



三种高脂乳剂诱导实验性大鼠高脂血症模型的比较

石鹤坤¹, 张 宏², 杜青云¹, 陈锦珊¹

(1. 解放军第 175 医院/厦门大学附属东南医院药剂科, 漳州 363000; 2. 辽宁省中医药研究院, 沈阳 110034)

【摘要】 目的 探索理想的大鼠高脂血症动物模型造模方法。**方法** 参考文献改进 3 种大鼠高脂配方, 并制成高脂乳剂给大鼠灌胃, 14 d 后眦内静脉取血测定血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)的含量。**结果** 三种高脂配方均不同程度的使大鼠血清中脂代谢紊乱。**结论** 高脂配方 3 可在短时间内形成高脂血症大鼠模型。

【关键词】 高脂血症; 大鼠; 模型

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)09-0055-03

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.009.012

Comparison of Experimental Hyperlipidemia Rat Model Induced by Three Kinds of Lipid Emulsion

SHI He-kun¹, ZHANG Hong², DU Qing-yun¹, CHEN Jin-shan¹

(1. Department of pharmacy, The 175th Hospital of PLA/Affiliated Southeast Hospital of Xiamen University, Zhangzhou 363000, China;
2. Liaoning Institute of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, China)

【Abstract】 Objective To explore the ideal experimental rats model for research on hyperlipidemia. **Methods** Three prescriptions on experimental hyperlipidemia-rats were modified and emulsion was made by references. At 14 day blood samples were taken from ocular orbit and content of TC, TG, LDL, HDL in the serum were measured. **Results** Three prescriptions could lead to the disorder of lipid metabolism at different levels. **Conclusion** Hyperlipidemia-rats model can be formed in a short time by prescription 3.

【Key words】 Hyperlipidemia; Rat; Model

高脂血症是以血清中 TC、TG、LDL 增高及 HDL 降低为主要表现的脂代谢紊乱, 是多种疾病的始发因素, 如动脉粥样硬化、脂肪肝、冠心病和脑卒中等^[1,2]。高血脂症虽已进行了广泛的研究, 但至今尚未明显突破, 除了其他原因外, 理想的动物模型制备也可能是制约其发展的一个重要因素。本文在参考相关文献^[3]基础上, 改进了 3 种高脂乳配方, 观察不同高脂配方对实验大鼠血液中 TC、TG、LDL、HDL 的影响, 为寻找和建立短时间内形成稳定

的高脂血症大鼠模型提供参考。

1 材料和方法

1.1 主要仪器与试剂

TD5A-WS 低速台式离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司; Rx daytona 全自动生化分析仪, 英国 Randox Laboratories。

胆固醇, 天津博迪化工股份有限公司, 批号: 20100624; 蛋黄粉, 北京奥博星生物技术有限责任公

[作者简介] 石鹤坤(1980-), 男, 药师, 硕士, 研究方向: 临床药学。E-mail: zzphshk@163.com。

[通讯作者] 陈锦珊, 主管药师。E-mail: cjs1223@sohu.com。

司,批号:20090815;吐温-80,天津市博迪化工有限公司,批号:20090709;丙二醇,国药化学试剂有限公司,批号:T20090724;胆酸钠,北京奥博星生物技术有限公司,批号:20090415;丙硫氧嘧啶,上海朝晖药业有限公司,批号:090603;乙醚,国药化学试剂有限公司,批号:20090607;TC 测定试剂盒,批号:10-0802P、TG 测定试剂盒,批号:10-0712P、LDL 测定试剂盒,批号:10-0407P、HDL 测定试剂盒,批号:10-0428P,均由北京九强生物技术有限公司提供。

1.2 实验动物与饲料

SPF 级 Wistar 雄性大鼠,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,许可证号[SCXK-(军)2007-004]。受试动物在辽宁省中医药研究院动物室饲养,许可证号[SYXK(辽)2007-0010],本动物观察室温度 20℃~23℃,相对湿度 50%~60%;实验在辽宁省中医药研究院中药药理实验室进行,国家中医药管理局三级实验室,证书编号[TCM-2009-056],并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。鼠颗粒饲料,由北京科澳饲料有限公司提供,许可证[SCXK(京)2009-0012]。

1.3 高脂乳剂制备

将自制猪油在 70℃ 水浴中融化,加入研细的胆固醇不断搅拌至完全溶解,再加吐温-80、丙二醇,猪胆酸钠加入蒸馏水也放于 70℃ 水浴中,搅拌均匀

加入油相中,最后加丙硫氧嘧啶与蛋黄粉搅拌成稳定的脂肪乳剂,置于 4℃ 冰箱中备用,灌胃前置 40℃ 水浴加热,高脂配方见表 1。

1.4 试验方法

取 180~200g 健康 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 40 只,适应性饲养 5 d,禁食不禁水 16 h,根据体重随机分 4 组,即空白对照组、高脂模型 1 组、高脂模型 2 组、高脂模型 3 组,每组 10 只。每天各高脂模型组灌胃给予各高脂乳剂,空白对照组给等容积蒸馏水,容积为 10 mL/kg。连续给予高脂乳 14 d,末次给高脂乳 16 h,乙醚麻醉大鼠后,用玻璃毛细管进行眦内静脉采血 2 mL,分离血清,严格按照试剂盒使用说明对 TC、TG、HDL、LDL 进行测定,结果见表 2。

统计方法:各组结果以($\bar{x} \pm s$)表示,数据以 SPSS-10.0 软件统计分析,组间比较用 t 检验。

2 结果

由表 2 可见,用以上配方造大鼠高脂血症模型,高脂乳配方 1 组的 TC、TG、HDL 及 LDL 的变化不明显;高脂乳配方 2、3 组的 TC、LDL 显著高于空白对照组,差异具有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$);高脂乳配方 3 的 TG 与空白对照组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$),而高脂乳配方 1、2 组的 TG 虽有升高趋势,但差别无统计学意义,而各组 HDL 的变化不明显。

表 1 表 1 高脂乳剂的配方组成
Tab. 1 Tab. 1 The prescription of lipid emulsion

配方 Prescriptions	配方构成比(%) Prescription constituent ratio (%)							
	猪油 Grease	吐温-80 Tween-80	丙二醇 Propylene glycol	胆固醇 Cholesterol	胆酸钠 Sodium cholate	蛋黄粉 Egg yolk	丙硫氧嘧啶 Propacil	蒸馏水 Distilled water
1	25	10	-	-	1	15	-	49
2	20	10	5	3	1	5	-	56
3	10	10	10	5	1	-	0.5	63.5

表 2 各组血清中的 TC、TG、HDL、LDL 结果
Tab. 2 Groups of TC、TG、HDL、LDL in the serum

组别 Groups	总胆固醇 (mmol/L) TC	甘油三酯 (mmol/L) TG	高密度脂蛋白 (mmol/L) HDL	低密度脂蛋白 (mmol/L) LDL
Control	1.76 ± 0.41	1.04 ± 0.32	0.92 ± 0.17	0.70 ± 0.20
Model 1	1.95 ± 0.24	1.21 ± 0.33	0.90 ± 0.09	0.84 ± 0.12
Model 2	3.40 ± 1.49 **	1.24 ± 0.40	0.88 ± 0.20	0.92 ± 0.09 *
Model 3	4.58 ± 1.29 **	1.35 ± 0.32 *	1.09 ± 0.36	2.58 ± 1.06 **

注:与空白对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: compared with the normal control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

在实验过程中,为确保高脂乳剂顺利灌胃,制备过程中充分研匀、乳化是高脂乳剂制备的关键。特别是胆固醇一定要充分研细,并且先与猪油混合,充分溶解后再加入水相,以免造成灌胃针的堵塞。同时由于加入了一定量的蛋黄粉,增加了高脂乳的粘性,可使大鼠灌胃难度提高。而未加蛋黄粉的配方 3 高脂乳的粘性小,流动性好,明显缩短了灌胃时间,且取样量更加准确,有利于大鼠造模进行。

通过查阅文献可知,由于大鼠的脂质代谢与人相似^[4],同时,报道大鼠高脂血症模型的方法很多,但多数文献所报道大鼠高脂血症模型造模周期长。如王琼^[3]等人报道的脂肪乳(含 20% 植物油、1% 胆固醇、2% 脱氧胆酸钠、0.2% 丙基硫氧嘧啶、1% 蔗糖、20% 丙二醇、15% 吐温-80、30% 水)造模一个月,与之相比,本试验具有时间短,且 TG 的升高明显的优势。通过改进高脂乳配方发现,将 1% 胆盐和 0.5% 丙硫氧嘧啶联合运用到高脂血症模型配方中可促进高脂血症模型的形成。从实验结果可以看出,在未加入胆固醇的高脂乳配方 1 中,试图造成内源性的高脂血症模型,但未能成功,TC、TG 与 LDL 虽有升高的趋势,但差异无统计学意义;高脂乳配方 2 加入胆固醇(3%)就可使 TC 和 LDL 显著升高;高脂乳配方 3 在猪油和胆固醇的基础上加入胆盐、丙基硫氧嘧啶等,可以使大鼠血清中的 TC、LDL 和 TG 指标显著升高。

在选择高脂血症动物模型时,除了应关注 TC、

TG 与 LDL 等指标外,还需要考虑以下几个重要问题,首先是动物对膳食脂质的血脂变化模式是否接近于人类脂质代谢途径、反映人类高脂血症病理生理过程,其次是模型的可操作性。本实验研究结果基本符合高脂血症诊断标准,采用脂肪乳剂灌胃的方法,脂肪乳从消化道吸收,与人类因膳食结构改变而形成的高脂血症相似,对于研究环境因素对高脂血症形成的影响以及调血脂药物的开发应用具有很高的价值。此外,由于根据大鼠体重给予高脂乳剂,消除了自然喂养高脂饲料大鼠食量的不均、高脂饲料变质等问题,且造模时间短,是一种省时、省力且经济稳定的高脂动物造模方法。

参考文献:

- [1] Philippe O. The triglyceride-high-density lipoprotein axis: An important target of therapy [J]. American Heart Journal Volume, 2004, 148(2): 211-221.
- [2] Shal'nev VI. The effects of early application of simvastatin on C-reactive protein level, blood lipids, and the clinical course of acute coronary syndrome [J]. Klin Med (Mosk), 2007, 85(11): 46-50.
- [3] 王琼,乐薇,覃鹏飞,等. 三种高脂血症实验性大鼠模型的比较[J]. 中国康复, 2010, 25(5): 330-331.
- [4] 刘小如,邓泽元,李静,等. 从人和动物血浆及红细胞膜脂肪酸谱探讨脂质代谢实验模型动物选取[J]. 中国实验动物学报, 2009, 17(2): 97-102.

[修回日期]2012-07-02