四氧嘧啶诱导 1 型糖尿病动物模型的建立

代小思[1],康 健[1],万芮菡[2],荣阳玲[2],王 婷[2] (川北医学院:1. 解剖学教研室;2. 2009 级专科班,四川 南充 637000)

[摘 要] **目的** 探讨中等剂量四氧嘧啶诱导 1 型糖尿病动物模型的建立。**方法** 选择 150 只 SD 大鼠,分为实验 1、2、3、4 组和对照组,每组 30 只。禁食 12 h 后,对实验 1、2、3、4 组分别按 140、150、160、170 mg/kg 的剂量经腹膜腔注射四氧嘧啶,对照组注射等量生理盐水,24 h 后测血糖,随后每 2 周测血糖 1 次,饲养 6 个月。**结果** 实验 1、2、3、4 组注药 24 h 后成模率分别为 23.3%、30%、30%、33.3%,6 个月后变为 13.3%、26.7%、30%、26.7%;对照组血糖均为正常。**结论** 采用 150 ~ 160 mg/kg 四氧嘧啶可建立低成模率、稳定而长期存活的 1 型糖尿病动物模型。

[关健词] 四氧嘧啶;糖尿病;动物模型;大鼠

[中图分类号] R587.1;R-332 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2011)01-0020-02

Establishment of type 1 diabetes mellitus animal model induced by alloxan

DAI Xiao-si, KANG Jian, WAN Rui-han, RONG Yang-ling, WANG Ting (Department of Anatomy, North Sichuan Medical College, Nanchong Sichuan 637007, China)

Abstract: Objective To induce type 1 diabetes mellitus animal model with middle dose of alloxan. **Methods** Totally 150 SD rats were selected and divided into 5 groups ($n = 30$), group 1, group 2, group 3, group 4 and control group. group 1 to 4 were given 140, 150, 160, 170mg/kg alloxan by intraperitoneal injection respectively while control group was given equal mount of normal saline after fasting for 12 hours. Their blood glucoses were measured 24 hours later and once every two weeks until the sixth month. **Results** After injection for 24 hours, model forming rates in group 1 to 4 were 23.3%, 30%, 30%, 33.3% respectively; Six months later, their model forming rates were 13.3%, 26.7%, 30%, 26.7% respectively. Blood glucose concentration in control group was always normal. **Conclusion** Type 1 diabetes mellitus animal model with low model forming rate as well as stable and long-term effect can be established by intraperitoneal injection of 150 ~ 160 mg/kg alloxan.

Keywords: alloxan; diabetes mellitus; animal model; rats

糖尿病是常见的内分泌代谢紊乱性疾病之一,建立较为理想的糖尿病模型有助于进行糖尿病及相关并发症的研究。四氧嘧啶对动物胰岛细胞有很强的选择性杀伤作用,大剂量或小剂量多次注射可完全破坏胰岛 β 细胞,但在用四氧嘧啶的常规剂量诱导同种、同龄、体重相近的动物时,常出现成模率低,造模时间越长越容易引起并发症而致动物死亡[1-3]。这表明诱导动物糖尿病模型的常规剂量不是理想剂量,尤其不适合用来建立长期稳定的糖尿病动物模型。有文献报道低剂量注射可使个别动物成模,中等剂量诱导短期糖尿病动物模型出现在一些实验报道中,由于成模率低,未被重视和应用[1]。低剂量成模是个别现象,高剂量造模又不稳定。本实验采用中等剂量四氧嘧啶造模,并将时间延长至 6 个月,现报告如下。

[基金项目] 四川省科技厅重点攻关课题(05SG1868)

[作者简介] 代小思(1964 -),男,四川省南充市人,副教授,主要从事糖尿病方面的研究。电话:(0817)15082796670, E-mail: daixing95@126.com

[收稿日期] 2010-09-07 [修回日期] 2010-10-22

1 材料与方法

1.1 实验动物及材料

选择 150 只 2 月龄体重约为 190 g 健康雌性 SD 大鼠(川北医学院动物实验中心提供),四氧嘧啶(Sigma 公司生产),尿糖试纸(广州市珠江生化试剂有限公司生产),one touch Ultra 型血糖仪(上海庞驰医疗器械发展有限公司生产),电子天平,生理盐水,一次性注射器等。

1.2 糖尿病大鼠建模

将 150 只大鼠随机分为 1、2、3、4、5 组,每组 30 只,1、2、3、4 组为实验组,5 组为对照组。饲养(大鼠及饲养条件均为普通级)3 d 后,禁食(不禁水)12 h,对实验 1、2、3、4 组大鼠分别按 140 mg/kg、150 mg/kg、160 mg/kg、170 mg/kg 的剂量进行腹膜腔内注射四氧嘧啶(生理盐水现配,浓度为 5%),对照组注射等量的生理盐水,注射后恢复进食,24 h 后用尿糖试纸测实验、对照两组的随机尿糖(不禁食情况下)和用血糖仪(取尾静脉血)测随机血糖,保留尿糖呈强阳性(在 ++++ 以上)和血糖大于 16.7 mmol/L 的大鼠,并视为糖尿病模型大鼠,剔除实验组的其他大鼠。随后每周用尿糖试纸对糖尿病模型大鼠测 1 次随机尿糖和每 2 周测 1 次随机血糖,持续测 6 个月。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行数据处理,所得数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验,$P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 实验组数据

实验 1、2、3、4 组注药 24 h 后成模率分别为 23.3%、30%、30%、33.3%;6 个月后成模率变为 13.3%、26.7%、30%、26.7%,转阴率分别为 10%、3.3%、0、0,死亡率分别为 0、0、0、6.7%。实验 1、2、3、4 组血糖均值见表 1。成模鼠的尿糖在 6 个月内均呈强阳性(在 ++++ 以上),实验 1 组的 2 只大鼠在成模后第 3 周转阴,实验 2 组的 1 只大鼠在第 3 周转阴。

2.2 对照组数据

对照组大鼠生理盐水注射 24 h 和 6 个月后的血糖值分别为(4.82 ± 0.36) mmol/L、(5.08 ± 0.44) mmol/L,尿糖为阴性,无死亡病例。

表 1 实验组成模及血糖数据($\bar{x} \pm s$)

实验组	药量(mg/kg)	药物注射 24 h 后		药物注射 6 个月后		
		成模数(n)	血糖(mmol/L)	成模数(n)	血糖(mmol/L)	转阴数(n)
1	140	7	22.4 ± 3.35	4	19.5 ± 2.37	3
2	150	9	22.8 ± 2.35	8	20.2 ± 2.85	1
3	160	9	23.3 ± 3.25	9	21.4 ± 3.13	
4	170	10	25.3 ± 3.21*	8	23.8 ± 2.43*	

*:与第 1、2、3 组比较,$P < 0.05$

3 讨论

四氧嘧啶诱导的动物糖尿病模型近似于人类的 1 型胰岛素依赖性糖尿病。在用四氧嘧啶的常规剂量(腹膜腔注射为 200 mg/kg,静脉注射为 50 mg/kg)诱导同种、同龄、体重相近的动物成为 1 型糖尿病动物模型时,常出现高死亡率、低成模率现象,随着造模时间的延长,此现象越来越严重[2-3]。

四氧嘧啶是细胞毒性药物,对动物注射剂量越大,其毒副作用就越强,也容易引起并发症而致动物死亡。四氧嘧啶做小鼠糖尿病模型时,空腹血糖有时不升高或只有轻度升高,但只要糖耐量试验出现糖耐量异常,就可以判断模型建立成功[4]。本实验 1、2、3、4 组除注射药量不同之外,其他造模条件都相同,可 6 个月后的情况不一样,第 1、2 组大鼠尿糖有转阴,第 3 组尿糖无转阴,这一结果无疑是由注射的药物剂量不同所引起,可见剂量在造模中起着关键作用。170 mg/kg 以上剂量有的大鼠出现死亡,140 mg/kg 剂量转阴率较高,150 ~160 mg/kg 的剂量是理想剂量。在实验 1、2、3、4 组中,实验 4 组的血糖值比 1、2、3 组的血糖值高,而且与它们有显著差异,这个组大鼠死亡率最高,从近来文献报告看是用药量较其他 3 个组大,毒副作用增强和引起并发症所致[5-7]。本研究的实验 2、3 组成模率最高只有 30%,但这个成模率的特点是注药 24 h 后与注药 6 个月后相差不大,有的甚至没有变化,如第 3 组,也就是说模型很稳定,不同以往的造模实验,开始成模率很高,随着时间的延长,死亡率越来越高,成模率越来越低,不稳定[8]。因此使用中等剂量的药物,不仅可造出稳定的糖尿病动物模型,而且可造出存活时间较长的糖尿病动物模型[9]。

[参考文献]

[1] Federiuk IF, Casey HM, Quinn MJ, et al. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration pitfalls, and insulin treatment[J]. Comp Med, 2004, 54(3): 252 - 257.

[2] El-Missiry MA, Othman Al, Amer MA. L-Arginine ameliorates oxidative stress in alloxan-induced experimental diabetes mellitus[J]. J Appl Toxicol, 2004, 24(2): 93 - 97.

[3] Kang J, Dai XS, Yu TB, et al. Glycogen accumulation in renal tubulee, a key morphological change in the diabetic rat kidney[J]. Acta Diabetol, 2005, 42(2): 110 - 116.

[4] 崔明明,王三艳,周美娥,等. 建立四氧嘧啶糖尿病小鼠模型的研究[J]. 现代中西医结合杂志,2007,16(30):4431 - 4432.

[5] 周吉银,周世文. 链脲菌素和四氧嘧啶诱导糖尿病大鼠模型的比较[J]. 江西中医学院学报,2006,18(4):44 - 46.

[6] Lam TI, Anderson SE, Glaser N, et al. Bumetanide reduces cerebral edema formation inrats with diabetic ketoacidosis[J]. Diabetes, 2005, 54(2): 510 - 516.

[7] 查彦红,谷 卫. 糖尿病动物模型的研究进展[J]. 浙江医学,2007,29(12):1342 - 1345.

[8] 韦耀东,何正松,农 嵩,等. 建立四氧嘧啶糖尿病动物模型的研究展[J]. 右江民族医学院学报,2004,26(3):322 - 323.

[9] 张淑君,闫雅更,李春艳,等. 仙人掌对四氧嘧啶糖尿病大鼠降糖作用的实验研究[J]. 中国中医药科技,2002,9(3):192 - 193.

(编辑:郭光金)