

## 巴马小型猪糖尿病前期血脂和血液流变学变化分析

苏小华<sup>1</sup>, 那顺巴雅尔<sup>1\*</sup>, 邓俊成<sup>2</sup>, 吕明<sup>2</sup>

(1. 广东医科大学实验动物中心, 东莞 523808; 2. 东莞松山湖明珠实验动物科技有限公司, 东莞 523808)

**摘要:** 为研究巴马小型猪糖尿病前期对血脂和血液流变学的影响, 对正常巴马小型猪和糖尿病前期小型猪的血脂和血液流变学指标进行了检测, 并进行糖耐量实验。结果表明, 血脂四项检测中血总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇糖尿病前期组均高于正常对照组 ( $P<0.05$ )。血液流变学指标检测中活化部分凝血酶原时间出现延长 ( $P<0.05$ )。其他检测指标无明显差异。实验显示, 巴马小型猪糖尿病前期已出现血脂紊乱和部分血液流变学指标的改变。因此糖尿病前期患者在控制血糖的同时, 应控制血脂, 降低血黏度, 以预防或减少糖尿病的发生。

**关键词:** 巴马小型猪; 糖尿病前期; 血脂

中图分类号: S858.28

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2019)05-0796-04

### Analysis of blood lipid and hemorheology in Bama miniature pigs during pre-diabetic

SU Xiaohua<sup>1</sup>, NASHUN Bayaer<sup>1</sup>, DENG Juncheng<sup>2</sup>, LYU Ming<sup>2</sup>

(1. Laboratory Animal Center, Guangdong Medical University, Dongguan 523808;

2. Pearl Lab Animal Sci & Tech Co. Ltd., Dongguan 523808)

**Abstract:** To investigate the characteristics of blood lipid and hemorheology in Bama miniature pigs during pre-diabetic. The blood lipid and hemorheology index of normal Bama miniature pigs and pre-diabetic miniature pigs were tested, and the sugar tolerance test was performed. Results: the cholesterol total, high density lipoprotein cholesterol and low density lipoprotein cholesterol in the prediabetes group were all higher than those of the normal control group ( $P<0.05$ ) in the four items of blood lipid tests. In the test of hemorheology index, the time of activating partial prothrombin prolonged ( $P<0.05$ ). There was no obvious abnormality in other test index. Conclusion: dyslipidemia and some changes in hemorheology have occurred in Bama miniature pigs during pre-diabetic. Therefore, while controlling blood sugar, pre-diabetic patients should control blood lipids, reduce blood viscosity, to prevent or reduce the incidence of diabetes.

**Key words:** Bama mini-pigs; prediabetic state; blood lipids

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是一种以慢性血葡萄糖水平升高为特征的代谢型疾病<sup>[1-2]</sup>。2017年国际糖尿病联盟 (IDF) 发布了全球糖尿病地图 (第八版)<sup>[3]</sup>, 数据显示全球糖尿病患者人数为 4.25 亿, 并预计 2045 年患病人数会接近 7 亿。与此同时, 我国糖尿病患者人数 2015 年已经超过了 1 亿, 2040 年预计将会达到 1.5 亿<sup>[4]</sup>。早在 2004 年我国糖尿病患者花费的卫生费用为 574.69 亿元, 是非糖尿病患者的 2.5 倍<sup>[5]</sup>。由此可以看出, 糖尿病的发生给个人带来严重危害的同时给家庭和社会也带来了沉重的

负担。对糖尿病前期人群进行适当干预可以显著延迟或预防糖尿病的发生。因此, 糖尿病前期是糖尿病预防控制的重点和关键期<sup>[6]</sup>。本项目采用巴马小型猪作为实验对象, 通过 ENU 诱变剂筛选建立大型哺乳动物基因突变模型和人类疾病动物模型。前期工作中已筛选出人类瓦氏综合征 II 型疾病模型、隐形耳聋模型、眼皮肤白化综合症 II 模型和斑色鱼鳞癣症模型等人类疾病动物模型<sup>[7]</sup>。该项目在后期筛选过程获得一头血糖异常的种公猪 (空腹血糖  $FPG \geq 6.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 同一环境下的普通正常巴马

收稿日期: 2019-01-21

基金项目: 广东省科技计划 (2016A030303056) 资助。

作者简介: 苏小华, 博士。E-mail: xiaohuas08@126.com

\* 通信作者: 那顺巴雅尔, 博士, 高级实验师。E-mail: nashunbayaer08@163.com

小型猪的空腹血糖水平为 2.0~3.5 mmol·L<sup>-1</sup>。利用这种公猪, 采取近亲交配的方式组建家系, 目前已繁育至 F 5 代<sup>[9-10]</sup>。在建系过程中本实验室获得了一批糖尿病前期小型猪。本实验对培育的糖尿病前期小型猪血脂异常和血流变指标的改变进行分析和讨论, 为实验小型猪作为理想的糖尿病模型提供数据基础, 从而更好的为糖尿病的防止和转归服务。

## 1 材料与方法

实验所用巴马小型猪均产东莞松山湖明珠实验动物科技有限公司, 实验动物生产许可证号: [SCXK (粤) 2012-0030]。动物饲养于东莞松山湖明珠实验动物科技有限公司普通环境, 实验动物使用许可证号: [SYXK (粤) 2012-0123]。实验经东莞松山湖明珠实验动物科技有限公司实验动物福利与伦理委员会审批, 遵循《广东省实验动物福利与伦理指南》和《关于善待实验动物的指导性意见》条例要求。日粮按 4%体重的饲喂, 自由饮水。

### 1.1 实验动物

从培育的高血糖家系中挑选出糖尿病前期小型猪 (5~6 月龄, 雌雄各半) 14 只作为糖尿病前期组, 血糖正常的 14 只 (5~6 月龄, 雌雄各半) 作为正常对照组。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 糖尿病前期小型猪的挑选** 对高血糖家系内 56 只 5~6 月龄巴马小型猪随机编号后进行空腹和糖耐量测定。挑选糖尿病前期小型猪标准: 采取 WHO (1999 年) 标准。(1) 空腹血糖 (fasting blood glucose, FPG) 受损指空腹血糖 6.1~<7.0 mmol·L<sup>-1</sup>, 且糖耐量实验 2 h 血糖 <7.8 mmol·L<sup>-1</sup>; (2) 糖耐量低减是指空腹血糖 <7.0 mmol·L<sup>-1</sup>, 糖耐量实验 2 h 血糖 7.8~<11.1 mmol·L<sup>-1</sup>。结合小型猪 4 月龄检测结果, 两次检测结果均符合两者之一者入选实验组, 不符合条件选入对照组。实验组和对照组分别筛选出 14 只猪后筛选实验截止。统一喂食后, 测 2 h 餐后血糖值。

**1.2.2 糖耐量测定** 检测前一天晚上 20:00 到当天 8:00 禁食不禁水, 早上 8:00 常规称量动物体重。称重后将动物置于保定吊床上, 取前腔静脉血液用便携式血糖仪进行血糖检测。动物固定且安静后, 左耳静脉以 1.2 mL·kg<sup>-1</sup> 体重剂量推注 50% 葡萄糖液, 在给糖前和给糖后 10 min、30 min、60 min 和 120 min, 采集前腔静脉血液测血糖值<sup>[9,11]</sup>。

**1.2.3 生化指标的测定** 空腹采集动物前腔静脉血液<sup>[9]</sup>, 于离心机中 2 500 g 15 min 分离血清进行生化

指标检测。4 个项目分别为总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-CH)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-CH)。检测仪器为奥林巴斯 2 700 型全自动生化分析仪<sup>[8-9]</sup>。

**1.2.4 血小板参数、凝血功能及血液流变学指标的测定** 空腹采集动物前腔静脉血液 8 mL。其中, 2 mL 全血置于乙二胺四乙酸二钾 (EDTA-K2) 采血管中, 采用 System XT-1800i 全自动血细胞分析仪测定血小板参数; 2 mL 全血置于枸橼酸钠试管, 在 2 h 内用德国 BE-compact X 全自动血凝分析仪检测凝血功能; 4 mL 全血置于肝素钠采血管中, 采用 PreciLBY-N7500B 全自动血液流变学分析仪对血液流变学指标进行检测。

**1.2.5 数据统计分析** 数据采用 SPSS13.0 进行统计分析, 计量资料以均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。两组间比较用 *t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 空腹血糖测定结果

在体重、FPG、2 hPG 和胰岛素指标的检测中, 糖尿病前期组 FPG、2 hPG、的水平比正常组的显著升高 (*P*<0.05); 两组体重和 INS 水平差异无统计学意义 (见表 1)。

表 1 体重、血糖和胰岛素检测结果

Table 1 Results of body weight, FPG, 2 hPG and INS indexes

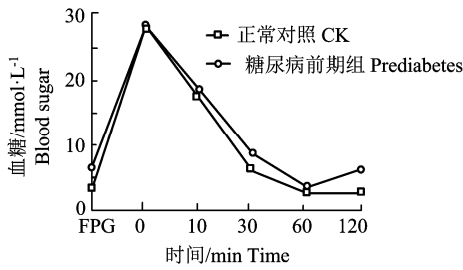
指标 Traits	糖尿病前期 组(n=14)	正常组 (n=14)
	Prediabetes	Normal
体重/kg Body weight	17.51±1.69	17.77±1.32
空腹血糖/ mmol·L <sup>-1</sup> FPG	3.43±0.52**	6.42±0.65
餐后 2 h 血糖/ mmol·L <sup>-1</sup> 2 hPG	3.39±0.56**	6.32±0.65
胰岛素/μU·mL <sup>-1</sup> INS	16.42±2.38	15.27±1.93

注: 与正常组比较, \**P*<0.05, \*\**P*<0.01。

Note: Compared with the normal, \**P*<0.05, \*\**P*<0.01.

### 2.2 糖耐量测定结果

糖耐量实验结束后, 两组动物血糖水平都快速上升到 28 mmol·L<sup>-1</sup> 以上, 后逐渐恢复, 在 60 min 时基本恢复到空腹水平。糖尿病前期组在 60 min 时血糖水平下降 3.84 mmol·L<sup>-1</sup>, 120 min 时后恢复到 6.60 mmol·L<sup>-1</sup> 水平。糖尿病前期组的 FPG、30 min、60 min 和 120 min 血糖水平与正常组相比显著性升高 (*P*<0.05)。两组的 0 min 血糖水平和 10 min 血糖水平差异无统计学意义 (图 1)。



与正常组比较, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01

Compared with the normal, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01

图 1 静脉葡萄糖耐量实验结果

Figure 1 Results of intravenous glucose tolerance test

表 2 血脂四项检测结果

Table 2 Mean Comparison between two Groups of the Traits

指标 Traits	糖尿病前期组 (n=14) Prediabetes	正常组 (n=14) Normal
总胆固醇/mmol·L <sup>-1</sup> TG	0.45±0.13	0.52±0.18
甘油三酯/mmol·L <sup>-1</sup> TC	1.96±0.33*	1.54±0.25
高密度脂蛋白胆固醇 /mmol·L <sup>-1</sup> HDL-C	0.92±0.16**	0.81±0.11
低密度脂蛋白胆固醇 /mmol·L <sup>-1</sup> LDL-C	1.21±0.24**	0.81±0.22

注: 与正常组比较, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01。

Note: Compared with the normal, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01.

### 2.3 生化指标的测定结果

两组生化指标比较结果见表2。所测指标中TC、HDL-C和LDL-C实验组均高于正常组(P < 0.05), TG前期组比正常组无明显差异。

### 2.4 血液流变学相关指标的测定结果

2.4.1 两组凝血功能四项指标比较 糖尿病前期组与正常组凝血功能的四项指标比较见表3。仅APTT时间出现延长, 其他3项无明显差别。

表 3 凝血四项检测结果

Table 3 Mean Comparison between two Groups of the Traits

凝血功能指标 Traits	糖尿病前期组 (n=14) Prediabetes	正常组 (n=14) Normal
活化部分凝血活酶 时间/s APTT	9.65±1.55*	8.52±0.39
凝血酶时间/s TT	21.32±2.30	20.07±2.23
凝血酶原时间/s PT	12.04±1.52	11.67±1.38
纤维蛋白原/g·L <sup>-1</sup> FIB	5.84±4.20	7.34±4.81

注: 与正常组比较, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01。

Note: Compared with the normal, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01.

2.4.2 两组血液流变学指标比较 糖尿病前期组与正常组血液流变学指标的比较结果见表4。4项指标从统计学角度出发无明显差别。

表 4 正常组与糖尿病前期组凝血四项比较

Table 4 Mean Comparison between two Groups of the Traits

血流变指标 Traits	糖尿病前期组(n=14) Prediabetes	正常组(n=14) Normal
血浆粘度 plasma viscosity	1.56±0.14	1.52±0.16
全血粘度(低切)   10(1/S) whole blood viscosity low shear	10.36±1.62	9.64±0.79
全血粘度(高切)   150(1/S) whole blood viscosity high shear	5.10±0.86	4.72±0.33
全血粘度(中切)   60(1/S) whole blood viscosity middle shear	6.02±1.01	5.61±0.37

注: 与正常组比较, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01。 Note: Compared with the normal, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01.

## 3 讨论与结论

我国小型猪品种资源丰富, 所有品种均自然形成, 遗传稳定, 具有广阔的模式开发前景<sup>[12]</sup>。实验用广西巴马小型猪是王爱德教授等于1987年从原产地引入广西巴马香猪2头公、14头母到原广西农学院(现广西大学)内培育而成, 主要应用于心血管病动物模型(心肌梗塞、缺血性心力衰竭模型)、糖尿病动物模型等<sup>[13]</sup>。因为实验小型猪在血液指标、糖代谢和糖耐量实验反应等方面与人类存在较大的相似度。因此, 有学者建议小型猪糖尿病的判定参照人类的糖尿病诊断标准<sup>[14]</sup>。同时有学者运用巴马小型猪小型群体进行测量与筛选, 结合人类的

糖尿病诊断标准, 将空腹血糖 > 6.9 mmol·L<sup>-1</sup>, 静脉给糖后2h血糖 > 8.2 mmol·L<sup>-1</sup> 确立为巴马小型猪的糖尿病标准<sup>[9,15]</sup>。在连续多次的检测中, 本实验按照前者严格采取WHO(1999年)标准进行实验分组。糖耐量实验又称葡萄糖耐量实验, 是诊断糖尿病的一种实验室检查方法。临床上多采用口服葡萄糖进行糖耐量实验(OGTT), 在前期实验中发现小型猪在进行灌服葡萄糖很难保证全部葡萄糖灌入猪体内, 从而造成较大误差, 所以在本次实验中采取小型猪耳缘静脉给糖进行糖耐量测试(IVGTT)。糖尿病前期是非糖尿病情况下的空腹高血糖状态, 又称为糖调节受损(impaired glucose regulation, IGR), 处在正常人和糖尿病之间的可逆阶段, 包括

空腹血糖受损(impaired fasting glucose, IFG)和(或)糖耐量低减(impaired fasting tolerance, IGT)两种形式<sup>[16]</sup>。而本次检测结果显示,糖尿病前期组的 2 h PG 均小于 7.8 mmol·L<sup>-1</sup>,糖耐量并未受损,所选小型猪均属于空腹血糖受损型。

糖尿病是内分泌紊乱引起的代谢性疾病,它是由遗传因素、免疫功能紊乱、微生物感染及其毒素、自由基毒素和精神因素等各种致病因子作用于机体导致胰岛素功能减退,胰岛素抵抗而引起的糖、蛋白质、脂肪、水和电解质等一系列代谢紊乱综合征。糖尿病在发病过程中血液成分会随糖尿病发展而改变,因此常伴有血脂和血液流变学改变<sup>[17]</sup>。糖尿病患者血脂的改变主要表现为 CHOL、TG、HDL-CH 和 LDL-CH 等代谢紊乱。资料显示 2 型糖尿病患者常出现 TG、LDL-CH 的增高以及 HDL-CH 的降低<sup>[9,18-19]</sup>。本实验的血生化检测结果显示巴马小型猪糖尿病前期除 TG 外 TC、HDL-CH 和 LDL-CH 都高于正常组的水平,结果表明血脂水平出现紊乱,这与糖尿病前期病人血脂出现异常表现结论类似,提示糖尿病前期也是心血管疾病的重要危险因素<sup>[20]</sup>。但前期组与 2 型糖尿病血脂改变特点又不完全相符。这可能是小型猪体内又与高血糖作用,导致机体 LDL-CH 升高。而我国小型猪几千年以来均作为肉用动物饲养,长期高能量饲养使得小型猪具有强大的调节能量<sup>[16]</sup>,通过升高 HDL-CH 对体内多出的 LDL-CH 进行清除,而 HDL-CH 和 LDL-CH 双重升高最终导致体内 TC 的升高。

随着糖尿病研究的进展,血液流变学异常对糖尿病性微小血管病变的影响越来越引起临床工作者的重视。血液流变学异常在糖尿病性血管病变的发生、发展中起着极为重要的作用。红细胞变形能力降低和血液呈高黏状态,血液流动性减弱,造成组织或器官缺血、缺氧、组织中酸性代谢产物增加,引起酸中毒,使红细胞聚集进一步增强,导致局部微循环灌注障碍,诱导微血栓形成,从而加速糖尿病患者病情恶化<sup>[21]</sup>。本研究凝血各项指标中仅显示 APTT 时间延长,显示凝血功能不够稳定,但这与糖尿病一般凝血指标结果不同,还需进一步研究。血液流变学检测结果显示血浆粘度和全血粘度两组无明显变化,可能与实验组小型猪血糖升高不显著,或由于实验小型年龄偏小有关系。不过从整体趋势看,不管是血浆粘度还是全血粘度的低、高和中切看时间均出现延长,是否出现血流变质变的改变可以在后续研究中再次进行观察。

综上所述,小型猪在糖尿病前期已出现部分血

液(血脂和血液流变学)指标的改变。对糖尿病前期患者进行血脂和血液流变学监测,对预防和糖尿病的转归都具有重要意义。

## 参考文献:

- [1] 朱禧星. 糖尿病学[J]. 中华医学杂志, 1997, 77(12): 895-896.
- [2] 何永静. 老年糖尿病并发症的临床分析[J]. 当代医学, 2012, 18(11): 52-54.
- [3] OGURTSOVA K, DA ROCHA FERNANDES J D, HUANG Y, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2017, 128(7): 40-50.
- [4] 王月娟. 2 型糖尿病患者患病情况及慢性并发症的相关因素分析[D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [5] 李亮. 巴马香猪血液生理生活指标参考标准的建立及 ENU 诱变下血液指标异常个体的筛选[D]. 重庆: 第三军医大学, 2013.
- [6] 张松菁, 严孙杰, 杨立勇, 等. 糖尿病前期患者的脂联素水平及与血管内皮功能变化的关系[J]. 中华高血压杂志, 2013, 21(11): 1053-1056.
- [7] HAI T, CAO C, SHANG H, et al. Pilot study of large-scale production of mutant pigs by ENU mutagenesis[J]. Hai et al. eLife 2017; 6:e26248.
- [8] 苏小华, 邓俊成, 田雨光, 等. 巴马小型猪高血糖家系的选育[A]. 第十三届中国实验动物科学年会论文集, 2017, 497-503.
- [9] 王爱德, 郭亚芬, 李柏. 巴马小型猪血液生化指标[J]. 上海实验动物科学, 2001, 21(1): 8-12.
- [10] 邓俊成. 应用高血糖小型猪建立糖尿病模型研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2018.
- [11] CHEN H, LIU Y Q, LI C H, et al. The susceptibility of three strains of Chinese minipigs to diet-induced type 2 diabetes mellitus[J]. Lab Anim (NY), 2009, 38(11): 355-363.
- [12] 赵玉琼, 杨述林, 钱宁, 等. 贵州小型猪和广西巴马小型猪部分血液生化指标筛查[J]. 实验动物科学, 2017, 34(4): 1-3.
- [13] 王爱德, 兰干球, 郭爱芬. 广西巴马小型猪的培育[J]. 实验动物科学, 2010, 27(1): 60-63.
- [14] 王月婷, 王宗保. 小型猪糖尿病模型研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21(12): 70-73.
- [15] 陈华, 刘亚千, 赵玉琼, 等. 2 型糖尿病易感小型猪遗传选育研究进展(一)[J]. 实验动物科学, 2015, 32(2): 1-6.
- [16] 江秋实, 闫丽, 吕淑荣, 等. 糖尿病前期人群血脂异常及其危险因素分析[J]. 东南大学学报, 2015, 34(5): 749-754.
- [17] 何英, 刘丽, 曹立媛. 2 型糖尿病患者血脂、血液流变学特点分析[J]. 山西中医学院学报, 2014, 15(1): 71-73.
- [18] 郭曼萍. 对糖尿病患者进行血脂检验的临床意义[J]. 医学理论与实践, 2017, 30(3): 425-426.
- [19] 田永芳, 邢淑清, 彭小燕. 200 例 2 型糖尿病患者血脂测定的临床分析[J]. 医学检验与临床, 2017, 28(2): 4-5.
- [20] BARR E L M, BOYKO E J, ZIMMET P Z, et al. Continuous relationships between non-diabetic hyperglycaemia and both cardiovascular disease and all-cause mortality: the Australian Diabetes, Obesity, and Lifestyle (AusDiab) Study[J]. Diabetologia, 2009, 52(3): 415-424.
- [21] 李华, 冯振东, 叶树青, 等. 2 型糖尿病患者血液流变学指标与血糖监测指标的相关性分析[J]. 中国全科医学, 2013, 16(5): 1763-1765.