

诱发糖尿病饲料致新西兰兔动脉粥样硬化时血糖、血胰岛素和肝、肾、胰组织结构的变化

王宗保, 袁中华¹, 余 坚, 姚 峰, 尹卫东¹

(南华大学实验动物学部, 1. 心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[主题词] 诱发糖尿病饲料; 新西兰兔; 糖尿病; 动脉粥样硬化; 病理学

[摘 要] 为探讨诱发糖尿病饲料致新西兰兔动脉粥样硬化时血糖、血胰岛素水平和肝、肾、胰组织结构的变化特点, 将雄性新西兰兔随机分为 2 组: 基础饲料(对照)组和高糖高脂饲料(实验)组, 观察 6 个月。每月采空腹血测血糖和血清胰岛素浓度。实验结束时全部处死动物, 取肝脏、肾脏和胰腺, 用 10% 福尔马林液固定, 常规石蜡包埋切片, HE 染色, 并对肝脏切片作糖元染色, 光学显微镜下观察。结果发现, 实验组 1 月后出现高血糖, 并随时间延长而逐渐升高。对照组血糖未见升高, 两组比较差异显著 ($P < 0.05$)。实验组血清胰岛素水平没有升高。实验组肝细胞有明显脂肪变性, 细胞肿胀, 胞浆内糖元基本消失; 还有肾小球增大、细胞增多、毛细血管壁增厚、僵硬, 肾小管上皮细胞体增大等病理改变; 胰腺组织表现为胰岛萎缩, 胰岛边缘皱缩, 胰岛细胞数量减少, 多数细胞呈梭形。此结果表明, 高糖高脂饲料可诱发新西兰兔发生糖尿病和动脉粥样硬化病变。

[中图分类号] R361.3

[文献标识码] A

Changes of Blood Glucose and Insulin, Liver, Kidney and Pancreas Tissue Structures in New Zealand White Rabbits as Diabetogenic Diet Induced Atherosclerosis

WANG Zong-Bao, YUAN Zhong-Hua, YU Jian, YAO Feng, and YIN Wei-Dong

(Department of Laboratory Animal Science, Nanhua University, Hengyang 421001, China)

MeSH Diabetogenic Diet; Rabbits, New Zealand White; Diabetes; Atherosclerosis; Pathology

ABSTRACT **Aim** To explore the levels of blood glucose and insulin and the characteristics of tissue structure changes of livers, kidneys and pancreas in New Zealand white rabbits as diabetogenic diet (high fat and high sucrose) induced atherosclerosis in them. **Methods** Male New Zealand white rabbits were divided into two groups: normal fodder group ($n = 15$) and high-sugar and high-fat fodder group ($n = 15$, with 10% lard, 37% white cane sugar and 53% normal fodder), and observed for 6 months. Once a month after a overnight fasting the blood of the rabbits are tested for the levels of blood glucose, insulin. At the end of 6 months all the rabbits were killed to get the livers, kidneys and pancreas, which were fixed with 10% formalin sectioned with regular paraffin wrapping, stained with H. E and PAS to livers sections, and then observed with microscopes. **Results**

One month later the rabbits in the experimental group developed high blood glucose, rising with the experimental time course, while those in the contrast group didn't develop obvious rise in blood glucose. The difference between the two groups was significant ($P < 0.05$). Five months later the liver cells in the rabbits of the experimental group developed clear steatosis and swelling with liver glucogen disappearing in the cell plasma. In the kidney the glomeruli became larger, the cell number increased, the walls of capillary vessel became thicker and the epicyte in the urinitubule became larger. The tissue structure in the pancreas develop obvious pathological changes. The pancreas islets are atrophied, there is a decrease of cell's amount in pancreas islets and there are a few lymphocyte infiltration around pancreas islets. **Conclusion** High-sugar and high-fat fodder can induce sustained and typical diabetes and atherosclerosis in New Zealand White rabbits within a short period of time.

有证据表明, 循环血中过多的脂肪、葡萄糖(或

二者兼之)作用于多种组织和细胞, 阻碍胰岛素介导的葡萄糖摄取、拮抗胰岛素对肝脏葡萄糖产生的抑制作用和减少胰腺 β -细胞胰岛素的分泌, 从而引起糖尿病的发生发展^[1-3]。2 型糖尿病是动脉粥样硬化的一个重要危险因素。我们曾报道诱发糖尿病饲料可诱发新西兰兔的动脉粥样硬化病变^[4]; 本文

[基金项目] 日本大制药厂新药研究基金和湖南省科技厅研究基金 (JZY2109) 资助。

[作者简介] 王宗保, 男, 1965 年出生, 湖南省宁乡县人, 学士, 副教授。袁中华, 男, 1966 年出生, 河南省平舆县人, 硕士, 讲师。尹卫东 (通信作者), 男, 1957 年出生, 湖南省祁阳县人, 博士, 教授。

报道诱发糖尿病饲料致新西兰兔动脉粥样硬化时血糖、血胰岛素水平和肝、胰、肾组织结构的变化。

1 材料和方法

实验参照文献[4]进行, 现简述。

1.1 实验动物模型制作

体重 2 kg 雄性新西兰兔 30 只(由湖南省卫生防疫站实验动物中心提供), 按血糖血脂浓度分层随机分为 2 组, 15 只饲以基础饲料作为对照组; 15 只饲以高糖高脂饲料(10% 猪油、37% 白蔗糖混合 53% 基础饲料)作为实验组。单笼饲养, 自由饮水。室温 18~25℃, 实验 6 个月。

1.2 血糖测定

每月末取动物禁食过夜空腹血, 制作血清, 用葡萄糖激酶法测定空腹血糖。

1.3 血胰岛素测定

用放射免疫法测定空腹血血清胰岛素水平。

1.4 病理学检查

于 6 个月实验结束时处死动物, 取肝脏、肾脏和胰腺, 用 10% 福尔马林液固定, 组织经常规脱水, 石蜡包埋, 连续切 4 μm 薄片 3 张, HE 染色。用肝脏组织作糖元染色, 光学显微镜下观察并照相。

1.5 统计学处理

用 SPSS 软件统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组比较用 t 检验, $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

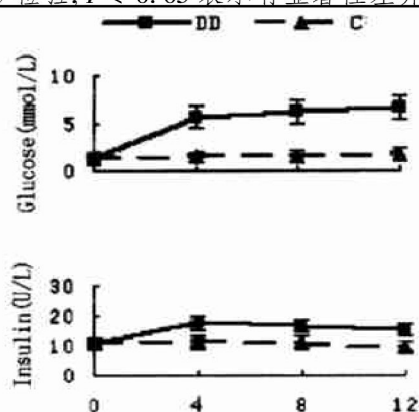


图 1. 实验中新西兰兔血糖和血清胰岛素水平的变化

Figure 1. Serum glucose, and insulin levels in response to diet. Data are presented as $\bar{x} \pm s$; Control group (C), $n = 13$; Diabetogenic diet group (DD), $n = 11$.

2 结果

2.1 两组动物血糖和血胰岛素水平的比较

喂高糖高脂饲料前, 测定实验组和对照组两组动物基础空腹血糖和血胰岛素, 两组比较差异没有

显著性意义 ($P > 0.05$)。喂高糖高脂饲料后, 实验组血糖逐渐呈持续增高趋势, 显著高于对照组 ($P < 0.01$), 在 16 周时平均达到 7.4 ± 1.2 mmol/L。而实验组血胰岛素在喂食糖饲料过程中不仅未出现预期的升高, 反而显著降低(图 1, Figure 1)。

2.2 肝脏组织形态学改变

实验组动物肝脏淤血, 肝细胞索排列紊乱, 细胞肿胀, 有明显脂肪变性, 胞浆内糖元极少或消失(图 2A, Figure 2A), 对照组肝细胞索排列整齐、规则, 细胞无变性, 胞浆内糖元丰富(图 2B, Figure 2B)。

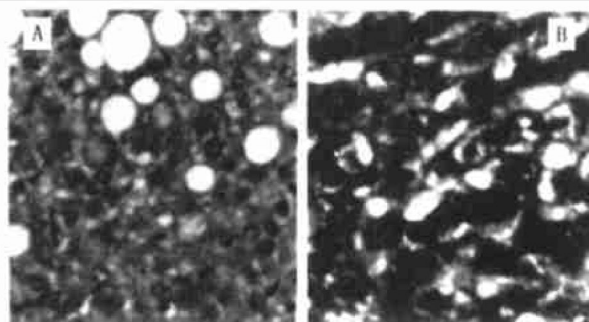


图 2. 肝组织显微结构照片($\times 200$)。A. 实验组动物有脂肪变性(HE 染色)。B. 对照组动物组织结构正常, 肝糖元丰富。

Figure 2. Photomicrograph of liver tissues with HE staining.

A. Showing notable fat degeneration in diabetogenic diet group. B. Showing normal morphology and structure, and abundant hepatic glycogen was pink in the cytoplasm, with PAS staining in control group.

2.3 肾脏组织形态学改变

实验组动物肾小球增大, 细胞增多, 毛细血管壁增厚、僵硬, 毛细血管襻间胶原纤维增多。小管上皮细胞增大, 核居中, 胞浆透明, 少数胞浆内可见絮状结构(图 3A, Figure 3A)。对照组动物肾脏组织结构正常(图 3B, Figure 3B)。

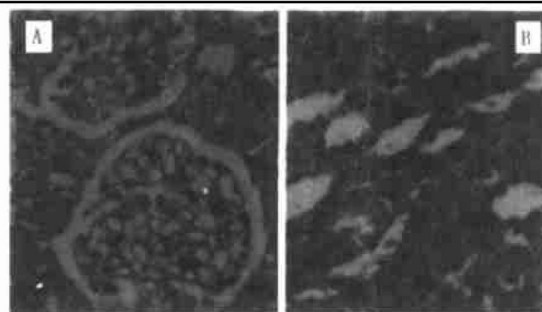


图 3. 肾组织显微结构 HE 染色照片($\times 200$)。A. 实验组动物有肾小球增大。B. 对照组动物组织结构正常。

Figure 3. Photomicrograph of the kidney tissues with HE staining.

A. Showing the changes of kidney tissues' structure, glomerulus of kidney become bigger in diabetogenic diet group. B. Showing normal kidney tissues in control group.

2.4 胰腺组织形态学改变

实验组动物胰腺组织表现为胰岛萎缩, 胰岛边缘皱缩, 胰岛内细胞数量减少, 多数细胞呈梭形, 胰腺外分泌腺未见异常(图 4A, Figure 4A)。对照组胰岛较多, 胰岛内细胞数量亦较多, 细胞较圆, 胰岛饱满, 胰腺外分泌腺结构正常(图 4B, Figure 4B)。

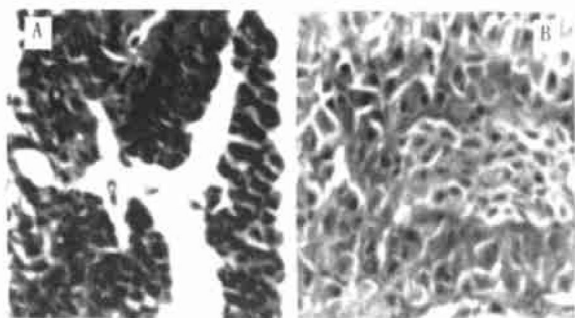


图 4. 胰腺组织显微结构 HE 染色照片($\times 200$)。A. 实验组动物胰岛萎缩。B. 对照组动物组织结构正常。

Figure 4. Photomicrograph of the pancreas tissues with HE staining. A. Showing the pancreas islets are atrophied in diabetogenic diet group. B. Showing the normal pancreas tissues in control group.

3 讨论

理想的动物模型无疑可对人类疾病的研究提供重要线索^[5]。目前, 用于糖尿病或动脉粥样硬化研究的实验动物模型不少, 但可用来研究糖尿病和动脉粥样硬化关系的动物模型却很稀少, 因此建立适当的动物模型对于研究糖尿病与动脉粥样硬化的关系有十分重要的意义。我们采用高糖高脂饲料, 复制的糖尿病动物模型同时具有典型的动脉粥样硬化病变^[4], 因此具有较高的应用价值。

文献[6, 7]报道, 2 型糖尿病患者的血糖水平得不到有效控制, 表现为糖耐量减低、空腹血糖升高、肝糖输出增多, 而肝糖输出增多, 是空腹高血糖的主要原因。本文实验中, 在喂食高糖高脂饲料后, 新西兰兔血糖持续升高, 在 16 周时血糖平均达到(7.4 ± 1.2) mmol/L, 与人类 2 型糖尿病具有高度近似性。从肝脏病理观察所见, 其肝细胞脂肪变性明显, 胞浆内肝糖元基本消失(降解成了葡萄糖, 进入血液)。表明本研究诱发的新西兰兔糖尿病是成功的。发生糖尿病后, 实验动物血胰岛素含量或是升高, 或是降低, 其变化情况文献报道不一, 若主要表现为胰岛素抵抗, 则血胰岛素含量升高; 若主要表现为胰岛 B 细胞功能减退, 则血胰岛素含量降低。本文实验研究结果表明, 喂食高糖高脂饲料后, 新西兰兔血清胰岛素平均浓度明显降低, ($P < 0.01$)。并且, 从胰腺

病理观察所见, 其胰岛萎缩, 胰岛内细胞数量减少, 多数细胞呈梭形。而喂食高糖高脂饲料前与正常对照组大体一致($P > 0.05$)。这可能提示诱发糖尿病饲料损伤了胰腺 β - 细胞合成分泌胰岛素的功能。随着病程延长, 血清胰岛素平均浓度有所上升, 这很可能是动物对血糖浓度持续升高的适应性代偿作用, 其作用机理有待进一步研究阐明。

糖尿病肾病是糖尿病的严重并发症, 在糖尿病形成后 3 天就有肾重量增加、肾小球增大、足细胞肿胀等病理改变^[8]。本研究中, 在 6 个月时处死的动物, 均可见肾小球增大, 肾小球毛细血管壁增厚、肾小管肿胀、空泡变性、坏死等改变。符合糖尿病肾病的病理改变。

综上所述, 用高糖高脂饲料喂养的方法, 在短时间内复制的新西兰兔糖尿病模型, 具有与人类 2 型糖尿病相似的典型糖尿病症状。可用于糖尿病糖代谢异常和糖尿病与动脉粥样硬化关系以及药物的治疗研究。

参考文献

- [1] Gordon CW, David RL, Hideaki K, et al. β - Cell adaptation and decompensation during the progression of diabetes [J]. *Diabetes*, 2001, **50** (Suppl. 1): S154- S159
- [2] William IS. Lipotoxicity and glucotoxicity in type 2 diabetes: effects on development and progression [J]. *Postgrad Med*, 2001, **109** (4): 55- 64
- [3] 滕卫平, 李玉姝, 郭颖, 等. 高血糖抑制 2 型糖尿病胰岛素分泌毒性作用的临床研究 [J]. *中国医科大学学报*, 2000, **29** (5): 365- 367
- [4] 尹卫东, 杨保堂, 张善春, 等. 诱发糖尿病饲料致新西兰兔动脉粥样硬化作用 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (2): 100- 103
- [5] 孙子林, 葛祖恺. 糖尿病动物模型及其进展 [J]. *中国糖尿病杂志*, 1999, **7** (4): 227- 228
- [6] Kumagai AK. Glucose transport in brain and retina: implication in the management and complication of diabetes [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 1999, **15** (4): 261- 273
- [7] Zorzano A, Munoz P, Camps M, et al. Insulin- induced redistribution of GLUT4 glucose carrier in muscle fiber: in research of GLUT4 trafficking pathways [J]. *Diabetes*, 1996, **45** (Supp): S70- S81
- [8] 张永容, 黄澜, 林兰, 等. 实验性糖尿病大鼠心肌病和肾病的组织病理学观察 [J]. *中国实验动物学杂志*, 1998, **8** (4): 203- 205

(此文 2001- 06- 06 收到, 2001- 10- 20 修回)

(此文编辑 胡必利)