

糖尿病性白内障动物模型的建立与评价

朱宝义, 郭勇, 王永强(第四军医大学唐都医院眼科, 陕西 西安 710038)

摘要:目的 比较多种大鼠糖尿病性白内障模型, 建立发病过程类似人类糖尿病性白内障、便于实验研究的动物模型。方法 雄性 SD 大鼠完全随机分为正常组、链脲佐菌素(STZ)诱导组、特殊膳食诱导组、小剂量 STZ 加特殊膳食诱导组。各组使用不同方法造模成功后, 比较大鼠血糖、尿糖、体质量的变化, 并在裂隙灯下观察大鼠晶状体混浊的进展。结果 STZ 诱导组 70%(14/20)血糖明显升高(空腹血糖 >14 mmol/L), 5 周后出现晶状体混浊, 14 周后大鼠晶状体完全混浊。特殊膳食诱导组 40%(8/20)血糖明显升高, 8 周后出现晶状体混浊, 20 周后大鼠晶状体完全混浊。小剂量 STZ 加特殊膳食诱导组 85%(17/20)血糖明显升高, 6 周后出现晶状体混浊, 20 周后大鼠晶状体完全混浊。与其他各组糖尿病大鼠相比, 小剂量 STZ 加特殊膳食诱导组死亡率明显降低($P<0.05$)。结论 小剂量 STZ 腹腔注射加膳食诱导是安全而有效的糖尿病性白内障模型制作方法, 它诱导的糖尿病大鼠白内障进展缓慢, 类似人类糖尿病性白内障, 便于研究和观察。

关键词:链脲佐菌素; 糖尿病性白内障; 动物模型

中图分类号:R776.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4254(2006)05-0707-02

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 °C 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 μ m 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

收稿日期: 2006-04-25

作者简介: 朱宝义, 男, 副教授, E-mail: zby920220@yahoo.com.cn

通讯作者: 郭勇, 电话: 029-847778420, E-mail: guoyongeye@163.com

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 ($n=59$, mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

Group	A	B	C	D
72 h	.8±0.6	24.9±0.4 ^a	6.5±0.7	6.1±0.8
4w	5.8±0.3	28.9±5.5 ^a	21.7±2.5 ^a	21.0±2.1 ^a
8w	6.2±0.6	27.8±6.8 ^a	23.2±3.8 ^a	22.2±3.7 ^a
12w	5.78±1.1	28.5±17.4 ^a	24.7±5.7 ^a	23.7±6.3 ^a
16w	5.9±0.9	32.8±13.4 ^a	27.4±5.6 ^a	27.5±6.8 ^a
20w	5.7±0.5	33.1±0.9 ^a	30.4±2.6 ^a	29.3±5.8 ^a

^a $P<0.05$ 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 mmol·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模早、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.