

清风散防治高尿酸血症的实验研究*

王媛媛, 程芳, 甘亚丽, 陈光亮[△]

(安徽中医学院, 安徽合肥 230038)

[摘要] 目的: 研究清风散对动物高尿酸血症的防治作用及可能的作用机制。方法: 采用尿酸、酵母膏分别致动物高尿酸血症模型, 测定小鼠、大鼠血清尿酸水平、尿量、尿液尿酸浓度、尿酸排泄量。结果: 清风散浸膏 $16\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃能够明显降低尿酸致高尿酸血症小鼠血清尿酸水平 ($P < 0.01$)。 $8\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $4\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃能够明显降低酵母致高尿酸血症大鼠血清尿酸水平 ($P < 0.01$), 大鼠尿量和 24h 尿酸排泄量明显增多 ($P < 0.01$), 而尿尿酸浓度未见明显增加; 结论: 清风散有明显的抗高尿酸血症作用, 其降尿酸作用可能与利尿作用或促进尿酸排泄作用有关。

[关键词] 清风散; 尿酸; 酵母膏; 高尿酸血症

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2010)02—0029—03

高尿酸血症 (Hyperuricemia, HUA) 是指细胞外液的尿酸盐呈超饱和状, 一般血清尿酸含量男性超过 $416\mu\text{mol/L}$, 女性超过 $357\mu\text{mol/L}$ 可诊断为高尿酸血症^[1]。随着社会经济的发展和人民生活水平的提高, 国民饮食中嘌呤及蛋白含量增加, 高尿酸血症的发病率呈上升趋势^[2-3]。高尿酸血症和痛风已经成为继糖尿病之后的第二大代谢类疾病。高尿酸血症不仅可诱发痛风、尿石症等疾病, 而且血尿酸水平升高与高血压、冠状动脉粥样硬化、肥胖、脂代谢紊乱、心力衰竭及脑梗死等许多心血管疾病密切相关^[4-5]。

清风散是治疗高尿酸血症多年的临床经验方, 由草薢、茯苓、忍冬藤、金钱草、牛膝、苍术、蚕砂等 10 味药组成, 治疗湿热蕴结型和痰热阻滞型高尿酸血症疗效显著。本文研究清风散对尿酸致小鼠高尿酸血症及酵母膏致大鼠高尿酸血症的防治作用及可能的作用机制。

1 材料

1.1 药物

清风散, 其中的饮片均购于合肥乐家老铺中药饮片有限公司, 并经安徽中医学院中药鉴定教研室鉴定。上述 10 味药按处方比例配药后加 10 倍量水

煎煮 1.5h, 过滤, 药渣再加 8 倍量水煎煮 1h, 合并煎液, 浓缩苯溴马隆片, 宜昌长江药业有限公司, 批号 070901。别嘌呤醇片, 上海信谊万象药业股份有限公司, 批号 071104。

1.2 试剂

尿酸, Sigma 公司产品。酵母膏, 北京奥博星生物技术责任有限公司, 批号 20071008。尿酸测定试剂盒, 南京建成生物工程研究所, 批号 20080704。

1.3 动物

雄性昆明种小鼠, 体重 30 ~ 35g; 雄性 SD 大鼠, 体重 200 ~ 250g, 均购于郑州大学实验动物中心, 合格证: Socxk (豫) 2005 - 0001。

1.4 主要仪器

UV - 754 分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司生产。电热恒温水浴锅, 江苏国胜实验仪器厂。台式离心机, 上海安亭科学仪器厂。

2 方法

2.1 尿酸致小鼠高尿酸血症模型^[6]

雄性昆明种小鼠 70 只, 随机均分为 7 组 ($n = 10$): 正常组, 模型组, 清风散高 ($16\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、中 ($8\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、低 ($4\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 剂量组, 苯溴马

* 收稿日期: 2009—10—29 修回日期: 2009—11—26

作者简介: 王媛媛 (1984 ~), 女, 安徽颍上人, 安徽中医学院 07 级研究生, 主要研究方向为中药防治代谢综合征的基础与应用研究。△ 通讯作者: 陈光亮, E-mail: chguangl@163.com

隆组 ($20\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 及别嘌呤醇组 ($40\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。灌胃给药, 每天1次, 连续7d, 正常组和模型组给等量的 $0.5\% \text{CMC} - \text{Na}$ 。末次给药后1h, 除正常组腹腔注射生理盐水外, 其余动物腹腔注射尿酸 $250\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 1h后小鼠摘眼球取血, 分离血清并测定血清尿酸水平。

2.2 酵母膏致大鼠高尿酸血症模型^[7]

雄性SD大鼠70只, 随机分为7组 ($n=10$): 正常对照组, 模型组, 清风散高 ($8\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、中 ($4\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、低 ($2\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 剂量组, 苯溴马隆组 ($10\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 及别嘌呤醇组 ($20\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。酵母膏 $20\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃进行造模, 每天1次, 连续10d, 造模第5天开始灌胃给药, 每天1次, 连续6d, 正常组和模型组给等量的 $0.5\% \text{CMC} - \text{Na}$ 。第8天开始平行留尿, 依次收集大鼠24h尿液, 记录尿量, 测定大鼠尿液尿酸并计算尿酸排泄量。第10天给药后1h腹主动脉取血, 分离血清并取上清液测定大鼠血清尿酸水平。

2.3 统计方法

实验数据的统计, 采用SPSS12.0 for windows软件处理系统。计量资料采用单因素方差分析, 用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 对尿酸致高尿酸血症小鼠血清尿酸水平影响

见表1。尿酸 $250\text{mg}/\text{kg}$ 灌胃, 模型组小鼠血清尿酸水平显著升高 ($P < 0.01$)。苯溴马隆组、清风散高剂量组小鼠血清尿酸水平显著降低, 与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.01$)。

3.2 对酵母膏致高尿酸血症大鼠血清尿酸水平影响

见表2。与正常组比较, 酵母膏 $20\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃, 模型组大鼠血清尿酸水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 苯溴马隆组, 别嘌呤醇组, 清风散高、中剂量组大鼠血清尿酸水平显著降低 ($P < 0.01$)。

3.3 对酵母膏致高尿酸血症大鼠尿量、尿液尿酸水平、24h尿酸排泄量的影响

表1 清风散对尿酸致高尿酸血症小鼠血清尿酸水平影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	血清尿酸水平/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
正常	-	142.0 ± 23.1
模型	-	$294.8 \pm 51.7^{\Delta\Delta}$
苯溴马隆	0.02	$157.6 \pm 32.4^{**}$
别嘌呤醇	0.04	262.5 ± 37.6
清风散高剂量	16	$214.7 \pm 39.1^{**}$
清风散中剂量	8	$251.8 \pm 33.3^*$
清风散低剂量	4	271.6 ± 43.9

与正常组比较, $\Delta \Delta P < 0.01$; 与模型组比较, $** P < 0.01$, $* P < 0.05$

表2 清风散对酵母膏致高尿酸血症大鼠血清尿酸水平影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	血尿酸 ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常	-	125.9 ± 28.2
模型	-	$202.3 \pm 31.1^{\Delta\Delta}$
苯溴马隆	0.01	$146.6 \pm 38.1^{**}$
别嘌呤醇	0.02	$152.7 \pm 32.6^{**}$
高剂量	8	$165.4 \pm 28.2^{**}$
中剂量	4	$158.3 \pm 31.5^{**}$
低剂量	2	181.6 ± 41.1

与正常组比较, $\Delta \Delta P < 0.01$; 与模型组比较, $** P < 0.01$

见表3。与正常组比较, 模型组大鼠尿量无明显差异; 与模型组比较, 清风散高、中剂量组大鼠尿量显著增加 ($P < 0.01$)。

与正常组比较, 模型组大鼠尿尿酸水平、24h尿酸排泄量显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 苯溴马隆组和别嘌呤醇组大鼠尿尿酸水平、24h尿酸排泄量显著增加 ($P < 0.01$)。而清风散高、中、低剂量组大鼠尿尿酸水平没有显著性差异, 24h尿酸排泄量显著增加 ($P < 0.01$)。

表3 清风散对酵母膏致高尿酸血症大鼠尿量、尿液尿酸水平、24h尿酸排泄量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量 (g · kg ⁻¹)	尿量 (mL)	尿酸水平 (μmol · L ⁻¹)	24 尿酸排泄量 (μmol)
正常	-	13.2 ± 3.1	813.7 ± 129.3	10.6 ± 2.4
模型	-	12.1 ± 3.8	1 311.5 ± 250.5 ^{△△}	15.5 ± 4.5 ^{△△}
苯溴马隆	0.01	11.1 ± 2.5*	2 033.1 ± 337.3**	22.8 ± 7.0**
别嘌呤醇	0.02	14.3 ± 2.7	832.1 ± 156.2**	11.6 ± 1.9**
高剂量	8	17.2 ± 4.8**	1 417.5 ± 340.7	23.9 ± 6.5**
中剂量	4	16.7 ± 4.1**	1 376.3 ± 339.8	22.7 ± 6.7**
低剂量	2	15.3 ± 4.1*	1 305.4 ± 289.5	19.7 ± 6.3*

与正常组比较, $\Delta \Delta P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.01$, ** $P < 0.05$

4 讨论

药效学研究常用的动物模型有: 小鼠高尿酸血症模型; 大鼠高尿酸血症模型; 大鼠高尿酸血症伴肾损害模型; 鸡痛风病模型; 鹤鹑高尿酸血症模型。高尿酸血症动物模型的设计思路包括给予大剂量含嘌呤物质, 或使用化学尿酸酶抑制剂, 或加用抑制尿酸排泄的药物, 建立的尿酸生成增多型或伴尿酸排泄障碍的动物模型^[8]。增加体内尿酸、尿酸前体(次黄嘌呤、黄嘌呤、腺嘌呤)的量或抑制肾小管尿酸的分泌均可导致体内血尿酸含量的增高导致高尿酸血症。

给予外源性尿酸, 小鼠血清尿酸水平显著升高。苯溴马隆、清风散高、中剂量均能降低小鼠血清尿酸水平, 而别嘌呤醇组小鼠血清尿酸水平轻度降低, 表明清风散可能主要通过促进尿酸排泄而降低血尿酸水平。

酵母造模类似于人类高蛋白饮食导致嘌呤核苷酸代谢紊乱诱发的高尿酸血症, 模型稳定。酵母灌胃, 大鼠血清尿酸水平、尿酸浓度、24h尿酸排泄量显著增加。苯溴马隆、别嘌呤醇、清风散高、中剂量能够显著降低大鼠血尿酸水平。清风散各剂量组大鼠尿量明显增多, 提示有明显的利尿作用。苯溴马隆组和别嘌呤醇组大鼠尿酸水平、24h尿酸排泄量显著增加, 而清风散各剂量组尿酸水平没有显著性差异, 24h尿酸排泄量明显增加, 提示其并不增加大鼠尿液中的尿酸浓度, 其促进尿酸排泄、降低尿酸作用, 可能与其利尿作用有关。

综上所述, 清风散具有明显的抗高尿酸血症作

用, 其作用机制可能主要是通过促进尿酸排泄。

本实验模型经典, 药物治疗作用明显。但是目前的高尿酸血症模型在时效性、稳定性和代谢途径方面都存在着一些不足^[7], 如何建立与人体尿酸代谢异常相似的动物模型, 深入开展痛风和高尿酸血症动物模型的研究, 还需要进一步的探索。

[参考文献]

- [1] 陈灏珠. 实用内科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 2602.
- [2] 黄志敏. 沿海居民痛风及高尿酸血症流行特点的随机、分层、整群抽样调查 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11 (30): 6087.
- [3] 吴炜戎, 郭阶明, 杨薇, 等. 广州市1 482例体检人员痛风和高尿酸血症患病现状的调查 [J]. 海南医学, 2007, 18 (9): 110.
- [4] Conen D, Wietlisbach V, Bovet P, et al. Prevalence of hyperuricemia and relation of serum uric acid with cardiovascular risk factors in a developing country [J]. BMC Public Health, 2004, 4: 9.
- [5] Baker JF, Krishnan E, Chen I, Schumacher HR: Serum uric acid and cardiovascular disease: recent developments and where do the leave us? *Am J Med*, 2005, 118: 816.
- [6] 陈光亮. 小鼠高尿酸血症动物模型的研究 [J]. 中国药理学通报, 2001, 17 (3): 350.
- [7] 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): 369.
- [8] 金沈锐, 秦旭华. 痛风及高尿酸血症动物模型的研究现状和评价 [J]. 中国实验动物学报, 2005, 13 (1): 55.

(编辑: 迟 越)

(英文摘要见第 46 页)