

四氧嘧啶诱导的实验性高血糖小鼠模型 建立及其稳定性

陈琳¹, 乐凯¹, 茹琴¹, 田香¹, 熊琪¹, 马宝苗¹, 刘璐¹,
吴日辉¹, 邢俊俏¹, 王宁², 张琨², 赵小伟², 陈卫², 何丽²,
欧阳康乐², 司远仁³, 李超英^{1,4}.

(1. 江汉大学武汉生物医学研究院, 湖北 武汉 430056; 2. 福格森(武汉)生物科技股份有限公司, 湖北 武汉 430050;
3. 湖北省中山医院, 湖北 武汉 430032; 4. 汉济生物科技(武汉)有限公司, 汉济生物医药研究院, 湖北 武汉 430075;)

【摘要】 目的 探讨剂量、溶媒等主要影响因素对四氧嘧啶致实验性高血糖小鼠模型建立及稳定性的影响。**方法** 以 SPF 级昆明种小鼠为实验对象, 连续 6 周观察四氧嘧啶剂量、溶媒的不同组合对造模成功率、存活率、体重、空腹血糖值、血糖曲线下面积的稳定性及血清胰岛素水平的影响。**结果** 160 mg/kg 体重 四氧嘧啶 (pH 值为 4.5 的柠檬酸钠缓冲液溶解), 单次腹腔注射, 可获得成模率 70%、存活率 75%、空腹血糖 (15 ~ 20 mmol/L) 及血糖曲线下面积 (55 ~ 65 mmol/L) 持续 6 周稳定, 血清胰岛素水平 (21 mIU/L) 显著降低但不丧失的实验性高血糖小鼠模型。**结论** 本实验充分考虑剂量、溶媒等主要影响因素对四氧嘧啶致实验性高血糖小鼠模型的影响, 并进行 6 周的模型稳定性动态观察, 筛选出理想的造模条件, 可用于实验性糖尿病的基础研究及辅助降血糖的功能研究。

【关键词】 四氧嘧啶; 实验性高血糖小鼠模型; 剂量; 溶媒; 稳定性

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 10-0032-07

doi: 10. 3969. j. issn. 1671. 7856. 2014. 010. 006

Establishment and stability of a hyperglycemic mouse model induced by alloxan

CHEN Lin¹, YUE Kai¹, RU Qin¹, TIAN Xiang¹, XIONG Qi¹, MA Bao-miao¹, LIU Lu¹, WU Ri-hui¹,
XING Jun-qiao¹, WANG Ning², ZHANG Kun², ZHAO Xiao-wei², CHEN Wei², HE Li², OUYANG Kang-le²,
SI Yuan-ren³, LI Chao-ying^{1,4}.

(1. Wuhan Institutes of Biomedical Sciences, Jiangnan University, Wuhan 430056, China;

2. Ferguson (Wuhan) Biotechnology Limited Liability Company, Wuhan 430050;

3. Zhongshan Hospital of Hubei Province, Wuhan 430032; 4. Hanjea (Wuhan) Biological Technology
Limited Liability Company, Hanjea Institute of Biomedical Sciences, Wuhan 430075)

【Abstract】 Objective To explore the influence of drug dosage, solvent and other main influencing factors on the successful establishment of alloxan-induced hyperglycemia mouse model and the effect on the stability of this model.
Methods 160 6-8-week-old Kunming mice of SPF grade, (male:female = 1:1) were used in this study. The influences of different dosages of alloxan and solvent combinations on the successful establishment rate of the model, survival rate, body

[基金项目] 湖北省教育厅科学技术研究计划指导性项目 (编号: B2013144).

[作者简介] 陈琳 (1972 -), 女, 研究方向: 糖尿病与神经系统疾病, chenl.whibs@aliyun.com.

[通讯作者] 李超英 (1958 -), 男, 研究方向: 糖尿病与神经系统疾病, licy.whibs.corresp@gmail.com.

weight, fasting blood glucose, blood glucose area under curve, serum insulin level and their stabilities were dynamically observed for six weeks. **Results** By single intraperitoneal injection of 160 mg/kg bw alloxan (pH 4.5 citrate sodium as solvent), we were able to obtain a stable experimental hyperglycemic mouse model with higher levels of successful establishment rate (70%), survival rate (75%), fasting blood glucose (15–20 mmol/L), glucose area under the curve (55–65 mmol/L) and a lower but not loss of serum insulin levels (21 mIU/L). **Conclusions** In the present study we have carefully considered the influence of main factors such as drug dosages, solvent, etc., on the alloxan-induced experimental hyperglycemic mouse model, and successfully established this model after 6-week period observation of its stability. This model may provide a useful tool in the research of experimental diabetes and hypoglycemic functional studies.

【Key words】 Alloxan; Experimental hyperglycemic mouse model; Drug dosage; Solvent; Stability

保健食品安全性和功能评价是国家对保健食品安全监管的一项重要措施^[1]。在辅助降血糖功能试验评价中,成功构建实验性高血糖模型是前提,功能试验周期一般长达 4~6 周,因此保持该模型的稳定性是评价工作顺利进行的重要保障。四氧嘧啶(alloxan, ALX)诱导实验性高血糖模型的方法因其能高度模拟人类糖尿病临床表现而被国际上一贯用于糖尿病机制研究^[2],同时也是我国保健食品安全性和功能评价试验中采用的经典造模方法^[3]。影响该药物造模成功的因素很多^[4],如动物品系^[5, 6]、性别^[7]、体重^[8]、给药途径^[9]、溶媒^[10]、给药剂量^[11, 12]、禁食时间^[13]等,专家学者对此也进行了广泛研究探讨。其中,溶媒^[10]和剂量^[8, 11]对腹腔注射 ALX 致实验性高血糖小鼠模型的稳定性研究通常为注射后 7d^[14]~30d^[15],针对这一研究现状,本实验对腹腔注射 ALX 致实验性高血糖小鼠模型建立的溶媒及剂量因素进行优化组合,对小鼠成模率、存活率、体重、空腹血糖、血糖曲线下面积(反映糖耐量水平)的稳定性进行了长达 6 周的动态观察,同时测定血清胰岛素水平及其组间差异,以期辅助降血糖功能试验评价及实验性高血糖相关机制研究提供实验支持。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级昆明种成年小鼠 160 只,雌雄各半,6~8 周龄,体重 22~28 g,自由采食与饮水,由湖北省疾病预防控制中心动物中心提供,生产合格证号为:SCXK(鄂)2008-0005,实验动物使用合格证号为:SYXK(鄂)2007-0042。

1.2 试剂与仪器

四氧嘧啶、葡萄糖、柠檬酸及柠檬酸钠(分析纯, Sigma, 美国),生理盐水(双鹤, 中国)。安型

血糖检测仪及试纸条(长沙三诺, 中国),小鼠胰岛素 ELISA 检测试剂盒(上海博谷, 中国),高速离心机(Thermo, 美国),酶标仪(Thermo, 美国),电子天平(上海梅特勒-托利多, 中国)。

1.3 动物分组与干预方法

小鼠适应性喂养 3 d 后随机分为 8 组,每组各 12 只小鼠:A 组:生理盐水(normal saline, NS)对照组(注射 NS);B 组:柠檬酸钠缓冲液(sodium citrate-hydrochloric acid buffer solution, CS)对照组(注射 pH 4.5 的 CS);C 组:NS + ALX 160 mg(注射 NS 配制的 ALX 160 mg/kg 体重);D 组:NS + ALX 190 mg(注射 NS 配制的 ALX 190 mg/kg 体重);E 组:CS + ALX 190 mg(注射 pH 4.5 的 CS 配制的 ALX 190 mg/kg 体重);F 组:CS + ALX 180 mg(注射 pH 4.5 的 CS 配制的 ALX 180 mg/kg 体重);G 组:CS + ALX 160 mg(注射 pH 4.5 的 CS 配制的 ALX 160 mg/kg 体重);H 组:CS + ALX 140 mg(注射 pH 4.5 的 CS 配制的 ALX 140 mg/kg 体重)。所有组别小鼠适应性喂养 3 d 后,在造模前禁食不禁水 16 h 后检测体重、空腹血糖及血糖曲线下面积的基础值,然后采取单次腹腔注射(溶剂或药物, 0.2 mL/kg 体重)进行造模,ALX 配制均避光、现用现配。血糖高于 10 mmol/L 者确定为造模成功,计算各组成模率。所有组别小鼠继续常规饲养,动态检测体重、空腹血糖及血糖曲线下面积,1 次/周,共 6 周,观察结束后收集小鼠血清保存于 -20℃ 用于检测血清胰岛素水平。

1.4 小鼠血清胰岛素水平检测

实验步骤严格按照小鼠胰岛素 ELISA 检测试剂盒提供的说明书进行,显色终止后于 450 nm 波长处测定吸光度值,绘制标准曲线,计算相对浓度值,用于统计分析。

1.5 统计学方法

数据处理采用 SPSS 11.0 软件,绘图采用 Sigmaplot 11.0 软件,数据用平均值 $\pm$ 标准误 ($\bar{x} \pm s$) 表示,数据组间差异采用 SPSS 11.0 进行单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠存活率动态观察

如图 1 中所示,NS 腹腔注射组或与 ALX 160 mg/kg 体重配伍腹腔注射组,造模后 6 周小鼠存活率稳定在 100%;NS 与 ALX 190 mg/kg 体重配伍腹腔注射组及 CS 腹腔注射组,造模后小鼠存活率 6 周稳定在 90%;CS 与 ALX 190 mg/kg 体重配伍腹腔注射组,造模后 1 周小鼠存活率为 67%,2~6 周

逐步下降至 47%,与 NS 对照组相比显著下降, $P < 0.05$;CS 与 ALX 180 mg/kg 体重配伍腹腔注射组,造模后 1 周小鼠存活率为 73%,2~6 周维持稳定在 67%;CS 与 ALX 160 mg/kg 体重配伍腹腔注射组,造模后小鼠存活率 6 周稳定在 75%,CS 与 ALX 140 mg/kg 体重配伍腹腔注射组,造模后小鼠存活率 6 周稳定在 70%,组间存活率相比无显著性差异, $P > 0.05$ 。

2.2 小鼠成模率动态观察

如图 2 所示,NS 腹腔注射组或 CS 腹腔注射组,造模后 6 周小鼠成模率为 0;NS 与 ALX 160 mg/kg 体重配伍腹腔注射组,造模后小鼠 1 周成模率为 0,2~6 周为 7%;NS 与 ALX 190 mg/kg 体重配伍腹腔

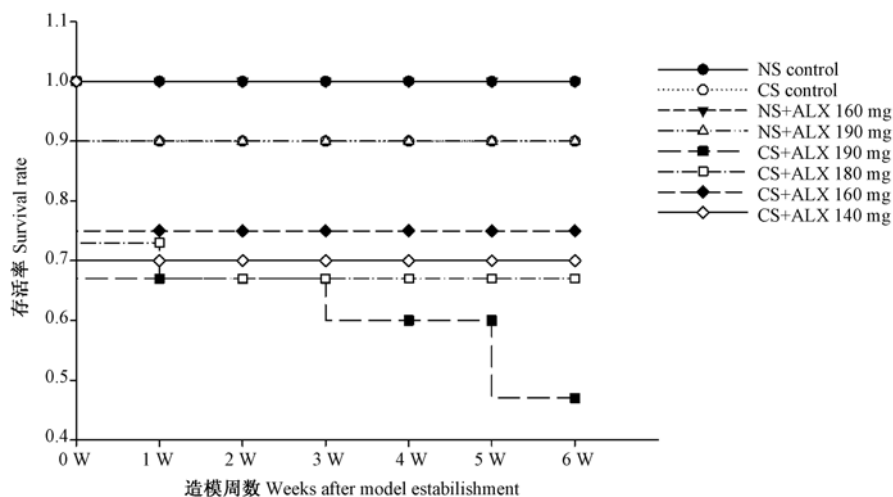


图 1 造模前后各组小鼠存活率动态变化曲线

Fig. 1 Dynamic changes of the mouse survival rates

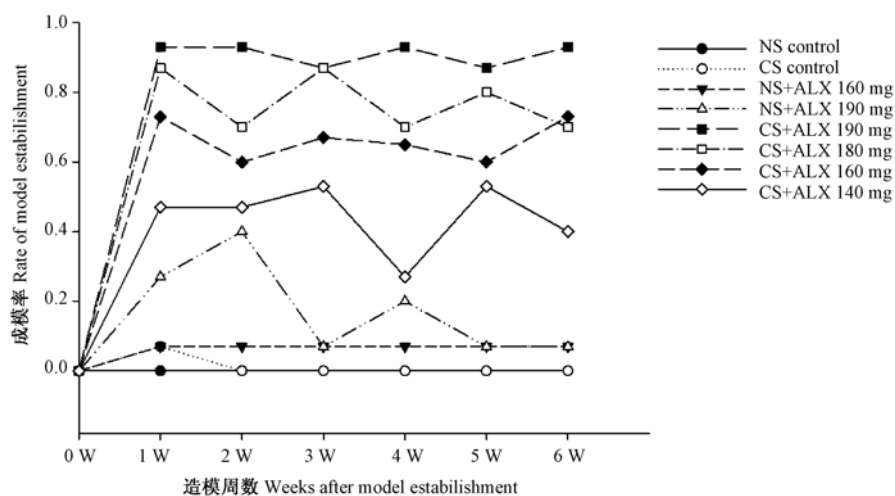


图 2 各组小鼠成模率动态变化曲线

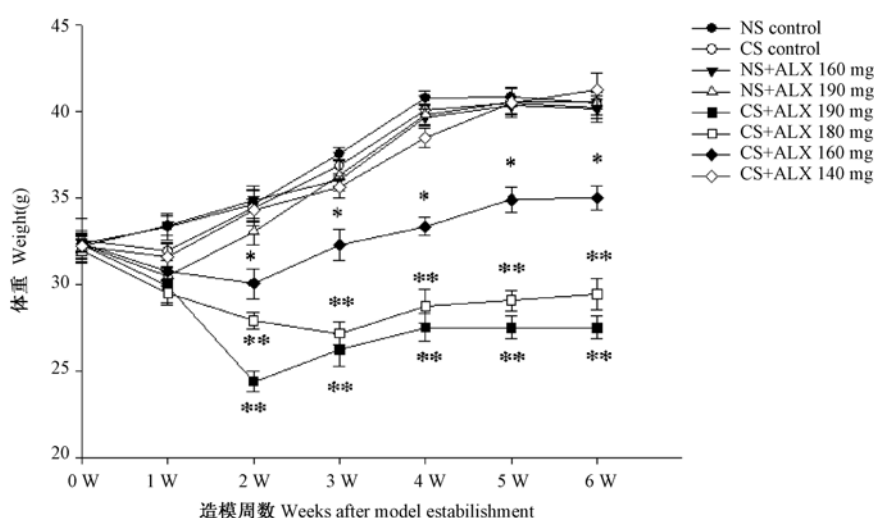
Fig. 2 Dynamic changes of the success rates of the mouse model establishment

注射组,造模后 2 周小鼠成模率由 0 上升至 40%,第 3 周降低至 7%,第 4 周上升至 15%,5~6 周降低至 7%,呈现较大波动;CS 与 ALX 配伍腹腔注射组成模率与 NS 对照组相比显著增高, $P < 0.05$,其中,CS 与 ALX 190 mg/kg 体重配伍腹腔注射组,造模后 6 周小鼠成模率稳定在 93%;CS 与 ALX 180 mg/kg 体重配伍腹腔注射组,造模后 1 周小鼠成模率为 87%,2~6 周内成模率在 67% 至 87% 之间反复波动;CS 与 ALX 160 mg/kg 体重配伍腹腔注射组,造模后小鼠成模率 1 周小鼠成模率为 70%,2~6 周内稳定保持在 60% 至 70% 水平;CS 与 ALX 140 mg/kg 体重配

伍腹腔注射组,造模后 1 周小鼠成模率为 47%,2~6 周内成模率在 47% 至 27% 之间反复波动。

2.3 小鼠体重动态观察

如图 3 所示 6 周观察期内,NS 腹腔注射或与 ALX 160 mg/kg 体重、ALX 190 mg/kg 体重配伍腹腔注射、CS 腹腔注射或与 ALX 140 mg/kg 体重配伍腹腔注射对小鼠体重及其稳定性的影响,与 NS 对照组相比,差异无显著性, $P > 0.05$;与 NS 对照组相比,CS 与 ALX 180、190 mg/kg 体重配伍会导致小鼠体重极显著下降, $P < 0.01$,CS 与 ALX 160 mg/kg 体重配伍会导致小鼠体重显著下降, $P < 0.05$ 。



注: * 与 NS 对照组相比有显著性差异, $P < 0.05$; ** 与 NS 对照组相比有极显著性差异, $P < 0.01$

图 3 造模前后各组小鼠体重动态变化曲线

Note. * Compared with the NS control group, $P < 0.05$. ** Compared with the NS control group, $P < 0.01$.

Fig. 3 Dynamic changes of body weight of the mice

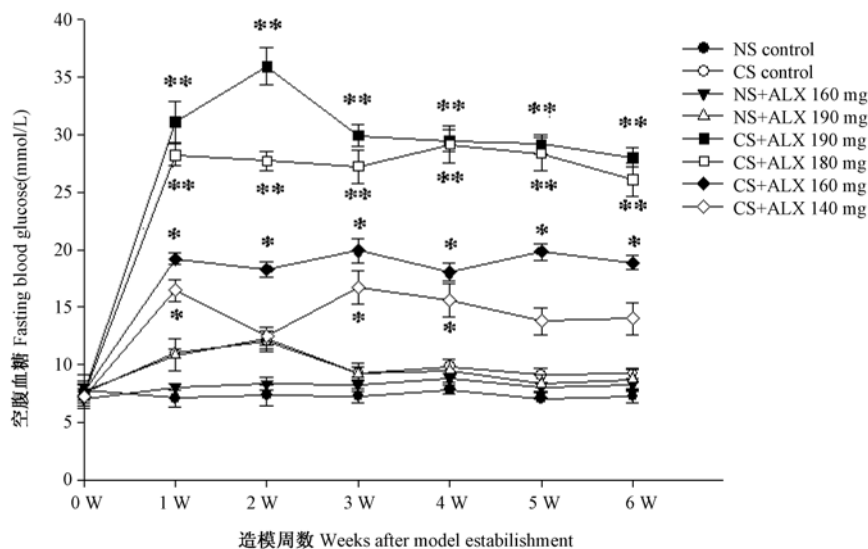
2.4 小鼠空腹血糖动态观察

如图 4 所示,造模后,NS 对照组及 NS + ALX 160 mg 组,小鼠空腹血糖未见升高,6 周内呈持续稳定不变趋势;NS + ALX 190 mg 组、CS 对照组造模后小鼠空腹血糖呈一过性轻度升高,3 周后下降至正常水平并呈持续稳定不变趋势;CS + ALX 140 mg 组造模后小鼠空腹血糖较 NS 对照组显著升高,2~6 周呈波动性下降趋势,至第 6 周空腹血糖仍显著高于 NS 对照组($P < 0.05$);CS + ALX 160 mg 组造模后小鼠空腹血糖较 NS 对照组显著升高,2~6 周呈稳定保持高水平(15~20 mmol/L),至第 6 周空腹血糖仍显著高于 NS 对照组($P < 0.05$);CS + ALX 180 mg 组及 CS + ALX 190 mg 组,造模后小鼠空腹血糖较 NS 对照组极显著升高,2~6 周呈稳定保持极高水平,至第 6 周空腹血糖仍极显著高于 NS 对照组

(> 25 mmol/L, $P < 0.01$)。结果提示,6 周观察期内,NS 腹腔注射或与 ALX 160 mg/Kg 体重、ALX 190 mg/Kg 体重配伍腹腔注射 NS、CS 腹腔注射对小鼠空腹血糖及其稳定性无显著影响,CS 与 ALX 160~190 mg/Kg 体重配伍会导致小鼠空腹血糖显著升高,ALX 剂量越大,小鼠空腹血糖越高。

2.5 小鼠糖耐量水平动态观察

如图 5 所示,造模后,NS 对照组及 NS + ALX 160 mg 组,小鼠血糖曲线下面积未见升高,6 周内呈持续稳定不变趋势;NS + ALX 190 mg 组、CS 对照组造模后小鼠血糖曲线下面积呈一过性轻度升高,3 周后下降至正常水平并呈持续稳定不变趋势;CS + ALX 140 mg 组造模后小鼠血糖曲线下面积较 NS 对照组显著升高,第 2 周下降,3~6 周血糖曲线下面积仍显著高于 NS 对照组($P < 0.05$);CS + ALX 160

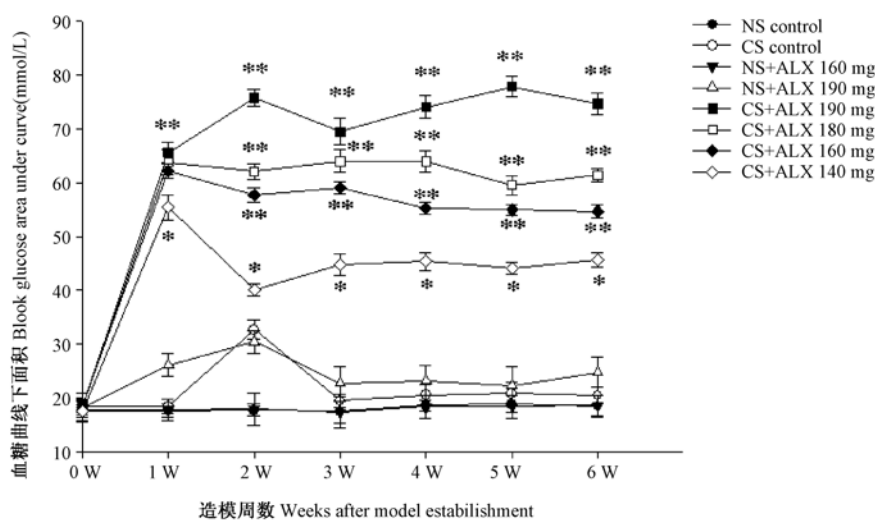


注: * 与 NS 对照组相比有显著性差异, $P < 0.05$; ** 与 NS 对照组相比有极显著性差异, $P < 0.01$

图 4 造模前后各组小鼠空腹血糖动态变化曲线

Note. * Compared with the NS control group, $P < 0.05$. ** Compared with the NS control group, $P < 0.01$.

Fig. 4 Dynamic changes of the mouse fasting blood glucose levels



注: * 与 NS 对照组相比有显著性差异, $P < 0.05$; ** 与 NS 对照组相比有极显著性差异, $P < 0.01$

图 5 造模前后各组小鼠血糖曲线下面积动态变化曲线图

Note. * Compared with the NS control group, $P < 0.05$. ** Compared with the NS control group, $P < 0.01$.

Fig. 5 Dynamic changes of the mouse blood glucose area under curve

mg 组及 CS + ALX 180 mg 组造模后小鼠血糖曲线下面积较 NS 对照组极显著升高, 2 ~ 6 周呈稳定保持高水平(55 ~ 65 mmol/L), 至第 6 周血糖曲线下面积仍极显著高于 NS 对照组($P < 0.01$); CS + ALX 190 mg 组, 造模后小鼠血糖曲线下面积较 NS 对照组极显著升高, 2 ~ 6 周呈稳定保持极高水平, 至第 6 周血糖曲线下面积仍极显著高于 NS 对照组($P < 0.01$)。结果提示, 6 周观察期内, NS 腹腔注射或与

ALX 160 mg/Kg 体重、ALX 190 mg/kg 体重配伍腹腔注射、CS 腹腔注射对小鼠血糖曲线下面积及其稳定性无显著影响, CS 与 ALX 140 ~ 190 mg/kg 体重配伍会导致小鼠血糖曲线下面积显著升高, ALX 剂量越大, 小鼠血糖曲线下面积越高。

2.6 小鼠血清胰岛素水平组间差异

如图 6 所示, 造模后第 6 周, NS 对照组、CS 对照组、NS + ALX 160 mg 组、NS + ALX 190 mg 组小鼠

血清胰岛素水平组间无差异;CS + ALX 140 mg 组、CS + ALX 160 mg 组及 CS + ALX 180 mg 组小鼠血清胰岛素水平组间无差异,均显著低于 NS 对照组, $P < 0.05$, CS + ALX 190 mg 组小鼠血清胰岛素水平极显著低于 NS 对照组, $P < 0.01$ 。提示 NS、CS 单独腹腔注射, NS 与 ALX 160 或 190 mg/kg 体重联合腹腔注射均不会对造模后第 6 周小鼠血清胰岛素水平有显著影响,而 CS 与 ALX 140、160、180 及 190 mg/kg 体重联合腹腔注射均对造模后第 6 周小鼠血清胰岛素水平有显著降低作用 ($P < 0.05$),其中以 CS 与 ALX 190 mg/kg 体重联合腹腔注射降低血清胰岛素水平作用最为显著 ($P < 0.01$)。

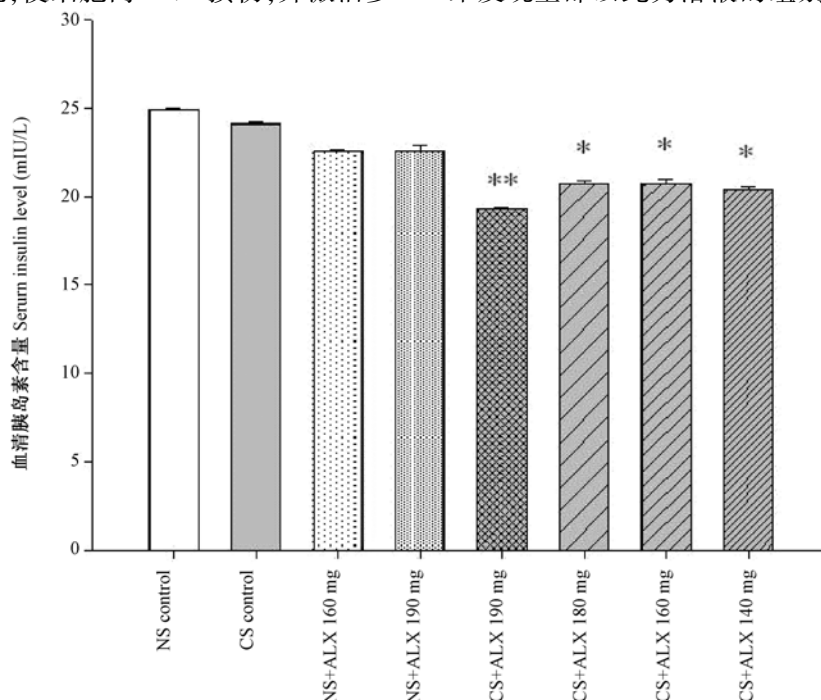
3 讨论

随着人们生活水平的不断提高和人口老龄化,糖尿病的发病呈逐年上升趋势。建立理想的实验性糖尿病动物模型,无论对糖尿病机制的深入研究,还是保健食品及抗糖尿病新药的开发都具有非常重要的实际意义。

ALX 易与 SH 基(主要是半胱氨酸)发生反应,而胰岛的 β 细胞中 SH 基含量较其他组织多,故 ALX 可以选择性地损害胰岛 β 细胞,通过产生超氧自由基破坏 β 细胞,使细胞内 DNA 损伤,并激活多

聚核糖体合成酶的活性,从而导致 mRNA 功能受损,细胞合成前胰岛素减少,最终导致胰岛素缺乏性的高血糖^[7]。利用 ALX 制造高血糖模型能高度模拟人类糖尿病临床表现^[2],同时具有胰岛外分泌不受损伤;几乎所有常用实验动物都可以进行实验研究;胰岛的 β 细胞不是功能消失,而是功能不同程度的降低,有利于研究胰岛组织的再生和功能的恢复,动物不用注射胰岛素也能存活等优点而被国际上广泛采纳^[16]。

四氧嘧啶造模成功受诸多因素影响,例如动物品系、性别、体重、给药途径、溶媒、给药剂量、禁食时间等,专家学者对此也进行了广泛研究探讨,研究发现这些因素对造模成功率的影响各异^[9, 17],已报道的实验结果中溶媒^[10]的选择、药物的剂量^[8, 11]仍是关键的影响因素,文献中使用 ALX 造模剂量从 100 mg/kg 体重到 300 mg/kg 体重(小鼠)^[7, 8, 11]均有报道且结果各异,可能与各文献中实验条件各异以及动物个体差异有关^[17, 18]。ALX 水溶液的稳定性取决于 pH 值, pH 4.5 的 CS 减少 ALX 的氧化分解有利于药物的溶解以及在体内的吸收利用从而提高成模率^[10]。我们的实验中以 pH 值为 4.5 的 CS 为溶剂配制 ALX,并且避光、现用现配。实验结果发现全部以此为溶液的组别造模后成模率及其



注: * 与 NS 对照组相比有显著性差异, $P < 0.05$; ** 与 NS 对照组相比有极显著性差异, $P < 0.01$

图 6 造模后第 6 周小鼠血清胰岛素水平组间差异图

Note. * Compared with the NS control group, $P < 0.05$. ** Compared with the NS control group, $P < 0.01$.

Fig. 6 Differences of the mouse serum insulin level at the sixth week after model establishment

稳定性都显著高于以生理盐水为溶剂的组别(无论药物浓度高低),与文献报道一致^[10],造模后 6 周内血糖值稳定维持在成模水平(>10 mmol/L),因此我们认为 pH 值为 4.5 的 CS 为溶剂是造模成功及维持模型长期稳定性的必要条件。

最重要的是,在辅助降血糖功能试验评价中,成功构建糖尿病模型是前提,而功能试验周期一般长达 4~6 周,因此,保证该模型的稳定性,是该项评价工作顺利进行的重要保障和前提。目前大多数文献仅考察了上述相关因素对造模率等指标 7~30d 期间的影响^[14, 15]。针对这一研究现状,本实验对腹腔注射 ALX 致实验性高血糖小鼠模型建立的溶媒及剂量因素进行优化组合,对小鼠成模率、存活率、体重、空腹血糖、血糖曲线下面积(反映糖耐量水平)的稳定性进行了长达 6 周的动态观察,同时测定血清胰岛素水平及其组间差异。

我们的实验结果表明 ALX(以 pH 值为 4.5 CS 为溶剂)浓度达到 190 mg/kg 体重时,6 周内成模率(93%),空腹血糖(>25 mmol/L)及血糖曲线下面积(>70 mmol/L)较持续稳定在高水平,但体重(27g)、动物存活率(47%)及血清胰岛素水平(19 mIU/L)极显著降低($P<0.01$),提示该剂量可能会因动物损耗过大、小鼠胰腺及其胰岛分泌胰岛素功能被不可逆损害,高血糖状态不可逆转而不适用于辅助降血糖功能试验研究。药物浓度在 140、160、180 mg/kg 体重时,6 周内小鼠空腹血糖(15~25 mmol/L)及血糖曲线下面积(40~60 mmol/L)动物成模率(40%~73%)、存活率(67%~75%)及体重(29~41g)持续稳定在较高水平,血清胰岛素水平(21 mIU/L)显著降低($P<0.05$),其中尤以 160 mg/kg 体重组各项指标最为稳定,可用于辅助降血糖功能试验的研究,而 140 及 180 mg/kg 体重组各项指标波动较大可能会影响试验结果的稳定性。

综上,我们的实验选择体重 22~28 g 的昆明小鼠,禁食 16 h,并用 pH 值为 4.5 的 CS 溶解的 160 mg/kg 体重 ALX 腹腔单次注射,连续动态观察 6 周,获得成模率较高、存活率较高、空腹血糖及血糖曲线下面积较持续稳定在成模水平,血清胰岛素水平下降但不丧失的糖尿病小鼠模型,可用于实验性糖尿病的基础研究及辅助降血糖的功能研究。

我们通过对关键因素的不同组合,动态观察成模后 6 周的小鼠成模率、存活率、体重、空腹血糖、糖

耐量变化情况,并检测血清胰岛素水平,从稳定性及胰岛 β 细胞功能角度来评价组间差异,筛选出造模药物 ALX 最适剂量,更具科学性和准确性,为辅助降血糖功能试验的准确评价提供有力的实验依据和保障。

参考文献:

- [1] 耿莉萍. 当前我国保健食品市场存在的问题与监管对策[J]. 食品科学技术学报, 2013(03): 7-12.
- [2] Lenzen S, Panten U. Alloxan: history and mechanism of action[J]. Diabetologia, 1988, 31(6): 337-342.
- [3] 卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 2003.
- [4] 李聪然, 游雪甫, 蒋建东. 糖尿病动物模型及研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2005, 15(01): 59-63.
- [5] 刘洪艳, 周建平. KM、ICR、NIH 三品系小鼠四氧嘧啶法致糖尿病动物模型的比较[J]. 实验动物科学与管理, 2002, (03): 12-13.
- [6] 陈华. 小型猪糖尿病模型[J]. 中国实验动物学报, 2008, (06): 458-462.
- [7] 叶华虎, 袁菊芳, 李敏, 等. 四氧嘧啶诱发糖尿病模型效果的性别差异[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(1): 19-22.
- [8] 黄桂红, 邓航, 李江, 等. 四氧嘧啶腹腔注射致小鼠糖尿病模型因素考察[J]. 中国医药导报, 2012, (01): 15-17.
- [9] 樊志奇, 杨勇, 容蓉, 等. 四氧嘧啶制备糖尿病小鼠模型的影响因素研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(8): 1948-1949.
- [10] 郭莉, 王桂华, 杨丽娟, 等. 溶媒对四氧嘧啶诱导建立糖尿病小鼠模型的影响[J]. 中国医药导报, 2012(34): 27-28.
- [11] 杨明华, 杨苏蓓, 柴可夫, 等. 四氧嘧啶致小鼠糖尿病造模条件优化及稳定性考察[J]. 中药药理与临床, 2007(05): 213-216.
- [12] 杨明华, 柴可夫, 杨苏蓓. 四氧嘧啶致糖尿病大鼠模型血糖稳定性考察[J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(08): 482-484.
- [13] 黄敏, 王书奎, 王小峰, 等. 不同禁食时间对四氧嘧啶糖尿病小鼠模型的血清胰岛素和血糖的影响[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(3): 217-220.
- [14] 王柳萍, 杨斌, 周丽. 四氧嘧啶制备小鼠糖尿病模型的影响因素探讨[J]. 广西医科大学学报, 2004, (01): 33-35.
- [15] 奚清丽, 周伟. 四氧嘧啶致小鼠糖尿病造模条件组合优化研究[J]. 江苏预防医学, 2011, (04): 18-20.
- [16] 施新猷. 医学动物实验方法[M]. 人民卫生出版社, 1980;
- [17] 黄彦峰, 晋玲, 赵善民, 等. 四氧嘧啶糖尿病小鼠模型的复制与应用体会[J]. 时珍国医国药, 2011, (11): 2784-2785.
- [18] 韩丽莎, 阎秀英, 任健梅, 等. Alloxan 糖尿病模型复制中的多因素作用[J]. 内蒙古医学杂志, 1996, (06): 340-342.

[修回日期]2014-07-24