

- noma[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(9):11379-11385.
- [18] Zhao Y, Wang M, Cui C, et al. Significance of combined tests of serum golgi glycoprotein 73 and other biomarkers in diagnosis of small primary hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Biomark, 2015, 15(5):677-683.
- [19] Liang R, Chen XY, Ge LY, et al. Meta-analysis supports the diagnostic value of GP73 in primary liver cancer[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2015, 39(5):68-69.
- [20] Bröker ME, Ijzermans JN, Witjes CD, et al. The predictive value of Golgi protein 73 in differentiating benign from ma-

lignant liver tumors[J]. PLoS One, 2014, 9(7):100187.

- [21] Dai M, Chen X, Liu X, et al. Diagnostic value of the combination of golgi protein 73 and Alpha-Fetoprotein in hepatocellular carcinoma; a Meta-Analysis [J]. PLoS One, 2015, 10(10):140067.
- [22] 李淑群, 陈谦, 喻亚群, 等. 肝细胞肝癌组织中 GP73 的表达变化[J]. 山东医药, 2011, 20(2):60-61.

(收稿日期:2016-08-30 修回日期:2016-11-02)

• 临床研究 •

腹腔注射四氧嘧啶对小鼠糖尿病造模条件的优化*

殷素会¹, 曹 兰¹, 刘佳霖¹, 沈克飞¹, 王小雄², 程 尚^{1△}

(1. 重庆市畜牧科学院 406420; 2. 西南大学荣昌校区, 重庆 406420)

摘要:目的 研究小鼠腹腔注射四氧嘧啶制备糖尿病模型的最佳方案。方法 观察小鼠性别、体质量、四氧嘧啶剂量的不同组合, 对造模成功率、致死率的影响。结果 选择体质量 18~<22 g 的雄性小鼠禁食 16 h, 120 mg/kg 四氧嘧啶腹腔注射, 获得成模率较高、致死率较低、血糖持续稳定的糖尿病小鼠模型。结论 筛选出较理想的腹腔注射四氧嘧啶对小鼠糖尿病的造模条件。

关键词:四氧嘧啶; 糖尿病模型; 小鼠

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.04.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)04-0526-03

随着我国人民生活水平的日渐提高, 糖尿病严重威胁到了我国人民的身心健康^[1-3], 治疗糖尿病的药物和糖尿病动物模型的研究也越来越多^[4]。临床制备糖尿病动物模型的方法有许多种, 如催肥致糖尿病动物模型、化学药物(四氧嘧啶、链脲佐菌素)致糖尿病模型^[5-7]和综合方法(高脂、高脂加链脲佐菌素或四氧嘧啶)致糖尿病动物模型^[8], 其中应用四氧嘧啶注射用药致小鼠糖尿病模型研究较为常见^[9]。四氧嘧啶给药途径包括小鼠尾静脉注射、腹腔注射和腹腔注射等方式^[10]。笔者在研究蜂王浆对高血糖影响时发现, 四氧嘧啶腹腔给药造成小鼠糖尿病模型成功率及稳定性与小鼠性别、体质量及四氧嘧啶剂量有很大的关系。以往研究的结果表明小鼠腹腔注射四氧嘧啶制造的糖尿病模型所用剂量不一, 也有结果表明四氧嘧啶造成的糖尿病模型, 即使不用药进行治疗经过一定时间后血糖也能恢复到正常范围^[11], 造成药物治疗的假阳性。因此, 为筛选应用四氧嘧啶注射小鼠制造高血糖模型小鼠成功率较高的方法, 笔者进行了如下研究, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 清洁级小鼠(11~40 g)购自重庆腾鑫比尔实验动物销售有限公司。

1.2 仪器与试剂 四氧嘧啶为 Sigma 公司产品, 血糖检验采用江苏鱼跃医疗设备有限公司悦准 III 型(510)家用血糖仪, 尿糖检验试纸为广州市花都高尔宝生物技术有限公司产品。生理盐水购自西安双鹤药业有限公司。

1.3 方 法

1.3.1 选取实验小鼠与分组 选取健康的不同体质量小鼠若干, 实验室条件下饲养 3 d, 第 3 天禁食 16 h 后测定体质量和空腹血糖及尿糖, 选取血糖低于 9 mmol/L 且尿糖阴性的雌雄各半小鼠共 126 只, 按性别、体质量随机分成高、中、低剂量组, 室温常规饲养。

1.3.2 剂量组设定 高、中、低剂量组分别按 200、120、50 mg/kg 腹腔注射四氧嘧啶(生理盐水溶解)。

1.3.3 造模 取小鼠, 禁食不禁水 16 h 后, 按设定剂量和浓度给予腹腔注射四氧嘧啶, 72 h 后由剪切尾尖采血, 按血糖检验试剂说明书的测定方法测定血糖, 同时测定尿糖(鼠尿可采取尿湿垫料加水浸泡离心液代替)。造模成功指标: 血糖浓度高于 15 mmol/L, 且尿糖为“++”以上者, 为造模成功的糖尿病小鼠。致死率=死亡小鼠数量/注射小鼠数量×100%; 成功率=造模成功小鼠数量/成活小鼠数量×100%。

1.3.4 稳定性观察 常规喂养糖尿病小鼠, 于 1 周和 2 周测定血糖及尿糖, 观察其变化。

2 结 果

造模后 3 d 内, 共有 37 只小鼠死亡。造模后第 3 天空腹血糖值>15 mmol/L 组小鼠出现明显的“三多一高”症状(多饮、多食、多尿、血糖增高), 并且有呆滞、皮毛松散、尿糖阳性、拒食和体质量减轻等症状。部分小鼠在实验后不久皮温降低 2~3 °C, 并在不同时期死亡, 见表 1~4。

* 基金项目:重庆市农发基金项目(14428)。

△ 通信作者, E-mail:694633208@qq.com。

表 1 雄性小鼠分组造模成功及死亡情况[n(%)]

组别	项目	不同体质量小鼠的情况		
		14~<18 g	18~<22 g	22~26 g
高剂量组	死亡	5(71.43)	3(42.86)	2(28.57)
	成功	2(100.00)	4(100.00)	2(40.00)
中剂量组	死亡	3(42.86)	1(14.29)	0(0.00)
	成功	4(100.00)	6(100.00)	5(71.43)
低剂量组	死亡	2(28.57)	0(0.00)	0(0.00)
	成功	2(40.00)	3(42.86)	2(28.57)

表 2 雌性小鼠分组造模成功及死亡情况[n(%)]

组别	项目	不同体质量小鼠的情况		
		14~<18 g	18~<22 g	22~26 g
高剂量组	死亡	6(85.71)	4(57.14)	1(14.29)
	成功	1(100.00)	3(100.00)	1(16.67)
中剂量组	死亡	4(57.14)	2(28.57)	1(14.29)
	成功	3(100.00)	5(100.00)	4(66.67)
低剂量组	死亡	2(28.57)	1(14.29)	0(0.00)
	成功	3(60.00)	2(33.33)	1(14.29)

表 3 造模雄性小鼠的空腹血糖及尿糖稳定性

组别	项目	雄性 1 组			雄性 2 组			雄性 3 组		
		2 d	10 d	20 d	2 d	10 d	20 d	2 d	10 d	20 d
高剂量组	血糖(mmol/L)	28.1	28.5	27.6	29.2	29.1	28.8	27.9	26.8	27.2
	尿糖	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
中剂量组	血糖(mmol/L)	22.4	21.9	22.1	24.2	23.9	22.8	21.1	20.6	20.6
	尿糖	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
低剂量组	血糖(mmol/L)	19.7	18.1	8.6	18.7	20.9	6.6	15.3	13.9	6.2
	尿糖	++	+	-	+	++	-	++	++	-

注:1 组为 14~<18 g;2 组为 18~<22 g;3 组为 22~26 g。

表 4 造模雌性小鼠的空腹血糖及尿糖稳定性

组别	项目	雌性 1 组			雌性 2 组			雌性 3 组		
		2 d	10 d	20 d	2 d	10 d	20 d	2 d	10 d	20 d
高剂量组	血糖(mmol/L)	27.2	27.1	26.3	26.8	27.5	26.3	25.7	26.8	25.5
	尿糖	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
中剂量组	血糖(mmol/L)	19.7	18.9	19.2	21.2	22.1	21.3	20.5	19.6	18.9
	尿糖	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
低剂量组	血糖(mmol/L)	12.9	13.6	7.2	18.6	15.7	7.2	16.9	15.2	7.8
	尿糖	++	+	-	+	++	-	++	++	-

注:1 组为 14~<18 g;2 组为 18~<22 g;3 组为 22~26 g。

3 讨 论

本实验主要探索不同性别、不同体质量的小鼠腹腔注射不同剂量的四氧嘧啶与糖尿病模型成型率的关系,并测定该模型的稳定性。雄性 18~<22 g 体质量高、中剂量组小鼠成模率为 100%,低剂量组成模率只有 42.86%;高剂量组致死率为 42.86%,中剂量组致死率为 14.29%,低剂量组致死率为 0.00%。雌性 18~<22 g 体质量高、中剂量组小鼠成模率为 100.00%,低剂量组成模率只有 33.33%;高剂量组致死率为 57.14%,中剂量组致死率为 28.57%,低剂量组致死率为 14.29%。

表 1 和表 2 结果表明,相同性别与剂量条件下,体质量越大,成功率和致死率越低。当空腹体质量大于 26 g 时,虽无死亡发生,但也不能造模成功,可能是体质量大的小鼠,胰腺细胞被四氧嘧啶破坏程度较小,导致造模不成功,但具体机制尚待进一步研究。此项结果与奚清丽等^[12]的研究结果不同,奚清丽等的实验结果是体质量在 27~29 g 的成功率高、致死率低。

造成差异的原因有待进一步研究;体质量越小,成功率和致死率越高,以体质量 18~<22 g 为最佳选择;性别与体质量相同条件下,剂量越大,成功率和致死率越高,剂量越小,成功率和致死率越低,以中等剂量为最佳选择;相同体质量与剂量条件下,雄性小鼠造模成功率均高于雌性小鼠且致死率明显低于雌性小鼠。性别对造模成功率和致死率的影响与奚清丽等^[12]的研究结果相同。

动物模型成模的稳定性结果表明,高、中剂量组模型的稳定性良好,20 d 内尿糖和血糖一直保持在较高水平,并且波动范围不大,而低剂量组在 10 d 内尿糖和血糖可保持较高水准,但 20 d 后则开始下降,甚至降至 9.0 mmol/L 以下,不能满足模型要求。

虽然小鼠血糖值在应激等条件下会有所波动,但在随机试验条件下,上述结果仍符合统计学标准,因此,可以得出结论:腹腔注射四氧嘧啶途径可以成功造成糖尿病模型,选择体质量 18~<22 g 的雄性小鼠禁食 16 h,120 mg/kg 四氧嘧啶腹腔注

射,可获得低致死率、高成模率、持续稳定的小鼠糖尿病模型。

参考文献

- [1] 徐瑜,毕宇芳,王卫庆,等. 中国成人糖尿病流行与控制现状——2010 年中国慢病监测暨糖尿病专题调查报告解读[J]. 中华内分泌代谢杂志,2014,30(3):184-186.
- [2] 赵世华,王颜刚,王萍,等. 山东沿海居民糖尿病及糖尿病前期患病率 5 年变迁研究[J]. 中华内分泌代谢杂志,2013,29(1):9-13.
- [3] 罗光成,易婷婷,柴震,等. 川东北地区体检人群糖尿病和糖尿病前期的流行率分析[J]. 国际检验医学杂志,2015(4):480-481.
- [4] 陈汉桂,郭厚基,覃艺,等. 荔枝核提取液对糖尿病小鼠模型血糖、血脂等相关指标的干预效应[J]. 中国临床康复,2006,20(7):79-81.
- [5] 高红莉,刘方永,夏作理. 实验性糖尿病动物模型的理论研究与应用[J]. 中国临床康复,2005,9(3):210-212.
- [6] 陈剑峰. 糖尿病动脉粥样硬化兔模型的建立[J]. 畜牧兽医科技信息,2009,25(10):36.
- [7] 陈潮江,周兴,孔桃红,等. 链脲佐菌素复制大鼠糖尿病神经源性膀胱模型[J]. 中国现代医学杂志,2013,23(32):18-21.
- [8] 高玲,陈琴,康丽娜,等. 糖尿病和非糖尿病动脉粥样硬化兔模型的建立[J]. 中国实验动物学报,2007,20(3):179-182.
- [9] 庄锡伟,杨安平,刘爱平. 不同剂量四氧嘧啶皮下注射对大鼠 2 型糖尿病模型稳定性的影响[J]. 卫生职业教育,2006,32(21):136-137.
- [10] 陈红艳,杨新波,王建华,等. 四氧嘧啶糖尿病小鼠模型的制备及影响因素[J]. 军事医学科学院院刊,2005,20(6):535-537.
- [11] 古筱茹. 不同剂量四氧嘧啶皮下注射对大鼠糖尿病模型稳定性的影响[J]. 现代医药卫生,2007,19(7):953.
- [12] 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,2011,22(4):18-20.

(收稿日期:2016-08-27 修回日期:2016-10-29)

• 临床研究 •

强生 VITROS 5.1 FS 生化分析仪 6 个血清酶项目的可报告范围验证

罗中兰,王丽馨,杨沛,李金密,邓少丽[△]

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所检验科,重庆 400042)

摘要:目的 验证丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、 α -淀粉酶(AMY)和 γ -谷氨酰转氨酶(GGT)6 个血清酶项目在强生 VITROS 5.1 FS 生化分析仪上的可报告范围。方法 根据 CLSI 的 EP6-A 文件的方法并参照美国强生公司提供的验证方案对 ALT、AST、ALP、LDH、AMY 和 GGT 可报告范围进行验证。选择高浓度、低浓度血清混合,用生理盐水作为稀释液,将高值血清按 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32 进行稀释,每个稀释浓度平行检测 2 次,取其均值作为检测值,计算检测值与预期值间偏倚,采用行业标准作为判断标准,以小于可接受最大偏倚的最大稀释倍数的结果为可报告范围。结果 ALT、AST、ALP、LDH、AMY 和 GGT 最大稀释倍数均为 1:8。可报告范围:ALT 为 6.0~921.6 U/L,AST 为 3.0~687.2 U/L,ALP 为 20.0~1 094.4 U/L,LDH 为 100.0~2 067.6 U/L,AMY 为 30.0~863.0 U/L,GGT 为 10.0~1 289.2 U/L。结论 强生 VITROS 5.1 FS 生化分析仪检测的 ALT、AST、ALP、LDH、AMY、GGT 可报告范围基本符合质量目标要求和厂商说明要求,满足临床检验的需求。

关键词:干化学; 性能验证; 可报告范围

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.04.037

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)04-0528-03

近年来,检验医学的技术飞速发展,全自动生化分析仪检测已经逐渐替代了原来的简单手工操作用于生物化学检测,不同系统的生化分析仪也成为了各医院检验科承担这一工作的重要配置。美国强生公司于 2006 年新推出的 VITROS 5.1 FS 自动生化分析仪属于生化免疫及干化学联合一体机。该自动生化分析仪每小时可进行 1 100 项生化检测和 150 项免疫检测。试剂仓也明显扩大;参比液盒容量由过去 350 型的 300 份/盒扩大到现在的 800 份/盒;试管离心后可直接上架,进行条码扫描,无需另外吸取到试剂杯内进行检测;加样吸头自动添加,无需手工上架;废片仓、废吸头仓容量扩大,不易出现堵片现象,提高了工作效率,减少了大量人工操作程序;无需

使用蒸馏水,没有废液排出,不涉及管道堵塞。本科室的干化学分析仪主要用于急诊检验^[1]。按照 ISO15189^[2]和原卫生部《医疗机构临床实验室管理办法》^[3]的要求,本实验室对强生 VITROS 5.1 FS 生化分析仪检测的丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、 α -淀粉酶(AMY)和 γ -谷氨酰转氨酶(GGT)可报告范围验证进行系统评价^[4],现将结果报道如下。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 检测仪器为强生 VITROS 5.1 FS 生化分析仪。试剂包括原装强生试剂 ALT、AST、ALP、LDH、AMY 和 GGT、质控品(低、中、高水平)、校准品。

[△] 通信作者,E-mail:dengshaoli@tmmu.edu.cn.