

功能性消化不良动物模型在我国的应用概况

郭宇 杨俭勤 李依洁 宋熠林 魏玮

【摘要】 功能性消化不良(FD)是一种临床常见疾患,其临床表现以具有消化不良相关症状且无器质性病变为特征。这不仅为临床治疗带来一定困难,同时也为科研中动物模型的制作提出难题。在我国,功能性消化不良的动物模型较为成熟,其中较为经典的是郭海军的适度夹尾法和张勇的不规则喂养及饮用酸化水法。此外,根据所需模型的不同,经典造模的改良方法及脱离于经典造模的创新方法在科研实验中也有相关应用。FD造模方法虽然逐渐多样,但在国内尚缺乏规范的造模方法及评价体系,仍需在今后的动物实验中进一步的探索。

【关键词】 功能性消化不良;动物模型;动物实验;综述

【中图分类号】R57 **【文献标识码】**A

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是临床一种常见疾病,指一组起源于胃、十二指肠区域的消化不良症状,并以缺乏可引起上述症状的组织结构或生化异常为特征^[1],临床表现主要包括餐后饱胀感、早饱、上腹痛及上腹部灼烧感等。该病在全球范围内的总患病率为 11.5%~14.5%^[2],而在我国的患病率约为 23.5%^[3]。FD 的发生与遗传易感性、幽门螺旋杆菌感染、焦虑抑郁状态、食物及药物、性别、年龄,甚至包括地域、文化等多种因素相关^[4-5]。正是由于此病难以用器质性病变解释相关症状,且临床病因及发病机制尚未完全明确,因此为临床治疗带来一定困难,同时也为科研探索在动物模型制造方面提出难题^[6]。

目前在我国存在两种较为经典的 FD 动物模型,一种是郭氏适度夹尾法^[7],另一种是张氏不规则喂养及饮用酸化水法^[8]。前者是考虑到精神因素在 FD 致病过程中的重要作用,后者则是根据 FD 患者普遍存在的胃电节律失常现象提出的实验构想。此外,由于考虑实验动物的特殊因素,如实验用小鼠的夹尾造模存在一定困难,或是实验动物数量限定而难以满足经典夹尾刺激法的实验要求,或是基于所需动物模型的特殊性,不少经典造模方法的改良方法或是脱离于经典造模方法的创新造模方法也被相应提出。本文将 FD 动物模型在国内的应用概况综述如下。

1 经典造模方法

郭氏适度夹尾法:郭海军等^[7]在认识到精神因素在 FD 致病因素中的重要地位的基础上,采用适度夹尾刺激大鼠的方法制作动物模型。选用清洁级雄性 Wistar 健康大鼠,模型组每组 5 只大鼠同笼,使用长海绵钳夹触大鼠尾巴远端 1/3 处,令大鼠暴怒并相互厮打,要求夹尾以不破皮为度,每次连续刺激 30 min,每日 4 次,连续刺激 7 d。观察模型组大鼠,出现进食量与饮水量减少、胃收缩频率及幅度均下降(与正常组比较差异均有统计学意义, $P < 0.05$),同时解剖结果显示无明显器质性病变的发生,证明造模成功。该方法现多用于 FD 中肝郁气滞证型动物模型的制作^[8-9]。

张氏不规则喂养及饮用酸化水法:张勇等^[8]基于胃电节律失常与 FD 一病的密切关系,并考虑到饥饿、不规律饮食是 FD 发病的诱因之一,且 FD 患者常多伴有胃酸增多的表现,选取健康成年 Wistar 大鼠,按自行设计的不规则喂养方法饲养 4 周,其中实验组动物单日正常进食、双日禁食,自由饮水,并在水中加入盐酸(每 100 ml 水加 10 N 盐酸 1 ml)以破坏胃内酸碱平衡。观察实验组动物,90% 出现胃电节律失常,异常节律指数达 36.67%,且无明显器质性病变,证实造模成功。该方法可用于 FD 中脾气虚弱证型模型的制作^[9-10]。

2 经典造模方法的改良

2.1 适度夹尾法的改良

DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.150846

作者单位:北京中医药大学第一临床医学院,北京 100029

通讯作者:魏玮, Email: sxstyy@sina.com

于文靖等^[11]采用改良夹尾刺激法制作肝郁脾虚型 FD 大鼠模型,即每日用长海绵钳夹大鼠尾巴末端 1/3 处,令其暴怒并与相互厮打,每次持续 30 min,每天 2 次,造模期间自由进食、饮水,连续造模 3 周后,观察大鼠出现进食量减少、体瘦、便溏、毛发枯黄不顺、易怒伴紧张、焦虑等表现,提示造模成功。

2.2 不规则喂养及饮用酸化水法的改良

不规则喂养及饮用酸化水法的改良主要存在三种方法,一是不规则喂养联合酸化水法,并在此基础上附加第三种方法进行联合造模,如杨国红等^[12]在不规则进食、饮用酸化水的基础上,联合劳倦过度法进行 FD 大鼠脾胃虚弱型的动物模型制造,其中劳倦过度法采用游泳消耗体力法^[13],即在 22 °C 水温中令动物游泳至连续“冒泡”5 次终止,每日 2 次,间隔 5 h,连续造模 2 周。观察模型组出现体重下降、饮食减少、大便软溏、毛发枯乱、活动减少等表现,证明造模成功。

二是单独选用不规则喂养法联合应用他法进行造模,如刘富林等^[14]采用在不规则喂养的同时加入超声波噪音刺激的方法制作 FD 小鼠模型,具体方法为单日进食、双日禁食,于每日(8:00-20:00)将超声波清洗机放置鼠笼附近,每 2 h 进行 1 次噪音干扰,每次噪音刺激持续 30 min,并以每笼中至少有 1 只小鼠出现撕咬等激惹表现为度,造模期间自由饮水,持续造模 14 d。观察模型组小鼠进食量与体质量明显下降、胃内残留率升高、小肠推进率降低(与正常组比较差异均有统计学意义),证明造模成功。刘红静^[15]采用饥饱失常联合左旋精氨酸腹腔注射的方法制作 FD 小鼠模型,即在 2 d 足食、1 d 禁食、连续造模 15 d 的过程中,于第 11 天开始腹腔左旋精氨酸 3.7 g/kg,第 12~15 天 1.85 g/kg,综合造模共 15 d。观察模型组小鼠出现体重下降(与空白对照组比较有差异有统计学意义),并经病理组织学观察无明显器质性改变,证实造模成功。郁保生等^[16]采用联合慢性束缚应激、过度疲劳及饮食失节的方法造模,在实验前进行预游泳,剔除游泳时间 <10 min 或 >20 min 的大鼠,于每天上午 8:00 将大鼠置于束缚盒中限制活动 3 h,下午 2:00 置于温水(22±1)°C 中游泳 10 min,隔日喂食,连续造模 3 周。观察模型组大鼠的胃内残留率升高、小肠推进率下降(与空白组比较有统计学意义),证实造模成功。

三是单独选用饮用酸化水法或改良酸化水法,如曹峰等^[17]采用盐酸灌胃的方法制造胃虚饮停型

FD 大鼠的动物模型,具体方法为给予模型组大鼠温度为 0 °C、浓度为 0.5 mol/L 盐酸(用量按 0.8 ml/100 g)灌胃,而正常组大鼠给予常温下的自来水(用量按 0.8 ml/100 g)灌胃,每日进行 1 次,造模 2 周。史业东等^[18]用给予大鼠 4 °C 食醋(10 ml/kg)灌胃,每日 1 次,连续造模 10 d。观察大鼠出现活动减少、反应迟钝、体形瘦弱、体重下降、皮毛粗糙稀疏、饮食及饮水量减少等表现,证明造模成功。

2.3 两种经典造模方法的联合应用

王丹^[19]采用联合不规则喂养法、夹尾激怒法进行造模,在单日喂食、双日禁食的饮食控制下,采用长海绵钳夹大鼠尾巴末端 1/3 处,激怒大鼠,每次连续刺激 10 min,每隔 3 h 刺激 1 次,每日 4 次,造模 14 d。观察模型组大鼠出现饮水与进食量下降、胃收缩幅度及胃收缩频率下降(与对照组比较有统计学意义),并经解剖显示无明显器质性病变,证实造模成功。廖志成^[20]采用联合夹尾刺激法及不规则进食、冷热水交替喂养的方法进行造模,造模 14 d 后随即抽取模型组大鼠进行模型验证,进行胃排空实验,证实模型组大鼠胃排空能力相较空白组明显降低($P < 0.05$),提示模型制作成功。此方法用于 FD 中寒热错杂证模型的制备。

3 其他造模方法

刘杰民等^[21]在制备不可预知的慢性应激模型中,选取多种刺激因素对小鼠进行干预,包括食物剥夺(24 h)、饮水剥夺合并空瓶刺激(12 h)、明暗颠倒(24 h)、湿笼饲养(24 h)、强迫游泳(5 min、45 °C)、倒悬(30 min)、行为束缚(30 min)、超声刺激(2 h)、夹尾(1 h),每天随机选取 1 种,相邻 2 天的刺激不重复,各种刺激方法平均使用 2~3 次,连续刺激 21 d。观察模型组小鼠食量、体质量下降(与正常组比较有统计学意义),证明造模成功。梁国强等^[22]予健康雄性 SD 大鼠相当于生药 1 g/ml 的甘草颗粒溶液(10 ml/kg)灌胃,以复制胃肠动力障碍模型,每日灌胃 1 次,连续造模 7 d。观察模型组大鼠胃排空率、小肠推进率较空白对照组明显降低($P < 0.01$),提示造模成功。

4 讨论

基于 FD 的临床特征,即无明显组织结构或生化异常,在动物模型的制造方面需满足二点要求:一是该动物应具有消化不良的相关症状,如食欲减退或饮食量的减少,二是该动物需同时满足无相关器

质性病变的发生^[6]。正是以上两点需同时满足的要求,为 FD 的动物模型制造方面提出难题。而国内较多使用的两种造模方法,即郭氏适度夹尾法^[7]与张氏不规则喂养及饮用酸化水法^[8],前者是基于精神因素在 FD 致病因素中的重要地位,后者则是考虑胃电节律失常与 FD 一病的密切关系,从而提出的造模方案,并均以解剖病理结果证实无明显器质性改变,因此在满足前述二点要求、解决造模困境的同时,也为国内在该病动物造模方面开创了成功的先河。

随着医学的不断发展,或是为了中医证型动物模型的相关探索,或是为了更好地满足自身实验设计的客观要求^[9],对于两种经典造模方法的改进、多种造模方法的联合应用、对于新的造模方式的探索等多种新型造模方法,也在我国医学科研界悄然兴起。其中,值得注意的是 FD 动物模型的制作与中医证型间的密切联系。中医辨证治疗 FD 将其类属“痞满”“胃脘痛”等范畴内,多涉及肝、脾二脏。正是“郁怒伤肝”“劳则伤脾”,肝郁气滞证的动物模型多效仿郭氏适度夹尾法设计,并有意结合其他激惹大鼠的造模方法;而脾胃虚弱证的动物模型则多采用张氏不规则饮食及饮用酸化水法,并可联合其他劳倦过度法设计;当涉及到肝郁脾虚证的动物模型则多采用郭氏、张氏二法联合的造模方法。此外,考虑到特殊证型的要求还可采用改良或创新的造模方法,如胃虚饮停证可采用甘草颗粒溶液或盐酸灌胃的方法造模^[17-22]、寒热错杂证可采用夹尾刺激结合不规律进食、冷热水交替的方法进行造模^[20]。目前研究显示,FD 中肝郁气滞证、肝郁脾虚证、脾胃虚寒证、脾气虚弱证、胃虚饮停证等证型的制备已相对成熟,其他证型的造模方法仍需进一步的研究、证实^[9-23]。

然而,FD 造模方法虽然逐渐多样,但在国内尚缺乏规范的造模方法及评价体系,这仍需在今天的动物实验中进一步的探索。此外,如何使 FD 动物模型更贴近中医辨证分型或是满足中医辨证的多样性,也是在进一步的深入探索过程中亟需解决的问题。

参 考 文 献

[1] Tack J, Talley NJ, Camilleri M, et al. Functional gastroduodenal disorders [J]. *Gastroenterology* 2006, 130(5): 1466-1479.
 [2] El-Serag HB, Talley NJ. Systemic review: the prevalence and clinical course of functional dyspepsia [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2004, 19(6): 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(7): 1082-1084.
 [4] 吴柏瑶, 张法灿, 梁列新. 功能性消化不良的流行病学 [J]. *胃肠病学和肝病杂志* 2013, 22(1): 85-90.
 [5] 白春峰, 吕静, 陈恩信. 功能性消化不良危险因素分析 [J]. *中国现代医生* 2012, 50(23): 7-8, 11.
 [6] 刘晶, 李峰, 唐旭东, 等. 功能性消化不良动物模型及其在中医研究中的应用概述 [J]. *环球中医药* 2013, 6(12): 955-958.
 [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] 张勇, 王振华. 大鼠胃电节律失常模型的建立 [J]. *世界华人消化杂志* 1998, 6(7): 612.
 [9] 邓娜, 蔺晓源, 蔡光光. 功能性消化不良中医证型动物模型的研究概况 [J]. *环球中医药* 2013, 6(2): 140-142.
 [10] 陈嘉屿, 聂丹丽, 张方信, 等. 胃动方对肝郁脾虚大鼠模型胃肠运动作用的影响 [J]. *西北国防医学杂志* 2002, 23(6): 418-420.
 [11] 于文靖, 陈苏宁, 李慎贤, 等. 胃痛消痞方对功能性消化不良大鼠血清及胃肠组织中 CCK、VIP 的影响 [J]. *实用药物与临床*, 2012, 15(8): 461-463.
 [12] 杨国红, 林中军, 刘卫红. 胃胀舒合剂对功能性消化不良大鼠胃排空及血浆胃肠激素水平的影响 [J]. *中国中西医结合消化杂志* 2008, 16(6): 381-383.
 [13] 邹世洁, 周永生, 樊雅莉, 等. 脾气虚证动物模型规范化的初步研究——宏观证征部分 [J]. *中国中西医结合消化杂志* 2001, 9(5): 264-267.
 [14] 刘富林, 易健, 刘柏炎, 等. 超微术丸对功能性消化不良小鼠胃肠运动及 MTL、GAS 的影响 [J]. *中国中医急症* 2011, 20(4): 594-595+604.
 [15] 刘红静. 益胃散对功能性消化不良模型小鼠血浆胃动素水平的影响 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学 2008.
 [16] 郁保生, 张国山, 石晓理, 等. 小柴胡汤对功能性消化不良大鼠血管活性肠肽、胃排空及小肠推进率的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志* 2013, 19(8): 260-263.
 [17] 曹峰, 傅延龄. 茯苓甘草汤对功能性消化不良大鼠胃底 NO、ACHE 影响的实验研究 [J]. *贵阳中医学院学报* 2011, 33(4): 43-46.
 [18] 史业东, 梁靓靓, 陈苏宁. 胃痛消痞方加减对功能性消化不良大鼠一氧化氮和胃泌素影响的实验研究 [J]. *实用药物与临床*, 2010, 13(2): 86-88.
 [19] 王丹. 六味安消对功能性消化不良模型大鼠胃运动的影响 [J]. *贵阳医学院学报* 2012, 37(2): 39-41, 45.
 [20] 廖志成. 黄连吴茱萸不同比例配伍对寒热错杂型功能性消化不良大鼠胆碱能神经系统的影响机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学 2013.
 [21] 刘杰民, 蔺晓源, 蔡莹, 等. 四磨汤对慢性应激小鼠血清 Leptin 和 MTL 的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志* 2011, 17(21): 162-164.
 [22] 梁国强, 张露蓉, 江国荣, 等. 胃动方 I 对功能性消化不良大鼠胃肠动力的影响及作用机制 [J]. *河北中医* 2010, 32(4): 124-125, 128.
 [23] 李妍, 刘华一. 功能性消化不良中医证型动物模型制备近况 [J]. *中医药通报* 2014(3): 37.

(收稿日期: 2015-07-18)