

四氧嘧啶制作家兔糖尿病模型的研究

李 妮, 周微雅, 钟 玫, 林 华, 谭小燕, 陈 晖, 陈翠玲, 黄 莹

基金项目: 广西壮族自治区科学技术厅自然科学基金课题(桂科基 0385005)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院内分泌科(李 妮, 钟 玫, 林 华, 谭小燕, 陈 晖), 临床实验室(周微雅), 核医学科(陈翠玲, 黄 莹)

作者简介: 李妮(1955-), 女, 本科学历, 主任医师, 研究方向: 内分泌内科。

【摘要】 目的 探讨四氧嘧啶制作家兔糖尿病模型建立的实验条件, 评价模型的稳定性。方法 研究禁食时间, 四氧嘧啶给药途径和给药剂量, 给药后的处理等因素对造模成功率、死亡率及血糖的影响, 考察建模后的稳定性。结果 禁食时间、给药途径、给药剂量、给药后的处理对造模影响较大, 是影响造模的主要条件。结论 选择禁食 6 h 的健康家兔, 以耳缘静脉注射 130 mg/kg 的四氧嘧啶, 注药后立即给饲料、青菜和水, 可以获得成模率高、死亡率小、血糖持续稳定的糖尿病家兔模型。

【关键词】 四氧嘧啶; 家兔; 糖尿病模型

【中图分类号】 R 587.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2008)01-0005-03

Observation on rabbit diabetes model produced by alloxan LI Ne, ZHOU Wei-ya, ZHONG Mei, et al. Department of Endocrinology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the experiment condition of rabbit diabetes model produced by alloxan and evaluate stability of the model. **Methods** Impacts of fasting time, alloxan route of administration, dose, and different handling ways of after administration on the model success rate, mortality, blood glucose were studied in 48 rabbits. **Results** Fasting time, administration route, dose and the treatment after administration were the main conditions which affect the model. **Conclusion** By selecting healthy rabbit after fasting 6 hours and injecting 130 mg/kg of alloxan from ear vein and immediately feed after injection, the diabetes rabbit model which has high success rate, low mortality and stable blood sugar can be obtained.

【Key words】 Alloxan; Rabbit; Diabetes model

用四氧嘧啶制作糖尿病动物模型在研究糖尿病的实验中最常用、最经济, 但目前造模方法、成模率、死亡率、血糖稳定性报道千差万别。因此, 建立一个稳定的糖尿病模型对进一步的糖尿病研究具有实用的意义。本文对四氧嘧啶致家兔糖尿病模型建立的一些影响因素进行了探究, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物 选用健康、体重为 1.9~2.2 kg[(2.08±0.09) kg]的日本大耳白兔 48 只, 均为♂成年兔。由广西医科大学实验动物中心提供, 动物合格证编号为医动字第 030003 号。

1.2 试剂 四氧嘧啶(ALX), 美国 Sigma 公司产品。临用前用生理盐水配制成 2% 浓度。葡萄糖测

定试剂为浙江宁波慈城生化试剂厂生产, 均在有效期内使用。

1.3 仪器 德国拜耳 1650 型全自动生化分析仪。ULTRA 稳豪血糖仪: 美国强生公司产品。

1.4 实验方法

1.4.1 动物处理及分组 将预选健康家兔饲养 3~5 d 后, 测定制模前体重、尿糖、血糖, 选血糖<6.0 mmol/L 健康家兔作为实验用动物。并随机分为大、小剂量腹腔和大、小剂量耳静脉注药组; 大剂量耳静脉注药组再分为大剂量 A 组、大剂量 B 组; 另设正常对照组。共 6 组, 每组 8 只。

1.4.2 模型建立 (1) 按《药理实验方法学》的方法^[1], 临用前将 ALX 用无菌生理盐水稀释成 2% 浓

度,在 15 min 内应用;(2)采取耳缘静脉和腹腔注射两种给药途径:将耳缘静脉注射的家兔置于木制兔笼中,固定家兔躯干,暴露其头部及双耳;腹腔注射的家兔置于动物手术台。(3)禁食不禁水 6 h 后,用 75%酒精消毒注射部位,使耳静脉充分扩张,于耳缘静脉或腹腔慢慢推入 ALX。剂量:耳静脉注射大剂量 150 mg/kg,小剂量 130 mg/kg;腹腔注射大剂量 450 mg/kg,小剂量 390 mg/kg,对照组注射等量生理盐水。于注射后,大剂量 A 组于耳静脉立即静推 50%葡萄糖(10 g/kg);腹腔大、小剂量组,大剂量 B 组,小剂量组,正常对照组立即给饲料、青菜和水;第 1,2,7,15 d 耳动脉采血测定血糖,计算每组成模率。观察 15 d,统计各组家兔死亡情况,计算死亡率。

1.4.3 造模成功指标 连续 2 d 禁食不禁水 6 h 的血糖值高于 $>11.1 \text{ mmol/L}$,尿糖阳性(++)以上,为造模成功。造模后动物在 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的环境中单笼喂养。自由饮水和常规供应饲料、青菜,连续观察 15 d。

1.4.4 稳定性观察 于造模成功后 7,15 d 分别测定禁食不禁水 6 h 的血糖及尿糖,观察其变化。

1.5 统计学处理 用 SPSS13.0 统计软件包处理数据。计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 F 检验,多个均数之间两两比较用 q 检验,小剂量、大剂量组动物成模率、死亡率之间的比较采用率的 χ^2 检验,各组内动物模型的血糖和体重不同时间的动态变化比较采用配对 t 检验。

2 结果

2.1 给药途径和药量对家兔造模的影响 结果见表 1。对成年♂日本大耳白兔 48 只,随机均匀分成 6 组。采取两种给药途径,除对照组外,每种设定 2 个给药剂量等级。表 1 表明,腹腔 2 个给药的剂量等级与对照组一样均不能成模;而静脉注射,随着 ALX 注射剂量的增加,成模率增高,死亡率也增高。结果显示,腹腔注射不能成模。静脉注射当剂量为

130 mg/kg 时,其成模率可达 87.5%,无死亡率,与静脉注射大剂量组比较 $\chi^2 = 11.25, P < 0.01$;为比较合适的造模剂量。

表 1 给药途径和药量对家兔造模影响

给药途径	组 别	给药剂量 (mg/kg)	成模数 (率%)	15 天内死亡数 (率%)
腹腔注射	对照组($n=8$)	0	0(0)	0(0)
	小剂量组($n=8$)	390	0(0)	0(0)
	大剂量组($n=8$)	450	0(0)	0(0)
耳静脉注射	对照组($n=8$)	0	0(0)	0(0)
	小剂量组($n=8$)	130	7(87.5)	0(0)*
	大剂量组($n=8$)	150	8(100)	8(100)

注:*耳静脉注射小剂量组与大剂量组比较, $\chi^2 = 11.25, P < 0.01$

2.2 给药后处理对家兔成模的影响 结果见表 2。大剂量 A 组:注药后立即静推 50%葡萄糖液(10 g/kg);其余组:注射后立即给饲料、青菜和水。表 2 表明,大剂量 A 组与对照组一样不能成模,大剂量 B 组成模率可达 100%,15 d 全部死亡率,小剂量成模率可达 87.5%,无死亡率,与大剂量 B 组比较 $\chi^2 = 11.25, P < 0.01$ 。

表 2 各组给药后处理对家兔成模的影响

组 别*	成模数(率%)	15 天内死亡数(率%)
对照组($n=8$)	0(0)	0(0)
大剂量 A 组($n=8$)	0(0)	0(0)
大剂量 B 组($n=8$)	8(100)	8(100)*
小剂量组($n=8$)	7(87.5)	0(0)

注:*大剂量 A 组:注药后立即静推 50%葡萄糖液(10 g/kg);对照组、大剂量 B 组和低剂量组:注药后立即给饲料、青菜和水。*大剂量 B 组与低剂量组比较 $\chi^2 = 11.25, P < 0.01$

2.3 糖尿病模型稳定性考察 结果见表 3。表 3 显示,在 ALX 130 mg/kg、动物禁食 6 h、耳静脉注射条件下,造模后绝大多数兔子血糖大于 20 mmol/L,分布在 18~30 mmol/L 之间;1 只兔子血糖低于 8 mmol/L,从造模的死亡情况看,随着造模后所测血糖值的有所下降和稳定,动物存活率增高、包括初成型血糖值在 30 mmol/L 的兔子。说明在该条件下造模的死亡率相当低,对实验结果不会造成实质性影响。

表 3 各组造模前后血糖变化($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)

时 间	对照组 ($n=8$)	小剂量组 ($n=8$)	大剂量 A 组 ($n=8$)	大剂量 B 组 ($n=8$)	F 值	P 值
造模前	5.40 ± 0.77	4.88 ± 0.69	5.33 ± 0.58	4.96 ± 0.75	1.10	0.37
造模第 1 天	5.26 ± 0.55	5.06 ± 0.62	4.86 ± 0.71	4.61 ± 0.53	1.67	0.20
造模第 2 天	5.13 ± 0.77	$24.63 \pm 6.97^{* \#}$	5.11 ± 0.73	$30.75 \pm 1.28^{* \#}$	109.9	0.01
造模第 7 天	5.02 ± 0.61	$24.83 \pm 7.20^{* \#}$	5.24 ± 0.86	$30.50 \pm 0.71^{* \#}$	53.82	0.01
造模第 15 天	5.26 ± 0.69	$24.73 \pm 7.29^{* \#}$	4.81 ± 0.67	—	57.34	0.01

注:组内该天血糖与造模前比较 * $P < 0.01$;该天血糖与对照组比较 $\# P < 0.01$

论 著

手法治疗神经根型颈椎病的体感诱发电位的观察研究

蒋 彬, 秦国维

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(合同编号: 桂科基 0342050)

作者单位: 541001 广西 桂林, 桂林医学院附属医院

作者简介: 蒋 彬(1963-), 男, 本科学历, 学士学位, 副主任医师, 副教授, 研究方向: 中医推拿, 中医康复。

【摘要】 目的 观察手法治疗神经根型颈椎病的体感诱发电位(somatosensory evoked potentials, SEP)变化。方法 40 例神经根型颈椎病患者分为手法组及常规组各 20 例, 治疗前及治疗 2 周后检查 SEP。结果治疗后总有效率手法组 95%, 常规组 85%; 临床治愈率手法组为 60%, 常规组 40%。两组间疗效及平均治疗时间差异无统计学意义。治疗前 SEP 异常率为 55% (22/40 例), 主要表现为 N9、N11 及 N13 潜伏期延长; 治疗后 2 组各潜伏期均有改善, 手法组 N11 潜伏期改善较常规组更显著 ($P < 0.05$)。结论 手法治疗可改善神经根型颈椎病的临床症状。

(接上页)

2.4 各组糖尿病模型造模前后体重变化 结果见表 4。表 4 显示, 经多个样本均数两两比较, 实验前各组体重之间无统计学差异。造模第 7 d 小剂量组、大剂量 B 组的体重下降, 与实验前和对照组的

体重比较, $P < 0.05 \sim 0.01$ 。造模第 15 d, 对照组、大剂量 A 组的体重有所增加, 与实验前比较 $P < 0.01$ 。但小剂量组体重则明显减轻, 与实验前和与对照组比较 $P < 0.05$ 。

表 4 各组造模前后体重变化 ($\bar{x} \pm s$, kg)

时 间	对照组 ($n=8$)	小剂量组 ($n=8$)	大剂量 A 组 ($n=8$)	大剂量 B 组 ($n=8$)	F 值	P 值
造模前	2.07 ± 0.08	2.06 ± 0.10	2.09 ± 0.09	2.09 ± 0.09	0.16	0.92
造模第 7 天	2.04 ± 0.07	$1.98 \pm 0.04^*$	2.09 ± 0.08	$1.82 \pm 0.02^{* \#}$	11.29	0.01
造模第 15 天	$2.14 \pm 0.10^{\Delta}$	$1.94 \pm 0.07^{* \#}$	$2.19 \pm 0.07^{\Delta}$	-	20.72	0.01

注: 组内该天体重与造模前比较 $^*P < 0.05$, $^{\Delta}P < 0.01$; 该天体重与对照组比较 $^{\#}P < 0.01$

3 讨论

四氧嘧啶是胰岛 β 细胞毒剂, 通过产生超氧自由基而破坏 β 细胞, 使细胞内 DNA 损伤^[2~3]。本研究以常用的家兔糖尿病模型为研究对象, 对造模的途径、影响造模的因素进行了较为系统的动态观察。研究表明, 选择禁食 6 h, 以耳缘静脉注射 130 mg/kg 的四氧嘧啶, 注药后立即给饲料、青菜和水, 可以获得成模率高、死亡率低、血糖持续稳定的糖尿病家兔模型; 造模初始血糖值 > 20 mmol/L 的家兔进行糖尿病的实验研究能够保证家兔模型的血糖稳定。上述研究结果, 对家兔糖尿病模型的复制与应用及相应的新药研发具有实用价值。实验结果还表明, 四氧嘧啶腹腔注射制作家兔糖尿病模型及耳缘

静脉注射四氧嘧啶后立即静推 50% 葡萄糖是不能成模的, 推测可能与腹膜对药不吸收或腹腔液的稀释及静脉注射 ALX 后立即静推 50% 葡萄糖液可能对胰岛 β 细胞有保护作用有关。另外所有成模家兔都会出现体重下降。

参考文献

- 徐叔云, 卡如廉, 趁 修, 等. 主编. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 982-990.
- 叶燕丽, 王辉云, 王莲贵, 等. 四氧嘧啶制作大鼠糖尿病模型[J]. 实验动物科学与管理, 2001, 18(2): 54-55.
- 陈建国, 梅 松, 付 颖, 等. 四氧嘧啶致小鼠高血糖模型的研究[J]. 卫生毒理学杂志, 2004, 18(2): 99-101.

[收稿日期 2008-08-10][本文编辑 韦挥德 黄晓红]