

冯学轩,刘月姝,饶子亮,等. 急、慢性高尿酸血症模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(1): 74-80.

Feng XX, Liu YS, Rao ZL, et al. Establishment of mouse and rat models of acute and chronic experimental hyperuricemia [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(1): 74-80.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.01.012

急、慢性高尿酸血症模型的建立

冯学轩,刘月姝,饶子亮,黎耀俊,潘晓慧,姚嘉琪,郭起岳,
王 诺,邝少松*

(广东省医学实验动物中心,广州 528248)

【摘要】 目的 拟通过建立急性小鼠与慢性大鼠高尿酸血症模型,并采用阳性药验证两种模型的可治愈性,为抗高尿酸药物的研发提供模型工具。**方法** 急性痛风模型小鼠采用腹腔注射次黄嘌呤联合皮下注射氧嗪酸钾的方法造模,造模后半小时阳性组给予别嘌醇片,造模后 2 h 测定血尿酸、血肌酐、血清尿素氮及肝黄嘌呤氧化酶(XOD)活性。慢性痛风大鼠每天灌胃腺嘌呤及乙胺丁醇盐酸盐造模,阳性组每天给予别嘌醇片,连续 21 d 后检测血尿酸、血肌酐、血清尿素氮、肝 XOD 活性并进行肾组织病理学检测。**结果** 急、慢性痛风模型动物血尿酸、血肌酐均显著升高($P<0.05$),慢性痛风大鼠还可见血清尿素氮及肝 XOD 活性显著升高($P<0.05$),肾小管间质损伤及尿酸盐结晶加重,评分显著升高($P<0.05$)。阳性药别嘌醇可显著降低急、慢性高尿酸动物的血尿酸值,降低慢性高尿酸动物的血肌酐值、肝 XOD 活性,改善肾损伤及减少尿酸盐结晶($P<0.05$)。**结论** 本实验所采用的方法适用于建立急、慢性高尿酸血症动物模型,并可用于药物药效学观察。

【关键词】 急性高尿酸血症;慢性高尿酸血症;血生化;肾损伤;尿酸盐结晶;组织病理学;小鼠;大鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 01-0074-07

Establishment of mouse and rat models of acute and chronic experimental hyperuricemia

FENG Xuexuan, LIU Yueshu, RAO Ziliang, LI Yaojun, PAN Xiaohui, YAO Jiaqi, GUO Qiyue,
WANG Nuo, KUANG Shaosong*
(Guangdong Medical Laboratory Animal Center, Guangzhou 528248, China)

【Abstract】 Objective To provide approaches for modeling the development of anti-hyperuricemia drugs, acute and chronic hyperuricemia animal models were established, and positive drug was applied to verify the curability of these two animal models. **Methods** The acute hyperuricemia mouse model was established by the intraperitoneal injection of hypoxanthine and subcutaneous injection of oteracil potassium. Allopurinol tablets were administered to the positive group half an hour after the model establishment. Finally, the concentrations of serum uric acid, serum creatinine, and serum urea nitrogen and the activity of liver xanthine oxidase (XOD) were determined 2 h after model establishment. In contrast, adenine and ethambutol dihydrochloride were used to establish the chronic hyperuricemia rat model by gavage. The positive group was administered allopurinol tablets daily. After 21 days, the concentrations of serum uric acid, serum creatinine, and serum urea nitrogen, the activity of XOD, and the histopathological change of kidneys were determined. **Results** The concentrations of serum uric acid and serum creatinine were significantly elevated ($P<0.05$) in both the acute and the

[作者简介] 冯学轩(1990—),男,主管药师,硕士,研究方向:药理药效学研究。E-mail: hinfung@126.com

[通信作者] 邝少松(1973—),女,副研究员,博士,研究方向:药理与毒理学研究。E-mail: kuangss@126.com

chronic hyperuricemia models. Additionally, serum urea nitrogen and XOD activity were also clearly elevated ($P < 0.05$), while renal tubule interstitial injury and urate crystallization could be found, the scores of which were significantly increased in the chronic hyperuricemia model. However, the concentration of serum uric acid was decreased after treatment with allopurinol tablets for both acute and chronic hyperuricemia animals; moreover, in the chronic hyperuricemia animals, the concentration of serum creatinine and activity of liver XOD were decreased, while kidney injury and urate crystallization were also improved. **Conclusions** The approaches established in this study are suitable for creating acute and chronic hyperuricemia animal models, and can be used for drug pharmacodynamic observation.

【Keywords】 acute hyperuricemia; chronic hyperuricemia; blood biochemistry; kidney injury; urate crystal; histopathology; mouse; rat

高尿酸血症 (hyperuricemia, HUA) 是指由于嘌呤代谢异常导致的以高尿酸为特征的代谢性疾病, 是引起痛风性关节炎的生化基础, 长期持续的高尿酸血症, 将大大增加尿酸盐在肾及关节处的沉积, 引起痛风及肾脏病变, 使得肾病发病率及死亡率升高, 抗高尿酸药物的研发亦因此成为热点^[1-2]。临床上治疗高尿酸血症的药物, 有用于治疗急性发作的, 也有用于治疗慢性疾病的, 对于不同药物的研发, 需要应用不同类型的疾病模型, 合适的动物模型能够为药物的研发夯实基础。为此, 本实验在前期研究基础上, 结合大小鼠体内存在尿酸酶代谢系统, 可将尿酸代谢成水溶性高的尿素通过尿液排出体外的特点^[3-4], 采用次黄嘌呤联合尿酸酶抑制剂氧嗪酸钾建立小鼠急性高尿酸血症模型^[5-6], 采用腺嘌呤联合尿酸排泄抑制药物乙胺丁醇建立大鼠慢性高尿酸血症模型^[7-8], 并对模型的指征进行生化及病理学上的检测, 同时采用阳性药别嘌醇片考察模型的可治愈性, 为用于治疗急性或慢性高尿酸血症药物的研发提供相应的模型工具及基础数据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

30 只 SPF 级 C57BL/6 小鼠, 30 只 SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 由广东省医学实验动物中心提供 [SCXK (粤) 2018-0002]。动物饲养在 SPF 级动物房 [SYXK (粤) 2018-0002], 饲养温度与湿度: 20℃ ~ 26℃, 40% ~ 70%, 采用 10 h: 14 h 昼夜间断照明。动物自由进食和饮水, 所有饲料和饮用水均由广东省医学实验动物中心提供。试验伦理编号: B201607-2。本试验涉及的与动物试验相关的内容和程序遵从实验动物使用和管理的相关法律法规及广东省医学使用动物中心实验动物伦理委员会的相关规定, 保证实验动物的福利。

1.2 主要试剂与仪器

别嘌醇片: 批号 150403, 重庆青阳药业有限公司生产; 次黄嘌呤: 批号 SLBQ1672 V, Sigma 公司生产; 腺嘌呤: 批号 WXB5072 V, Sigma 公司生产; 氧嗪酸钾: 批号 STBD5759 V, Sigma 公司生产; 乙胺丁醇盐酸盐: 批号 WXBC0611 V, Sigma 公司生产; 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na): 批号 2015 年 1 月 19 日, 天津市大茂化学试剂厂生产; 肌酐试剂盒: 批号 20160222, 尿素氮试剂盒: 批号 20160312, 尿酸试剂盒: 批号 20160312, 均购自上海科华生物工程股份有限公司; XOD 试剂盒: 批号 160705, 南京建成生物工程研究所生产; 戊巴比妥钠: 批号 160606, 德国默克生产。BS-3000 A 电子分析天平, 感量: 0.1 g, 上海友声衡器有限公司生产; BS224S 电子分析天平, 感量: 0.1 mg, 赛多利斯科学仪器 (北京) 科技有限公司生产; KDC-2046 低速冷冻离心机, 科大创新股份有限公司中佳分公司生产; T10 basic 高速分散器, IKA 公司生产; 7020 型全自动生化分析仪, 日本株式会社日立高新技术公司生产; RM2135 轮转切片机, 德国 LEICA 公司生产; ASP300S 生物组织全自动脱水机, 德国 LEICA 公司生产; EG1150 生物组织包埋机及冷冻机, 德国 LEICA 公司生产; CS-VI 摊片烤片机, 湖北孝感医用仪器有限公司生产; AutoStainer-XL 生物组织全自动染色机, 德国 LEICA 公司生产; BX41 型荧光显微镜, 日本奥林巴斯公司生产; CellSens Standard 显微图像软件, 日本奥林巴斯公司提供。

1.3 实验方法

1.3.1 急性高尿酸血症小鼠模型

30 只 C57BL/6 小鼠检疫结束后, 按体重随机分为正常对照组、模型对照组、阳性对照组, 10 只/组。模型对照组及阳性对照组小鼠腹腔注射 50 mg/mL 次黄嘌呤溶液同时皮下注射 20 mg/mL 氧嗪酸钾溶液, 正常对照组同法注射 0.5% 羧甲基纤维素钠溶

液,注射体积为 10 mL/kg 体质量。造模 30 min 后阳性对照组按 20 mL/kg 体质量灌胃 5 mg/mL 别嘌呤药液,正常对照组及模型对照组同法灌胃 0.5% CMC-Na 溶液。造模 2 h 后各组动物眼眶静脉窦采血后颈椎脱臼处死,3000 r/min 离心 10 min 取血清,用于各指标检测,取肝,生理盐水冰浴匀浆制备 10%的组织匀浆液,进行 XOD 活性检测。

1.3.2 慢性高尿酸血症大鼠模型

30 只 SD 大鼠检疫结束后,按体重随机分为正常对照组、模型对照组、阳性对照组,10 只/组。除正常对照组外,其余各组动物每天上午按 5 mL/kg 体质量灌胃 30 mg/mL 的腺嘌呤溶液及 50 mg/mL 的乙胺丁醇盐酸盐溶液造模,两药灌胃相隔约 2 h,正常对照组同法灌胃纯净水,1 次/d,连续 21 d。与造模相隔 4 h,阳性对照组动物按 10 mL/kg 体质量灌胃别嘌呤药液,正常对照组及模型对照组同法灌胃 0.5% CMC-Na 溶液,1 次/d,连续 21 d。末次给药 1.5 h 后,各组大鼠按 60 mg/kg 体质量腹腔注

射 3%戊巴比妥钠溶液麻醉,腹主动脉采血后放血处死,3000 r/min,离心 10 min 取血清,用于各指标检测,同时取肝检测 XOD 活性,取肾进行组织病理学检测。

1.3.3 指标检测

(1)体重:慢性高尿酸血症大鼠模型每周称量动物体重一次。

(2)急性高尿酸血症小鼠模型:检测血尿酸、血肌酐、血清尿素氮及肝 XOD 活性。

(3)慢性高尿酸血症大鼠模型:检测血尿酸、血肌酐、血清尿素氮、肝 XOD 活性。取右肾 10%福尔马林固定后 HE 染色,按表 1 进行肾小管间质损伤半定量评分,按表 2 进行肾炎性细胞浸润半定量评分。肾小管间质损伤定义为炎症细胞浸润,小管萎缩/代偿性扩张、间质纤维化、残余肾单位肥大。取左肾,无水乙醇固定,Gomori 六胺银法染色进行尿酸盐结晶观察,按表 3 进行评分。

表 1 肾小管间质损伤半定量评分标准
Table 1 Semiquantitative criteria for renal tubular interstitial injury

分值 Score	病理情况 Pathological conditions
0 分 0 point	肾小管、集合管上皮未见萎缩、变性 Epithelium of renal tubules and collecting ducts shows no atrophy or degeneration
1 分 1 point	10%以下肾小管、集合管上皮萎缩变性 Under 10% of renal tubules and collecting ducts show epithelial atrophy
2 分 2 points	10%~30%以下肾小管、集合管上皮萎缩变性;可见肾单位肥大,少量炎症细胞浸润 10%~30% of renal tubules and collecting ducts show epithelial atrophy; nephrons show hypertrophy with a few inflammatory cells infiltrating
3 分 3 points	30%~50%以下肾小管、集合管上皮萎缩变性;肾单位肥大及炎症细胞浸润明显 30%~50% of renal tubules and collecting ducts show epithelial atrophy; nephrons show clear hypertrophy and there is clear infiltration of inflammatory cells
4 分 4 points	50%以上肾小管、集合管上皮萎缩变性;50%以上残余肾单位肥大;大范围炎症细胞浸润 More than 50% of renal tubules and collecting ducts show epithelial atrophy, over 50% of residual nephrons are hypertrophic, and there is extensive infiltration of inflammatory cells

表 2 肾脏炎症细胞浸润半定量评分标准
Table 2 Semiquantitative criteria for renal inflammatory cell infiltration

分值 Score	病理情况 Pathological conditions
0 分 0 point	无炎症细胞浸润 No inflammatory cell infiltration
1 分 1 point	极轻度炎症,炎症细胞浸润少于 10% Extremely mild inflammation, inflammatory cell infiltration accounting for less than 10%
2 分 2 points	轻度炎症,炎症细胞浸润占 11%~20% Mild inflammation, inflammatory cell infiltration accounting for 11%~20%
3 分 3 points	中度炎症,炎症细胞浸润占 21%~40% Moderate inflammation, inflammatory cell infiltration accounting for 21%~40%
4 分 4 points	重度炎症,炎症细胞浸润>41% Severe inflammation, inflammatory cell infiltration accounting for 41% or more

表 3 尿酸盐结晶评分标准
Table 3 Urate crystal scoring criteria

分值 Score	病理情况 Pathological conditions
0 分 0 point	肾小管、集合管内未见结晶 No crystallization was observed in renal tubules and collecting ducts
1 分 1 point	10%以下肾小管、集合管内可见结晶 Under 10% of renal tubules and collecting ducts show crystals
2 分 2 points	10%~30%肾小管、集合管内可见结晶 10%-30% of renal tubules and collecting ducts show crystals
3 分 3 points	30%~50%肾小管、集合管内可见结晶 30%-50% of renal tubules and collecting ducts show crystals
4 分 4 points	50%以上肾小管、集合管内可见结晶 More than 50% of renal tubules and collecting ducts show crystals

1.4 统计学方法

所有数据采用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 21.0 软件进行统计分析;计量资料数据方差齐,或数据经转换后方差齐,则采用组间两两比较的单因素方差分析方法;若数据经转换后方差仍不齐,采用秩和检验进行统计分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 体重测量结果

慢性高尿酸血症大鼠模型:与正常对照组相比,模型对照组体重在 d8~d21 下降有统计学差异($P<0.05$)。与模型对照组相比,阳性对照组体重无统计学差异($P>0.05$)(见图 1)。

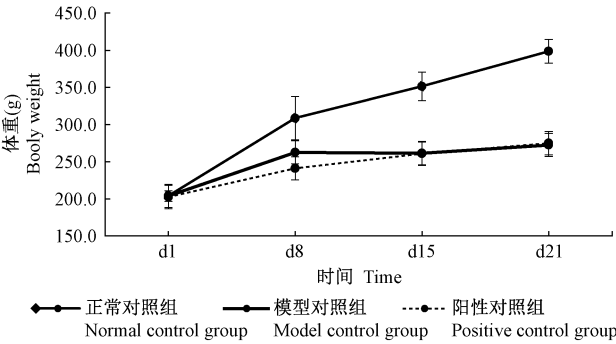


图 1 体重测量结果

Figure 1 Body weight measurement results

2.2 血尿酸

2.2.1 急性高尿酸血症小鼠模型

与正常对照组相比,模型对照组血尿酸显著升高,有统计学差异($P<0.05$)。与模型对照组相比,阳性对照组血尿酸显著下降有统计学差异($P<0.05$)。见表 4。

2.2.2 慢性高尿酸血症大鼠模型

与正常对照组相比,模型对照组血尿酸显著升高,有统计学差异($P<0.05$)。与模型对照组相比,

阳性对照组血尿酸值显著下降,有统计学差异($P<0.05$)。见表 5。

2.3 血肌酐

2.3.1 急性高尿酸血症小鼠模型

与正常对照组相比,模型对照组血肌酐显著升高,有统计学差异($P<0.05$)。与模型对照组相比,阳性对照组血肌酐值无统计学差异($P>0.05$)。见表 4。

2.3.2 慢性高尿酸血症大鼠模型

与正常对照组相比,模型对照组血肌酐值显著升高,有统计学差异($P<0.05$)。与模型对照组相比,阳性对照组血肌酐值显著下降,有统计学差异($P<0.05$)。见表 5。

2.4 血清尿素氮

2.4.1 急性高尿酸血症小鼠模型

与正常对照组相比,模型对照组血清尿素氮无统计学差异($P>0.05$)。与模型对照组相比,阳性对照组血清尿素氮无统计学差异($P>0.05$)。见表 4。

2.4.2 慢性高尿酸血症大鼠模型

与正常对照组相比,模型对照组血清尿素氮显著升高,有统计学差异($P<0.05$)。与模型对照组相比,阳性对照组血清尿素氮无统计学差异($P>0.05$)。见表 5。

2.5 肝 XOD 活性

2.5.1 急性高尿酸血症小鼠模型

与正常对照组相比,模型对照组肝 XOD 活性无统计学差异($P>0.05$),与模型对照组相比,阳性对照组肝 XOD 活性无统计学差异($P>0.05$)。见表 4。

2.5.2 慢性高尿酸血症大鼠模型

与正常对照组相比,模型对照组肝 XOD 活性显著升高,有统计学差异($P<0.05$)。与模型对照组相比,阳性对照组肝 XOD 活性显著下降,有统计学差异($P<0.05$)。见表 5。

表 4 急性高尿酸血症小鼠血尿酸、血肌酐、血清尿素氮及肝 XOD 活性检测结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Results of serum uric acid, serum creatinine, serum urea nitrogen, and liver XOD activity in acute hyperuricemia mice

组别 Groups	剂量 Doses (mg/kg)	血尿酸 Serum uric acid ($\mu\text{mol/L}$)	血肌酐 Serum creatinine ($\mu\text{mol/L}$)	血清尿素氮 Serum urea nitrogen (mmol/L)	肝 XOD 活性 Liver XOD activity (U/gprot)
正常对照组 Normal control	—	137.8 $\pm$ 28.6	7.5 $\pm$ 4.6	8.9 $\pm$ 0.7	23.39 $\pm$ 4.72
模型对照组 Model control	—	168.1 $\pm$ 26.8 [#]	27.1 $\pm$ 6.1 [#]	13.2 $\pm$ 0.8	23.68 $\pm$ 8.88
阳性对照组 Positive control	50	25.8 $\pm$ 21.3 ^{**}	21.2 $\pm$ 8.8	18.3 $\pm$ 5.8	19.16 $\pm$ 4.81

注:血尿酸采用方差分析,其余指标采用秩和检验方法进行统计分析。与正常对照组比较,[#] $P < 0.05$;与模型对照组比较,^{**} $P < 0.01$ 。
Note. ANOVA was used for statistical analysis of serum uric acid. Rank sum test was used for statistical analysis of other indicators. Compared with the normal control group,[#] $P < 0.05$. Compared with the model control group,^{**} $P < 0.01$.

表 5 慢性高尿酸血症大鼠血尿酸、血肌酐、血清尿素氮及肝 XOD 活性检测结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Results of serum uric acid, serum creatinine, serum urea nitrogen, and liver XOD activity in chronic hyperuricemia mice

组别 Groups	剂量 Doses (mg/kg)	血尿酸 Serum uric acid ($\mu\text{mol/L}$)	血肌酐 Serum creatinine ($\mu\text{mol/L}$)	血清尿素氮 Serum urea nitrogen (mmol/L)	肝 XOD 活性 Liver XOD activity (U/gprot)
正常对照组 Normal control	—	87.5 $\pm$ 26.8	22.8 $\pm$ 5.5	6.34 $\pm$ 1.03	7.50 $\pm$ 1.09
模型对照组 Model control	—	144.2 $\pm$ 60.2 ^{##}	42.5 $\pm$ 17.5 ^{##}	17.42 $\pm$ 6.59 ^{##}	8.67 $\pm$ 1.41 [#]
阳性对照组 Positive control	50	99.7 $\pm$ 26.4 ^{**}	27.1 $\pm$ 8.0 ^{**}	17.31 $\pm$ 1.67	7.38 $\pm$ 1.37 [*]

注:血尿酸采用方差分析,血肌酐采用 log 转换后方差分析,其余指标采用秩和检验方法进行统计分析。与正常对照组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型对照组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。
Note. ANOVA was used for statistical analysis of serum uric acid. ANOVA was used after log transformation for statistical analysis of serum creatinine. Rank sum test was used for statistical analysis of other indicators. Compared with the normal control group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$. Compared with the model control group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$.

2.6 慢性高尿酸血症大鼠组织病理学结果

2.6.1 肾病理检查结果

模型对照组所有动物均见肾损伤,表现为大量肾小管变性、坏死,肾小管尿酸盐沉积,肾小管扩张,部分肾小管见炎性细胞浸润,少量肾小管见细胞管型。阳性对照组可见肾损伤有一定程度修复,损伤程度较模型对照组轻,表现为部分肾小管变性,肾小管扩张、尿酸盐沉积情况明显改善,仅少量肾小管内见尿酸盐沉积。见图 2、3。

2.6.2 肾炎性细胞浸润结果

表 6 慢性高尿酸血症大鼠肾炎性细胞浸润、肾小管间质损伤、尿酸盐结晶评分结果($\bar{x} \pm s, n = 10, \%$)

Table 6 Results of renal inflammatory cell infiltration, renal tubular interstitial injury, and urate crystal score in chronic hyperuricemia rats

组别 Groups	剂量 Doses(mg/kg)	肾炎性细胞浸润评分 Renal inflammatory cell infiltration score	肾小管间质损伤评分 Renal tubular interstitial injury score	尿酸盐结晶评分 Urate crystal score
正常对照组 Normal control	—	0.10 $\pm$ 0.32	0	0
模型对照组 Model control	—	3.70 $\pm$ 0.48 ^{##}	2.72 $\pm$ 0.63 [#]	1.91 $\pm$ 0.13 [#]
阳性对照组 Positive control	50	1.90 $\pm$ 0.74 [*]	1.36 $\pm$ 0.59 [*]	0.73 $\pm$ 0.19 [*]

注:采用秩和检验方法进行统计分析。与正常对照组相比,[#] $P < 0.05$;与模型对照组相比,^{*} $P < 0.05$ 。
Note. Rank sum test was used for statistical analysis. Compared with the normal control group,[#] $P < 0.05$. Compared with the model control group,^{*} $P < 0.05$.

与正常对照组相比,模型对照组肾炎性细胞浸润评分显著升高,有统计学差异($P < 0.01$)。与模型对照组相比,阳性对照组肾炎性细胞浸润评分显著下降,有统计学差异($P < 0.05$)。见表 6、图 4。

2.6.3 肾小管间质损伤及尿酸盐结晶评分结果

与正常对照组相比,模型对照组肾小管间质损伤及尿酸盐结晶评分均显著升高,有统计学差异($P < 0.05$)。与模型对照组相比,阳性对照组二者评分均显著下降,有统计学差异($P < 0.05$)。见表 6。

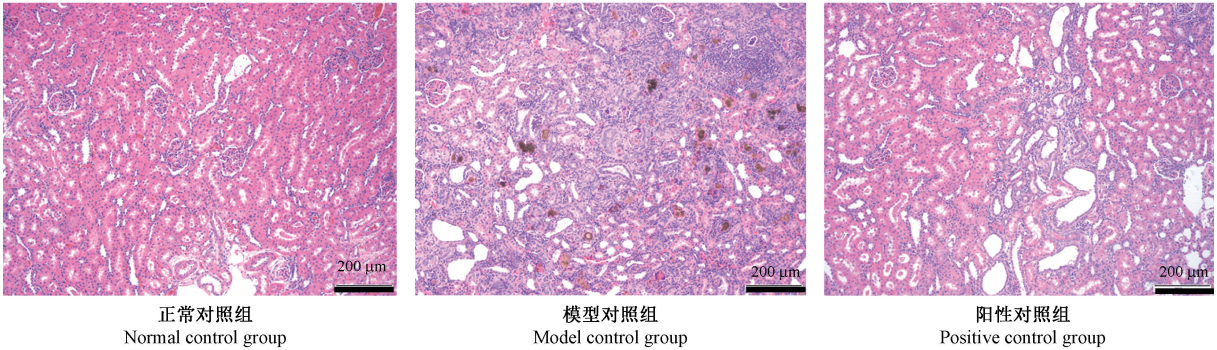


图 2 慢性高尿酸血症对大鼠肾脏病理的影响 (HE 染色)
Figure 2 Effects of chronic hyperuricemia on renal pathology in rats. HE staining

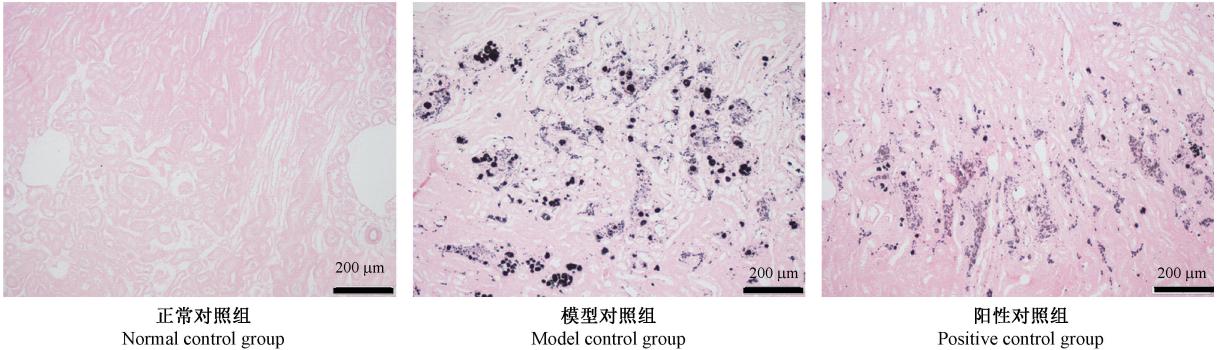


图 3 慢性高尿酸血症大鼠肾脏尿酸盐结晶情况 (Gomori 六胺银染色)
Figure 3 Renal urate crystallization of rats with chronic hyperuricemia. Gomori hexamine silver staining

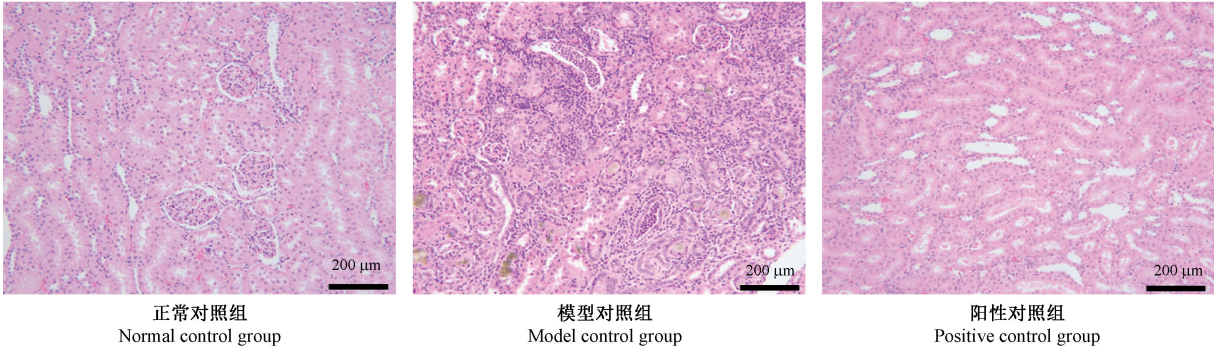


图 4 慢性高尿酸血症大鼠肾脏炎症细胞浸润情况 (HE 染色)
Figure 4 Renal inflammatory cell infiltration of rats with chronic hyperuricemia. HE staining

3 讨论

高尿酸血症 (HUA) 在我国的发病率日趋升高, 沿海发达城市发病率甚至高达 25%, 因此建立合适的 HUA 模型以便开展药物研发成为了研究的热点。在众多的研究中, 部分学者会选择单用尿酸前体物质如腺嘌呤、次黄嘌呤或单用尿酸排泄抑制剂如氧嗪酸钾、乙胺丁醇等进行造模^[8], 如 Zhao^[5]、Hu^[6]等学者采用氧嗪酸钾建立 HUA 模型, 杨佳梅等^[7]学者则单用腺嘌呤或氧嗪酸钾建模。但氧嗪酸钾和腺嘌呤的造模机理并不一样, 单用氧嗪酸钾造模

会忽略了人们饮食结构改变, 高嘌呤食物摄入增加这一临床诱因; 单用腺嘌呤造模则忽略了啮齿类动物与人尿酸代谢的差异性: 人不可将尿酸代谢而大小鼠却可通过尿酸酶将尿酸代谢成尿素后排出。因此, 本研究综合上述因素, 在模拟临床发病诱因的同时结合大小鼠的尿酸代谢特点, 采用尿酸前体物质联合尿酸排泄抑制剂建模, 此举可降低每种造模剂的剂量, 起到提高成模率的同时降低不必要的毒副作用, 更好地建立高尿酸血症动物模型^[8-11]。

本实验之所以采用次黄嘌呤结合氧嗪酸钾建立急性高尿酸血症模型, 原因在于次黄嘌呤只需代

谢成黄嘌呤即可形成尿酸,代谢路径较短,可快速形成尿酸^[10],而氧嗪酸钾与尿酸的嘌呤环相似,可抑制尿酸酶的活性,快速减少尿酸的分解^[12],二者结合能够在较短时间内引起血尿酸升高,起到模拟高尿酸血症急性发作的特点。人体高尿酸血症的急性发作在于一次性摄入高嘌呤物质,而体内未能及时将其代谢,因此出现血尿酸的急性升高及轻微的肾损伤(表现为血肌酐的升高),而此时的 XOD 不会有明显的变化,因为 XOD 作为一种非专一性酶类,在短时间内其活性不会起显著性变化。本次的实验结果显示,500 mg/kg 剂量的次黄嘌呤结合 200 mg/kg 剂量的氧嗪酸钾构建急性高尿酸血症模型,动物血尿酸在建模 2 h 后显著升高,血肌酐也随之升高,肝黄嘌呤氧化酶(XOD)的确无明显变化,这与高尿酸血症急性发作的特点相吻合。抗急性高尿酸血症药物的药效评价主要侧重于快速降尿酸,本实验建立的急性模型,其血尿酸浓度不会升高太过,且在给予别嘌醇后,血尿酸可以快速地下降,这对于药物的初筛具有良好的适用性,不会轻易淘汰具有开发潜力的药物。其次,使用小鼠建模,对于开发初期的药物,特别是合成化药,中药单体,能够节省药物用量,一定程度上起到高通量筛选的作用。

对于慢性高尿酸血症,则主要在于尿酸的长期积累,腺嘌呤代谢成尿酸需要较长的代谢路径,而乙胺丁醇对肾脏排泄的抑制作用也非一蹴而就,因此二者结合可用于长时间持续造模,使动物逐渐形成慢性高尿酸血症。因此,本实验利用 150 mg/kg 剂量的腺嘌呤联合 250 mg/kg 剂量的乙胺丁醇制备了慢性高尿酸血症模型。此建模方法无论从血生化上还是从组织病理学上进行评价均有较好的成模性。在临床上,慢性高尿酸血症患者除血尿酸明显升高外,XOD 作为催化嘌呤合成尿酸的关键酶类,其活性也随之升高,邓建平等^[13]通过检测 20 例高尿酸血症及痛风患者的 XOD 活性,发现其 XOD 活性要比正常人显著升高,此外,由于人体产生的尿酸约有 2/3 经肾排出,因此,临床上慢性高尿酸血症还伴随肾功能减退及肾损伤,包括肾炎症的发生^[14-16]。本实验模型大鼠在 21 d 建模后,血尿酸高出正常大鼠约 65%,XOD 活性高出约 16%,血肌酐,血清尿素氮均明显升高,且病理结果与之吻合,出现肾尿酸盐结晶沉积,大量肾小管变性、坏死,炎性细胞浸润。这些指征表明,本实验模型具有明显的慢性高尿酸血症的特点,且能够较好地贴近于临床表征。该模型还采用了黄嘌呤氧化酶抑制剂别嘌醇作为阳性药,给药后,模型大鼠血尿酸、XOD 活性

均明显下降,肾损伤也得到一定程度恢复,说明本模型具有治愈性,且可探究所研发药物对 XOD 的作用程度。

综上所述,本实验提供的建模方法操作简单且实用性强,为相关药物的开发提供了评价工具及基础的建模数据。

参考文献:

- [1] Thottam GE, Krasnokutsky S, Pillinger MH. Gout and Metabolic Syndrome: a Tangled Web [J]. Current rheumatology reports, 2017, 19(10): 60.
- [2] 朱春霞. 虎桂药对有效组分配伍干预高尿酸血症及其肾保护作用机制研究 [D]. 广东药科大学, 2018.
- [3] Griebisch A, Zollner N. Effect of ribomononucleotides given orally on uric acid production in man [J]. Advances in experimental medicine and biology, 1974, 41: 443-449.
- [4] 陈光亮, 徐叔云. 高尿酸血症动物模型研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2004, (4): 369-372.
- [5] Zhao X, Zhu JX, Mo SF, et al. Effects of cassia oil on serum and hepatic uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver [J]. Journal of ethnopharmacology, 2006, 103(3): 357-365.
- [6] Hu QH, Zhu JX, Ji J, et al. Fructus Gardenia Extract ameliorates oxonate-induced hyperuricemia with renal dysfunction in mice by regulating organic ion transporters and mOIT3 [J]. Molecules, 2013, 18(8): 8976-8993.
- [7] 杨桂梅, 黄胜华, 李江, 等. 腺嘌呤和氧嗪酸钾制作高尿酸血症大鼠模型比较 [J]. 实验动物科学, 2011, 28(2): 23-26.
- [8] 闫曼, 安雅婷, 李舰, 等. 高尿酸血症动物模型研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(9): 88-90.
- [9] 徐立, 时乐, 赵芳, 等. 大鼠急性高尿酸血症模型的复制方法初探 [J]. 中国药理学通报, 2007, (7): 976-978.
- [10] 徐立, 时乐. 小鼠代谢性高尿酸血症模型的复制方法初探 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, (1): 1-4.
- [11] 唐灿, 杨奎. 高尿酸血症动物模型初探 [J]. 中药新药与临床药理, 2000, (5): 292-294+321.
- [12] 王凯, 夏德萌, 郝晓伟, 等. 氧嗪酸钾诱导高尿酸血症小鼠血清代谢组学研究 [J]. 药学服务与研究, 2015, 15(06): 416-421.
- [13] 邓建平, 林雯. 痛风与高尿酸血症患者血清黄嘌呤氧化酶与炎症因子水平比较 [J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(7): 953-954.
- [14] 张培, 苗志敏, 李长贵, 等. 慢性高尿酸血症大鼠模型建立方法的探讨 [J]. 青岛大学医学院学报, 2010, 46(3): 219-221.
- [15] 曾楚楚, 范瑛, 汪年松. 高尿酸血症与慢性肾脏病关系的研究进展 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2016, 17(2): 167-169.
- [16] 熊湘明, 曲竹秋, 贾锡莲. 大鼠高尿酸血症肾损害模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2005, (4): 206-209.