



## 糖尿病性白内障动物模型的建立与评价

白内障是世界上首位致盲眼病[1]。随着生活水平不断提高和人口老化,世界糖尿病患者日渐增多,糖尿病性白内障患者也在增加[2]。二十世纪八十年代以来,国内外学者使用各种方法制备动物模型,研究糖尿病性白内障。最常见的方法有STZ诱导和特殊膳食喂养[3],然而这两种制备方法的优缺点却一直没有比较。本研究系统的观察和比较了两种动物模型的制备方法,为糖尿病性白内障的研究选择了最合适的动物模型的制备方法。

### 1 材料和方法

#### 1.1 实验材料及分组

实验使用70只SD雄性大鼠(由第四军医大学实验动物中心提供),体质量90~160 g。适应性喂养大鼠5 d后,尿糖试纸检测大鼠尿糖均呈阴性。BQ900裂隙灯检查大鼠晶状体及角膜未见异常。随机抽取10只为正常对照组(A组),其余大鼠随机分为STZ诱导组20只(B组)、特殊膳食诱导组20只(C组)、小剂量STZ加特殊膳食诱导组20只(D组)。

#### 1.2 糖尿病动物模型的建立

给予B组大鼠一次性腹腔注射1%链脲佐菌素(STZ, Sigma公司)枸橼酸溶液。STZ枸橼酸溶液0.22微米微孔过滤器过滤后,以65 mg/kg的注射量进行大鼠腹腔注射[4]。72 h后,取鼠尾血测血糖(乐康全2血糖检测仪罗氏公司)。6只大鼠血糖<14 mmol/L被剔除[5]。14只大鼠血糖>14 mmol/L纳入实验。

给予C组大鼠喂养高脂饲料。高脂饲料参照文献[6],喂养前1周临时配制,-20℃保存,总热量为18.71 kJ/g。喂养1月后取鼠尾血测血糖。12只大鼠血糖<14 mmol/L被剔除。8只大鼠血糖>14 mmol/L纳入实验。

同时给予D组大鼠喂养高脂饲料。喂养1月后给予腹腔注射1%STZ枸橼酸溶液。STZ枸橼酸溶液0.22 μm微孔过滤器过滤后,以25 mg/kg的注射量进行大鼠腹腔注射。72 h后,取鼠尾血测血糖。3只大鼠血糖<14 mmol/L被剔除。17只大鼠血糖>14 mmol/L纳入实验。

#### 1.3 实验动物体质量及血糖的监测

每天使用苏州产托盘天平为大鼠称重并记录。同时记录大鼠每天的食量和饮水量。每月大鼠尾端95%酒精消毒后针刺取血,滴于血糖试纸上准确反应5 s,使用罗氏血糖仪(爱康全)比色并记录。

#### 1.4 晶状体混浊程度的监测

1%托品酰胺滴眼液点大鼠双眼1次,5 min后使大鼠吸入乙醚蒸气麻醉。使用BQ900裂隙灯观察大鼠,裂隙宽度0.2 mm,光带射入角度为35°,放大倍数为30倍。使用裂隙灯自带数码相机照相。每周根据晶体混浊情况分级。分级标准参考牛津大学眼科实验室晶状体分级方法[7]。每周观察1次并记录。

#### 1.5 统计学方法

所有数据在WINDOWS环境下经Spss11.0统计软件包处理。重复测量资料的方差分析、完全随机设计资料的one-way ANOVA及Regression分析,显著性水平为 $P<0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 血糖

造模前,所有大鼠血糖均正常。B组大鼠于STZ注射72 h后14只大鼠血糖大于14 mmol/L,占总数的70% (14/20),它们与注射前相比血糖明显升高( $P<0.05$ )。STZ注射8周后B组大鼠中1只大鼠血糖降至14 mmol/L以下,占总数的5% (1/20)。C组大鼠逐渐出现血糖升高,喂养一月后11只大鼠血糖大于14 mmol/L,占总数的40% (8/20),它们与注射前相比血糖明显升高( $P<0.05$ )。D组大鼠喂养1月后注射STZ,72 h后检测发现17只大鼠血糖大于14 mmol/L,占总数的85% (17/20),它们与注射前相比血糖明显升高( $P<0.05$ )。造模成功后各时间段血糖检测发现B、C、D组间血糖差别无统计学意义( $P>0.05$ )。正常组大鼠血糖一直处于低水平,明显低于B、C、D组大鼠( $P<0.05$ ) (表1)。

表 1 血糖的变化 ( $n=59, \text{mmol/L}, \bar{x} \pm s$ )

Group	A	B	C	D
72 h	$.8 \pm 0.6$	$24.9 \pm 0.4^a$	$6.5 \pm 0.7$	$6.1 \pm 0.8$
4w	$5.8 \pm 0.3$	$28.9 \pm 5.5^a$	$21.7 \pm 2.5^a$	$21.0 \pm 2.1^a$
8w	$6.2 \pm 0.6$	$27.8 \pm 6.8^a$	$23.2 \pm 3.8^a$	$22.2 \pm 3.7^a$
12w	$5.78 \pm 1.1$	$28.5.1 \pm 7.4^a$	$24.7 \pm 5.7^a$	$23.7 \pm 6.3^a$
16w	$5.9 \pm 0.9$	$32.8 \pm 13.4^a$	$27.4 \pm 5.6^a$	$27.5 \pm 6.8^a$
20w	$5.7 \pm 0.5$	$33.1 \pm 0.9^a$	$30.4 \pm 2.6^a$	$29.3 \pm 5.8^a$

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs A:正常组;B:STZ诱导组;C:特殊膳食诱导组;D:小剂量STZ加特殊膳食诱导组乐康全2血糖仪检测,血糖最高为 $33.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

### 2.2 实验过程中大鼠一般情况的观察

糖尿病组大鼠造模后1周饮水、食量、尿量明显增加,约为正常组的3倍。正常组的大鼠随着时间的增加体质量增长,糖尿病组大鼠体质量缓慢增长,并逐渐出现糖尿病并发症,出现消瘦和多发感染,其中B组3只大鼠分别于第15、17、18周时死亡,死亡率21.4%;C组1只大鼠于第19周死亡,死亡率12.5%;D组大鼠无死亡。造模前两组大鼠体质量无明显差异( $P>0.05$ )。造模后2周各糖尿病组大鼠体质量明显低于正常对照组( $P<0.05$ )。

### 2.3 晶状体混浊的程度

在实验过程中对晶状体混浊程度分级并记录。分级标准如下,0:透明;1:一级核并且晶状体出现轻微缝隙;2:二级核;3:三级核;4:三级核并且晶状体出现裂痕;5:四级核并且晶状体出现裂痕;6:四级核并且晶状体出现放射状混浊;7:晶状体完全混浊,已经无法看见放射状混浊。

实验过程中,A组大鼠晶状体一直保持透明,而B组大鼠于STZ注射后第5周开始出现晶状体混浊,第12周混浊程度显著加剧,至第14周出现乳白色混浊。C组大鼠于STZ注射后第8周开始出现晶状体混浊,第16周混浊程度显著加剧,至第20周出现乳白色混浊。D组大鼠于STZ注射后第6周开始出现晶状体混浊,第14周混浊程度显著加剧,至第20周出现乳白色混浊,与B、C组相比晶状体混浊发展缓慢,利于观察和研究。

## 3 讨论

STZ诱导的动物糖尿病模型与人类II型糖尿病的临床表现及胰岛的改变等方面有许多相似之处,是目前比较常用的糖尿病动物模型[8]。但是在本实验中发现,STZ诱导的动物具有死亡率高,白内障进展较快等特点,并不利于糖尿病性白内障的研究。

特殊膳食喂养是另一比较成熟的糖尿病诱导方法,它具有死亡率低等特点,被广泛应用于糖尿病的其他研究领域[9]。然而特殊膳食喂养的动物成膜时间太长,白内障进展也较快,如果应用于糖尿病性白内障的研究中,会导致耗时、耗力、无意义的结果。

本实验将两种方法结合起来使用小剂量STZ加特殊膳食诱导糖尿病性白内障动物模型,发现它诱导后的动物具有成膜早、死亡率低、白内障进展较慢的特点,并且发现其进展类似人糖尿病性白内障发展过程,先出现皮质轻度混浊,然后周边出现空泡,随着病程增加,可逐渐见有皮质混浊、核混浊,直至发展为成熟白内障。

综上所述,小剂量STZ加特殊膳食喂养诱发大鼠糖尿病性白内障模型稳定,发病缓慢,观察时间较长,较接近人糖尿病性白内障的特点,是研究糖尿病性白内障发病机制与药物防治的较理想的动物模型。

#### 参考文献:

- [1]Brian G, Taylor H. Cataract blindness—challenges for the 21st century [J]. Bull World Health Organ, 2001, 79(3): 249–56.
- [2]Chung SS, Ho ECM, Lam KS, et al. Contribution of polyol Pathway to diabetes-induced oxidative stress[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(8): 233–6.
- [3]陈秋,夏永鹏,邱宗荫. 2型糖尿病大鼠模型的建立与评价[J]. 天津医药, 2006, 1: 33–5.
- [4]Miyamoto K, Khosrof S, Bursell SE, et al. Prevention of leukostasis and vascular leakage in streptozotocin-induced diabetic retinopathy via intercellular adhesion molecule-1 inhibition[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(19): 10836–41.
- [5]Hegde KR, Henein MG, Varma SD. Establishment of the mouse as a model animal for the study of diabetic cataracts[J]. Ophthalmic Res, 2003, 35(1): 12–8.
- [6]Sathishsekar D, Subramanian S. Beneficial effects of Momordica charantia seeds in the treatment of STZ-induced diabetes in experimental rats[J]. Biol Pharm Bull, 2005, 28(6): 978–83.
- [7]Ajiboye R, Harding JJ. The non-enzymic glycosylation of bovine lens proteins by glucosamine and its inhibition by aspirin, ibuprofen and glutathione[J]. Exp Eye Res, 1989, 49(1): 31–41.
- [8]Gaulton GN, Schwartz JL, Eardley DD. Assessment of the diabetogenic drugs alloxan and streptozotocin as models for the study of immune defects in diabetic mice[J]. Diabetologia, 1985, 28(10): 769–75.
- [9]孙晓风,王海燕,李琳琳,等. 高糖高脂饮食诱导的2型糖尿病模型大鼠血脂的特点[J]. 新疆医科大学学报, 2005, 2: 104–6.