

实验性糖尿病动脉粥样硬化大鼠模型的建立

路一平¹, 邱健^{1*}, 詹纯列²

(1. 广州军区广州总医院心血管内科, 广州 510010; 2. 广州军区广州总医院医学实验科)

摘要: 目的 建立糖尿病动脉粥样硬化的 Wistar 大鼠模型。方法 10 周龄雄性 Wistar 大鼠 以保护性剂量 260 mg/kg 腹腔注射烟酰胺 (Nicotinamide, NA) 溶液, 15 分钟后尾静脉注射链尿佐菌素 (streptozotocin, STZ) 60 mg/kg, 同时给予维生素 D₃ (VD₃) 注射液按总剂量 60 万 IU/kg 分三天灌胃, 在上述基础上饲喂高脂高胆固醇饲料。测定大鼠血脂、血糖、胰岛素含量, 制作胰腺、主动脉石蜡切片, 观察其形态学变化。结果 8 周后大鼠空腹血糖 ≥ 7.8 mmol/L, 且 HE 染色可见胰岛增生、散在分布、形状不规则, 主动脉内膜下有大量泡沫细胞聚集, 中膜增生, 结构紊乱。对照组未出现类似变化。结论 该方法可用于糖尿病动脉粥样硬化 Wistar 大鼠模型的制作。

关键词: 糖尿病; 动脉粥样硬化; 动物模型

中图分类号: Q95-33 文献标识码: A 文章编号: 1000-7083 (2006) 01-0165-03

糖尿病是一种以血糖升高为特征的代谢性疾病, 其大血管病变在 1 型或 2 型糖尿病均十分常见。糖尿病大血管病变主要是指主动脉、冠状动脉、大脑动脉、肢体动脉等大中型动脉的粥样硬化。缺血性疾病的病理基础是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS)。冠心病、脑血管和外周血管疾病是糖尿病患者致死、致残的主要病因。但是迄今为止, 糖尿病易患 AS 的发病机制还没有明确。本实验的目的是建立糖尿病动脉粥样硬化动物模型, 为研究糖尿病大血管病变发病机制及其治疗措施提供有效的病理模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 雄性大鼠 50 只, 10 周龄, 体重 220~250 g, 由第一军医大学实验动物中心提供 (质量合格证号: 0007302)。

1.2 试剂与高脂饲料配方

维生素 D₃ 注射液由上海第九制药厂提供, 链尿佐菌素 (STZ) 购自 Sigama 公司, 烟酰胺 (NA) 由广州龙沙有限公司提供, 胆固醇、胆酸钠均由河南平顶山东珠生物制品有限公司提供, 丙基硫氧嘧啶片由广东华南药业有限公司提供, 胰岛素放免试剂盒购于北京原子高科核技术应用股份有限公司。

高脂饲料配方: 3% 胆固醇, 0.5% 胆酸钠, 0.2% 丙基硫氧嘧啶, 5% 糖, 10% 猪油, 81.3% 基

础饲料。

1.3 动物分组与饲养

50 只大鼠随机分成两组, A 组 10 只为正常对照组, B 组 40 只为实验组。每日光照 12 h, 自主饮水进食。实验开始前大鼠均禁食 8 小时, 自由饮水。

A 组喂饲基础饲料, 一次性腹腔注射生理盐水, 注射量同 NA 溶液量; B 组以 260 mg/kg 的剂量腹腔注射 NA 溶液, 15 分钟后尾静脉注射 STZ 60 mg/kg (STZ 溶于 0.1 mmol/L 柠檬酸缓冲液中, pH 4.5), 同时给予 VD₃ 注射液按总剂量 60 万 IU/kg 分三天灌胃, 在上述基础上连续喂饲高脂高胆固醇饲料。

1.4 标本采集

1.4.1 血液的采集 各组动物分别于空腹状态下予 3% 戊巴比妥钠腹腔麻醉, 心脏采血 2 ml, 用 3000 r/min 立即离心 5 min, 分离血浆, 用于检测血糖、血脂、胰岛素含量。

1.4.2 组织的采集 实验结束时将各组动物处死, 分离胰腺, 立即用 10% 甲醛固定, 随后分离主动脉, 并取胸主动脉下约 1 cm, 同上述方法固定, 用于常规形态学检查。

1.5 血脂、血糖、胰岛素的测定

血脂、血糖采用全自动生化分析仪 (型号: 日立 7150), 胰岛素测定仪 (型号: 罗氏 2010)。

1.6 病理形态学研究

收稿日期: 2005-12-16 修回日期: 2006-01-11 基金项目: 广东省自然科学基金资助 (基金编号 04003529)

作者简介: 路一平 (1979~), 女, 第一军医大学在读硕士研究生, 心血管专业。* 通讯作者

胰腺、胸主动脉经 10% 甲醛固定，常规脱水包埋，连续切片，切片固定于载玻片上，HE 染色，光镜观察。

1.7 数据处理

数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间差异采用 *t* 检验，统计软件用 SPSS 11.0 软件包，以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

表 1 大鼠模型 FBG、TG、TC、HDL-C、LDL-C 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	FBG	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常组	10	5.74 ± 3.08	2.01 ± 0.74	1.14 ± 0.31	0.44 ± 0.09	0.64 ± 0.32
模型组	31	15.81 ± 3.76*	21.00 ± 6.62*	1.37 ± 0.59 [△]	0.42 ± 0.11	6.98 ± 2.33*

注：单位：(mmol/L)；模型组实验中死亡 9 只；* 与正常组比较， $P < 0.01$ ；[△] 与正常组比较， $P < 0.05$

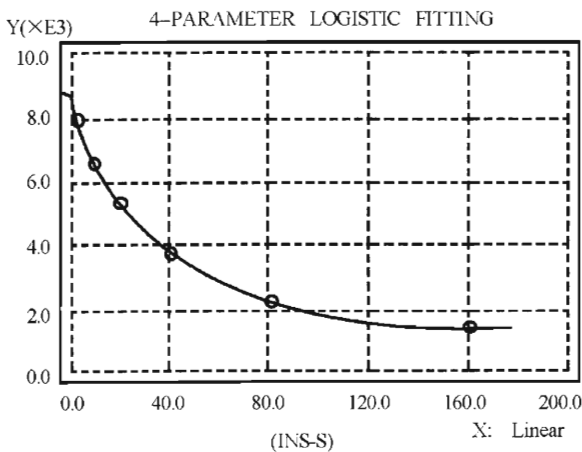


图 1 血浆胰岛素曲线图像

3 讨论

75%~80% 的糖尿病患者死于大血管病变，AS 是糖尿病大血管病变的病理基础。建立合适的糖尿病动脉粥样硬化动物模型是研究其发病机制及治疗措施的首要条件。2 型糖尿病是多基因调控与环境相互作用的结果，参与发病的许多机制还不十分明确。国外建立糖尿病动物模型的实验研究多采用自发倾向的糖尿病近交系纯种动物（如 ob/ob 小鼠/OLETF 大鼠等）、STZ 注射于新生大鼠、切除大鼠部分胰腺等方法，国内多是采取稳定性较好的化学试剂 STZ 诱发的药物性糖尿病模型，运用 STZ 诱导加高热量饲料喂养建立糖尿病模型已有研究报道^[1]；对于进行药物对冠心病作用的实验研究时，国外学者多用的是基因敲除小鼠，国内则多以复制动脉粥样硬化的动物模型为主。国外的一些方法对动物的饲养、繁殖条件要求严格，且动物

2 结果

空腹血糖 (FBG)、血浆中总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL-C) 及低密度脂蛋白 (LDL-C) 水平见表 1；血浆胰岛素曲线见图 1；形态学变化见图版（胰腺病理切片、主动脉病理切片）。

来源有限，对于国内实验的开展有一定的限制。为了研究糖尿病大血管病变的发生机理，人们迫切需与临床联系更为紧密的动物模型。因此，本研究参照文献 [2~4]，并在此基础上加以改进，在制造糖尿病动物模型的同时使实验性大鼠产生动脉粥样硬化，探讨建立一种糖尿病动脉粥样硬化大鼠的动物模型。

高脂喂养与药物干预双管齐下，能够更好的模拟人类糖尿病大血管病变的发生、发展过程，缩短实验周期。此模型的特点在于：① 在应用 STZ 之前腹腔注射 NA。STZ 对于实验动物的胰岛细胞有高选择性的毒副作用，一定剂量的 STZ 使胰岛 β 细胞受损，胰岛素合成和分泌能力降低，血糖升高，尾静脉注射 STZ 前 15 分钟应用 NA，可以使部分胰岛细胞免受损害^[5]。有一点值得注意的是，单纯应用 STZ-NA 造出的糖尿病模型并不完全与人类的糖尿病相似，至少在模型建立的初期它既没有明显体重的增加也不存在胰岛素抵抗，但是也有实验证明，在模型形成 2 个月后脂肪组织出现胰岛素敏感性降低的现象^[6]。② 由于大鼠没有胆囊，单纯高热量饮食只可以使动物产生高脂血症、外周胰岛素抵抗，但不易形成 AS。故参考杨鹏远等方法，在饲料中添加了胆酸钠和丙基硫氧嘧啶，前者能显著增加大鼠小肠对胆固醇的吸收量，后者能抑制甲状腺功能、减少对胆固醇的代谢，保证了血中胆固醇含量增高^[7]，并以 VD₃ 灌胃的方法使大鼠动脉壁完整性受到破坏，内皮通透性增高，更有利于脂质沉积于血管壁；并且 VD₃ 也导致动脉壁的钙超载，这些因素均加速了 AS 的形成。因此，在

中白鹭在东北首次发现

于业飞, 王小平, 吴超, 何巧玲, 王黎, 李建立

(辽宁蛇岛老铁山国家级自然保护区, 辽宁大连旅顺 116041)

关键词: 中白鹭; 中国东北; 发现

中图分类号: Q959.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-7083 (2006) 01-0163-01

First Discovery of Intermediate Egret (*Egretta intermedia*) in Northeast Province

YU Ye-fei, WANG Xiao-ping, WU Chao, HE Qiao-ling, WANG Li, LI Jian-li

2005 年 5 月 24 日, 辽宁省营口市鲅鱼圈区 3828 号渔船, 在渤海湾作业时一只鸟飞落至船上, 被船员收留, 25 日该船靠大连市旅顺口区羊头洼港, 当日上午 10 时交与保护区管理处。经检查此鸟没有外伤, 但明显具有病态, 很瘦弱, 不能站立, 喂食小鱼即吐, 于中午前死亡。

标本描述: 体重 335 g, 全长 680 mm, 喙 75 mm, 头喙 135 mm, 翼 310 mm, 尾 128 mm, 跗蹠 116 mm; 胫的裸出部 75 mm, 后趾(连爪) 51 mm。体羽纯白, 脚、跗蹠和趾黑色, 眼先黄色, 虹膜黄色, 嘴黄色, 嘴尖黑色。背部和前颈下部有长的蓑状饰羽, 头后不具明显的冠羽。

经鉴定, 为中白鹭 *Egretta intermedia*。按照形态描述和鸟类图谱比照, 绝大部分形态都与中白鹭相符, 有差异的唯一描述特征是, 夏季嘴黑色, 冬季嘴黄色, 而此鸟只是嘴先端黑色, 嘴的其余部分为黄色。标本的采集时间为 5 月下旬, 正常应该为夏季特征, 此鸟可能由于体弱的原因, 嘴的颜色还没有完全变化。

据文献记载, 中白鹭国内主要分布于贵州、四川、云南、长江中下游以南的华南各省, 偶尔往北到河南北部、北京和甘肃兰州。通常繁殖在 4-6 月。3 月末 4 月初开始迁来我国南部繁殖, 9 月末和 10 月初迁走, 亦有部分在我国云南、广东、海南岛和台湾越冬。栖息和活动时于河流、湖泊、河口、海边和水塘岸边浅水处及河滩上。也常在沼泽

和水稻田中活动。常单独或成对和成小群活动, 有时亦也其他鹭混群。营巢于树林或竹林内, 通常成群或与其他鹭在一起营群巢。每窝产卵 3—5 枚, 多为 4 枚。主要以鱼、虾、蛙、蝗虫、蝼蛄等水生和陆生昆虫及昆虫幼虫以及其他小型无脊椎动物为食。

查阅有关资料, 东北地区历史上没有记录。

近年来, 一些在南方生活栖息的鸟类在北方时有发现, 如白头鹮等, 值得关注和研究。

此鸟标本现保存在辽宁蛇岛老铁山国家级自然保护区管理处。

参考文献

- [1] 郑作新. 中国鸟类区系纲要. 科学出版社, 1987: 19~34.
- [2] 郑作新. 中国鸟类系统检索(第三版). 科学出版社, 2002: 11~13.
- [3] 赵正阶. 中国鸟类手册, 上卷. 吉林科学技术出版社, 1995: 99~128.
- [4] 黄沐朋, 等. 辽宁动物志·鸟类. 辽宁科学技术出版社, 1989: 32~43.
- [5] 东北保护野生动物联合委员会. 东北鸟类. 辽宁科学技术出版社, 1988.
- [6] 高野伸二. 日本野鸟. 日本野鸟协会. 1982: 113.
- [7] 约翰·马敬能, 卡伦·菲利普斯, 等. 中国鸟类野外手册. 湖南教育出版社, 2000: 210~214.

收稿日期: 2005-06-14

本实验中给予高脂高胆固醇饮食, 在部分破坏大鼠胰岛细胞的基础上进一步加重胰岛素抵抗, 同时升高了大鼠血液中的脂质含量, 导致 AS 性大血管病变, 为糖尿病大血管病变的防治提供了可靠的病理模型。

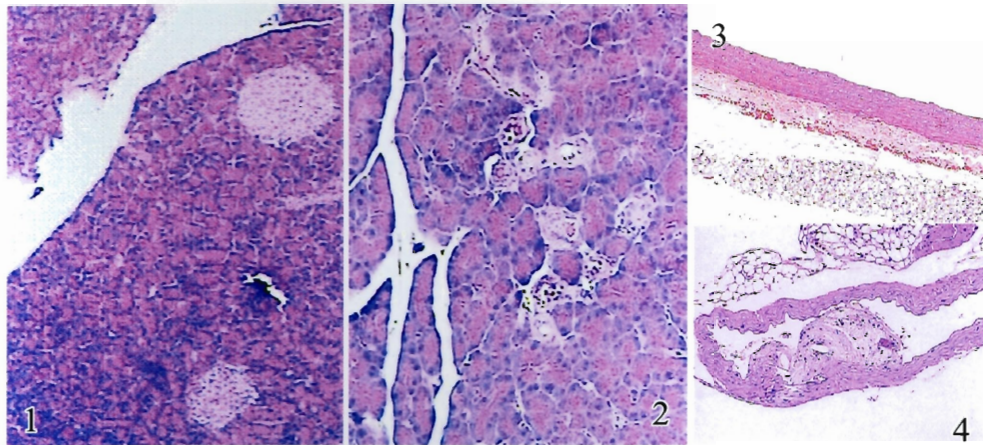
综上所述, 该模型具有糖尿病的葡萄糖和脂质的代谢紊乱, 同时具有动脉粥样硬化等胰岛素抵抗的特征, 是用于研究糖尿病大血管病变发病机制及治疗措施的良好动物模型。

4 参考文献

- [1] 张芳林, 李果, 刘优萍, 等. 2 型糖尿病大鼠模型的建立及其糖代谢特征分析[J]. 中国实验动物学报, 2002, 10 (1): 16~20.

- [2] Emmanuelle Kuntz, Michel Pinget, Christiane Damge. Effects of cholecystokinin octapeptide on the exocrine pancreas in a new rat model of type 2 diabetes [J]. European Journal of Pharmacology, 2002, 448 (2-3): 253~261.
- [3] Novelli M, Pocai A, Lajoix AD, et al. Alteration of β -cell constitutive NO synthase activity is involved in the abnormal insulin response to arginine in a new rat model of type 2 diabetes [J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2004, 219 (1-2): 77~82.
- [4] 温进坤, 韩梅, 杜玮南, 等. 一种快速建立大鼠动脉粥样硬化模型的实验方法[J]. 中国老年学杂志, 2001, 21 (1): 51~52.
- [5] Novelli M, Fabregat ME, Fernandez Alvarez J, et al. Metabolic and functional studies on isolated islets in a new rat model of type 2 diabetes [J]. Mol Cell Endocrinol, 2001, 175 (1-2): 57~66.
- [6] Fierabracci V, De Tata V, Pocai A, et al. Oral tungstate treatment improves only transiently the alteration of type 2 diabetes [J]. Endocrine, 2002, 19 (2): 177~184.
- [7] 杨鹏远, 芮耀斌, 等. 动脉粥样硬化大鼠模型的建立[J]. 第二军医大学学报, 2003, 24 (7): 802~804.

路一平, 邱健, 詹纯列: 实验性糖尿病动脉粥样硬化大鼠模型的建立



1. 大鼠胰腺显微镜图像: 正常对照组 - 胰岛岛形丰满, 轮廓清晰, 界限清楚, 岛细胞分布均匀。
2. 大鼠胰腺显微镜图像: 实验组 - 胰岛增生, 散在分布, 形状不规则, 轮廓欠圆润, 边缘不整。
3. 大鼠胸主动脉显微镜图像: 正常对照组 - 血管壁各层分界清楚, 结构完整, 排列整齐, 内皮细胞完整, 中层主要为平滑肌细胞, 外膜为疏松的结缔组织。
4. 大鼠胸主动脉显微镜图像: 实验组: 内膜明显增厚, 血管壁向管腔内突出, 血管内皮细胞排列紊乱, 可见胆固醇结晶的棱形裂隙及粉染坏死组织, 内膜下有大量泡沫细胞聚集, 中膜增生明显, 平滑肌细胞排列不规则, 结构紊乱。(HE染色, $\times 100$)