

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*

刘小青 张 冰 胡京红 刘春梅 洪庆涛 张浩军 孔 悦

摘要 目的:塑造与人类代谢类似的高尿酸血症动物模型,观察中药菊苣提取物对其影响。方法:选择鹌鹑作为模型动物,以酵母食饵为造模剂,塑造高尿酸血症模型,动态检测鹌鹑血清尿酸等生化指标,观察菊苣提取物对该模型动物血清尿酸水平等的影响。结果:饲酵母食饵(15g/kg)7天,鹌鹑血清尿酸水平明显升高,持续5周。菊苣提取物小剂量给药7天可明显降低酵母诱发的鹌鹑血尿酸升高和对抗其一过性血糖的增高,给药14天其作用优于阳性对照药苯溴马龙。结论:(1)该模型是筛选防治高尿酸血症中药及研究其机制较理想的动物模型。(2)菊苣提取物有明显的降尿酸作用。(3)造模机制和药物作用机理有待进一步深入研究。

关键词 鹌鹑 高尿酸血症 酵母 菊苣提取物

Study on Establishing Hyperuricemia Quail Model and Effect of Cichorii Extracts LIU Xiao-qing, ZHANG Bing, HU Jing-hong, et al *College of Basic Medicine, Beijing University of CM, Beijing (100029)*

Objective: To establish an animal model similar to hyperuricemia of human beings, and to observe the effect of Cichorii extracts (CE). **Methods:** Quails were used in the experiment, and yeast was selected for modelling. Biochemical parameters as serum uric acid were determined dynamically and effect of CE on serum uric acid level in the model animal was observed. **Results:** The serum uric acid in model quails increased significantly after being fed with yeast (15g/kg) for 7 days and the high level maintained for 5 weeks. Low dose of CE could lower significantly the yeast induced hyperuricemia and antagonize the transient hyperglycemia. The effect was better than that of positive control benzbromarone. **Conclusion:** The yeast induced hyperuricemia model is an ideal model for observing and screening Chinese herbal drugs for prevention and treatment of hyperuricemia. CE has significant uric acid reducing effect. The mechanism of modelling and drugs' effect are remained to be further studied.

Key words quail, hyperuricemia, yeast, cichorii extract

高尿酸血症是一种代谢性疾病,在欧美国家是高发病。近年随着人民饮食结构的变化,蛋白质摄入量明显增加,今后有可能成为我国一种常见病。高尿酸血症不仅可导致痛风,还可造成心血管、肾脏损害并加重脂肪及糖代谢性紊乱^[1],因此对其防治的研究有着重要的意义。然而目前动物模型的缺如,不能满足临床药理研究的需要。本研究探讨了高尿酸血症动物模型塑造方法,同时观察了中药菊苣提取物对其模型的影响,现将实验结果报告如下。

材料与方法

1 实验材料

1.1 动物 迪法克鹌鹑,雄性,体重(187.2 ±

17.2)g,购自北京市种禽场德岭鹌鹑分厂。在本室饲养5~7天后用于正式实验。

1.2 药品 酵母干粉,英国 OXOID 公司产品。菊苣提取物,菊苣购自山东奇可力保健品公司,经本校中药学院鉴定教研室鉴定,药化教研室制备提供。每克提取物含生药5.8g。苯溴马龙,德国赫曼大药厂产品,批号:0100838。

1.3 试剂 尿酸(uric acid, UA)检测试剂盒,批号:010788。尿素氮(BUN)检测试剂盒,批号:001010。血糖(GLU)检测试剂盒,批号:011025。均购自北京北化精细化学品有限责任公司。

2 实验方法

2.1 鹌鹑高尿酸血症模型建立 在确定造模剂量预实验的基础上,将鹌鹑按体重随机分为空白组8只,模型组10只。空白组自由摄食,模型组每天每只予模型饲料15g(内含酵母干粉3g),食后补充普通饲

* 国家自然科学基金资助项目(No. 39970936)

北京中医药大学基础医学院(北京 100029)

通讯作者:刘小青, Tel: 010-64286799

料。均自由饮水。实验期间每 7 天称体重,同时颈静脉取血检测相关生化指标各 1 次,实验周期为 35 天。

2.2 分组及给药方法 另取相同品系雄性鹌鹑,按体重随机分 5 组,即空白组、模型组、菊苣提取物大、小剂量组(简称 JJ 大、JJ 小剂量组)、阳性对照药组,每组 10 只。除空白组外,其余各组每天每只予上述相同配方模型饲料 15g,食后补充普通饲料,均自由饮水。菊苣大、小剂量组每天分别灌胃等体积菊苣提取物(按生药含量计算分别为:13.3g/kg 和 6.6g/kg)水溶液。阳性对照药组每天灌胃苯溴马龙(17mg/kg)1 次,其余两组灌胃等量常水,均自由饮水。实验周期为 14 天,实验至第 7、14 天分别颈静脉取血各 1 次,检测相关生化指标。

3 检测指标

按试剂盒说明检测血清 UA、BUN、GLU。黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)活性检测按文献^[2]方法进行。

4 统计学方法

实验数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组数据采用 t 检验。

结 果

1 鹌鹑高尿酸血症模型建立结果 见表 1。与空白组比较,模型组鹌鹑造模 7 天时,血清 UA 水平虽有增高,但经统计学处理未见明显差异。造模 14 天

后,血清 UA 水平明显升高($P < 0.01$),直至 35 天,UA 水平均持续明显升高,差异有显著性(均 $P < 0.01$)。血清 XO、BUN 水平在造模 7 天时有一过性明显升高(均 $P < 0.05$),14 天后自行恢复至正常水平,血清 GLU 水平 7、14 天时明显升高($P < 0.05$),之后直至 35 天均未明显升高。两组动物体重在整个实验期间均未见明显变化。

2 菊苣提取物对鹌鹑高尿酸血症的影响 菊苣提取物 7 天、14 天对鹌鹑血清 UA、XO、BUN、GLU、体重的影响,结果见表 2、3。表 2 结果显示,与空白组比较,模型组鹌鹑造模 7 天时血清 UA、GLU 水平均明显升高,差异有显著性($P < 0.01$, $P < 0.05$)。其余各项指标变化不明显。与模型组比较,JJ 小剂量组鹌鹑血清 UA、GLU 水平则均明显降低,差异有显著性(均 $P < 0.01$)。JJ 大剂量组和阳性对照药组的其他各项生化指标虽有升高或降低,但均无统计学意义。表 3 结果显示,与空白组比较,模型组鹌鹑造模 14 天血清 UA 水平仍明显增高($P < 0.01$)。与模型组比较,JJ 大剂量组血清 UA 水平虽有降低,但不显著。JJ 小剂量组与阳性对照药组鹌鹑血清 UA 水平则明显降低,与模型组比较差异有显著性($P < 0.05$, $P < 0.01$)。阳性对照药组鹌鹑血清 XO 水平明显升高($P < 0.05$)。而 JJ 大、小剂量组鹌鹑血清 XO 水平变化不显著。其余各组鹌鹑血清 BUN、GLU 和体重均变化不明显。

表 1 鹌鹑体重及血清生化指标检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	检测时间 (d)	UA ($\mu\text{mol/L}$)	XO (u/L)	BUN (mmol/L)	GLU (mmol/L)	体重 (g)
空白	8	7	200.6 $\pm$ 96.9	1.90 $\pm$ 0.32	3.72 $\pm$ 0.68	5.68 $\pm$ 0.53	184.4 $\pm$ 9.4
		14	152.2 $\pm$ 6.9	2.32 $\pm$ 0.68	5.47 $\pm$ 1.06	5.91 $\pm$ 1.33	184.6 $\pm$ 18.3
		21	155.7 $\pm$ 76.1	3.06 $\pm$ 0.37	3.42 $\pm$ 0.53	4.13 $\pm$ 0.53	203.5 $\pm$ 12.6
		28	173.0 $\pm$ 65.7	4.32 $\pm$ 0.32	5.09 $\pm$ 1.14	3.82 $\pm$ 0.61	196.3 $\pm$ 9.9
		35	166.0 $\pm$ 124.5	3.53 $\pm$ 0.26	3.57 $\pm$ 0.68	4.47 $\pm$ 0.37	193.0 $\pm$ 8.9
模型	10	7	311.3 $\pm$ 138.4	2.85 $\pm$ 0.84**	4.71 $\pm$ 0.76*	6.45 $\pm$ 0.68*	178.4 $\pm$ 17.6
		14	211.0 $\pm$ 27.7**	2.79 $\pm$ 0.58	5.24 $\pm$ 1.14	7.07 $\pm$ 0.68*	188.5 $\pm$ 12.8
		21	401.3 $\pm$ 186.8**	3.01 $\pm$ 0.37	3.87 $\pm$ 0.91	3.71 $\pm$ 0.66	201.2 $\pm$ 15.6
		28	249.1 $\pm$ 41.5**	4.16 $\pm$ 0.21	4.78 $\pm$ 0.91	4.15 $\pm$ 0.29	198.3 $\pm$ 13.6
		35	321.7 $\pm$ 89.9**	3.48 $\pm$ 0.13	3.95 $\pm$ 1.06	4.34 $\pm$ 0.38	193.5 $\pm$ 10.4

注:与空白组同时间比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

表 2 给药 7 天鹌鹑血清生化指标和体重变化结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	UA ($\mu\text{mol/L}$)	XO (u/L)	BUN (mmol/L)	GLU (mmol/L)	体重 (g)
空白	10	200.6 $\pm$ 86.5**	3.11 $\pm$ 0.47	3.95 $\pm$ 0.91	4.18 $\pm$ 0.51*	188.7 $\pm$ 12.2
模型	9	311.3 $\pm$ 86.5	3.01 $\pm$ 0.31	4.48 $\pm$ 0.76	4.65 $\pm$ 0.31	192.8 $\pm$ 11.7
JJ 大剂量	10	321.7 $\pm$ 58.8	3.22 $\pm$ 0.53	4.86 $\pm$ 0.53	4.37 $\pm$ 0.37	187.4 $\pm$ 8.6
JJ 小剂量	9	193.7 $\pm$ 86.5**	3.43 $\pm$ 1.27	4.71 $\pm$ 0.91	4.24 $\pm$ 0.31**	196.1 $\pm$ 12.5
阳性对照药	10	311.3 $\pm$ 121.1	3.22 $\pm$ 0.53	5.17 $\pm$ 0.91	4.58 $\pm$ 0.37	194.9 $\pm$ 17.1

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

表 3 给药 14 天鹌鹑血清生化指标和体重变化结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	UA ($\mu\text{mol/L}$)	XO (u/L)	BUN (mmol/L)	GLU (mmol/L)	体重 (g)
空白	10	217.9 $\pm$ 93.4**	2.11 $\pm$ 0.63	4.71 $\pm$ 0.83	4.42 $\pm$ 0.30	196.8 $\pm$ 12.6
模型	9	328.6 $\pm$ 83.0	1.74 $\pm$ 0.37	5.17 $\pm$ 0.68	4.71 $\pm$ 0.35	204.4 $\pm$ 16.5
JJ 大剂量	10	301.0 $\pm$ 89.9	2.06 $\pm$ 0.42	6.00 $\pm$ 1.44	4.45 $\pm$ 0.26	191.0 $\pm$ 9.9
JJ 小剂量	9	228.3 $\pm$ 83.0*	1.95 $\pm$ 0.32	5.01 $\pm$ 1.22	4.51 $\pm$ 0.32	199.7 $\pm$ 13.5
阳性对照药	10	200.6 $\pm$ 58.8**	2.27 $\pm$ 0.42*	5.01 $\pm$ 1.06	4.47 $\pm$ 0.17	203.0 $\pm$ 19.1

注:与模型组比较,* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

讨 论

目前国内外高尿酸血症模型动物主要以鼠类为研究对象,其方法一是通过破坏尿酸酶基因及基因重组法造成小鼠高尿酸血症^[3],二是予尿酸酶抑制剂的同时喂饲尿酸以提高血中尿酸的浓度^[4],三是给予药物减少尿酸排泄的同时口服黄嘌呤或次黄嘌呤来提高血中尿酸的浓度^[5],四是通过单纯给大鼠喂饲一定量的腺嘌呤,可在较短时间内使其血清尿酸水平明显升高,但此模型鼠 7 天后血尿酸水平下降至正常水平,10 天后伴有明显的肾功能改变^[6]。也有报道以鸡为造模对象,通过给鸡喂饲腺嘌呤试图建立高尿酸血症动物模型^[7]。以上模型虽均表现有血尿酸升高,但存在造模方法复杂,或尿酸代谢途径与人类差距较大、或造模剂价格昂贵,或不适于药理筛选、或动物体积较大,不易于饲养等弊端。

笔者在试图寻找尿酸代谢途径与人类较一致的动物时发现,心血管研究常用实验动物鹌鹑可作为塑造高尿酸血症模型动物。已有研究证实禽类与人类的嘌呤核苷酸代谢途径相似,都以尿酸为终产物排出体外,鹌鹑属鸟纲、鸡形目、雉科,与鸡一样均属禽类,所以鹌鹑血清尿酸浓度能较确切的反应体内嘌呤核苷酸代谢水平。为此,笔者在对比了小鼠与鹌鹑生理生化特征后,选择鹌鹑作为实验对象,从尿酸生成及代谢途径入手,分别以尿酸及腺素为造模剂进行造模初见苗头^[8],但仍存在造模剂价格较昂贵,并与现实生活中高尿酸血症的发生多与核苷酸代谢异常引起有一定的距离。本实验选择酵母作造模剂,当鹌鹑摄入较大剂量的酵母之后,能干扰机体正常的嘌呤代谢,致嘌呤代谢紊乱,导致血尿酸升高。笔者发现:鹌鹑食酵母 7 天后,其高尿酸血症则开始或明显形成,且比较稳定,可持续至实验 35 天。同时发现;在鹌鹑高尿酸血症形成的同时,可见与尿酸代谢相关的黄嘌呤氧化酶有一过性明显升高,后逐渐自行恢复至正常,一般情况下,当大剂量的酵母食入体内后,通过黄嘌呤氧化酶代谢途径,生成大量尿酸。本实验中黄嘌呤氧化酶一过性升高,推

测尿酸的升高是否酵母进入体内后主要通过另一代谢途径转变为鸟嘌呤后,在鸟嘌呤脱氨酶的作用下转变为黄嘌呤,最终转变为尿酸,有待今后的观察证实。酵母造模类似于人类的原发性高尿酸血症,肾功能、血糖在造模初期有一过性升高,14 天后自行恢复,体重一直未见明显变化,说明鹌鹑喂饲酵母造模无明显毒性反应。该模型动物尿酸代谢途径与人类相近、造模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、塑模造价低、动物体积小、实验操作方便、易于饲养管理、模型稳定、重复性好、可望成为筛选观察降尿酸药物治疗作用、研究高尿酸血症发病机理的理想动物模型。

为验证酵母诱导的鹌鹑高尿酸血症动物模型的实用性,拓宽中药菊苣的治疗范围,发挥中药整体调节的药理活性,本实验还观察了中药菊苣提取物对酵母诱发的鹌鹑高尿酸血症的影响。中药菊苣是一种药食两用植物,《药典》记载其性味苦寒,清热利湿,健脾解毒,性味苦寒临床对于湿热困阻的高脂、高血糖症,湿热下注的继发感染、疼痛均有疗效。民间用其治黄疸、肾炎,国外用之做食物添加剂。笔者在以往的研究中发现:菊苣提取物对动物高糖、高脂导致的血尿酸升高有较好的调节作用,对体外高脂血清培养的动脉平滑肌细胞损伤有明显的保护作用^[9,10]。本实验结果显示:菊苣提取物小剂量 7 天始即可明显降低酵母诱发的鹌鹑血尿酸升高,且降尿酸作用持续时间长,并可对抗一过性的血糖增高,优于阳性对照药苯溴马龙。充分显示了中药菊苣对嘌呤核苷酸代谢紊乱有较好的调节作用,菊苣药材分布广泛,成分提取简单,药理活性广泛,有望成为降尿酸的二类新药。

参 考 文 献

- 1 孟昭亨编著. 痛风的并发症. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1997:238—244.
- 2 王晓京,李龙官. 比色法测定黄嘌呤氧化酶. 生物化学与生物物理进展 1986;(5):65—70.
- 3 Wu X, Wakamiya M, Vaishnav S, et al. Hyperuricemia and urate nephropathy in urate oxidase-deficient mice. Medical

- Sciences, 1994;91:742—746.
- 4 Iris HH, John PS, David JR, et al. Substituted cyclic imides as potential antigout agents. Life Sciences 1990;46(26):1923—1927.
 - 5 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.
 - 6 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应用. 实用动物科学与管理 1999;16(4):18—21.
 - 7 曹克光, 戚力学, 唐丽, 等. 高尿酸血症动物模型的建立与应用. 实验动物科学与管理 2000;7(2):6—9.
 - 8 刘小青, 张冰, 刘春梅, 等. 鹌鹑高尿酸血症模型建立初探. 中国病理生理杂志 2001;17(10):1038—1040.
 - 9 张冰, 刘小青, 胡京红, 等. 菊苣提取物对高糖复合高血脂模型兔血浆 vWF、ET 及 PGI₂/TXA₂ 含量的影响. 北京中医药大学学报 2000;23(6):48—50.
 - 10 张冰, 刘小青, 胡京红. 菊苣胶囊对糖尿病合并高脂血症兔血糖、血脂、尿酸的影响. 中药新药与临床药理 1998;49(9):221—223.
- (收稿:2002-05-20 修回:2002-10-10)

醒脑静与纳络酮联用治疗安定中毒的临床观察

周 瑛 李奇林

1999 年 12 月—2002 年 6 月, 我们采用醒脑静注射液联合纳络酮治疗急性安眠药中毒 35 例, 并与单纯纳络酮治疗的 29 例及单纯醒脑静治疗的 31 例进行对照, 现总结如下。

临床资料 全部病例均来源于就诊我院急诊科的患者; 因工作、学习、家庭及感情等多方面因素选择服药轻生; 明确为安眠药(安定)中毒; 来诊时均有不同程度的意识障碍, 其中 11 例合并酒精中毒。95 例患者按就诊月份随机分为 3 组。中西医组 35 例, 男 6 例, 女 29 例, 年龄(24.2 ± 5.8)岁, 其中 4 例合并酒精中毒。纳络酮组 29 例, 男 4 例, 女 25 例, 年龄(24.5 ± 5.5)岁, 3 例合并酒精中毒。醒脑静组 31 例, 男 5 例, 女 26 例, 年龄(23.8 ± 5.7)岁, 4 例合并酒精中毒。经统计学处理, 3 组患者的服药至就诊时间、服药剂量、意识障碍程度等差异无显著性($P > 0.05$), 有可比性。见表 1。

表 1 3 组患者就诊时的临床资料

组别	服药剂量 (mg, $\bar{x} \pm s$)	嗜睡	昏睡	昏迷	服药后就诊时间 (h, $\bar{x} \pm s$)
中西医	250.0 ± 220.0	24	6	5	2.34 ± 2.12
纳络酮	245.0 ± 227.5	19	5	5	2.29 ± 2.10
醒脑静	252.5 ± 217.5	22	5	4	2.28 ± 2.11

治疗方法 3 组均常规给予洗胃、补液、利尿促排、纠正电解质失衡、吸氧及抗感染等对症处理。纳络酮组: 予首次剂量纳络酮(北京四环医药科技股份有限公司生产)0.4~0.8mg 静脉推注, 后以 2mg 加入 5%~10% 葡萄糖或生理盐水 250~500ml 中静脉滴注。醒脑静组: 给予醒脑静注射液(无锡山禾药业股份有限公司生产)20~40ml 加入 5%~10% 葡萄糖或生理盐水 250~500ml 中静脉滴注。中西医组: 首先给予纳络酮 0.4~0.8mg 静脉推注, 同时予醒脑静 20ml 静脉滴注, 随后予纳络酮 1.2mg 静脉滴注。观察患者就诊时和清醒后的神志、血压、心率和瞳孔等指标。

统计学方法: 采用 t 检验。

结 果 95 例患者全部治愈, 均神志恢复, 呼吸、血压平稳后离开。3 组患者神志恢复时间(h), 中西医组(1.73 ± 0.98)显

著短于纳络酮组(3.22 ± 1.38)及醒脑静组(3.37 ± 1.11)($P < 0.01$), 纳络酮组与醒脑静组比较差异无显著性($P > 0.05$); 同组患者就诊时与清醒后的神志、呼吸、血压、心率及瞳孔等临床指标比较差异有显著性($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组治疗结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	呼吸 (次/min)	收缩压 (mmHg)	心率 (次/min)	瞳孔 (mm)
中西医	35	治前 12.0 ± 2.0 治后 $17.0 \pm 2.0^*$	治前 85.5 ± 5.5 治后 $105.7 \pm 5.8^*$	治前 53.0 ± 6.0 治后 $72.0 \pm 5.5^*$	治前 1.50 ± 0.50 治后 $3.00 \pm 0.50^*$
纳络酮	29	治前 11.5 ± 2.5 治后 $18.0 \pm 1.0^*$	治前 87.3 ± 6.7 治后 $104.8 \pm 5.9^*$	治前 54.0 ± 5.5 治后 $74.0 \pm 5.0^*$	治前 1.40 ± 0.50 治后 $2.90 \pm 0.60^*$
醒脑静	31	治前 12.0 ± 2.5 治后 $17.5 \pm 2.0^*$	治前 86.9 ± 6.2 治后 $103.6 \pm 6.7^*$	治前 52.5 ± 5.0 治后 $73.5 \pm 5.0^*$	治前 1.50 ± 0.60 治后 $2.80 \pm 0.50^*$

注: 与本组治疗前比较, * $P < 0.05$

讨 论 安定类安眠药主要作用于人脑的边缘系统(尤其是杏仁核), 其次是间脑。中毒时引起颅内及血管内 β -内啡肽浓度增高, 大量 β -内啡肽作用于阿片受体能引起中枢抑制、呼吸抑制及心血管系统异常, 临床上可表现为意识障碍(嗜睡、浅昏迷、深昏迷)、瞳孔缩小、呼吸浅慢、肺通气不足、高碳酸血症、心率减慢、血压降低甚至休克, 严重时可威胁生命。纳络酮是特异性阿片受体拮抗剂, 通过竞争结合阿片受体, 而阻断安定的中枢抑制作用, 促进意识恢复, 并能解除其对呼吸、心血管的毒副反应。醒脑静注射液是由传统中药名方“安宫牛黄丸”精制而成, 主要由麝香、冰片、栀子、郁金等中药组成, 具有芳香开窍、醒神止惊、清热解毒、凉血行气的作用。现代药理研究证实醒脑静具有清除氧自由基和抗氧化作用, 麝香酮还有抑制血管通透、改善脑细胞的水、盐代谢, 增强细胞耐缺氧能力, 促进意识恢复; 还有研究证实, 醒脑静注射液具有与纯阿片受体拮抗剂纳络酮相同的药理作用, 两者有协同作用。通过本组病例观察到, 醒脑静与纳络酮联合应用, 与单用纳络酮或单有醒脑静相比, 在促进意识转清, 止惊, 改善呼吸、血压等方面确有明显疗效, 显著缩短安定中毒的意识障碍时间及留院观察治疗时间, 并且对于数例合并酒精中毒的病例同样有效。临床应用安全且副反应轻微, 值得急救中心推广应用。

(收稿:2002-07-23 修回:2002-09-28)