

几种天然产物对高尿酸血症大鼠血清尿酸水平的影响初探

史 坤^{1,2,3,4,5} 贺 伟^{4,5} 李 森^{4,5} 胥红梅^{4,5} 张葳芮^{1,2} 张泽生^{3,4,5}

(1 天狮集团有限公司 博士后工作站 天津 301700 2 天津市天狮生命科学与技术研究院 天津 301700 ;

3 天津科技大学 博士后流动站 天津 300457 4 食品营养与安全省部共建教育部重点实验室 天津科技大学 天津 300457 ;

5 天津科技大学 食品工程与生物技术学院 天津 300457)

摘要 目的 探讨几种天然产物对高尿酸血症大鼠血清尿酸水平及尿酸排泄的影响。方法 对 wistar 大鼠灌胃氧嗪酸钾和酵母膏, 制作高尿酸血症大鼠动物模型。灌胃给药褐藻糖胶、柠檬酸钾和东哥阿里提取物 2 周后采血并进行代谢实验, 检测血清尿酸、尿素氮、24 小时尿液体积、pH 值、尿酸浓度及总量, 分析三种活性物质对机体尿酸水平、尿酸排泄、肾脏功能的影响。结果 三种物质均可显著降低高尿酸血症模型大鼠的血清尿酸水平, 其中东哥阿里提取物组的 24 小时排泄尿酸总量较模型组显著降低, 褐藻糖胶对实验大鼠的血清尿素氮水平升高有抑制作用。结论 三种活性物质对高尿酸血症大鼠血清尿酸浓度有降低作用, 其中褐藻糖胶对肾脏功能有保护作用, 从而保证尿酸的顺利排泄, 而东哥阿里在降低血尿酸水平的同时, 24 小时尿液中排泄的尿酸总量也显著低于模型对照组, 其机制可能与抑制尿酸生成有关。

关键词 尿酸 高尿酸血症 褐藻糖胶 柠檬酸钾 东哥阿里 大鼠

中图分类号 Q95-33 **R589.4** **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)22-4208-04

Effects of Several Natural Extracts on Uric Acid in Serum of Hyperuricemic Rats

SHI Shen^{1,2,3,4,5}, HE Wei^{4,5}, LI Sen^{4,5}, XU Hong-mei^{4,5}, ZHANG Wei-rui^{1,2}, ZHANG Ze-sheng^{3,4,5}

(1 Tiens Group Co. Ltd, Post-doctoral workstation, Tianjin, 301700, China;

2 Tianjin Tiens Academy of Life Science and Technology, Tianjin, 301700, China;

3 Tianjin University of Science and Technology, Post-doctoral mobile station, Tianjin, 300457, China;

4 Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin, 300457, China;

5 Department of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, 300457, Tianjin, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of several natural products on the serum uric acid concentration and uric acid excretion of hyperuricemic rats. **Methods:** Administering potassium hydrochloride and yeast extract to produce animal hyperuricemic models in rats. Oral administration of fucoidan, potassium citrate, Tongkat Ali extract for 2 weeks, after the metabolic experiments and collecting the serum, the serum uric acid concentration, urea nitrogen level, 24-hour urine volume, pH, uric acid concentration and total amount were determined. **Results:** All the three products could significantly reduce the serum uric acid in hyperuricemic rats. The total 24-hour excretion of uric acid of Tongkat Ali group rats was significantly lower than the model group, while the fucoidan inhibited the higher serum urea nitrogen levels. **Conclusions:** These three products decreased serum uric acid concentration. Fucoidan has a protective effect on renal function, which ensure the excretion of uric acid. And while the Tongkat Ali reducing the serum uric acid concentration in rats, 24-hour urine excretion of uric acid volume was significantly decreased compared with the model group, and the mechanism may be related to the inhibition of uric acid generation.

Key words: Uric Acid; Hyperuricemia; Fucoidan; Potassium Citrate; Tongkat Ali; Rats

Chinese Library Classification (CLC): Q95-33, R589.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)22-4208-04

前言

伴随居民生活水平的提高, 高蛋白、高脂肪、高热量食品在饮食结构中的比重逐渐增加, 海鲜、动物内脏、豆类等食物富含嘌呤, 使高尿酸血症和痛风发病率日益增加, 据统计中国现有超过 1.2 亿人口患痛风或高尿酸血症。近年流行病学和临床研

究证实^[1-5], 高尿酸血症与糖尿病、高血压、高甘油三酯、肥胖、胰岛素抵抗等紧密相关, 因而筛选能够降低血清尿酸水平的活性物质并探讨作用机制, 具有很大的社会意义和市场价值。目前, 研究者^[6-9]对降低血清尿酸水平活性物质的研究, 大多集中于抑制尿酸生成方面, 而尿酸排泄的阻滞也是引起高尿酸血症和痛风的重要原因, 临床上, 高尿酸血症患者的肾损害占 41%, 尤以肾小管损害较为严重^[10]。在慢性肾病患者伴高尿酸血症时, 则应高度怀疑铅中毒性肾病^[11]。有研究^[12]表明, 轻微高尿酸血症可恶化肾损害和肾功能障碍, 其机制可能与促炎途径具有相关

作者简介 史坤(1981-), 女, 博士, 博士后, 主要从事天然产物及功能因子的研究, E-mail: shishen1030@163.com

(收稿日期 2012-01-12 接受日期 2012-02-06)

性。在动物实验研究中,高尿酸血症动物常伴随粪便不成形的特征,收集困难,因而作为尿酸主要排泄途径之一的尿液的相关指标成为研究尿酸代谢的重要参考。本实验选择褐藻糖胶(下文简称 FUC)、柠檬酸钾(下文简称 PC)和东哥阿里提取物(下文简称 TA)三种天然产物,研究其降低血清尿酸水平的活性,并通过代谢实验初步探讨可能的作用机理。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂

Wistar 大白鼠,SPF 级,雄性,体重 280 ± 20 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。酵母膏(北京奥博星生物技术有限公司)、氧嗪酸钾(上海森一生物科技有限公司)、生化试剂盒(南京建成生物工程研究所)、紫外可见可变波长检测器(日本岛津)、大鼠代谢笼(天津市天宇实验仪器有限公司)、奥立龙酸度计(美国赛默飞世尔科技公司)。FUC (Fucoidan $\geq 60\%$,上海森一生物科技有限公司)、PC($\geq 99\%$,北京凤礼精求商贸有限公司)、东哥阿里提取物(100:1,上海森一生物科技有限公司), -20°C 保存。

1.2 实验方法和步骤

Wistar 大白鼠饲养条件为屏障系统动物房,温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$,相对湿度 40~60%,控制照明时间为 14:10 h。将健康大鼠随机分成 5 组,每组 8 只,分别为空白对照组、模型对照组、FUC 组、PC 组和 TA 组。适应一周后开始造模,造模剂为酵母膏($15\text{ g/kg}\cdot\text{bw/d}$)与氧嗪酸钾($200\text{ mg/kg}\cdot\text{bw/d}$)充分混合,添加生理盐水调节稠度,高速匀浆机制备混合匀浆灌胃实验大鼠。空白组灌胃对应体积生理盐水,其余各组灌胃造模剂,2 周后取血,测定血清尿酸水平,各个灌胃造模剂的实验组间血尿酸水平无显著差异,且显著高于空白对照组($P<0.05$)。模型建立成功即开始分别给予对应实验组实验大鼠 FUC、PC 和 TA($200\text{ mg/kg}\cdot\text{bw/d}$)期间继续灌胃造模剂。给药 2 周后内眦取血,测定血清尿酸、血尿素氮水平,代谢实验,记录实验大鼠饮水量,代谢笼收集 24 h 尿液,并测定尿液体积、pH 值、尿液尿酸浓度、24h 尿酸排泄量。

代谢实验相关指标采用大鼠代谢笼进行单笼饲养 24h,记录饮水量,收集尿液样本记录总量,血清尿酸、尿素氮等指标采用南京建成生化试剂盒进行检测。

1.3 统计学分析

各分组所得计量数据采用均数 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD)表示,用 SPSS10.0 软件处理数据,两组间均数比较用 t 检验。

2 结果

2.1 实验大鼠血清尿酸水平的比较

各实验组大鼠血清的尿酸水平如图 1 所示。模型对照组大鼠血清尿酸水平显著($P<0.01$)高于空白对照组健康大鼠,可见高尿酸血症大鼠模型建立。另外,三个给药组中的实验大鼠血清尿酸水平均显著低于模型对照组($P<0.01$)和空白对照组($P<0.05$),可见,三种活性物质对高尿酸血症模型大鼠血清尿酸水平有显著降低作用。

2.2 实验大鼠代谢实验各指标的比较

对实验大鼠进行代谢实验,其饮水和排尿情况如图 2- 图 5

所示。图 2 中,每日摄入造模剂氧嗪酸钾与酵母膏混合物的实验大鼠的饮水量较仅只摄入生理盐水的空白对照组有增加趋势,但在 $P<0.05$ 水平,无统计学差异;与模型组比较,FUC 组的排尿量有增加趋势,而各组在 $P<0.05$ 水平,无统计学差异。图 3 所示为各组实验大鼠代谢实验 24 h 排泄尿液的 pH 值,由图可知摄入造模剂各组大鼠尿液偏酸性,pH 值显著($P<0.01$)低于空白对照组。给药的三组中,PC 组与 TA 组表现出尿液 pH 增高的趋势,但与模型对照组比较,在 $P<0.05$ 水平,无统计学差异。图 4 所示为各组大鼠 24 h 尿液中尿酸的浓度,摄入造模剂的各组中大鼠尿液尿酸浓度显著($P<0.01$)高于空白对照组,三给药组尿酸浓度均有降低趋势,其中 FUC 组与 TA 组略低。图 5 所示为各组大鼠通过 24 h 尿液排泄的尿酸的总量。模型组大鼠表现出高尿酸血症患者通常会表现出的尿液大量排泄尿酸的特征,并显著高于空白组的健康大鼠,而三个给药组中,TA 组排泄的尿酸量显著($P<0.01$)低于模型对照组。

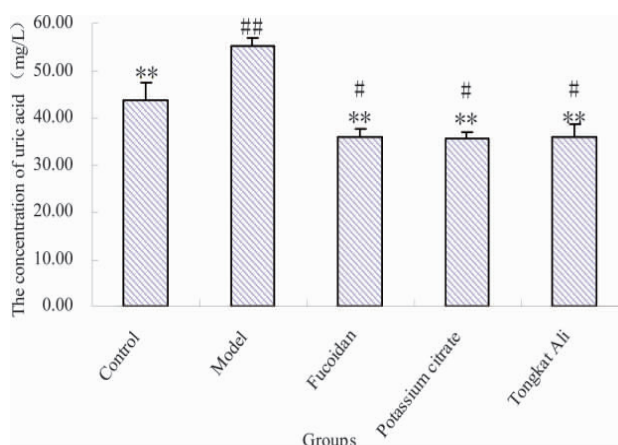


图 1 三种活性物质对实验大鼠血清尿酸水平的影响

Fig.1 The effect of three active substances on the serum uric acid concentration in experimental rats

注: ** 表示 $P<0.01$ 时,与模型组比较有显著差异; # 表示 $P<0.05$ 时,与空白组比较有显著差异; ## 表示 $P<0.01$ 时,与空白组比较有显著差异。
Note: ** $P<0.01$, compared with model group, difference was significant; # $P<0.05$, compared with the control group, difference was significant; ## $P<0.01$, compared with the control group, difference was significant.

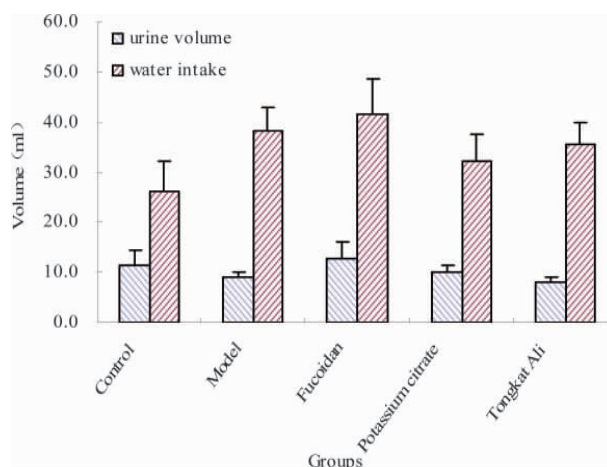


图 2 三种活性物质对实验大鼠 24 h 饮水量及排尿量的影响

Fig.2 The effect of three active substances on the water intake and urine volume of experimental rats in 24 h

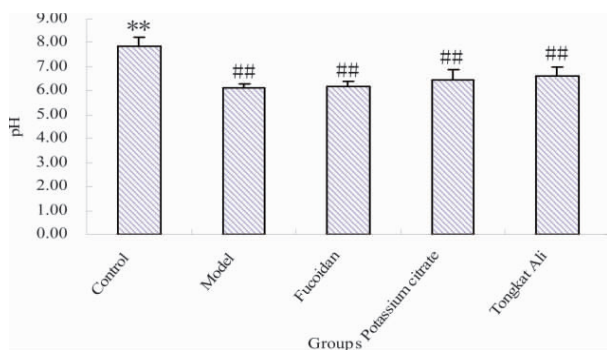


图3 三种活性物质对实验大鼠 24 h 尿液 pH 值的影响

Fig.3 The effect of three active substances on the pH of urine of experimental rats in 24 h

注: ** 表示 $P < 0.01$ 时, 与模型组比较有显著差异; ## 表示 $P < 0.01$ 时, 与空白组比较有显著差异。

Note: ** $P < 0.01$, compared with model group, difference was significant; ## $P < 0.01$, compared with the control group, difference was significant.

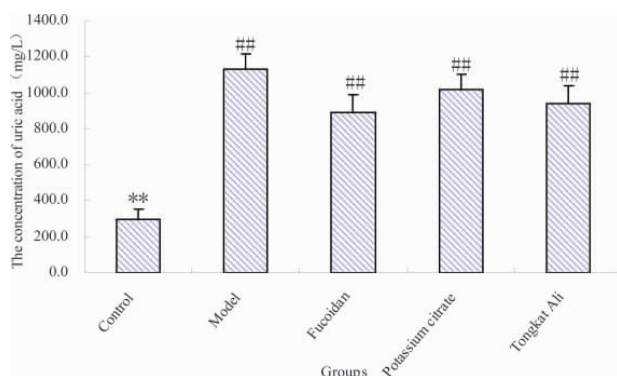


图4 三种活性物质对实验大鼠 24 h 尿液尿酸水平的影响

Fig.4 The effect of three active substances on the uric acid concentration of urine of experimental rats in 24 h

注: ** 表示 $P < 0.01$ 时, 与模型组比较有显著差异; ## 表示 $P < 0.01$ 时, 与空白组比较有显著差异。

Note: ** $P < 0.01$, compared with model group, difference was significant; ## $P < 0.01$, compared with the control group, difference was significant.

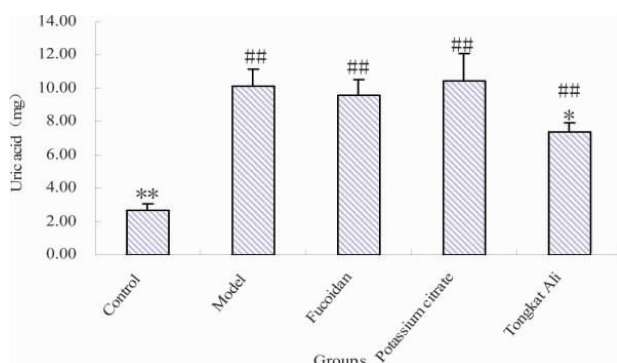


图5 三种活性物质对实验大鼠 24 h 尿液尿酸排泄量的影响

Fig.5 The effect of three active substances on the amount of uric acid in urine of experimental rats in 24 hours

注: * 表示 $P < 0.05$ 时, 与模型组比较有显著差异; ** 表示 $P < 0.01$ 时, 与模型组比较有显著差异; ## 表示 $P < 0.01$ 时, 与空白组比较有显著差异。

Note: * $P < 0.05$, compared with model group, the difference was significant;

** $P < 0.01$, compared with model group, the difference was significant;

$P < 0.01$, compared with the control group, the difference was significant.

2.3 实验大鼠血清尿素氮水平的比较

图6 是各组实验大鼠血清中尿素氮的含量水平, 是反映肾脏功能的常用直接指标。由图可知, 经过两周的造模和两周给药, 模型对照组大鼠的血清尿素氮水平显著 ($P < 0.01$) 高于空白组, 指示大鼠肾脏受到一定损伤, 而 FUC 组尿素氮水平显著 ($P < 0.01$) 低于模型组, 并与空白对照组比较无显著差异, 指示在该实验中 FUC 对实验大鼠肾脏功能的保护作用。

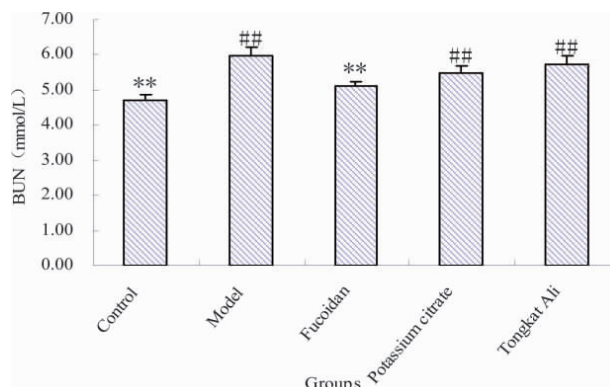


图6 三种活性物质对实验大鼠血清尿素氮水平的影响

Fig.6 The effect of three active substances on the serum BUN concentration in experimental rats

注: ** 表示 $P < 0.01$ 时, 与模型组比较有显著差异; ## 表示 $P < 0.01$ 时, 与空白组比较有显著差异。

Note: ** $P < 0.01$, compared with model group, difference was significant; ## $P < 0.01$, compared with the control group, difference was significant.

3 讨论

尿酸是人体内嘌呤代谢终产物, 血清尿酸浓度取决于体内嘌呤合成量、摄入量及尿酸排出量之间的平衡。体液的酸碱度和肾脏功能对尿酸的溶解和排泄具有重要影响。尿酸产生的增加在痛风及高尿酸血症的诱因中不足 10%。尿酸排泄的阻滞是引起高尿酸血症和痛风的重要原因, 高达 90%。因而对尿酸排泄机理的研究受到部分研究者的关注^[13-15]。研究者^[16-18]发现在大鼠膳食中添加黄嘌呤或氧嗪酸钾可以成功获得高尿酸血症模型动物, 并且其肾脏病理特征与痛风患者相似。而摄入高嘌呤膳食或腺嘌呤等可以有效模拟痛风患者的病因^[19-21]。本研究中, 通过给大鼠灌胃尿酸酶抑制剂氧嗪酸钾来模拟人类的尿酸代谢, 同时给予酵母膏作为日常饮食摄入高嘌呤膳食的人群的动物模拟, 造成高尿酸血症模型。通过对血清尿酸的检测, 发现 FUC、PC 和 TA 均可在给药两周后, 有效降低高尿酸血症大鼠的血清尿酸水平。但通过代谢实验的研究, 三者作用方式存在差异。FUC 对高尿酸血症大鼠血尿酸的升高有显著抑制作用, 对肾脏功能具有保护作用, 同时通过增加大鼠饮水量和排尿量来对尿酸的排泄有促进作用; PC 是 WHO 和 FDA 准许使用的具有碱化体液作用的营养补充剂, 同时在临床上作为预防和缓解肾脏结石的辅助治疗剂, 在本实验中, 摄入 PC 对血尿酸有降低趋势, 并在未增加饮水量和排尿量的情况下, 表现出抑制 24 h 尿液 pH 降低和增加尿酸浓度的趋势, 从而保证了尿酸的顺利排泄; TA 在显著降低血清尿酸水平的同时, 显著降低了 24 h 尿液排泄尿酸的总量, 并对血尿酸水平无显著影

响,即对肾脏功能基本无影响,因而初步推测,其对血尿酸的降低作用更多的依赖于对尿酸的生成抑制,在降低机体尿酸含量后,达到降低尿酸排泄的结果。

综上所述,FUC、PC和TA均可有效降低高尿酸血症大鼠的尿酸水平,具有进一步开发研究的社会意义和 market 价值。而针对高尿酸血症模型实验动物的代谢实验研究,对该类研究工作具有重要参考意义。另外,由于本实验作为活性物质筛选的初步研究,在实验剂量单一和部分实验结果仅只表现出变化趋势而非统计学显著差异等方面尚存在欠缺,因而本实验室将以该研究结果为基础进一步对量效关系及作用机理进行研究探讨,以期获得对高尿酸血症及痛风的缓解,安全有效的天然活性物质产品。

参考文献(References)

- [1] Choi HK, Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome in individuals with hyperuricemia[J]. Am J Med, 2007, 120(5): 442-447
- [2] Tsouli SG, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP, et al. Elevated serum uric acid levels in metabolic syndrome an active component or an innocent bystander? [J]. Metabolism, 2006, 55(10): 1293-1301
- [3] Feig DI, Johnson RJ. The role of uric acid in pediatric hypertension [J]. J Ren Nutr, 2007, 17(1): 79-83
- [4] Sanchez-Lozada LG, Tapia E, Lopez-Molina R, et al. Effects of acute and chronic L-arginine treatment in experimental hyperuricemia [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2007, 292(4): F1238-F1244
- [5] Baker JF, Krishnan E, Chen L, et al. Serum uric acid and cardiovascular disease: recent developments, and where do they leave us? [J]. Am J Med, 2005, 118(8): 816-826
- [6] 曾庆馥, 肖征宇. 原发性痛风研究进展 [J]. 中国药物与临床, 2004, 4(6): 415-417
Zeng Qing-yu, Xiao Zheng-yu. Study of progress in primary gout [J]. Chinese drugs and clinical, 2004, 4(6): 415-417 (In Chinese)
- [7] 孔悦, 张冰, 刘小青, 等. 菊苣提取物对高尿酸血症动物模型的作用及机制研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2002, 24(3): 121-123
Kong Yue, Zhang Bing, Liu Xiao-qing, et al. Effect and mechanism study of Cichorii extracts on hyperuricemic model quail [J]. Modern Journal of Integrated traditional Chinese and Western Medicine, 2002, 24(3): 121-123 (In Chinese)
- [8] 魏绍煌. 金钱草及其民间混用品种对高尿酸血症小鼠的效用 [J]. 药物研究, 2006, 15(10): 10-11
Wei Shao-huang. Effects of Herba of Lysimachia Christinae and Its Folk Variety on Hyperuricemia in Mice [J]. China Pharmaceuticals, 2006, 15(10): 10-11 (In Chinese)
- [9] 王文娟, 刘小会, 孙耀光, 等. 当归拈痛丸对实验性高尿酸血症大鼠血尿酸及黄嘌呤氧化酶的影响 [J]. 现代中医药, 2008, 28(3): 69-70
Wang Wen-juan, Liu Xiao-hui, Sun Yao-Guang, et al. Effect of Angelica Niantong pill on uric acid and xanthine oxidase of rats with experimental hyperuricemia [J]. Modern Traditional Chinese Medicine, 2008, 28(3): 69-70 (In Chinese)
- [10] 滕森新, 郑洁 (译). 高尿酸血症 [J]. 日本医学介绍, 2001, 22(7): 307-309
Fujimori new, Zheng Jie (translation). Hyperuricemia [J]. Japanese Medicine, 2001, 22(7): 307-309 (In Chinese)
- [11] BenjeHoun M, Tarrass F, Hachim K, et al. Chronic lead poisoning: a "forgotten" cause of renal disease [J]. Saudi J Kidney Dis Transpl, 2007, 18(1): 83-86
- [12] Roncal CA, Mu W, Croker B, et al. Effect of elevated serum uric acid on cisplatin-induced acute renal failure [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2007, 292(1): 116-122
- [13] Stacey JM, Turner JJO, Harding B, et al. 2003 genetic mapping studies of familial juvenile hyperuricemic nephropathy on chromosome 16p11-p13 [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88: 464-470
- [14] Turner JJO, Stacey JM, Harding B, et al. Uromodulin mutations cause familial juvenile hyperuricemic nephropathy [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88: 1398-1401
- [15] Cardona F, Tinahones FJ, Collantes E, et al. The elevated prevalence of apolipoprotein E2 in patients with gout is associated with reduced renal excretion of urates [J]. Rheum, 2003, 42: 468-472
- [16] 王宗涛, 管春梅, 车会莲, 等. 高尿酸血症大鼠模型的实验研究 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2004, 20(5): 474
Wang Zong-tao, Guan Chun-mei, Che Hui-lian, et al. Experimental study on hyperuricemia rat model [J]. Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism, 2004, 20(5): 474 (In Chinese)
- [17] 陈文照, 徐红, 谷焕鹏. 尿酸利仙冲剂治疗痛风性肾病的实验研究 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2002, 3(07): 422
Chen Wen-zhao, Xu Hong, Gu Huan-peng. Experimental Study of Lee Sin granules treatment of gout, uric acid nephropathy [J]. Chinese Integrated Traditional and Western Nephrology, 2002, 3(07): 422 (In Chinese)
- [18] 奚九一, 赵兆琳, 鲁培基, 等. 高尿酸血症肾病的实验动物模型研究 [J]. 上海中医药杂志, 2001, 35(10): 10-12
Xi Jiu-yi, Zhao Zhao-lin, Lu Pei-ji, et al. Research on the Experimental Animal Model of Hyperuricemic Nephropathy [J]. Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine, 2001, 35(10): 10-12 (In Chinese)
- [19] 陈光亮, 张清林, 马晓芹, 等. 酵母致小鼠高尿酸血症模型 [J]. 中国药理学通报, 2003, 4(19): 467-469
Chen Guang-liang, Zhang Qing-lin, Ma Xiao-qin, et al. Hyperuricemia model induced by yeast in mice [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2003, 4(19): 467-469 (In Chinese)
- [20] 熊湘明, 曲竹秋. 大鼠高尿酸血症模型建立 [J]. 天津中医学院学报, 2001, 20(4): 28-29
Xiong Xiang-ming, Qu Zhu-qiu. The establishment of Hyperuricemia model in rats [J]. Journal of Tianjin University of Chinese Medicine, 2001, 20(4): 28-29 (In Chinese)
- [21] 金沈锐, 郑军, 刘绍唐. 小鼠高尿酸血症模型初探 [J]. 成都中医药大学学报, 1999, 22(1): 49-50
Jin Shen-rui, Zheng Jun, Liu Shao-tang. Preliminary Studies on Animal Models of Hyperuricemic Mice [J]. Journal of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 1999, 22(1): 49-50 (In Chinese)