

DOI: 10.16658/j.cnki.1672-4062.2018.18.018

# 四氧嘧啶诱导大鼠糖尿病模型的建立

陈恩玉<sup>1</sup>, 宋婧<sup>2</sup>

1.福建省立医院康复科, 福建福州 350001; 2.厦门大学实验动物中心, 福建厦门 361101

[摘要] 目的 研究四氧嘧啶造大鼠糖尿病模型的最适给药方案。方法 分别给大鼠不同的造模给药方案, 在 30 d 内测定空腹血糖值, 并统计实验期间动物的体重及存活率。第 1 组给药方案: 腹腔注射四氧嘧啶(160 mg/kg BW); 第 2 组给药方案: 腹腔注射四氧嘧啶(120 mg/kg BW), 24 h 后第 2 次给药, 腹腔注射四氧嘧啶(100 mg/kg BW); 第 3 组给药方案: 腹腔注射四氧嘧啶(120 mg/kg BW), 24 h 后第 2 次给药, 腹腔注射四氧嘧啶(100 mg/kg BW)。第 1 次腹腔注射四氧嘧啶后, 将饮水更换为 20% 葡萄糖溶液。并维持高糖饮水 1 周。对照组给予同等体积生理盐水。结果 第 1 组的大鼠存活率为 60%, 模型成功率为 20%; 第 2 组的大鼠存活率为 65%, 模型成功率为 55%; 第 3 组的大鼠存活率为 100%, 模型成功率为 85%。结论 采用 2 次小剂量注射四氧嘧啶, 并在给药后高糖饮水可以大大提高糖尿病大鼠造模的存活率及模型成功率。

[关键词] 四氧嘧啶; 双相血糖调节; 大鼠; 糖尿病

[中图分类号] R587.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-4062(2018)09(b)-0018-03

糖尿病是一类以高血糖及慢性血糖水平升高为特征的代谢性疾病<sup>[1]</sup>。它会对人体的眼、肾、神经及心血管造成长期损害, 导致功能不全和衰竭<sup>[2]</sup>。研究糖尿病的治疗以及预防一直是科研工作者的重要任务。糖尿病大鼠模型的应用对研究糖尿病具有不可替代的作用。因此快速、准确的建立糖尿病大鼠模型具有重要的意义。目前糖尿病大鼠造模方法以化学药物诱导最为常见。常用的诱导药物包括四氧嘧啶(Alloxan, ALX)和链脲菌素(Streptozocin, STZ)。其中四氧嘧啶最为经济, 但是受到造模方案的影响, 其模型的成功率以及造模过程的死亡率相差较大。所以运用有效的造模方案建立糖尿病大鼠模型尤为重要。该文主要讨论的是四氧嘧啶诱导大鼠糖尿病模型过程中不同给药方案对造模成功率以及大鼠死亡率的影响, 以寻找最佳的造模方案, 现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 实验动物及饲养条件

SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 体重(180±200)g, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 实验动物生产许可证号为 SCXK(沪)2012-0002。实验动物饲养于厦门大学实验动物中心, 实验动物使用许可证号为 SYXK(闽)

[作者简介] 陈恩玉(1987-), 女, 福建福州人, 硕士, 医师, 研究方向: 糖尿病与骨质疏松。

2013-0006。

### 1.2 药品与试剂

四氧嘧啶(美国 Sigma 公司), 20% 葡萄糖溶液(厦门大学实验动物中心配置); 强生稳择易试纸(美国强生公司), 强生稳择易型家用血糖仪(美国强生公司)。

### 1.3 方法

取 SD 大鼠 70 只, 随机分为 4 组。其中对照组 10 只, 第 1 组 20 只, 第 2 组 20 只, 第 3 组 20 只。分组后禁食 4 h(自由饮水), 测空腹血糖, 作为该组动物的基础血糖值。随后禁食 20 h(自由饮水)按照各种给药方案制作大鼠高血糖模型。7 d 后大鼠禁食 4 h, 测血糖, 血糖值 10~25 mmol/L 为高血糖模型成功动物, 30 d 后大鼠禁食 4 h, 测血糖, 血糖值 10~25 mmol/L 为稳定高血糖模型动物。该实验制定的 3 个给药方案: 第 1 组给药方案: 腹腔注射四氧嘧啶(用前新鲜配制), 剂量为 160 mg/kg BW; 第 2 组给药方案: 腹腔注射四氧嘧啶(用前新鲜配制), 剂量为 120 mg/kg BW, 24 h 后第二次给药, 腹腔注射四氧嘧啶(用前新鲜配制), 剂量为 100 mg/kg BW; 第 3 组给药方案: 腹腔注射四氧嘧啶(用前新鲜配制), 剂量为 120 mg/kg BW, 24 h 后第 2 次给药, 腹腔注射四氧嘧啶(用前新鲜配制), 剂量为 100 mg/kg BW。第 1 次腹腔注射四氧嘧啶后, 将饮水更换为 20% 葡萄糖溶液(厦大实验动物中心配制)。并维持高糖饮水 1 周。对

对照组给予同等体积生理盐水。

1.4 统计方法

采用 SPSS 21.0 统计学软件进行统计分析,组间差异采用单因素方差分析,数据用均值±标准差 ( $\bar{x}\pm s$ )表示, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同给药方案对大鼠存活率的影响

首先考察不同给药方案对大鼠存活率的影响,结果见表 1,第 1 组大鼠存活 12 只,存活率为 60%;第 2 组大鼠存活 13 只,存活率为 65%;第 3 组和对照组大鼠全部存活。

表 1 大鼠存活率(%)

组别	0 d	10 d	20 d	30 d
对照组	100	100	100	100
第 1 组	100	60	60	60
第 2 组	100	65	65	65
第 3 组	100	100	100	100

2.2 不同给药方案对大鼠体重的影响

在整个实验周期中,记录不同时间段,不同造模方案对大鼠体重的影响,结果见表 2,第 1 组大鼠体重增加程度最高,第 2 组和第 3 组大鼠体重增加程度变化相近。

表 2 不同时间段大鼠体重变化[( $\bar{x}\pm s$ ),g]

组别	0 d	10 d	20 d	30 d
对照组	257.63±7.60	354.11±9.67	430.80±9.28	484.17±17.39
第 1 组	256.93±7.88	322.86±17.18	381.62±28.53	437.56±45.04
第 2 组	253.35±8.27	319.89±16.11	373.02±23.09	411.55±29.56
第 3 组	256.77±7.40	319.72±12.33	369.02±22.93	414.56±32.74

2.3 不同给药方案对大鼠血糖的影响

在整个实验周期中,于不同时间段对大鼠的空腹血糖进行检查,考察模型的稳定性,结果见表 3,造模组大鼠血糖值稳定。

表 3 不同时间段大鼠血糖值[( $\bar{x}\pm s$ ),mmol/L]

组别	0 d	10 d	20 d	30 d
对照组	6.12±0.55	6.19±0.38	6.06±0.39	6.10±0.41
第 1 组	6.32±0.41	(10.44±5.66)*	(10.16±5.56)*	(10.03±5.80)*
第 2 组	6.12±0.53	(15.82±4.58)*	(15.18±4.54)*	(14.50±4.20)*
第 3 组	6.12±0.53	(16.83±5.07)*#	(15.64±4.63)*#	(14.85±4.15)*#

注:与对照组血糖值比较,\* $P<0.05$ ;第 3 组与第 2 组比较,# $P>0.05$ 。

2.4 不同给药方案对大鼠糖尿病模型成功率的影响

将血糖>11.1 mmol/L 的大鼠记为糖尿病大鼠,第 1

组造模成功 4 只,成功率为 20%,第 2 组造模成功 11 只,成功率为 55%;第 3 组造模成功 17 只,成功率为 85%,见表 4。

表 4 不同造模方案的造模成功率

组别	造模成功只数	造模成功率(%)
第 1 组	4	20
第 2 组	11	55
第 3 组	17	85

3 讨论

全球糖尿病和肥胖的患病率均在不断增长,根据世界卫生组织 2016 年最新公布的全球糖尿病报告显示,全球糖尿病患病率为 8.5%,成年糖尿病患者人数已达 4.22 亿<sup>[3]</sup>,而目前糖尿病的发病机制及药物治疗尚不完善,故建立理想的糖尿病动物模型显得唯有重要。

国内多用传统的药物法诱导急性糖尿病模型 G 诱导的化学药物主要为链脲佐菌素(Streptozotocin,STZ)和四氧嘧啶(Alloxan,ALX)<sup>[4]</sup>,链脲佐菌素用量小,建模方法简便,药物毒性小,但价格昂贵,限制了其使用<sup>[5]</sup>。四氧嘧啶虽药物毒性大,试验动物死亡率高,但由于其建模快速,建模的动物血糖浓度比较稳定且维持时间长,有明显的糖尿病症状,而且价格低廉,仍然是建立糖尿病动物模型的首选药物,故在该实验在寻求与探索四氧嘧啶合适剂量及最佳造模方案。

Sunarwidhi AL 等<sup>[6]</sup>外国学者多采用一次性大剂量腹腔注射四氧嘧啶造模。但有研究<sup>[7]</sup>显示一次给药法会明显降低大鼠存活率,因此选择正确的给药方并降低死亡率对造模至关重要。多次给药法相比于一次给药法可以提高成模率,是目前建立四氧嘧啶糖尿病模型的常用方法。因此设计了不同给药剂量以及给药频次。通过实验结果的观察,四氧嘧啶注射之后,48 h 会先产生的低血糖相,可引起动物死亡,为避免严重的低血糖反应,将饮水更换为 20%葡萄糖溶液,两次小剂量造模,并及时给予葡萄糖溶液补液预防四氧嘧啶造模时产生的低血糖相,能够有效地提高造模成功率以及降低造模死亡率。然而四氧嘧啶造模产生的双相血糖结果与给药后时间的关系,该研究并没有深入研究。该次实验仅观察了单次大剂量与两次小剂量造模及造模后补糖的影响。由于四氧嘧啶安全范围大,建模快速,模型动物血糖浓度比较稳定且维持时间长,有明显的糖尿病症状,而且价格低廉,是建立糖尿病动物模型的理想药物。该文推荐的第 3 种造模方案值得推广。

## [参考文献]

- [1] Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD)[J]. *Diabetologia*, 2012, 55(6): 1577-1596.
- [2] Looker AC, Eberhardt MS, Saydah SH. Diabetes and fracture risk in older US adults[J]. *Bone*, 2016, 82: 9-15.
- [3] World Health Organization. Global report on diabetes [EB/OL]. World Health Organization, Geneva, 2016. <http://www.who.int/diabetes/global-report/en/>
- [4] 孙子林. II型糖尿病动物模型及其进展[J]. *实验动物科学与管理*, 1999, 16(2): 44-46.
- [5] 王芳, 朱大菊, 孙明谨, 等. 链脲菌素在糖尿病鼠模型中的应用及其作用机理[J]. *邵阳医学院学报*, 2004, 23(1): 15-17.
- [6] Sunarwidhi AL, Sudarsono S, Nuqroho AE. Hypoglycemic Effect of Combination of *Azadirachta indica* A. Juss and *Gynura procumbens* (Lour) Merr. Ethanolic Extracts Standardized by Rutin and Quercetin in Alloxan-induced Hyperglycemic Rats[J]. *Adv Pharm Bull*, 2014, 4(2): 613-618.
- [7] 艾静, 郭建, 张永春, 等. 四氧嘧啶制大鼠高血糖模型的实验研究[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2001, 2(35): 94-96.
- (收稿日期: 2018-06-22)

(上接第 15 页)

- adiposity and risk of type 1 diabetes: A Mendelian randomization study[J]. *PLoS Med*, 2017, 14(8): e1002362.
- [4] 傅君芬. 儿童和青少年 2 型糖尿病的临床特点与治疗策略[J]. *中国实用儿科杂志*, 2015, 30(10): 747-752.
- [5] 范国华. 营养饮食治疗小儿糖尿病的临床应用[J]. *中西医结合心血管病杂志*, 2017, 5(24): 183.
- [6] 徐爱晶, 刘丽. 儿童 1 型糖尿病的多学科诊疗模式[J]. *中国实用儿科杂志*, 2015, 30(10): 725-729.
- [7] 巩纯秀. 儿童 1 型糖尿病的规范治疗[J]. *中国实用内科杂志*, 2016, 36(7): 551-556.
- [8] Maria C Magnus, Sjurdur F Olsen, Charlotta Granstrom, et al. Paternal and maternal obesity but not gestational weight gain is associated with type 1 diabetes[J]. *Diabetes International Journal of Epidemiology*, 2018, 417-426.
- (收稿日期: 2018-06-25)

### 论文写作技巧——计量单位和符号

1. 文中涉及的量和单位应按《中华人民共和国法定计量单位》规定执行,并用规定缩写符号表示。
2. 每一个组合单位符号中,斜线不得多于 1 条,如每天每千克体重用药剂量应写成  $\text{mg}/(\text{g}\cdot\text{d})$ 。
3. 量符号均应使用斜体,如  $m$ (质量)、 $t$ (时间)、 $V$ (体积)等,且应注意某些希腊字母与拉丁(或英文)的区别。
4. 图、表中的量和单位应量符号在前,单位符号在后。单位符号前的数字最好为 0.1~1 000 间的整数或小数,避免使用分数。当过大或过小时,应采用适当词头中  $M, P$  或  $10^n, 10^{-n}$  表示,但应遵守有效数和修约规则。
5. 当表示变动范围时,范围号“~”前后两数字中的  $\%, \text{‰}$  或  $10^n, 10^{-n}$  均应同时写出,不能省略前者只写后者。