

改良痛风性关节炎大鼠模型的复制^{*}

郭玉星¹, 熊 辉^{1△}, 陆小龙¹, 朱方晓², 周 彪², 向黎黎¹, 齐星宇²

(1. 湖南中医药大学第二附属医院, 湖南 长沙 410005; 2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410007)

摘要: **目的** 复制腹腔连续注射氧嗪酸钾结合 Coderre 法的改良痛风性关节炎大鼠模型的方法。**方法** 40 SD 大鼠分为 4 组, 每组 10 只, A 组连续腹腔注射生理盐水 1 周后, 在右侧踝关节腔注射生理盐水; B、C 组连续腹腔注射氧嗪酸钾 1 周后, B 组在右侧踝关节腔注射尿酸钠溶液, C 组注射生理盐水; D 组连续腹腔注射生理盐水 1 周后, 在大鼠右侧踝关节腔注射尿酸钠溶液。造模期间观察大鼠的饮食、精神状态、大小便等情况, 于造模前、造模后 4、12、24、48h 测量关节肿胀程度, 检测造模 48h 后血尿酸、观察踝关节滑膜组织病理变化及检测滑膜组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量。**结果** ①造模前, 各组大鼠皮毛色白有光泽, 精神佳, 活泼好动, 进食及饮水正常, 体重增长正常; 造模后, A 组饮食、饮水、活动及大便均正常, 踝关节无明显肿胀及活动减少; B 组大鼠出现不同程度毛色干枯发黄、脱落, 进食、饮水减少, 踝关节红肿、肤温增高, 活动明显减少; C 组大鼠出现不同程度毛色干枯发黄、脱落, 进食、饮水减少, 踝关节无明显肿胀及活动减少; D 组饮食、饮水、活动及大便均基本正常, 踝关节红肿、肤温增高, 活动明显减少。②关节肿胀指数变化结果: 与 A 组相比, B、D 组各时点肿胀指数明显升高 ($P < 0.01$), C 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。③48h 后血尿酸变化结果与 A 组比较, B、C 组大鼠血尿酸值均明显升高 ($P < 0.01$, $P < 0.01$), D 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。④踝关节滑膜组织病理改变: A、C 组解剖时踝关节及其周围组织结构正常清晰, 无任何组织病理学改变, 光镜见滑膜上皮排列完整, 滑膜下血管分布正常, 无血管增生, 无炎症细胞浸润, B、D 组局部解剖时有尿酸盐结晶沉着于踝关节腔内, 可见明显的关节炎病理改变, 滑膜上皮脱落, 甚至消失不见, 见大量炎症细胞 (主要是中性粒细胞), 伴有血管增生 (见图 4B)。⑤滑膜组织中炎症因子 (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6) 水平比较: 与 A 组比较, B、D 组大鼠滑膜组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均显著增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.01$) (见表 4), C 组无明显差异 ($P > 0.01$)。**结论** 腹腔连续注射氧嗪酸钾结合 Coderre 法的改良急性痛风性关节炎大鼠模型可以成功复制, 该模型较符合于人类自然病程, 即痛风性关节炎建立在血尿酸升高生化基础上的, 可有效排除尿酸分解酶对关节腔中尿酸钠晶体的影响, 且经济、可重复性较高, 可作为痛风性关节炎研究的复合型动物模型。

关键词: 急性痛风性关节炎; 高尿酸血症; 改良; 大鼠动物模型

中图分类号: R598.7

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2017)02-0018-06

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2017.02.004

痛风性关节炎急性发作是尿酸钠 (monosodium urate, MSU) 在关节及关节周围组织以结晶形式沉积引起的急性炎症反应^[1]。近年来, 随着人们生活水平的提高, 饮食结构的变化, 糖、脂肪、蛋白质摄入量明显增加, 痛风性关节炎的患病率呈现出逐年递增的趋势^[1-3], 并造成重大的经济负担及社会负担。因此对痛风性关节炎的治疗, 尤其是反复急性发作的慢性痛风性关节炎的治疗, 仍然是一个有待解决的问

题。目前对痛风动物模型研究一类是痛风性关节炎的动物模型研究, 一类是高尿酸血症的动物模型研究。但两种模型研究常常比较独立, 造出的模型与人类急性痛风性关节炎的特点: ①高尿酸血症; ②具有急性痛风性关节炎的症状, 即关节红肿热痛, 有所出入, 而吕军等^[4]采用腹腔连续注射氧嗪酸钾结合 Coderre 法制作高尿酸血症并急性痛风性关节炎大鼠模型, 满足了高尿酸血症同时合并关节炎症状, 相对

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金 (81574005)

收稿日期: 2017-04-08

作者简介: 郭玉星 (1987-), 男, 湖南湘潭人, 医学博士, 主治医师, 研究方向: 中医筋伤、骨病、骨折的中医药研究。

△通信作者: 熊辉, E-mail: xh-hn@sina.com

贴近人类急性痛风性关节炎的特点,对痛风性关节炎的研究提供更可靠且经济的实验对象。为了进一步验证其重复性,以为痛风性关节炎药物治疗及机制研究提供相对贴近人类痛风性关节炎特点的动物模型,本研究参照吕军^[4]等对大鼠行腹腔连续注射氧嗪酸钾结合 Coderre 法造模并适度改良,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

SPF 级健康 SD 雄性大鼠 40 只,体质量 200~220g,由湖南中医药大学动物实验中心提供(SCXK<湘>2011-0003),由湖南中医药大学动物实验中心提供。TNF- α 、IL-6、IL-1 β (R&D)酶联免疫分析试剂盒购于安迪生物科技(上海)有限公司。TNF- α 试剂盒货号:DZE20220,批号:201511。IL-6 试剂盒货号:DZE20012,批号:201511。IL-1 β 试剂盒号:DZE20533,批号:201511。苏木精和伊红(HE)Sigma。

1.2 主要仪器

ER-182 A 型电子天平(日本 AND 公司),HF-120 全自动生化分析仪(山东海力孚企业)光学显微镜(日本 Olympus 公司),不锈钢带表卡尺(上海工具厂有限公司)等。

1.3 实验方法

1.3.1 造模药物制备

氧嗪酸钾溶液的制备^[5]:称取氧嗪酸钾晶体(上海瀚渤贸易有限公司,批号:131015)3g,溶解于 97mL 生理盐水中配成 3%氧嗪酸钾溶液。尿酸钠溶液制备:称取微晶尿酸钠(北京索莱宝科技有限公司 Solarbio 产品,批号 U8290)1 250mg,置于 45mL 生理盐水中,再加 5mL 吐温 80,加热搅拌,制成浓度 25mg/mL 的尿酸钠溶液。

1.3.2 动物分组与模型制作

①动物分组:40 只雄性 SD 大鼠喂养 1 周后采用随机数字表将其分为 4 组,每组 10 只。A 组为空白对照组,B 组为改良痛风模型组,C 组为高尿酸血症模型组、D 组为急性痛风性关节炎模型组。

②模型制作:参照吕军^[4]等建立高尿酸血症并急性痛风性关节炎大鼠模型的方法进行造模,具体如下:按无菌操作方法,用 4 号注射针头,将 3%的尿酸氧化酶抑制剂氧嗪酸钾摇匀后,以 1mL/100g 行腹腔内注射,2 次/d,连续注射 1 周后用 6 号注射针在大鼠右侧踝关节后侧沿跟腱内侧以 30~40°方向插入至

关节腔,将 0.2mL 尿酸钠溶液(浓度:25mg/mL)注入到关节腔内,以关节囊对侧鼓起为注入标准。A 组连续腹腔注射生理盐水 1 周后,在右侧踝关节腔注射生理盐水;B、C 组连续腹腔注射氧嗪酸钾 1 周后,B 组在右侧踝关节腔注射尿酸钠溶液,C 组注射生理盐水;D 组连续腹腔注射生理盐水 1 周后,在大鼠右侧踝关节腔注射尿酸钠溶液。

1.3.3 检测指标

造模期间观察大鼠的饮食、精神状态、大小便等情况,于造模前、造模后 4、12、24、48h 测量关节周径,计算关节肿胀指数^[5],以观察关节肿胀程度变化;造模 48h 后,用 10%水合氯醛按 3.5mL/kg 腹腔注射麻醉,通过腹主动脉采血,以测血尿酸变化。采血后放血处死大鼠,取受试踝关节,切开受试关节囊,以锐利刀片分理出滑膜组织,分别观察踝关节滑膜组织病理变化及检测滑膜组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量。

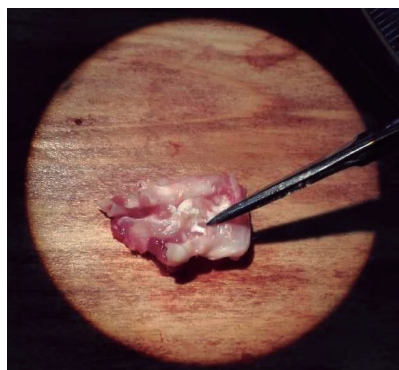


图1 采集的滑膜标本

1.3.4 统计学方法

所测数据以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据的统计学处理采用 SPSS 16.0 统计软件进行处理。组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),方差齐时选择 LSD 法,方差不齐时选择 Dunnett T3 法;不满足正态性时选择秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差别有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

造模前,各组大鼠皮毛色白有光泽,精神佳,活泼好动,进食及饮水正常,体重增长正常;造模后,A 组饮食、饮水、活动及大便均正常,踝关节无明显肿胀及活动减少;B 组大鼠出现不同程度毛色干枯发黄、脱落,进食、饮水减少,踝关节红肿、肤温增高,活动明显减少;C 组大鼠出现不同程度毛色干枯发黄、脱

落,进食、饮水减少,踝关节无明显肿胀及活动减少;D 组饮食、饮水及大便均基本正常,踝关节红肿、肤温增高,活动明显减少。

2.2 关节肿胀指数变化

与 A 组相比,B、D 组各时点关节肿胀指数明显升高($P<0.01$, $P<0.01$),C 组各时点肿胀指数无显著性差异($P>0.05$),B、D 组比较模后 4、24h 肿胀指数无显著性差异($P>0.05$),12、48h B 组肿胀指数稍高($P<0.05$)提示尿酸钠关节注射造成明显关节肿胀,

且肿胀可维持至少 48h,氧嗪酸钾腹腔造模对关节肿胀无明显干扰作用。见表 1。

各组大鼠右踝关节肿胀指数变化趋势表现为:关节腔造模后 B、D 组大鼠肿胀指数随时间推移逐步增大,均在造模后 12h 达到高峰;造模后 24h 开始逐渐减小,造模后 48h 最小;A、C 组 4、12h 后关节指数相对偏高,后逐渐减小。见图 2。

关节肿胀指数=(造模后周长-造模前周长)/造模前周长。

表 1 各组大鼠关节肿胀指数变化的比较($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	造模后 4h	造模后 12h	造模后 24h	造模后 48h
A 组	0.062±0.004	0.052±0.009	0.030±0.003	0.013±0.008
B 组	0.269±0.012 ^{▲*}	0.312±0.017 ^{▲**◆}	0.285±0.011 ^{▲*}	0.203±0.007 ^{▲**◆}
C 组	0.068±0.009	0.060±0.008	0.036±0.004	0.018±0.005
D 组	0.259±0.009 ^{▲*}	0.293±0.013 ^{▲*}	0.274±0.012 ^{▲*}	0.195±0.008 ^{▲*}

注:A 组为空白对照组,B 组为改良痛风模型组,C 组为高尿酸血症模型组,D 组为急性痛风性关节炎模型组。与 A 组相比,▲ $P<0.01$;与 C 组相比,* $P<0.01$;与 D 组相比,◆ $P<0.05$

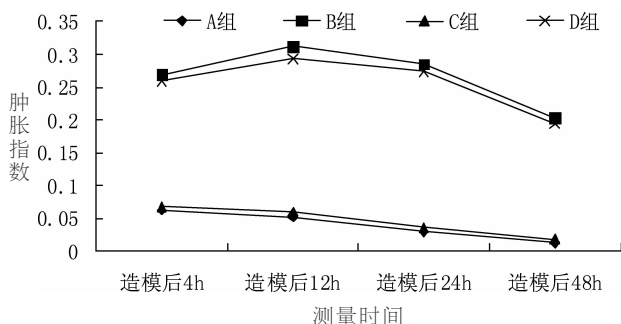


图 2 各组造模后 4、12、24、48h 肿胀指数的变化

2.3 血尿酸变化

造模前,各组血尿酸比较, $P>0.05$,无统计学差异;造模后,A、D 组比较无统计学差异,B、C 组无统计学差异,B、C 组较 A 组血尿酸明显升高($P<0.01$),B 组尿酸较 D 组明显升高($P<0.01$)。见表 2。

表 2 各组大鼠血尿酸变化的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	造模前/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	造模后/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
A 组	10	131.2±2.7	132.2±3.3
B 组	10	133.7±3.4	346.1±32.6 ^{▲▲}
C 组	10	130.2±3.9	339.8±29.7 ^{▲▲}
D 组	10	129.6±3.8	130.5±2.7 ^{**}

注:A 组为空白对照组,B 组为改良痛风模型组,C 组为高尿酸血症组,D 组为急性痛风性关节炎组。与 A 组相比,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$;与 B 组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$

2.4 踝关节滑膜组织病理改变

A 组、C 组解剖时踝关节及其周围组织结构正常清晰,无任何组织病理学改变,B、D 组局部解剖时有尿酸盐结晶沉着于踝关节腔内。A、C 组光镜见滑膜上皮排列完整,滑膜下血管分布正常,无血管增生,无炎症细胞浸润。(见图 3A、C);B、D 组可见明显的关节炎病理改变,滑膜上皮脱落,甚至消失不见,见大量炎症细胞(主要是中性粒细胞),伴有血管增生(见图 3B、D)。说明尿酸钠关节腔注射后出现明显炎症病理改变。

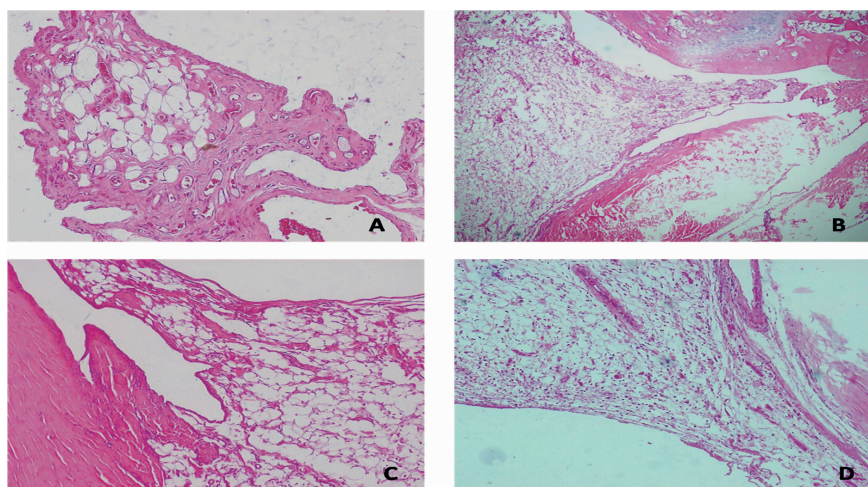
2.5 滑膜组织中炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)水平比较

与 A 组比较,B、D 组大鼠滑膜组织中 TNF- α 、

表 3 各组大鼠滑膜组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 变化的比较($\bar{x}\pm s$, $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)

组别	n	TNF- α	IL-1 β	IL-6
A 组	10	14.36±1.35	3.68±0.47	3.96±0.27
B 组	10	36.63±2.14 ^{▲*}	7.69±0.57 ^{▲*}	7.86±0.43 ^{▲*}
C 组	10	15.19±1.08	3.52±0.51	4.04±0.23
D 组	10	34.74±2.21 ^{▲*}	7.76±0.41 ^{▲*}	7.48±0.55 ^{▲*}

注:A 组为空白对照组,B 组为改良痛风模型组,C 组为高尿酸血症模型组,D 组为急性痛风性关节炎模型组。与 A 组相比,▲ $P<0.01$;与 C 组相比,* $P<0.01$



A:空白对照组;B:改良痛风模型组;C:高尿酸血症模型组;D:急性痛风性关节炎模型组

图3 各组大鼠滑膜组织 HE 染色结果($\times 200$)

IL-1 β 、IL-6 水平均显著增高,差异有统计学意义($P < 0.01$)(见表3)。A、C组比较无统计学差异($P > 0.05$),B、D组比较无统计学差异($P > 0.05$)。说明尿酸钠踝关节腔造模后滑膜组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平明显升高,表现出局部组织炎症。

3 讨论

3.1 改良痛风性关节炎动物模型的选择

在痛风性关节炎动物模型中,以Coderre^[6]设计的尿酸钠盐局部关节注射造模是经典模型。该模型中采用大鼠作为实验对象,将尿酸钠注射到踝关节从而模拟痛风性关节炎。目前这种造模在实验研究中应用广泛,但是也有它的不足,因为它是一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,它只是针对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,与临床上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异,因此不适用于观察血尿酸代谢影响的研究。

建立高尿酸血症动物模型,对研究寻找防治高尿酸血症的药物具有重要意义,是研究筛选降尿酸药物的重要工具。但是,大多数哺乳动物(包括狗、猫、鼠)体内存在尿酸氧化酶(urate oxidase),它可以将体内的尿酸进一步分解为尿囊素,尿囊素水溶性好,可以随尿液排出,所以大多数动物体内血尿酸值较低,故不宜用于观察药物对血尿酸水平的影响。人类由于体内缺乏这种尿酸氧化酶,故不能将尿酸进一步分解成尿囊素而排出体外,使得高尿酸血症及痛风成为人类较特殊的疾病。为了达到使动物模型与人类的高尿酸血症更加接近的目的,给予尿酸氧化酶

抑制剂,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理论上均可导致体内血尿酸含量的增高造成高尿酸血症。

就增加尿酸前体摄入的动物模型而言,异常高浓度的腺嘌呤在黄嘌呤氧化酶的作用下转变为极难溶于水的2,8-羟基腺嘌呤,沉积于肾小管,部分肾小管完全破坏并有炎性细胞浸润,局部纤维组织增生,肾损伤程度严重^[7],从而导致血尿酸、肌酐、尿素氮同步升高。但此模型的发病机制为肾后梗阻从而导致肾功能损害,属继发性肾病,尿酸升高只是其症状之一,而临床上人类尿酸性肾病的发生主要是由体内嘌呤代谢的紊乱引起的血尿酸生成过多或尿酸排泄过少造成的,与人体高尿酸血症发病过程不尽相符,因而更适用于制作肾功能衰竭模型。

目前国际上较为通用的方法是选用尿酸氧化酶抑制剂氧嗪酮抑制尿酸氧化酶活性,从而抑制尿酸分解。氧嗪酮可极显著地提高小鼠血清尿酸水平,造成小鼠高尿酸血症模型,其血清高尿酸水平能维持5h。该方法灵敏简便、重复性好,在国际上已普遍用此评价药物的抗高尿酸血症和痛风作用^[8]。

抑制尿酸排泄法主要通过给予抑制尿酸排泄的药物抑制实验动物尿酸的排泄,复制出尿酸性肾病的动物模型,但此法所得动物模型属继发性高尿酸血症,与人类高尿酸血症的发病机制有较大差异^[9]。

基因重组或者基因敲除的方法复制动物模型是新近的研究热点,Wu^[10]建立了UOX(urate oxidase,尿酸氧化酶)基因敲除小鼠模型并予以观察,结果发现模型小鼠表现出与人类较为一致的病理改变,证实

UOX 基因敲除小鼠模型是一种较为理想的研究高尿酸血症的动物模型,但半数小鼠在 4 周内死亡,给予别嘌呤醇可提高小鼠生存率。由于该模型技术要求较高,价格昂贵,现阶段难以全面推广。

采用腹腔连续注射氧嗪酸钾结合 Coderre 法^[14]制作改良痛风性关节炎大鼠模型,通过尿酸酶抑制剂法制作出高尿酸血症模型,再在其基础之上行关节穿刺注射尿酸钠,制备出急性痛风性关节炎动物模型,这样的模型贴近于人类急性痛风性关节炎的特点:①高尿酸血症;②具有急性痛风性关节炎的症状,即关节红肿热痛。可有效排除尿酸分解酶对关节腔中尿酸钠晶体的影响,从而为评价受试药物的疗效提供一个比较客观的标准^[14],该造模也具有实验药物及操作方法比较常见易学、经济等优点。

为了更贴近人类急性痛风性关节炎特点且经济易学,因此,本研究参考采用腹腔连续注射氧嗪酸钾结合 Coderre 法的方法^[14]进行改良急性痛风性关节炎大鼠模型的制备,我们用 3%氧嗪酸钾溶液 1mL/100g 行腹腔内注射,2 次/d,连续注射 1 周后用 6 号注射针在大鼠右侧踝关节后侧沿跟腱内侧以 30~40°方向插入至关节腔注射 0.2mL 尿酸钠制作。

3.2 改良痛风性关节炎动物模型造模成功的验证

实验结果显示,腹腔注射氧嗪酸钾及踝关节注射尿酸钠造模前,各组大鼠皮毛色白有光泽,精神佳,活泼好动,进食及饮水正常,体重增长正常;造模后,改良痛风模型组大鼠出现不同程度毛发干枯发黄、脱落,进食、饮水减少,踝关节红肿、肤温增高,活动明显减少;与空白对照组相比,改良痛风模型组各时点肿胀指数明显升高($P<0.01$),说明大鼠急性痛风性关节炎造模后关节明显红肿。改良痛风模型组及高尿酸血症模型组大鼠血尿酸值较空白对照组均明显升高($P<0.01$),此为氧嗪酸钾连续注射 1 周造模后 48h 采血化验得出尿酸结果,由此可看出 48h 内血尿酸明显高于正常,说明腹腔连续注射氧嗪酸钾造模高尿酸血症成功。正常对照组解剖时踝关节及其周围组织结构正常清晰,无任何组织病理学改变,痛风模型组及急性痛风性关节炎组局部解剖时有尿酸盐结晶沉着于踝关节腔内;前者光镜见滑膜上皮排列完整,滑膜下血管分布正常,无血管增生,无炎症细胞浸润。(见图 3A);后两者可见明显的关节炎病理改变,滑膜上皮脱落,甚至消失不见,见大量炎症细胞(主要是中性粒细胞),伴有血管增生(见

图 3B、D)。与空白对照组比较,痛风模型组及急性痛风性关节炎组大鼠滑膜组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均显著增高,差异有统计学意义($P<0.01$)(见表 3)。改良痛风模型组大鼠毛发干枯发黄、脱落,进食、饮水减少等及 48h 后血尿酸明显升高提示高尿酸血症模型复制成功。痛风性关节炎是由于 MSU 结晶脱落进入关节腔,作用于巨噬细胞、中性粒细胞、滑膜细胞、单核细胞,释放多种炎症介质,如组织胺、前列腺素、IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 等,引起炎症级联反应^[11],IL-1 β ^[12]、IL-6^[13]、TNF- α ^[14]在痛风性关节炎中起十分重要作用^[15],遂选取作为炎症因子的实验室指标。

改良痛风模型组关节明显红肿、活动减少、局部解剖见尿酸盐结晶沉着于踝关节腔、病理切片提示明显关节炎病理改变以及滑膜组织中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 明显升高,综合之提示急性痛风性关节炎模型复制成功,综合高尿酸血症并急性痛风性关节炎的症状表现及实验室结果提示改良型痛风性关节炎复制成功。

因此我们认为,腹腔连续注射氧嗪酸钾结合 Coderre 法的改良急性痛风性关节炎大鼠模型可以成功复制,该模型较符合于人类自然病程,即痛风性关节炎建立在血尿酸升高生化基础上的,可有效排除尿酸分解酶对关节腔中尿酸钠晶体的影响,且经济、可重复性较高,可作为痛风性关节炎研究的复合型动物模型。

参考文献:

- [1] Yu KH, See LC, Kuo CF, et al. Prevalence and incidence in patients with autoimmune rheumatic diseases: a nation-wide population-based study in Taiwan [J]. Arthritis Care Res (Hoboken), 2013, 65(2): 244-250.
- [2] Singh JA. Racial and gender disparities among patients with gout [J]. Curr Rheumatol Rep, 2013, 15(2): 307.
- [3] 匡红,曾琳,刘书蓉,等. 成都地区 28097 例健康体检者血尿酸水平分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(16): 2121-2122.
- [4] 吕军,吕芳,方和金,等. 高尿酸血症并急性痛风性关节炎大鼠模型的建立 [J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23(27): 11-16.
- [5] 李荣华. 痛风康对急性痛风性关节炎的抗炎作用及对 TLRs/MyD88 通路的影响 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2011.
- [6] Coderre TJ, Wall PD. Ankle joint urate arthritis (AJUA) in rats: an alternative animal model of arthritis to that produced

- by Freund's adjuvant[J]. *Pain*, 1987, 28(3): 379-392.
- [7] 杨桂梅, 黄胜华, 连希艳, 等. 大鼠高尿酸血症模型的建立[J]. *实验动物科学*, 2011, 28(3): 25-28.
- [8] Omori H, Kawada N, Inoue K, et al. Use of xanthine oxidase inhibitor febuxostat inhibits renal interstitial inflammation and fibrosis in unilateral ureteral obstructive nephropathy[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2012, 16(4): 549-556.
- [9] Beharrie A, Franc-Guimond J, Rodriguez MM, et al. A functional immature model of chronic partial ureteral obstruction[J]. *Kidney Int*, 2004, 65(4): 1155-1161.
- [10] Wu X, Wakamiya M, Vaishnav S, et al. Hyperuricemia and urate nephropathy in urate oxidase-deficient mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91(2): 742-746.
- [11] Bolzetta F, Veronese N, Manzato E, et al. Chronic gout in the elderly [J]. *Aging Clin Exp Res*, 2013, 25(2): 129-137.
- [12] Terkeltaub R, Sundry JS, Schumacher HR, et al. The interleukin 1 inhibitor rilonacept in treatment of chronic gouty arthritis: results of a placebo-controlled, monosequence crossover, non-randomised, single-blind pilot study[J]. *Ann Rheum Dis*, 2009, 68(10): 1613-1617.
- [13] Takahashi M. Inflammatory cytokines in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. *Nihon Rinsho*, 2011, 69(1): 30-33.
- [14] Gao X, Zhang H, Belmadani S, et al. Role of TNF- α -induced reactive oxygen species in endothelial dysfunction during reperfusion injury[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 295(6): 2242-2249.
- [15] 梁翼, 李敏, 吴晓惠, 等. IL-1 β 、IL-6、TNF- α 与急性痛风性关节炎的相关性研究[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2014, 22(9): 14-16.

(编辑:徐建平)

Replication of Rat Model of Gouty Arthritis

GUO Yuxing¹, XIONG Hui¹, LU Xiaolong¹, ZHU Fangxiao², ZHOU Biao², XIANG Lili¹, QI Xingyu²

(1. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410005, China;

2. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the continuous improvement of rat model of gouty arthritis by intraperitoneal injection of potassium oxalate and Coderre. **Methods** 40 healthy adult male SD rats were randomly divided into four groups, each group of 10. Group B, group C continuous intraperitoneal injection of oxalate potassium after 1 week, group B on the right side of the ankle joint cavity injection in rats, uric acid sodium solution group C equal dose of normal saline injection; Group A and group D continuous intraperitoneal injection of saline solution after 1 week, group D on the right side of the ankle joint cavity injection in rats, uric acid sodium solution group A equal dose of normal saline injections. Observed in rats during the period of building diet, mental state, urine, etc. Prior to the building, the building after 4 h, 12 h, 24 h, 48 h measuring joint swelling degree, detection of building after 48 h blood uric acid, observe ankle synovial tissue pathological changes and test the synovial tissue of TNF- α 、IL-1 β 、IL-6. **Results** (1) Building, before each rat fur color white luster, good spirit, active and lively, to eat and drink is normal, normal weight gain; After building, food, drinking water, activities and group A shit all normal, no obvious swelling in the ankle and decreased activity; B group of rats appeared different degree of colour dry yellow, fall off, eat, drink less, ankle red swelling, skin temperature, activity decreased significantly; Group C rats appeared different degree of colour dry yellow, fall off, eat, drink less, no obvious swelling in the ankle and decreased activity; Food, drinking water, activities and defecate D group were essentially normal, ankle red swelling, skin temperature, activity decreased significantly. (2) Joint swelling index change results: compared with group A, group B and D each point swell index increased significantly ($P < 0.01$), there was no statistically significant difference in group C ($P > 0.05$). (3) The blood uric acid changes after 48 results compared with group A, B and C group rats blood uric acid values were significantly increased ($P < 0.01$, $P < 0.01$), there was no statistically significant difference group D ($P > 0.05$). (4) The ankle joint synovial tissue pathological changes: A group C, the normal anatomy of the ankle and around the organization structure is clear, no histopathological changes, arrange complete lens see the synovial epithelium, synovial vascular distribution under normal, no blood vessel growth, no inflammatory cell infiltration, group B and D local anatomic urate crystals composed in ankle joint cavity, clearly visible pathological changes of arthritis, synovial epithelial shedding, even disappear, see A large number of inflammatory cells, mainly neutrophils), accompanied by blood vessel growth (see figure 4 B). (5) In the synovial tissue inflammatory factors(TNF alpha, beta, IL-6, IL-1) horizontal comparison: compared with group A, group B and D in the synovial tissue of rats TNF alpha, beta, IL-6, IL-1 levels were significantly increased, the difference was statistically significant($P < 0.01$, $P < 0.01$)(see table 4), no obvious difference was found between group C($P > 0.01$). **Conclusion** The combination of abdominal continuous injection of oxalate potassium Coderre method improved gouty arthritis rat model can be successfully copied. The model is more consistent with the natural course of human beings, and can effectively eliminate the influence of the uric acid decomposing enzyme on the sodium urate crystal in the joint cavity. The model can be used as a composite animal model for the study of gouty arthritis.

KEY WORDS: acute gouty arthritis; high blood uric acid; improvement; animal model in rats