

田时秋,左泽平,李依林,等.两种大鼠高脂血症模型的特点及性别差异研究[J].中国比较医学杂志,2023,33(3):37-44.
Tian SQ, Zuo ZP, Li YL, et al. Characteristics and sex differences of two kinds of hyperlipidemia models in rats [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(3): 37-44.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.03.005

两种大鼠高脂血症模型的特点及性别差异研究

田时秋^{1#},左泽平^{2#},李依林¹,田颖颖¹,裴海鸾¹,于尚玥¹,赵新月¹,刘闯¹,王志斌^{2*}

(1.北京中医药大学 中药学院,北京 102488;2.北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂,北京 100071)

【摘要】目的 考察两种大鼠高脂血症模型体重、摄食量、血脂变化趋势及肝组织病理变化,比较不同性别高脂血症模型的差异。**方法** 大鼠采用两种高脂饲料喂养7~8周,建立混合型高脂血症模型和高胆固醇血症模型。造模期间记录动物体重、摄食量和一般状态,分别于第0、1~2、7~8周检测分析血清中总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)含量变化;造模后取动物的肝进行组织病理学观察。**结果** 两模型高脂饲料喂养组比较,混合型高脂血症体重显著高于空白对照组,摄食量显著降低,总食物利用度升高,而高胆固醇血症摄食量升高,体重及总食物利用率与空白对照组无显著差异;造模结束时混合型高脂血症TC、TG水平升高,高胆固醇血症TC升高,TG不变,混合型高脂血症肝脂肪变性程度更强。同模型下雄性总体血脂变化、肝脂肪变性程度均重于雌性。**结论** 两模型高脂饲料喂养组在体重、摄食量、血脂水平及肝病理观察均有差异,同模型雄性程度强于雌性。

【关键词】 高脂血症;性别差异;高脂饮食;动物模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 03-0037-08

Characteristics and sex differences of two kinds of hyperlipidemia models in rats

TIAN Shiqiu^{1#}, ZUO Zeping^{2#}, LI Yilin¹, TIAN Yingying¹, PEI Hailuan¹, YU Shangyue¹, ZHAO Xinyue¹,
LIU Chuang¹, WANG Zhibin^{2*}

(1. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China.
2. Tongrentang Science and Technology Co., Ltd., Pharmaceutical Factory, Beijing 100071)

【Abstract】 Objective To investigate the trend in changes of body weight, ingestion, blood lipids, and pathology of liver tissue in two models of hyperlipidemia in rats, and to compare differences of the hyperlipidemia models of different genders. **Methods** Rats were fed two kinds of high fat diet for 7~8 weeks to establish models of mixed hyperlipidemia and hypercholesterolemia. The body weight, ingestion, and general state of the animals were recorded during the modeling period. Changes in serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were detected and analyzed at 0, 1~2 and 7~8 weeks. **Results** The body weight of the mixed hyperlipidemia high-fat diet group was significantly higher than control group, ingestion was decreased significantly, and total food use was increased, while ingestion of hypercholesterolemia high-fat diet group was increased and there was no significant difference in body weight or total food use. At the end of modeling, TC and TG levels in the mixed hyperlipidemia groups was increased, the TC level in the hypercholesterolemia group was increased, TG was

【基金项目】 国家重点研发计划项目(2019YFC1711400)。

【作者简介】 田时秋(1997—),女,硕士研究生,研究方向:中药药理学。E-mail:tianshiqiu1997@163.com

左泽平(1985—),女,主管药师,研究方向:药物安全评价及中药生物活性测定。E-mail:zepingzuo@126.com [#]共同第一作者

【通信作者】 王志斌(1966—),男,研究员,博士生导师,研究方向:中药质量控制标准及药理毒理研究。E-mail:wangzhibin4804@126.com

unchanged, and the degree of hepatic steatosis in the mixed hyperlipidemia group was stronger. In the same model, the overall change in blood lipids and the degree of liver steatosis in male rats were more severe than those in female rats.

Conclusions There were differences in body weight, ingestion, lipid levels and liver pathology in high fat diet groups of the two models with a stronger degree in male than in female rats of the same model.

[Keywords] hyperlipidemia; sex difference; high-fat diet; animal model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

高脂血症 (hyperlipidemia) 是由多种原因导致脂质代谢紊乱的一种病理状态, 又称血脂异常, 临床表现为血清总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 升高及高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 降低^[1]; 与非酒精性脂肪肝、高血压、动脉粥样硬化、冠心病、糖尿病、急性胰腺炎^[2] 和脑卒中等多种疾病密切相关^[3], 是神经退行性疾病、心血管疾病的重要危险因素^[4]。中国成人血脂异常总体患病率高达 40.40%, 未来中国成人高脂血症患病及相关疾病负担将继续加重^[5]。临床从实用角度将高脂血症分为混合型高脂血症、高胆固醇血症、高甘油三酯血症以及低高密度脂蛋白胆固醇血症^[6]。高脂血症患病率高, 病因复杂, 易引起多种并发症, 并互为因果, 加重病情。因此建立符合高脂血症临床分型特点的人体疾病动物模型, 并在此基础上对病因病机进行阐释, 明确干预药物的作用特点及机制, 为疾病的预防和治疗提供新思路, 具有重要的研究意义。

目前高脂血症的造模方法有多种^[7], 脂质、糖类的过量摄入是高脂饲料喂养法致实验动物高脂血症的诱导因素, 也是最为贴近临床常见高脂血症的致病原因, 高脂饲料喂养法建立的模型成模率高, 重复性好, 是常用的造模方法^[8]。雌性大鼠受雌激素不稳定及雌激素对脂质代谢的作用所影响^[9], 不易成功建立模型, 故对雌性大鼠少有研究; 但性别差异会影响机体脂质代谢过程, 性激素等因素会影响药物的作用效果^[10], 新药研究技术要求中也明确规定无特殊情况应使用双性别实验动物进行临床前研究^[11]。本研究旨在用不同配方高脂饲料喂养建立雌雄 SD 大鼠的混合型高脂血症和高胆固醇血症两种高脂血症模型, 分析不同模型、性别的体重、摄食量、血脂指标的动态变化, 比较肝指数及病理变化的相关差异, 初步探讨两种模型雌雄之间的差异, 浅析模型特点, 旨在为高脂血症的发病机制研究、药效评价以及新药临床前研究提供动物模型构建的方法学参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

6~8 周龄 SPF 级 SD 大鼠, 体重 170~190 g, 雌雄各 18 只, 由斯贝福 (北京) 生物技术有限公司 [SCXK(京)2019-0010] 提供 (混合型高脂血症模型); 6~8 周龄 SPF 级 SD 大鼠, 体重 180~200 g, 雌雄各 18 只, 由北京维通利华实验动物技术有限公司 [SCXK(京)2021-0006] 提供 (高胆固醇血症模型)。实验动物饲养于同仁堂研究院 SPF 级动物房 [SYXK(京)2018-0008], 饲养温度: 22~25℃, 相对湿度: 55%~70%, 研究方案经同仁堂研究院实验动物伦理委员会批准 (YJY-2021-040201、YJY-2021-040801), 按照实验动物 3R 原则给予人道关怀。

1.2 主要试剂与仪器

混合型高脂血症: 在维持饲料中添加 20.0% 蔗糖、15% 猪油、1.2% 胆固醇、0.2% 胆酸钠 (2021031566); 高胆固醇血症: 在维持饲料中添加 5% 猪油、1% 胆固醇、0.2% 胆酸钠 (2021031506); 以上两种配方除粗脂肪外, 饲料的水分、粗蛋白、粗脂肪、粗纤维、粗灰分、钙、磷均要达到维持饲料的国家标准, 饲料均由北京科澳协力饲料有限公司生产提供。

无水乙醇 (北京贞玉民生药业有限公司, 批号: 201908004); 生理盐水 (石家庄四药有限公司, 批号: 2019133201); 异氟烷 (深圳市瑞沃德生命科技公司, 批号: 21041001); TC 测定试剂盒 (A111-1-1)、TG 测定试剂盒 (A110-1-1)、HDL-C 测定试剂盒 (A112-1-1)、LDL-C 测定试剂盒 (A113-1-1) 均购自南京建成生物工程研究所。

电子天平 (ME3002, METTLER TOLEDO; BT124S, Sartorius); 超低温冰箱 (Forma 900 series, Thermo Fisher scientific); 小动物呼吸机 (ALC-V8S, 上海奥尔科特生物科技有限公司); 台式低温离心机 (3K15, sigma); 酶标仪 (Epoch2, BioTek); 组织脱水机 (ASP200, Leica); 组织包埋机 (EG1150H, Leica); 半自动石蜡切片机 (RM2245, Leica); 摊片机

(HI1210, Leica); 烤片机 (HI1220, Leica); 染色机 (CV5030, Leica); 正置显微镜 (DP71, Olympus)。

1.3 实验方法

1.3.1 造模及分组

实验动物适应性喂养 1 周后, 各性别按体重随机分为空白对照组和高脂饲料喂养组。空白对照组给予维持饲料, 高脂饲料喂养组分别给予 1.2 项下两种配方的高脂饲料, 混合型高脂血症模型连续给予 8 周, 高胆固醇血症模型连续给予 7 周, 期间大鼠自由摄食、饮水。

1.3.2 体重与摄食测定

实验动物每周称重 1 次, 造模后每周于称重前 1 d 称量饲料加入量, 称重当日称量饲料剩余量, 计算各模型动物摄食量和饲料利用度。摄食量 (g) = 饲料加入量 (g) - 饲料剩余量 (g), 总食物利用率^[12] (%) = [总增质量 (g) / 总摄食量 (g)] × 100%。

1.3.3 血脂指标检测

混合型高脂血症动物于造模前、造模第 2 周 (高脂饲料喂养 14 d) 眼内眦取血, 造模第 8 周异氟烷麻醉动物, 腹主动脉取血, 静置 1 h 后, 4℃, 3500 r/min 离心 10 min 制备血清。高胆固醇血症动物于造模前、造模第 1 周 (高脂饲料喂养 7 d) 眼内眦取血, 造模第 7 周异氟烷麻醉动物, 腹主动脉取血, 制备血清。按试剂盒操作, 检测血清中 TC、TG、LDL-C 及 HDL-C 含量。

1.3.4 肝指数测定及组织病理学检查

取血后, 摘取动物的肝, 观察其颜色、大小、形态, 生理盐水冲洗后蘸干, 称量肝湿重。肝指数 (g/100 g) = 肝湿重 (g) × 100 / 体重 (g)。取肝大叶用多聚甲醛固定, 制石蜡切片, 用苏木素-伊红 (HE) 染

色, 分别在 10、40 倍物镜下进行组织病理学检查, 按照肝脂肪变性程度分级^[13], 重度 (IV 级): 脂肪变性细胞数 > 50%, 中度 (III 级) 脂肪变性细胞数为 25% ~ 50%, 轻度 (II 级): 脂肪变性细胞数 < 25%, 无 (I 级): 正常肝细胞。

1.4 统计学方法

所有数据均采用 IBM SPSS Statistics 20 软件进行处理, 数据以平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组数列均呈正态、方差齐时用 LSD-*t* 检验比较, 方差不齐用 Dunnett-*t* 检验; 一组及以上数列非正态分布时采用独立样本 Mann-Whitney U 非参数检验。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

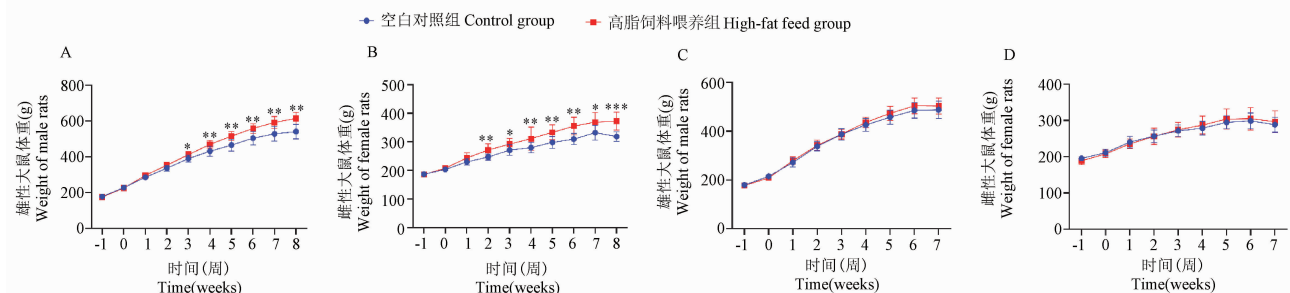
2 结果

2.1 一般状态观察

造模过程中, 大体观察模型动物一般状态未见异常。高胆固醇血症模型动物自造模 3 周至实验结束, 大便软臭。

2.2 体重变化趋势

混合型高脂血症模型动物体重变化趋势结果见图 1A、图 1B, 雄性动物造模 3~8 周和雌性动物造模 2~8 周, 高脂饲料喂养组体重显著高于空白对照组 (P < 0.05、P < 0.01、P < 0.001)。提示该配比高脂饲料喂养可致大鼠体重显著增加, 雄性体重增速高于雌性。高胆固醇血症模型动物体重变化趋势结果见图 1C、图 1D, 两性别大鼠体重随造模时间推移而逐渐上升, 雌性体重于造模第 7 周因禁食后称量略微降低, 两性别大鼠高脂饲料喂养组与空白对照组比较, 体重均无显著差异 (P > 0.05), 提示该配比高脂饲料对大鼠体重作用不明显。



注: A: 混合型高脂血症雄性大鼠; B: 混合型高脂血症雌性大鼠; C: 高胆固醇血症雄性大鼠; D: 高胆固醇血症雌性大鼠。与空白对照组相比, *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001。

图 1 大鼠体重

Note. A, Male rats of mixed hyperlipidemia. B, Female rats of mixed hyperlipidemia. C, Male rats of hypercholesterolemia. D, Female rats of hypercholesterolemia. Compared with control group, *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001.

Figure 1 Weight of rats

2.3 摄食量及总食物利用率

混合型高脂血症模型动物摄食量趋势见图 2A、图 2B, 高脂饲料喂养组雄性大鼠摄食量自 3~8 周较空白对照组均有降低趋势, 其中 4~8 周摄食量显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$); 雌性大鼠 4~8 周较空白对照组有降低趋势, 其中第 5 周、第 8 周显著低于空白对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.001$)。高胆固醇血症模型动物摄食量趋势见图 2C、图 2D, 高脂饲料喂养组摄食量均高于空白对照组, 其中雄性大鼠摄食量在第 2 周显著升高 ($P < 0.001$), 雌性大鼠摄食量在 2~6 周显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.001$)。

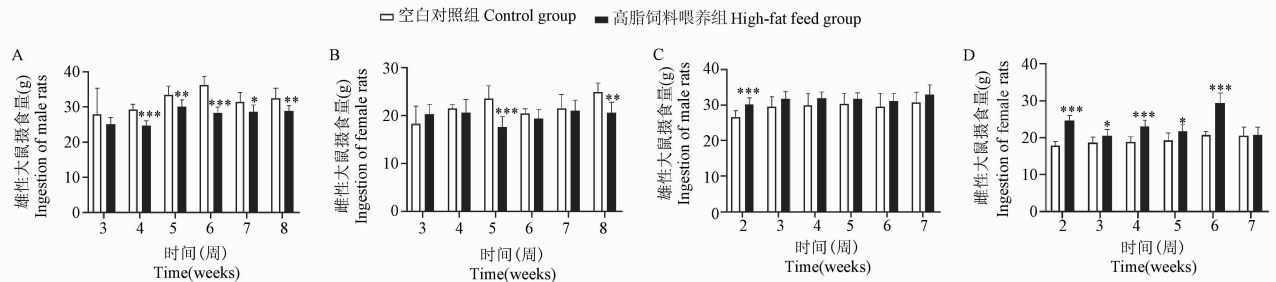
两模型大鼠总食物利用度见表 1, 混合型高脂血症模型高脂饲料喂养组总食物利用度均显著高于空白对照组 ($P < 0.001$), 高胆固醇血症模型高脂饲料喂养组总食物利用度与空白对照组比较无显著差异 ($P > 0.05$)。两模型中, 雌性大鼠饲料利用度均低于雄性大鼠。

2.4 血脂水平

混合型高脂血症模型血脂水平见图 3A~图 3C, 高脂饲料喂养组与空白对照组比较, 雄性大鼠在造模第 0 周, 各血脂指标均无显著差异 ($P > 0.05$), 造模第 2 周 TC、TG 水平显著升高 ($P < 0.01$, $P < 0.001$), 造模第 8 周, TC、TG、LDL-C 水平均显著升

高 ($P < 0.05$, $P < 0.001$), HDL-C 水平显著降低 ($P < 0.05$); 雌性大鼠在造模第 0 周各指标无显著差异 ($P > 0.05$), 第 2 周 TC 水平显著升高 ($P < 0.01$), 第 8 周 TC、TG、LDL-C 水平均显著升高 ($P < 0.001$), HDL-C 水平显著降低 ($P < 0.05$)。结果表明随机分组大鼠的血脂水平较为均匀, 该模型所用高脂饲料能够较好地升高大鼠的血脂水平, 于造模第 2 周升高 TC、TG 水平, 在第 8 周进一步对脂蛋白中的脂质水平产生影响。

高胆固醇血症模型血脂水平见图 3D~图 3F, 高胆固醇血症模型高脂饲料喂养组与空白对照组比较, 雄性大鼠在造模第 0 周各指标无显著差异 ($P > 0.05$); 造模第 1 周 TC、TG 水平均显著升高 ($P < 0.01$, $P < 0.001$), 造模第 7 周, TC 水平显著升高 ($P < 0.01$), TG 水平无显著差异 ($P > 0.05$), LDL-C、HDL-C 水平显著降低 ($P < 0.001$, $P < 0.01$); 雌性大鼠在造模第 0 周各指标无显著差异 ($P > 0.05$), 造模第 1 周 TC、TG 水平均显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.001$), 造模第 7 周 TC 水平显著升高 ($P < 0.05$), TG 水平无显著差异 ($P > 0.05$)。结果表明随机分组大鼠的血脂水平较为均匀, 该模型所用高脂饲料能够升高大鼠的 TC 水平。



注: A: 混合型高脂血症雄性大鼠; B: 混合型高脂血症雌性大鼠; C: 高胆固醇血症雄性大鼠; D: 高胆固醇血症雌性大鼠。与空白对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 2 大鼠摄食量

Note. A, Male rats of mixed hyperlipidemia. B, Female rats of mixed hyperlipidemia. C, Male rats of hypercholesterolemia. D, Female rats of hypercholesterolemia. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

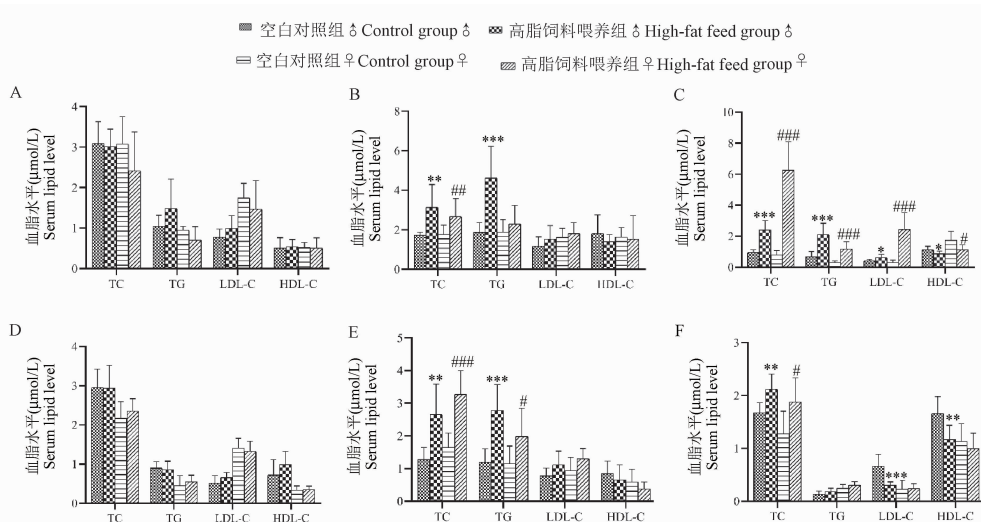
Figure 2 Ingestion of rats

表 1 大鼠总食物利用度
Table 1 Total food use of rats

组别 Groups	混合型高脂血症模型 Model of mixed hyperlipidemia		高胆固醇血症模型 Model of hypercholesterolemia	
	♂	♀	♂	♀
	空白对照组 Control group	11.26 ± 1.43	5.26 ± 1.85	12.04 ± 1.52
高脂饲料喂养组 High-fat feed group	17.39 ± 1.32***	9.56 ± 1.77***	12.17 ± 1.13	4.13 ± 2.62

注: 与空白对照组相比, *** $P < 0.001$ 。

Note. Compared with control group, *** $P < 0.001$.



注:A:混合型高脂血症模型第0周血脂水平;B:混合型高脂血症模型第2周血脂水平;C:混合型高脂血症模型第8周血脂水平;D:高胆固醇血症模型第0周血脂水平;E:高胆固醇血症模型第1周血脂水平;F:高胆固醇血症模型第8周血脂水平。与空白对照组雄性大鼠比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$;与空白对照组雌性大鼠比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$ 。

图3 大鼠血脂水平

Note. A, Serum lipid level of mixed hyperlipidemia model at week 0. B, Serum lipid level of mixed hyperlipidemia model at week 2. C, Serum lipid level of mixed hyperlipidemia model at week 8. D, Serum lipid level of hypercholesterolemia model at week 0. E, Serum lipid level of hypercholesterolemia model at week 1. F, Serum lipid level of hypercholesterolemia model at week 8. Compared with male rats in control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$. Compared with female rats in control group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$.

Figure 3 Serum lipid level of rats

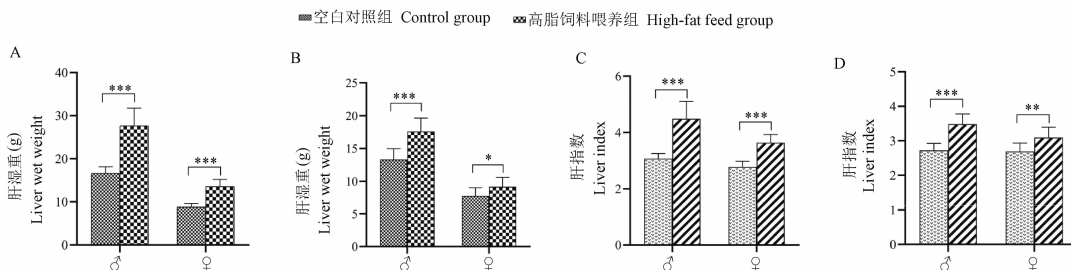
2.5 肝湿重、肝指数及组织病理学检查

肝外观检查可见,两模型空白对照组肝呈红褐色有光泽,触之富有弹性,边缘锐利;高脂饲料喂养组肝显土黄色,体积肥大,边缘较钝,触之似泥块,有油腻感。

两模型高脂饲料喂养组肝湿重和肝指数均显著高于空白对照组($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$, 结果见图4),提示两种配比的高脂饲料有可能造成模型动物肝病。

组织病理学检查结果见图5;两模型空白对照

组肝小叶结构完整,肝细胞形态规则,大小均匀,排列紧密。混合型高脂血症高脂饲料喂养组雄性大鼠肝细胞重度(Ⅳ级)脂肪变,脂肪变性程度占50%~80%,肝细胞肿大呈空泡状;雌性大鼠轻度(Ⅱ级)脂肪变,脂肪变性程度占15%~25%,肝细胞胞浆疏松呈泡沫状。高胆固醇血症高脂饲料喂养组雄性大鼠肝细胞肿胀,中度(Ⅲ级)脂肪变,脂肪变性程度占30%~35%;雌性大鼠肝细胞轻度(Ⅱ级)脂肪变性,脂肪变性程度占5%~10%。上述所有模型肝小叶显微观察均未见肝纤维化。

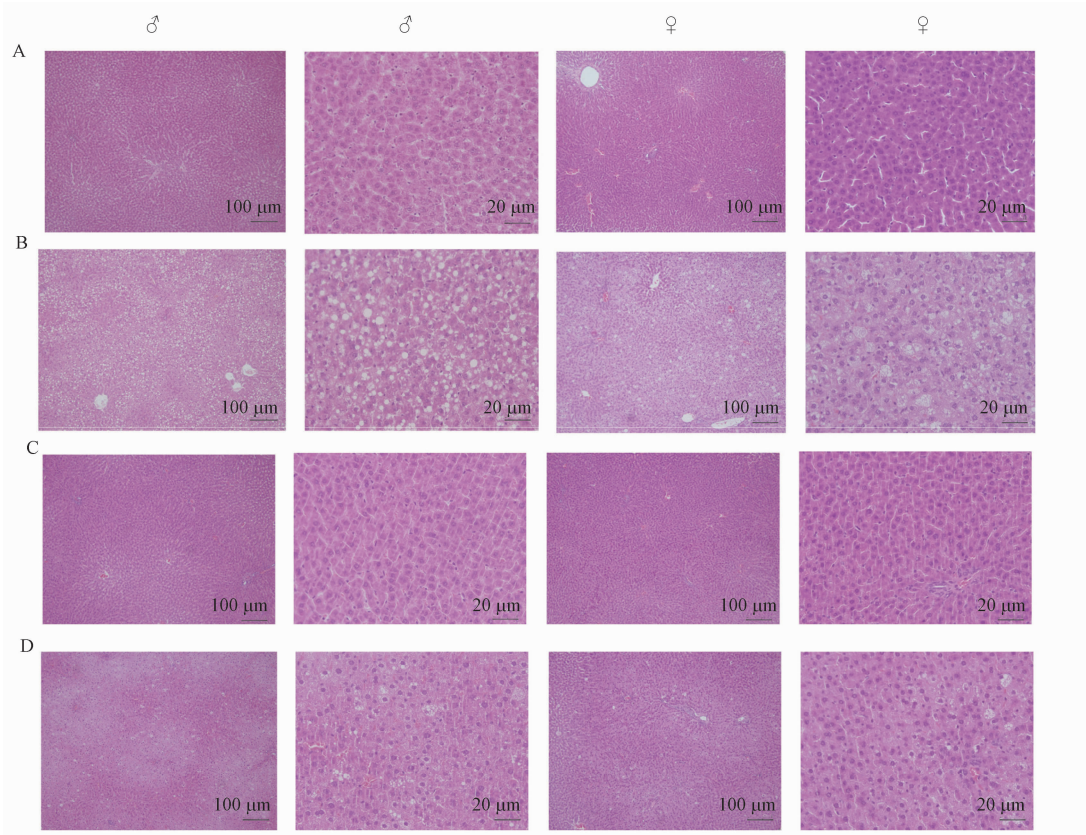


注:A:混合型高脂血症大鼠肝湿重;B:高胆固醇血症大鼠肝湿重;C:混合型高脂血症大鼠肝指数;D:高胆固醇血症大鼠肝指数。与空白对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

图4 大鼠肝湿重及肝指数

Note. A, Liver wet weight of mixed hyperlipidemia. B, Liver wet weight of hypercholesterolemia. C, Liver index of mixed hyperlipidemia. D, Liver index of hypercholesterolemia. Compared with control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

Figure 4 Liver wet weight and index of rats



注:A:混合型高脂血症空白对照组;B:混合型高脂血症高脂饲料喂养组;C:高胆固醇血症空白对照组;D:高胆固醇血症高脂饲料喂养组。

图 5 大鼠肝组织病理学检查结果

Note. A, Control group of mixed hyperlipidemia. B, High-fat feed group of mixed hyperlipidemia. C, Control group of hypercholesterolemia. D, High-fat feed group of hypercholesterolemia.

Figure 5 Histopathological examination of rat liver

3 讨论

外源性脂质摄入过多是高脂血症的常见病因之一。蔗糖是由一分子果糖和一分子葡萄糖脱水缩合而成,研究表明食用果糖后血脂水平变化最大的是 TG 的增加^[14],高糖饮食诱发的载脂蛋白 C₃ (ApoC₃) 表达能够降低脂蛋白脂肪酶 (lipoprotein lipase, LPL) 活性,从而影响乳糜微粒 (chylomicron, CM) 和极低密度脂蛋白 (very low-density lipoprotein, VLDL) 中 TG 的水解^[15],提高血液中的 TG 水平。猪油来源于动物脂肪,动物脂肪富含饱和脂肪酸,可提高 LDL-C 水平^[16]。饲料中添加胆固醇,增加外源性胆固醇的摄入从而扰乱机体中的胆固醇代谢平衡,升高血液中 TC 水平。胆酸钠能刺激肝细胞分泌胆汁,增加脂质的吸收,使血清中的 TC、TG、LDL-C 含量稳定在较高水平^[17]。本研究参考国家食品药品监督管理局发布“辅助降血脂评价方法”文件^[18]中推荐的高脂饲料配方,建

立了符合临床分型特点的高脂血症模型,其中,混合型高脂血症模型高脂饲料配方中含有蔗糖,提高了大鼠血清 TC、TG 水平;高胆固醇血症模型高脂饲料配方中除去蔗糖,并降低猪油和胆固醇含量,提高大鼠血清 TC 水平同时使 TG 水平保持不变,建立程度较轻的高脂血症模型。

本研究两模型高脂饲料喂养组各指标变化见表 2,与空白对照组比较,混合型高脂血症高脂饲料喂养组大鼠体重升高,摄食量降低,总食物利用度升高,血脂水平升高。高胆固醇血症高脂饲料喂养组大鼠虽摄食量有不同程度的增加,但体重未显著增加,提示其对相应配方高脂饲料吸收利用程度较低,故而排出稀软臭便,血脂水平升高,雄性大鼠造模第 8 周 LDL-C 水平降低,推测 LDL 将胆固醇从肝运输至其他组织,大鼠摄入大量外源性脂质在肝内蓄积,内源性胆固醇合成减少,导致 LDL 运输能力下降,LDL-C 含量降低。脏器指数是评价脏器病变情况的重要指标,其大小可敏感反映器官的功能强

弱和损伤情况^[12];两模型高脂饲料喂养组肝指数均显著升高,提示肝内有不同程度的损伤,混合型高脂血症高脂饲料喂养组大鼠肝脂肪病变程度更为严重。

两个模型的高脂饲料喂养组雌性总体血脂变化、肝脂肪变性程度均弱于雄性,认为是雌激素引起的性别差异:血脂方面,INSIG 是雌激素受体的驻留蛋白,可以通过诱导 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶的降解,阻断胆固醇合成酶以及 LDLR 的转录来降低胆固醇的水平^[19];肝病程度低于雄性认为是雌激素通过减少游离脂肪酸向肝的运输以及增加 VLDL 中 TG 的水平,减少肝中的脂质堆积^[20]。此外,有研究表明,雌性动物的肝在禁食后将可用来源以脂质形式储存利用,这种雌性特征在发情期更为明显,雌性需要胆固醇来启动类固醇生成,为排卵储存能量^[21];故混合型高脂血症高脂饲料喂养组第 8 周雌性动物 TC 及 LDL-C 水平高于雄性,推测是由于此阶段雌性大鼠胆固醇大量积累使血清中脂质升高。

根据上述模型特点,建议对治疗混合型高脂血症药物进行研究时,可在造模第 2 周结束时给予药

物干预,长期给药实验可给予高脂饲料喂养至第 8 周,高脂饲料喂养组仍能保持较高血脂水平;进行治疗高胆固醇血症药物的研究时,高脂饲料可喂养至第 7 周。此外,高脂饲料因含有蔗糖、猪油等成分,易使动物产生饱腹感,室温放置过久易变软腻、有异味,出现动物厌食情况^[22],本研究将高脂饲料储存于冰箱中,每次放置室温后使用,适量多次添加,动物适应性良好,摄食量维持在稳定水平,无厌食情况,建议低温储存高脂饲料,少量多次给予动物。

通常情况下,研究者更倾向于选择雄性动物进行研究,因雌性动物受动情周期的影响,一些指标会受激素的波动而改变,从而使相关疾病复制模型不稳定。但值得注意的是,临床研究表明女性患糖尿病引发冠状动脉粥样硬化性心脏病的风险是男性的 1~2 倍,在 65 岁以上的女性中,血脂异常也可能使女性面临比男性更大的风险,一些与心血管疾病相关的作用靶点也被证明具有激素依赖性^[23];此外,女性发生药物不良反应的概率也更高,泌尿生殖系统、性激素、抗肿瘤药物中女性的药物不良反应发生率高于男性^[24]。性别差异对患病率和药物

表 2 两模型高脂饲料喂养组指标变化
Table 2 changes in indexes in the high-fat feed diet group in two models

组别 Group	体重 Weight	摄食量 Ingestion	总食物 利用度 Total food use	血脂水平 Serum lipid level	肝湿重及 肝指数 Liver wet weight and index	肝组织脂肪 变性程度 Degree of hepatic tissue steatosis
混合型高脂血症高脂饲料喂养组 ♂ Mixed hyperlipidemia high-fat feed feeding group ♂	第 3 周起 ↑ From the 3 rd week onwards ↑	第 3 周起 ↓ From the 3 rd week onwards ↓	↑	第 2 周 TC、TG ↑ 第 8 周 TC、TG、LDL-C ↑ HDL-C ↓ TC、TG ↑ on the 2 nd week TC、TG、LDL-C ↑ HDL-C ↓ on the 8 th week	↑	50%~80% (IV)
混合型高脂血症高脂饲料喂养组 ♀ Mixed hyperlipidemia high-fat feed feeding group ♀	第 2 周起 ↑ From the 2 nd week onwards ↑	第 4 周起 ↓ From the 4 th week onwards ↓	↑	第 2 周 TC ↑ 第 8 周 TC、TG、LDL-C ↑ HDL-C ↓ TC ↑ on the 2 nd week TC、TG、LDL-C ↑ HDL-C ↓ on the 8 th week	↑	15%~25% (II)
高胆固醇血症高脂饲料喂养组 ♂ Hypercholesterolemic high-fat diet feeding group ♂	-	第 2 周起 ↑ From the 2 nd week onwards ↑	-	第 1 周 TC、TG ↑ 第 7 周 TC ↑ TG-、LDL-C、HDL-C ↓ TC、TG ↑ on the 1 st week TC ↑ TG-、LDL-C、HDL-C ↓ on the 7 th week	↑	30%~35% (III)
高胆固醇血症高脂饲料喂养组 ♀ Hypercholesterolemic high-fat diet feeding group ♀	-	第 2 周起 ↑ From the 2 nd week onwards ↑	-	第 1 周 TC、TG ↑ 第 7 周 TC ↑ TG- TC、TG ↑ on the 1 st week TC ↑ TG- on the 7 th week	↑	5%~10% (II)

注:与空白对照组相比,↑表示显著升高,↓表示显著降低,-表示无显著差异。

Note. Compared with the control group, ↑ indicates a significant increase, ↓ indicates a significant decrease, - indicates no significant difference.

的作用与毒性具有一定的影响,美国国立卫生研究院也呼吁应考虑到性别差异,对雌性动物展开研究^[25]。故建议在初探药物疗效时可用雄性动物,更深层次探讨药物作用特点及作用机制时应进行雌雄双性别的动物实验。

随着生活节奏的加快,高脂高糖的快餐式饮食模式日益增多,高脂血症也成为普遍的疾病之一,对高脂血症的发病机制及治疗药物的药效及机制研究依赖与人类疾病分型特点一致的动物模型的成功复制。本研究用两种不同配方的高脂饲料喂养 SD 大鼠,成功建立了混合型高脂血症和高胆固醇血症雌雄双性别的大鼠模型,两个模型在体重、摄食量、血脂水平、肝组织病理方面均各有特点,可应用于降血脂药物尤其是相关新药的研发,其中混合型高脂血症大鼠模型用于初筛降脂机制尚未明确的新药药效,主要考察其对 TC、TG 的作用,高胆固醇血症模型用于进一步研究降胆固醇药效明确的药物的作用特点。

参考文献:

[1] 王小刚,赵娟,李悦,等. 高脂血症发病机制及治疗研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(12): 196-200.

[2] 左丽婷,陈建,张海蓉. 高脂血症性胰腺炎的研究进展[J]. 中国全科医学, 2017, 20(9): 1141-1146.

[3] 耿秀超,张雨豪,景佳星,等. 中药有效成分对血脂异常作用机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(20): 213-220.

[4] Nelson RH. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease [J]. Prim Care, 2013, 40(1): 195-211.

[5] 诸骏仁,高润霖,赵水平,等. 中国成人血脂异常防治指南(2016年修订版)[J]. 中华心血管病杂志, 2016, 44(10): 833-853.

[6] Hieronimus B, Stanhope KL. Dietary fructose and dyslipidemia: new mechanisms involving apolipoprotein CIII [J]. Curr Opin Lipidol, 2020, 31(1): 20-26.

[7] 胡慧明,朱彦陈,朱巧巧,等. 实验性高脂血症动物模型比较分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(20): 3709-3714.

[8] 王成,胡乃华,余琳媛,等. 降脂模型研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(4): 121-130.

[9] De Marinis E, Martini C, Trentalancia A, et al. Sex differences in hepatic regulation of cholesterol homeostasis [J]. J Endocrinol, 2008, 198(3): 635-643.

[10] Morselli E, Frank AP, Santos RS, et al. Sex and gender: critical variables in pre-clinical and clinical medical research [J]. Cell Metab, 2016, 24(2): 203-209.

[11] 国家食品药品监督管理局. 国食药监注[2013]17号关于印发天然药物新药研究技术要求的通知[Z]. 2013-01-18.

[12] 郑立新,董鹏,吴玉平,等. 2种不同配方饲料构建高脂血症合并脂肪肝模型的实验研究[J]. 广州中医药大学学报, 2022, 39(3): 657-663.

[13] 陈奇,张柏礼. 中药药效研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社; 2016.

[14] 赵水平,张大庆,赵旺. 中国血脂学[M]. 长沙:湖南科学技术出版社; 2019.

[15] Yan H, Niimi M, Matsuhisa F, et al. Apolipoprotein CIII deficiency protects against atherosclerosis in knockout rabbits [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2020, 40(9): 2095-2107.

[16] Trautwein EA, McKay S. The role of specific components of a plant-based diet in management of dyslipidemia and the impact on cardiovascular risk [J]. Nutrients, 2020, 12(9): 2671.

[17] 吴翔,韦伟标,刘少斌. 高脂血症大鼠模型4种造模方法的筛选及优化[J]. 动物医学进展, 2013, 34(9): 75-78.

[18] 国家食品药品监督管理局. 国食药监保化[2012]107号关于印发抗氧化功能评价方法等9个保健功能评价方法的通知附件6. 辅助降血脂评价方法[Z]. 2012-04-23.

[19] Martini C, Pallottini V. Cholesterol: from feeding to gene regulation [J]. Genes Nutr, 2007, 2(2): 181-193.

[20] Palmisano BT, Zhu L, Stafford JM. Role of estrogens in the regulation of liver lipid metabolism [J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 1043: 227-256.

[21] Della Torre S, Mitro N, Meda C, et al. Short-term fasting reveals amino acid metabolism as a major sex-discriminating factor in the liver [J]. Cell Metab, 2018, 28(2): 256-267.

[22] 孙赫,梁桂洪,林勇凯,等. 高脂血症大鼠模型几种造模方法的筛选及优化[J]. 动物医学进展, 2014, 35(10): 89-93.

[23] Franconi F, Brunelleschi S, Steardo L, et al. Gender differences in drug responses [J]. Pharmacol Res, 2007, 55(2): 81-95.

[24] Montastruc JL, Lapeyre-Mestre M, Bagheri H, et al. Gender differences in adverse drug reactions: analysis of spontaneous reports to a regional pharmacovigilance centre in france [J]. Fundam Clin Pharmacol, 2002, 16(5): 343-346.

[25] Clayton JA, Collins FS. Policy: NIH to balance sex in cell and animal studies [J]. Nature, 2014, 509(7500): 282-283.

[收稿日期]2022-07-04