

朱道仙, 卢 炜, 刘 静, 等. 3 种犬肥胖症造模方法的比较[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(12): 251–253.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.080

3 种犬肥胖症造模方法的比较

朱道仙, 卢 炜, 刘 静, 卢劲晔, 陆 江

(江苏农牧科技职业学院, 江苏泰州 225300)

摘要:比较犬肥胖症不同造模方法, 为犬肥胖症发病机理及新药开发研究提供依据, 将 20 只雌性成年中华田园犬, 随机平分为高脂饲料组(HF 组)、双侧卵巢摘除组(OV 组)、谷氨酸钠注射组(SG 组)、基础日粮对照组(C 组), 试验结束后测定相关肥胖指标。结果表明, HF 组、OV 组、SG 组犬的皮下脂肪厚度明显增加, 显著高于试验前和 C 组; 体质量和 Lee's 指数增加显著, 与试验前和 C 组差异显著, 平均体质量增长幅度均大于 40%; 3 组犬的血脂代谢指标变化较大, 与试验前和 C 组差异显著, 表现为甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)含量升高, 高密度脂蛋白(HDL)浓度降低; 血清瘦素浓度大幅升高, 与试验前和 C 组有差异。表明 3 种方法均出现了肥胖症状和脂肪代谢紊乱变化, 造模成功。

关键词:犬; 肥胖症; 动物模型; 造模方法

中图分类号: S858.292 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)12-0251-02

宠物犬作为现在家庭里的伴侣成员, 其健康越来越受到人们的关注。根据世界各地兽医的观察, 超重或肥胖宠物犬数量越来越多, 由肥胖直接导致的疾病逐年增加, 已经成为危害宠物健康的重要因素^[1]。研究预防和治疗犬肥胖的方法是现代兽医临床的一个发展趋势, 而肥胖症动物模型是研究肥胖发病机制与减肥药的主要工具。目前, 肥胖动物模型研究主要集中在小鼠和大鼠, 有关犬的肥胖模型报道较少, 本试验结合宠物临床需要, 研究了 3 种犬肥胖症的造模方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器设备与试剂 外科手术器械及电子天平购自上海康美医疗器械有限公司, LD-10 离心机为北京医用离心机厂生产, M149928-全自动干式生化分析仪为北京中西远大科技有限公司生产, 皮脂厚度计为上海益艺联科教设备有限公司生产, 血脂检测试剂盒购于南京建成科技有限公司, 犬瘦素测定试剂盒购于美国 ADL 公司, 1 次性采血管及 1 次性试管等、速眠新等由泰爱牧宠物医院提供, 自制高脂饲料。

1.1.2 试验动物 20 只成年中华田园犬, 雌性、1~4 岁, 购于江苏省宠物繁育中心, 饲养条件为温度(25±3)℃, 湿度 60%~80%, 自由饮食, 自由运动。

1.2 方法

1.2.1 分组 将 20 只犬适应性饲养 2 周后, 随机平分为以下 4 组: 高脂饲料组(HF 组)、双侧卵巢摘除组(OV 组)、谷氨酸钠注射组(SG 组)、基础日粮对照组(C 组)。

1.2.2 动物模型建立

1.2.2.1 高脂饲料模型 按 70% 基础日粮、15% 猪油、10% 蛋黄粉、5% 奶粉的比例配制高脂饲料, 在配制过程中滴加少

量的鱼肝油, 饲料配好后用塑料袋密封包装。然后每天按 300 g/只饲喂 60 d。

1.2.2.2 双侧卵巢摘除模型^[2] 犬术前 15min 对犬用 0.1 mg/kg 的速眠新进行麻醉, 在脐部与耻骨前缘间腹中线常规操作开打腹腔, 牵引出双侧卵巢并摘除, 常规处理切口后闭合腹腔, 缝合皮肤, 术后常规护理 7 d, 然后常规饲喂 60 d。

1.2.2.3 谷氨酸钠注射模型 该组犬用 L-谷氨酸钠按 500 mg/kg 体质量皮下注射, 连续 10 d, 试验期间常规饲喂。

1.2.2.4 基础日粮模型 本组犬不行任何干预, 常规饲喂 60 d, 自由摄食和饮水。

1.3 检测指标

1.3.1 临床检查 检查各犬的肋骨突出情况和皮下脂肪厚度。肋骨突出情况判断标准: 肋骨完全被厚的脂肪覆盖, 很难摸到, 用“+++”表示; 肋骨被脂肪覆盖, 用力可摸到, 用“++”表示; 肋骨表面被少量脂肪覆盖, 用“+”表示。用皮脂计测量犬背部皮下脂肪厚度。

1.3.2 体质量测定 测量各组犬试验前体质量和试验后体质量(kg), 并测量鼻肛体长。计算平均体质量、平均体质量增长幅度和 Lee's 指数。平均体质量 = 每组犬的总体质量/总只数; 平均体质量增长幅度 = (待测定平均体质量 - 试验前平均体质量)/试验前平均体质量 × 100%; Lee's 指数 = [体质量(g)]^{1/3} × 10³/鼻肛体长(cm)。

1.3.3 血脂代谢指标测定 各组犬试验前、试验后分别头静脉采血, 分离血清, 测定血清中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)的含量。

1.3.4 血清瘦素含量测定 采用酶联免疫吸附分析法(ELISA)测定犬试验前、试验后的血清瘦素的含量, 试剂盒购于美国 ADL 公司, 指标测定严格按照试剂盒说明书操作。

1.4 数据处理

所有数据用 SPSS 17.0 软件单因素方差分析方法(ANOVA)进行组间差异的统计学分析, 各组数据均以“平均值 ± 标准差”表示。并用 Excel 2003 制作统计图表。

收稿日期: 2014-12-03

基金项目: 江苏农牧科技职业学院校级课题(编号: NSFYB1405)。

作者简介: 朱道仙(1978—), 女, 安徽寿县人, 硕士, 讲师, 主要从事小动物疾病防治。E-mail: vetlj@163.com。

2 结果与分析

2.1 临床检查结果

肋骨显现检查结果见表 1:在试验前各组犬的肋骨轻微突出,表面覆盖少量的脂肪,发育良好;试验后 HF 组和 SG 组犬的肋骨完全被厚的脂肪覆盖,很难摸到,OV 组犬的肋骨亦被大量脂肪覆盖,显现不明显,而 C 组与试验前相比变化不明显。

表 1 不同处理试验前后肋骨显现状况比较		
组别	试验前	试验后
C 组	+	+
HF 组	+	+++
OV 组	+	++
SG 组	+	+++

注:肋骨显现状况判断标准见前文“1.3.1”节。

皮下脂肪厚度测定结果见图 1:3 种造模方法都不同程度增加了皮下脂肪厚度,与试验前比较差异显著,与 C 组比较差异显著。

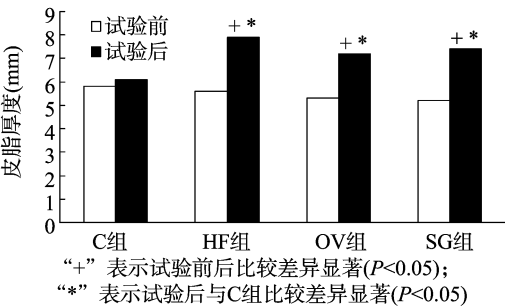


图1 不同处理试验前后皮脂厚度比较

2.2 体质量变化

体质量是反映犬肥胖的最直接指标,体质量超过正常体

质量的 15%即为肥胖。由表 2、图 2 可见,3 组造模犬的体质量明显增加, Lee’s 指数增高,显著高于 C 组,与试验前比较差异显著;体质量增长幅度显著高于 C 组, HF 组和 SG 组的体质量增长幅度甚至超过 50%,表明 3 种方法都能在短期内迅速增加犬的体质量。

表 2 不同处理的体质量指标变化比较

组别	平均体质量(kg)		Lee’s 指数	
	试验前	试验后	试验前	试验后
C 组	11.3±1.30	13.4±1.42	334.9±11.2	354.5±13.3
HF 组	12.5±1.26	18.8 ^{Δ*} ±2.11	341.3±13.0	391.0 ^{Δ*} ±15.5
OV 组	11.7±1.41	16.5 ^{Δ*} ±1.59	354.7±15.3	397.8 ^{Δ*} ±18.1
SG 组	10.9±1.18	17.2 ^{Δ*} ±1.76	346.4±12.6	403.3 ^{Δ*} ±16.8

注:“Δ”表示与试验前比较差异显著($P<0.05$),“*”表示与同列 C 组比较差异显著($P<0.05$)。表 3、表 4 同。

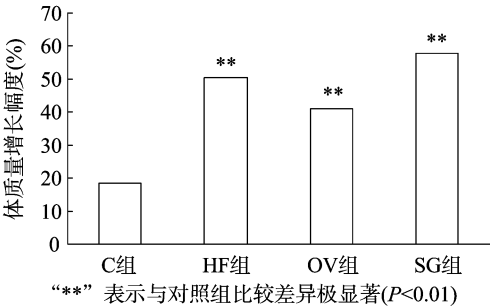


图2 不同处理体重增长幅度变化比较

2.3 血脂指标变化

从表 3 看出,试验后 HF 组、OV 组、SG 组的 TG、TC、LDL 浓度明显升高,显著高于 C 组与试验前;而 HDL 浓度明显低于 C 组和试验前。表明 3 种造模方法都有增高血脂作用。

2.4 血清瘦素水平

从表 4 可以看出, HF 组、OV 组、SG 组的血清瘦素水平都有不同程度升高,与 C 组及试验前比较差异显著。

表 3 不同处理试验前后血脂代谢指标变化

组别	血脂指标 (mmol/L)							
	TG 浓度		TC 浓度		LDL 浓度		HDL 浓度	
	试验前	试验后	试验前	试验后	试验前	试验后	试验前	试验后
C 组	1.52±0.21	1.60±0.18	3.65±0.42	3.82±0.38	0.53±0.12	0.62±0.14	2.01±0.25	1.86±0.21
HF 组	1.44±0.14	2.47 ^{Δ*} ±0.22	3.87±0.35	5.94 ^{Δ*} ±0.62	0.47±0.15	1.56 ^{Δ*} ±0.33	1.94±0.22	1.08 ^{Δ*} ±0.14
OV 组	1.66±0.17	2.28 ^{Δ*} ±0.26	3.51±0.37	5.17 ^{Δ*} ±0.53	0.42±0.08	1.27 ^{Δ*} ±0.26	2.13±0.18	1.14 ^{Δ*} ±0.19
SG 组	1.50±0.19	2.24 ^{Δ*} ±0.20	3.83±0.44	5.55 ^{Δ*} ±0.59	0.59±0.16	1.44 ^{Δ*} ±0.30	1.88±0.21	0.99 ^{Δ*} ±0.12

表 4 不同处理血清瘦素水平变化比较

组别	血清瘦素 (ng/mL)	
	试验前	试验后
C 组	20.4±2.12	21.6±2.04
HF 组	20.7±2.64	26.5 ^{Δ*} ±4.22
OV 组	19.6±2.86	25.3 ^{Δ*} ±2.53
SG 组	19.8±2.21	25.0 ^{Δ*} ±2.30

3 讨论

肥胖动物模型是研究肥胖发病机制与减肥药的主要工具。目前,常用的动物肥胖模型有食物性、下丘脑性、内分泌性和遗传性等所诱导形成,这些模型代表了不同的形成机制。本试验中 3 种造模方法均使犬的皮下脂肪厚度、体质量有所增加,出现高血甘油三酯和高胆固醇,并伴有 LDL 升高及

HDL 降低等,与 C 组差异显著。表明 3 种方法均能诱导犬肥胖症的发生。

研究表明,在肥胖症发生过程中瘦素扮演重要的角色。瘦素是一种脂肪组织源激素,受 ob 基因控制,通过与中枢神经系统的瘦素受体结合,影响神经肽 Y NPY 的合成和释放,从而引起食欲减退和体质量降低^[3]。血清中瘦素通过血脑屏障进入脑内是其发挥作用的重要环节,本试验中肥胖哺乳动物血清中的瘦素浓度均过高,这可能与瘦素转运障碍有关。3 种造模方法均使犬的血清中瘦素浓度显著增加,与 C 组差异显著,出现了瘦素抵抗。

根据宠物临床疾病调查^[4],犬发生肥胖的主要原因有能量过剩、绝育或去势、内分泌紊乱、遗传因素及运动因素等。本试验选取的 3 种造模方法符合临床研究需求,为研究犬肥

韩 丹,郭立泉. 葎草多糖对 *D*-半乳糖诱导小鼠模型的抗衰老作用[J]. 江苏农业科学,2015,43(12):253-255.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.081

葎草多糖对 *D*-半乳糖诱导小鼠模型的抗衰老作用

韩 丹,郭立泉

(吉林工商学院生物工程学院,长春吉林 130507)

摘要:为探讨葎草多糖(PHS)的抗衰老作用,将 60 只小鼠分为 5 组,分别是正常组,模型组,PHS 低、中、高剂量组,正常组每天颈部皮下注射 0.5 mL 生理盐水,其余各组每天均注射等量 5% *D*-半乳糖溶液,连续 6 周;与此同时,正常组与模型组每天灌胃 2.0 mL 蒸馏水;PHS 各组每天分别灌胃 50、100、200 mg/kg bw 的 PHS。末次灌胃结束后,测定小鼠血清、肝、脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、过氧化氢酶(CAT)的活性以及丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)的含量。结果表明,PHS 能显著增强小鼠血清、肝、脑组织中 SOD、GPx、CAT 的活性,降低 MDA、NO 含量。PHS 具有良好的抗衰老作用。

关键词:葎草多糖;*D*-半乳糖;抗衰老;超氧化物歧化酶;谷胱甘肽过氧化物酶;过氧化氢酶;丙二醛;一氧化氮

中图分类号:R285.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)12-0253-03

葎草 [*Humulus scandens* (Lour.) Merr.] 别称勒草、淫萝蔓、拉拉秧、五爪龙等,为桑科葎草属多年生植物,广泛分布于我国除新疆、青海、西藏外其他各省(市、区),为常见杂草,其嫩茎和叶可作食草动物饲料。同时,葎草也是我国重要的中药材,其味甘苦、寒、无毒,具有清热解毒,利尿消肿之功效^[1]。现代药理学研究证实,葎草提取物具有抗氧化、抗菌、抗炎、抗肿瘤、降压、镇痛等作用^[2]。葎草中含有多糖、黄酮类化合物、胆碱、天门冬酰胺、挥发油、鞣质等多种活性物质^[3]。目前对于葎草的活性研究多集中在黄酮化合物上,关于葎草多糖的生物活性相关文献报道不多,已发现葎草多糖具有抗氧化作用,对羟自由基和超氧阴离子自由基均具有良好的清除能力^[4]。相关研究已经证实,自由基在衰老的发生、发展过程中起重要的作用。机体在衰老过程中会产生大量的自由基,当自由基的产生超过机体自身抗氧化防御能力就会产生氧化应激,过量的自由基能够损伤 DNA、蛋白质、核酸等大分子物质,引起生物膜发生损伤,最终导致细胞功能严重受损以致衰老、死亡^[5]。外源性的抗氧化剂能有效清除自

由基,阻止氧化应激的出现,延缓机体衰老的出现^[6]。因此,本研究在前期已研究葎草多糖(PHS)提取工艺基础上,采用 *D*-半乳糖诱导小鼠衰老模型,观察葎草多糖灌胃后的抗衰老作用,探讨其可能的作用机制,这为进一步开发利用葎草资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

葎草采自吉林工商学院周边农田,去掉根部及枯黄部分,清洗干净后于 60 ℃ 下干燥 8 h,粉碎后过 60 目筛备用。*D*-半乳糖、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、过氧化氢酶(CAT)的活性及丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)的含量的测定试剂盒等均购于南京建成生物工程研究所。

1.2 提取葎草多糖

将粉碎后葎草按 1 g : 5 mL 料液比加入石油醚,回流脱脂 2 次,每次 1.5 h,滤去石油醚,滤渣挥干后获预处理葎草粉末。将预处理后的葎草粉末按 1 g : 34 mL 料液比加入水中浸泡 2 h,然后置于超声波清洗器中,在固定超声频率 40 kHz 条件下,按超声功率 134 W、超声温度 61 ℃、超声时间 49 min 进行提取。提取结束后过滤,用旋转蒸发仪将滤液浓缩到适当体积,加 3 倍体积的 95% 乙醇醇沉 24 h,离心烘干至恒质量。采用 Sevage 的方法除去蛋白质,离心,取上清液浓缩,加 3 倍体积的 95% 乙醇醇沉,所得沉淀用乙醇、丙酮、乙醚反复洗涤,真空烘干后得到葎草多糖(PHS)。

收稿日期:2015-06-20

基金项目:吉林省教育厅资助项目(编号:2014441);吉林省科技厅青年基金资助项目(编号:20140520145JH);博士后科研项目启动项目(编号:415-111900167)。

作者简介:韩 丹(1982—),女,吉林长春人,硕士,讲师,主要从事生物化学及分子生物学方面研究。E-mail:jlqshandan@163.com。
通信作者:郭立泉,博士,教授,主要从事生物工程领域方面研究。
E-mail:guolq948@163.com。

胖症发病机理,开发不同作用靶点的新型减肥药物提供了良好模型。

参考文献:

- [1] Scopinaro N, Gianetta E, Adami G F, et al. Biliopancreatic diversion for obesity at eighteen years[J]. Surgery, 1996, 119(3): 261-268.
- [2] 陆 江,朱道仙,刘 静,等. 绝育手术对雌性 Beagle 犬血脂代谢

及抗氧化能力的影响[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(2): 179-181.

- [3] Oztekin M G, Erel S, Kismet K, et al. Use of serum leptin levels for determination of nutritional status and the effects of different enteral nutrients on intestinal mucosa after minor surgery: an experimental study[J]. International Journal of Surgery, 2007, 5(5): 336-341.
- [4] 夏兆飞,王雪岭,陈江楠,等. 犬肥胖症调查[J]. 中国兽医杂志, 2011, 47(9): 59-61.