

Dunkin Hartley 白化豚鼠和 Hartley 花色豚鼠 高脂造模以及降脂药效学的比较

谢亚菲¹, 蒋学华¹, 王 凌¹, 方代龙², 徐翠环², 陈 西², 张 智^{2,3}, 宋相容²

(1. 四川大学华西药学院, 四川, 成都 610041; 2. 四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室, 四川, 成都 610041;
3. 四川理工学院化学与制药工程学院, 四川, 自贡 643000)

【摘要】 目的 比较分析 Dunkin Hartley 白化豚鼠与 Hartley 花色豚鼠在构建高脂血症模型以及评价降脂药效学方面的差异, 为高脂血症模型建立时豚鼠的品种选择提供参考。**方法** 选取 5 周龄的白化豚鼠和花色豚鼠测定基础血脂水平, 具体包括总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)和低密度脂蛋白(LDL-C)。随后分别随机分为正常组(12 只)和高脂模型组(24 只), 正常组饲喂普通饲料, 高脂模型组饲喂高脂饲料以构建高脂血症模型; 饲喂 4 周后, 同上测定血脂水平。进一步将高脂模型组随机分为匹伐他汀钙组(12 只)和溶媒对照组(12 只), 匹伐他汀钙组每天灌胃给予匹伐他汀钙(1mg/kg), 溶媒对照组每天灌胃给予同体积的溶媒, 持续给药 4 周, 并同步饲喂高脂饲料; 给药结束后, 同上测定血脂水平。**结果** 当给予普通饲料喂养时, 白化豚鼠血脂较为稳定, 随周龄增长没有显著变化, 而花色豚鼠的 TC 和 LDL-C 在 9 周龄后才比较稳定。当给予高脂饲料喂养时, 白化豚鼠的 TC、TG 和 LDL-C 在造模的 4 周时间内迅速上升, 且增幅显著大于花色豚鼠, HDL-C 与花色豚鼠的变化幅度相似。运用模型组豚鼠, 进行降脂药效学的考察, 匹伐他汀钙在白化豚鼠高脂血症模型中降脂(TC、TG 和 LDL-C)幅度更大、升高 HDL-C 的作用更显著。**结论** 在选用正常豚鼠评价降脂作用时, 降 TG 或升 HDL-C 类药物宜选用 5 周龄之后的白化豚鼠, 降 TC 或 LDL-C 类药物宜选用 9 周龄之后的花色豚鼠; 在选用高脂血症豚鼠模型评价降脂作用时, 白化豚鼠较花色豚鼠在造模后的血脂水平更加紊乱, 且对降脂药物的敏感程度更高, 故可作为构建高脂血症模型和评价降脂药效学研究较佳的实验动物。

【关键词】 白化豚鼠; 花色豚鼠; 血脂; 匹伐他汀钙;

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 09-0056-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.009.011

Comparison of the hyperlipidemic models and lipid-lowering pharmacodynamics between Dunkin Hartley albino guinea pigs and Hartley pigment guinea pigs

XIE Ya-fei¹, JIANG Xue-hua¹, WANG Ling¹, FANG Dai-long², XU Cui-huan², CHEN Xi²,
ZHANG Zhi^{2,3}, SONG Xiang-rong²

(1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. State Key Laboratory of Biotherapy and Cancer Center, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. School of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Sichuan University of Science and Engineering, Zigong 643000, China)

【基金项目】 “十二五”重大新药创制项目(编号:2013ZX09301304-004)。

【作者简介】 谢亚菲(1991-), 女, 研究方向: 药理学。E-mail: m13708063102@163.com。

【通讯作者】 宋相容(1982-), 女, 研究方向: 生物技术药物及中西药物给药系统。E-mail: songxr@scu.edu.cn; 张智(1977-), 男, 研究方向: 心血管合并症的药物联合治疗。E-mail: zhangzhi02@gmail.com。

【Abstract】 Objective To compare the differences of two stocks of guinea pigs, the albino guinea pigs and pigment guinea pigs, in establishing dyslipidemic model, to evaluate their lipid-lowering action, and to compare their properties for development of hyperlipidemia. **Methods** Two stocks of the 5-week-old guinea pigs were randomly divided into two groups, normal group (NC) and model group (Model). For the NC group, 12 guinea pigs were fed with normal chew. For the model group, after fed with high-fat diet for four weeks, 24 male guinea pigs were randomly grouped and treated with vehicle (VC group) and pitavastatin (Pit group) calcium, respectively, by gavage as well as received high-fat diet. Before and after modeling and pitavastatin treatment, blood samples were collected and subjected to analysis of plasma TC, TG, HDL-C and LDL-C, respectively. **Results** In the normal group, the blood lipid levels of albino guinea pigs were more stable than that of the pigmented pigs with the increase of age. After fed with high-fat diet, the plasma lipid levels of TC, TG and LDL-C were significantly increased in the two strains of guinea pigs, while HDL-C showed a decrease to varying degrees. Interestingly, the lipid level in the albino guinea pigs was significantly higher than that of pigment guinea pigs. And also, after drug administration for four weeks, pitavastatin treatment significantly decreased the elevated lipid level of TC, TG and LDL-C in the albino guinea pigs compared with that in the pigment guinea pigs. **Conclusions** The albino guinea pigs and pigment guinea pigs demonstrate certain differences in establishing dyslipidemic model and evaluating lipid-lowering pharmacodynamics. However, compared with the pigment guinea pigs, the albino guinea pigs have obvious superiority because of easy establishment of hyperlipidemia model and are more sensitive to lipid-lowering drugs.

【Key words】 Albino guinea pigs; Pigment guinea pigs; Lipids; Hyperlipidemia; Pitavastatin calcium

高脂血症是动脉粥样硬化、心脏病、中风和脂肪肝等疾病的主要诱发因素之一,对人类的健康有着极大的威胁^[1]。采用与人脂代谢较为接近的高脂血症模型评价降脂药物药效意义重大^[2]。豚鼠是与人脂代谢最为相似的动物之一,其胆固醇的吸收、代谢等都与人类很相近,因此被认为是较佳的高脂血症模型动物^[3,4]。目前,国内外各研究机构使用的豚鼠多为英国种豚鼠,该类封闭群豚鼠主要分为四个品种:顿金哈德莱(Dunkin Hartley)、哈德莱(Hartley)、勃莱特哈德莱(Pirbright Hartley)和短毛种(Shorthair)^[5];其中,Dunkin Hartley 品种中的白化豚鼠和 Hartley 品种中的花色豚鼠在高脂建模或降脂实验研究中较为常用。本课题组前期研究发现,白化豚鼠和花色豚鼠在血脂水平方面差异较大;然而如何合理选择这两种豚鼠开展降脂药效学研究,尚未见相关文献报道。因此,本课题以白化豚鼠和花色豚鼠为实验对象,比较研究这两种豚鼠用于构建高脂血症模型的差异,并进一步比较在降脂药效学研究的差别,为高脂血症模型建立时豚鼠的品种选择提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物及实验环境

白化豚鼠和花色豚鼠各 36 只,雄性,4 周龄,体重(380 ± 25)g,购自成都达硕实验动物有限公司,生产合格证编号:SCXK(111)2013-14。动物分笼饲养,4 只一笼,自由饮水,饲养环境温度维持在 18

~24℃、相对湿度维持在 50%~60%,实验动物使用许可证编号:SYXK(川)2011-178。

1.2 仪器与试剂

7020 全自动生化分析仪(日本日立公司制造),用于血脂指标测定;Heraeus Pico 17/21 Fresco 17/21 微型离心机(德国赛默飞公司制造),用于分离血清。

总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)检测试剂盒均购自四川迈克生物科技股份有限公司,匹伐他汀钙由印度 Shasun 公司提供。

1.3 高脂饲料

高脂饲料由 84.96% 的普通饲料、0.04% 的胆固醇、15% 的橄榄油、棕榈仁油和红花油组成^[6-7],经上海斯莱克实验动物有限责任公司加工生产。

1.4 方法

两种豚鼠适应性喂养 1 周后,乙醚麻醉,心脏穿刺取血,离心分离血清,测定基础血脂水平,具体包括总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)和低密度脂蛋白(LDL-C)。随后分别随机分为正常组(NC, $n = 12$)和高脂模型组(Model, $n = 24$),NC 组饲喂普通饲料,Model 组饲喂高脂饲料以构建高脂血症模型;饲喂 4 周后,同上测定血脂水平。进一步将 Model 组随机分为匹伐他汀钙组(Pit, $n = 12$)和溶媒对照组(VC, $n = 12$),Pit 组每天灌胃给予匹伐他汀钙(1 mg/kg),VC 组每天灌胃给予同体积的溶媒,持续给药 4 周,并同步饲喂高脂饲

料;给药结束后,同法测定血脂水平。

1.5 统计学方法

试验数据采用 SPSS 19.0 软件进行统计,两组间采用独立样本 t 检验,以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。 $P < 0.05$ 判断为具有统计学差异, $P < 0.01$ 判断为具有显著的统计学差异。

2 结果

2.1 白化豚鼠和花色豚鼠基础血脂水平比较

比较白化豚鼠和花色豚鼠饲喂普通饲料时,5 周龄、9 周龄和 13 周龄的基础血脂水平,结果见图 1。两种豚鼠的血脂水平在各个周龄阶段均有明显差异:白化豚鼠的 TC、LDL-C 和 HDL-C 均低于花色豚鼠,但 TG 高于花色豚鼠。两种豚鼠的血脂水平随周龄变化规律也略有差异:白化豚鼠的血脂水平比较稳定,随周龄没有显著变化($P > 0.05$);花色豚鼠的 TC 和 LDL-C 从 5 周龄到 9 周龄逐渐升高($P < 0.05$),之后则比较稳定,不再变化($P > 0.05$),但 TG 随周龄先升高后降低,HDL-C 则先降低后升高。

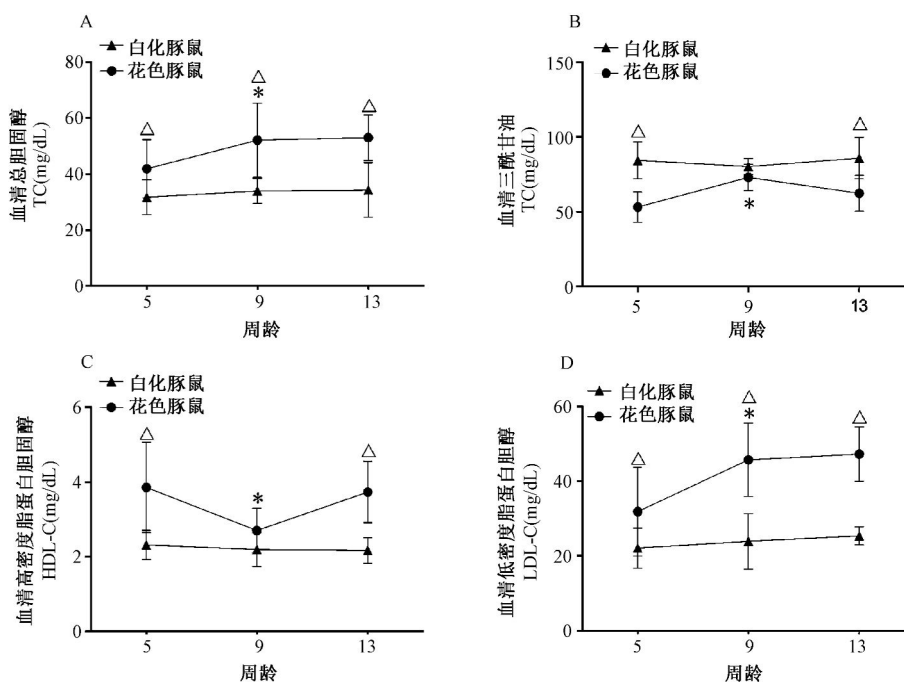
2.2 白化豚鼠和花色豚鼠构建高脂血症模型的差异

比较白化豚鼠和花色豚鼠饲喂高脂饲料后,9

周龄和 13 周龄的血脂水平,结果见图 2。两种豚鼠经高脂饲料诱导后,血脂的变化情况有所差别。白化豚鼠的 TC、TG 和 LDL-C 在监测的两个周龄均较花色豚鼠高,HDL-C 则与花色豚鼠相当。与正常组相比,白化豚鼠 9 周龄模型组 TC、LDL-C 和 TG 分别升高了 280%、310% 和 20%,且增幅均高于花色豚鼠($P < 0.05$);花色豚鼠仅 TC 和 LDL-C 升高了 80% 和 90% 倍($P < 0.05$),TG 的变化并无统计学差异($P > 0.05$);在 HDL-C 方面,两种豚鼠均有所降低,降幅接近,随周龄变化规律也相近。从血脂稳定性方面比较,白化豚鼠随高脂饲料饲喂时间的延长,TC 和 LDL-C 呈上升趋势,但花色豚鼠在高脂饲料饲喂 4 周后(即 9 周龄时)血脂水平则趋于稳定,延长饲喂时间,血脂水平无明显变化。

2.3 白化豚鼠和花色豚鼠高脂血症模型评价降脂药效学的差异

以降脂药物匹伐他汀为干预药物,比较研究白化豚鼠和花色豚鼠这两种高脂血症模型动物在评价降脂药效学时的差异,结果见图 3。将给药 4 周后(即 13 周龄)的豚鼠血脂水平与给药前(即 9 周龄)的血脂水平进行比较,计算血脂水平变化率:白化豚鼠的 TC、TG 和 LDL-C 较溶媒组显著下降($P <$

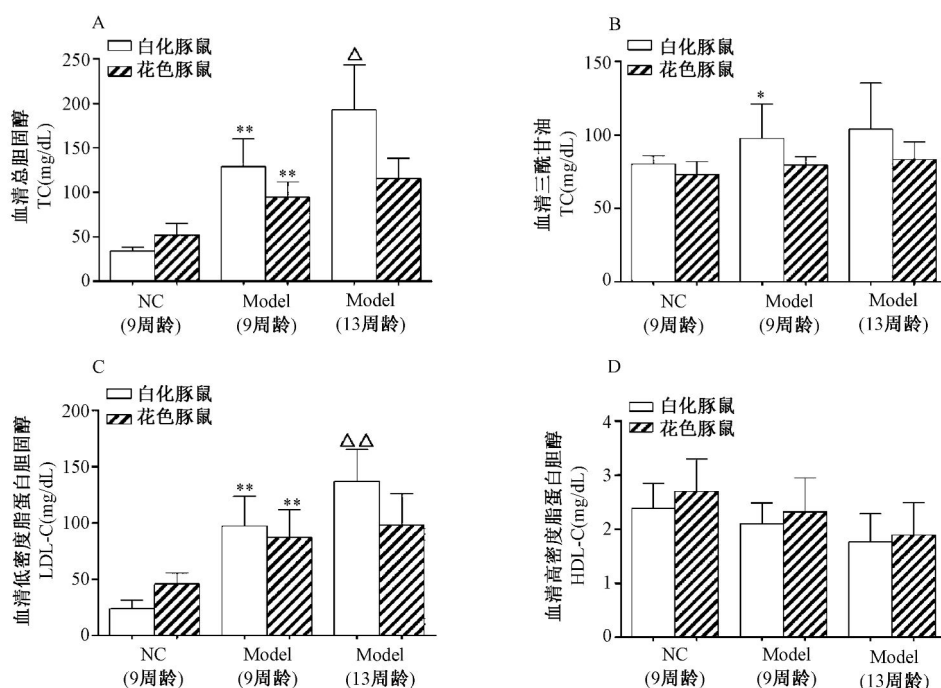


注:5 周龄和 9 周龄相比较, * $P < 0.05$, 白化豚鼠与花色豚鼠相比较, $\Delta P < 0.05$

图 1 白化豚鼠和花色豚鼠基础血脂水平比较结果

Note. 5-week-old compared with 9-week-old, * $P < 0.05$; Albino guinea pigs compared with pigment guinea pigs, $\Delta P < 0.05$

Fig. 1 Comparison of the lipid levels of TC, TG, HDL-C and LDL-C in albino guinea pigs and pigment guinea pigs.



注: * 与 NC(9 周龄)相比, $P < 0.05$; ** 与 NC(9 周龄)相比, $P < 0.01$; Δ 与 Model(9 周龄)相比, $P < 0.05$; $\Delta\Delta$ 与 Model(9 周龄)相比, $P < 0.01$ 。

图 2 白化豚鼠和花色豚鼠高脂血症模型的血脂水平比较结果

Note. * $P < 0.05$, compared with the NC group of 9-week-old guinea pigs; ** $P < 0.01$, compared with the NC group of 9-week-old guinea pigs; Δ $P < 0.05$, compared with the 9-week-old model group; $\Delta\Delta$ $P < 0.01$, compared with the 9-week-old model group.

Fig. 2 Comparison of blood lipid levels in the albino and pigment guinea pigs.

0.01), 与给药前相比分别下降了 43%、20% 和 42%, HDL-C 值较溶媒组显著升高, 与给药前相比升高了 36%; 花色豚鼠的 TC、TG、LDL-C 较给药前下降了 29%、10% 和 28%, HDL-C 升高了 17%; 可见两种豚鼠的 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平在同一药物作用下的变化幅度不同, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。因 13 周龄白化豚鼠高脂血症模型的基础血脂水平较花色豚鼠高, 匹伐他汀钙在白化豚鼠高脂血症模型中的实际降血脂幅度比在花色豚鼠中更高。

3 讨论

高脂血症通常是指血中 TC、TG 或 LDL-C 过高, 或 HDL-C 过低, 它是导致动脉粥样硬化的主要因素, 是心脑血管病发生发展的危险因素, 还可导致急性胰腺炎、脂肪肝、肝硬化、胆石症、胰腺炎、眼底出血、失明、周围血管疾病、跛行及高尿酸血症等众多相关疾病的发生^[8]。据卫生部在全国范围内进行的中国居民营养与健康状况调查显示, 我国高脂患病人数已高达 1.6 亿, 18 岁以上居民总患病

率为 18.6%^[9]。高脂血症已给社会经济带来巨大的负担。目前已上市降脂药主要包括他汀类、烟酸类、贝类、胆酸螯合剂类和多烯类, 尽管已有多种药物可供选择, 但临床上仍未能很好的解决混合型高脂血脂或其他异常血脂水平的治疗; 现有的混合型异常血脂, 尤其是 TG 和 HDL 异常的治疗药为数不多。因此, 亟待开发新型高脂血症治疗药物, 那么在新药开发过程中选择合适的动物模型对降脂药效学进行合理的评价也尤为重要。

豚鼠被认为是与人脂代谢最为相似的一种模型动物之一^[3], 主要表现为: (1) LDL-C 和 HDL-C 水平远高于仓鼠、兔、大鼠和小鼠, 与人类最为接近; (2) 主要通过 LDL 转运血浆胆固醇, 而大鼠等其他造模动物则是依赖 HDL 进行的; (3) 肝脏游离胆固醇和总胆固醇比例与人类相似, 且远远高于大鼠等模型动物; (4) 影响胆固醇和脂蛋白代谢关键酶与蛋白的表达活性与人类更为接近^[4]。因此, 豚鼠被广泛用作降脂药物药效学评价的模型动物; 其中, Dunkin Hartley 品种中的白化豚鼠和 Hartley 品种中的花色豚鼠较为常用, 但如何合理选用这两种

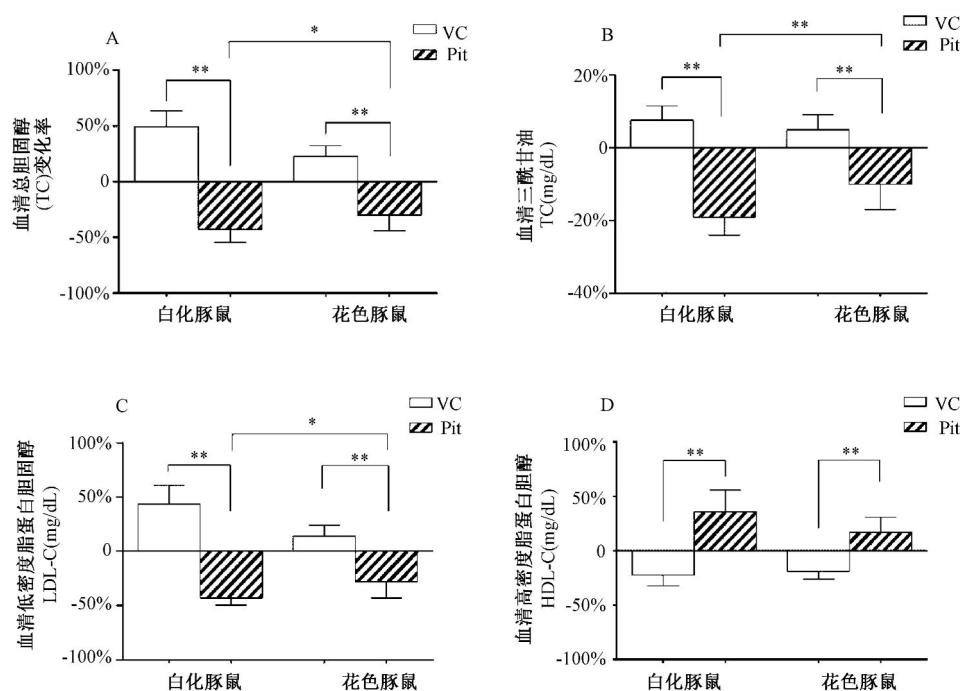


图3 匹伐他汀钙在白化豚鼠和花色豚鼠高脂血症模型中降脂作用比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Fig. 3 Comparison of the hypolipidemic effect of pitavastatin calcium

treatment on the lipid levels in albino and pigment guinea pigs with hyperlipidemia. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$

豚鼠尚未见文献报道。在新型降脂候选药物筛选过程中,正常豚鼠或经高脂饲料诱导的高脂血症豚鼠均可用于评价降脂作用。本课题首先比较研究了白化豚鼠和花色豚鼠这两种正常豚鼠的基础血脂水平,结果显示:白化豚鼠的 TC、LDL-C 和 HDL-C 均低于花色豚鼠,但 TG 均高于花色豚鼠;白化豚鼠血脂稳定,随周龄没有显著变化,花色豚鼠的 TC 和 LDL-C 在 9 周龄后才比较稳定。因此,在选用正常豚鼠评价降脂作用时,降 TG 或升 HDL-C 类药物宜选用白化豚鼠,5 周龄之后均可使用;降 TC 或 LDL-C 类药物宜选用花色豚鼠,9 周龄后方可使用。

高脂血症豚鼠模型常用含 0.04% 胆固醇的饲料诱导 4 周而成,该胆固醇含量相当于人类 300 mg/d 的摄入量^[10-11];此高脂饲料诱导法造成的血脂紊乱与人类过多摄入高脂饮食引起的高脂血症类似^[12]。本课题研究的白化豚鼠和花色豚鼠分别饲喂含 0.04% 胆固醇的高脂饲料 4 周后,血脂水平均出现了紊乱,成功造成了高脂血症模型;但两种豚鼠的血脂变化有所差别。对比结果显示,造模后白化豚鼠的 TC、TG 和 LDL-C 水平更高。进一步选用被誉为超级他汀的匹伐他汀钙作为阳性药物,比较研究两种高脂血症豚鼠模型评价降脂作用的差异。本课题组前期研究发现,匹伐他汀钙需持续给

药 4 周方能在豚鼠模型中发挥较好的降脂作用^[7],因此,本研究的药物治疗检测时间点设置为 4 周。结果显示,匹伐他汀钙在白化豚鼠高脂血症模型中降脂(TC、TG 和 LDL-C)幅度更大、升高 HDL-C 的作用更显著。在选用高脂血症豚鼠模型评价降脂作用时,宜选用白化豚鼠;主要原因是该模型在造模后的血脂紊乱水平更高,并且降脂药物对血脂的改善程度更能体现其临床药效,更加有利于筛选候选降脂药物。

目前国内外关于建立高脂模型的文献中,作者往往对选取的豚鼠模型品种没有系统的说明,只是统一性的选择了 Hartley 豚鼠,但是由于不同品种豚鼠具有不同的遗传特性,机体对于脂代谢的反应机理和程度也不尽相同,因此在建立高脂血症模型和评价降脂药效时对结果也会产生比较大的影响,我们的研究结果为不同品系豚鼠建立高脂血症模型或是进行降脂药效学的研究有所帮助。本课题对白化豚鼠和花色豚鼠这两种豚鼠的正常血脂水平、造成高脂血症模型后的血脂水平进行了较为系统的比较研究,且用这两种豚鼠的高脂血症模型考察了阳性药物的降脂作用,可为高脂血症治疗药物降脂药效学评价所用豚鼠的种类提供重要的参考。

参考文献:

- [1] Bahmani M, Mirhoseini M, Shirzad H, et al. A review on promising natural agents effective on hyperlipidemia [J]. J Evidence-Based Compl Altern Med, 2015, 12: 1 – 11.
- [2] 李大伟, 张玲, 夏作理. 建立高脂血症模型的动物选择与常用造模方法分析与改进 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(48): 145 – 147.
- [3] West KL, Fernandez ML. Guinea pigs as models to study the hypocholesterolemic effects of drugs [J]. Cardiovasc Drug Rev, 2004, 22(1): 55 – 70.
- [4] 李金莲, 杨润梅, 高南南. 豚鼠: 一种良好的高脂血症模型动物 [J]. 中国实验动物学报, 2009, 17(3): 239 – 242.
- [5] 施新猷. 现代医学实验动物学 [M]. 北京, 人民军医出版社, 2000: 100 – 101.
- [6] Aoki T, Yamazaki H, Suzuki T, et al. Cholesterol-lowering effect of NK-104, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitor, in guinea pig model of hyperlipidemia [J]. Arzneimittelforschung, 2001, 51(3): 197 – 203.
- [7] Xu CH, Fang DL, Chen X, et al. Effect of telmisartan on the therapeutic efficacy of pitavastatin in high-fat diet induced dyslipidemic guinea pigs [J]. Eur J Pharmacol, 2015, 6(5): 364 – 371.
- [8] 余林德, 陈占利. 中西医治疗高脂血症临床研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2014, 10(22): 35 – 38.
- [9] 杨晓光, 翟凤英, 朴建华. 中国居民营养现状调查 [J]. 中国预防医学杂志, 2010, 11(1): 5 – 7.
- [10] Conde K, Jimenez MV, Krause BR, et al. Hypocholesterolemic action of atorvastatin are associated with alterations on hepatic cholesterol metabolism and lipoprotein composition in the guinea pig [J]. J Lipid Res, 1996, 37: 2372 – 2382.
- [11] Kensaku M, Kenichi Y, Eisuke FS, et al. Enhanced oxidative stress in neutrophils from hyperlipidemic guinea pig [J]. Atherosclerosis, 2005, 181: 87 – 92.
- [12] Department of Health and Human Service. Scientific Report of the 2015 Dietary Guidelines Advisory Committee [R]. The United States: Dietary Guidelines Advisory Committee, 2015, 2.

[修回日期] 2015-08-14