

基于复合因素诱导功能性消化不良大鼠模型的研究评述

龙涛¹, 郭保君¹, 赵映¹, 张璞玥¹, 郑华斌², 陈媛^{1*}

(1. 成都中医药大学针灸推拿学院, 成都 610075; 2. 成都中医药大学附属医院, 成都 610072)

【摘要】 功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是一种临床常见的胃肠道功能性疾病。FD 大鼠模型的建立, 有助于人们进一步研究该疾病。初期模型以单因素诱导为主, 但随着对 FD 病因研究不断深入, 其局限性也日益凸显。而复合因素因具有多方面模拟致病因素的优势, 在造模领域的应用逐渐广泛。

【关键词】 功能性消化不良; 大鼠模型; 复合因素

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 07-0102-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.07.018

Research and commentary on the rat model of functional dyspepsia induced by compound factors

LONG Tao¹, GUO Baojun¹, ZHAO Ying¹, ZHANG Puyue¹, ZHENG Huabin², CHEN Yuan^{1*}

(1. Acupuncture and Massage College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China.

2. Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072)

【Abstract】 Functional dyspepsia (FD) is a common clinical gastrointestinal functional disease. Establishment of an FD rat model will facilitate in-depth study of the disease. The primary method to induce the model employs single factors, but its limitations become obvious when the etiology of FD has been researched continually. However, compound factors have been gradually applied to induce the model, because they have the advantage of variously simulating the etiology.

【Key words】 functional dyspepsia, FD; rat model; compound factors

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是一种无明确器质性病因的胃肠道功能性疾病^[1]。胃动力异常和内脏高敏感性是 FD 发病机制中最重要的一环^[2], FD 动物模型也主要基于这两个因素进行模拟。目前国内外分别以成年大鼠郭氏夹尾应激法^[3]和乳鼠碘乙酰胺灌胃法^[4]为主。也有文献采用吗啡、阿托品等化学药物及电极刺激法、酸刺激法、慢性束缚应激法^[5-11]等造模, 但因临床差异较大或不具代表性而应用较少。鉴于单因素诱导

FD 的局限性, 以及复合因素诱导模型更加符合疾病的发病特点和病理特征, 本文将对复合因素诱导 FD 大鼠模型的造模方法进行分析, 为 FD 大鼠造模提供更好的思路与方法。

1 FD 大鼠模型的诱导

1.1 双因素诱导造模法

1.1.1 碘乙酰胺灌胃结合夹尾刺激法

吴震宇、李晓玲等^[12-13]采用了碘乙酰胺灌胃结

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目 (编号: 81603707)。

【作者简介】 龙涛 (1993—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 针刺与神经影像学研究。E-mail: 379481249@qq.com

【通信作者】 陈媛 (1981—), 女, 副教授, 研究方向: 针刺与神经影像学研究。E-mail: 1040539320@qq.com

合夹尾应激法诱导 FD 大鼠模型。将每只 10 日龄 SD 幼鼠予以 0.1% 的碘乙酰胺与蔗糖混合液 0.2 mL/d 灌胃,持续 6 d;灌胃结束后,大鼠正常饲养至 7 周龄;再对大鼠行夹尾刺激 1 周后,造模结束。相较于任一单因素造模,该方法同时模拟了不同的 FD 发病病因,即胃部炎症与情绪的双重干预,模型成因更加符合临床。吴震宇等^[12]还从大鼠体重变化、胃组织病理观察、3 h 摄食量及胃排空率等方面对模型予以验证评价,结果发现该方法诱导的模型从内脏高敏感、胃顺应性降低、胃排空延缓三大 FD 病理机制方面,都较好地模拟了 FD 特点,且其稳定性、可重复性和可操作性较好,不失为一种有效简单、值得推广的造模方法。

1.1.2 碘乙酰胺灌胃结合其他刺激法

有多位学者^[14-15]采用碘乙酰胺灌胃结合小平台站立法进行 FD 大鼠造模。7 日龄幼鼠予碘乙酰胺灌胃 6 d 后,正常喂养至 6 周龄时,加用 2 周改良的小平台法^[16],对大鼠造成机体应激的同时,使其因过度劳倦而产生焦虑抑郁的情绪应激。刘成全等^[17]对 6 日龄 SD 幼鼠造模后从一般状态、体重、摄食量、相关胃肠激素及尿 D-木糖排泄率等方面出发,横向对比了碘乙酰胺灌胃配合小平台站立法、单纯碘乙酰胺灌胃法,碘乙酰胺灌胃配合游泳法三种方法,结果发现三种方法均可模拟 FD 症状,但碘乙酰胺配合小平台站立法的 FD 症状出现最早,且从体重、摄食量变化及相关胃肠激素水平来看,成模效果最佳,明显优于其他两种方法。

1.1.3 夹尾结合其他刺激法

夹尾应激造模,是国内应用最普遍的单因素造模方法。为获得更佳的造模效果,多位学者在其基础上配合了其他方法进行复合造模。如王煜姣等^[18]改良了夹尾应激法,对 200 ~ 220 g Wistar 大鼠每天夹尾 2 次,每次 30 min,连续刺激 4 周;不仅减小刺激强度,使其更符合 FD 特点,还叠加不规则喂养法,并设置单因素阳性对照组进行优劣比较。通过对大鼠一般状态、行为学测试、胃和小肠排空率的对比,显示复合方法的模型更符合 FD 病理机制特点,成模效果优于单纯夹尾应激。也有实验使用夹尾法结合大黄灌胃法^[19]或结合不规则喂养法^[20-21]来建立 FD 模型,但实验中未对比单因素与复合因素优劣,故对于复合因素造模是否有优势其实并未作出科学评价。

1.1.4 稀酸灌胃结合其他刺激法

有研究表明稀酸可以抑制胃蠕动,延缓胃内压的恢复和胃排空^[22],诱发相关 FD 症状,因此部分学者^[23-25]将稀酸灌胃与不规则饮食法相结合来建模。如马建丽等^[24]对模型组 145 ~ 175 g Wistar 大鼠予不规则喂养方法处理,单日进食,双日禁食,饲养 4 周,同时自由饮水(每升水加 10 mol/L 盐酸 10 mL)。尽管从胃电节律和胃肠组织病理结果显示该方法诱导的大鼠符合 FD 特点^[25],然而目前稀酸刺激的复合造模法应用很少,相关的评价方法并不全面,因此更好地完善该复合方法的模型评价和对比实验是非常必要的。

1.2 多因素诱导造模法

近年来,有多位学者采用多种刺激因素进行联合诱导 FD 造模,试图获得成模效果更佳的 FD 模型。如 D'Aquila 等^[26]交替使用多种刺激因素对大鼠进行诱导造模:(1)禁食 24 h,(2)束缚 30 min,(3)超声刺激 2 h,(4)夹尾 1 h,(5)明暗颠倒 24 h,以上方法每天随机选取一种,相邻 2 d 只能使用不同刺激方法,造模时间共 3 周。郁保生等^[27]利用 3 月龄 SD 大鼠,以及姜苏南等^[28]利用 3 月龄 Wistar 大鼠,在慢性束缚应激配合饮食失节的基础上,分别结合过度疲劳法、夹尾激怒法,建立中医肝郁脾虚证 FD 大鼠模型。此外,还有学者是对 3 月龄 SD 大鼠采用慢性束缚应激、过度疲劳、饮食失节结合夹尾、摇晃进行多种因素共同干预^[29]。可以看出,现有多因素结合建立的模型基本上都采用到了束缚激怒和饮食失节的方法使大鼠处于焦虑抑郁和饥饱无常的状态,达到同时对动物机体和心理两方面进行模拟的目的,尽可能的使其接近现代人类 FD 发病的状态,而其中情绪干预是不容忽视的重要手段之一。

尽管多因素造模更多是为了累积不同刺激效果获得更接近人体 FD 的模型,但并非干预手段累积越多成模效果就越好。以上多因素造模研究基本都存在模型评价方法单一甚至没有评价方法的问题,因此需进一步完善其评价手段。模拟过程中叠加因素越多,给模型评价带来的干扰就越大。研究基本认为多因素造模更有优势,但在目前没有 FD 造模方法统一标准的情况下并未与其他单因素等方法进行对比和评价,既不能证明多因素较单因素造模更具优势,也无法评估成模是由多种刺激中某种刺激因素发挥了主要作用,还是联合刺激发挥的

协同作用,这给未来病理机制的深入研究和高质量模型的建立带来诸多困难。此外,刺激因素越多,操作步骤也越复杂,操作上的容错率更低,失误的累积也会导致实验结果与真实值偏差更大,时间和成本花费也就相对越多。

因此造模同样需要综合考虑成本、周期以及重要的模型稳定性等因素并进行合理化的选择。而无论是单因素、双因素或者多因素造模,选择施加的刺激因素,与模型的稳定性和有效性息息相关。因此,在造模的实施中应尽量选择明显符合 FD 症状,且停止刺激后症状能维持较长时间,不会轻易耐受或自愈的干预方法进行造模,从而提高模型的稳定性。

2 FD 大鼠模型的评价

无论是夹尾刺激还是小平台站立,都是以大鼠暴怒或劳倦产生焦虑、抑郁等情绪障碍为基础进行的复合因素诱导内脏高敏感性模型,而对应的评价方法多种多样。国外文献大多均采用胃动力测定对模型予以评价;而国内文献大多从大鼠的一般状态、体重和摄食量的变化进行判断,也有少量文献增加了行为学测试、胃排空率或胃肠激素进行评价。但笔者认为这类模型的评价,不仅需要设置对一般状态的观察,而且应当深入对单纯行为学测试的探讨。

2.1 一般情况评价

造模期间通过定期对比观察各组大鼠的毛发表色,摄食量和体重变化,精神状态、情绪反应,大小便等情况,辅助评价造模效果^[31]。如果除了体重变化外大鼠还出现神疲乏力,毛发变暗、不顺,便软甚至出现稀便等情况,则证明 FD 造模成功。通过参考人类 FD 症状,这种方法给我们提供了辅助评价动物 FD 的可能,但由于该方法大多需要肉眼观察症状,主观因素强,不同人员对同一情况的描述可能有不少差异,国际上也没有统一的标准,除了摄食量和体重数据变化外,毛发等指标可信度并不高,因此在国外应用较少。

2.2 行为学测定

通过借助仪器记录更客观真实的数据从而对大鼠的体力、行为,以及焦虑、抑郁等精神状态等进行深入分析评估,从心理情绪层面予以客观评价。如 Liu 等^[4]利用糖水偏好测试、敞箱实验等行为学测试对大鼠焦虑、抑郁状态进行评估。笔者以为,

尽管 FD 与精神心理因素密切相关^[32],该方法也是评价动物精神状态的国际标准之一,但 FD 发病机制复杂,若通过疼痛激怒大鼠造成情绪刺激后再测试其情绪变化,当大鼠行为学上处于焦虑抑郁状态时即认定 FD 造模成功,而无其他胃肠动力方面的客观指标佐证时,这种认定就有失客观,因此该方法也有不足之处。

2.3 胃动力测定

胃动力测定,包括胃排空率、胃敏感性和胃顺应性,基本覆盖了 FD 主要的病理生理改变,是目前国际上公认的可信度高的 FD 评价手段。胃排空率主要分为灌胃法检测胃排空率^[29, 32]和自主喂食法检测胃排空率^[33-34]。前者一般采用灌胃后检测标志物的残余量,后者是待大鼠自主进食后不久检测食物残余量。两者后续取胃操作和原理基本相似,但自主喂食法省去了大鼠灌胃环节,通过模拟正常进食减少外界干扰,比灌胃更接近生物真实的胃排空状态,不仅能观察大鼠摄食量的变化,还可避免灌胃给大鼠造成的精神刺激对实验产生的影响,以及操作不慎可能带来的组织损伤及意外死亡风险,因此在相同条件下,自主喂食法更具优势。而 Liu 等^[4]在研究中发现,在 FD 大鼠模型身上胃敏感性和胃顺应性的差异体现最为明显。两种检测方法均采用胃内植入气囊的方式,分别测得模型动物胃扩张刺激时的颈部肌肉群肌电反应^[35-38]以及计算球囊容积与压力的比值^[39-40]。两者的器材、手术操作流程基本相似,主要差异在气囊的形状、体积和具体加压步骤。需要注意的是,除了气囊的直径、形状外,气囊植入术后应给予大鼠足够的时间用于恢复创伤,否则伤口的感觉异常可能会干扰最后实验结果,不过具体影响则有待相关实验加以验证。

因此笔者认为,在对 FD 大鼠尤其是这类夹尾或束缚、孤养等处理后存在情绪障碍的内脏高敏感模型予以模型评价时,除了一般状态、摄食量和体重,胃组织病理变化等国内常用的方法外,研究人员也应参考国外相关文献,选择胃动力学测试对模型予以综合评价,这样对于评价方法的进一步完善以及甄选可制备高质量 FD 模型的复合因素更具有积极意义。当 SD 大鼠诱导造模期间及造模完成时,大鼠存在体重增长缓慢,胃排空率显著降低,尤其是胃敏感性显著增加而胃顺应性也显著降低的同时大鼠胃黏膜并未出现确切器质性病变,即完成 FD 模型的建立。

3 结语

纵观目前 FD 大鼠模型的研究,单因素和复合因素各有利弊。单因素既有相应的适用范围,也存在一定短板,并非唯一选择。其造模优点在于简单易行,重复性较好,如果涉及到对某些单一具体的病理机制研究就非常适用,因此单因素一直是常规造模手段。然而单因素造模存在的问题是,FD 的病因而至今仍不是十分明确,单因素造模目前基本是从胃动力异常、内脏高敏感性或胃酸分泌增多等方面复制 FD 单一的病理机制,因此不能充分地体现 FD 于人类机体上病理状态和症状表现的复杂多样,与实际临床有不少差距,局限性也会相对明显。而另一方面,从实验成本出发,复合因素造模也许并非首选,但如果从发病机制和症状出发,在解剖和功能、机体和心理情绪等方面进行综合模拟,将两种手段结合并运用于 FD 模型的诱导,使模型具有胃动力异常、内脏高敏感性等多维度病理机制的特点,相对更贴近临床,模型的本质就可向人类 FD 的发生发展病理过程进一步靠拢,也就有望制备出更完善和稳定的 FD 模型。

然而关于复合因素造模是否较单因素更有优势的问题,现有相关文献的解答尚有缺陷。有文章对单复因素的优劣进行了对比验证,从初步结果得到复合因素成模效果更佳的结论,但实验中缺乏足够客观的依据如胃敏感性和胃顺应性的差异来说明和验证复合因素的优势,仅仅依靠大鼠的一般情况观察及胃排空率等仍显不足;同时实验普遍未提及造模过程中大鼠的存活率与死亡率,死亡是造模致死还是其他意外致死,而如果造模方法致死率较平均水平高,相对推广难度就更大,应用价值也会降低;复合因素造模方法形式多样,缺乏统一的标准;即使采用了相同造模方法,不同的模型评价指标,对实验结果也会产生不小的影响。除此之外,文献基本未描述造模后大鼠 FD 症状的持续时间及自然恢复时间,也未见有文献将其作为模型质量高低的一个评价指标来加以论述;而不同品系的大鼠(Wistar/SD)构建的 FD 大鼠模型其稳定性和生理病理指标是否存在差异,这些问题都需要一个统一的造模标准和评价标准才能进一步解答。

因此,笔者认为今后仍需要在以下几点上继续深入研究:(1)摸索一种造模效果稳定良好的方法,形成 FD 大鼠模型的建立标准。研究人员应当努力

探求符合自然发病状态的方法,比如将国际上通用的碘乙酰胺灌胃法与国内传统的 SD 大鼠改良夹尾法相结合进行造模。两种方法囊括了 FD 最重要的两个发病机制,而初步评价造模效果也较好,然而复合因素模型在病理生理学等指标上是否更具有代表性和优势,未来还需要进一步实验进行对比验证。(2)确定适宜的统一模型评价方法。鉴于 FD 最主要的诊断标准是无器质性病变,因此笔者认为,首先参考国外以着重使用胃动力测定方法评价 FD 为主,如胃排空率尤其是胃敏感性或胃顺应性的检测。而在胃组织病理观察检测排除器质性病变的基础上,配合上记录大鼠体重增长变化、摄食量变化等手段来辅助评估模型,有助于从功能、症状等外在表现方面,进一步完善模型的评价。

总的来说,统一的造模实验标准将是本研究团队未来致力完善和突破的内容。

参考文献:

- [1] Tack J, Talley NJ, Camilleri M, et al. Functional gastroduodenal disorders [J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(5): 1466–1479.
- [2] Miwa H, Watari J, Fukui H, et al. Current understanding of pathogenesis of functional dyspepsia [J]. *J Gastroen Hepatol*, 2011, 26(S3): 53–60.
- [3] 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.
- [4] Liu LS, Winston JH, Shenoy MM, et al. A rat model of chronic gastric sensorimotor dysfunction resulting from transient neonatal gastric irritation [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(7): 2070–2079.
- [5] 李冀, 刘蔚雯, 肖洪彬, 等. 枳术汤治疗功能性消化不良的配伍研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2007, 25(2): 199–201.
- [6] 曾玲, 江永苏. 胃消合剂治疗功能性消化不良疗效观察及机理研究 [J]. *重庆医学*, 2004, 33(4): 612–614.
- [7] Lee TH, Kim KH, Lee SO, et al. Tetrahydroberberine, an isoquinoline alkaloid isolated from *corydalis tuber*, enhances gastrointestinal motor function [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 338(3): 917–924.
- [8] Sun Y, Chen JD. Gastric electrical stimulation reduces gastric tone energy dependently [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2005, 40(2): 154–159.
- [9] Mattsson H, Arani Z, Astin M, et al. Altered neuroendocrine response and gastric dysmotility in the Flinders Sensitive Line rat [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2005, 17(2): 166–174.
- [10] 曹峰. 茯苓甘草汤对功能性消化不良大鼠胃液体排空及胃窦一氧化氮及乙酰胆碱酯酶的影响 [J]. *中国中医急症*, 2009, 18(2): 256–257.
- [11] 岳利峰, 丁杰, 陈家旭, 等. 肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价 [J]. *北京中医药大学学报*, 2008, 31(6): 396–400.

- [12] 吴震宇, 张声生, 李培彩, 等. 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 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2015, 23(7): 462–466.
- [13] 李晓玲, 张声生, 杨成, 等. 枳术丸对功能性消化不良大鼠胃平滑肌收缩反应及胃促生长素受体蛋白表达的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(2): 210–215.
- [14] 吕林, 王凤云, 唐旭东, 等. 脾虚 1 号方对脾虚证功能性消化不良大鼠小肠葡萄糖转运蛋白 1 的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2017, 40(6): 456–462.
- [15] 刘艳阳, 李峰, 刘晶, 等. 内脏敏感增高型功能性消化不良脾虚证动物模型的建立 [J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(11): 2218–2220.
- [16] Suchecki D, Tufik S. Social stability attenuates the stress in the modified multiple platform method for paradoxical sleep deprivation in the rat [J]. *Physiol Behav*, 2000, 68(3): 309–316.
- [17] 刘成全, 邓青, 谭志超, 等. 功能性消化不良脾虚证大鼠模型的建立及评价 [J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(3): 311–315.
- [18] 王煜姣, 凌江红, 张钰琴, 等. 复合病因造模法制备功能性消化不良大鼠模型 [J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(2): 210–214.
- [19] 陈晨, 全俊, 李曼蓉, 等. 功能性消化不良重叠肠易激综合征动物模型的建立 [J]. 实验动物科学, 2013, 30(4): 18–21, 30.
- [20] 康朝霞, 张红星, 徐派的, 等. 电针对功能性消化不良大鼠胃窦 ghrelin 及 mTOR 的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2017, 25(17): 1553–1557.
- [21] 罗晓琴, 杨云, 张红星. 电针对功能性消化不良大鼠血清 GAS 和 SS 的影响 [J]. 山西中医, 2016, 32(4): 53–55, 58.
- [22] Holzer P, Painsipp E, Jocie M, et al. Acid challenge delays gastric pressure adaptation, blocks gastric emptying and stimulates gastric fluid secretion in the rat [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2003, 15(1): 45–55.
- [23] 张勇, 王振华. 大鼠胃电节律失常模型的建立 [J]. 中国实验动物学杂志, 1996, 6(1): 15–17.
- [24] 马建丽, 赵思俊, 王婷婷, 等. 丁桂儿脐贴对功能性消化不良大鼠和脾虚小鼠的影响 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(7): 1067–1070.
- [25] 叶仁群, 张光奇. 二金汤对功能性消化不良大鼠胃窦肥大细胞和血清一氧化氮的影响 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2004, 12(6): 334–336.
- [26] D'Aquila PS, Brain P, Willner P. Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression [J]. *Physiol Behav*, 1994, 56(5): 861–867.
- [27] 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): 251–254.
- [28] 姜苏南, 郭璇, 徐寅, 等. 舒胃汤对功能性消化不良大鼠胃肠平滑肌 Bcl-2、Caspase-12 表达的影响 [J]. 湖南中医药大学学报, 2017, 37(7): 704–707.
- [29] 肖靛宜, 刘未艾, 吴清明, 等. 隔药饼灸对功能性消化不良肝郁脾虚大鼠下丘脑单胺类神经递质表达的影响 [J]. 针刺研究, 2016, 41(1): 60–64.
- [30] Zhou J, Li S, Wang Y, et al. Inhibitory effects and mechanisms of electroacupuncture via chronically implanted electrodes on stress-induced gastric hypersensitivity in rats with neonatal treatment of iodoacetamide [J]. *Neuromodulation*, 2017, 20(8): 767–773.
- [31] Oudenhoove LV, Aziz Q. The role of psychosocial factors and psychiatric disorders in functional dyspepsia [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 10(3): 158–167.
- [32] Ozaki N, Bielefeldt K, Sengupta JN, et al. Models of gastric hyperalgesia in the rat [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 283(3): G666–G676.
- [33] 李晓玲, 张声生, 杨成, 等. 枳术丸对功能性消化不良大鼠胃排空功能及 Ghrelin, 5-HT、CGRP 的影响 [J]. 北京中医药, 2014, 33(11): 856–860.
- [34] 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(5 Pt 1): G965–G970.
- [35] 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(9): 1425–1433.
- [36] 刘晶, 李峰, 唐旭东, 等. 功能性消化不良脾虚证动物模型的制作及评价 [J]. 环球中医药, 2015, 8(6): 701–705.
- [37] Liu LS, Shenoy M, Pasricha PJ. The analgesic effects of the GABAB receptor agonist, baclofen, in a rodent model of functional dyspepsia [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2011, 23(4): 160–161.
- [38] Arvidsson S, Larsson M, Larsson H, et al. Assessment of visceral pain-related pseudo-affective responses to colorectal distension in mice by intracolonic manometric recordings [J]. *J Pain*, 2006, 7(2): 108–118.
- [39] Liu LS, Li Q, Sapolsky R, et al. Transient gastric irritation in the neonatal rats leads to changes in hypothalamic CRF expression, depression- and anxiety-like behavior as adults [J]. *PLoS One*, 2011, 6(5): e19498.
- [40] Monroe MJ, Hornby PJ, Partosodardarso ER. Central vagal stimulation evokes gastric volume changes in mice; a novel technique using a miniaturized barostat [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2004, 16(1): 5–11.