

复合病因造模法制备功能性消化不良大鼠模型

王煜姣, 凌江红, 张钰琴, 梁纲, 农云凤, 刘培凤, 李东鑫

■背景资料

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是最常见的功能性胃肠病之一。在快节奏、高压力的现代社会中, FD 的发病率呈现逐年增长的趋势, 且具有反复发作、迁延不愈的特点, 不仅严重影响了患者的生活质量而且增加了社会的医疗卫生负担。

王煜姣, 凌江红, 张钰琴, 农云凤, 刘培凤, 李东鑫, 广西医科大学第一附属医院中医科 广西壮族自治区南宁市 530021
梁纲, 广西医科大学病理生理学教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

王煜姣, 主要从事中西医结合消化的研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 2013GXNSFAA019139
广西中医药民族医药继承创新工程攻关课题基金资助项目, No. GZGG13-04

广西高校科学技术研究重点项目基金资助项目, No. 2013ZD013

作者贡献分布: 此课题由凌江红设计; 实验研究过程由梁纲指导; 王煜姣、张钰琴、农云凤、刘培凤及李东鑫共同操作完成; 研究所用试剂由凌江红提供; 论文写作由王煜姣与凌江红完成。

通讯作者: 凌江红, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院中医科。

ling_jianghong@sina.com

电话: 0771-5356515

收稿日期: 2013-10-28 修回日期: 2013-11-16

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-18

Establishment of a rat model of functional dyspepsia by a compound method

Yu-Jiao Wang, Jiang-Hong Ling, Yu-Qin Zhang, Gang Liang, Yun-Feng Nong, Pei-Feng Liu, Dong-Xin Li

Yu-Jiao Wang, Jiang-Hong Ling, Yu-Qin Zhang, Yun-Feng Nong, Pei-Feng Liu, Dong-Xin Li, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Gang Liang, Department of Pathophysiology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Guangxi Natural Science Foundation Program, No. 2013GXNSFAA019139; the Guangxi Research Fund for Inheritance and Innovation Projects of Chinese National Minority Medicine, No. GZGG13-04; the Guangxi Science and Technology Research Project Funding for Colleges and Universities, No. 2013ZD013

Correspondence to: Jiang-Hong Ling, Chief Physician, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. ling_jianghong@sina.com

Received: 2013-10-28 Revised: 2013-11-16

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-18

Abstract

AIM: To establish the rat model of functional dyspepsia (FD) by a method combining constantly squeezing the tail with hunger or overeating.

■同行评议者

马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

METHODS: Twenty-four rats were randomly divided into a control group and two model groups ($n = 8$ for each group). In one model group, FD was induced by constantly squeezing rat tails. In the other model group, FD was induced by constantly squeezing rat tails plus hunger or overeating. Open-field test was performed weekly. After four weeks, gastric emptying and intestinal transit function were detected.

RESULTS: Rats in the two model groups all showed pad batch, margination, less movement, reduced aggressiveness, easy to rag, withered hair, and loose stools. The rats were sacrificed and laparotomized four weeks later, and gastric mucosa in the control group had no significant flushing, swelling, erosions or other changes, while the model groups had much gastric contents and flushing. The sugar consumption, the scores for horizontal motion in the open-field test, and the rates of gastric emptying and intestinal transit function were all decreased in the model groups compared to the control group (all $P < 0.05$), and the decreases were more significance in the compound model group (all $P < 0.05$). The scores for vertical motion in the open-field test showed no significance difference between the two model groups.

CONCLUSION: FD induced by constantly squeezing rat tails plus hunger or overeating can better reflect disease features of FD such as depression and decreased gastrointestinal motility than that induced by constantly squeezing the tails alone.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Functional dyspepsia; Rat model; Compound method

Wang YJ, Ling JH, Zhang YQ, Liang G, Nong YF, Liu PF, Li DX. Establishment of a rat model of functional dyspepsia by a compound method. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 210-214 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/210.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.210>

摘要

目的: 采用夹尾刺激+不规则喂养复合法复制功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)大鼠模型。

方法: 24只大鼠随机分为正常组、模型1组、模型2组, 每组8只。模型1组进行夹尾刺激, 对后2组大鼠进行夹尾刺激及不规则喂养干预。每周进行敞箱实验(open-field法)、糖水消耗实验的测定, 4 wk后测定胃排空率及小肠推进率。

结果: 4 wk后, 模型1组、模型2组大鼠均出现扎堆、靠边, 不喜活动, 攻击性减少, 易受惊吓, 毛发干枯不顺, 粪便变软等表现。4 wk后剖腹取胃, 正常组胃黏膜无明显潮红、肿胀、糜烂等病变, 模型1组及模型2组胃内残留物较多, 胃黏膜稍潮红。模型1组、模型2组大鼠糖水消耗、敞箱实验水平运动次数、胃排空率及小肠推进率均较正常组显著减低($P<0.05$), 而模型2组大鼠糖水消耗、敞箱实验水平运动次数、胃排空率及小肠推进率均显著低于模型1组($P<0.05$), 模型2组大鼠敞箱实验垂直运动次数低于模型1组, 但无显著性差别。

结论: 用夹尾刺激+不规则喂养复合方法建立FD大鼠模型较单纯夹尾刺激法更能理想的体现出FD患者抑郁、胃肠动力减慢的疾病特点。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 功能性消化不良; 大鼠模型; 复合病因造模

核心提示: 夹尾刺激+不规则喂养复合法制备FD大鼠模型, 不仅充分体现了FD患者发病中精神心理因素的重要性, 而且复制了其饮食不节的致病因素, 即较真实地反映了FD的自然发病过程, 对深入研究FD有重大意义。

王煜姣, 凌江红, 张钰琴, 梁纲, 农云凤, 刘培凤, 李东鑫. 复合病因造模法制备功能性消化不良大鼠模型. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 210-214 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/210.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.210>

0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是常见的功能性胃肠病之一。国外研究显示, 全球FD的患病率约为10%-30%^[1]; 国内报道称, 在随机抽取的1016名健康人中, 有23.5%存在FD, 9.1%存在不同程度的抑郁或焦虑^[2]。目前关于FD的病

因及发病机制尚无定论, 治疗效果欠佳, 病情易反复, 因此建立较理想的动物模型对FD的深入研究具有重要意义。目前制备FD大鼠模型有夹尾刺激法、不规则喂养+饮用酸化水法、甘草颗粒剂混悬液灌胃法、0.1%碘乙酰胺蔗糖溶液喂养法等, 上述方法均有不同程度的局限性, 尤其是不能理想地模拟临床FD发病的病因及发病过程。我们前期采用夹尾刺激大鼠^[3], 发现部分大鼠胃黏膜出现不同程度的糜烂和溃疡与FD临床诊断不符, 考虑与刺激强度有关, 为此, 我们通过改良夹尾刺激结合不规则喂养的方法复制FD大鼠模型, 以期研究FD提供一种更好的动物模型。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级Wistar大鼠50只, 雌雄各半, 体重200-220 g(广西医科大学实验动物中心提供)。用open-field法做行为学评分选择得分相近的24只大鼠, 将其随机分为正常组、模型1组、模型2组, 每组8只。

1.2 方法

1.2.1 造模: 除正常组外, 模型1组按照参考文献[3]稍加改良, 即用纱布包裹止血钳轻度钳夹鼠尾后1/3处, 立即放开, 每次30 min, 2次/d; 模型2组采用夹尾刺激加不规则喂养法, 即除采用模型1组的夹尾刺激外, 予每周二、四、六禁食, 余日给足量饲料, 持续4 wk。

1.2.2 行为学观察: (1)一般情况: 通过动物的皮毛、情绪反应、行为状态、活跃状况等进行一般情况的观察; (2)糖水消耗实验: 大鼠禁食禁水24 h后, 给予每组大鼠一瓶1%糖水(已称质量), 1 h后取走水瓶再次称量质量, 两次称质量的差值即为1%糖水摄入量, 于实验第7、14、21、28天各称量1次; (3)敞箱实验(open-field法): 参考文献[4]加以修改, 本实验使用的敞箱为自制70 cm×70 cm×40 cm的纸箱, 敞箱的四壁及底面均涂成黑色, 底面用粉笔划分成等面积的25个方块。实验时将大鼠置于敞箱底面正中的方格内, 以大鼠穿越底面的格数(三爪均踏入方格内可计数)为水平运动的次数; 以前肢离地次数(前肢腾空或攀附箱壁)为垂直运动次数, 每只大鼠在实验第7、14、21、28天各测定1次, 3 min/次。每只大鼠测定完成后需清洁敞箱, 将上次动物余留的信息(如动物的大、小便、毛发)清除后再测定下只大鼠。

1.2.3 胃肠动力测定: (1)胃排空率测定: 实验前

■ 研发前沿

目前认为FD的发病机制并非单一因素可以完全解释, 而是多种因素相互作用的结果。可能与胃肠动力障碍、内脏敏感性增高、幽门螺旋杆菌感染、脑肠肽含量异常、黏膜炎症免疫及精神心理因素等相关。由于FD的病因及发病机制尚无定论, 治疗效果欠佳, 病情易反复, 因此建立较理想的动物模型对FD的深入研究具有重要意义。

■ 相关报道

目前制备FD大鼠模型有夹尾刺激法、不规则喂养+饮用酸化水法、甘草颗粒剂混悬液灌胃法、0.1%碘乙酰胺蔗糖溶液喂养法等, 上述方法均有不同程度的局限性。夹尾刺激法是目前较常采用FD模型的方法之一。我们课题组研究该模型发现, 经过短期高强度夹尾刺激的大鼠部分胃黏膜存在糜烂或溃疡等改变, 这与FD非器质性改变是不相符合的。本文通过慢性夹尾刺激使大鼠恼怒、肝气郁结诱发其抑郁, 不规则喂养模拟饮食不节致大鼠脾虚, 使该模型发病过程及特征与患者的临床过程更符合。

■ 创新盘点

本研究以精神心理障碍和饮食不节是FD的明显促发因素为切入点,利用慢性夹尾刺激使大鼠恼怒,诱发其抑郁,不规则喂养模拟饮食不节的致病因素,即以夹尾刺激复合不规则喂养制备FD大鼠模型。

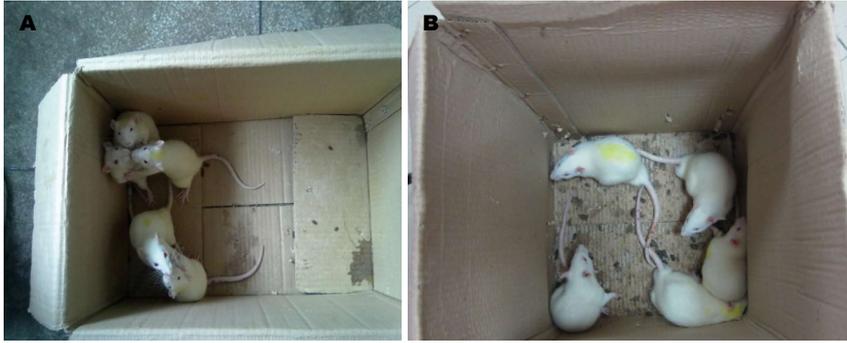


图1 用夹尾+饥饱失常复合法制备FD大鼠的情况。A: 造模约2.5 wk时大鼠相互打斗; B: 造模约3.5 wk时大鼠靠边、扎堆。FD: 功能性消化不良。

表1 各组大鼠糖水消耗实验比较($n=8$, mean \pm SD, g)

分组	7 d	14 d	21 d	28 d
正常对照组	8.0 \pm 1.5	9.3 \pm 1.6	10.3 \pm 2.9	11.7 \pm 3.5
模型1组	7.3 \pm 1.4	7.4 \pm 1.2 ^a	8.2 \pm 1.8	8.6 \pm 2.1 ^a
模型2组	7.0 \pm 1.3	6.5 \pm 1.7 ^a	7.3 \pm 2.2 ^a	6.6 \pm 2.3 ^{ac}

^a $P<0.05$ vs 正常对照组; ^c $P<0.05$ vs 模型1组。

大鼠禁食不禁水12 h,用碳素墨水灌胃(1 mL/100 g),30 min后用10%水合氯醛麻醉大鼠,剖腹取胃,称取质量为全胃质量,沿胃小弯侧剪开胃壁,冲净胃内容物,滤纸吸干,称取质量为空胃质量,计算胃排空率。胃排空率(%) = (全胃质量-空胃质量)/全胃质量 \times 100%; (2)小肠推进率的测定:分离肠系膜,剪取幽门至回盲部的肠管,置于白纸上,轻轻拉成直线,测量肠管长度为小肠总长度,从幽门至碳墨前沿的距离为碳墨在小肠内推进的距离。小肠推进率(%) = 碳墨在小肠推进的距离/小肠总长度 \times 100%。

统计学处理 实验所有数据用mean \pm SD表示,均用SPSS16.0软件处理,采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般情况 实验初期,模型2组大鼠打斗明显,在0.5 h内始终保持打斗及恼怒状态,2.5 wk的时候打斗最为激烈,轻度刺激即可引起大鼠站立对峙打斗,第3周后大鼠出现扎堆,靠边,对刺激不敏感,打斗减弱,攻击性减少,易受惊吓,毛发干枯不顺,粪便变软等表现,模型1组打斗激烈及减弱的周数较模型2组减慢0.5 wk左右(图1)。

2.2 糖水消耗 从造模的第2周起,模型1组、模型2组大鼠糖水消耗显著低于正常组($P<0.05$);第4周模型2组大鼠糖水消耗显著低于模型1组($P<0.05$)(表1)。

2.3 敞箱实验

2.3.1 敞箱实验水平运动次数:从造模的第1周起,模型1组、模型2组大鼠敞箱实验水平运动次数均显著低于正常组($P<0.05$),第3周模型2组大鼠敞箱实验水平运动次数显著低于模型1组($P<0.05$)(表2)。

2.3.2 敞箱实验垂直运动次数:从造模的第1周起,模型2组大鼠敞箱实验垂直运动次数显著低于正常组($P<0.05$),模型2组大鼠敞箱实验垂直运动次数显著低于模型1组,但无显著性差别(表3)。

2.4 胃肠动力测定 模型1组、模型2组大鼠胃排空率、小肠推进率显著低于正常组($P<0.05$),模型2组大鼠胃排空率、小肠推进率显著低于模型1组($P<0.05$)(表4)。

3 讨论

夹尾刺激法^[5]是目前学者较常采用的复制FD模型的方法之一。我们课题组从2007年开始研究夹尾刺激大鼠模型,观察发现,经过短期高强度夹尾刺激的大鼠部分胃黏膜存在针尖样糜烂或溃疡等肉眼改变,这与FD非器质性改变是不相符合的。为此我们课题组^[3]通过降低每日刺激频率、延长造模周期来降低刺激强度,并采用纱布包裹止血钳减少大鼠尾部机械性损伤等来改良该模型,使其符合FD慢性应激病因及病程较长的临床过程,结果发现模型大鼠出现活动性、兴奋性及食量下降,体质量增长缓慢等改变,其更符合FD的临床发病过程,但该模型未充

表 2 各组大鼠敞箱实验水平运动情况的比较($n = 8$, mean \pm SD, 格数)

分组	7 d	14 d	21 d	28 d
正常对照组	59.8 \pm 5.7	58.6 \pm 7.1	56.3 \pm 7.7	55.0 \pm 7.9
模型1组	42.6 \pm 5.3 ^a	40.5 \pm 5.9 ^a	37.4 \pm 6.8 ^a	35.1 \pm 7.2 ^a
模型2组	38.0 \pm 6.1 ^a	34.1 \pm 7.4 ^a	29.8 \pm 8.1 ^{ac}	27.9 \pm 7.8 ^a

^a $P < 0.05$ vs 正常对照组; ^c $P < 0.05$ vs 模型1组.

表 3 各组大鼠敞箱实验垂直运动情况的比较($n = 8$, mean \pm SD, 格数)

分组	7 d	14 d	21 d	28 d
正常对照组	17.7 \pm 2.3	16.6 \pm 2.0	15.9 \pm 2.3	14.8 \pm 3.6
模型1组	16.5 \pm 3.3	15.1 \pm 4.1	13.3 \pm 4.8	12.3 \pm 4.9
模型2组	14.1 \pm 3.1 ^a	11.9 \pm 2.3 ^a	9.7 \pm 3.0 ^a	8.9 \pm 2.5 ^a

^a $P < 0.05$ vs 正常对照组.

表 4 各组大鼠胃排空率、小肠推进率的比较($n = 8$, mean \pm SD, %)

分组	胃排空率	小肠推进率
正常对照组	60.7 \pm 1.9	71.5 \pm 1.8
模型1组	54.9 \pm 2.6 ^a	66.5 \pm 1.7 ^a
模型2组	47.0 \pm 2.5 ^{ac}	63.5 \pm 1.8 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 正常对照组; ^c $P < 0.05$ vs 模型1组.

分考虑FD的病因, 仅复制了单一病因, 未能很好地体现其复杂的致病因素.

近年来研究发现, 精神心理障碍和饮食不节是FD的明显促发因素^[6,7]. 焦虑和抑郁是FD精神心理障碍的主要表现形式, 而应激可以引起人类及动物的下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴功能亢进, 且出现抑郁状态^[8]. 祖国医学认为: “怒伤肝、久则郁”; “饮食自倍, 肠胃乃伤”, 而肝郁脾虚是FD的核心病机^[9,10]. 当前模型的建立思路正是基于以上理论. 实验中, 我们通过夹尾应激使大鼠恼怒, 肝气郁结诱发其抑郁, 不规则喂养模拟饮食不节致大鼠脾虚, 使该模型发病过程及特征与患者的临床过程类似.

FD患者较正常人更多的伴有焦虑、抑郁或疑病质^[11]. 而研究抑郁症模型最常用的两个行为指标分别是糖水消耗实验和敞箱实验^[12,13]. 快感缺失是抑郁症的核心症状, 其中糖水消耗量是评价快感缺乏的主要指标; 敞箱实验被用于检测大鼠在陌生空间里的探究行为, 其中水平运动得分与大鼠活动度的相关; 垂直运动得分与大

鼠对环境的好奇程度相关^[14]. 而我们实验表明: 夹尾刺激+不规则喂养法复制的FD大鼠较正常对照组大鼠对摄食的愉悦感、运动及探索行为能力下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 且胃肠解剖肉眼未见明显溃疡及其他器质性病变, 符合FD的动物模型. 从胃肠动力检测的结果来看, 复合造模法组胃排空率及小肠推进率降低与正常对照组有显著差异($P < 0.05$). 这与目前胃肠动力障碍被认为是FD主要的病理生理学基础^[15]是一致的. 并且, 本实验结果还表明复合造模法复制的FD大鼠无论在抑郁状态还是胃肠动力降低均较单纯夹尾刺激法更理想($P < 0.05$).

总之, 夹尾刺激+不规则喂养复合法制备FD大鼠模型较真实地反映了FD的自然发病过程, 遵守了“动物模型是自然疾病的映射”的原则, 可广泛应用于FD的实验研究.

4 参考文献

- Voiosu TA, Giurcan R, Voiosu AM, Voiosu MR. Functional dyspepsia today. *Maedica (Buchar)* 2013; 8: 68-74 [PMID: 24023602]
- Li Y, Nie Y, Sha W, Su H. The link between psychosocial factors and functional dyspepsia: an epidemiological study. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: 1082-1084 [PMID: 12173597]
- 凌江红, 张钰琴, 梁纲, 韦连明, 陈业强, 刘耀利, 李勇杰. 疏肝理气法对夹尾应激大鼠行为学及胃组织学的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 299-302
- 徐博佳, 郑祖艳, 蒋鹏, 张海芳. 头穴丛刺对慢性抑郁模型大鼠行为学改变的影响. *针灸临床杂志* 2012; 28: 47-49
- 郭海军, 林洁, 李国成, 李亦武, 陶秀良, 罗树星. 功能性消化不良的动物模型研究. *中国中西医结合消化杂志* 2001; 9: 141-142

■应用要点

夹尾刺激+不规则喂养复合法制备FD大鼠模型较真实的反映了FD的自然发病过程, 遵守了“动物模型是自然疾病的映射”的原则, 可广泛应用于FD的实验研究.

■同行评价

本文立意新颖、方法科学,文章结合了国内外许多的最新研究,为临床FD的进一步科学研究提供了较好的模型制造方法。

- 6 Van Oudenhove L, Aziz Q. The role of psychosocial factors and psychiatric disorders in functional dyspepsia. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 158-167 [PMID: 23358396 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.10]
- 7 李霞, 张翼宙, 董颖. 基于内容分析法的功能性消化不良中医病因病机探讨. *浙江中医杂志* 2013; 48: 115-116
- 8 王哲, 胡随瑜, 宋炜熙, 张春虎, 陈昌华. 白松片对慢性应激抑郁模型大鼠行为学及血浆CORT、ACTH的影响. *中国临床心理学杂志* 2004; 12: 185-187
- 9 李丰衣, 孙劲晖. 田德禄治疗功能性消化不良的经验. *湖北中医杂志* 2006; 28: 23-25
- 10 徐敏, 卜平, 时乐, 李瑶瑶, 张瑜. 功能性消化不良222例证候病机分析. *实用中医药杂志* 2006; 22: 246-247
- 11 陈荣健, 王垂杰. 功能性消化不良研究进展. *实用中医内科杂志* 2013; 27: 150-152
- 12 董海影, 兴桂华, 张晓杰. 不同年龄组大鼠抑郁症模型评价. *中国老年学杂志* 2011; 31: 1796-1797
- 13 谢正, 李恒芬, 代娟, 刘纪猛. 抑郁症动物模型的建立及评价. *国际精神病学杂志* 2007; 34: 212-215
- 14 崔杰, 郑兴宇, 高晓霞, 秦雪梅. 逍遥散抗抑郁作用最佳剂量筛选. *中国实验方剂学杂志* 2010; 16: 194-1989
- 15 张军. 功能性消化不良研究的新进展. *临床消化病杂志* 2009; 21: 107-109

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示,2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次,影响因子0.873,综合评价总分88.5分,分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位,分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位;其他指标:即年指标0.219,他引率0.89,引用刊数619种,扩散因子8.84,权威因子2 144.57,被引半衰期4.7,来源文献量758,文献选出率0.94,地区分布数26,机构分布数1,基金论文比0.45,海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。



百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079



9 771009 307056 02>