

## 75%摄食量对尿酸酶缺失大鼠的降尿酸作用<sup>\*</sup>

綦雅琳<sup>1</sup>, 秦婉<sup>1</sup>, 杲银芳<sup>2</sup>, 范楠<sup>2</sup>, 万旭莲<sup>1</sup>, 云宇<sup>2</sup>, 段为钢<sup>1</sup>

(1. 云南中医药大学 基础医学院, 云南 昆明 650500;

2. 昆明医科大学 基础医学院药理学系, 云南 昆明 650500)

**摘要:** 为观察不同摄食量对尿酸酶缺失大鼠(昆明 DY 大鼠)血尿酸影响,将 45 d 日龄雄性昆明 DY 大鼠随机分成禁食组(禁食 2d)或节食组(即给予正常摄食量的 90%、80%、75%、70%、60%、50%、25%,持续 14 d);实验前、中、后断尾取血制备血清,记录体质量、24 h 摄食和饮水量,收集大鼠 24 h 尿液和粪便,并使用磷钨酸法检测样品尿酸含量。结果表明,禁食 2 d 会使大鼠血尿酸会显著升高,每日给予大鼠正常摄食量的 75%,其血尿酸、肌酐、总胆固醇和甘油三酯 14 d 后呈显著下降趋势,且体质量维持稳定;其余不同摄食量的组分对大鼠血尿酸有不同程度的增加倾向或无明显影响。综上,摄食量控制在 75%,对尿酸酶缺失大鼠具有降尿酸的作用,同时对肾功和血脂也有一定的改善作用。

**关键词:** 尿酸酶缺失;昆明 DY 大鼠;高尿酸血症;摄食量

**中图分类号:** R589.7

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1000-2723(2021)05-0007-06

**DOI:** 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2021.05.002

## Serum Uric Acid Lowered by 75% Dietary Intake in Uricase-deficient Rats

QI Yalin<sup>1</sup>, QIN Wan<sup>1</sup>, GAO Yinfang<sup>2</sup>, FAN Nan<sup>2</sup>, WAN Xulian<sup>1</sup>, YUN Yu<sup>2</sup>, DUAN Weigang<sup>1</sup>

(1. School of Basic Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

2. The Faculty of Pharmacology, School of Basic Medicine, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

**ABSTRACT:** In order to observe the effect of food intake on serum uric acid (SUA), male uricase-deficient rats (Kunming-DY rats) aging 45 days were randomly divided into fasting group (fasting for 2 days) or dieting groups (90%, 80%, 75%, 70%, 60%, 50% and 25% of normal food intake for 14 days). Before, during and after the experiment, blood samples were drawn from the tail to prepare serum. In the same time, body weight, 24-hour food intake and water consumption were recorded, and 24-hour urine and feces of rats were collected. The uric acid in samples was detected by uric acid assay kits of phosphotungstic acid method. The results showed that SUA in fasting group significantly increase. SUA in the rats that received 75% of the normal food supply was lowered. Besides, creatinine, total cholesterol and triglyceride in their serum decreased significantly after 2-weeks' treatment, with their stable body weight. Other food intakes had almost no significant effect on, or increase SUA in Kunming-DY rats. In conclusion, 75% food intake lower SUA in uricase-deficient rats with their improvement of renal function and blood lipid.

**KEY WORDS:** uricase deficiency; Kunming-DY rat; hyperuricemia; food intake

尿酸是人类嘌呤代谢终产物,其产生过多和(或)排除减少均可导致尿酸水平升高<sup>[1-2]</sup>。体内的嘌呤大部分(约 80%)来自于衰老细胞中的核酸分解,另一

部分来自于饮食,尤其是嘌呤含量较高的饮食(如啤酒,动物内脏、海鲜等)<sup>[3]</sup>。食物来源的嘌呤约占体内总嘌呤的 20%左右。外源性食物嘌呤虽然不是嘌呤

收稿日期: 2021-09-23

<sup>\*</sup> 基金项目: 云南省中医药联合专项重点项目(202101AZ070001-010)

第一作者简介: 綦雅琳(1995-),女,在读硕士研究生,研究方向:中医药学研究新技术与新方法。

△通信作者: 段为钢, E-mail: deardwg@126.com

的主要来源,但近十余年的流行病学调查发现,高尿酸血症的发生及痛风的发作与饮食密切相关<sup>[4-6]</sup>。随着人们生活条件的好转,人群尿酸水平出现逐年升高的趋势,高尿酸血症和痛风的患病率也因此逐年上升。而改变饮食结构和饮食习惯,调节饮食模式成为了临床指导防治高尿酸血症及痛风发作的重要手段。

我国超一半成年人超重或肥胖,成为全球超重或肥胖人数最多的国家,而传统的“三高”已演化为“五高”<sup>[7]</sup>,而作为第“四高”的高尿酸血症与肥胖有着密切联系<sup>[8-9]</sup>。虽然控制饮食量在临床防治高尿酸血症上少见,但在高尿酸血症的防治指南中有一条是控制体质量,而节食对控制体质量有很好的效果,同时中医对高尿酸血症及痛风的防治也有相同的认识,中医内科学将痛风划分为痹证的范畴,在对痹证病因病机的分析时,其中有一条提到“饮食不节”,即中医认为过食肥甘厚味,伤及脾胃,酿生痰湿,痰瘀互结,导滞经络瘀滞,气血运行不畅,故发为痹症<sup>[10]</sup>。多数医家认为高尿酸血症及痛风的病机演变常见于本虚标实之间,该病的发病基础为脾肾亏虚,加之饮食不节等不良饮食习惯以及风寒湿热等病邪为患发为此病,而痰湿瘀热为发病主要病理因素<sup>[11-16]</sup>。因此,针对痹证的危险因素采取预防干预措施,如节制饮食,以减少痹证的发生风险。虽然控制饮食量能防治高尿酸血症及痛风的发作,但那到底将饮食量控制在多少时能更好地防治高尿酸血症呢?为了对不同摄食量进行验证,找出较佳摄食量,为降尿酸提供更可靠的参考,本研究采用尿酸酶缺失动物(昆明 DY 大鼠),与其它高尿酸血症动物模型相比,该大鼠嘌呤代谢与人类高度相似<sup>[17]</sup>。

## 1 材料和方法

1.1 材料 雄性昆明 DY 大鼠由课题组自行繁育。尿酸检测试剂盒(磷钨酸法)、肌酐(Cr)检测试剂盒(肌氨酸氧化酶法)、血尿素氮(BUN)检测试剂盒(二乙酰脲比色法)、血糖检测试剂盒(葡萄糖氧化酶法)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)检测试剂盒(微板法)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)检测试剂盒(微板法)、甘油三酯(TG)检测试剂盒(GPO-PAP 酶法)、总胆固醇(T-CHO)检测试剂盒(COD-PAP 法)由南京建成生物工程研究所生产。辐照饲料由苏州双师实验动物饲料科技有限公司生产,符合 GB14924.2-2001 标准。酶标仪

(K6600-A)由北京凯奥科技发展有限公司制造。

## 1.2 动物实验

1.2.1 禁食实验 将 45 d 日龄的雄性昆明 DY 大鼠饲养于 20~24℃环境,模拟自然光照,选择血尿酸在 40 μg/mL 以上的大鼠,依次分成 2 组,每组 6 只,即正常组和禁食组,每日称其体重,然后剪尾,取血,测定血清尿酸值(第 0 天,第 1 天,第 2 天),其余时间将其放入代谢笼中,监测 24 h 的摄入量和排泄量。两天后,将大鼠麻醉,腹主动脉取血,离心取血清,测定血尿酸和排泄物尿酸值。

1.2.2 节食实验 将 48 只 Kunming-DY 雄性大鼠随机分成 100%、90%、80%、75%、70%、60%、50% 和 25% 摄食量组,每组 6 只,称重,然后剪尾取血,测定血清尿酸值(第 0 天),其余时间将其放入饲养笼中各组每天按照正常摄食组的食量进行控制,每天记录各组大鼠体质量、饮水量,每隔 7 d 剪尾取血,测定血清尿酸值。为了确认 75% 饮食量对其他代谢指标的影响,特如法重复该组,增测肌酐、尿素氮、血糖及血脂值等指标。

1.3 指标检测 收集的血液样品凝固后于离心(3 000×g, 5 min)制备血清,血清直接用于尿酸检测。收集到的尿液混匀后吸取 1 mL 作为样品,用 50 mmol/L 碳酸氢钠溶液稀释 20 倍后检测尿酸含量。收集到的粪便则加入 3 倍重量的 100 mmol/L 氨丁三醇溶液,置于摇床上 140 r/min 振摇 4 h,10 000×g 离心 5 min 取上清 1 mL 用于检测尿酸含量。尿酸的含量测定方法则按照厂家提供的说明书进行。

肌酐、尿素氮、血糖及血脂的检测按照说明书进行检测。

1.4 统计学 数据采用“均数±标准差”表示,由于动物血清尿酸以及多种指标可能存在日龄波动,以正常组指标的前后变化为对照,计算各组多个指标(血尿酸、24 h 尿量、尿液尿酸浓度、24 h 尿液尿酸总量、24 h 粪便、粪便尿酸含量、24 h 粪便尿酸总量、尿酸排泄总量、24 h 进食量、饮水量和体重)前后的变化值(即,对排尿量、24 h 相对尿液尿酸总量、24 h 相对排便量、24 h 相对粪便尿酸总量、相对尿酸排泄总量、24 h 相对进食量和 24 h 相对饮水量)校正为 200 g 大鼠的指标(公式 2),在此基础上再比较各指

标的前后变化值（即，实验 14 d 时的值-实验前的值）。实验前后血清尿酸、尿液尿酸和粪便尿酸含量的比较采用配对 *t* 检验,其他各组之间的指标采用方法分析,若存在组间差异,两两比较采用 LSD 法(方差齐性)或 Tamhane's T2 法(方差不齐),以 *P*<0.05 表示具有统计学差异(1)。

$$\text{相对体质量增加值}(\%) = \frac{14\text{ d 体质量}-\text{实验前体质量}}{\text{实验前体质量}} \times 100\%$$

(公式 1)

$$\text{相对指标} = \frac{\text{指标值}}{\text{当量体质量}(\text{g})} \times 200(\text{g})$$

(公式 2)

2 结果

如图 2 所示节食实验观察了不同摄食量处理 14 d 后对昆明 DY 大鼠血尿酸、体质量、饮水量的影响(均数±标准差,*n*=6)。其中不同摄食量如下所示:

100%(4/4) 摄食组,正常组,自由饮食;90%、80%、75%(3/4)、70%、60%、50%(2/4)、25%(1/4) 摄食量组,自由饮用自来水,每天饮食量为正常组每日饮食量的 90%、80%、75%、70%、60%、50%、25%;W0,实验前;W1,实验 7d;W2,实验 14 d。表 1 和表 2,进一步研究 75%(3/4) 摄食量降尿酸的可能机理及对体内肾功、血糖、血脂的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )。\**P*<0.05,配对 *t* 检验

2.1 禁食实验中昆明 DY 大鼠各指标前后变化 禁食 2 d 后,禁食组大鼠前后对比,血尿酸水平明显上升而尿酸水平明显下降,正常组大鼠血清尿酸和尿酸水平则较为稳定(图 1A、B)。同时实验前后正常组大鼠体质量和饮水量有所升高,24 h 尿液量和尿酸含量无明显差异,禁食使大鼠体质量、饮水量、24 h 尿液重量和尿酸含量明显下降(图 1C、D、E、F)。

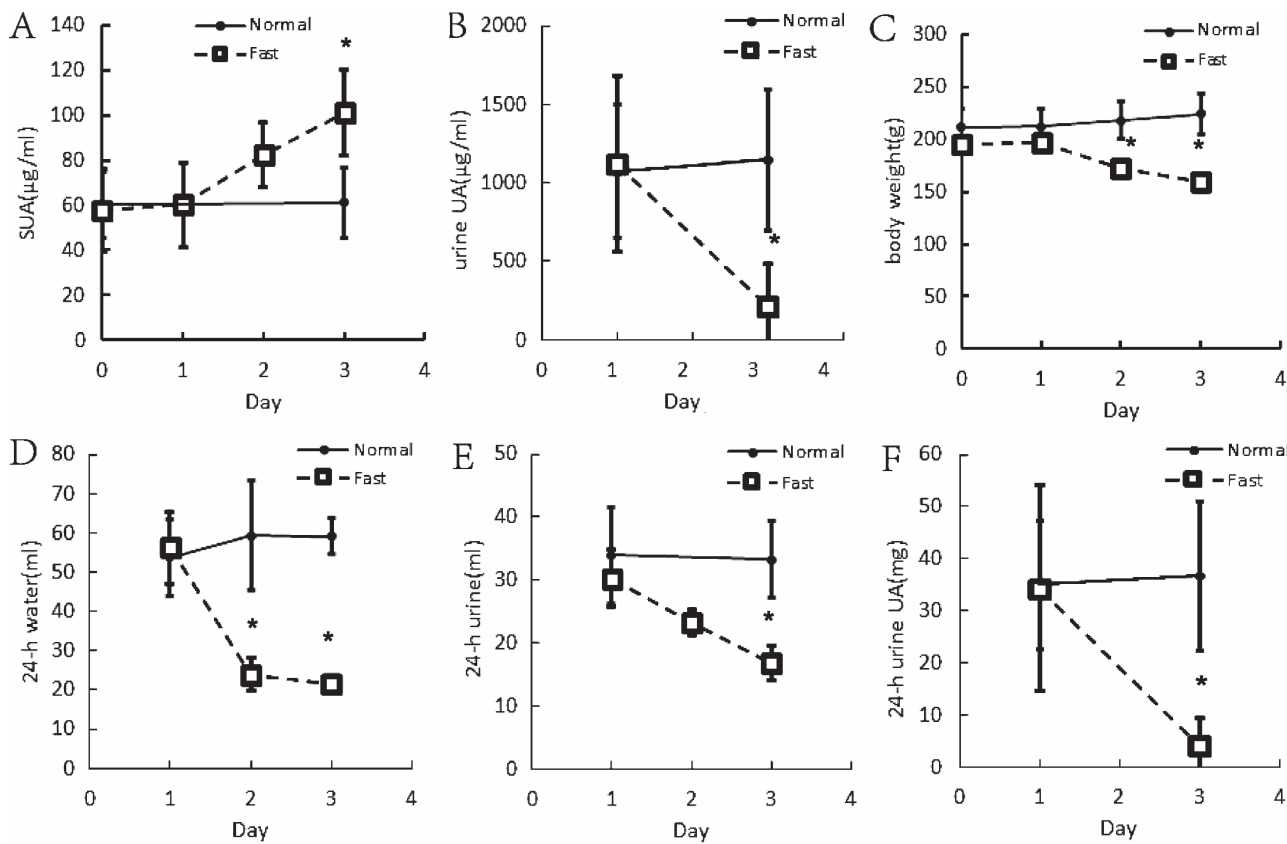


图 1 尿酸酶缺失大鼠禁食组与正常饮食组尿酸、体质量、饮水量的变化

注:禁食组,禁食 2 d,自由饮水;正常组,正常喂养 2 d,自由饮食。 $\bar{x} \pm s, n=6$ 。与正常饮食组比,\**P*<0.05。

2.2 节食实验中昆明 DY 大鼠各指标前后变化 在前期 7 d 的大鼠处理因素中,正常组体质量日益升高,3/4 摄食组体质量基本维持不变,2/4 摄食组体

质量有下降的趋势,1/4 摄食组体质量明显下降(图 2A、B)。后期补充的 90%、80%、70%、60%摄食组与前期的 1/4、2/4、3/4、4/4 摄食组整合,发现不

同摄食量组大鼠实验前的血清尿酸水平虽存在一定差异,但均处于较高水平,75%(3/4)摄食组前后对比血尿酸水平明显下降,而 25%(1/4)摄食组 W1 血尿酸水平明显升高,其它摄食量组前后无明显差异(图 2C、D)。在节食过程中,摄食量与饮水量有很强的相关性(图 2E)。

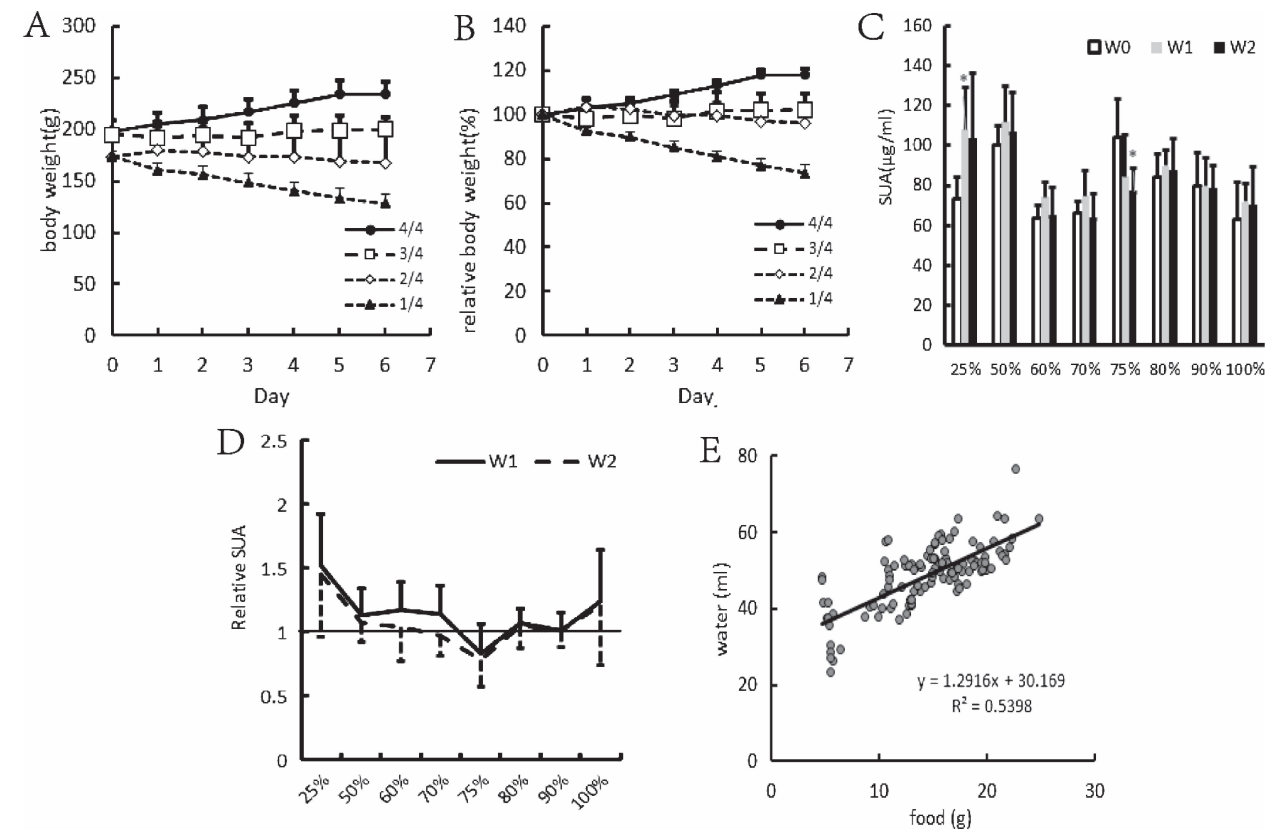


图 2 节食实验中不同摄食量组尿酸、体质量、饮食量的变化

2.3 75%摄食量组昆明 DY 大鼠多个校正指标前后变化 为了进一步研究 75%(3/4)摄食量降尿酸的可能机理及对体内各项指标的影响,特以 75%(3/4)摄食量组大鼠第 0 天的指标为参照,考察其相关因素的前后变化。由表 1 可见,75%(3/4)摄食量组昆明-DY 大鼠 2 周后血尿酸水平明显下降,24 h 尿量、24 h 尿液尿酸浓度、24 h 尿液尿酸含量、24 h 排尿酸总量和饮水量明显下降,粪便的各项指标无明显差异,大鼠体质量虽然有所波动,但总体趋势是增加的。

表 1 75%摄食量对昆明 DY 大鼠多种校正的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

|    | 血尿酸<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | 24 h 尿量<br>( $\text{mL}/200\text{g}$ ) | 尿液尿酸<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | 24 h<br>尿液尿酸<br>( $\text{mg}/200\text{g}$ ) | 24 h 粪便<br>( $\text{g}/200\text{g}$ ) | 粪便尿酸<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 24 h<br>粪便尿酸<br>( $\text{mg}/200\text{g}$ ) | 24 h<br>排尿酸总量<br>( $\text{mg}/200\text{g}$ ) | 24 h<br>饮水量<br>( $\text{mL}$ ) | 体质量<br>( $\text{g}$ ) |
|----|-----------------------------|----------------------------------------|------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------|
| W0 | 83.1 $\pm$ 26.2             | 33.2 $\pm$ 3.4                         | 1698.6 $\pm$ 249.8           | 56.2 $\pm$ 9.2                              | 8.9 $\pm$ 1.6                         | 132.3 $\pm$ 73.0            | 1.3 $\pm$ 0.9                               | 57.5 $\pm$ 8.8                               | 54.4 $\pm$ 4.7                 | 205.2 $\pm$ 8.6       |
| W1 | 65.0 $\pm$ 14.2             | 28.3 $\pm$ 4.1                         | 871.7 $\pm$ 110.0*           | 24.5 $\pm$ 3.4*                             | 9.4 $\pm$ 1.1                         | 68.9 $\pm$ 42.8             | 0.6 $\pm$ 0.5                               | 25.1 $\pm$ 3.7*                              | 39.8 $\pm$ 7.0*                | 198.2 $\pm$ 9.8*      |
| W2 | 46.0 $\pm$ 14.1*            | 24.5 $\pm$ 4.1*                        | 622.6 $\pm$ 262.7*           | 15.2 $\pm$ 6.2*                             | 7.5 $\pm$ 2.3                         | 101.4 $\pm$ 43.2            | 0.9 $\pm$ 0.4                               | 16.1 $\pm$ 5.9*                              | 32.7 $\pm$ 3.6*                | 210.3 $\pm$ 10.2*     |

注:与 W0 相比,\* $P<0.05$ ,单因素方差分析。

2.4 75%摄食量组昆明 DY 大鼠多个血清代谢性指标前后变化 在 75%(3/4)摄食量对大鼠体内多个血清指标的影响中,血肌酐、甘油三酯和总胆固醇水平前后比较显著下降,低密度脂蛋白明显升高,实验前后大鼠血糖、尿素氮和高密度脂蛋白无明显变化(表 2)。

表 2 75%摄食量对多种血清代谢指标的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

|    | 肌酐<br>(nmol/L) | 尿素氮<br>(mmol/L) | 葡萄糖<br>(mmol/L) | 高密度脂蛋白<br>(mmol/L) | 低密度脂蛋白<br>(mmol/L) | 甘油三酯<br>(mmol/L) | 总胆固醇<br>(mmol/L) |
|----|----------------|-----------------|-----------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|
| W0 | 32.8±4.6       | 5.4±1.0         | 8.5±1.2         | 1.0±0.3            | 0.6±0.3            | 0.7±0.08         | 2.0±0.4          |
| W1 | 33.8±6.4       | 55.3±1.2        | 66.4±1.6        | 1.1±0.2            | 0.7±0.2            | 0.3±0.06*        | 1.4±0.3*         |
| W2 | 8.5±3.9*       | 66.5±2.3        | 88.2±2.6        | 1.0±0.3            | 1.0±0.2*           | 0.3±0.09*        | 1.3±0.9          |

注:与 W0 相比,\* $P<0.05$ ,单因素方差分析。

3 讨论

昆明 DY 大鼠为课题组基于 SD 大鼠自主研制的尿酸酶缺失大鼠,与尿酸酶缺失小鼠不同<sup>[18]</sup>,其血尿酸水平相对稳定且与人相似<sup>[19-20]</sup>。且避开了造模剂的干扰<sup>[17]</sup>,可以更好地模拟人的血尿酸水平并评价食物和药物对血尿酸的影响。

从本研究结果看,当摄食量控制在 75%)时对昆明 DY 大鼠有显著的降尿酸作用,并能很好的维持体重。而禁食组或其它摄食量组并没有降低尿酸,令人意外的是禁食组和 25%摄食量组的血尿酸还明显升高。虽然有研究报告禁食能降低体质量和体脂,并能改善血脂<sup>[21]</sup>,但在一项观察 10 人 11 d 完全禁食不禁水和再次饮食对肾功能、体质量、血压和氧化应激的影响的实验中得出完全禁食不禁水的确会增加血尿酸(血尿酸含量增加了近 3 倍)<sup>[22]</sup>。Zürcher 等<sup>[23]</sup>报道了两例在禁食减肥期间发生的急性尿酸盐肾病,在这种情况下,酮症酸中毒会导致肾脏尿酸排泄受损和高尿酸血症,所以对于肥胖的高尿酸血症患者来说禁食或过分少食是不利的。本研究用昆明 DY 大鼠证明适当节食能降尿酸,从实验结果来看将摄食量控制在 75%附近是较佳的选择,不食或少食均不利于尿酸的控制,相反还可能升高尿酸。本研究进一步发现昆明 DY 大鼠 24 h 尿量、24 h 尿液尿酸浓度、24 h 尿液尿酸含量、24 h 排尿酸总量明显下降。因此,从尿酸的生成和排泄分析,75%摄食量可能是因为减少了尿酸生成而导致了血尿酸下降,至于具体机制还需要进一步研究。由于 75%摄食量除了能降尿酸,还能降低血肌酐、甘油三酯和总胆固醇水平,说明摄食量控制在 75%时对肾有一定的保护作用且对改善血脂有利。

昆明 DY 综上,75%摄食量不但能降低血尿酸,

改善肾功能,还对降血脂有利,同时为降尿酸提供了一个可行的策略。

参考文献:

[1] ICHIDA K,MATSUO H,TAKADA T,et al. Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia[J]. Nat Commun,2012(3):764.

[2] 张宏,王旭昀,吕翠岩,等. 血尿酸的来源去路及痛风关节炎的中医辨治[J]. 医学综述,2018,24(8):1617-1620.

[3] MAIUOLO J,OPPEDISANO F,GRATTERI S,et al. Regulation of uric acid metabolism and excretion[J]. Int J Cardiol,2016(213):8-14.

[4] ZENG J,ZHANG J G,LI Z Y,et al. Prediction model of artificial neural network for the risk of hyperuricemia incorporating dietary risk factors in a Chinese adult study [J]. Food Nutr Res,2020(20):64.

[5] GAO Y,CUI L F,SUN Y Y,et al. Adherence to the Dietary Approaches to Stop Hypertension Diet and Hyperuricemia:A Cross-Sectional Study[J]. Arthritis Care Res, 2021,73(4):603-611.

[6] 岳俊林,张娇华. 痛风和高尿酸血症患者饮食控制知行调查研究[J]. 人人健康,2020(6):51.

[7] WANG Y F,ZHAO L,GAO L W,et al. Health policy and public health implications of obesity in China[J]. Lancet Diabetes Endocrinol,2021,9(7):446-461.

[8] DEHLIN M,JACOBSSON L,RODDY E. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence, treatment patterns and risk factors[J]. Nat Rev Rheumatol,2020,16(7):380-390.

[9] ZHOU M M,YANG N,XING X,et al. Obesity interacts with hyperuricemia on the severity of non-alcoholic fatty liver disease[J]. BMC Gastroenterol,2021,21(1):43.

[10] 张伯礼,吴勉华. 中医内科学[M]. 4 版. 北京:中国中医

- 药出版社,2017:363-368.
- [11] 杨保林,丁岗. 高尿酸血症中医论治已见[J]. 中国中医药现代远程教育,2010,8(9):20-21.
- [12] 钱玉中,苏于纳,李娜,等. 论高尿酸血症的中医治疗思路[J]. 湖南中医药大学学报,2012,32(12):21-22.
- [13] 张秋平,庞新颖,陈丽辉,等. 从中医阴火角度论治高尿酸血症[J]. 河南中医,2018,38(7):1047-1049.
- [14] 张阳,郭宏敏. 络病理论在高尿酸血症中的应用[J]. 陕西中医,2011,32(12):1638-1639.
- [15] 肖瑶,赵进喜. 从肝论治高尿酸血症的探讨[J]. 环球中医药,2018,11(1):104-106.
- [16] 刘美茜,刘长平,金香淑. 中医药治疗高尿酸血症的进展[J]. 中国中医药现代远程教育,2019,17(18):147-149.
- [17] 张楠,胡欣瑜,董鲜祥,等. 高尿酸血症动物模型的研究进展[J]. 昆明医科大学学报,2019,40(6):129-134.
- [18] LU J,HOU X,YUAN X,et al. Knockout of the urate oxidase gene provides a stable mouse model of hyperuricemia associated with metabolic disorders[J]. *Kidney Int*,2018,93(1):69-80.
- [19] YU Y,ZHANG N,DONG X X,et al. Uricase-deficient rat is generated with CRISPR/Cas9 technique[J]. *PeerJ*,2020,8:e8971.
- [20] 张楠,董鲜祥,云宇,等. 尿酸酶缺失 Kunming-DY 大鼠的研制[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2019,33(10):931.
- [21] TINSLEY G M,LA BOUNTY P M. Effects of intermittent fasting on body composition and clinical health markers in humans[J]. *Nutr Rev*,2015,73(10):661-674.
- [22] MOJTO V,GVOZDJAKOVA A,KUCHARSKA J,et al. Effects of complete water fasting and regeneration diet on kidney function,oxidative stress and antioxidants[J]. *Bratisl Lek Listy*,2018,119(2):107-111.
- [23] ZÜRCHER H U,MEIER H R,HUBER M,et al. Acute kidney failure as a complication of fasting therapy[J]. *Schweiz Med Wochenschr*,1977,107(29):1025-1028.