціальною повільною та біекспоненціальною кінетиками десенситизації. Нейрони із швидкою моноекспоненціальною кінетикою, в свою чергу, розділялися на дві підгрупи. У підгрупі нейронів 1A стала часу десенситизації τ варіювала в межах 160–250 мс ($n = 32$), а в підгрупі 1B – 250–1500 мс ($n = 26$). Нейрони із сталою часу десенситизації 1500–5000 мс

були віднесені до підгрупи 2А ($n = 11$), а клітини з найповільнішим згасанням струмів сформували підгрупу 2Б ($\tau > 5000$ мс, $n = 7$). Клітини, в яких струми демонстрували біекспоненціальну кінетику десенситизації, утворювали групу 3 зі сталою часу спаду „швидкої” експоненти 200–600 мс ($n = 21$). В умовах аплікації кетанова в концентрації 100 мкМ стала часу десенситизації рН-індукованих струмів у більшості досліджених нейронів ДКГ зменшувалася на 15–20 %. У нейронах підгрупи 2А (із згасанням „моноекспоненціальних” струмів з $\tau = 1500$ – 5000 мс) струми під впливом 100 мкМ кетанова демонстрували не тільки прискорення десенситизації на 10–20 %, але й зниження амплітуди на 12–22 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- O. Poirot, T. Berta, J. Decosted, and S. Kellenberg, “Distinct ASIC currents are expressed in rat putative nociceptors and are modulated by nerve injury,” *J. Physiol.*, **576**, No. 1, 215–234 (2006).
- O. A. Krishtal and V. I. Pidoplichko, “A receptor for protons in the membrane of sensory neurons may participate in nociception,” *Neuroscience*, **6**, No. 12, 2599–2601 (1981).
- О. И. Островская, Т. М. Волкова, О. А. Крышталь, “Свойства протонактивируемых ионных каналов в сенсорных нейронах крыс”, *Нейрофизиология / Neurophysiology*, **35**, № 2, 90–98 (2003).
- O. Krishtal, “The ASICs: signaling molecules? Modulators?” *Trends Neurosci.*, **26**, No. 9, 477–483 (2003).
- D. Alvares de la Rosa, P. Zhang, D. Shao, et al., “Functional implications of the localization and activity of acid-sensitive channels in rat peripheral nervous system,” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, No. 4, 2326–2331 (2002).
- E. Lingueglia, “Acid-sensing ion channels in sensory perception,” *J. Biol. Chem.*, **282**, 17325–17329 (2007).
- T. D. Warner, F. Giuliano, I. Vojnovic, et al., “Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full *in vitro* analysis,” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 7563–7568 (1999).
- G. A. Ushakova, N. V. Kozubenko, and Y. Y. Kobeliatsky, “Ketanov prevents changes in the level of calcium-binding protein S-100-Beta under postoperation pain,” *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **34**, № 2/3, 252–254 (2002).
- N. Voilley, J. Weille, J. Mamet, and M. Lazdunski, “Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors,” *J. Neurosci.*, **21**, No. 20, 8026–8033 (2001).
- N. Jang, K. Ran, R. Johnson, and B. Cooper, “The proton sensitivity, Ca^{2+} permeability and molecular basis of ASIC channels expressed in glabrous and hairy skin afferents,” *J. Neurophysiol.*, **95**, No. 1, 2–57 (2006).
- P. G. Kostyuk, “Intracellular perfusion of nerve cells and its effects on membrane currents,” *Physiol. Rev.*, **64**, No. 2, 435–454 (1984).
- O. P. Hamill, A. Marty, E. Neher, et al., “Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches,” *Pflügers Arch.*, **391**, No. 2, 85–100 (1981).
- P. Escoubas, J. De Weille, A. Lecoq, et al., “Isolation of a tarantula toxin specific for a class of protogated Na^+ channels,” *J. Biol. Chem.*, **275**, 25116–25121 (2000).
- C. J. Benson, J. Xie, J. A. Wemmie, et al., “Heteromultimers of DEG/EnaC subunit form H-gated channels in mouse sensory neurons,” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 2338–2343 (2002).
- M. Hesselager, D. Timmermann, and P. Ahring, “pH-dependency and desensitization kinetics of heterologously expressed combinations of ASIC subunits,” *J. Biol. Chem.*, **279**, 11006–11015 (2004).
- X. Jinghui, M. P. Price, A. L. Berger, and M. J. Welsh, “DRASIC contributes to pH-gated currents in large dorsal root ganglion sensory neurons by forming heteromultimeric channels,” *J. Neurophysiol.*, **87**, 2835–2843 (2002).
- C. Chen, S. England, A. Akopian, and J. Wood, “A sensory neuron-specific, proton-gated ion channel,” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 10240–10245 (1998).
- E. Bassler, T. Ngo-Anh, H. Geisler, et al., “Molecular and functional characterization of acid-sensing ion channel (ASIC) 1b,” *J. Biol. Chem.*, **276**, 33782–33787 (2001).
- K. Babinski, S. Catarsi, G. Biagini, and P. Séguéla, “Mammalian ASIC2a and ASIC3 subunits co-assemble into heteromeric proton-gated channels sensitive to Gd^{3+} ,” *J. Biol. Chem.*, **275**, 28519–28525 (2000).
- S. Sutherland, C. Benson, J. Adelman, and E. McCleskey, “Acid-sensing ion channel 3 matches the acid-gated current in cardiac ischemia-sensing neurons,” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 711–716 (2001).
- J. Yagi, H. Wenk, L. Naves, and E. McCleskey, “Sustained currents through ASIC3 ion channels at the modest pH changes that occur during myocardial ischemia,” *Circ. Res.*, **99**, 501–509 (2006).
- R. Waldmann, F. Bassilana, J. De Weille, et al., “Molecular cloning of a non-inactivating proton-gated Na^+ channel specific for sensory neurons,” *J. Biol. Chem.*, **272**, 20975–20978 (1997).
- T. Walters, M. Raizman, P. Ernest, et al., “In vivo pharmacokinetics and in vitro pharmacodynamics of nepafenac, amfenac, ketorolac and bromfenac,” *J. Cataract Refract Surg.*, **33**, No. 9, 1539–1545 (2007).
- D. Bustamantea and C. Paeile, “Ketorolac tromethamine: An experimental study of its analgesic effects in the rat,” *Gen. J. Pharmacol.*, **24**, No. 3, 693–698 (1993).