

链脲佐菌素联合高脂饲养诱导2型糖尿病大鼠模型的稳定性及其眼病特点

于洋¹, 郑石磊², 刘学政³(辽宁医学院附属第一医院, ¹导管室, ²放射线科, 辽宁省锦州市 121001; ³辽宁医学院解剖教研室, 辽宁省锦州市 121001)

文章亮点:

1 链脲佐菌素诱发大鼠糖尿病视网膜改变是一种较为成熟且常用的动物模型, 然而, 糖尿病眼部并发症是及其复杂的。因此, 寻找一种较为理想的且更符合临床糖尿病眼病特点的动物模型对于研究糖尿病眼病治疗及其机制具有重要意义。既往研究采用链脲佐菌素诱导的大鼠糖尿病眼病是一种较为成熟且常用的动物模型, 然而, 其病理改变较为局限且主要集中于视网膜的改变。

2 鉴于糖尿病眼部并发症是极其复杂的, 实验采用链脲佐菌素联合高脂饲养方法诱导糖尿病眼病大鼠模型, 结果显示该模型具有长期稳定性, 其糖尿病眼病的发生及发展与临床上糖尿病眼病的相关病理改变极为相似, 为临床及实验研究选择合适的动物疾病模型从而更为深入的探讨糖尿病眼病发病机制以及预防、早期治疗提供了可靠的理论依据。

关键词:

实验动物; 动物模型; 糖尿病; 糖尿病眼病; 链脲佐菌素; 高脂饲养; 超微结构; 视网膜铺片

主题词:

组织工程; 糖尿病; 动物模型; 视网膜

于洋, 1980年生, 辽宁省锦州市人, 汉族, 辽宁医学院在读硕士, 主管护师。

通讯作者: 刘学政, 博士, 辽宁医学院解剖教研室, 辽宁省锦州市 121001

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2015)27-04389-05

稿件接受: 2015-04-02

http://www.crter.org

摘要

背景: 目前链脲佐菌素诱导糖尿病眼病动物模型的研究较为常见, 但其病理改变较为局限且主要关注视网膜的改变, 关于与临床上糖尿病眼病病理改变密切相关的动物疾病模型报道较少。

目的: 探讨链脲佐菌素联合高脂饲养诱发大鼠 2 型糖尿病模型的长期稳定性及其眼病特点。

方法: 将大鼠随机分为正常对照组及糖尿病组, 正常对照组大鼠给予普通饲养, 糖尿病组大鼠通过腹腔注射链脲佐菌素联合高脂饲养制作糖尿病动物模型。

结果与结论: 与对照组比较, 建模后 1 个月, 糖尿病组大鼠空腹血糖水平增高, 胰岛素敏感指数降低($P < 0.05$); 伊文思蓝染色显示, 建模后 3 个月, 糖尿病组大鼠视网膜各层细胞病变加重; 建模后 5 个月, 糖尿病组大鼠视网膜血管走行迂曲、紊乱, 同时伴有渗漏, 视网膜伊文思蓝含量随建模后时间延长呈递增趋势($P < 0.05$)。透射电镜观察显示, 糖尿病组 5 个月大鼠晶状体呈片絮状等典型白内障改变。结果证实, 链脲佐菌素联合高脂饲养诱发大鼠糖尿病模型长期且稳定, 其眼病改变符合糖尿病眼病的特点, 是研究糖尿病眼病较为理想的动物模型。

于洋, 郑石磊, 刘学政. 链脲佐菌素联合高脂饲养诱导 2 型糖尿病大鼠模型的稳定性及其眼病特点[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(27):4389-4393.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.27.023

Stability of a rat model of type 2 diabetic mellitus induced by streptozotocin combined with high-fat feeding and its eye disease characteristics

Yu Yang¹, Zheng Shi-lei², Liu Xue-zheng³ (¹Catheterization Room, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China; ²Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China; ³Department of Anatomy, Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Streptozotocin-induced diabetic ophthalmopathy is commonly used in animal models, but the pathological changes are local that mainly emphasize on the retina. Little evidence is found about the animal models of the pathology of diabetic ophthalmopathy.

OBJECTIVE: To investigate the long-term stability of type 2 diabetic mellitus rat models induced by streptozotocin combined with high-fat feeding and to observe the characteristics of eye disease.

METHODS: Rats were randomly divided into control group and diabetes group. Control group was given normal feeding, while diabetes group was given intraperitoneal injection of streptozotocin combined with high-fat feeding to establish diabetic models.

RESULTS AND CONCLUSION: Compared with the control group, at 1 month after modeling, the fasting blood glucose levels increased, and the insulin sensitivity index decreased in the diabetic group ($P < 0.05$). Evans blue staining results showed that, at 3 months after modeling, retinal cell lesions exacerbated in the diabetic group; at 5 months after modeling, retinal blood vessels traveled in circuitry and disorderly, accompanied by the leakage in

Yu Yang, Studying for master's degree, Nurse in charge, Catheterization Room, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China

Correspondence author: Liu Xue-zheng, M.D., Department of Anatomy, Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China

Accepted: 2015-04-02

the diabetic group, Evans blue content in the retina increased as the time after modeling went by ($P < 0.05$). Under transmission electron microscopy, at 5 months after modeling, the eye lenses in the diabetes group were flocculent pieces, which were the typical characteristics of cataract. Experimental findings indicate that the rat model of type 2 diabetic mellitus induced by streptozotocin combined with high-fat feeding has a long-term stability, and its eye changes are consistent with the characteristics of diabetic ophthalmopathy. Therefore, it is an ideal animal model for diabetic ophthalmopathy.

Subject headings: Tissue Engineering; Diabetes Mellitus; Animal Model; Retina

Yu Y, Zheng SL, Liu XZ. Stability of a rat model of type 2 diabetic mellitus induced by streptozotocin combined with high-fat feeding and its eye disease characteristics. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2015;19(27):4389-4393.

0 引言 Introduction

随着人们生活水平不断提高, 世界范围内糖尿病的发病率逐年增长, 发生眼部并发症甚至致盲的人数也在不断增加^[1-3]。在中国, 糖尿病眼病的发生率及其导致的致盲率同样呈逐年递增趋势, 其对患者的生存和生命质量都产生了严重影响^[4]。链脲佐菌素是最常用的诱发动物糖尿病的药物, 是从无色链霉菌经培养、生长后提取出的一种广谱抗生素, 链脲佐菌素有抗菌、抗肿瘤和诱导糖尿病的不良反应。大鼠糖尿病模型的制备多采用链脲佐菌素诱导, 其对胰岛 β 细胞具有高度选择性的毒性作用, 进而引起实验性糖尿病^[5]。链脲佐菌素最早用于治疗肿瘤, 后来发现其对胰岛 β 细胞还具有特异性杀伤作用, 有诱发糖尿病的不良反应^[6]。诱导的糖尿病SD大鼠模型是用于研究糖尿病眼病发病机制及转归的常用模型。链脲佐菌素含亚硝基化合物, 能特异性破坏胰岛 β 细胞, 可通过诱导一氧化氮的合成增加对胰岛 β 细胞的氧化侵袭, 这与1型糖尿病发病时体内氧化侵袭增加相类似。近来研究表明在糖尿病的发生和发展中, 胰岛 β 细胞调亡起着非常重要的作用^[7]。自1960年开始链脲佐菌素诱发动物糖尿病模型以来, 链脲佐菌素已经成为目前广泛采用的糖尿病动物模型化学诱导剂。

腹腔注射法建立大鼠糖尿病动物模型是目前一种较常用的研究糖尿病的方法, 但是关于糖尿病眼病则主要集中于对视网膜病变的研究^[8]。然而, 糖尿病眼部并发症是极其复杂的, 在视网膜病变基础上通常伴有其他病理改变, 如糖尿病性白内障、青光眼等^[9-10], 其中糖尿病性白内障已成为糖尿病并发症中仅次于视网膜病变的第2大眼病^[10]。鉴于糖尿病眼部并发症的复杂性, 探寻一种更符合临床糖尿病眼病特点的动物模型对于研究糖尿病眼病机制及其治疗具有重要意义。

实验通过链脲佐菌素腹腔注射联合高脂饲养诱发糖尿病大鼠模型, 观察其长期稳定性及眼病的特点, 为进一步临床及实验应用提供理论依据。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 随机对照动物模型实验。

时间及地点: 于2014年5月至12月在辽宁医学院动物实验室完成。

材料:

实验动物: 健康8-12周龄雄性SD大鼠80只, 体质量

(203±17) g, 由辽宁医学院实验动物中心提供, 合格证号: SCXK(辽)2009-0004。

构建糖尿病大鼠模型相关试剂及仪器:

试剂及仪器	公司
链脲佐菌素、伊文思蓝	美国Sigma公司
柠檬酸、柠檬酸钠	武汉博士德生物工程公司
胰岛素放免试剂盒	北京市福瑞生物工程公司
荧光显微镜, BX50NIKON光学显微镜	日本尼康公司
平推式切片机SM2400, 解剖显微镜	德国Leica公司
血糖仪及试纸	美国强生公司

方法:

分组及糖尿病模型大鼠的建立: 尿糖在“+++”以上, 血糖高于16.65 mmol/L为建模成功标准。SD大鼠均经检查眼前节、晶状体无任何病理改变, 尾静脉采血后经血糖仪检测血糖均在正常值范围以内。实验前大鼠适应性饲养1周, 随机分为正常对照组20只及糖尿病组60只, 设1, 3, 5个月3个亚组, 每亚组各20只。大鼠糖尿病模型建立参考梁海霞等^[11-15]报道的方法并加以改良: 正常对照组以普通饲料喂养, 糖尿病组高脂饲料喂养, 高脂饲料为普通饲料中加入25%脂肪和25%蔗糖, 糖尿病组大鼠在高脂饲料喂养4周后禁食不禁水12 h, 称质量后按50 mg/kg一次性于左下腹腔注射配制的链脲佐菌素液(链脲佐菌素溶于柠檬酸钠-柠檬酸溶液中制成0.1 mol/L, pH值约为4.3的缓冲溶液), 对照组大鼠腹腔注射50 mg/kg的柠檬酸钠-柠檬酸缓冲溶液。注射后72 h, 测量大鼠血糖及尿糖, 血糖> 16.7 mmol/L, 即为糖尿病大鼠模型, 实验期间糖尿病组大鼠继续以高脂饲料喂养, 正常对照组大鼠以普通饲料喂养。

相关血液生化指标检测: 注射链脲佐菌素后各时间点分别采用己糖激酶法测定大鼠空腹血糖, 全自动生化仪检测血脂, 放射免疫试剂盒测定血清中胰岛素含量并计算胰岛素敏感指数($ISI = 22.5 / [\text{空腹血糖值} \times \text{胰岛素含量}]$)^[16]。此外, 实验期间随时观察大鼠的毛色、活动、进食、饮水等一般情况。

视网膜及晶状体电镜检查: 建模后1, 3, 5个月分别随机抽取对照组及糖尿病组大鼠各7只, 麻醉后摘取眼球并小心分离, 将含视网膜的眼杯放入体积分数2.5%戊二醛中固定, 体积分数1%四氧化锇固定, 乙醇和丙醇逐级梯度脱

水, 环氧树脂浸透包埋眼杯、切片, 醋酸铀-枸橼酸铅双染色切片后透射电镜下观察并拍片。取大鼠晶状体, 用体积分数0.4%戊二醛磷酸缓冲液固定, 体积分数1%四氧化锇固定, 梯度乙醇脱水, 包埋剂渗透包埋、切片, 醋酸铀与枸橼酸铅双重染色, 置于透射电镜下观察。

伊文思蓝视网膜铺片: 将伊文思蓝用生理盐水溶解, 制成质量浓度为30 g/L的溶液, 加入肝素钠, 震荡、过滤后, 置于4℃下冷藏备用。于建模后1, 3, 5个月分别随机抽取糖尿病组及对照组大鼠各6只, 麻醉并分离颈静脉, 按50 mg/kg由大鼠右颈静脉缓慢注入伊文思蓝溶液, 待眼球、嘴及四肢均变为蓝色时终止注射。摘取眼球, 甲醛固定, 解剖显微镜下去除眼前节及玻璃体, 小心分离出完整视网膜组织, 将其放射状剪为四瓣, 立即置于载破片上, 在荧光显微镜下观察视网膜血管形态并拍片。

视网膜伊文思蓝含量测定: 将伊文思蓝溶于甲酰胺中, 将甲酰胺溶液做为对照, 制作伊文思蓝含量标准曲线。于建模后1, 3, 5个月分别随机抽取糖尿病组及对照组大鼠各7只, 麻醉后由右颈静脉缓慢注入伊文思蓝溶液, 待眼球、四肢变蓝色时将10 g/L多聚甲醛由左心室灌注, 摘取眼球, 在显微镜下小心取出视网膜, 晾干后称量视网膜质量。将视网膜与甲酰胺孵育, 高速低温离心取上清液, 酶标仪测定紫外线波长($A_{620\text{ nm}/740\text{ nm}}$)下样品的吸光度值并取其差值, 每一样品测量3次, 根据标准曲线计算出视网膜中的伊文思蓝含量, 用视网膜干质量(mg)标准化伊文思蓝(ng)含量。

主要观察指标: 各组血液生化指标及晶状体超微结构的变化。

统计学分析: 采用SPSS 16.0统计软件对相关参数进行统计学分析, 各组计量资料均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间均数差异的比较采用单因素方差分析及SNK-q检验, $P < 0.05$ 示差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验过程中, 造模不成功或死亡大鼠均按严格实验条件予以补充。最终80只大鼠进入结果分析。建模流程图见图1。

2.2 大鼠糖尿病相关生化指标变化及一般情况 实验期间各组大鼠空腹血糖值、胰岛素含量、胰岛素敏感指数、三酰甘油及总胆固醇指标变化情况见表1。各糖尿病组大鼠造模成功率100%(60/60), 自链脲佐菌素注射后3 d大鼠出现多饮、多食及多尿等症状持续整个实验过程, 建模后1个月, 大鼠各指标出现异常, 空腹血糖值、胰岛素含量、三酰甘油及总胆固醇呈逐渐上升趋势、胰岛素敏感指数呈逐渐下降趋势至实验结束。建模后1个月, 大鼠稍有消瘦, 毛色萎黄干燥加重, 呈明显的“三多一少”症状。建模后3个月, 大鼠明显消瘦, 倦怠迟钝, 晶体出现混浊。建模后5个月, 大鼠极度消瘦, 呈皮包骨头, 且精神萎靡不振, 出现食欲不振, 但饮水量及尿量明显增加, 行动迟缓, 无死亡大鼠。随着病

程进展, 糖尿病组大鼠逐渐出现毛色失去光泽、脱毛、活动减少和伤口易感染等现象, 1只出现烂尾情况。

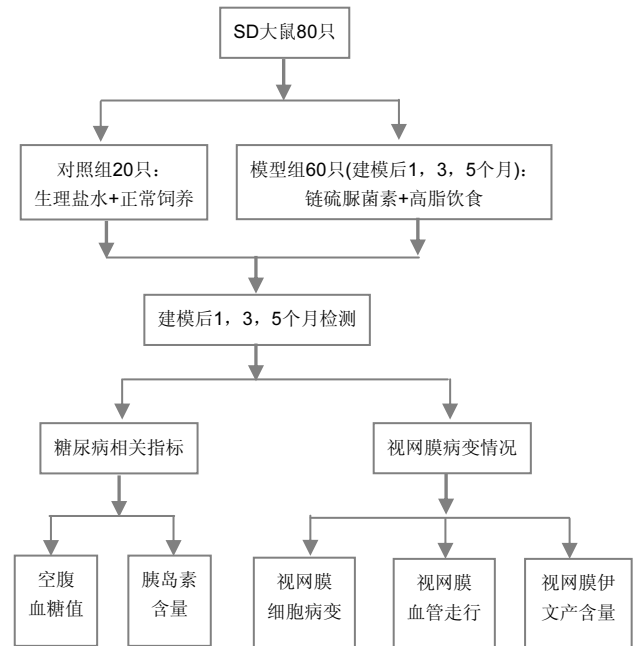


图1 建模流程图

Figure 1 Flowchart of establishing models

2.3 大鼠视网膜和晶状体超微结构改变 对照组大鼠视网膜细胞及神经节细胞形态规整, 胞质丰富, 膜盘清晰, 各层细胞染色质较均匀; 糖尿病组建模后1个月92.8%(13/14眼)视网膜及神经节细胞胞质内可见少量线粒体出现空泡, 部分膜盘结构模糊, 间隙略增大, 内皮细胞未见明显增生, 另外1眼除视网膜、神经节细胞胞质出现空泡及膜盘间隙增大外, 还存在少量内皮细胞增生; 糖尿病组3个月85.7%(12/14眼)视网膜及神经节细胞形态不规则、胞质线粒体空泡样变增多, 同时出现毛细血管基底膜不连续, 内皮细胞轻度增生, 膜盘间隙增宽, 另外2眼的视网膜、神经节细胞空泡样变稍增多, 毛细血管基底膜较连续; 糖尿病组建模后5个月100%(14/14眼)视网膜毛细血管基底膜连续性中断, 内皮细胞增生并突起, 胞质内大量线粒体变性, 膜盘溶解, 各层细胞排列及结构紊乱。对照组大鼠晶状体镜下纤维排列整齐、界限清, 其内基质呈均质无结构状, 随着病程进展, 糖尿病组大鼠晶状体纤维肿胀, 中突与侧突形态不规则, 纤维界限模糊、消失, 基质呈片絮状改变, 糖尿病组建模后5个月100%(14/14眼)表现最为明显。

2.4 伊文思蓝视网膜铺片及其含量测定 对照组与糖尿病组1个月100%(12/12眼)视网膜血管形态、走行较规整, 无明显渗漏; 糖尿病组3个月83.3%(10/12眼)视网膜形态发生改变, 走行迂曲, 管径粗细不等, 出现少量渗漏, 另外2眼无明显渗漏; 糖尿病5个月100%(12/12眼)视网膜血管明显迂曲、紊乱, 出现大量渗漏。对照组、糖尿病1, 3, 5个月大鼠视网膜伊文思蓝含量分别为(5.87 ± 0.96), (14.62 ± 2.74), (19.92 ± 2.98)及(25.74 ± 3.04) $\mu\text{g/g}$, 糖尿病组大鼠各时间点视网膜伊文思蓝含量均高于对照组($P < 0.05$)。

表1 各组大鼠空腹血糖值、胰岛素含量、胰岛素敏感指数、三酰甘油及总胆固醇变化情况

(x±s)

Table 1 Comparison of fasting blood glucose, insulin content, insulin sensitivity index, triacylglycerol and total cholesterol in each group

组别	空腹血糖值(mmol/L)	胰岛素含量(mU/L)	胰岛素敏感指数	三酰甘油(mmol/L)	总胆固醇(mmol/L)
对照组	4.68±0.56	22.74±3.26	0.211±0.07	0.61±0.10	1.48±0.16
糖尿病组(建模后时间)					
1个月	20.32±2.78 ^a	18.95±2.64 ^a	0.058±0.03 ^a	0.85±0.12 ^a	1.86±0.21 ^a
3个月	21.96±3.02 ^a	14.71±2.73 ^a	0.068±0.04 ^a	0.98±0.09 ^a	2.08±0.32 ^a
5个月	22.74±3.13 ^a	12.52±2.08 ^a	0.079±0.06 ^a	1.14±0.15 ^a	2.85±0.58 ^a

表注: 与对照组相比, ^aP < 0.05。

3 讨论 Discussion

3.1 链脲佐菌素联合高脂饲养后大鼠血液生化指标及一般情况的变化 链脲佐菌素对于胰岛β细胞有着特异毒性作用, 因此被用作治疗临床上无法手术的胰岛癌患者, 同时, 链脲佐菌素还在科学研究中长期用于诱发糖尿病动物模型。链脲佐菌素诱发的糖尿病动物模型其视网膜改变具备临床上典型的糖尿病性视网膜病变特点, 而糖尿病眼病不仅仅存在视网膜病变, 还常合并糖尿病性白内障等其他病变^[17-18]。实验采用链脲佐菌素联合高脂饲养观察实验期间糖尿病性大鼠的稳定性及不同时间点诱发的糖尿病眼病特点。注射链脲佐菌素后2周, 糖尿病组各大鼠空腹血糖值均升高至19 mmol/L以上, 胰岛素敏感指数则明显下降, 各时间点与对照组比较差异均具有显著性意义, 糖尿病组大鼠早期胰岛素敏感性降低, 出现胰岛素抵抗情况, 同时血清三酰甘油、总胆固醇升高, 上述生化指标改变均持续到实验结束; 同时, 实验期间糖尿病组各大鼠多饮、多食及多尿等症状持续存在, 体质量较明显减轻。在糖尿病发生、发展过程中, 血脂升高能够进一步诱发胰岛素抵抗, 主要包括三酰甘油的增加以及高密度脂蛋白的降低, 而且血脂水平的高低与糖尿病眼病的严重程度密切相关, 临床上糖尿病患者往往合并一定程度的脂代谢异常, 如高脂血症等^[19-20]。在本实验期间, 链脲佐菌素联合高脂饲养的糖尿病大鼠模型各生化指标稳定, 症状亦符合糖尿病的临床表现。

3.2 糖尿病大鼠不同时期视网膜及晶状体的电镜特点 实验视网膜透射电镜结果显示, 糖尿病1个月时大鼠视网膜及晶状体出现轻微病理改变, 主要表现为视网膜上皮细胞及神经节细胞质内一些线粒体出现空泡改变, 膜盘模糊, 这与既往研究结果相似, 即糖尿病早期阶段视网膜就发生了病理改变^[21-22]; 同时, 糖尿病组大鼠晶状体纤维、中突及侧突形态不规则, 纤维断面形态紊乱, 界限不清, 其内基质已为片絮状网格样改变。随着病程延长, 糖尿病组大鼠建模第3个月时视网膜及晶状体病理改变加重, 视网膜毛细血管基底膜连续性中断, 内皮细胞明显增多、呈指状突起, 视网膜上皮细胞及神经节细胞质大量线粒体空泡样变性, 建模5个月时膜盘溶解, 晶状体混浊。由于糖尿病患者醛糖还原酶活性和氧化应激水平增高以及抗氧化水平降低, 从而加速了白内障的发展, 尤其是在糖尿病眼病患者中^[23-25]。建模3个月时有30%的大鼠出现眼底病变, 5个月

时100%大鼠出现眼底病变。且双目浑浊率为100%。实验电镜结果说明, 在糖尿病病程初期, 视网膜、神经节细胞超微结构就已出现了一定的病理变化, 随着病程进展, 视网膜等细胞病理改变不断加重, 同时, 晶状体的改变亦逐渐符合临床糖尿病性白内障的典型征象^[26]。

3.3 各时间段伊文思蓝在糖尿病大鼠视网膜中含量的变化 伊文思蓝是一种偶氮染料制剂, 在血液中与血浆白蛋白有很强的亲和力, 既往研究表明, 伊文思蓝视网膜铺片能够较为直观的检测动物模型视网膜血管形态学变化^[27]。实验伊文思蓝视网膜铺片均较为清晰观察到各组大鼠视网膜血管形态及结构, 糖尿病组大鼠建模1个月时视网膜血管形态及分布与对照组相近, 无渗漏情况, 随着病程进展, 糖尿病组大鼠视网膜血管逐渐出现不规则狭窄、扩张, 走行迂曲, 出现大量渗漏。同时, 实验通过检测糖尿病大鼠视网膜血管内伊文思蓝的含量来衡量血-视网膜通透性的改变, 进而评价视网膜功能情况^[28]。随着病程进展, 糖尿病组大鼠视网膜伊文思蓝含量呈递增趋势, 与对照组比较差异均具有显著性意义。结合实验电镜结果, 糖尿病组大鼠视网膜血管病理改变的出现晚于视网膜细胞的病理改变, 通常血-视网膜屏障功能的改变以及葡萄糖跨血-视网膜转运障碍出现于视网膜血管形态改变之前^[29-30], 晶状体的病理改变则随着病程逐渐加重, 这也符合了临床上糖尿病眼病的发生、发展规律。

在造模过程中, 链脲佐菌素溶液必须现用现配, 4℃保存, 应保证大鼠足够的饮食及饮水量, 食物不足大鼠容易互相啃食, 饮水量如果不足, 大鼠也容易死亡。进行腹腔内注射及血液采集时注意消毒, 局部可涂金霉素软膏以避免感染。建模后的大鼠排尿量多, 每日应更换垫料2次, 以保证干燥。

综上所述, 实验采用链脲佐菌素联合高脂饲养诱导的糖尿病大鼠模型具有长期稳定性, 其糖尿病眼病的发生以及随着病程不断发展而进展, 与临床糖尿病眼病的相关病理改变极为相似, 为临床及实验研究中选择合适的动物疾病模型进一步探讨糖尿病眼病发生、发展机制以及预防、早期治疗提供了理论依据。

致谢: 感谢刘学政教授给予实验的指导; 感谢辽宁医学院动物实验中心的各位教师的悉心指导和关怀; 感谢辽宁医学院张博、

屈慧莹同学给予本次实验的积极协助。

作者贡献: 于洋在本实验中主要进行大鼠的饲养及造模工作, 郑石磊主要进行视网膜铺片及伊文思蓝含量的测定及视网膜超微结构的观察。刘学政主要负责研究的设计与论文的撰写的指导。

利益冲突: 文章内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 实验为基础实验, 实验过程中对动物的处置应符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

学术术语: 糖尿病性视网膜病-是糖尿病性微血管病变中最严重的表现, 是一种具有特异性改变的眼底病变是糖尿病的严重并发症之一。临床上根据是否出现视网膜新生血管为标志, 将没有视网膜新生血管形成的糖尿病性视网膜病称为非增殖性糖尿病性视网膜病(或称单纯型或背景型), 而将有视网膜新生血管形成的糖尿病性视网膜病称为增殖性糖尿病性视网膜病。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Vidhya G, Anusha B. Diaretinopathy database -A Gene database for diabetic retinopathy. *Bioinformation*. 2014;10(4): 235-240.
- [2] Hartstra W W, Holleman F, Hoekstra JB, et al. Screening for diabetic retinopathy. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2007;151(4): 228-233.
- [3] Ibrahim MA, Annam RE, Sepah YJ, et al. Assessment of oxygen saturation in retinal vessels of normal subjects and diabetic patients with and without retinopathy using Flow Oximetry System. *Quant Imaging Med Surg*. 2015;5(1):86-96.
- [4] 许迅, 邹海东. 糖尿病视网膜病变的社区筛查和防治[J]. *中国眼耳鼻喉*, 2008,(5):276-279.
- [5] Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni M V. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother Rep*. 1963;29:91-98.
- [6] 施沃栋, 王志良, 罗敏, 等. 链脲佐菌素诱导糖尿病大鼠模型视网膜形态学改变的观察[J]. *眼科新进展*, 2008,(8):583-585.
- [7] Lupi R, Dotta F, Marselli L, et al. Prolonged exposure to free fatty acids has cytostatic and pro-apoptotic effects on human pancreatic islets: evidence that beta-cell death is caspase mediated, partially dependent on ceramide pathway, and Bcl-2 regulated. *Diabetes*. 2002;51(5):1437-1442.
- [8] Buch H, Vinding T, Nielsen NV. Prevalence and causes of visual impairment according to World Health Organization and United States criteria in an aged, urban Scandinavian population: the Copenhagen City Eye Study. *Ophthalmology*. 2001;108(12):2347-2357.
- [9] Chernykh VV, Varvarinsky EV, Smirnov EV, et al. Proliferative and inflammatory factors in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Indian J Ophthalmol*. 2015; 63(1):33-36.
- [10] Threatt J, Williamson JF, Huynh K, et al. Ocular disease, knowledge and technology applications in patients with diabetes. *Am J Med Sci*. 2013; 345(4):266-270.
- [11] 梁海霞, 原海燕, 李焕德, 等. 高脂饲养联合低剂量链脲佐菌素诱导的2型糖尿病大鼠模型稳定性观察[J]. *中国药理学通报*, 2008,(4): 551-555.
- [12] Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, et al. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res*. 2005;52(4):313-320.
- [13] Ulas M, Orhan C, Tuzcu M, et al. Anti-diabetic potential of chromium histidinate in diabetic retinopathy rats. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15(1):16.
- [14] Shinde UA, Goyal RK. Effect of chromium picolinate on histopathological alterations in STZ and neonatal STZ diabetic rats. *J Cell Mol Med*. 2003;7(3):322-329.
- [15] Sreejayan N, Dong F, Kandadi MR, et al. Chromium alleviates glucose intolerance, insulin resistance, and hepatic ER stress in obese mice. *Obesity*. 2008;16(6):1331-1337.
- [16] Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-419.
- [17] 韩冰, 李璇, 梁国强, 等. STZ-CFA加饲高脂诱导的糖尿病大鼠模型及其眼病特点[J]. *眼科新进展*, 2005,(4):328-330.
- [18] Sayin N, Kara N, Pekel G. Ocular complications of diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2015;6(1):92-108.
- [19] Giansanti R, Rabini RA, Romagnoli F, et al. Coronary heart disease, type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease risk factors: a study on a middle-aged and elderly population. *Arch Gerontol Geriatr*. 1999;29(2):175-182.
- [20] Yan Z, Liu Y, Huang H. Association of glycosylated hemoglobin level with lipid ratio and individual lipids in type 2 diabetic patients. *Asian Pac J Trop Med*. 2012;5(6):469-471.
- [21] Antonetti DA, Barber AJ, Bronson SK, et al. Diabetic retinopathy: seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes*. 2006;55(9):2401-2411.
- [22] Thangaraju P, Chakrabarti A, Banerjee D, et al. Dual blockade of Renin Angiotensin system in reducing the early changes of diabetic retinopathy and nephropathy in a diabetic rat model. *N Am J Med Sci*. 2014;6(12):625-632.
- [23] Obrosoca IG, Kador PF. Aldose reductase/polyol inhibitors for diabetic retinopathy. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011;12(3):373-385.
- [24] Madsen-Bouterse SA, Kowluru RA. Oxidative stress and diabetic retinopathy: pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *Rev Endocr Metab Disord*. 2008;9(4): 315-327.
- [25] Hegde KR, Varma SD. Combination of glycemic and oxidative stress in lens: implications in augmentation of cataract formation in diabetes. *Free Radic Res*. 2005;39(5):513-517.
- [26] Thiraphatthanavong P, Wattanathorn J, Muchimapura S, et al. The combined extract of purple waxy corn and ginger prevents cataractogenesis and retinopathy in streptozotocin-diabetic rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2014.
- [27] Lara-Castillo N, Zandi S, Nakao S, et al. Atrial natriuretic peptide reduces vascular leakage and choroidal neovascularization. *Am J Pathol*. 2009;175(6):2343-2350.
- [28] Fernandez DC, Sande PH, Chianelli MS, et al. Induction of ischemic tolerance protects the retina from diabetic retinopathy. *Am J Pathol*. 2011;178(5):2264-2274.
- [29] Rajah TT, Olson AL, Grammas P. Differential glucose uptake in retina- and brain-derived endothelial cells. *Microvasc Res*. 2001;62(3):236-242.
- [30] Angulo C, Maldonado R, Pulgar E, et al. Vitamin C and oxidative stress in the seminiferous epithelium. *Biol Res*. 2011; 44(2):169-180.