

高尿酸血症及痛风性关节炎的动物模型研究概况

Advance in the animal model of hyperuricemia and gouty arthritis

苏友新, 陈伟宏, 王和鸣, 许书亮, 郑良朴

SU Youxin, CHEN Weihong, WANG Heming, XU Shuliang, ZHENG Liangpu

关键词 高尿酸血症; 关节炎, 痛风性 **Key words** Hyperuricemia; Arthritis, gouty

痛风是一种古老而又崭新的病种,近年来随着其发病率的升高,对该病的研究也逐渐增多。本文将概述痛风及高尿酸血症的动物模型研究现状并简要介绍我们研制的鸡痛风病模型。

1 痛风性关节炎的动物模型

急性痛风的致炎因子是尿酸钠盐结晶,当尿酸钠结晶沉积到关节腔周围时,可以诱使炎症细胞聚集到其周围发生吞噬反应,在吞噬反应过程中吞噬细胞破裂释放出多种致炎致痛因子,从而引起关节周围广泛的炎症反应^[1]。针对以上机制,Coderre等^[2]最早设计了尿酸钠盐局部关节注射的痛风性关节炎模型。Coderre所用的是大鼠,注射的是踝关节,注射量为0.2 ml。除了大鼠之外,还有用兔与小鼠作为模型动物,注射后肢膝关节。尽管Coderre等人的模型现已被广泛采用,但这种外源性尿酸钠所致的损伤与痛风发病的生化改变有所不同,该模型毕竟是痛风局部关节症状模拟的模型,只适用于局部关节症状的观察,与痛风性关节炎建立在血尿酸升高生化基础上的发病机制有别,不适用于观察血尿酸代谢影响的研究。

2 慢性痛风模型 - 痛风性结节肿模型

痛风性结节肿形成是慢性痛风性关节炎的重要表现与特征,故有人就以大鼠气泡模型来模拟慢性痛风性关节炎^[3]。常用的方法是将雄性大鼠麻醉后背部剃毛消毒,在背部用20 ml注射器注入消毒滤过空气20 ml,至背部皮下形成气泡囊。3 d之内如气泡有缩小,再以同法补充气体。从第4天开始向气泡内注射尿酸钠结晶,在注入结晶后局部可以形成炎症硬结,即类似于痛风性结节肿。研究时向肿胀气泡内推入生理盐水,冲洗气泡,并尽量抽出气泡内的液体,进行液体体积定量、白细胞计数与分类、吞噬细胞计数及细胞因子等相关的检查,对囊泡内膜进行病理、免疫组化及电镜等观察分析。

3 高尿酸血症的动物模型

3.1 尿酸生成前体物质给药的大小鼠高尿酸血症模型 采用尿酸生成的前体物质次黄嘌呤或腺嘌呤等为模型药物,制备高尿酸血症模型是最近才被逐渐采用的造模方法,并部分运用于药物的药理药效学实验研究。金沈锐等^[4]先后使用核酸、ATP等含嘌呤的制剂注射小鼠,但小鼠血尿酸增高均不明显。认为:小鼠肾脏强大的排尿酸能力和尿酸酶活性会随

着尿酸生成增多而增高,故小鼠血尿酸不增高。而他们改用大剂量的次黄嘌呤和乙胺丁醇给小鼠灌胃,5 d后其血尿酸水平升高,但持续时间短,且不稳定,10 d后小鼠血尿酸水平反而下降。文摘报道^[5,6]以小鼠为研究对象,分别采用一次性直接腹腔注射次黄嘌呤和尿酸的方法,均可使小鼠血尿酸水平急性升高,但其血尿酸升高不能稳定持久,且与临床情况差异较大。另有文摘报道^[7,8]分别在饲料中加入腺嘌呤和酵母的方法,造成大鼠血尿酸升高,但动物肾功能损害严重。国外学者也报道^[9],直接给予生成尿酸的前体物质可以较简便地复制高尿酸血症动物模型,且造模时间短。如果应用此模型并给予预防性受试药物,测定给药组与模型组的血清尿酸值,将有助于了解受试药物是否能增加血清尿酸的排泄或者抑制黄嘌呤氧化酶的活性而阻止尿酸的生成,也将助于筛选和评价抗痛风或抗高尿酸血症药物的作用环节及效果。因此,作为高尿酸血症这样一种现象,给予小鼠尿酸生成前体物质是可以复制成的。但是,小鼠的尿酸代谢和人类有不同之处,小鼠有尿酸分解酶而人类没有,这种给予生成尿酸的前体物质所引起的高尿酸血症与人类的高尿酸血症有所差异;再则,该模型维持高尿酸血症的时间很短,不利于疗效追踪观察研究;其三,研究发现小鼠雌雄个体及同性别个体之间血尿酸正常值差异较大,作为一种疾病动物模型,个体之间差异过大,其实验结果的准确性会受到影响;其四,当模型动物的血尿酸升高时,往往伴有不同程度的肾小管损害,影响肾功能,这也值得重视。故这种高尿酸血症的动物模型还须更进一步研究。

3.2 尿酸酶抑制剂给药的高尿酸血症模型 此模型以大、小鼠为研究对象,采取在饲料中加入尿酸酶抑制剂或尿酸和尿酸酶抑制剂同时给药的方法产生高尿酸血症,此模型特点为血尿酸水平变化大,维持时间长,同时伴有血TG显著升高,但动物还伴有肾功能损害^[10]。

3.3 转基因的高尿酸血症动物模型 随着现代生物科技的进步,许多疾病的转基因动物模型已广泛建立并使用,这种新的动物模型造模方法也被引入到高尿酸血症的模型建立中来。Wu等^[11]首先通过胚胎干细胞重组,破坏小鼠尿酸氧化酶基因,获得尿酸酶缺乏的突变小鼠,从而造成高尿酸血症模型,但该方法使半数以上突变小鼠不能存活4周以上,且文献对此方法也未有定论,使得该模型实际应用存在很大问题。同时,转基因动物模型目前仍较昂贵,也限制了其推广使用。

总的看来,由于血尿酸升高是痛风发病的重要生化基础,

因此围绕着高尿酸血症, 广大学者进行了广泛探讨, 也陆续推出几种不同模型。但对于高尿酸血症, 由于人类缺乏尿酸分解酶(urate oxidase), 而其他大多数动物, 包括哺乳动物, 它们体内存在尿酸分解酶, 故可以将体内尿酸进一步分解为尿酸素, 尿酸素水溶性良好极易随尿排出体外, 很少在体内蓄积, 不产生结晶, 也不会组织内形成痛风结石而造成损害。因此, 在哺乳动物上建立高尿酸血症模型相当困难, 仍需要更深入研究。

4 鸡痛风病模型的研制

鸡的嘌呤代谢最终产物是尿酸, 可以形成高尿酸血症及痛风病^[12]。曹克光等^[13]认为, 鸡在尿酸合成和代谢方面与人类有共同之处。其一, 鸡体内的核蛋白水解后的核酸在降解过程中也能产生嘌呤类化合物而生成尿酸, 当饲料里蛋白质和核蛋白过高时, 鸡体内尿酸的生成就大量增加; 其二, 鸡与人类一样缺乏尿酸酶, 故尿酸是其嘌呤代谢的最终产物。蛋鸡痛风病的流行病学观察表明, 以下几种因素与蛋鸡的痛风发病密切相关: 日食中蛋白质的数量和性质。高核蛋白类饲料可引起鸡的内脏或关节出现尿酸盐沉积。这是由于食入大量高核蛋白后, 血液中尿酸含量增高, 引起肾脏排泄受阻, 同时引起肾小管上皮的损害, 引起尿酸代谢紊乱, 引起痛风病。董纯武等^[14]在试验中观察到, 粗蛋白含量在相等的水平下, 日粮中无鱼粉的鸡痛风发病率低, 而含有鱼粉则发病率高。同时还以蚕蛹粉和鱼粉作对比饲喂试验, 其结果显示食鱼粉的鸡发病率高于食蚕蛹组, 说明不同动物性蛋白有不同程度的痛风发病危险系数。除了蛋白质的数量和性质外, 蛋鸡痛风一般易发生于青年鸡(产蛋高峰期前), 在此阶段内, 鸡的血液尿酸值一般都偏高, 而至 150 日龄以后, 蛋鸡的血尿酸值有所下降^[15]。故除了饲料的影响外, 鸡的日龄也是鸡痛风的一个影响因素。饮水增多则尿酸排泄快, 饮水不足, 使尿酸的排出减少, 故饮水量亦是诱发鸡痛风病的一个重要原因^[16]。饲料中的维生素 A 长期缺乏, 使得输尿管、肾小管等组织的黏膜上皮角化而脱落, 从而使输尿管发生尿路障碍, 使尿酸盐沉积, 亦成为一个常见的诱发因素^[15]。钙磷比例失调, 高钙饲料可以促进痛风的发展。青年蛋鸡对高钙饲料十分敏感, 如果饲料中钙的含量超过标准的 50% 即会产生不良后果, 对青年蛋鸡饲喂含钙 2.5%、磷 0.4% 的日食即可发生肾病变。持续的高血钙会对肾小管上皮细胞形成很大的危害, 致使其肿胀、变性、坏死、脱落^[17]。鉴于以上认识, 根据鸡的尿酸代谢与人类相似没有尿酸酶, 尿酸是嘌呤代谢的最终产物和高核蛋白、高钙、限制进水量易引发青年蛋鸡痛风病的发病特点, 选择在蛋鸡 100 日龄前开始提前给予喂产蛋高峰期饲料, 并补充鱼粉、骨粉致蛋白质含量大于 20%、含钙大于 4%, 在饲养过程中限制进水量, 在试验中成功地模拟出人类痛风相似的高尿酸血症及痛风病模型^[18]。该鸡模型表现为: 精神不振, 闭眼发呆, 冠髻苍白、贫血, 羽毛松乱、脱落; 运动迟缓, 步行疼痛, 站立不稳, 喜伏卧, 跗踝关节及趾部肿胀增粗变形, 约为正常 1~1.5 倍, 触摸关节躲闪、挣扎、哀鸣痛叫, 腿污无光泽, 皮肤灰污如覆膜; 食欲减少或绝食, 素囊空虚, 逐渐消瘦衰弱; 粪便有大量白色尿酸盐, 关节腔白细胞升高; 解剖病死鸡可见皮下组织、关节面、关节腔表面覆盖一层白石灰

样的尿酸盐结晶。血生化检查显示: 翅静脉血液中尿酸含量正常鸡为 1.5~3.0 mg/100 ml, 而病鸡常大于 8 mg/100 ml, 升高 5~10 倍^[19]。

近 10 多年来, 随着我国人们生活水平的提高, 饮食结构的改变, 高尿酸血症及痛风的发病率同高血脂、高血压、糖尿病等一样, 也在逐年升高, 中医药在防治高尿酸及痛风方面有优势, 但需要加强药物作用机制及药效学的研究, 因此需要借助于相关动物模型的开发及深入研究。以上文献复习表明, 鸡的痛风病模型较符合人类痛风发病的过程, 是目前较理想模型之一, 可以选用。当然, 对于鸡痛风的发病机制, 还有待于进一步探讨。

参考文献

- 赵圣川. 痛风的诊断与治疗. 北京: 军事医学科学出版社, 2002. 19-20.
- Coderre TJ, Wall PD. Ankle joint arthritis in rats: An alternative animal model of arthritis to that produced by Freund's adjuvant. Pain, 1987, 28: 379-393.
- Wyngaarden JB, Kelley WN. Gout and hyperuricemia. Philadelphia: Grune & Stratton, 1978. 39-49.
- 金沈锐, 郑军, 刘绍唐. 小鼠高尿酸血症模型初探. 成都中医药大学学报, 1999, 22(1): 49-50.
- 唐灿, 杨奎. 高尿酸血症动物模型初探. 中药新药与临床药理, 2000, 11(5): 292-294.
- 陈光亮, 王钦茂, 孙秀霞, 等. 小鼠高尿酸血症模型的研究. 中国药理学通报, 2001, 17(3): 350-352.
- 张超, 曹克光, 杨崇青, 等. 高尿酸血症及尿酸性肾病动物模型的建立及运用. 实验动物科学与管理, 1999, 16(4): 18-21.
- 何立群, 聂永红, 邹士林. 新型尿酸性肾病动物模型的建立. 上海实验动物科学, 2001, 20(1): 22-25.
- Yagnik DR, Hillier P, Marshall D, et al. Noninflammatory phagocytosis of monosodium urate monohydrate crystals by mouse macrophages. Implications for the control of joint inflammation in gout. Arthritis Rheum, 2000, 43(8): 1779-1789.
- Dan T, Yoneya T, Onoma M, et al. Hyperuricemic and uricosuric actions of AA-193 in a hyperuricemic rat model. Metabolism, 1994, 43(1): 123-128.
- Wu X, Wakamiya M, Vaishnav S, et al. Hyperuricemia and urate oxidase-deficient mice. Proc Natl Acad Sci, 1994, 91(2): 742-746.
- 邱许, 黄有才, 蒋建兵. 对蛋鸡痛风症的病因调查研究. 禽业科技, 1997, 13(7): 29-30.
- 曹克光, 臧力学, 唐丽, 等. 高尿酸血症动物模型的建立及运用. 实验动物科学与管理, 2000, 17(2): 6-9.
- 董纯武, 顾耀志, 吴祖立. 鸡痛风病研究报告. 中国兽医杂志, 1989, 15(2): 24-27.
- 秦四海, 殷学堂, 陈洪友. 代谢障碍性痛风的诊断和病因分析. 中国家禽, 1997, 19(9): 10-11.
- 林春驿. 鸡混合型痛风诊治报告. 当代畜牧, 1993, 9(3): 23.
- 刘文革, 李凤莲, 孙凤发. 高钙饲料引起鸡痛风的诊治. 中国兽医杂志, 1996, 22(3): 29.
- 陈伟宏, 苏友新, 王和鸣, 等. 痛风宁颗粒对试验性鸡痛风血尿酸代谢的影响. 中医正骨, 2002, 14(7): 6-7.
- 苏友新, 陈伟宏, 王和鸣, 等. 痛风宁颗粒对试验性鸡痛风性关节炎的影响. 中国骨伤, 2003, 16(5): 275-277.

(收稿日期: 2003-10-09 本文编辑: 王宏)