

腹外斜肌放电测量在幼鼠内脏痛觉高敏感模型评价中的应用

杨燕珍¹, 吴斌¹, 张睿¹, 卓玲¹, 陈兢芳¹, 林国威², 林春²

(福建医科大学 1. 附属第一医院儿科; 2. 生理与病理生理学系, 福建 福州 350005)

[摘要] 目的 探索幼鼠腹外斜肌放电测量的适宜条件, 为是否成功建立内脏痛觉高敏感幼鼠模型提供一种较为客观、有效的评价方法。方法 8 日龄 Sprague-Dawley 大鼠随机分成实验组和对照组。实验组每日给予 1 次直结肠刺激(CI), 连续 7 d; 对照组不给予 CI。随后, 在 6 周龄时用腹外斜肌放电方法测量结直肠在不同的扩张压力下的腹外斜肌放电幅度, 以评估幼鼠的内脏痛觉敏感性。结果 当结直肠扩张(CRD)为 30, 45 mmHg 时, 实验组腹外斜肌放电幅边缘估计均值显著高于对照组($P < 0.01$); 在控制组别等影响因素后, 当 CRD 为 60, 75 mmHg 时, 雌鼠腹外斜肌放电幅值的边缘估计均值均高于雄鼠($P < 0.05$)。结论 腹外斜肌放电证实在新生期进行持续的 CI 能造成幼鼠痛阈下降, 出现慢性内脏高敏感性, 并且有性别差异。电生理评价方法达到定量检测, 受较少人为主观因素的影响, 能较客观反应动物内脏痛觉的致敏效应, 特别适用于幼年动物模型。

[中国当代儿科杂志, 2008, 10(5): 637-641]

[关键词] 结直肠刺激; 内脏痛觉敏化; 腹外斜肌放电; 幼鼠

[中图分类号] R-33 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2008)05-0637-05

Assessment of the young rat model of visceral hypersensitivity by measuring electrical discharge of external oblique

YANG Yan-Zhen, WU Bin, ZHANG Rui, ZHUO Ling, CHEN Jing-Fang, LIN Guo-Wei, LIN Chun. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China (Wu B, Email: wbdnch@hotmail.com)

Abstract: Objective To study the value of measuring electrical discharge of external oblique in assessment of young rat model of visceral hypersensitivity. **Methods** Eight-day-old neonatal Sprague-Dawley rats were randomly assigned to two groups: an experimental group and a control group ($n = 16$ each). Rats in the experimental group were subjected to mechanical colorectal irritation daily for 7 consecutive days, while the rats in the control group did not received colorectal irritation treatment. On the 6th week of their lives, the spike amplitude of external oblique were measured to evaluate the bowel sensitivity. **Results** When the colorectal distention (CRD) pressure was 30 and 45 mmHg, the 95% confidence interval of the spike amplitude in the experimental group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.01$). When the CRD pressure were 60 and 75 mmHg, the 95% confidence interval of the spike amplitude in female rats was significantly higher than that in males ($P < 0.05$). **Conclusions** The electrical discharge of external oblique confirmed that chronic colorectal irritation in neonatal rats can result in a chronic visceral hypersensitivity in the juvenile stage, with gender differences. Electrophysiological assessment is a quantitative test, and can objectively reflect visceral sensibility of pain.

[Chin J Contemp Pediatr, 2008, 10(5): 637-641]

Key words: Colorectal irritation; Visceral hypersensitivity; Electrical discharge of external oblique; Young rats

儿童腹痛相关功能性胃肠病(FGIDs)的确切病因及发病机制至今尚不清楚。近年来, 内脏高敏性被认为是其症状产生的主要原因之一^[1~3]。内脏高敏感性指内脏组织对刺激的感受性增强, 表现为疼痛阈值下降, 即痛觉过敏, 甚至正常生理状态下不引起痛觉的刺激也能诱发疼痛。目前已建立的成鼠动物模型能模拟出 FGIDs 的一些关键特征, 如肠易激

综合征(IBS)腹痛/腹部不适的内脏痛模型、刺激肠道建立的内脏痛觉过敏模型及人为施加刺激建立的应激模型等, 但发育期大鼠(幼鼠)内脏痛觉敏化模型的研究明显滞后。另一方面, 尽管腹壁撤退反射(abdominal withdrawal reflex, AWR)评分和痛阈测定作为不同梯度压力刺激下结直肠疼痛反应指标, 已成为评价 IBS 内脏痛觉敏化的经典方法, 但由于这

[收稿日期] 2008-01-22; [修回日期] 2008-03-08
[基金项目] 福建省自然科学基金(C0510011)与教授学术发展基金(JS08011)资助课题。
[作者简介] 杨燕珍, 硕士研究生。主攻方向: 小儿消化。
[通讯作者] 吴斌, 男, 主任医师, 教授, 福建医科大学附属第一医院儿科, 邮编: 350005。

种行为学评价为半定量评分方法,在进行干预措施疗效评价、药物作用机制、药物量效关系等研究时无法做到定量分析,因此,国内外学者不断在寻求定量的内脏痛觉敏感性评价方法,如:结直肠扩张(colorectal distention, CRD)刺激下的腹壁肌肉放电测量,但迄今为止,未见有文献报道应用电生理学方法评价幼鼠内脏痛觉敏化。为此,我们改进 Al-chaer 的实验方法^[4],在幼鼠6周龄时进行内脏痛觉敏感评价以建立幼鼠慢性内脏痛觉敏化模型,本研究在进行 AWR 评分基础上,采用 CRD 方法诱发幼鼠腹外斜肌放电,测量腹外斜肌放电的幅度,探讨幼鼠腹外斜肌放电幅度变化特点,进一步验证该模型幼鼠具有内脏痛觉的敏化。现将研究结果报告如下。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级新生 Sprague-Dawley 大鼠4窝,每窝10只左右,雌雄约各半,购自福建医科大学实验动物中心[实验动物许可证号:SCXK(闽)2004-0002]。新生乳鼠出生7d内鼠乳喂养,自由摄食,与母鼠同笼;生后第8天进行分组,剔除每窝中体重过大或过小新生乳鼠,采用简单随机方法分别将新生乳鼠分为实验组和对照组,每组16只。实验组乳鼠在出生第8天开始每天下午固定时间接受结直肠刺激(colorectal irritation, CI),每日1次,连续7d;对照组只与母鼠分离、捉拿而不行结直肠刺激。其间乳鼠继续与母鼠同笼,鼠乳喂养直至21d与母鼠分离;分出实验组与对照组幼鼠,雌雄分开,每笼8只,采用混合配方饲料(由福建医科大学实验动物中心提供)喂养至6周,自由进食饮水,每日更换饮水、食料,保持幼鼠生活环境通风及清洁卫生;观察进食、饮水、活动、大小便情况,确保幼鼠健康及避开各种伤害性刺激。

1.2 实验材料

20 mm × 2.5 mm 人血管重建气囊(Medtronic AVE, santa Rosa, USA), RM6240BD 型多道生理信号采集处理系统,针形电极(成都仪器厂);鱼跃牌台式血压计(上海跃进医疗器械厂)自制结直肠加压气囊;乙醚;注射器;三通管;

1.3 结直肠扩张气囊的制作

由输液导管插入6号乳胶指套制成,长度4.0 cm,导管与指套连接处用丝线双重结扎,确保密封不漏气。导管通过三通管一端与血压计相连,一端连接橡皮加压球,气囊在实验前应充气过夜。

2 方法

2.1 慢性内脏痛觉敏化模型的制备

实验组乳鼠在出生后8~15d,每天下午接受一次CI。CI方法:将20 mm × 2.5 mm 人血管重建气囊全部插入乳鼠结直肠中,插入深度约3.0 cm,快速充气扩张产生60 mmHg 压力(血压计测定),压力维持1 min 后排出空气再撤出气囊。对照组除了不予CI刺激外其他过程相同。15 d 后实验组和对照组大鼠同样饲养,第6周进行结直肠扩张刺激后腹外斜肌放电测量^[4]。

2.2 幼鼠 CRD 后腹外斜肌放电测量方法

幼鼠6周龄时进行结直肠扩张刺激后腹外斜肌放电测量评价内脏敏感性。

幼鼠在实验前18 h 禁食不禁水,乙醚麻醉后,将外涂石蜡油的气囊插入结直肠内,使气囊末端深入肛门内1.0 cm,在肛门外1.0 cm 处用胶布将导管固定在鼠尾根部,导管经三通管连接注射器和血压计。幼鼠固定于手术台上,将针形电极插入腹股沟韧带上方、距中线1.5 cm 的一侧腹外斜肌上,待幼鼠苏醒并完全适应环境后30 min 开始实验。实验环境要求安静,保持相对湿度在40%~70%,室温18~29℃。按照从低到高的梯度注射空气,使球囊内压力分别达到15, 30, 45, 60, 75 mmHg,每次扩张持续10 s,重复5次,每次给予压力之间间歇4 min。用RM6240BD 多道生理信号采集处理系统记录在不同CRD 压力下大鼠腹外斜肌的放电活动(参数设置:高频滤过3 KHz,时间常数0.001 s,采样频率为40 Hz,灵敏度500 μV,走纸速度:200 ms/div)^[5]。

2.3 结肠组织病理学检查

实验结束后断头处死上述6周龄幼鼠,取其降结肠,用10%福尔马林固定,依次酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,取冠状切面,苏木精-伊红染色后在光镜下观察结肠组织形态学改变。根据结肠组织固有层中性粒细胞浸润程度和间质水肿程度分为轻、中、重度炎症。

2.4 统计学方法

在0 mmHg 压力下的腹外斜肌放电为基础放电,为消除基础放电的不同对结果的影响,将每只幼鼠在15, 30, 45, 60, 75 mmHg 各CRD 压力下的放电波幅减去其基础放电波幅,其差值代表不同CRD 压力下腹外斜肌放电幅值,结果采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用协方差分析和重复测量方差分析进行统计学分析,α = 0.05 为显著性检验标准。所

有统计分析均采用 SPSS11.0 统计学软件进行。

3 结果

3.1 实验组及对照组腹外斜肌放电情况

表 1 实验组和对照组在不同压力下腹外斜肌放电幅值 (x̄ ± s, μV)

组别	n	15 mmHg	30 mmHg	45 mmHg	60 mmHg	75 mmHg
对照组	16	2.02 ± 2.06	6.48 ± 4.41	13.42 ± 8.07	24.32 ± 4.37	25.09 ± 4.26
实验组	16	2.01 ± 1.99	14.03 ± 5.67	20.69 ± 3.61	24.21 ± 3.68	24.40 ± 4.32

3.2 重复测量方差分析结果

对幼鼠 CRD 刺激后腹外斜肌放电波幅值进行重复测量方差分析,幼鼠 CRD 刺激后腹外斜肌放电波幅受到新生期是否接受 CI(是否造模)及性别的影响, $F = 7.09, 5.95$, 均 $P < 0.05$;不同性别与是否造模之间无明显的交互作用(表 2)。

表 2 幼鼠腹外斜肌放电幅值重复测量方差分析结果

	MS	F	P
造模	314.33	7.09	0.013
性别	263.63	5.95	0.021
造模 * 性别	14.04	0.32	0.578

3.3 协方差分析结果

分别以不同 CRD 压力下幼鼠腹外斜肌放电波幅测量结果为应变量,以组别、幼鼠性别、体重为协变量,进行协方差分析。在控制组别等影响因素后,当 CRD 压力分别为 60,75 mmHg 时,雌性幼鼠腹外斜肌放电波幅的边缘估计均值均高于雄性大鼠,差别有显著性;当 CRD 压力为 30,45 mmHg,虽然雌性幼鼠腹外斜肌放电波幅的边缘估计均值仍高于雄性幼鼠,但差别无显著意义。在控制性别等影响因素后,当 CRD 压力分别为 30,45 mmHg 时,实验组腹外斜肌放电波幅的边缘估计均值均高于对照组,差别有显著意义;当 CRD 为 15 mmHg 低扩张压刺激和 60 mmHg、75 mmHg 高扩张压刺激时,两组腹外斜肌放电波幅边缘估计均值差异无显著性(表 3,4)。

表 3 不同性别幼鼠腹外斜肌放电幅值协方分析结果

CRD 压力 (mmHg)	雄性幼鼠	雌性幼鼠	P
	波幅边缘估计均值 (95% CI, μV)	波幅边缘估计均值 (95% CI, μV)	
15	2.21(1.14 ~ 3.27)	1.83(0.76 ~ 2.89)	0.610
30	8.88(6.31 ~ 11.45)	11.62(9.05 ~ 14.19)	0.134
45	16.28(13.00 ~ 19.56)	17.84(14.55 ~ 21.12)	0.498
60	22.38(20.50 ~ 24.25)	26.16(24.28 ~ 28.03)	0.007
75	22.98(20.95 ~ 25.01)	26.51(24.48 ~ 28.54)	0.018

对实验组和对照组在各个 CRD 压力下腹外斜肌放电幅值进行测量,在实验组和对照组内,随着直结肠扩张压力的增加,腹外斜肌放电幅值均逐渐增加(表 1)。

表 4 实验组和对照组幼鼠腹外斜肌放电幅值协方分析结果

CRD 压力 (mmHg)	对照组	实验组	P
	波幅边缘估计均值 (95% CI, μV)	波幅边缘估计均值 (95% CI, μV)	
15	2.03(0.96 ~ 3.09)	2.01(0.94 ~ 3.08)	0.988
30	6.48(3.91 ~ 9.05)	14.03(11.46 ~ 16.60)	0.000
45	13.42(10.14 ~ 16.71)	20.69(17.41 ~ 23.98)	0.003
60	24.32(22.45 ~ 26.20)	24.21(22.34 ~ 26.43)	0.932
75	25.09(23.06 ~ 27.11)	24.40(22.38 ~ 26.43)	0.631

3.4 结肠组织病理检查

研究结束时两组幼鼠解剖,均未见明显的肠腔扩张、与周围组织粘连等病理改变。降结肠常规病理切片所示两组降结肠未见明显组织损伤,组织切片均无中性粒细胞浸润,间质无明显水肿。

4 讨论

痛觉是意识水平的感觉,我们只能通过观察动物对伤害性刺激的行为反应来进行评价。对内脏痛觉的评价需采用内脏伤害性刺激的方法,业已证实:阶梯式 CRD 可作为没有束缚、清醒状态下大鼠内脏痛觉敏感性评价标准的致痛手段。内脏运动反应可能是一种简单的运动反应,在较低扩张压即非伤害性刺激时,大鼠表现为身体站立不动、肛门括约肌松弛,当扩张达到一定阈值以上,成为伤害性刺激时,则诱发大鼠腹部和下肢肌肉收缩,表现为腹肌收缩、腹壁呈扁平状继而拱起呈排便状、背部躬高、睾丸抬起、后肢伸展等行为表现,这些表现随扩张压力的增高而渐进性增强,且当保持一定的压力时,其行为表现可持续较长时间,根据腹部肌肉收缩程度进行 AWR 评分可用于评价结直肠痛觉^[4],但已有的研究中显示:AWR 评分易受气温、湿度、昼夜节律、饥饿状态、动物种系、性别与周龄等多种因素的影响,在对成年大鼠的研究中,气囊长度、性别等因素同样也影响 AWR 评分结果^[6]。同时,由于 AWR 评分为半

定量评分方法,尽管能够客观评价内脏痛觉,但不可避免存在主观性偏差,因此,在干预措施疗效评价、药物作用机制、药物量效关系等研究时无法对内脏痛觉敏感性做到定量分析。另外,对于幼年动物,准确区分这4级也比较困难。Ness报道^[5]:清醒大鼠给予CRD刺激后引发腹部和后肢肌肉收缩是一种内脏运动反应,在大鼠腹壁肌肉放置电极,通过记录放电幅度的变化反映腹肌收缩与否及其程度,因此,通过腹外斜肌肌电活动检测,并对这种肌电活动进行放大和杂波滤过后可以定量测定CRD刺激后内脏运动反应程度,达到定量评价大鼠内脏痛觉敏感性的目的;对于清醒的、未加任何约束的大鼠,腹外斜肌放电测量稳定可靠、重复性好,尤其适合于组间和组内动物研究。近年来,国内外学者开始采用腹壁肌肉放电测量作为内脏痛觉的定量评价方法。例如:Welting^[7]和Coutinho^[8]采用腹外斜肌放电为评价指标,对新生期母婴分离刺激对成鼠内脏痛觉敏感性进行探讨;李为民等^[9]利用IBS大鼠模型,以大鼠AWR和腹直肌肌电(AEMG)变化(计数单位时间内的峰电位数目)为指标,对电针治疗慢性内脏痛敏的作用规律进行研究,观察针刺治疗作用规律。吕红^[10]、刘雁冰^[11]同样采用腹肌电活动为评价指标,分别对传统束缚应激动物模型、新生期肠道内的慢性刺激动物模型的内脏痛觉敏感性进行评价;因此,与行为学相比,电生理评价方法达到量化、较少受人为主观因素的影响,能较为客观反应动物内脏痛觉的致敏效应,特别适用于幼年动物模型,但至今未见应用电生理学方法评价幼鼠内脏痛觉敏化程度,本研究结合国内外文献报道,试图建立幼鼠内脏痛觉的电生理评价条件和方法,采用电生理方法进一步验证新生期伤害性CI对幼鼠内脏痛觉敏感性的影响及其性别差异。

本研究中,腹外斜肌放电检测结果显示:在30, 45 mmHg压力范围内,在相同CRD压力下,实验组腹外斜肌放电幅值明显高于对照组,两组差异有显著性,在CRD 60 mmHg后两组腹外斜肌放电幅值差异无显著性;与对照组相比,实验组幼鼠痛阈明显降低;当CRD压力从30 mmHg上升至45 mmHg时,实验组幼鼠腹外斜肌放电幅值大幅度上升,接近最大值,而对照组在CRD压力从45 mmHg上升至60 mmHg时,腹外斜肌放电幅值才出现大幅度上升,接近最大值。表明新生期接受伤害性CI,到发育期(幼鼠)时受到低扩张压力刺激时,就可导致内脏敏感性显著增强,腹外斜肌放电幅值接近最大值,至使当扩张压再增高,腹外斜肌放电幅值增加也不明显,

与对照组相比差异无显著性。这与新生期同样接受CI,到成鼠期受到CRD刺激所表现出来的AWR评分、肌电活动频率和波幅均显著增高不完全一致,说明新生期接受伤害性CI所致的内脏高敏感性,在幼鼠期更为明显,只要受到低扩张压力刺激,就可使大鼠表现出相对较为强烈的痛觉反应,表现为AWR评分和腹外斜肌放电幅值明显升高。这可能与幼鼠和成鼠结肠对扩张的感受器不同有关,不同的机械性刺激传入感受器分别对低阈值和高阈值刺激做出反应;由于生后至幼鼠期所受到的外来刺激少,强度低,因此,主要由接受低阈值扩张刺激的感受器发挥作用,故其较为敏感;到成鼠期,由于外来刺激增多,强度增强,使低阈值扩张刺激的感受器出现钝化,敏感性下降,而主要由接受高阈值刺激的感受器发挥作用。研究结果表明在新生期进行持续的CI的确能造成慢性内脏高敏感性,并且这种高敏感性在幼年期比成年期更为明显,同时,这种高敏感的发生没有明确的组织病理学改变,与IBS等腹痛相关性FGIDs的病理学和症状学表现相类似。

近年来,不同性别FGIDs发病率的差异日益受到重视,报道显示^[12]IBS在男女两性的发病率不同,如在美国、大多数欧洲国家、中国及日本,IBS影响14%~24%的女性及5%~19%的男性。但是导致性别差异的原因仍不清楚,在儿童内脏痛觉敏感性是否存在性别上差异尚未见有文献报道,Al-Char等^[4]研究仅应用了雄性大鼠,未探讨CI对雌性乳大鼠的影响。本组资料中,在控制幼鼠组别、体重等影响因素后,对雄性和雌性幼鼠内脏痛觉敏感性差别进行的评价,结果显示:在60和75 mmHg压力进行CRD时,6周龄雌性幼鼠腹外斜肌放电幅值差明显高于雄性幼鼠,两者之间差别有统计学意义,而在30 mmHg和45 mmHg压力进行CRD时,尽管雌性幼鼠AWR评分仍高于雄性幼鼠,但两者之间差别无显著意义,该结果与行为学评分获得了较为一致的结果。提示:在雌雄幼鼠同时接受相同压力刺激时,雌性幼鼠更容易表现出内脏高敏感性,对CRD的耐受能力更差,而且,这种差别只有在接受高阈值刺激才有显著意义。国内外文献报道^[13,14]:雌激素可增加直肠感觉敏感性,而且,雌激素对内脏感觉的作用存在着剂量依赖性;而在本组资料中,6周龄幼鼠尚处在发育期,尽管我们没有对幼鼠体内雌激素水平进行测定,但可以肯定的是雌性幼鼠和雄性幼鼠体内雌激素水平差异并不如成年期大鼠明显,提示除雌激素外,可能还有其他遗传性因素及生后雌雄幼鼠在生理、心理等因素造成不同性别幼鼠内脏

痛觉敏感性的差异,这有待进一步研究。

总之,与 AWR 评分法相比,腹外斜肌放电测量能较为客观反应动物内脏痛觉的致敏效应,特别适用于幼年动物模型,可以作为定量评价慢性内脏痛觉敏化幼鼠模型是否制备成功的方法。本研究结果证实新生儿接受伤害性 CI 的幼鼠存在内脏痛觉敏化、痛阈下降,雌性幼鼠更为明显。随着新生儿诊疗技术的发展,一些严重的肠道畸形如先天性巨结肠、先天性肛门闭锁、肠旋转不良等也可以通过手术的方式得到救治,在生命得到救治的同时,所接受的疼痛性的结直肠侵入性操作也随之增多,因此,尽可能减少新生儿肠道疼痛性刺激将有助于降低其对个体所造成的远期危害。

[参 考 文 献]

[1] American Academy of Pediatrics and North American Society for Pediatric Gastro-enterology, Hepatology, and Nutrition. Chronic abdominal pain in children[J]. Pediatrics, 2005, 115(3):370-381.

[2] Rasquin A, Dilorenzo C, Forbes D, Guiraldes E, Hyams JS, Staiano A, et al. Childhood functional gastrointestinal disorders: child/adolescent [J]. Gastroenterology, 2006, 130(5):1527-1537.

[3] Mark F, Brad B, Christopher E. The primary care physician's approach to functional abdominal pain in childhood[J]. J Clin Gastroenterol, 2006, 40(6):497-503.

[4] Al-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development[J]. Gastroenterology, 2000, 119

(5):1276-1285.

[5] Ness TJ, Gebhart GF. Colorectal distension as a noxious visceral stimulus: physiological and pharmacological characterization of pseudoaffective reflexes in the rat[J]. Brain Res, 1988, 450(1-2):153-169.

[6] 姚明,杨建平,肖旺频,矫勇铁,蒋星红,印其章. 大鼠结肠扩张内脏痛模型痛阈的影响因素[J]. 中华麻醉学杂志, 2004, 24(7):554-555.

[7] Welting O, Van Den Wijngaard RM, De Jonge WJ, Holman R, Boeckxstaens GE. Assessment of visceral sensitivity using radio telemetry in a rat model of maternal separation[J]. Neurogastroenterol Motil, 2005, 17(6):838-845.

[8] Coutinho SV, Plotsky PM, Sablad M, Miller JC, Zhou H, Bayati AI, et al. Neonatal maternal separation alters stress-induced responses to viscerosomatic nociceptive stimuli in rat [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2002, 282(2):G307-G316.

[9] 李为民,崔可密,吴根诚. 电针治疗肠易激综合征大鼠作用观察[J]. 上海针灸杂志, 2006, 25(3):43-48.

[10] 吕红,王伟岸,钱家鸣. 传统束缚应激动物模型内脏感觉的新评价[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2005, 14(2):111-114.

[11] 刘雁冰,袁耀宗,陶然君,翟祖康,陈红专. 大鼠肠道高敏性模型的建立及其内脏敏感性评估[J]. 中华消化杂志, 2003, 23(1):34-37.

[12] Saito YA, Locke GR 3rd, Weaver AL, Zinsmeister AR, Talley NJ. Diet and functional gastrointestinal disorders: a population-based case-control study [J]. Am J Gastroenterol, 2005, 100(12):2743-2748.

[13] Ji Y, Murphy AZ, Traub RJ. Estrogen modulates the visceromotor reflex and responses of spinal dorsal horn neurons to colorectal stimulation in the rat[J]. J Neurosci, 2003, 23(9):3908-3915.

[14] 张青,梁列新,钱伟,侯晓华. 性别及动情周期对大鼠内脏感觉影响的研究[J]. 中华消化杂志, 2005, 25(1):49-50.

(本文编辑:吉耕中)