



糖尿病视网膜病变动物模型的建立

发布时间: 2017-12-18 14:05:57 分享到:

摘要: 糖尿病视网膜病变 (DR) 是糖尿病患者常见的慢性高血糖并发症之一。虽然DR的许多方面还没有完全理解, 动物研究对理解人类疾病的病因和进展有重要贡献。本文综述了不同物种诱导和遗传的DR模型以及各模型的优缺点。

最新发现: 啮齿类动物是最常用的动物模型, 尽管犬和人类看到的形态学视网膜病变最相似, 而猪和斑马鱼也有类似的血管和视网膜结构。非人类灵长类动物也可以自发地发生糖尿病或有诱发视网膜新生血管的局灶性病变。

结论: DR导致神经、胶质和胰岛β细胞血管改变和功能障碍。目前, 没有模型完全概括了发生在糖尿病视网膜病变各阶段的神经和血管的变化的病理生理学; 然而, 每个模型概括了许多疾病的表型。

关键词: 动物模型 糖尿病 视网膜病变 诱导模型 胰腺切除术 四氧嘧啶 STZ遗传模型 VEGF

简介: 糖尿病视网膜病变发生在大约三分之一的糖尿病患者身上。这是24至70岁的成年人失明的主要原因。1型糖尿病患者的总患病率似乎高于2型糖尿病患者。大约25%的1型糖尿病患者在糖尿病发病后5年内开始出现DR症状, 并在15年内增加到80%。有趣的是, 虽然没有发现性别对1型或2种族的易感性有影响, 但社会经济状况确实影响了DR的易感性。糖尿病的发病和进展是由许多因素引起的, 包括糖尿病病程延长、血糖控制不良和血压升高。高血糖会导致微血管病变, 发展包括微血管瘤、出血及基底膜增厚。结果是增加血视网膜屏障通透性 (BRB) 造成泄漏和糖尿病性黄斑水肿 (DME)。血管通透性增加导致毛细血管阻塞, 导致视网膜缺血, 导致血管内皮生长因子 (VEGF) 水平升高。视网膜缺血和vegf水平升高促进新生血管形成。基于典型的新生血管增殖的形式, DR可分为非增殖性DR (NPDR) 或增生 (PDR)。由于微血管损伤和周细胞丢失NPDR, 可进展为增殖前期DR, 具有微血管瘤、斑点和点状出血、棉絮斑、毛细血管无灌注区。小胶质细胞的变化和DME也可以发生在NPDR。在PDR中, 新生血管导致视网膜和玻璃体出血, 并导致视网膜脱离。DME也可能发生在PDR中。疾病模型有助于对导致DR疾病的机制的理解。已经开发了几种动物模型来研究DR的病因和发病机制, 并开发和测试治疗这种疾病的疗法。由于DR是一种兼具遗传和环境影响的复杂疾病, 动物模型也同样是诱导或基因突变而发展起来的。诱导模型是通过手术、药物、饮食和激光或化学损伤产生的。利用选择性育种和基因编辑创建遗传模型。虽然大量的物种被用来产生DR模型, 包括小鼠、大鼠、猫、狗、猪和非人类灵长类动物, 但小鼠和大鼠的模型研究最多, 因为它们的体积小, 寿命短, 繁殖速度快, 可以进行最有效的研究。啮齿类动物也一直是大多数遗传研究的焦点, 发现某些特定的遗传性高血糖或肥胖。然而, 犬模型中的DR表型似乎与人类DR最相似。令人惊讶的是, 非人类灵长类动物被证明对诱导的DR相对抵抗。猫一般不会患白内障。相比之下, 猪和斑马鱼的眼睛结构与人类的相似性好, 易于可视化的血管结构, 寿命短, 繁殖量大 (斑马鱼)。虽然迄今为止没有一个单一的动物模型代表了人类DR在早期和晚期的完整的血管和神经并发症。这篇综述中描述的模型有助于确定DR的机制和研发新疗法。

诱导模型: 通过五种方法建立了诱导模型: 胰腺手术切除、四氧嘧啶给药、链脲佐菌素 (STZ)、高半乳糖饮食、激光或化学损伤。虽然所有的诱导方法至今仍任研究中, 但最常见的是链脲佐菌素的使用, 因为它导致了疾病发展最快的速度。四氧嘧啶被认为在糖尿病诱导中效率较低, 而饮食方法对疾病进展最需要时间。手术和损伤引起的模型在技术上是最具挑战性。最常用的诱导DR的模型是小鼠和大鼠, 但是全、猫、猪、兔子、猴子和斑马鱼也被使用。在较大的动物中, 诱导型DR病理学的表现通常较慢, 啮齿类动物和斑马鱼更受青睐。

胰切除术: 在动物模型中诱导糖尿病其中一个最古老的方法是胰腺切除或从胰腺中取出β细胞。在成年犬完全切除胰腺诱发糖尿病。这种技术通常适用于大型动物, 如猫和猴子。成年猫, 高血糖发生在术后3周内; 与四氧嘧啶结合使用可缩短至术后1周内。基底毛细血管膜增厚可发生于高血糖开始后3个月。其他DR症状, 包括微血管瘤、毛细血管无灌注区, 新生血管通常需要5-9年才能形成。因此, 这种模型的维护需要较长的时间。猴模型BRB渗漏在高血糖发病1年内。然而, 10年后, 猴子仍然没有发展为增殖性视网膜病。尽管去除了胰腺, 长期糖尿病, 猴子似乎能很好地抵抗DR的诱导。只有30%的糖尿病患者发展为DR, 这表明灵长类可能有额外的生物学机制来重新调节慢性侮辱状态下的稳态。了解有助于物种生理差异的调控因素对于开发适当的疾病模型是很重要的。

四氧嘧啶: 四氧嘧啶是尿酸的衍生物, 直接作用于胰腺中的β细胞。尾静脉注射四氧嘧啶导致胰腺中的胰岛内坏死所致的低血糖。β细胞死亡导致储存在这些细胞中的胰岛素释放, 引起低血糖, 随后在24小时内发生糖尿病。邓恩和McLetchie还创造了通过腹腔注射四氧嘧啶诱导的糖尿病大鼠模型, 糖尿病家兔出现倦怠和体重下降, 饲喂四氧嘧啶大鼠出现多饮、多尿、糖尿、高血糖的糖尿病特点。四氧嘧啶定向细胞死亡是通过抑制葡糖激酶介导的, 葡萄糖胰岛素调节通路中的一种酶, 在肝脏和胰腺中表达。该药可对肝和肾细胞产生毒性, 但适当剂量可避免毒性。四氧嘧啶对胰腺中的β细胞有特异作用, 对α、δ或胰腺外分泌细胞没有毒性作用。这种化合物在室温和室温下也不稳定, 四氧嘧啶已被用于诱导多种动物, 包括小鼠、大鼠、狗和猪, 以及兔子。所有模型均对胰腺β细胞有损伤。8~10周龄的小鼠可以单次给四氧嘧啶来诱导高血糖导致糖尿病。以前认为, 四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠没有出现细胞或血管病变, 但最近的一项研究发现, 7天内四氧嘧啶诱导视网膜神经节细胞 (RGC) 的损失。四氧嘧啶也诱导小胶质细胞的变化, 3个月大的动物体内有较厚的细胞体和更短的树突。大鼠使用四氧嘧啶一周内, 发展为高血糖和糖尿病。诱导后2-9个月出现新生血管, 一年出现白内障。15个月观察毛细血管基底膜增厚。幼犬四氧嘧啶一周一次连续5周诱导糖尿病。这导致视网膜病变与人类的DR非常相似, 但是, 在四氧嘧啶糖尿病发病作后, 犬需要长达53到69个月才能形成DR。继四氧嘧啶给药发病后观察到出血, 无细胞毛细血管周细胞丧失和微血管瘤, 这是一个可行的PDR模型。这种表

链脲佐菌素 (STZ) : 链脲佐菌素是一种抗生素, 用于癌症化疗。大鼠链脲佐菌素腹腔注射给药、犬链脲佐菌素静脉注射这都导致了每个物种持续高血糖, 随有糖尿病多饮多尿的特点。STZ诱导糖尿病的机制是由于胰岛细胞的破坏和 β 细胞的丢失。 β 细胞摄取STZ是因为他们表达低亲和力的葡萄糖转运蛋白2 (GLUT2), 和链脲佐菌素的结构类似于葡萄糖和N-乙酰氨基葡萄糖。其他细胞包括肝细胞和肾小管细胞, 也表达GLUT2, 经历与STZ类似的损害。链脲佐菌素的作用机制是DNA断裂引起的细胞死亡。在小鼠、家兔、猪、大鼠、狗、斑马鱼和猴子等多种动物模型中观察到链脲佐菌素诱导的DR。STZ效果普遍优于四氧嘧啶, 已经开发了几种STZ诱导小鼠糖尿病的方案, 总共提供150至400毫克/千克的链脲佐菌素5种剂量。高血糖症通常发生在2周内, 无论剂量, 可维持长达22个月。STZ诱导小鼠的DR表型表现高血糖4-5周后星形胶质细胞增多。在6周时出现RGC损失, 在10周时出现视网膜内核层 (INL) 和外核层 (ONL) 细化, 16周时形成新生血管, 在6个月内出现无细胞毛细血管。与小鼠相比, 大鼠需要低剂量的链脲佐菌素来发展糖尿病。虽然啮齿类动物通常用于链脲佐菌素诱导的糖尿病, 但已经研究了其他几种具有不同结果和发病率的模型。成年斑马鱼, 4-6个月的年龄, 一个或几个星期多剂量的STZ腹腔注射或直接注射在尾鳍的, 3周内出现高血糖, 4周显示内丛状层 (IPL) 变薄, 感光段层 (PSL) 变薄, 锥受体功能障碍, 神经损伤。该模型维持在糖尿病诱导后约80天。较大的动物模型, 如兔子、犬和灵长类动物, 用单剂量链脲佐菌素诱导。单剂量的STZ对重达1.5公斤的兔子诱发高血糖, 135天后发现视网膜和视网膜前出血、血管病变、静脉血栓形成和增殖性视网膜病变。4.5到17个月龄犬, 体重11公斤和24公斤给予单剂量四氧嘧啶/ STZ在2天之内出现高血糖。四氧嘧啶/ STZ诱导的糖尿病犬1年猴出现基底膜增厚, 4-5年后影细胞及平滑肌细胞损失。12岁猴用单剂量链脲佐菌素给药会患糖尿病, 10年后出现棉絮状斑和强荧光斑缺血性视网膜病变。

高糖饮食: 已经研制出几种高糖饮食模型, 包括小鼠、大鼠、兔子、犬和斑马鱼, 持续暴露于半乳糖引起的视网膜病变, 与人类糖尿病相似。维持半乳糖导致疾病继续进展。然而, 半乳糖喂养的动物缺乏糖尿病的代谢异常。小鼠在高半乳糖饮食后6周龄出现高血糖。术后15个月血糖升高, 内皮细胞减少, 无细胞毛细血管增多。21个月后, 病变包括血管瘤、视网膜增厚。虽然视网膜病变在这些小鼠身上发育时间较长, 但它们比其他模型活得更长, 使它们能在更长的时间内观察, 长达26个月。同样, 大鼠在高半乳糖的饮食中保持了2年以上。连续高糖饮食对啮齿类动物的表型观察无细胞毛细血管、毛细血管基底膜增厚。相比之下, 较大的动物通常需要更长的时间来发展DR, 无论是通过药物诱导或饮食。家兔高蔗糖饮食24周建立强荧光点和第十二周出现微动脉瘤。在1年内, 犬喂食30%增加的半乳糖会产生更复杂的疾病表现, 包括DR和白内障。高血糖的斑马鱼已发展成为一个模型, 斑马鱼被安置在淡水和浓度0和2%葡萄糖交替的水中, 28天后出现高血糖及IPL细化。由于这种模型迄今只维持了28天, 特征相似的视网膜结构、血管结构的可视化和荧光表达。寿命短, 繁殖规模大, 缩短了实验时间, 使斑马鱼成为研究DR的有力模型。

缺氧损伤致视网膜病变: 近年来, 视网膜新生血管模型和缺乏高血糖血管渗漏模型被用于研究。后来发现视网膜损伤由于血管生成因子的释放导致。使用小鼠、大鼠、灵长类动物和斑马鱼视网膜新生血管的几种不同损伤模型。高氧暴露小鼠模型, 通常出生后7-12天, 置于高氧条件下一旦它们恢复到正常的空气和视网膜血管的生长会导致视网膜出现缺氧状态。这些模型中的氧诱导的视网膜病变 (OIR) 表现出新生血管及无灌注区, 伴有微血管的出现, 通常发生在暴露后5天。

细胞因子诱导: 碱烧伤模型导致细胞因子活性增加, 产生DR样新生血管。这种模型不太常用, 需要一种痛苦的方法诱导小鼠视网膜新生血管形成。该技术已应用于近交系小鼠品系, 如BALB/c小鼠。包括放置2毫米过滤盘1 N NaOH用于成年小鼠眼表。新生血管通常在2周内观察到, 小鼠也表现出新生血管化的视网膜炎症性细胞因子水平升高。虽然细胞因子可能是新生血管疾病表型的次要因素, 但它们可能在维持疾病状态中起重要作用。

遗传模型: 小鼠、大鼠和斑马鱼的DR有多种遗传方式。这些模型包括自发的、应变特异的和基因突变。例如几个近交系小鼠, 包括非肥胖型糖尿病 (NOD) 和db/db, 表现出高血糖, 是糖尿病的主要特征, 从而保持和作为研究的糖尿病模型。啮齿动物经常被用作DR的遗传模型, 因为他们很容易维护, 具有良好的遗传背景, 易于操作, 以产生基因敲除或转基因模型。

结论: 动物模型在理解DR的病因和病理生理学以及开发可行的预防和减轻疾病的治疗方法方面起着至关重要的作用。DR是一种复杂的疾病, 涉及多种遗传和环境因素, 因此是一个具有挑战性的疾病模型。结合遗传和/或诱导产生的模型可以提供更精确的DR模型。大多数现有的模型仅更好地模拟疾病的早期阶段, 限制了模型的可用性, 治疗通常局限于疾病的早期进展。此外, 还开发了无高血糖的视网膜新生血管动物模型。这些模型可为了解晚期DR病的发病机制和制定适当的治疗方案。正确理解每个可用模型的病理生理学和局限性是至关重要的, 以确定一个研究的最佳模型。

转自: 中国 实验动物信息网

联系我们 | 人才招聘

© 版权所有 中国实验动物学会 京ICP备14047746号 京公网安备11010502026480

地址: 北京市朝阳区潘家园南里5号 (100021) 电话: 010 - 67776816 传真: 010 - 67781534 E-mail: calas@cast.org.cn

技术支持: 山东瘦课网教育科技股份有限公司

| 站长统计

