

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.11.002

高尿酸状态大鼠痛风性关节炎模型研究*

李高玺 林志健 张冰[△] 王海鸽 边猛

(北京中医药大学中药学院 北京 100029)

摘要 目的:以高尿酸血症为基础,探讨一种接近临床痛风性关节炎发生的模型塑造方法。**方法:**选择雄性 SD 大鼠 20 只,随机分为正常组、模型组。塑造高尿酸状态大鼠,诱导痛风性关节炎模型。检测两组大鼠踝关节不同时间段肿胀度、炎症分级;检测两组大鼠血清中尿酸及其生成排泄相关指标、血清中氧化应激反应和炎症表达相关指标;观察大鼠踝关节滑膜病理情况。**结果:**与正常组相比,痛风模型造模 48 小时内,模型组大鼠踝关节肿胀度显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),模型组炎症分级评分较高;实验第 21、28 d,模型组大鼠血清 UA 含量升高($P < 0.01$);实验第 28d,模型组大鼠血清及肝脏中 XOD、ADA 活性均升高,血清及肝脏 MDA 表达增多、SOD 表达减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);模型组大鼠血清及踝关节组织中 IL-1 β 含量增加;HE 染色表明模型组大鼠踝关节有明显病理损伤。**结论:**在大鼠高尿酸状态下可诱导急性痛风性关节炎模型,此模型一定程度上符合人类痛风发作过程,并可维持一定的时间。

关键词:高尿酸状态;痛风性关节炎;尿酸盐沉积;氧化应激

中图分类号:Q95;R589.7 **文献标识号:**A **文章编号:**1673-6273(2019)11-2007-06

Model of Gouty Arthritis in Rats with High Blood Uric Acid Status*

LI Gao-xi, LIN Zhi-jian, ZHANG Bing[△], WANG Hai-ge, BIAN Meng

(School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029, China)

ABSTRACT Objective: Based on hyperuricemia, to explore a method of modeling gouty arthritis in close proximity to clinical gouty arthritis. **Methods:** 20 male SD rats were randomly divided into 2 groups. Establish hyperuricemia rats. Induce gouty arthritis model. The swelling degree of ankle joints of two groups was detected at different time periods, Inflammatory classification. The serum uric acid and its related indexes in two groups were tested. Indicators related to oxidative stress and inflammatory expression. Synovium pathology of ankle joint in rats were also observed. **Results:** During the 48 h modeling period, Compared with the normal group, the swelling degree of the ankle joint in the model group increased significantly($P < 0.05$ or $P < 0.01$). and Inflammation score is higher. The serum UA level increased in the rats of model group on day 21, 28 ($P < 0.01$). The activity of XOD and ADA in serum and liver of model group increased significantly in day 28 ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Meanwhile, The expression of MDA in serum and liver increased, SOD decreased while the expression of IL-1 β in serum and synovial tissue of ankle joint a increased in model group($P < 0.05$ or $P < 0.01$). HE staining showed that Rats in the model group had obvious pathological injuries. **Conclusions:** The acute gout model can be successfully induced in the state of high blood uric acid rats. This model is partly consistent with the human gout process and can be maintained for a certain period of time.

Key words: Hyperuricemia; Gouty arthritis; Uric acid salt dep; Oxidative stress

Chinese Library Classification(CLC): Q95; R589.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)11-2007-06

前言

痛风是一种由于单钠尿酸盐晶体与组织微环境相互作用产生的反复发作的急性炎症反应。痛风发作期常伴疼痛反应,表现为关节的为红、肿、热、痛和尿酸显著升高。血尿酸(SUA)是痛风的重要生物学基础和最直接病因,随着血尿酸水平的增高痛风的患病率也逐渐升高,痛风已成为我国仅次于糖尿病的第二大类代谢性疾病,并且发病患者有呈低龄化趋势^[1]。

高尿酸血症患者可出现尿酸在关节沉积,导致痛风发生^[2]。同时,血尿酸值升高导致痛风发生的进程与氧化应激损伤和炎症反应具有密切联系。对于痛风患者中氧化应激损伤和炎症反应的研究也越来越被重视^[3]。

痛风模型研究中,目前的痛风动物研究模型,与痛风临床病症发生仍存在一定差距^[4]。大多常采取踝关节注射 MSU 异物刺激方法或高尿酸联合 MSU 刺激,但动物体内无致尿酸钠盐沉积的生理生化基础—高尿酸水平,不太适宜尿酸结晶

* 基金项目:国家重大新药创制专项(2017ZX09301024);国家自然科学基金项目(81673618);

北京中医药大学在读研究生资助项目(2018-JYB-XS045)

作者简介:李高玺(1993-),硕士,研究方向:中药防治代谢性疾病,电话:010-64286335, E-mail: ligaoxi33@163.com

[△] 通讯作者:张冰(1959-),博士,教授/主任医师,博士生导师,研究方向:中药防治代谢性疾病、中药药物警戒与合理用药研究,

电话:010-64286335, E-mail: zhangbing6@263.net

(收稿日期:2018-11-28 接受日期:2018-12-23)

沉积致炎的过程研究。故本实验拟切入高果糖诱发高尿酸水平状态下塑造痛风性关节炎模型,模拟临床高尿酸持续升高状态,进而为研究其沉积于关节的可能过程奠定基础,为以后研究尿酸结晶沉积致炎过程和痛风性关节炎氧化应激损伤提供新模型。

1 实验材料

1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠 20 只,体质量(180± 10)g,购于斯贝福(北京)实验动物科技有限公司,合格证号:SCXK(京)2016-0002,饲养于北京中医药大学实验动物中心[SYXK(京)2016-0038],所有动物实验严格遵循实验动物“3R”原则根据体质量分为正常组和模型组。每组各 10 只。大鼠适应性饲养 7 d 后开始实验。

1.2 实验仪器与试剂

Sunrise 酶标仪,迪肯集团奥地利有限公司;低温高速离心机,德国 Sigma 公司;恒温水箱,北京医疗设备厂;D-果糖,批号:2967C241 美国 AMRESCO 公司生产;尿酸钠(MSU),瑞士 sigma 公司生产,尿酸(UA)试剂盒购自中生北控科技有限公司;黄嘌呤氧化酶(XOD)、腺苷脱氨酶(ADA)、肌酐(CRE)、尿素氮(BUN)、丙二醛试剂盒(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)等试剂盒购自南京建成生物工程研究所;IL-1 β 试剂盒均购自武汉博士德生物技术有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 诱导大鼠高尿酸状态 两组均给予普通饲料,实验第 1-28 天,正常组予以普通自来水,模型组予以 10%的果糖水诱导高尿酸状态。分别于实验第 7、14、21 天,大鼠尾静脉取血,取血前 12 小时禁食不禁水,取血 1.0-1.5 mL,3500 r/min 离心 10 min,分离血清采用酶比色法检测血清尿酸值。

1.3.2 塑造痛风性关节炎模型 实验第 26 d,采用吕军等改进方法^[5],以模型组大鼠右后足踝关节外侧为穿刺点,针口斜面朝前上方与胫骨成 30-40° 夹角刺入,以 6 号针踝关节注射 100 μ L 3%尿酸钠混悬液,以踝关节囊对侧鼓起为注射成功标准,诱导

大鼠急性痛性关节炎模型,正常组注射同等剂量生理盐水。造模 48 h 后,10%水合氯醛(剂量:0.3 mL/100 g)麻醉,腹主动脉采血 6 mL,处死大鼠,剥取大鼠踝关节滑膜。血样室温静置 30 min,置于 4℃ 离心机中 3500 r·min⁻¹ 离心 10 min,吸取血上清,备用。

1.4 检测指标

1.4.1 血清相关指标 按照试剂盒说明书检测血清尿酸(UA)水平、黄嘌呤氧化酶(XOD)、腺苷脱氨酶(ADA)、肌酐(CRE)、尿素氮(BUN)、丙二醛试剂盒(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平;ELISA 检测血清中 IL-1 β 水平。

1.4.2 踝关节足肿胀检测 大鼠痛风性关节炎造模实验操作前,造模的第 0 h、4 h、8 h、12 h、24 h、48 h 分别采用缚线法测量受试大鼠踝关节肿胀周径,计算踝关节肿胀度,每个关节测量 3 次,取平均值。关节肿胀度=(造模后周径-造模前周径)/造模前周径× 100%。

1.4.3 炎症分级 痛风性关节炎模型塑造后 24 h,观察大鼠受试踝关节炎症分级。炎症分级法评分:(标准:0 级,正常:I 级,关节皮肤红斑,轻度肿胀,骨性标志可见;II 级:关节明显红肿,骨性标志消失,但肿胀局限于关节部位;III 级:关节以外肢体肿胀)。

1.4.4 脾、肾指数 处死大大鼠后,分别剥取脾脏、肾脏称重。脾/肾指数=脾/肾质量(g)/体质量× 100%。

1.5 统计学分析

实验结果数据以均数± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SAS8.2 统计学软件进行分析。两组间均数比较,先采用 F 检验考察方差齐性。若方差齐,两组间均数比较采用 ANOVA 方差分析。以 P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 体重变化比较

实验期间,两组大鼠体重均匀生长。两组体重差异均无统计学意义,见表 1。

表 1 大鼠体重变化(n=10, $\bar{x} \pm s$ g)

Table 1 Body weight changes in rats

Groups	Weight			
	7th	14th	21th	28th
Normal group	283.0± 9.4	322.8± 16.6	360.6± 16.9	359.8± 19.0
Model group	280.8± 8.4	313.7± 9.2	345.5± 15.0	346.7± 14.4

2.2 饮水量比较

实验期间,与正常组相比,实验大鼠第 21 d、28 d,模型组

大鼠饮水量显著高于正常组(P<0.01),见表 2。

表 2 大鼠饮水量(n=10, $\bar{x} \pm s$ mL/只/d)

Table 2 The amount of drinking water in rats

Groups	Molding time			
	7 d	14 d	21 d	28 d
Normal group	53.83± 2.32	61.17± 7.86	62.47± 10.03	66.67± 7.23
Model group	60.17± 18.32	88.67± 32.96	117.83± 21.76**	126.50± 13.46**

Note: *P<0.05, **P<0.01, compared with normal control group.

2.3 血清尿酸水平比较

血清尿酸水平显著升高(P<0.01),见表3。

实验期间,与正常组相比,实验第21 d、28 d,模型组大鼠

表3 大鼠血清尿酸水平(n=10, $\bar{x} \pm s$ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

Table 3 The serum uric acid level in rats

Groups	Molding time			
	7 th	14 th	21 th	28 th
Normal group	81.60± 4.89	64.61± 14.96	56.04± 11.36	69.43± 13.45
Model group	82.79± 8.75	76.58± 8.95	95.18± 25.92**	123.21± 41.43 **

Note: Blood samples were collected on the 7 th, 14 th, 21 th and 28th day in modeling time in rats; **P<0.01. compared with normal control group.

2.4 大鼠血肌酐、尿素氮水平的影响

化(P>0.05);模型组大鼠血清尿素氮水平显著降低(P<0.01),

实验期间,与正常组相比,模型组大鼠血清肌酐无显著变 见表4。

表4 大鼠血清肌酐、尿素氮水平(n=10, $\bar{x} \pm s$ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

Table 4 Serum creatinine and urea nitrogen levels in rats

Groups	Cre	BUN
Normal group	88.86± 20.20	10.89± 0.94
Model group	93.62± 19.26	7.11± 0.81**

Note: **P<0.01, compared with normal control group.

2.5 血清及肝脏 ADA、XOD 活性比较

活力显著高于正常组(P<0.05),肝脏中 XOD 活力无显著差异,

实验期间,与正常组相比,模型组大鼠血清 XOD、ADA 活 见表5。

力均显著升高 (P<0.05 或 P<0.01), 模型组大鼠肝脏中 ADA

表5 大鼠血清及肝脏 ADA、XOD 活性(n=10, $\bar{x} \pm s$)

Table 5 Activity of ADA and XOD in serum and liver of rats

Groups	Serum		Liver	
	XOD(U/L)	ADA(U/mL)	XOD(U/mgprot)	ADA(U/mgprot)
Normal group	19.88± 1.65	48.66± 12.99	6.29± 0.54	6.82± 1.50
Model group	23.84± 2.98**	69.27± 11.43*	6.54± 0.74	11.32± 3.11**

Note: *P<0.05,**P<0.01, compared with normal control group.

2.6 脾、肾指数水平比较

(P>0.05),见表6。

实验期间,正常组和模型组大鼠脾、肾指数未见显著差异

表6 大鼠脾肾指数(n=10, $\bar{x} \pm s$ %)

Table 6 Spleen and kidney index in rats

Groups	Renal index	Spleen index
Normal group	0.320± 0.034	0.358± 0.105
Model group	0.190± 0.038	0.209± 0.023

2.7 踝关节肿胀度水平比较

48 h 后大踝周径均显著增加(P<0.01),见表7。

实验期间,与正常组相比,模型组大鼠在造模4、8、12、24、

表7 大鼠踝关节肿胀度水平(n=10, $\bar{x} \pm s$ %)

Table 7 The degree of ankle swelling in rats

Groups	The degree of ankle swelling(%)				
	4 h	8 h	12 h	24 h	48 h
Normal group	6.79± 3.40	5.29± 3.71	3.50± 2.26	3.54± 2.42	2.84± 1.63
Model group	10.88± 4.16*	12.34± 5.75**	17.13± 6.38**	14.05± 3.73**	10.38± 2.82**

Note: *P<0.05,**P<0.01, compared with normal control group.

2.8 踝关节炎分级水平比较

显加重,出现右后肢肿胀,行为学评分显著升高,见表 8。

实验期间,与正常组相比,模型组大鼠造模后炎症分级明

表 8 大鼠踝关节炎分级比较(n=10)
Table 8 Grading of ankle inflammation in rats

Groups	24 h grading of inflammation			
	0 point	1 point	2 points	3 points
Normal group	10			
Model group	1	2	5	2

2.9 血清及踝关节组织 IL-1 β 水平比较

IL-1 β 均显著高于正常组(P<0.05 或 P<0.01),见表 9。

实验期间,与正常组相比,模型组大鼠血清及滑膜组织中

表 9 大鼠血清及组织中 IL-1 β 水平(n=10, $\bar{x} \pm s$ ng/L)
Table 9 IL-1 beta levels in serum and synovial tissues of rats

Groups	Serum	Synovial tissues
Normal group	46.82 \pm 18.66	89.98 \pm 18.85
Model group	96.70 \pm 39.25**	110.31 \pm 16.26*

Note: *P<0.05, **P<0.01, compared with normal control group.

2.10 血清及肝脏 MDA、SOD 水平比较

含量显著高于正常组(P<0.05);肝脏中 SOD 活力显著低于正

实验期间,与正常组相比,模型组大鼠血清及肝脏中 MDA

常组(P<0.05),血清 SOD 活力无显著差异,见表 10。

表 10 大鼠血清及肝脏 MDA、SOD 水平(n=10, $\bar{x} \pm s$)
Table 10 Activity of MDA and SOD in serum and liver of rats

Groups	Serum		Liver	
	MDA(nmol/mL)	SOD(U/ mL)	MDA(nmol/mgprot)	SOD(U/mgprot)
Normal group	4.22 \pm 0.63	150.61 \pm 15.82	1.93 \pm 0.39	350.14 \pm 28.091
Model group	5.75 \pm 1.71*	142.84 \pm 5.90	2.44 \pm 0.63*	315.14 \pm 19.422**

Note: *P<0.05,**P<0.01, compared with normal control group.

2.11 踝关节病理切片结果

正常组大鼠踝关节组织可观察到结构完整, 关节腔内干净,关节表面光滑平整,关节组织无充血水肿,滑膜细胞无增生现象,无炎症发生。

模型组大鼠踝关节组织炎症明显, 炎症细胞量多于正常组,组织表面有结缔组织增生。腔内有炎性渗出物;排列紊乱,呈组织水肿、充血,有炎细胞浸润,并有肉芽组织形成,周围软组织炎细胞浸润。

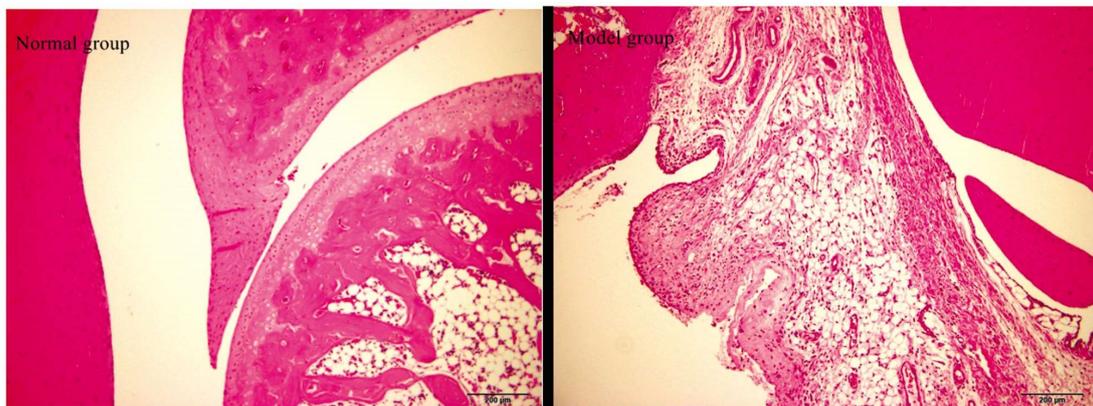


图 1 大鼠踝关节病理变化($\times 200$)

Fig.1 Pathological changes of ankle joint in rats($\times 200$)

3 讨论

现代研究表明,MSU 沉积在关节腔组织中是痛风性关节炎发病的主要物质基础^[6]。MSU 沉积在关节腔中时可以通过活

化中性粒细胞、单核巨噬细胞等炎症相关细胞,促使局部细胞分泌包括 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 等因子的大量分泌,进而引起局部组织发生炎症反应^[7,8]。目前,痛风性关节炎动物模型主要塑造方法是将 MSU 直接注射到模型动物关节腔内,研究动物主要涉及到大鼠、兔子、小鼠、鸡等禽类或者灵长类动物等^[9]。大鼠是痛风性关节炎模型研究中最常用的实验动物,目前常用塑造的方法是通过局部关节腔注射尿酸钠^[10,11]。大鼠踝关节腔注射尿酸钠塑造方法由 Coderre 等^[12]最早研究提出,是一种经典的大鼠痛风性关节炎模型塑造方法。方法是将 50 μ L 的 MSU 溶液从大鼠右踝关节外侧以 45° 角注入关节腔,间隔一点时间后,使用足容积仪器检测造模后的踝关节肿胀度来衡量模型塑造成功与否^[13]。此模型可以用来模仿痛风的局部关节炎症,比较适合痛风性关节炎的观察。可以广泛应用与基础实验研究中,是当前国际公认的痛风动物模型,常用来评价中西药物对于痛风性关节炎的抗炎、镇痛作用研究。此模型可重复可再塑性强、模型稳定、易操作^[14]。此模型由于外源性尿酸钠致损所致,在根本原理上不能代替人类痛风性关节炎的发病进程。目前诸多研究人员都致力于改造和优化此模型的塑造方法。如蔡唐彦等^[15]通过采用 25 mg/mL 尿酸钠晶体混悬液踝关节腔注射复制大鼠 AGA 模型,多个时间点观察 192 h,对受试踝关节局部皮温、肿胀度、步态、关节液炎性细胞及其滑膜组织病理形态学等指标判断成模情况及其维持时间。结果发现采用 MSU 晶体混悬液踝关节腔注射可在造模后 4 h 成功制备出 AGA 大鼠模型,且至少能维持到造模后 168 h。柴文新等^[16]以大鼠踝关节后侧沿跟腱内侧 30° 刺入关节腔,注射 50 μ L MSU,发现能够显著此方法提高模型制备的准确性和重现性。郭玉星以腹腔连续注射氧嗪酸钾结合 Coderre 法可以成功复制痛风性关节炎大鼠模型^[17],其痛风性关节炎建立在血尿酸升高生化基础上,较符合于人类痛风发病自然发病进程。熊辉和尹明分别通过持续高脂高糖饮食、湿热环境联合关节腔注射药物等作用,复制出痛风性关节炎湿热蕴结证病症结合的大鼠动物模型^[18,19]。孙赛君等以 5% 的次黄嘌呤溶液(10 mL/kg)灌胃结合每天冰水混合物持续冰敷 3 h,成功诱导大鼠急性痛风性关节炎模型^[20]。腹腔注射高嘌呤成分、尿酸或尿酸酶抑制剂结合 Coderre 等方法联合塑造大鼠痛风性关节炎模型时常见的改良方法。本实验是一次在使用果糖致尿酸代谢异常状态下大鼠,联合 Coderre 造模法塑造高尿酸状态下痛风性关节炎大鼠模型的尝试。

流行病学调查数据表明含糖饮料的消耗与血清尿酸(UA)水平升高及高尿酸血症频发相关^[21]。果糖消耗量与代谢性疾病发生具有呈同步增长的趋势^[22]。李丽玉等^[23]研究表明,长期连续给予大鼠 10% 高果糖饮水可使大鼠血清尿酸水平显著升高,使大鼠血清 XOD、ADA、GuDA 等尿酸生成相关代谢酶异常活跃。表明果糖代谢使尿酸生成增多、排泄减少具有一定相关性,可诱导大鼠产生高尿酸血症^[24]。本次实验过程中,实验第 21 d、28 d,模型组饮水量、血清尿酸值显著。模型组大鼠血清及肝脏中尿酸生成相关代谢酶 ADA、XOD 活性显著升高,表明尿酸生成途径比较活跃。表明模型组大鼠高尿酸血症模型塑造成功^[25,26]。MDA 水平和 SOD 活性高低可间接反映机体清除自由基的能力^[27]。MDA 是脂质过氧化物反应的终产物。MDA 的含量变化能反映机体中氧化应激状态。SOD 对维持机

体的抗氧化及氧化平衡中起着十分关键的作用,可起到清除自由基、保护机体受损伤的作用。实验过程中,模型组与正常组血清 SOD 值无显著差异,但肝脏中 SOD 活力显著高于正常组,模型组血清及肝脏中 MDA 值显著高于正常组,表明在高尿酸状态下塑造大鼠痛风性关节炎模型时,其体内发生了氧化应激反应^[28]。同时,正常组和模型组两组大鼠血清肌酐、尿素氮、脾肾指数未见显著差异,表明两组大鼠未见肾脏损伤。

痛风性关节炎发作的关键在于尿酸盐晶体的形成、沉积并诱导炎症发生。痛风性关节炎的发病机制极其复杂^[29]。痛风性关节炎发作发病机制目前尚不清楚,但已有研究证实痛风性关节炎的机理与炎性因子 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 及其相关通路,抗原呈递细胞活化,中性粒细胞凋亡和免疫球蛋白等有关^[30,31]。MSU 晶体激活机体炎性级联反应有多种方式,主要有 MSU 晶体直接和细胞表面 Toll 样受体相结合、MSU 晶体与细胞膜表面脂类分子相结合、MSU 晶体以被单核巨噬细胞胞吞的方式进入细胞等。这些方式都会激活一系列的信号通路。这些通路大部分会诱导细胞分泌 IL-1 β 、TNF- α 等,以激活一系列的炎症反应^[32]。痛风炎症信号通路复杂,对于痛风的治疗也多从改善痛风性关节炎炎性细胞的浸润和相关炎症通路炎性因子的释放着手^[33-36]。本次实验中,模型组 IL-1 β 表达水平显著高于正常组,说明模型组大鼠体内产生炎症反应,表明模型塑造成功。关节 HE 染色也可以看出模型组大鼠踝关节组织发生炎症反应,佐证了本模型的塑造成功。

综上,本次实验是对高尿酸状态下塑造大鼠痛风性关节炎模型的一次探索。为以后研究痛风性关节炎大鼠体内炎症反应和氧化应激反应提供基础。同时,本实验接下来可以观察其病理改变及组织中炎症通路和氧化应激指标变化,以期能更全面的探讨高尿酸状态下痛风性关节炎模型研究。为构造符合人类临床痛风性关节炎发作模型拓宽思路。

参考文献(References)

- [1] Wijnands J M, Viechtbauer W, Thevissen K, et al. Determinants of the prevalence of gout in the general population: a systematic review and meta-regression[J]. *Eur J Epidemiol*, 2015, 30(1): 19-33
- [2] 曾小峰, 陈耀龙. 2016 中国痛风诊疗指南 [J]. *浙江医学*, 2017, 39(21): 1823-1832
- [3] 宋倩, 刘健, 忻凌, 等. 痛风性关节炎患者超氧化物歧化酶的变化及关联规则挖掘[J]. *中国临床保健杂志*, 2017, 20(01): 77-80
- [4] 康乐, 苗明三, 刘慧娟, 等. 基于痛风病临床病症特点的动物模型分析[J]. *中国中药杂志*, 2018, 1-7[2018-12-06]
- [5] 吕军, 方和金, 吴涛. 一种改进的痛风性关节炎大鼠模型制备方法[J]. *中国现代医学杂志*, 2014, 24(18): 17-21
- [6] Richette P, Bardin T. Gout[J]. *Lancet*, 2010, 375(9711): 318-328
- [7] 李迎春, 徐建华. 急性痛风性关节炎的发病机制及研究进展[J]. *安徽医学*, 2013, 34(01): 96-98
- [8] 崔炎, 王平, 张榜, 等. 急性痛风性关节炎与血尿酸及尿酸盐结晶的关系[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2014, 20(05): 501-503
- [9] 金晓敏. 从 NLRP3/ASC/Caspase-1 轴探讨土茯苓总黄酮防治痛风性关节炎的机制[D]. *浙江中医药大学*, 2018
- [10] 杨玲玲, 黄丽贞, 邓家刚. 痛风性关节炎动物模型研究进展[J]. *世界中医药*, 2015, 10(09): 1461-1463+1467
- [11] 何泳龙, 青玉凤, 周京国. 高尿酸血症及痛风性关节炎动物模型及

- 其中药复方治疗概况[J]. 川北医学院学报, 2015, 30(04): 574-578
- [12] Coddre TJ, Wall PD. Ankle joint urate arthritis in rat: an alterantive animal model of arthritis to that producedby Freunds adjuvant [J]. Pain, 1987, 28(3): 379-393
- [13] 黄火高, 孙运峰, 胡明, 等. 大鼠急性痛风性关节炎模型的建立及特点[J]. 军事医学科学院院刊, 2005, (06): 538-542
- [14] 李娜, 华龙, 袁慧. 痛风动物模型的研究进展 [J]. 医学理论与实践, 2016, 29(24): 3335-3337
- [15] 蔡唐彦, 王旭, 何湏, 等. 急性痛风性关节炎大鼠模型的建立及模型维持时间观察[J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(05): 494-499
- [16] 柴文新, 施合欢, 金雯丽, 等. 一种改良方法制备大鼠痛风模型及其炎症和疼痛效应评价 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2017, 23(10): 730-736
- [17] 郭五星, 熊辉, 陆小龙, 等. 改良痛风性关节炎大鼠模型的复制[J]. 云南中医学院学报, 2017, 40(02): 18-23
- [18] 尹明, 向黎黎, 熊辉, 等. 痛风性关节炎湿热蕴结证大鼠模型建立的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2015, 35(02): 6-10+73
- [19] 熊辉, 曲良焯, 向黎黎, 等. 痛风性关节炎湿热证病证结合模型的建立[J]. 中医正骨, 2014, 26(03): 14-20
- [20] 孙赛君, 袁卉, 蒋金鹏, 等. 次黄嘌呤灌胃加冰敷法诱导大鼠急性痛风性关节炎模型 [J]. 长江大学学报 (自科版), 2014, 11(09): 38-40+43+5
- [21] Choi JW, Ford ES, Gao X, et al. Sugar-sweetened soft drinks, diet soft drinks, and serum uric level: The third national health and nutrition examination survey [J]. Arthritis Care&Research, 2008, 59(1): 109-116
- [22] Ha V, Jayalath VH, Cozma AI, et al. Fructose-containing sugars, blood pressure, and cardiometabolic risk: a critical review [J]. Curr Hypertens Rep, 2013, 15(4): 281-297
- [23] 李丽玉, 林志健, 张冰, 等. 连续高果糖饮水对大鼠尿酸水平的影响及其病理机制[J]. 中华临床营养杂志, 2014, 22(6): 368-374
- [24] 林志健, 王雪洁, 朱春胜, 等. 2种高尿酸血症及相关并发症动物模型的建立与比较研究[J]. 转化医学杂志, 2015, 4(06): 347-350
- [25] 牛红娟. 营养型甜味剂对大鼠尿酸代谢的影响及菊苣的干预研究 [D]. 北京中医药大学, 2016
- [26] 孔悦, 张冰, 刘小青, 等. 黄嘌呤氧化酶活性在高尿酸血症动物模型中的变化[J]. 北京中医药大学学报, 2004, (06): 38-40+93
- [27] 陈城, 张桥, 杨文明. 脑络欣通颗粒对脑梗死急性期气虚血瘀证超氧化物歧化酶和丙二醛的影响[J/OL]. 中医临床杂志, 2018, (03): 501-504
- [28] 吕颖智. 化痰除湿通痹方对肾虚血瘀型膝关节炎患者疗效观察及对关节液中炎症因子、氧化应激因子的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(03): 205-208
- [29] Zhang QB, Qing YF, He YL, et al. Association of NLRP3 polymorphisms with susceptibility to primary gouty arthritis in a Chinese Han population[J]. Clin Rheumatol, 2017
- [30] Khameneh HJ, Ho AW, Laudisi F, et al. C5a Regulates IL-1 β Production and Leukocyte Recruitment in a Murine Model of Monosodium Urate Crystal-Induced Peritonitis[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 10
- [31] Zhou Q, Yu D H, Zhang N, et al. Anti-inflammatory effect of total saponin fraction from Dioscorea nipponica Makino on gouty arthritis and its influence on NALP3 inflammasome[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2017: 1-8
- [32] 董鹏, 宋慧. 痛风发病机制研究进展[J]. 基础医学与临床, 2015, 35(12): 1695-1699
- [33] 郑春雨, 于雪峰, 陈水林, 等. 豨莶草水提取物对痛风性关节炎大鼠 JNK 信号通路影响 [J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(36): 5816-5820
- [34] 张丽红, 邓子淳, 方佳, 等. 异落新妇苷抗痛风活性研究[J]. 吉林中医药, 2018, 38(10): 1198-1202
- [35] 郭五星, 熊辉, 易法银, 等. 踯躅历节清方对改良痛风性关节炎模型大鼠滑膜的 TLR4, NF- κ B, PPAR γ 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(23): 126-133
- [36] 金晓敏, 张晓熙, 郭璐, 等. 基于 NLRP3 炎性体轴探讨土茯苓总黄酮对痛风性关节炎的作用和机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(04): 90-95

(上接第 2035 页)

- [21] Rentsch C, Schneiders W, Manthey S, et al. Comprehensive histological evaluation of bone implants[J]. Biomater, 2014, 4(1): e27993
- [22] Bemenderfer TB, Harris JS, Condon KW, et al. Tips and techniques for processing and sectioning undecalcified murine bone specimens [J]. Methods Mol Biol, 2014, 1130(1130): 123-147
- [23] Abrantes, Adelino Antonio Artur, Rafacho A, et al. Tissue integrity, costs and time associated with different agents for histological bone preparation[J]. Microsc Res Tech, 2017, 80(4): 344-349
- [24] Solomon HM, Murzyn S, Rendemonti J, et al. The use of micro-CT imaging to examine and illustrate fetal skeletal abnormalities in Dutch Belted rabbits and to prove concordance with Alizarin Red stained skeletal examination[J]. Birth Defects Res, 2018, 110(3): 276-298
- [25] Bensimonbrito A, Cardeira J, G Dionisio, et al. Revisiting in vivo staining with alizarin red S-a valuable approach to analyse zebrafish skeletal mineralization during development and regeneration[J]. BMC Dev Biol, 2016, 16(1): 1-10