



鹌鹑高尿酸血症动物模型脂代谢研究

马 丽¹, 曾贵荣^{1,2}, 张妙红¹, 邓 青¹, 张 丹¹, 罗术佳¹,
潘善庆¹, 姜德建¹, 王小青¹

(1. 湖南省药物安全评价研究中心, 长沙 410331; 2. 北京协和医学院药用植物所, 北京 100193)

【摘要】 目的 研究鹌鹑高尿酸血症动物模型及脂代谢。**方法** 采用高脂饲养鹌鹑 30 d 后, 灌胃给予腺嘌呤 (50 mg/只), 连续 7 d, 建立鹌鹑高尿酸血症模型, 观察 22 d 后, 取血检测血尿酸、黄嘌呤氧化酶、肌酐 (CRE)、尿素氮 (BUN)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白 (LDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、总胆固醇 (CHO)、黄嘌呤氧化酶 (XOD)、肝脂酶 (HL)、脂蛋白脂酶 (LPL)、腺苷脱氢酶 (ADA) 脂代谢指标, 取关节和肾脏进行组织病理学检查。**结果** 模型对照组动物血尿酸均明显升高 ($P < 0.01$), CRE、BUN、TG、LDL、XOD 均有明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 血清 CHO、LPL、ADA、HDL 含量明显降低 ($P < 0.05$)。造模后动物足趾关节明显肿大, 周围软组织肿胀。X 光显示足趾骨密度减低, 部分关节面破坏呈溶骨性破坏。病理学检查可见关节滑膜增生, 有大量炎症细胞浸润, 部分被纤维结缔组织替代, 肾脏组织肾小管及间质可见尿酸盐结晶, 部分小管轻度扩张, 肾间质纤维增生, 并伴有大量炎症细胞浸润。**结论** 该模型具有关节肿大、肾脏尿酸盐沉积等肾脏损伤, 且伴有脂代谢紊乱, 其病理机制与 XOD、ADA 相关脂代谢酶活性有关。

【关键词】 鹌鹑; 高尿酸血症; 脂代谢

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 11-0017-04

doi: 10. 3969. j. issn. 1671 - 7856. 2015. 11. 005

Lipid metabolism study quail high uric acid hematic disease animal model

MA Li¹, ZENG Gui-rong^{1,2}, ZHANG Miao-hong¹, DENG Qing¹, ZHANG Dan¹, PAN Shan-qing¹, JIANG De-jian¹, WANG Xiao-qing¹

(1. Hunan Center for Drug Safety Evaluation, Changsha 410331, China; 2. Institute of Medicinal Plant Beijing Union Medical College, Beijing 100193, China)

【Abstract】 Objective To study quail high uric acid hematic disease animal model and lipid metabolism. **Methods** Quail were used high fat feed after thirty days, gastric gavage adenine (50 mg/only) seven days in a row. Quail high uric acid hematic disease animal model was set up. Observed in twenty-two days, blood was tested blood uric acid, xanthine oxidase, creatinine (CRE), urea nitrogen (BUN), triglycerides (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-c), high density lipoprotein (HDL), xanthine oxidase (XOD), hepatic lipase (HL), lipoprotein lipase (LPL), adenosine dehydrogenase (ADA) lipid metabolism index, joints and kidneys for histopathological examination. **Results** Model control group animals blood uric acid were significantly increased ($P < 0.01$), CRE, BUN, TG, LDL and XOD were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), serum CHO, LPL, ADA, HDL content significantly decreased ($P < 0.05$). Animal toes jointed obvious swollen after building, surrounding soft tissue swelling. X-ray showed toes bone density decrease, part of the joint surface damage is dissolved bony destruction. Pathological examination showed joint synovial hyperplasia, there

[基金项目] 科技部新药创制重大科技专项(2011ZX09401-301-1)。

[作者简介] 马丽(1983-), 女, 硕士, 主要从事新药安全性评价研究。E-mail: muwukuhe@126.com。

[通讯作者] 王小青, 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事新药安全性评价研究。

was a lot of inflammatory cells infiltration, part is replaced by fibrous connective tissue, Kidney tissue renal tubule and interstitial visibled urate crystals, part of the tubular mild expansion, renal interstitial fibers hyperplasia, accompanied by a large number of inflammatory cells infiltration. **Conclusion** The model has swollen joints, kidney urate deposition kidney injury associated with lipid metabolism disorders, pathological mechanisms and XOD increased ADA.

【Key words】 Quail; Hyperuricemia; Lipid metabolism

痛风(gout)是长期嘌呤代谢障碍、血尿酸增高引起组织损伤的一组异质性疾病。临床特点是:高尿酸血症(hyperuricemia)、痛风性急性关节炎反复发作、痛风石沉积、特征性慢性关节炎和关节畸形,常累及肾脏引起慢性间质性肾炎和肾尿酸结石形成^[1]。本研究通过建立一种稳定持久的高尿酸血症的动物模型,同时研究该模型脂代谢相关指标的变化。

1 材料和方法

1.1 动物

普通级迪法克鹌鹑,雄性,30 日龄,购于北京市德岭鹌鹑养殖场,在湖南省药物安全评价研究中心普通级环境饲养【SYXK(湘)2010-0008】,动物检疫合格证:1100063965。

1.2 试剂及试剂

腺嘌呤(批号:71016588;Sigma 公司产品);尿酸检测试剂盒(批号:108274,日本和光纯药工业株式会社产品);CRE 测定试剂盒(批号:901892,日本和光纯药工业株式会社产品);BUN 测定试剂盒(批号:909104,日本和光纯药工业株式会社产品);TG 测定试剂盒(批号:010568,日本和光纯药工业株式会社产品);黄嘌呤氧化酶(批号:120305,美国 RD 公司产品);脂蛋白脂酶(批号:111225,美国 RD 公司产品);肝脂酶(批号:120224,美国 RD 公司产品);腺苷脱氢酶(批号:120315,美国 RD 公司产品)。

1.3 仪器及器材

MR-96A 酶标仪(深圳迈瑞公司生产);柯达 72 型 X 光机(柯达公司);自动生化分析仪(日本日立公司生产);RM2235 型石蜡切片机、TP1020 型全自动脱水机、HI1220 型烤片机、HI1210 型摊片机、EG1150H+C 型组织包埋机、DFC 420C 型病理成像系统(德国 Leica 公司生产)。

1.4 统计学方法

采用 SPSS17.0 进行统计分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$),评价时考虑统计学差异和生物学意义。

1.5 方法^[2-4]

1.5.1 造模与分组

普通级迪法克鹌鹑 30 只,雄性,30 日龄,体重 164.2~210.4 g,以上动物按血尿酸兼顾体重随机分成 2 组,分别为空白对照组、模型对照组,每组 15 只,空白组给予标准鹌鹑饲料(玉米 60%、麸皮 15%、鱼粉 3%、豆粕 15%)喂养,模型对照组给予高钙鹌鹑饲料(玉米 54%、麸皮 2%、鱼粉 7%、豆粕 30%)喂养,摄食约 33g/只/日,自由饮水,连续喂养 30 d,然后模型对照组灌胃腺嘌呤混悬液(50 mg/只),灌服体积 1 mL/只,每天 1 次,连续 7 d,连续观察 22 d。分别于造模后第 11、22 天翅下静脉采血测定尿酸值,末次采血后取材。

1.5.2 检测指标:

①血尿酸③采用影像学 X 光照射进行摄片观察骨趾软组织变化。③第 11 天,第 22 天取血测定血尿酸。末次给药采血测定肌酐(CRE)、尿素氮(BUN)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)、总胆固醇(CHO)黄嘌呤氧化酶(XOD)、鸟脂蛋白脂酶(LPL)、鸟肝脂酶(HL)、腺苷脱氢酶(ADA)。

2 结果

2.1 鹌鹑高尿酸血症模型血清尿酸、肾功能及相关脂代谢酶的影响

如表 1~3 所示,与正常对照组比较,模型对照组动物第 11、22 天血尿酸显著升高($P < 0.01$),模型对照组动物肾功能指标 CRE、BUN、TG、LDL、XOD 均有显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),血清 CHO、LPL、ADA、HDL 含量显著降低($P < 0.05$)。

表 1 鹌鹑高尿酸血症模型血尿酸的含量

Tab.1 Quail high uric acid hematic disease model of blood uric acid levels

组别	血尿酸(mmol/L)	
	D ₁₁	D ₂₂
正常对照组	133.1 ± 6.9	168.6 ± 25.8
模型对照组	230.7 ± 63.0 **	374.8 ± 210.5 **

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

表 2 鹌鹑高尿酸血症模型肾功能、甘油三酯、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、胆固醇含量

Tab. 2 Quail high uric acid hematic disease model of kidney, triglyceride, low density lipoprotein cholesterol (HDL) content

组 别	BUN ($\mu\text{mol/L}$)	CRE ($\mu\text{mol/L}$)	TG (ng/L)	LDL ($\mu\text{mol/L}$)	HDL ($\mu\text{mol/L}$)	CHO($\mu\text{mol/L}$)
正常对照组	0.13 $\pm$ 0.07	0.50 $\pm$ 0.34	0.18 $\pm$ 0.07	0.47 $\pm$ 0.04	3.83 $\pm$ 0.77	7.4 $\pm$ 0.5
模型对照组	0.64 $\pm$ 0.52 **	2.70 $\pm$ 1.81 *	1.59 $\pm$ 0.71 **	2.33 $\pm$ 0.97 **	2.72 $\pm$ 0.17 *	9.6 $\pm$ 0.3 *

注:与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group, * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$ 。

表 3 鹌鹑高尿酸血症模型相关血脂代谢酶活性的影响

Tab. 3 The quail high uric acid hematic disease model related lipid metabolic enzyme activity

组 别	XOD(ng/L)	LPL(ng/L)	ADA(ng/L)	HL(ng/L)
正常对照组	32.7 $\pm$ 3.2	123.4 $\pm$ 23.4	61.9 $\pm$ 13.9	72.8 $\pm$ 22.0
模型对照组	38.4 $\pm$ 2.8 **	106.4 $\pm$ 14.8 *	30.8 $\pm$ 11.5 *	72.4 $\pm$ 17.9

注:与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.2 组织病理学

2.2.1 关节 X 摄片及组织病理学检查

如彩插 5 图 1 所示,造模型后,模型对照组动物足趾关节明显肿大,X 光摄片显示模型对照组足趾骨头部骨密度减低,边缘可见小碎骨片,关节面破坏,第四趾末结趾骨呈溶骨性破坏,周围软组织肿胀。病理观察可见模型对照组动物关节滑膜增生,有大量炎症细胞浸润,部分被纤维结缔组织替代,软骨细胞排列不规则,簇集、层次紊乱。

2.2.2 肾脏组织病理学检查

如彩插 5 图 2 所示,模型对照组肾脏组织肾小管及间质可见尿酸盐结晶,部分小管轻度扩张,肾间质纤维增生,并伴有大量炎症细胞浸润。

3 讨论

目前痛风的发病率日益增高,已成为当今世界尤其是中老年的常见病。鹌鹑作为禽类与人的嘌呤核苷酸代谢途径相似,建立高尿酸血症模型具有明显的优势。本研究采用灌胃给予腺嘌呤配合高脂饲料建立鹌鹑高尿酸血症模型,采用 X 光和组织病理及血尿酸动态监测模型,研究发现造模后动物关节明显肿大,组织病理学检查可见关节纤维结缔组织增生及炎症细胞浸润,肾脏有不同程度的炎症细胞浸润,提示该方法建立典型的痛风模型是成功的。腺嘌呤是一种含氮杂环嘌呤类化合物,给予大量腺嘌呤后,能干扰正常的嘌呤代谢致血尿酸升高,其代谢途径与人类相近,造模型方法类似于人类过量高蛋白饮食导致嘌呤核苷酸代谢紊乱诱发的高尿酸血症相符合^[5],XOD 在嘌呤代谢中催化次黄嘌呤使之转化为黄嘌呤,并催化黄嘌呤使之转化为尿酸,调控尿酸生产的最终环节,是尿酸代谢过

程中的关键酶,控制嘌呤核苷酸分解代谢的关键酶有腺苷脱氨酶(ADA)和 XOD,ADA 占优势地位^[6],ADA 参与尿酸生成,可催化次黄嘌呤核苷酸和脱氧次黄嘌呤核苷的生成,再经过嘌呤核苷磷酸化酶的作用生成次黄嘌呤,最终经 XOD 作用生成尿酸^[7]。模型组动物 ADA 活性呈现较低水平,肝脂酶(HL)在肝细胞中合成,肝脂酶与脂蛋白脂酶(LPL)是清除血浆脂蛋白中所含 TG 的限速酶,主要催化血浆乳糜微粒和极低密度脂蛋白中的甘油三酯和磷脂水解,HL 缺乏可使血浆胆固醇和 TG 升高,能使乳糜微粒和 VLDL、低密度脂蛋白中的甘油三酯分解减少,进入肝细胞内的乳糜微粒和 LDL 中的甘油三酯和脂肪酸含量增加,肝细胞内甘油三酯合成增加,导致甘油三酯在肝细胞内堆积^[8-10]。综上所述,本研究建立鹌鹑高尿酸血症模型有关节肿大、肾脏尿酸盐沉积等肾脏损伤,且伴有脂代谢紊乱,与临床发病症状类似,对研究抗痛风药物提供了稳定的动物模型。

参考文献:

- [1] 陈光亮,王琳琳. 防治痛风的药物研究进展[J]. 国外医学内分泌学, 2005,25(4):277-279.
- [2] 杨会军,李兆福,彭江. 高尿酸血症动物模型研究概况[J]. 中医学报,2013,1:60-62.
- [3] 刘小青,张冰,胡京红,等. 鹌鹑高尿酸血症模型建立及菊苣提取物对其影响的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2003,1:44-47.
- [4] 林志健,刘小青,张冰,等. 基于指标量化的高尿酸血症鹌鹑模型中医证候分型研究[J]. 中华中医药杂志,2011,5:1072-1076.
- [5] 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,2004,20(4):373-377.
- [6] 李荣华,聂摇慧,刘友章. 痛风动物模型的研究现状及评价

- [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(6): 1519 - 1512.
- [7] 孔悦, 张冰, 刘小青, 等. 黄嘌呤氧化酶活性在高尿酸血症动物模型中的变化[J]. 北京中医药大学学报, 2004, 6: 38 - 40
- [8] 张冰, 刘小青, 丁正磊, 等. 鹤鹑高尿酸血症模型发病机理研究[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 9: 595 - 598
- [9] 张剑勇, 刘题章, 邱侠瑶, 等. 痛风泰颗粒对兔滑膜细胞 IL-1 β 和 TNF- α 表达的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2011, 6(2): 103 - 105.
- [10] 张晓刚. 肝脂酶与脂蛋白代谢[J]. 国外医学. 临床生物化学与检验学分册, 2002, 1: 48 - 49.
- [修回日期] 2015 - 10 - 21

(下接第 36 页)

- [14] Schwab CL, Fan R, Zheng Q, *et al.* Modeling and predicting stress-induced immunosuppression in mice using blood parameters [J]. *ToxicolSci*, 2005, 83(1): 101 - 113.
- [15] Kiank C, Holtfreter B, Starke A, *et al.* Stress susceptibility predicts the severity of immune depression and the failure to combat bacterial infections in chronically stressed mice[J]. *Brain BehavImmun*, 2006, 20(4): 359 - 368.
- [16] 光炎. 免疫学原理[M]. 第一版. 上海: 上海科学技术出版社, 2007, 87 - 94.
- [17] 金惠铭, 王建枝. 病理生理学[M]. 第六版. 北京: 人民卫生出版社, 2004, 144 - 151.
- [18] Moberg GP, Mench JA. 动物应激生物学: 动物福利的本质和基本原理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005, 28 - 41.
- [19] 吴剑平, 杨斐, 胡樱. 常规实验操作对 Wistar 大鼠的影响[J]. 中国实验动物学报, 2010, 18(4): 312 - 317.
- [20] 杨斐, 胡樱, 许兰文. 小鼠福利受损模型的建立及营养干预作用的研究[J]. 实验动物与比较医学, 2008, 28(2): 74 - 79.
- [21] 尹建春, 颜军. 不同应激方式对大鼠体内 β -内啡肽的影响[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(9): 1146.
- [22] 徐志伟, 严灿, 李艳, 等. 慢性心理应激大鼠血浆及中枢 β -EP、ACTH 含量的变化及调肝治法方药的影响[J]. 中药药理与临床, 2002, 18(5): 37 - 39.
- [23] 陈主初, 王树人. 病理生理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001, 184 - 185.
- [修回日期] 2015 - 09 - 18