

• 基础实验研究论著 •

禁食对 SPF 级 SD 大鼠血液指标的影响*

热比姑丽·伊斯拉木,尤力都孜·艾买提,阿娜古丽·马合木提,买合素提·卡德尔,闫明[△]

(1. 新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所药物安全性评价中心,新疆乌鲁木齐 830049;

2. 新疆维吾尔自治区方剂学实验室,新疆乌鲁木齐 830049)

摘要:目的 探讨禁食对大鼠血生化、血细胞、电解质及凝血指标的影响。方法 选择 40 只 SPF 级 SD 大鼠,适应性饲养 90 d,第 91 天禁食、不禁食条件下,检测血液中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、肌酸激酶(CK)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、总胆固醇(T-CHO)、三酰甘油(TG)、葡萄糖(GLU)、肌酐(Crea)、总胆红素(TBIL)、尿素氮(BUN)、红细胞计数(RBC)及其分类、白细胞计数(WBC)及其分类、血小板计数(PLT)、钾离子浓度(K⁺)、钠离子浓度(Na⁺)、氯离子浓度(Cl⁻)、凝血酶原时间(PT)进行测定。结果 禁食组雄性 TG、CHO 降低,TBIL、TP、ALB、WBC、Na⁺ 升高($P<0.01$, $P<0.05$);禁食组雌性 TG、MCHC 降低,TBIL、ALB、Na⁺ 升高($P<0.01$, $P<0.05$)。结论 禁食对 SPF 级 SD 大鼠血液指标有不同程度的影响。

关键词:禁食; 大鼠, Sprague Dawley; 血液化学分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.005

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)19-2507-03

Effects of fasting on blood parameters of SPF SD rats*

Rabigul · Islam, Yultuz · Mamat, Anargul · Mahmut, Mahsut · Kadir, Yan Ming[△]

(1. Center for Evaluation of Drug safety of Xinjiang Institute of Traditional Uyghur Medicine, Urumqi,

Xinjiang 830049, China; 2. Prescription of Xinjiang Traditional Uyghur Medicine, Urumqi, Xinjiang 830049, China)

Abstract: Objective To explore the effects of fasting on blood biochemistry, blood cells, blood electrolyte and and plasma prothrombin time of SPF SD Rats. Methods forty SPF SD Rats were selected, and Adaptive breeding for 90 d, and then detected Serum alanine transaminase(ALT), aspartate transaminase(AST), Alkaline phosphatase(ALP), Creatine kinase(CK), Total protein(TP), Albumin, Total cholesterol(CHO), Triglycerides(TG), Glucose(GLU), Creatinine(Crea), Total bilirubin(TBIL), Urea nitrogen(BUN), Red blood cell count(RBC) and its classification, White blood cell count(WBC) and its classification, The platelet count(PLT), The electrolyte ion concentration(K⁺, Na⁺, Cl⁻), Prothrombin time(PT) on the 91 d. Results on the fasting group(♂): TG, CHO levels were decreased and TBIL, TP, ALB, WBC, Na⁺ levels were increased in serum($P<0.01$, $P<0.05$); on the fasting group(♀): TG, MCHC levels were decreased and TBIL, ALB, Na⁺ levels were increased in serum($P<0.01$, $P<0.05$). Conclusion fasting can have different degree of influence on blood parameters of SPF SD Rats.

Key words: fasting; rats, sprague-dawley; blood chemical analysis

自 2003 年 8 月新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所药物安全性评价中心动物实验室通过国家动管会及自治区科技厅 SPF 级认证,并取得了实验动物使用许可证,经过多年的积累,已形成了一定规模的实验动物饲养环境,一定素质的动物实验科研队伍。目前,主要服务于本地区维吾尔药物的临床前安全性评价研究。本文主要阐述禁食应激条件下 SPF 级 SD 大鼠血液指标变化,为规范我区实验操作提供依据。

1 材料与方

1.1 实验动物 SPF 级 SD 大鼠(6~8 周龄)40 只,雌雄各半,体质量 180~220 g,由新疆实验动物中心提供,实验动物生产许可证:SCXK(新)2011-0001,新疆维吾尔自治区科学技术厅颁发。

1.2 饲养条件与环境 SPF 级 SD 大鼠饲养于新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所药物安全性评价中心屏障环境动物实验室,实验动物使用许可证 SYXK(新)2011~0006,新疆维吾尔自治区科学技术厅颁发,温度(℃):20~26,相对湿度(%):40~70,噪声(dB)≤60,照度(lx)≥200,昼夜明暗交替时间:12

h/12 h。

1.3 饲料、垫料及饮用水 饲料是北京科澳协力饲料有限公司生产的 SPF 鼠繁殖饲料,紫外消毒后使用;垫料是新疆实验动物中心提供的木屑垫料,饮用水来自纯化水,后者均经过高温高压灭菌后使用。

1.4 检测仪器与试剂 PM4000/3 全自动生化分析仪购于意大利罗马,BC300 全血细胞分析仪购于深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,HK2003 电解质分析仪购于郑州市汇科电子有限公司,SZZ 血凝分析仪购于深圳市鹏瑞佳电子有限公司,TGL-16G 冷冻离心机购于上海安亭科学仪器厂,血生化学、血细胞、电解质及凝血酶原时间试剂盒均购自中生北控生物科技股份有限公司。

1.5 血液指标检测 将 SPF 级 SD 大鼠,按性别、体质量随机分为两组,分别为:禁食组、不禁食组,每组 20 只,雌雄各半,在本所安评中心屏障环境下适应性饲养 90 d。第 91 天,禁食组:大鼠禁食不禁水 12 h,不禁食组:大鼠自由饮食、饮水 12 h。动物用乙醚麻醉,腹主动脉采血,TGL-16G 离心机分离血清。使

* 基金项目:2013 年自治区公益性科研院所项目(KY2013102)。 作者简介:热比姑丽·伊斯拉木,女,维吾尔族,硕士,主要从事维药药理及安全性评价研究工作。 [△] 通讯作者,E-mail:yanming21cn@sohu.com。

用 PM4000/3 全自动生化分析仪,以连续监测法测定丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、肌酸激酶(CK);双缩脲法测定总蛋白(TP);溴甲酚绿法测定清蛋白(ALB);酶比色法测定总胆固醇(T-CHO)、三酰甘油(TG),葡萄糖氧化酶法测定血糖(GLU);苦味酸法测定肌酐(Crea);重氮法测定总胆红素(TBIL);酶两点动力法测定尿素氮(BUN)。BC300 全血细胞分析仪,以电阻抗法测定红细胞计数(RBC)及其分类、白细胞计数(WBC)及其分类、血小板计数(PLT)。HK2003 电解质分析仪,以电位法测定血清钾离

子浓度(K⁺)、钠离子浓度(Na⁺)、氯离子浓度(Cl⁻)。SZZ 凝血分析仪,以光学法测定凝血酶原时间(PT)。

1.6 统计学处理 采用四川大学华西公共卫生学院卫生统计学教研室研制的 PEMS3.1 医学统计软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血液生化指标变化 见表 1。

2.2 血液细胞指标变化 见表 2。

2.2 血凝、电解质指标变化 见表 3。

表 1 SD 大鼠饲养 90 天后禁食、不禁食情况下血液生化比较($\bar{x}\pm s,n=10$)

指标	禁食		不禁食	
	雄性	雌性	雄性	雌性
AST(U/L)	128.40±30.46	99.30±15.87*	122.00±38.62	81.30±18.89
ALT(U/L)	62.40±11.97	54.40±8.42	55.80±14.45	60.70±12.48
ALP(U/L)	166.20±36.83*	85.50±25.89	239.40±72.25	108.40±26.62
GLU(mmol/L)	10.43±1.11	10.22±0.78	10.51±1.4768	10.22±0.96
CK(U/L)	518.80±227.72	249.40±108.67	492.20±331.06	335.90±156.00
TBI(mg/L)	5.11±1.27*	5.48±0.53**	4.10±0.61	4.33±0.70
Cre(μmol/L)	83.25±11.01	82.76±8.16**	88.72±5.68	92.18±4.98
BUN(g/L)	8.09±1.57**	10.58±1.94**	6.36±0.97	3.78±0.69
TG(U/L)	0.89±0.26*	0.53±0.05**	1.87±0.84	0.72±0.17
CHO(mmol/L)	1.32±0.16*	1.66±0.52	1.70±0.39	1.36±0.19
TP(g/L)	60.30±2.98**	70.10±4.06	55.70±2.00	68.30±3.33
ALB(g/L)	37.00±1.24*	42.70±2.31**	28.50±0.52	39.60±2.11

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$,与不禁食组比较。

表 2 SD 大鼠饲养 90 天后禁食、不禁食情况下血液细胞比较($\bar{x}\pm s,n=10$)

指标	禁食		不禁食	
	雄性	雌性	雄性	雌性
RBC(10^{12} /L)	7.89±0.79	7.84±0.46	8.12±0.40	7.65±0.49
HGB(g/L)	149.40±16.22	151.80±5.20	151.70±4.37	152.40±10.36
HCT(%)	41.85±4.68	42.96±1.20	38.43±12.76	42.09±2.77
MCV(fL)	53.04±1.79	55.56±1.51	52.35±1.96	55.06±1.58
MCH(pg)	18.88±0.65	19.57±0.64	18.65±0.58	19.86±0.69
MCHC(g/L)	356.90±8.97	352.90±5.74**	357.20±5.55	361.60±7.13
WBC(10^9 /L)	10.97±1.91**	5.20±1.31	7.81±0.99	5.03±1.41
LYM(%)	65.00±0.61	65.29±0.37	64.86±1.85	65.21±1.38
MID(%)	7.30±0.36	7.45±0.40	7.78±1.18	7.22±1.04
GRA(%)	27.70±0.71	27.26±0.22	27.36±2.33	27.57±1.28
PLT(10^9 /L)	1 082.20±129.21	1 017.30±118.98	1 139.10±130.16	948.80±147.37

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$,与不禁食组比较。

表 3 SD 大鼠饲养 90 天后禁食、不禁食情况下血凝、电解质比较($\bar{x}\pm s,n=10$)

指标	禁食		不禁食	
	雄性	雌性	雄性	雌性
PT(s)	13.26±1.25	13.24±1.15	13.10±1.65	12.54±1.35
K ⁺ (mmol/L)	4.09±0.27	3.72±0.26	3.97±0.34	3.60±0.18
Na ⁺ (mmol/L)	140.40±1.52**	142.73±1.35**	133.76±0.90	137.56±1.03
CL ⁻ (mmol/L)	104.57±1.71	108.57±1.47	103.23±11.13	103.18±0.92

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$,与不禁食组比较。

3 讨 论

与不禁食组比较,禁食组大鼠雌性血清 TG 降低,雄性 CHO 降低,可能是由于食物缺乏,能量供应不足,机体为维持基本生命活动,引起脂肪动员来满足机体的需要,这与文献报道一致^[1-6]。禁食组雌性 TBIL 升高,临床上除了溶血、肝胆疾患可影响血清胆红素浓度外,某些肝外因素也可影响血清胆红素的测定结果如:绝食、剧烈运动,乙醇、雌激素、妊娠、月经等。因此,作者认为,禁食可能引起了 TBIL 的升高^[2,5]。

禁食组雌性大鼠 ALB 升高、雄性 TP 升高;不禁食组雌性大鼠 ALB 升高、雄性 TP 降低,有临床意义^[5-6]。分析 ALB 临床意义时,需注意的是低 ALB 血症对肝病不具特异性,因为其水平降低除由于合成障碍外,这可能因为:(1)进入血管外池,体内的 40%ALB 分布于血管内,60%分布于各器官组织和组织液中(血管外池),如果各种病因使血管内 ALB 进入血管外池,可致血清内水平降低;(2)氨基酸(尤其是色氨酸)是合成蛋白质的原料,如供应不足,如摄入减少或吸收障碍,清蛋白合成减少 40%~50%;(3)感染、发热、肿瘤等时,清蛋白分解加速;(4)异常途径丢失。经过结合血液数据和大鼠解剖肉眼观察情况,作者认为,不禁食组大鼠血清 ALB 降低,可能是大鼠某些脏器(子宫、睾丸等)出现水肿有关。

禁食组雌性 BUN 升高、雄性 AST 升高,雄性 ALP 降低、雌性 Cre 降低,可能是两组动物血液指标测试前质控值存在系统误差,导致血液指标的差异,因此没有病理意义,但这方面需要深入地探讨。禁食组雌性 Na⁺ 均升高,雌性 MCHC 降低,但仍在正常范围内。禁食组雄性 WBC 升高,通过经验认为,可能是大鼠某些脏器炎症感染有关。

禁食与否对 SPF 级 SD 大鼠部分血液生化、血象、电解质指标有不同程度的影响;同时,样品测试前的质控值的差异也对部分血液指标有影响。因此,无论在药效学或毒理学研究

中^[7-12],对采血前实验动物的禁食、禁食时间,质控值波动范围应进行统一规范。

参考文献

[1] 柯斌,秦鉴,张俊杰. 短期禁食对大鼠生理生化指标的影响[J]. 时珍国医国药,2011,22(11):2778-2780.
[2] 胡建廷,王韶艳,屈卉锦,等. 禁食对 SD 大鼠血清生化指标的影响[J]. 实验动物与比较医学,2011,31(2):126-127.
[3] 崔学升,周朝伟,李志琼. 禁食和热应激对齐口裂腹鱼生化指标的试验[J]. 饲料研究,2010,2:63-65.
[4] 孙劲,徐元宏. SD 大鼠常见血液学检测指标参考范围的建立[J]. 临床输血与检验,2008,10(3):253-255.
[5] 韩英海,李树桐. 临床肝脏病学[M]. 济南市:山东科学出版社,2005,4:51-76.
[6] 周新,涂植光. 临床生物化学和生物化学化检验[M]. 北京:人民卫生出版社,2003,2:48-58.
[7] 林炜炜,于嘉屏. 患者状态对临床检验结果的影响[J]. 中国实验诊断学,2010,14(12):2060-2062.
[8] 英永,胡建廷,李莉,等. 禁食时间对 Beagle 犬血液学指标的影响[J]. 上海畜牧兽医通讯,2012,3(1):12-13.
[9] 张俭,刘杰,伍贤进. KM 小鼠糖尿病动物模型的建立[J]. 江苏农业科学,2012,40(3):174-175.
[10] 许良银,程宜福. 不同剂量四氧嘧啶与禁食对制作小鼠糖尿病模型的影响[J]. 皖南医学院学报,2004,23(4):251-252.
[11] 牛屹东,梁蜀龙,张孟蕾. 禁食与非禁食处理对构建 2 型糖尿病小鼠模型血糖的影响[J]. 四川动物,2009,28(2):218-220.
[12] 王澍,田晓峰,梁锐. 长期禁食对大鼠肝缺血再灌注损伤的影响[J]. 大连医科大学学报,2008,30(3):201-204.

(收稿日期:2013-04-29)

(上接第 2506 页)

中羧基端第 6 个序列的 Gly 为 Asp 所替代,胶原样结构被中断,从而不能形成具有完整功能的 MBL 蛋白,使得 MBL 不能有效地抵抗各种细菌及病毒的感染和侵蚀。本研究尚未发现甘肃地区汉族 MBL 基因第 52、57 位密码子存在基因多态性。

参考文献

[1] 全俊,胡国龄,范学工,等. 丙型肝炎病毒核心区蛋白在 HepG2 细胞中的表达[J]. 中国现代医学杂志,2002,12(20):34-35.
[2] Gabius HJ, Andre S, Kaltncr H, et al. The sugar code:fnfunctional lectinomics[J]. Biochim Biophys Acta,2002,1572(2):165-177.
[3] Peterson SV, Thiel S, Jonsenius JC. The mannan-binding lectin pathway of complement activation;biology and disease association [J]. Mol Immnol,2001,38(1):133-149.
[4] Vallinoto AC, da Silva RF, Hermes RB, et al. Mannose-binding lectin gene polymorphisms are not associated with susceptibility to hepatitis C virus infection in the Brazilian Amazon region[J]. Hum Immunol,2009,70(9):754-761.
[5] Endo M, Ohsawa I, Ohi H, et al. Mannose-binding lectin contributes to glomerulonephritis induced by hepatitis C virus infection [J]. Nephron,2001,87(4):374-379.
[6] Sasaki K, Tsutsumi A, Wakamiya N, et al. Mannose-binding lectin polymorphisms in patients with hepatitis C virus infection[J].

Scand J Gastroenterol,2000,35(9):960-965.
[7] Tulio S.Faucz FR, Werneck RI, et al. MASP2 gene polymorphism is associated with susceptibility to hepatitis C virus infection[J]. Hum Immunol,2011,72(10):912-917.
[8] Halla MC, do Carmo RF, Silva Vasconcelos LR, et al. Association of hepatitis C virus infection and liver fibrosis severity with the variants alleles of MBL2 gene in a Brazilian population[J]. Hum Immunol,2010,71(9):883-890.
[9] Melo FM, Vasconcelos LR, Silva BS, et al. Structural polymorphism of the mannose-binding lectin 2 (MBL2) gene in HCV-infected patients with a serological marker for thyroid autoimmunity [J]. Int J Immunogenet,2009,36(6):377-381.
[10] Koutsounaki E, Goulielmos GN, Koulentaki M, et al. Mannose-binding lectin MBL2 gene polymorphisms and outcome of hepatitis C virus-infected patients[J]. J Clin Immunol,2008,28(5):495-500.
[11] 中华医学会传染病与寄生虫病学会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病杂志,2001,19(1):56-62.
[12] 徐向红,居军,罗伟立,等. 中国裕固族及汉族人 MBL 基因 ExonI 54 位密码子点突变频率研究[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(12):1378-1380.

(收稿日期:2013-04-25)