

高脂饲料诱导代谢性疾病动物模型

罗建波¹, 李军晖¹, 王海江¹, 周小玉¹, 曾 涛¹, 周 佳¹, 朱献军²

(1. 四川省医学科学院·四川省人民医院实验动物研究所, 成都 610212; 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院人类疾病基因研究四川省重点实验室, 成都 610072)

[摘要] 采用饲喂高脂饲料的方式造成动物代谢异常, 此法常被用来探索疾病的发生、发展规律, 为临床研究提供理论依据。本文综述了常用高脂饲料诱导的代谢性疾病动物模型, 并探讨疾病模型形成机制及各营养成分的作用方式, 为相关研究人员建立疾病模型时提供理论和实践参考。

[关键词] 高脂饲料; 代谢性疾病; 动物模型; 作用机制

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0070-09

Metabolic Disease Animal Models induced by High-fat Diets

LUO Jianbo¹, LI Junhui¹, WANG Haijiang¹, ZHOU Xiaoyu¹, ZENG Tao¹, ZHOU Jia¹, ZHU Xianjun²

(1. Institute of Laboratory Animal Sciences, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610212, China; 2. Sichuan Provincial Key Laboratory for Human Disease Gene Study, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China)

Correspondence to: ZHU Xianjun, E-mail: Xjzhu2@126.com

[Abstract] High-fat diets are often used to induce models with nutritional abnormalities and stimulate human diseases, which are used to explore the mechanism of disease development and widely used in clinical hypothesis study. In order to provide theoretical and practical basis for researchers in this field, recent advances on animal models of metabolic diseases induced by high-fat diets were reviewed, and the mechanisms underlying disease development and the respective roles of nutrient components of the diets were also discussed.

[Key words] High-fat diet; Metabolic diseases; Animal model; Mechanisms

为给疾病的治疗制定科学的诊疗方案, 人类疾病动物模型常应用于前期的理论研究。利用高脂日粮中各养分的缺乏、过量以及比例失衡, 观察疾病发展过程, 以此获得基础数据^[1]。成熟的动物模型表现的疾病发生过程与人类相似, 具备实验动物死亡率低、操作简单、可重复性强、成本低廉等特点^[2]。近年来, 高脂饲料配方被广泛应用于制作代谢性疾病动物模型, 并取得了大量的研究成果。为给广大科研人员研究提供理论和实践依据, 现对常见高脂日粮诱导的代谢性疾病模型及其作用方式进行综述。

1 代谢性疾病模型

1.1 高脂血症

高脂血症是动脉粥样硬化、脑卒中和糖尿病等疾病的主要诱因, 常表现为血液中三酰甘油和胆固醇水平异常^[3]。诱导该模型的饲料主要以基础料+胆固醇+猪油为主。由于大鼠无胆囊结构, 缺乏对饲料中胆固醇等成分的消化能力, 因此用大鼠建立的高脂血症疾病模型中, 丙基硫氧嘧啶(0.2%)常被添加进造模饲料配方^[4]。血清中的总胆固醇、三酰甘油和脂蛋白水平等指标变化常被用来反映模型建立情况^[5-9](表1)。

[基金项目] 实验动物代谢性疾病模型饲料的开发与应用(2018YSZH0026)

[作者简介] 罗建波(1987—), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 实验动物饲料营养。E-mail: ljbfm@foxmail.com

[通信作者] 朱献军(1974—), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 疾病基因研究。E-mail: Xjzhu2@126.com

表 1 高脂日粮诱导下的高脂血症模型
Table 1 High-fat diet induced hyperlipidemia animal models

动物	性别	初始体质量/g	成模时间/周	监测指标	配 方	参考文献
SD 大鼠	雄	160~200	4	血清 TC、LDL-C 升高, 肝脏系数升高	10.0% 猪油、2.0% 胆固醇、0.2% 胆盐、87.8% 基础日粮, 50 mg · kg ⁻¹ · d ⁻¹ 丙基硫氧嘧啶灌胃	[5]
SD 大鼠	雄	80~100	8	血清 TC、TG 和 LDL-C 升高	12.0% 猪油、10.0% 蛋黄粉、2.0% 胆固醇、0.5% 胆盐、75.5% 基础饲料	[6]
C57BL/6 小鼠	雄	19~22	6	血清 TC、TG 和 LDL-C 升高	20.0% 蔗糖、15.0% 猪油、10.0% 酪蛋白、1.2% 胆固醇、0.6% 碳酸氢钙、0.4% 石粉、0.4% 预混料、0.2% 胆酸钠、52.2% 基础饲料	[7]
SD 大鼠	雄	180~220	8	肝脏/体质指数升高, 血清 TG、LDL-C 升高, 血清 HDL-C 降低, 肝细胞脂肪病变	20.0% 蔗糖、15.0% 猪油、10.0% 酪蛋白、1.2% 胆固醇、0.2% 胆酸钠、0.6% 磷酸氢钙、0.4% 预混料、0.4% 石粉、52.2% 基础饲料	[8]
Wistar 大鼠	雄	180~200	4	血清 TC、TG、LDL-C 升高, 血清 HDL-C 降低	2% 胆固醇、1% 胆盐、97% 基础日粮、1 mL 椰子油	[9]

注: TC 指总胆固醇, TG 指三酰甘油, LDL-C 指低密度脂蛋白胆固醇, HDL-C 指高密度脂蛋白胆固醇。

血液中的胆固醇和三酰甘油需要以脂蛋白的形式运输到体内组织进行代谢。高热量和高胆固醇日粮能够提高实验动物肝脏组织中胆固醇的含量, 影响脂蛋白受体合成及其表面受体活性, 导致血液中胆固醇和三酰甘油的转运受阻而不断在血液中蓄积。

1.2 动脉粥样硬化

当机体发生代谢异常时, 动脉内膜脂质沉积, 纤维基质成分和平滑肌的细胞增殖引起内膜灶性纤维性增厚及粥样斑块形成, 使动脉壁变厚, 管腔狭窄, 最终导致动脉粥样硬化形成^[10]。诱导该模型的饲料以基础料+胆固醇+猪油+糖为主^[11-14](表 2), 并在动物实验前期灌胃维生素 D₃ (7×10^5 U/kg)。研究认为, 大剂量维生素 D₃ 能够引起动脉钙超负荷, 使血浆脂蛋白易沉积在内皮下层, 动脉发生钙化, 增加脂质对内皮的损伤作用^[15]。动脉粥样硬化是发生在动脉壁的一种慢性疾病过程, 主要由于炎性细胞的聚集以及炎性因子的释放引起^[16]。在动脉粥样硬化发病初期, 血液中的低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL) 与单核细胞在动脉中内皮细胞受

损的情况下直接进入动脉壁, 血液中的 LDL 因被氧化, 不断引起单核细胞趋化, 同时诱导单核细胞趋化因子-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 产生, 促使内膜下的单核-巨噬细胞分化成泡沫细胞, 疾病不断发展。在核转录因子- κ B (nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B) 途径介导下生成的炎性因子、抗氧化酶和黏附分子等进一步诱发动脉粥样硬化形成与发展^[17]。

1.3 2 型糖尿病

动物机体自身虽然能够产生胰岛素, 但分泌量相对不足, 引发血糖升高, 即产生 2 型糖尿病。诱导该模型的饲料以基础料+胆固醇+猪油为主; 为诱导模型的形成, 实验通过高糖高脂饲料喂养 2 个月后, 采用腹腔注射的方式, 用剂量为 30 mg/kg 的亚致病链脲佐菌素直接破坏胰岛 β 细胞, 导致胰岛素分泌异常。2 型糖尿病模型除监测血清中总胆固醇、脂类和脂蛋白等指标外, 还增加了氧化应激指标, 例如丙二醛含量和超氧化物歧化酶活性等, 并辅以口服葡萄糖耐量试验、肝脏和胰腺切片法观察模型建立情况^[18-20](表 3)。研究认为, 由氧化应激引起的 β 细胞

表 2 高脂日粮诱导的动物动脉粥样硬化模型

Table 2 High-fat diet induced atherosclerosis animal models

动物	性别	初始体质量/g	成模时间/周	监测指标	配 方	参考文献
C57BL/6J 小鼠	雌	6 周龄	14~16	主动脉壁损伤	30.0% 可可脂、5.0% 胆固醇、2.0% 胆酸钠、30.0% 酪蛋白、5.0% 纤维素、4.0% 维生素预混料、4.0% 矿物质预混料、6.5% 蔗糖、6.5% 糊精、6.5% 葡萄糖、0.5% 氯化胆碱	[11]
Wistar 大鼠	雌	200	9	体质量降低, 血清 TC、TG 和 LDL-C 升高, 血清 HDL-C 降低, 主动脉内膜损伤	10.0% 猪油、5.0% 蔗糖、3.5% 胆固醇、0.5% 胆酸钠、0.2% 丙基硫氧嘧啶、80.8% 基础饲料	[12]
Wistar 大鼠	雄	200	9	血清 TC、LDL-C 升高, 血清 HDL-C 降低, 主动脉内出现明显斑块	0.15% 胆固醇、21.00% 猪油、78.85% 基础饲料	[13]
Wistar 大鼠	雄	150~180	4	血清 TC、CRP、IL-1、MCP-1 升高, 新生血管密度增多	10.0% 猪油、10.0% 蛋黄粉、8.0% 全脂奶粉、5.0% 酪蛋白、3.0% 胆固醇、0.5% 胆酸钠、63.5% 基础饲料	[14]

注: TC 指总胆固醇, TG 指三酰甘油, LDL-C 指低密度脂蛋白胆固醇, HDL-C 指高密度脂蛋白胆固醇, CRP 指 C 反应蛋白, IL-1 指白细胞介素 -1, MCP-1 指单核细胞趋化蛋白 -1。

表 3 高脂日粮诱导的动物 2 型糖尿病模型

Table 3 High-fat diet induces type 2 diabetes animal models

动物	性别	初始体质量/g	成模时间/周	监测指标	配 方	参考文献
Wistar 大鼠	雄	190~210	12	体质量、血清葡萄糖、TG、MDA、LDH、ALT 水平和肝指数升高; 血清出现脂肪空泡	6.5% 大豆、11.0% 酪蛋白、23.0% 猪油、0.6% 石粉、0.2% 氯化钠、40.0% 小麦、1.0% 磷酸氢钙、15.7% 果糖、2.0% 维生素矿物质添加剂	[18]
Wistar 大鼠	雄	180~200	12	体质量和空腹血糖升高	20.0% 蔗糖、10.0% 猪油、2.5% 胆固醇、67.5% 基础日粮	[19]
SD 大鼠	雄	180	6	空腹血糖、空腹胰岛素升高	10% 猪油、1% 胆固醇、89% 基础饲料	[20]

注: TG 指三酰甘油, LDL-C 指低密度脂蛋白胆固醇, MDA 指丙二醛, ALT 指丙氨酸转氨酶。

功能受损是引发 2 型糖尿病的核心。在机体发生氧化应激后, 促凋亡蛋白 Bax 和抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平失衡, 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 -3 (Caspase-3) 活化作用增强, β 细胞凋亡数量上升^[21]。同时, 在超量自由基作用下, c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 信号通路被活化, 胰十二指肠同源框因子 -1

(pancreatic duodenal homeobox-1, PDX-1) 活性降低, 诱发细胞核内的 PDX-1 移至细胞质, 使 PDX-1 与胰岛素启动子不能结合, 降低胰岛素基因表达和分泌量, 动物体内血糖水平维持功能下降, 导致 2 型糖尿病发生^[22]。

1.4 胰岛素抵抗

研究指出, 受体部位对体内外胰岛素的敏感

性下降是直接造成胰岛素抵抗的核心机制。临床研究认为，胰岛素抵抗容易引起糖尿病和动脉粥样疾病的发生率升高，同时与肥胖和心血管等疾病有密切联系^[23]。诱导该模型的饲料以基础料 + 胆固醇 + 猪油 + 糖为主，并可通过增加糖分含量缩短模型建立周期^[24-26](表 4)；高脂饲料在制备环节中，蛋白质、脂肪与碳水化合物充分混合加热，导致高级糖化产物 (advanced glycation

表 4 高脂日粮诱导的动物胰岛素抵抗模型
Table 4 High-fat diet induced insulin resistance animal models

动物	性别	初始体质量/g	成模时间/周	监测指标	配 方	参考文献
日本白兔	雌雄各半	2 200	36	葡萄糖耐受能力降低，胰岛素水平升高	42.00% 苜蓿、6.00% 大豆、1.00% 玉米、1.00% 小麦、2.00% 酒化酶原、1.50% 燕麦、1.25% 磷酸二氢钙、3.25% 维生素矿物质、0.50% 盐、1.50% 石粉、30.00% 糖、10.00% 猪油	[24]
SD 大鼠	雄	180	17	葡萄糖输注率降低，空腹血浆胰岛素水平升高	70% 基础饲料、10% 糖、20% 猪油	[25]
SD 大鼠	雄	170~180	6	空腹胰岛素水平、血清内脂素胰岛素敏感指数和胰岛素抵抗指数显著升高	15.00% 猪油、20.00% 蔗糖、5.00% 蛋黄粉、0.20% 胆盐、0.05% 维生素、0.15% 氯化胆碱、0.20% 矿物质、59.40% 基础饲料	[26]

end-products, AGEs) 的形成，更加有利于该疾病模型的建立^[27]。研究认为，胰岛素抵抗的发生主要是由于长期血液中高水平的游离脂肪酸 (free fat acid, FFA) 引起内质网应激、自由基侵袭、细胞凋亡和炎症反应，使正常的胰岛素信号转导不能实现，引起胰岛素抵抗发生；其中，信号途径 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和核因子- κ B 激酶抑制剂/核转录因子- κ B (inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase/nuclear transcription factor- κ B, IKK/NF- κ B) 之间交互作用造成的损伤是 FFA 诱发胰岛素抵抗的主要诱因^[28]。血液 FFA 可使胰岛素受体的结构因发生磷酸化而改变，影响正常的酪氨酸磷酸化和磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphoinositide 3-kinases, PI3Ks) 活性，胰岛素信号通路受阻。此外，活化后的丝氨酸/苏氨酸激酶 (serine/threonine kinases, AKT) 可以通过调节包括糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 在内的一系列下游分子而增加糖原生成，同时叉头框转录因子 O 亚族 1 (forkhead box O1, FoxO1) 磷酸化后导致自

身功能异常，影响磷酸烯醇式丙酮酸激酶 (phosphoenol- pyruvatecarboxy-kinase 1, PCK1) 和葡萄糖-6- 磷酸酶 (glucose 6 phosphatase, G6Pase) 在体内的糖异生作用，增加胰岛素抵抗的发生风险^[29]。

1.5 肥胖

动物摄入热量高于消耗热量，即造成体内脂肪过量、分布异常，引发肥胖症的发生^[30]，其主要特征为血脂水平的提高以及体质量、腹腔脂肪质量、Lee's 指数改变等^[31]，可增加其他代谢性疾病的发病率^[32]。肥胖疾病模型常选择 SD 大鼠、C57BL/6J 小鼠、ICR 小鼠和 KM 小鼠^[32]。诱导该模型的饲料以基础料 + 猪油为主，模型建立时间为 6~8 周^[31,33-34](表 5)。研究发现，在高脂或高脂高糖饲料造模结果中，由于部分动物的采食状况存在差异，影响营养性肥胖模型的建立，因此，动物样本需要加倍，防止因实验动物数量不足而影响下一步实验的正常进行^[35]。高脂饲料诱导后，过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator activated receptors α , PPAR α) 和 PPAR γ 表达水平上调，导致脂蛋白

脂肪酶 (lipoprotein lipase, LPL) 活性提高, 三酰甘油解离为 FFA 且被脂肪组织大量吸收; 在脂肪组织二酰甘油的酰基转移酶 (diacylglycerol acyl-transferase, DGAT) 表达上调的情况下, 机体中三酰甘油重新贮存。固醇调节元件结合蛋白-1c (sterol-regulatory element binding protein-

1c, SREBP-1c) 在调节相关基因表达中发挥重要作用。研究发现, 高脂饲料通过破坏体内胰岛素和葡萄糖平衡, 激活 PI3K/AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 1 (mammalian target of rapamycin 1, mTORC1) 途径, 上调脂肪代谢和葡萄糖代谢调控因子 SREBP-1c 及其下游脂肪合成相关靶基因如

表 5 高脂日粮诱导下的动物肥胖模型

Table 5 High-fat diet induced obesity animal models

动物	性别	初始体质量/g	成模时间/周	监测指标	配 方	参考文献
SD 大鼠	雄	6 周龄	8	体质量、血 TC、TG、LPL 升高; 血 HDL-C 降低	32.0% 玉米、9.7% 小麦、40.5% 大豆、3.5% 鱼粉、2.5% 乳清粉、1.2% 石粉、0.8% 磷酸氢钙、3.0% 蔗糖、5.5% 猪油、0.3% 盐、1.0% 维生素矿物质预混料	[32]
ICR 小鼠	雄	20	6	体质量、血 TG、葡萄糖升高	15% 猪油、20% 橄榄油、5% 蛋黄粉、10% 酪蛋白、50% 基础日粮	[33]
Wistar 大鼠	雄	70	6	体质量、脂肪质量、瘦素水平升高	10% 奶粉、10% 猪油、5% 蛋黄粉、75% 基础饲料 (鱼肝油 10 滴)	[34]

注: TC 指总胆固醇, TG 指三酰甘油, LPL 指脂蛋白脂肪酶, HDL-C 指高密度脂蛋白胆固醇。

低密度脂蛋白受体基因 (low density lipoprotein receptor, LDLR)、乙酰辅 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACC) 和脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FASN) 等的表达, 引起糖脂代谢紊乱和脂肪组织的异位沉积^[36]。另一方面, 脂肪分解酶如脂肪三酰甘油酯酶 (adipose triglyceride lipase, ATGL)、脂肪组织激素敏感脂酶 (hormone-sensitive triglyceride lipase, HSL) 及三酰甘油水解酶 (triacylglycerol hydrolase, TGH) 表达下调, 引起动物体质增加、腹腔脂肪增多等肥胖疾病的典型症状^[32]。

1.6 非酒精性脂肪肝

非酒精性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是一种以非饮酒方式作用下引起的肝细胞病变, 高水平的血脂及脂肪过量沉积和胰岛素敏感性降低都可诱发 NAFLD 的发生^[37]。诱导该模型的饲料以基础料 + 胆固醇 + 胆盐 + 猪油 + 糖为主^[38-41] (表 6), 除血清常规指标外, 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和转化生长因子- β 1 指标也常用于检测模型建立情况。研究发现, 高脂日粮诱发 NAFLD 主要是依靠两条途径调节细胞凋亡: (1) 脂肪代谢紊

乱。高脂日粮导致肝脏细胞内 FFA 持续积累, 引起肝脏中脂肪代谢平衡破坏, 降低肝脏组织中脂肪酸 β 氧化能力, 同时引起合成或分泌 VLDL 的能力下降, 减少三酰甘油转运出肝脏, 导致细胞脂肪变性, 发生脂肪肝病, 破坏细胞线粒体的超微结构, 造成呼吸链因磷酸化发生障碍, 电子传递受到干扰, 分子氧因获得电子而攻击机体正常细胞, JNK/Bcl-2 信号转导通路被激活, 细胞走向凋亡。(2) 胰岛素通路受阻。高脂日粮不断刺激机体分泌胰岛素, 使其受体底物发生磷酸化, 结构发生改变, PI3K 活性下降, 导致胰岛素敏感性下降, 直接引发线粒体依赖途径下的细胞凋亡^[42-43]。

2 诱导建模的高脂饲料成分

建模饲料以基础日粮和高热量成分为主要构成, 辅以添加帮助脂肪消化和破坏动物特定组织的额外成分, 通过调整各成分比例来满足不同的实验需求。

2.1 基础日粮

基础日粮含有促进动物正常生长必需的营养

表 6 高脂日粮诱导下的动物非酒精性脂肪肝模型
Table 6 High-fat diet induced non-alcoholic fatty liver disease animal models

动物	性别	初始体质量 /g	成模时间 / 周	监测指标	配 方	参考文献
SD 大鼠	雄	140~160	24-28	血清 FFA、TC、TNF- α 和 ALT 升高，出现脂肪肝和胰岛素抵抗	2.0% 胆固醇、10.0% 猪油、88.0% 基础日粮	[38]
C57BL/6J 小鼠	雄	18~20	8	血清 TG、TC、ALT、AST 和 GGT 升高，肝脏 p62、PI3K、p-AKT 和 p-mTOR 蛋白表达升高	68.5% 基础日粮、15.0% 猪油、1.0% 胆固醇、0.5% 胆盐、15.0% 糊精	[39]
SD 大鼠	雄	180~200	12	血清 ALT、AST、TG、TC、LDL-C 和胰岛素升高；血清 HDL-C、SOD 活性、胰岛素敏感指数和胰岛素抵抗指数降低，肝脏 TNF- α 表达升高；出现肝纤维化	10.00% 猪油、2.50% 葡萄糖、2.00% 胆固醇、0.25% 胆酸、85.25% 基础日粮	[40]
Wistar 大鼠	雄	180~200	10	血清 TG、TC、ALT 和 AST 活性升高；肝脏 MDA 含量增加，SOD 活性降低；肝脏脂肪变性严重，并伴有炎症细胞浸润及坏死	15.0% 猪油、2.8% 胆固醇、0.4% 胆酸钠、81.8% 基础日粮	[41]

注：FFA 指游离脂肪酸，TC 指总胆固醇，TNF- α 指肿瘤坏死因子- α ，ALT 指丙氨酸转氨酶，TG 指三酰甘油，AST 指天冬氨酸转氨酶，GGT 指 γ -谷氨酰转氨酶，PI3K 指磷脂酰肌醇 3-激酶，p-AKT 指磷酸化蛋白激酶 B，p-mTOR 指磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白，MDA 指丙二醛，LDL-C 指低密度脂蛋白胆固醇，HDL-C 指高密度脂蛋白胆固醇，SOD 指超氧化物歧化酶。

物质，满足动物营养需求，其所含的营养浓度需要整体考虑营养参数和各成分添加比例，使高脂日粮中各营养成分满足动物需要。一般情况下，酪蛋白、蛋黄粉和奶粉可用于补充高脂日粮中的蛋白质和氨基酸，磷酸氢钙和石粉用于补足动物钙和磷等需要，维生素（矿物质）添加剂用于补充实验动物的维生素（微量元素）需要，不足部分可用玉米淀粉填充。

2.2 胆固醇和胆盐

在模型饲料中加入胆固醇，提高动物体内该物质水平，引发炎症反应和氧化应激，促进疾病的形成。因此，为构建动物模型，胆固醇是模型饲料的重要成分^[4]。需要注意的是，胆固醇添加比例过高容易导致腹泻，造成动物死亡，而比例太低时造模周期长，不易形成病变，故常用比例建议为 5% 以下。实验研究发现，饲料中的胆盐虽然可以帮助促进脂肪在体内的吸收利用，但是胆盐味苦，会严重影响动物食欲，且易引起体质量下降；当胆固醇添加量大于 2% 时，考虑加入胆盐，一般添加比例为 0.5%。值得注意的是，在小鼠模型饲料中，考虑到小鼠对胆固醇的消化能力较弱，常在胆固醇含量为 1% 时就加入一定比例的胆

盐，以帮助建立动脉粥样硬化模型。动物实验过程中，总胆固醇及 LDL 水平受饲料中胆固醇及胆盐的影响，其中饲料成分中胆固醇的作用更大^[4]。

2.3 糖类

在高脂高糖饲料配方中，蔗糖和果糖是模型诱导成功的关键成分。果糖和葡萄糖是具有相同分子式，而结构上有较大差异的两种化合物，可通过有机反应相互结合生成蔗糖。蔗糖是由葡萄糖与果糖中功能基团通过缩合脱水作用生成，其中蔗糖中的果糖成分在高糖饲料诱导的胰岛素抵抗中起主要作用。添加糖类一方面可帮助诱导疾病的发生和发展，另一方面则通过改善日粮的适口性，增加动物的采食；一般添加比例为 20% 以下，添加量过高不利于饲料加工成型，同时糖类成分过多会破坏配方设计中营养的整体平衡。有研究者认为，长时间采食高糖类（蔗糖或果糖）物质可以显著促进布劳特菌、罗伊乳杆菌和脆弱拟杆菌增殖，抑制粪肠球菌和黄色瘤胃球菌增殖，从而造成肠道菌群紊乱，导致肠道物理屏障作用削弱，提高肠道内脂多糖的含量和通透性，脂多糖通过与肠细胞中 Toll 样受体 4 结合而诱发 NF- κ B 途径激活，提高促炎因子的表达，诱

导氧化应激的发生。此外,上调的促炎因子可以通过促进糖尿病的发生和发展,导致机体对胰岛素的敏感性降低,产生胰岛素抵抗,激活还原型辅酶 II 即烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH),诱导超氧阴离子产生,使机体进一步遭受氧化损伤^[44]。

2.4 脂肪

脂肪是机体重要的供能物质。饲料中脂肪的加入能够保证能量和必需脂肪酸的供给,也可帮助溶解饲料中的脂溶性物质;然而,该物质超过动物正常需要量时,会直接导致血脂水平异常,引发心血管和肥胖等疾病,造成机体代谢异常,使自由基产生量超过机体清除能力,诱导氧化应激发生^[45]。诱导疾病模型的饲料中常添加的脂肪源有猪油、棕榈油和椰子油等,理论上饲料中脂肪含量越高越有利于疾病模型的建立,但当脂肪比例大于 20% 时,加工工艺的要求会增高,不利于实验饲料制备、储存及定量饲喂。而且,饲料中过高比例的脂肪会直接降低动物采食量,故一般添加比例建议不高于 20%^[45]。

猪油是一种饱和高级脂肪酸,外形为黄色、半透明液体状。研究认为,过量食用饱和脂肪会引发肝内三酰甘油水平升高,导致脂肪酸在肝脏中蓄积,促进胆固醇合成,诱发机体产生过量自由基,造成线粒体功能受损和胰岛素抵抗^[46]。棕榈油含有丰富的棕榈酸,饮食中高浓度的棕榈油会对肝脏产生毒性作用,主要表现在细胞放射状结构的丧失和细胞体积的缩小,随即细胞遭受不可逆损伤。在哺乳动物细胞模型中,高浓度棕榈酸会直接作用于内质网,破坏细胞器稳态,即内质网应激^[47]。中链脂肪酸和长链脂肪酸是椰子油中的主要脂肪形式。研究认为,与长链脂肪酸吸收不同的是,中链脂肪酸的吸收可通过肠道进入血液,而不需要胆汁酸参与,因此中链脂肪酸更容易被机体利用,可在维持动物体质量的基础上,减少体内脂质的大量蓄积,让血液生化指标保持正常水平,维持机体正常的脂质代谢^[48]。

3 高脂饲料的储存

由于造模饲料含有较高脂肪,饲料在储存过

程中易发生氧化酸败,生成醛、酮、酮酸等物质,降低饲料的适口性和营养价值^[49]。动物摄入氧化酸败的饲料后,氧化产物进入细胞膜,体内吞噬细胞为消灭异物,会产生大量自由基,损害生物细胞功能,造成动物氧化应激。因此,与普通饲料相比,高脂饲料的存储条件更为苛刻。高脂饲料一般对温度、光线和氧气敏感,因此饲料需采用外包装隔绝光照,同时抽尽包装内部空气,并采用⁶⁰Co 辐照灭菌。由于模型建立的实验周期较长,建议以 1 个月的使用量为准,分批定制造模饲料,并存储于-4℃条件下;在使用前,需将带包装的饲料置于常温下,达到室温后,方可开始饲喂,以降低动物消化系统疾病的发生风险。

4 疾病模型的评估

疾病模型的建立需要花费较长时间,也是许多研究的前期基础工作,因此为确保实验顺利实施,从制定配方到进行动物实验都需要严谨规范,并全面评估各个环节。(1) 模型饲料的营养参数评估。在确定模型建立方向的前提下,对高脂饲料中各添加物质的功能进行综合考量,同时对饲料中各项营养素的标准值进行仔细分析,从而构建营养过载或缺乏的动物模型配方。此外,在添加其他成分的前提下,某些营养素含量被稀释,因此应该额外补足各自特定的基础饲料营养成分。实验开始前,需要按照饲料检测标准,准确测定各项参数的实际数值,与理论值进行核对。(2) 动物实验过程的评估。模型建立前期,需要逐步添加高脂饲料,避免营养应激对动物造成影响。模型建立过程中,及时清除动物食槽内的剩余饲料;另外,高脂饲料由于脂肪比例较高,长期暴露空气中容易引发酸败变质,动物采食后易引起腹泻,因此,加料不宜过量。模型建立后期,动物由于肥胖、高血糖和糖尿病等,会出现一系列病变,需加强对微生物的控制,减少实验动物受其他因素的影响。(3) 疾病特异性指标评估。评价模型建立效果,不能仅仅只依据动物生理生化参数是否达到要求,还要考虑疾病的进程。例如,高脂血症和脂肪肝都能够引起血脂升高,单从血脂指标来判断动物疾病模型的建立状况显然不够充分,需要进一步对肝

脏进行病理切片,进一步明确模型阶段,综合考虑机体的整体反应。

5 小结

以基础料+猪油+糖+胆固醇+胆酸为主要成分而配制的高脂饲料,可根据疾病模型、实验动物种类、造模周期和营养需求,调整饲料中各成份的比例,同时考虑加入丙基硫氧嘧啶或注射维生素D3等额外辅助手段,达到建立动物模型的预期。在拟定新的造模饲料配方时,可结合高脂诱导的疾病模型建立机制,参考实验动物本身的代谢规律,考虑实验时间和造模周期,筛选出符合自身实验研究目的的高脂饲料配方,从而提高建模的成功率和有效性,为研究相关疾病提供理论基础。

参考文献:

- [1] 张锦红,曾昭智,江涛.特殊配方饲料应用中存在的问题及对策[J].实验动物与比较医学,2011,31(6):470-472.
- [2] 周迎生.让疾病模型动物的研究成果照亮人类肥胖防控之路[J].中国比较医学杂志,2019,29(10):1-2. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2019.10.001.
- [3] 刁婷婷,闵清.高脂血症动物模型研究进展[J].湖北科技学院学报(医学版),2018,32(6):541-545. DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2018.06.0541.
- [4] 王点,郭媛媛,邓亚萍,等.从高脂配方和动物特点探讨高脂血症模型的进展[J].医学综述,2015,21(18):3271-3273. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2015.18.003.
- [5] 郝维佳,杨秋实,李静宜,等.高脂饲料中添加丙基硫氧嘧啶对大鼠血脂、体质量及体脂的影响[J].首都医科大学学报,2018,39(3):385-392. DOI:10.3969/j.issn.1006-7795.2018.03.014.
- [6] 陈剑峰,万勇.不同配方高脂饲料构建高血脂症大鼠模型的比较及评价[J].实验动物科学,2018,35(1):30-34. DOI:10.3969/j.issn.1006-6179.2018.01.006.
- [7] 郝继伟,陈超然,杨长永,等.雷帕霉素对高脂血症小鼠的治疗效果及作用机理探讨[J].免疫学杂志,2020,36(2):143-148. DOI:10.13431/j.cnki.immunol.j.20200024.
- [8] 王燕萍,彭丹虹,刘晓琪,等.高脂饮食喂养建立高脂血症模型的验证及规律探讨[J].中国比较医学杂志,2017,27(1):5-10. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2017.01.002.
- [9] JAIN P G, PATIL S D, HASWANING, et al. Hypolipidemic activity of *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae, on high fat diet induced hyperlipidemia in albino rats[J]. Rev Bras Farmacogn, 2010, 20(6):969-973. DOI:10.1590/s0102-695x2010005000038.
- [10] 张园,栾靖昕,孙勇,等.脂联素与动脉粥样硬化[J].中国实验诊断学,2018,22(4):748-750. DOI:10.3969/j.issn.1007-4287.2018.04.070.
- [11] 王晓纲.白芍总苷对动脉粥样硬化大鼠血流动力学和血液流变学的影响[J].天津中医药,2017,34(7):482-485. DOI:10.11656/j.issn.1672-1519.2017.07.15.
- [12] Ait-Oufella H, Mallat Z, Tedgui A. Atherosclerosis: an inflammatory disease[J]. Sng Thromb Vaiss, 2008, 20(1): 25-33. DOI:10.1684/stv.2008.0228.
- [13] MITRA S, GOYAL T, MEHTA J L. Oxidized LDL, LOX-1 and atherosclerosis[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2011, 25(5):419-429. DOI:10.1007/s10557-011-6341-5.
- [14] PAIGEN B, MORROW A, BRANDON C, et al. Variation in susceptibility to atherosclerosis among inbred strains of mice[J]. Atherosclerosis, 1985, 57(1):65-73. DOI:10.1016/0021-9150(85)90138-8.
- [15] HU Y, SUN B, LIU K, et al. Icaritin attenuates high-cholesterol diet induced atherosclerosis in rats by inhibition of inflammatory response and p38 MAPK signaling pathway[J]. Inflammation, 2016, 39(1):228-236. DOI:10.1007/s10753-015-0242-x.
- [16] 王东风,张瑞芬.两种不同高脂饲料建立大鼠动脉粥样硬化模型的比较[J].湖北中医杂志,2019,41(4):9-11.
- [17] 蔡宏文,缪静,周鑫斌,等.痰瘀同治方调控PPAR γ /NF- κ B通路对大鼠动脉粥样硬化斑块内血管新生的影响[J].中国中西医结合杂志,2017,37(5):579-583. DOI:10.7661/j.cjim.20170315.044.
- [18] WANG S H, HU Y L, YAN Y, et al. Sotetsuflavone inhibits proliferation and induces apoptosis of A549 cells through ROS-mediated mitochondrial-dependent pathway[J]. BMC Complement Altern Med, 2018, 18(1):235. DOI:10.1186/s12906-018-2300-z.
- [19] KANETO H, MATSUOKA T A, NAKATANI Y, et al. Oxidative stress, ER stress, and the JNK pathway in type 2 diabetes[J]. J Mol Med (Berl), 2005, 83(6):429-439. DOI:10.1007/s00109-005-0640-x.
- [20] GUO X X, WANG Y, WANG K, et al. Stability of a type 2 diabetes rat model induced by high-fat diet feeding with low-dose streptozotocin injection[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2018, 19(7):559-569. DOI:10.1631/jzus.b1700254.
- [21] 高雪,安至超,何其英,等.高脂饲料喂养时间对2型糖尿病肾病大鼠模型的影响[J].中国实验动物学报,2018,26(1):114-119. DOI:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.01.018.
- [22] 吴瑛,张勇,姚合斌.高脂联合小剂量链脲佐菌素建立实验性2型糖尿病大鼠模型[J].转化医学杂志,2017,6(6):355-357. DOI:10.3969/j.issn.2095-3097.2017.06.009.
- [23] HOFMANN S M, DONG H J, LI Z, et al. Improved insulin sensitivity is associated with restricted intake of

- dietary glycoxidation products in the db/db mouse[J]. *Diabetes*, 2002, 51(7):2082-2089. DOI:10.2337/diabetes.51.7.2082.
- [24] 田爱平, 郭赛珊, 申竹芳. 高脂饲料与胰岛素抵抗动物模型[J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(3):267-269. DOI:10.3321/j.issn:1001-1978.2006.03.003.
- [25] 田爱平, 郭赛珊, 申竹芳. 高脂饲料与胰岛素抵抗动物模型[J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(3):267-269. DOI:10.3321/j.issn:1001-1978.2006.03.003.
- [26] 迟毓婧, 李晶, 管又飞, 等. PI3K-Akt 信号传导通路对糖代谢的调控作用[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2010, 26(10):879-885. DOI:10.13865/j.cnki.cjbmb.2010.10.014.
- [27] ZHAO S, CHU Y, ZHANG C, et al. Diet-induced central obesity and insulin resistance in rabbits[J]. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2008, 92(1):105-111. DOI:10.1111/j.1439-0396.2007.00723.x.
- [28] 王利, 褚宏恩, 孙兆峰, 等. 胰岛素抵抗模型的建立与评价[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(24):4689-4692. DOI:10.3321/j.issn:1673-8225.2008.24.034.
- [29] 李颖, 翁锡全, 林文毅. 高脂饮食诱导胰岛素抵抗模型大鼠血清内脂素变化[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(24):4693-4696. DOI:10.3321/j.issn:1673-8225.2008.24.035.
- [30] 李文梅, 俞捷, 杨静, 等. 肥胖与环境内分泌干扰物暴露的关系及机制[J]. *重庆医学*, 2017, 46(24):3425-3427. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.24.037.
- [31] 桂利斯, 孟永梅. 蒙成药给喜古訥-3 汤对肥胖小鼠的影响[J]. *中国民族医药杂志*, 2017, 23(2):61-64. DOI:10.16041/j.cnki.cn15-1175.2017.02.037.
- [32] 贺艳杰, 李玉华, 卢会芳, 等. 线粒体通路和死亡受体通路在中华眼镜蛇毒组分诱导 KG1a 细胞凋亡中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(3):356-360. DOI:10.3969/j.issn.1001-1978.2013.03.014.
- [33] 胡孝跃, 杨硕, 孙泽, 等. 浅述高脂饲料构建大鼠肥胖模型过程中需注意问题[J]. *临床医药文献杂志(电子版)*, 2017, 4(37):7151. DOI:10.3877/j.issn.2095-8242.2017.37.013.
- [34] LI S, BROWN M S, GOLDSTEIN J L. Bifurcation of insulin signaling pathway in rat liver: mTORC1 required for stimulation of lipogenesis, but not inhibition of gluconeogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(8):3441-3446. DOI:10.1073/pnas.0914798107.
- [35] LEI F, ZHANG X N, WANG W, et al. Evidence of anti-obesity effects of the pomegranate leaf extract in high-fat diet induced obese mice[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2007, 31(6):1023-1029. DOI:10.1038/sj.ijo.0803502.
- [36] 陈世伟, 张丁, 刘翠娥, 等. L-肉碱对肥胖模型大鼠体重及脂质代谢的影响[J]. *中国公共卫生*, 2003, 19(5):579-580. DOI:10.3321/j.issn:1001-0580.2003.05.037.
- [37] 何峰, 张雪莲, 温祥臣. 山楂酸对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝模型小鼠炎症反应及氧化应激的影响[J]. *中国药房*, 2019, 30(7):901-905. DOI:10.6039/j.issn.1001-0408.2019.07.09.
- [38] MUTHULAKSHMI S, SARAVANAN R. Protective effects of azelaic acid against high-fat diet-induced oxidative stress in liver, kidney and heart of C57BL/6J mice[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 377(1-2):23-33. DOI:10.1007/s11010-013-1566-1.
- [39] HAN J W, ZHAN X R, LI X Y, et al. Impaired PI3K/Akt signal pathway and hepatocellular injury in high-fat fed rats[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(48):6111-6118. DOI:10.3748/wjg.v16.i48.6111.
- [40] XU Z J, FAN J G, DING X D, et al. Characterization of high-fat, diet-induced, non-alcoholic steatohepatitis with fibrosis in rats[J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(4):931-940. DOI:10.1007/s10620-009-0815-3.
- [41] 陆奇群, 张曦. 白藜芦醇通过诱导自噬改善高脂饮食小鼠非酒精性脂肪肝[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2018, 28(1):13-15, 20, 84.
- [42] HONG X Z, LI L D, WU L M. Effects of fenofibrate and Xuezhikang on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007, 34(1/2):27-35. DOI:10.1111/j.1440-1681.2007.04547.x.
- [43] 瞿娟, 吴双贵, 吴甜, 等. 黄瓜香对高脂饲料诱导的大鼠非酒精性脂肪肝保护作用研究[J]. *临床进展*, 2019, 9(1):7-12. DOI:10.12677/ACM.2019.91002.
- [44] ROSAS-VILLEGAS A, SNCHEZ-TAPIA M, AVILA-NAVA A, et al. Differential effect of sucrose and fructose in combination with a high fat diet on intestinal microbiota and kidney oxidative stress[J]. *Nutrients*, 2017, 9(4):393. DOI:10.3390/nu9040393.
- [45] 周锴, 吴莉芳, 瞿子惠, 等. 饲料脂肪水平对鱼类生长、抗氧化及脂肪酸组成影响的研究[J]. *饲料工业*, 2018, 39(8):26-31. DOI:10.13302/j.cnki.fi.2018.08.004.
- [46] 王吉, 严思思, 肖海思, 等. 不同植物油与猪油搭配食用对肝功能、肝脏抗氧化能力及肝脂的影响[J]. *中国食物与营养*, 2019, 25(9):71-75. DOI:10.19870/j.cnki.11-3716/ts.2019.09.016.
- [47] 丁倩雯. 食源性棕榈酸诱导斑马鱼肝脏脂毒性反应研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- [48] 刘聪聪, 王树辉, 涂治骁, 等. 中链脂肪酸对脂多糖诱导的断奶仔猪肠黏膜免疫屏障损伤的保护作用[J]. *中国畜牧杂志*, 2018, 54(10):70-74. DOI:10.19556/j.0258-7033.2018-10-070.
- [49] 李春雷. 饲料油脂在储存过程中的变化[J]. *粮油仓储科技通讯*, 2018, 34(5):53-56. DOI:10.3969/j.issn.1674-1943.2018.05.017.
- (收稿日期: 2020-05-04 修回日期: 2020-09-24)