

赵磊,李希,袁建业,等. 足底电击法诱导大鼠内脏高敏感模型的建立和评价[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(1): 46-51.
Zhao L, Li X, Yuan JY, et al. Establishment and evaluation of a rat model of footshock-induced visceral hypersensitivity [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(1): 46-51.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.01.008

足底电击法诱导大鼠内脏高敏感模型的建立和评价

赵磊^{1,2}, 李希², 袁建业³, 林江^{2,3*}

(1. 上海中医药大学, 上海 201203; 2. 上海中医药大学附属龙华医院消化科, 上海 200032; 3. 上海中医药大学脾胃病研究所, 上海 200032)

【摘要】 目的 通过足底电击建立大鼠内脏高敏感动物模型,并评价其有效性和优势。**方法** 将雌性SD大鼠随机分为正常对照(NC)组、足底电击(FSS)组和避水应激(WAS)组。NC组每天放入模拟应激箱中1 h不予刺激;FSS组每天置于电击箱中1 h,给予电击刺激,刺激电压为40 V,刺激频率为20次/min,每次1 s,共5 min;WAS组每天给予1 h避水应激;造模期为10 d。观察记录大鼠一般情况和排便情况,用腹壁回缩反射(AWR)检测内脏敏感性,用ELISA法检测血清CRF、ACTH、CORT、5-HT浓度和结肠组织5-HT浓度。**结果** (1) FSS组大鼠的内脏敏感性明显高于WAS组和NC组($P < 0.05$),结肠黏膜无明显病理性损伤。(2) FSS组大鼠血清CRF、ACTH、CORT、5-HT浓度和结肠组织5-HT浓度均较WAS组和NC组明显升高($P < 0.05$)。(3) FSS组大鼠排便量明显高于WAS组和NC组($P < 0.05$),其粪便含水量明显高于NC组($P < 0.05$),而且其大鼠排便量和粪便含水量数值稳定。**结论** 足底电击造模法可建立大鼠内脏高敏感模型且优于避水应激法。

【关键词】 内脏高敏感;足底电击;动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 01-0046-06

Establishment and evaluation of a rat model of footshock-induced visceral hypersensitivity

ZHAO Lei^{1,2}, LI Xi², YUAN Jianye³, LIN Jiang^{2,3*}

(1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China. 2. Department of Gastroenterology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032.
3. Institute of Digestive Diseases, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032)

Corresponding author: LIN Jiang. E-mail: linjiang@longhua.net

【Abstract】 Objective To establish and evaluate a new rat model of visceral hypersensitivity (VH) induced by electric footshock. **Methods** Female SD rats were divided randomly into the normal control (NC) group, footshock stress (FSS) group, and water avoidance stress (WAS) group. The NC rats were placed in a footshock stress box for 1 h every day without stimulation. The FSS rats were placed in a footshock stress box for 1 h every day and stimulated by electric shock ($U=40$ v, $t=1$ s, $f=20$ times/min) for 5 min, and WAS rats were placed in a WAS box for 1 h every day. All groups were treated for consecutive 10 days. The general status and defecation status of the rats were recorded every other day. Visceral sensitivity was evaluated with abdominal withdrawal reflex (AWR) test. The serum concentrations of CRF, ACTH, CORT, and 5-HT and the colonic concentration of 5-HT were measured by ELISA. **Results** (1) Compared with the WAS and NC rats, the visceral sensitivity of FSS rats was significantly increased ($P < 0.05$). There were no significant pathological manifestations in the colons of FSS or WAS rats. (2) Compared with the WAS and NC rats, the serum

【基金项目】 上海中医药大学中医内科学重点项目(60Y1533)。

Funded by Key Projects of Internal Medicine of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine(60Y1533)。

【作者简介】 赵磊(1985—),男,主治医师,博士研究生在读,中西医结合治疗消化系统疾病。Email: zhao_lei210@163.com

【通信作者】 林江(1969—),男,主任医师,中西医结合治疗消化系统疾病。Email: linjiang@longhua.net

concentrations of CRF, ACTH, CORT, and 5-HT and the colonic concentration of 5-HT were all significantly increased in the FSS rats ($P < 0.05$). (3) The defecation quantity of FSS rats was significantly greater than those of WAS and NC rats ($P < 0.05$). The water content of the feces of FSS rats was significantly higher than that of NC rats ($P < 0.05$). The defecation quantity and water content in the feces of FSS rats were stable during the experiment. **Conclusions** FSS is an optimal method for establishing a rat model of VH and is superior to water avoidance stress.

[Keywords] visceral hypersensitivity; footshock; animal model; rat

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种常见的功能性肠病,主要表现为腹痛伴有排便习惯和大便性状的变化,并缺少足以解释其症状的肠道结构改变和生化异常^[1]。IBS 的发病机制尚未完全明了。目前认为,包括在生活早期遭受创伤^[2]和恐惧、焦虑、紧张等负面心理因素^[3]在内的各种应激作用于脑肠轴^[4],可引起神经、内分泌、肠道动力和内脏敏感性的异常^[5]。其中内脏高敏感(visceral hypersensitivity, VH)是引起 IBS 临床症状的重要病理生理机制之一^[6]。因此,用应激方法建立 VH 模型,对于进一步探索 IBS 发病机制和研发治疗 IBS 的药物具有重要意义。但是,现有的应激方法如避水、束缚、母婴分离等,存在刺激可控性差、容易产生应激耐受、个体差异大等缺陷,影响研究的结果。足底电击是建立大鼠焦虑、抑郁模型常用的一种应激刺激^[7-8],具有可量化和稳定的特点。而焦虑、抑郁也是引起 VH 的重要因素。因此,本研究尝试采用足底电击应激法建立大鼠 VH 的模型,并与经典的避水应激法相比较,以期建立一种简便而有效的 VH 造模方法,为相关研究提供更多的模型选择。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

清洁级雌性 SD 大鼠 24 只,体重 160 ~ 180 g,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司【SCXK(沪)2017-0005】。大鼠饲养于上海中医药大学动物实验中心【SYXK(沪)2014-0008】,温度 20 ~ 26℃,湿度 40% ~ 70%,自由进水进食,适应性饲养 3 d 后开始造模实验。所有实验经上海中医药大学伦理委员会审批【SZY201712005】,操作均符合实验动物伦理要求。

1.1.2 仪器和试剂

大鼠 ELISA 检测试剂盒:促肾上腺皮质激素释放因子(corticotrophin-releasing factor, CRF),货号

mL037302;促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH),货号 mL002875;皮质酮(corticosterone, CORT),货号 mL002893;5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT),货号 mL028308,均购自上海酶联生物。避水应激箱、恒压电击箱、压力检测气囊均为自制。

1.2 方法

将实验大鼠随机分为正常对照(normal control, NC)组、足底电击(foot shock stress, FSS)组和避水应激(water avoidance stress, WAS)组,每组 8 只,合笼饲养。NC 组大鼠每日放入足底电击箱内 1 h,不予刺激。FSS 组和 WAS 组分别置于足底电击箱和避水应激箱予以相应刺激。

1.2.1 避水应激

参考 Bradesi 等^[9]文献中的方法,装置为避水应激箱(45 cm × 25 cm × 25 cm),箱体中央设置一岛型方台(10 cm × 8 cm × 8 cm),箱体注入室温水(25℃),水面距平台表面下 1 cm,大鼠放置于方台上,每天 1 h,连续 10 d。

1.2.2 足底电击

造模装置为足底电击箱,大小与避水应激箱相同,在电击箱底部平行铺设直径 2.0 mm 的不锈钢丝,钢丝长度超出箱底两侧各 3.0 cm,钢丝间隔 0.5 cm,以大鼠足趾可同时接触相邻的至少 2 条钢丝为准,绝缘固定。将不相邻的钢丝分别在两端用导线连接,一端串联自复位开关(LA38 按钮式自锁点动开关,深圳汇君科技有限公司),接入可控硅电子恒压器(WBT.4000 W,上海稳伏电器有限公司)负极,另一端串联 15 W 白炽灯(E27 型钨丝灯,佛山电器照明股份有限公司,常温电阻 R1 = 100 Ω,发热电阻 R2 = 3200 Ω),接入恒压器正极。将大鼠置于电击箱中自由活动 1 h,后接通电源,施加足底电击刺激。具体操作如下:刺激电压为 40 V,刺激频率为 20 次/min,每次 1 s,共 5 min。为消除昼夜节律影响,刺激时间固定于每天 8:00—10:00 进行,连续 10 d。

1.2.3 排便量和粪便含水量检测

造模期间隔日采集大鼠在应激箱 1 h 内的粪便,记录颗粒数并称重,质量记为 M_1 。然后置于 70℃烘箱内烘烤 6 h,再次称干重,质量记为 M_2 。粪便含水量计算公式为:

粪便含水量 = $(M_1 - M_2) / M_1 \times 100\%$

1.2.4 直肠扩张气囊组装

将 8 号儿童导尿管顶端剪除,在剪口处加热使其钝化,将定制的橡胶气囊套于导尿管顶部,0 号手术线扎紧。导尿管用三通阀与 50 mL 注射器和便携式血压计的导气管相连,连接处严格密封。用注射器推注空气,观察记录气囊形变的压力值为 P_0 ,注射器刻度值 N_0 。

1.2.5 腹壁回缩反射(abdominal withdrawal reflex)测定

造模结束后第 1 天,大鼠禁食 12 h,将直肠扩张气囊用石蜡油润滑,轻柔插入肛门,末端距肛门约 1 cm,用胶布将导尿管固定于鼠尾根部。将大鼠置入透明有机玻璃盒中,适应 10 min 后,用注射器以 2 mL/s 速度向气囊内注气。当注射器刻度接近 N_0 时推注速度降为 0.5 mL/s,同时观察大鼠腹壁。当腹部肌肉收缩时,标记为疼痛压力阈值。所得压力值减去球囊形变压力 P_0 为真实压力阈值。每只大鼠重复操作 3 次,每次操作间隔 2 min,取平均值。

1.2.6 动物取材

在造模第 4 天、第 7 天、第 10 天以及造模结束后第 1 天,待大鼠于造模箱内应激 1 h 后,分别抽取尾静脉血 0.5 mL 置于 1.5 mL 离心管中。所有血液标本 4℃静置过夜后,3000 r/min 匀速离心 15 min,取血清备用,用于血清 CRF、ACTH、CORT、5-HT 等检测。造模结束后第 1 天尾静脉取血后,用 2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠,颈椎脱臼处死。剖腹,剪取距肛门 5 cm 以上的结肠组织 4 cm,沿肠系膜纵向剖开,用磷酸盐缓冲液漂洗,分成 2 等分,一段置入 4%甲醛溶液中固定,用于病理检查;另一段称量 50 mg,匀浆后用于 ELISA 检测肠组织 5-HT。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 21 进行统计分析,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。三组间单一数据比较采用方差分析,三组间不同时间点多个数据比较采用单因素重复测量方差分析,组间两两比较采取 SNK-q 检验。对于不符合正态分布或方差不齐的数据,采用非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 大鼠一般行为和体重比较

造模期间各组大鼠毛发光泽浓密,饮食及体重增加稳定。三组大鼠体重比较见表 1,差异无显著性($P > 0.05$)。NC 组大鼠活动自如,FSS 组和 WAS 组大鼠受水环境和电击应激环境影响,均表现出精神紧张,活动谨慎及异常排便等应激行为。

表 1 大鼠体重变化(g, $\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 1 Changes of body weight in the rats (g, $\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别 Groups	第 1 天 Day 1	第 3 天 Day 3	第 5 天 Day 5	第 7 天 Day 7	第 10 天 Day 10
对照组 NC	169.7 ± 4.1	186.4 ± 6.2	193.0 ± 6.0	202.4 ± 9.4	213.8 ± 11.1
电击组 FSS	169.1 ± 5.5	180.3 ± 11.7	183.1 ± 10.6	192.3 ± 14.6	200.0 ± 15.8
避水组 WAS	172.9 ± 8.1	185.2 ± 10.8	188.5 ± 12.4	195.6 ± 16.3	203.0 ± 17.8

注:三组间体重比较采用重复测量方差分析。
Note. Repeated measures. ANOVA is used to compare the changes of body weight among the three groups.

2.2 粪便颗粒数和含水量比较

造模期间大鼠排便颗粒数和粪便含水量结果见表 2 和表 3。FSS 组和 WAS 组大鼠经过应激刺激后,排便量明显增多,组间比较,差异有显著性($P < 0.05$)。NC 组大鼠对应激箱环境能较好地适应,粪便颗粒数稳定,组内不同时间点比较,差异无显著性($P > 0.05$)。WAS 组组内不同时间点比较,粪便颗粒数逐渐减少,差异有显著性($P < 0.05$),在相同

时间点避水组与正常组比较,从第 7 天起排便量相当,差异无显著性($P > 0.05$)。FSS 组排便颗粒数和粪便含水量增加明显而稳定,组内比较差异无显著性($P > 0.05$),排便颗粒数在相同时间点与 NC 组和 WAS 组比较,差异有显著性($P < 0.05$)。WAS 组因排便颗粒沾水,无法有效获取粪便及测量其含水量。

表 2 大鼠排便颗粒数比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Comparison of the number of stool particles (n) in the rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别 Groups	第 1 天 Day 1	第 3 天 Day 3	第 5 天 Day 5	第 7 天 Day 7	第 10 天 Day 10
对照组 NC	2.3 ± 1.5	2.2 ± 1.2	2.3 ± 0.8	2.5 ± 1.4	2.7 ± 0.8
电击组 FSS	2.5 ± 1.4	7.8 ± 1.9*	8.0 ± 1.1* [#]	8.0 ± 1.7* [#]	8.7 ± 1.7* [#]
避水组 WAS	7.3 ± 1.2*	6.5 ± 0.8*	4.0 ± 0.9*	3.0 ± 0.9	2.8 ± 0.8

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;与避水应激组比较,[#] $P<0.05$ 。(下表同)
Note. Compared with the NC group,* $P<0.05$. Compared with the WAS group,[#] $P<0.05$.(The same in the following tables.)

表 3 大鼠粪便含水量(%)比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Comparison of water content(%) in feces of the rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别 Groups	第 1 天 Day 1	第 3 天 Day 3	第 5 天 Day 5	第 7 天 Day 7	第 10 天 Day 10
对照组 NC	49.7 ± 1.7	46.4 ± 2.5	49.0 ± 2.5	46.4 ± 3.8	44.9 ± 4.0
电击组 FSS	47.9 ± 2.3	65.2 ± 4.4*	68.5 ± 5.0*	65.6 ± 6.6*	69.6 ± 3.9*
避水组 WAS	/	/	/	/	/

2.3 大鼠直肠疼痛压力阈值比较

造模结束后第 1 天,检测大鼠直肠敏感性。用自制气囊刺激直肠诱发腹壁回缩反射,记录引起腹部肌肉收缩的气囊压力值,减去气囊形变压力 P_0 ,作为疼痛压力阈值。结果 FSS 组与 WAS 组的大鼠疼痛阈值较正常组均明显降低,差异有显著性(120.0 ± 7.6 mmHg vs. 160 ± 2.1 mmHg; 148.3 ± 11.7 mmHg vs. 160.2 ± 2.1 mmHg, $P<0.05$),且 FSS 组比 WAS 组的降低更为明显,存在显著性差异(120.0 ± 7.6 mmHg vs. 148.3 ± 11.7 mmHg, $P<0.05$)。

表 4 大鼠血清 CRF(pg/mL)、ACTH(pg/mL)和 CORT(ng/mL)浓度比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Comparison of serum concentrations of CRF, ACTH and CORT in the rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别 Groups	第 4 天 Day 4			第 7 天 Day 7			第 10 天 Day 10		
	CRF	ACTH	CORT	CRF	ACTH	CORT	CRF	ACTH	CORT
对照组 NC	249.8±8.7	19.9±1.0	6.6±0.3	237.7±11.4	19.3±0.2	6.9±0.2	217.5±10.8	18.6±0.3	6.8±0.4
电击组 FSS	293.7±8.6*	24.2±0.4*	9.2±0.4*	340.4±4.9* [#]	25.7±0.3* [#]	10.7±0.3* [#]	340.1±5.1* [#]	26.1±0.9* [#]	11.6±0.3* [#]
避水组 WAS	289.3±9.1*	22.6±0.6*	8.9±0.2*	274.6±8.4*	21.3±0.3*	8.3±0.3*	277.3±10.5*	21.2±0.4*	8.4±0.4*

2.5 大鼠血清和组织 5-HT 浓度比较

造模结束后第 1 天,检测大鼠血清和结肠组织中 5-HT 浓度,结果见表 5。与 NC 组比较,FSS 组和 WAS 组大鼠血清和组织 5-HT 浓度均明显升高,差异有显著性($P<0.05$)。FSS 组 5-HT 浓度较 WAS 组升高明显,差异有显著性($P<0.05$)。

2.6 结肠黏膜病理表现

三组大鼠结肠黏膜 HE 染色均未见明显结构异常和炎性细胞浸润,可排除模型动物存在肠道炎症和肠黏膜损伤。(见图 1)

2.4 大鼠血清 CRF、ACTH 和 CORT 浓度比较

大鼠经过应激刺激后,分别在第 4 天、第 7 天、第 10 天检测其血清中 CRF、ACTH 及 CORT 激素浓度,结果见表 4。WAS 组和 FSS 组大鼠血清 CRF、ACTH 和 CORT 在造模第 4、第 7 和第 10 天均较 NC 组明显升高,差异有显著性($P<0.05$)。WAS 组大鼠血清 CRF、ACTH、CORT 浓度在第 4 天升高明显,后逐渐降低,并从 7 d 起稳定在一定水平,与第 10 天比较差异无显著性($P>0.05$)。FSS 组血清 CRF、ACTH 浓度逐渐升高,第 7 天起稳定在较高浓度,与第 10 天比较,差异无显著性($P>0.05$),但 CORT 浓度持续升高,第 4 天、第 7 天、第 10 天差异均有显著性($P<0.05$)。

表 5 大鼠血清和结肠组织 5-HT(ng/mL)浓度比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 5 Comparison of 5-HT (ng/mL) concentration in serum and colon tissue of the rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别 Groups	结肠 Colon	血清 Serum
对照组 NC	10.1 ± 0.6	9.1 ± 0.4
电击组 FSS	14.9 ± 0.5* [#]	13.1 ± 0.5* [#]
避水组 WAS	13.7 ± 0.8*	12.4 ± 0.4*

3 讨论

应激诱导法如避水应激^[10]、束缚应激^[11]、母婴



图 1 各组大鼠结肠黏膜组织切片(伊红-苏木素染色)

Figure 1 Histopathological changes of colon tissue in different groups of the rats (HE staining)

分离^[12]等通过人为的生理或心理刺激,间接诱导出肠道痛阈降低等 VH 表现。这些造模方法所建立的 VH 模型符合应激可以诱导或者加重 VH 症状的 IBS 病理生理机制,且所建立模型的肠道无病理性损伤,因此一直作为经典的造模方法被应用于 IBS 内脏高敏感性的研究中^[13-14]。但是这些应激方法尚存在一些不足之处:如母婴分离法,幼鼠在成年后体长和体重等均一性差,导致其内脏敏感性也存在较大的差异;又如避水应激法,随着应激延长,大鼠会对其产生耐受。还有研究采用不可预知性慢性应激刺激干预大鼠,以求避免应激耐受,但是实验过程复杂,可操作性低^[15]。

本研究采用足底电击作为应激刺激构建 VH 模型。将大鼠放置于特制的足底电击箱内,大鼠足趾作为导体形成回路,电击发生后大鼠跳起,电路瞬间断开。如果大鼠不能躲避,则白炽灯亮起,灯丝发热后电阻迅速增加,电击笼内电压降至安全范围,可使大鼠避免发生电击损伤。实验中的电击条件参照了有关文献^[7,16]的报道。在足底电击造模期间大鼠足底皮肤微红,1 h 左右可恢复正常,无明显皮损、肿胀等电击伤,符合实验动物福利的 3R 原则。在造模结束后检测大鼠结肠黏膜并未出现病理损伤表现。本研究中内脏敏感性的评价采取常用的直肠扩张法^[6]。造模结束后直肠扩张刺激引发大鼠疼痛的压力阈值明显低于正常对照组。与经典的避水应激法相比,足底电击法模型大鼠肠道疼痛压力阈值降低存在更好的一致性,其指标参数能更好地反映大鼠的 VH。

本研究还观察到,在避水应激法造模中,部分大鼠多次落水后对溺水的恐惧感骤减,大鼠的排便数会随造模天数的增加而逐渐减少。避水应激法造模大鼠从第 5 天起排便粒数明显减少,到第 10 天已接近于正常组。而足底电击法造模大鼠 3 d 后可

出现排便粒数增多和粪便含水量增加,明显高于正常对照组,而且这一现象可稳定持续到造模结束,更符合 IBS 大便性状和排便习惯改变的临床特点。

目前认为,应激引起的 VH 可能与下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)密切相关。大脑中枢接收应激刺激信号,引起下丘脑分泌 CRF,CRF 通过垂体束的门脉系统进入脑垂体前叶,引起 ACTH 的分泌,ACTH 由血液循环运送至肾上腺皮质,引起糖皮质激素的释放^[17]。啮齿类动物的糖皮质激素主要成分是 CORT。有研究^[18-19]表明 CRF 和 CORT 可分别激活中枢及外周的 CRF 受体和糖皮质激素受体,直接引起 VH。因此 CRF、ACTH、CORT 等可作为评价大鼠应激水平的重要指标。本研究在造模期间动态检测了各组大鼠血清中 CRF、ACTH、CORT 等指标,结果显示避水和足底电击两种造模方法均可升高这些指标的血清浓度。但避水组各指标均一性较差,部分结果在造模结束时已接近正常值,提示大鼠对其应激存在一定的耐受。电击组各指标的升高较避水组和正常对照组持久且稳定,不存在应激耐受现象。

5-HT 是一种与 VH 形成密切相关的单胺类神经递质。其约 90% 由肠嗜铬细胞(enterochromaffin cells, EC)合成,并以旁分泌形式进入肠黏膜中。5-HT 既可激活肠道初级神经元,引起肠道蠕动和分泌活动的增强,也可兴奋内脏传入神经,进而引起下游降钙素基因相关肽、P 物质等多种神经活性物质的释放,使传入中枢的化学信号异常,引起不适感受,在 IBS 内脏高敏感性形成过程中发挥重要作用^[20]。因此,5-HT 也是目前研究 IBS 治疗药物的重要靶点之一^[21]。本研究检测了各组大鼠结肠和血清中 5-HT 浓度,发现模型大鼠结肠组织和血清中 5-HT 浓度明显升高,且与内脏敏感性升高一致,与目前已知的研究结果相吻合。应激如何引起 EC

释放 5-HT 仍未知。但已有研究^[22]发现,EC 表面存在肾上腺素受体 α_2 A,激活后可引起 5-HT 的释放。应激是否通过增加肾上腺素的释放,进而刺激 EC 分泌 5-HT,最终引起 VH,可能是以后研究的新方向。

综上所述,足底电击具有很好的可控性,可成功诱导模型大鼠 VH,模型参数均一性和稳定性好,造模成功率高,不易出现应激耐受,并可诱导大鼠排便量和粪便含水量的稳定增加。该应激造模法为研究应激、VH 和 IBS 之间的联系提供了新的造模选择。

参 考 文 献(References)

- [1] Drossman DA. Functional gastrointestinal disorders: history, pathophysiology, clinical features and Rome IV [J]. *Gastroenterology*, 2016, 150: 1262–1279.
- [2] Bradford K, Shih W, Videlock EJ, et al. Association between early adverse life events and irritable bowel syndrome [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2012, 10(4): 385–390.
- [3] Van Oudenhove L, Crowell MD, Drossman DA, et al. Biopsychosocial aspects of functional gastrointestinal disorders: How central and environmental processes contribute to the development and expression of functional gastrointestinal disorders [J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(6): 1355–1367.
- [4] Tsang SW, Auyeung KK, Bian ZX, et al. Pathogenesis, experimental models and contemporary pharmacotherapy of irritable bowel syndrome: story about the brain-gut axis [J]. *Curr Neuropsychopharmacol*, 2016, 14(8): 842–856.
- [5] Hungin AP, Becher A, Cayley B, et al. Irritable bowel syndrome: an integrated explanatory model for clinical practice [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2015, 27(6): 750–763.
- [6] Keszthelyi D, Troost FJ, Masclee AA. Irritable bowel syndrome: methods, mechanisms, and pathophysiology. Methods to assess visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 303(2): G141–154.
- [7] 耿婷婷,汪婷婷,姜劲峰,等.足底电击应激时程对大鼠焦虑样行为的影响[J]. *中国比较医学杂志*, 2016(01): 69–72.
Geng TT, Wang TT, Jiang JF, et al. The influence of footshock stress duration on anxiety-like behavior in rats [J]. *Chin J Comp Med*, 2016(01): 69–72.
- [8] 汤球,刘志学,崔淑芳,等.大鼠抑郁症模型的建立与评价[J]. *实验动物科学*, 2011, 28(1): 6–9.
Tao Q, Liu ZM, Cui SF, et al. Establishment and evaluation of rat model of depression [J]. *Lab Anim Sci*, 2011, 28(1): 6–9.
- [9] Bradesi S, Schwetz I, Ennes HS, et al. Repeated exposure to water avoidance stress in rats: a new model for sustained visceral hyperalgesia [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, 289(1): G42–53.
- [10] Nozu T, Miyagishi S, Nozu R, et al. Water avoidance stress induces visceral hyposensitivity through peripheral corticotropin releasing factor receptor type 2 and central dopamine D2 receptor in rats [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2016, 28(4): 522–531.
- [11] 张北华,王微,王凤云,等.基于不同精神心理应激建立 IBS-D 大鼠模型的比较研究[J]. *世界中医药*, 2017(09): 2128–2133.
Zhang BH, Wang W, Wang FY, et al. Comparative study of establishment of a rat model of IBS-D based on different psychological stress [J]. *World Chin Med*. 2017(09): 2128–2133.
- [12] O' Mahony SM, Hyland NP, Dinan TG, et al. Maternal separation as a model of brain-gut axis dysfunction [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2011, 214(1): 71–88.
- [13] Jia M, Lu X, Wang Z, et al. Effects of Fengliao-Changweikang in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome rats and its mechanism involving colonic motility [J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2018, 24(3): 479–489.
- [14] Kanada Y, Katayama A, Ikemoto H, et al. Inhibitory effect of the Kampo medicinal formula Yokukansan on acute stress-induced defecation in rats [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2018, 14: 937–944.
- [15] 刘晓萌,张荣,董世芬,等.乌灵菌粉贯叶连翘复方制剂干预对慢性不可预知应激大鼠模型抗抑郁作用及机制的研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(05): 81–86.
Liu XM, Zhang R, Dong SF, et al. Effects of mixture of Wuling powder and *Hypericum perforatum* L. on depressed model rats induced by chronic unpredictable stress [J]. *Chin J Comp Med*, 2016, 26(05): 81–86.
- [16] 郭维,孙琪,桂牧微,等.慢性应激损伤对消化系统相关血清肿瘤标志物的影响[J]. *广东医学*, 2017(23): 3558–3560.
Guo W, Sun Q, Gui MW, et al. Experimental study on the effect of chronic stress damage on serum tumor markers [J]. *Guangdong Med J* 2017(23): 3558–3560.
- [17] Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress [J]. *Dialogues Clin Neurosci*, 2006, 8(4): 383–395.
- [18] Nozu T, Okumura T. Corticotropin-releasing factor receptor type 1 and type 2 interaction in irritable bowel syndrome [J]. *J Gastroenterol*, 2015, 50(8): 819–830.
- [19] Zhou XP, Sha J, Huang L, et al. Nesfatin-1/NUCB2 in the amygdala influences visceral sensitivity via glucocorticoid and mineralocorticoid receptors in male maternal separation rats [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2016, 28(10): 1545–1553.
- [20] Mawe GM, Coates MD, Moses PL. Review article: Intestinal serotonin signalling in irritable bowel syndrome [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2010, 23(8): 1067–1076.
- [21] Gershon MD, Tack J. The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(1): 397–414.
- [22] Bellono NW, Bayrer JR, Leitch DB, et al. Enterochromaffin cells are gut chemosensors that couple to sensory neural pathways [J]. *Cell*, 2017, 170(1): 185–198.