

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2015.07.04

碘乙酰胺灌胃联合夹尾应激诱导大鼠 FD 模型的建立及评价

吴震宇^{1,2}, 张声生², 李培彩^{1,2}, 卢小芳², 汪正芳², 王佳佳², 李晓玲^{1,2}

(¹ 北京中医药大学, 北京 100029;

² 首都医科大学附属北京中医医院, 北京 100010)

摘要:[目的]采用碘乙酰胺(iodoacetamide, IA)灌胃刺激联合夹尾应激法建立功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)大鼠模型,并对其进行初步评价。[方法]18只10日龄SD大鼠随机分为正常组(9只)和模型组(9只)。正常组大鼠每只给予2%蔗糖溶液0.2 ml/d灌胃,持续6 d;模型组大鼠每只给予0.1%的碘乙酰胺与2%蔗糖的混合液0.2 ml/d灌胃,持续6 d。灌胃结束后各组大鼠正常饲养至7周龄,7周龄起以郭氏夹尾刺激法对模型组大鼠刺激1周,正常组不予任何干预,直至大鼠8周龄。大鼠8周龄时检测大鼠胃敏感性(以胃扩张刺激时大鼠颈斜方肌肌电均方根变化率为评价指标)及顺应性(以胃扩张刺激时大鼠胃内球囊容积/压力为评价指标),并于术后第二天检测各组大鼠3 h摄食量及胃排空率。[结果]在IA灌胃期间(大鼠10日龄至15日龄),模型组大鼠体重增长率较正常组显著降低($P<0.05$)。大鼠7周龄时,各组大鼠体重无显著差异($P>0.05$)。7周龄开始予夹尾刺激1周后(大鼠8周龄),模型组大鼠体重较正常组显著降低,结果具有统计学意义($P<0.05$)。大鼠8周龄时胃敏感性及顺应性检测结果显示:在胃内球囊压力为40-60 mmHg时,模型组大鼠与正常组大鼠相比较,颈斜方肌肌电均方根变化率显著升高($P<0.05$),胃顺应性显著降低($P<0.05$)。胃排空率结果显示:模型组大鼠胃排空率较正常组大鼠显著降低($P<0.05$)。[结论]采用IA灌胃法与夹尾应激法相结合的方法建立FD大鼠模型可在一定程度上模拟FD的临床症状及内脏高敏感、胃顺应性降低、胃排空延缓等病理状态。

关键词:功能性消化不良;碘乙酰胺灌胃;夹尾应激;内脏敏感性;胃顺应性;胃排空率

中图分类号:R723.1

文献标志码:A

文章编号:1671-038X(2015)07-0462-05

Rat model of functional dyspepsia resulting from iodoacetamide-treated and tail-squeezed

WU Zhen-yu^{1,2}, ZHANG Sheng-sheng², LI Pei-cai^{1,2}, LU Xiao-fang²,
WANG Zheng-fang², WANG Jia-jia², LI Xiao-ling^{1,2}

(¹Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; ²Beijing Hospital of TCM Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100010, China)

Corresponding author: ZHANG Sheng-sheng, E-mail: zhss2000@163.com

Abstract:[Objective] To establish a rat model of functional dyspepsia (FD) resulting from iodoacetamide(IA)-treated and tail-squeezed. [Methods] 18 ten-day-old male rats were randomly divided into two groups. The model rats($n=9$) received 0.2 mL 0.1% iodoacetamide (IA) in 2% sucrose daily by oral gavage for 6 days; controls($n=9$) received 2% sucrose. Rats in both groups were then followed to 7 weeks at which point the model rats received tail-squeezed for 1 week. Then gastric accommodation and acromiotrapezius(a superficial neck muscle) responses to graded gastric balloon distention (GD; 10-60 mm Hg) were tested, and gastric motor function was tested after that. [Results] Model rats exhibited symptoms of FD as compared with the control group. The gastric accommodation was significantly reduced and acromiotrape-

收稿日期:2015-04-23

基金项目:北京市科委课题:“仁术健脾理气颗粒临床前研究”(No:Z131100002513012);北京市医院管理局临床医学发展专项经费资助(No: ZYLX201411);北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养计划(No:2011-2-13)

作者简介:吴震宇,男,北京中医药大学东直门医院在读博士,中医内科学专业

通讯作者:张声生, E-mail: zhss2000@163.com

zius responses to GD were significantly increased in IA-treated rats. Gastric emptying of model rats was significantly lower than controls. However, no significant gastric pathology was found in both groups. [Conclusion] Our results provide a potential model for further study to functional dyspepsia which simulates the pathogenesis and symptoms of this important clinical problem.

Key words: functional dyspepsia; iodoacetamide-treated; tail-squeezed; visceral sensitivity; gastric accommodation; gastric emptying

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是指一组目前尚无器质性原因可究的持续性或反复发作性的消化不良症候群^[1],其症状主要包括餐后饱胀不适、上腹胀满、嗝气、腹痛、厌食等,是临床上最常见的功能性胃肠病之一,在全球范围的总患病率为 11.5%~14.5%^[2]另,有流行病学调查显示国内 FD 患病率为 23.5%^[3]。由于目前其病因和发病机制尚未完全阐明,针对 FD 的对症治疗效果不能令人完全满意,且患者反复就诊,严重影响其生活质量。

所以,进一步研究和揭示 FD 的发病机理对指导其治疗具有相当重要的意义,这就需要建立理想的动物模型。然而,目前尚缺乏能够完全模拟 FD 患者症状及内脏高敏感、胃顺应性降低、胃排空延缓等病理状态的 FD 造模方法,这在一定程度上限制了相关研究。有研究表明,碘乙酰胺灌胃法能够较好的模拟人体内脏高敏感、胃顺应性降低等病理状态^[4-5];而传统的夹尾应激法在模拟其进食量减少、胃排空延缓、内脏敏感性升高等症状的同时,也可以刺激大鼠产生焦虑、易激惹等情绪变化,一定程度地模拟了 FD 的部分病因^[6]。本文在前人研究结果的基础上,采用碘乙酰胺灌胃联合夹尾应激的方法建立 FD 模型,并对其进行初步评估,以期建立相对理想的动物模型。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级雄性 10 日龄 SD 幼鼠 18 只,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,(许可证号为 11400700056606)。经实验动物福利委员会许可,动物饲养于北京中医药大学第一临床医学院屏障级动物实验中心,动物饲养环境:室温为(20±2)℃,湿度为(50±10)%,正常更替光照,24 h 供应无菌饲料及饮用水。实验开始前所有动物适应性喂养 3 d。

1.1.2 试剂和仪器 试剂:IA(美国 Sigma 公司,批号:1001645681);蔗糖(西陇化工股份有限公司,批号:XK13-201-00153);异氟烷(河北一品制药有限公司,国药准字 H19980141)。仪器:电子恒压器及 Protocol Plus Deluxe 9.6 R 数据处理分析系统

(购自加拿大 G&J Electronics 有限公司);PowerLab16/35 生理记录仪(购自澳大利亚 AD instrument,序列号:3516-0747);PowerLab 四桥放大器(购自澳大利亚 AD instrument,序列号:FE224-0354);DP-304 差分放大器及 LabChart 7 数据处理分析系统(购自澳大利亚 AD instrument);MATRX 动物麻醉机(购自美国 MIDMARK 公司,序列号:V1503260)。

1.2 方法

1.2.1 分组及造模方法 18 只 10 日龄 SD 大鼠随机分为正常组与模型组,每组各 9 只。10 日龄起,正常组大鼠予 2%蔗糖(sucrose)溶液 0.2 ml 灌胃,每日一次,持续 6 d;模型组大鼠予 0.1%的碘乙酰胺与 2%蔗糖的混合液 0.2 ml 灌胃,每日一次,持续 6 d^[4]。灌胃结束后各组大鼠正常饲养至 7 周龄。7 周龄起,以夹尾刺激法^[6-7]对模型组大鼠刺激 1 周,正常组大鼠不予任何干预,直至大鼠 8 周龄。各组大鼠 8 周龄时进行模型评定。

1.2.2 模型评定标准 ①1 体重变化:大鼠灌胃期间(10 日龄至 15 日龄)每天称重,计算每日体重变化率,体重变化率计算公式:体重变化率=(当日体重-前日体重)/前日体重×100%。夹尾刺激前后(7 周龄时及 8 周龄时)分别称重,比较模型组大鼠夹尾刺激前后与正常组大鼠体重的差异;②胃敏感性测定^[4-5]:大鼠 8 周龄时,各组大鼠行为敏感性 & 顺应性检测,检测前 20 h 禁食不禁水,检测当天称重,予异氟烷吸入麻醉。麻醉状态下经食道置入胃内球囊(长约 2.5 cm,直径约 2.5 cm,最大容积约 25 ml),置入胃内后给球囊充气约 10 ml,确保其位于胃内,且可顺利充气扩张。将大鼠固定于柔软大鼠固定器^[8],气囊通过导气管连接电子恒压器。于大鼠颈斜方肌处置入一对银质针式电极,并连接于电生理记录仪。待大鼠苏醒并适应 1 h 后开始实验,记录稳定状态下大鼠颈斜方肌肌电,并截取 30 s 作为基线,计算基础均方根,后对大鼠胃内球囊分阶段加压,压力分别为 10 mmHg,20 mmHg,30 mmHg,40 mmHg,50 mmHg,60 mmHg,每次加压时间为 30 s,每两次加压间隔 180 s。监测并记录球囊内压力及体积变化,同时记录颈斜方肌肌电活动。

胃敏感性以颈斜方肌肌电均方根变化率为评价指标,均方根变化率计算公式:均方根变化率=(加压期均方根-基础均方根)/基础均方根×100%。③大鼠胃顺应性检测^[4-5]:大鼠进行胃敏感性检测同时,监测胃内球囊压力及容积变化,胃顺应性结果以球囊容积/压力(ml/mmHg)表示。④大鼠 3 h 摄食量及胃排空率检测^[9]:大鼠胃敏感性、顺应性检测术后第 1 天进行胃排空检测,将各组大鼠进行单笼饲养,检测前禁食 12 h,不禁水,于次日给予 3 h 食量(每只大鼠 15 g),3 h 后记录剩余食量,并计算 3 h 摄食量(3 h 摄食量=15 g-3 h 后剩余食量)。然后禁食、水,3 h 后检测胃排空。大鼠麻醉后迅速摘取胃组织,用滤纸擦干后称重得胃全重,然后沿胃小弯侧剪开胃体,用生理盐水洗去胃内容物,擦干称重得胃净重,胃全重减去胃净重为 3 h 胃内食物残余量。胃排空率的计算公式:胃排空率=100%-(3 h 胃

内食物残余量/3 h 摄食量)×100%,⑤大鼠胃组织病理观察:为明确模型大鼠胃组织有无发生器质性病变,两组大鼠胃排空率检测结束后,迅速取胃窦 0.8 cm×0.8 cm 胃壁全层一块,置于 4%多聚甲醛中固定,准备石蜡包埋切片,行苏木精-伊红染色检测。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

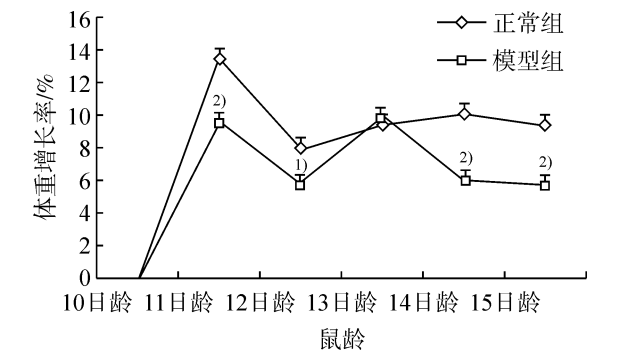
2.1 体重变化

模型组大鼠 10 日龄至 15 日龄体重增长率较正常组降低:灌胃期间(10 日龄至 15 日龄),模型组与正常组相比较体重增长率显著下降($P < 0.05$, $P < 0.01$,表 1,图 1)

表 1 各组大鼠 10 日龄至 15 日龄体重增长率比较 % , $\bar{x} \pm s$

组别	只数	10 日龄 体重增长率	11 日龄 体重增长率	12 日龄 体重增长率	13 日龄 体重增长率	14 日龄 体重增长率	15 日龄 体重增长率
正常组	9	0	13.4±0.64	7.83±0.73	9.34±0.51	10.04±0.57	9.36±0.64
模型组	9	0	9.46±0.62 ²⁾	5.58±0.44 ¹⁾	9.81±0.55	5.98±0.58 ²⁾	5.55±0.5 ²⁾

与正常组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。



与正常组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

图 1 各组大鼠 10 日龄至 15 日龄体重增长率比较

模型组大鼠 8 周龄体重较正常组降低:7 周龄时,模型组大鼠与正常组大鼠体重差异无统计学意义($P > 0.05$);夹尾刺激 1 周后,即大鼠 8 周龄时,模型组大鼠与体重显著低于正常组大鼠($P < 0.01$,表 2,图 2)

2.2 模型组大鼠胃敏感性显著高于正常组

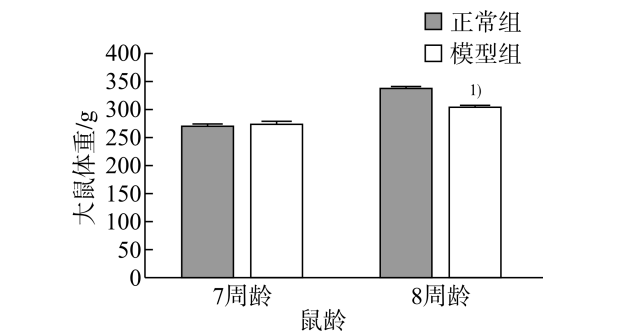
造模结束后,敏感性检测结果显示:10~30 mmHg 压力的胃扩张刺激引起的颈斜方肌肌电均方根变化率在正常组大鼠及模型组大鼠间无统计学差异($P > 0.05$);40~60 mmHg 压力的胃扩张刺激

引起的颈斜方肌肌电均方根变化率在模型组大鼠及正常组大鼠间具有统计学差异,且模型组显著高于正常组($P < 0.05$,表 3,图 3)。

表 2 各组大鼠 7 周龄及 8 周龄体重比较 g , $\bar{x} \pm s$

组别	只数	7 周龄体重	8 周龄体重
正常组	9	268.11±5.33	335.63±4.31
模型组	9	274.84±4.72	303.72±3.02 ¹⁾

与正常组比较,¹⁾ $P < 0.01$ 。



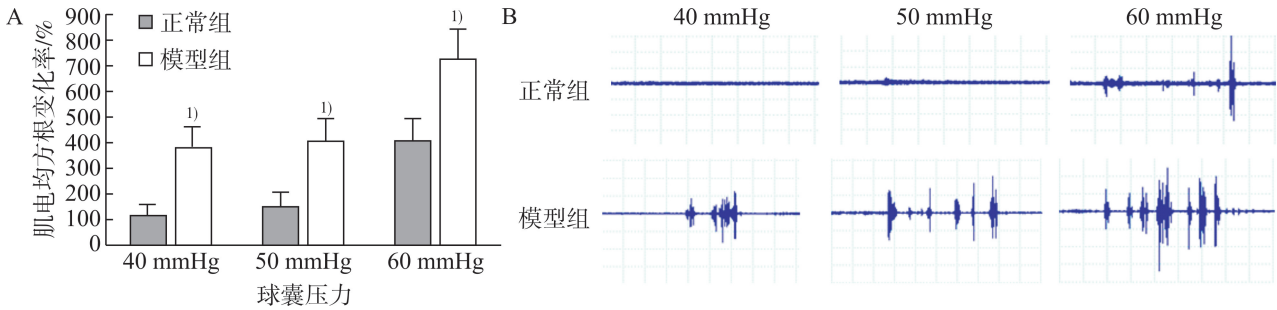
与正常组比较,¹⁾ $P < 0.01$ 。

图 2 各组大鼠 7 周龄及 8 周龄体重比较

表 3 各组大鼠胃扩张刺激下颈部肌电均方根变化率比较 % , $\bar{x}\pm s$

组别	只数	40 mmHg 均方根变化率	50 mmHg 均方根变化率	60 mmHg 均方根变化率
正常组	9	113.34±41.70	148.78±55.70	405.01±87.47
模型组	9	378.01±87.80 ¹⁾	408.78±89.52 ¹⁾	728.74±115.39 ¹⁾

与正常组比较,¹⁾ $P<0.05$ 。



A:各组大鼠对不同压力胃扩张刺激的颈部肌电均方根变化率比较;B:各组大鼠对不同压力胃扩张刺激的颈部肌电图变化。
与正常组比较,¹⁾ $P<0.01$ 。

图 3 各组大鼠对胃扩张刺激的颈部肌电变化

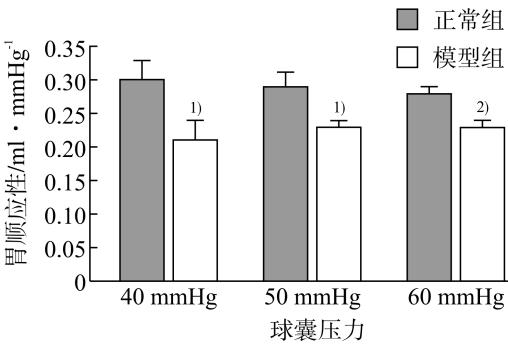
2.3 模型组大鼠胃顺应性显著低于正常组

造模结束后,胃顺应性结果显示:10 mmHg-30 mmHg 压力下的胃顺应性在正常组大鼠及模型组大鼠间无统计学差异($P>0.05$);40 mmHg-60 mmHg 压力下,模型组大鼠胃顺应性显著低于正常组($P<0.05$, $P<0.01$,表 4,图 4)。

表 4 各组大鼠胃顺应性比较 ml/mmHg

组别	只数	40 mmHg 顺应性	50 mmHg 顺应性	60 mmHg 顺应性
正常组	9	0.30±0.03	0.29±0.02	0.28±0.01
模型组	9	0.21±0.03 ¹⁾	0.23±0.01 ¹⁾	0.23±0.01 ²⁾

与正常组比较,¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$ 。



与正常组比较,¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$ 。

图 4 各组大鼠胃顺应性比较

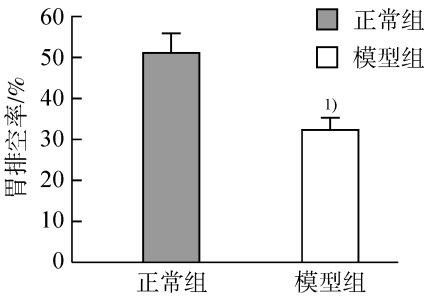
2.4 模型组大鼠胃排空率显著低于正常组

造模结束后,模型组大鼠 3 h 摄食量较正常组未见显著性差异($P>0.05$)(表 5);模型组大鼠胃排空率较正常组大鼠显著降低($P<0.01$,表 5,图 5)。

表 5 各组大鼠 3 h 摄食量及胃排空率比较 $\bar{x}\pm s$

组别	只数	3 h 摄食量/g	胃排空率/%
正常组	9	10.92±0.72	50.85±4.58
模型组	9	9.19±0.52	31.74±3.71 ¹⁾

与正常组比较,¹⁾ $P<0.01$ 。

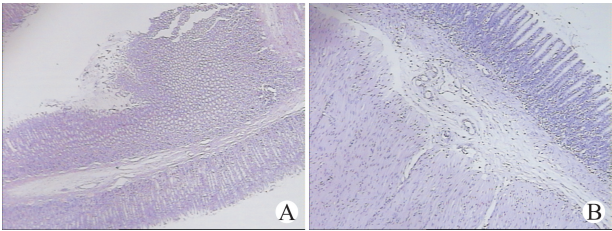


与正常组比较,¹⁾ $P<0.01$ 。

图 5 各组大鼠胃排空率比较

2.5 IA 诱导的 FD 大鼠胃黏膜的变化

大鼠造模结束后,正常组大鼠及模型组大鼠胃黏膜形态均没有明显异常改变(图 6)。



A:正常组;B:模型组。

图 6 各组大鼠胃组织病理苏木精-伊红染色(×10)

3 讨论

餐后饱胀不适、上腹胀满、腹痛、厌食等是 FD 患者的主要临床症状,其主要病理生理变化包括胃动力障碍、内脏感觉异常敏感和胃顺应性降低。有关 FD 的动物模型研究,国内外已有较多报道。目前几种较为成熟的造模方法已能基本模拟内脏高敏感、顺应性降低、胃排空延缓的特征^[4-6]。然而,当前的 FD 造模方法多采用单因素造模,少有联合多因素的造模方法^[10-11],难以全面模拟 FD 的病因病机及症状表现,只是在模拟 FD 的某些单一特征,存在一定的局限性,一定程度上限制了 FD 相关动物实验的发展与创新。

内脏高敏感、胃顺应性降低、胃排空延缓目前被认为是 FD 的关键病理机制,是胃痛、胃胀、早饱、厌食等多样化症状的重要原因^[12-13]。目前认为,早期炎症刺激是其内脏高敏感形成的重要原因,碘乙酰胺灌胃作为早期炎症反应,能够较好地模拟内脏高敏感这一病理机制;情绪刺激也是 FD 的常见致病因素之一,夹尾应激法一定程度地模拟了这一发病机制,同时也模拟了 FD 患者紧张、焦虑、胃排空延缓、内脏高敏感等病理状态。

本文采用碘乙酰胺灌胃联合夹尾应激的方法建立 FD 大鼠模型,并对其进行初步评价,结果显示,该造模方法较好地模拟出 FD 内脏高敏感、胃顺应性降低、胃排空延缓三大病理机制,同时模型组大鼠体现出体重下降、进食量减少(未表现出统计学差异)等趋势。但由于 FD 疾病本身的病因和机制的多因素性及复杂性,使得现有的动物模型很难完全模拟其整个发病过程,相信随着其发病机制的不断明确,更完善的动物模型也会随之建立。

参考文献

- [1] TACK J, TALLEY N J, CAMILLERI M, et al. Functional Gastrointestinal Disorders[J]. *Gastroenterology*, 2006, 130:1466—1479.
- [2] El-Serag H B, Talley N J, JEL-SERAG H B, TALLEY N J. Systemic review: the prevalence and clinical course of functional dyspepsia[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2004, 19:643—654.

- [3] LI Y, NIE Y, SHA W, et al. The link between psychosocial factors and functional dyspepsia: an epidemiological study[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2002, 115:1082—1084.
- [4] LIU L S, WINSTON J H, SHENOY M M, et al. A rat model of chronic gastric sensorimotor dysfunction resulting from transient neonatal gastric irritation[J]. *Gastroenterology*, 2008, 134:2070—2079.
- [5] RÖMER M, PAINSIPP E, SCHWETZ I, et al. Facilitation of gastric compliance and cardiovascular reaction by repeated isobaric distension of the rat stomach[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2005, 17:399—409.
- [6] Wei W, Li X, Hao J, et al. Proteomic analysis of functional dyspepsia in stressed rats treated with traditional Chinese medicine “Wei Kangning” [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26:1425—1433.
- [7] 郭海军, 林洁, 李国成, 等. 功能性消化不良的动物模型研究[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2001, 9(3): 141—142.
- [8] TU W Z, CHENG R D, CHENG B, et al. Analgesic effect of electroacupuncture on chronic neuropathic pain mediated by P2 X3 receptors in rat dorsal root ganglion neurons [J]. *Neurochemistry International*, 2012, 60:379—386.
- [9] MARTINEZ V, BARQUIST E, RIVIER J, et al. Central CRF inhibits gastric emptying of a nutrient solid meal in rats: the role of CRF2 receptors [J]. *Am J Physiol*, 1998, 274:G965—970.
- [10] 肖政华. 四磨汤对功能性消化不良患者的临床疗效及模型小鼠 Ghrelin、GHSR 表达的影响[D]. 湖南长沙: 湖南中医药大学, 2012:46. -46.
- [11] 刘柏炎, 易健, 蔺晓源, 等. 四磨汤对慢性应激小鼠多巴胺受体 D1、D2 的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(3):193—193.
- [12] CAMILLERI M, COULIE B, TACK J F. Visceral hypersensitivity: facts, speculations, and challenges [J]. *Gut*, 2001, 48:125—131.
- [13] BOECKXSTAENS G E, HIRSCH D P, KUIKEN S D, et al. The proximal stomach and postprandial symptoms in functional dyspepsia [J]. *Am J Gastroenterol*, 2002, 97:40—48.