

滇西亚种树鼩心肌酶、部分肾功能指标的测定及其初步分析

郑永仁¹⁾, 王 礴¹⁾, 郑 红^{2,3)}, 角建林²⁾, 刘梦思⁴⁾, 李进涛^{2,3)}

- (1) 云南中医学院实验中心, 云南 昆明 650500; 2) 昆明医科大学实验动物学部, 云南 昆明 650500;
3) 扬州大学兽医学院, 江苏 扬州 225009; 4) 昆明医科大学临床医学专业, 云南 昆明 650031)

[摘要] **目的** 为建立和评价人类疾病树鼩模型奠定生理生化基础. **方法** 滇西亚种树鼩 92 只, 雌雄各半. 禁食 12 h 后, 非麻醉状态下心脏采血 0.8 ~ 1.0 mL 装入灭菌离心管用于分离制备血清并用 Olympus AU5400 全自动生化分析仪进行生化指标测定. 每只树鼩人工挤尿 1.5 ~ 2.0 mL 存于灭菌离心管用 Combi-scan500 尿液分析仪进行尿液分析测定. 用 SPSS 统计软件对测定的数据统计分析并与人的参考值进行了比较. **结果** 滇西亚种树鼩雌雄间心肌酶与部分肾功能指标测定值中乳酸脱氢酶、 α -羟丁酸脱氢酶、肌酐、尿酸、尿比重、酸碱度比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其余的指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$). 滇西亚种树鼩雌雄合并、雌性和雄性心肌酶与部分肾功能指标测定值与人的参考值比较得出: 尿素、尿比重、尿糖、尿胆原、尿胆红素、尿亚硝酸盐均在人的参考值范围内, 乳酸脱氢酶、肌酸激酶、 α -羟丁酸脱氢酶、肌酸激酶同工酶 CKMB 均高于人的参考值, 肌酐、尿酸和尿酸碱度稍低于人的参考值. 白细胞、尿蛋白、酮体、隐血多数与人的参考值一致为阴性, 但偶有阳性的, 阳性率分别为 3.95%、46.1%、39.5%、2.63%. 维生素 C 与人的参考值相反为阳性, 但也偶有阴性的, 阴性率为 6.6%. **结论** 尿素、尿比重、尿糖、尿胆原、尿胆红素、尿亚硝酸盐可直接作为人类疾病树鼩模型的评价指标, 其它指标参数可作为判断树鼩正常生理生化的依据.

[关键词] 滇西亚种树鼩; 心肌酶; 肾功能; 测定; 分析

[中图分类号] R446.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2013) 10 - 0005 - 05

Measurement and Analysis of Myocardial Enzymes and Some Renal Function Indices in *Tupaia Belangeri Chinensis*

ZHENG Yong-ren¹⁾, WANG Bo¹⁾, ZHENG Hong^{2,3)}, JIAO Jian-lin²⁾, LIU Meng-si⁴⁾, LI Jin-tao^{2,3)}

- (1) Experimental Center of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650500; 2) Laboratory Animal Department of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500; 3) Veterinary Medicine Department of Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu 225009; 4) Clinical Medicine Department of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650031, China)

[Abstract] **Objective** To lay the physiological and biochemical basis for establishing and evaluating tree shrews model of human disease. **Methods** There were 92 *Tupaia belangeri chinensis*, in which half of them were male, they were allowed to eat nothing for 12 hours, then we sampled heart blood 0.8 ~ 1.0 mL without anesthesia and put blood samples into sterilized centrifuge tube for separation and preparation of serum. Olympus AU5400 automatic biochemistry analyzer was used to measure biochemical indexes. Then 1.5 ~ 2.0 mL of urine of each tree shrew was collected and put into sterilized centrifuge tube for measuring renal function by using Combi-scan500 urine analyzer. Finally SPSS statistics software was used to analyse the measured values, and compared the measured values with the human reference values. **Results** There were significant differences in myocardial enzymes and some renal function indexes such as lactic dehydrogenase, α -hydroxybutyric acid dehydrogenase,

[基金项目] 国家科技支撑计划项目 (2009BAI83B02); 云南省科技厅应用基础研究计划面上项目 (2012FB155); 云南省科技厅应用基础研究联合专项项目 (2012FB022)

[作者简介] 郑永仁 (1965~), 男, 云南楚雄市人, 大学本科, 实验师, 主要从事实验动物与动物实验研究.

[通讯作者] 李进涛. E-mail: jintao2013@163.com

creatinine, uric acid, urine specific gravity and pH value between male and female *Tupaia belangeri chinensis* ($P < 0.05$), and there was no significant difference in the rest of the measured values ($P > 0.05$). Then determination value of *Tupaia belangeri chinensis*, male's and female's, myocardial enzyme and part of the renal function indexes were compared with the human reference values. Some indexes including urea, urine specific gravity, urine, urobilinogen were in the range of human reference value, while the values of urine bilirubin, urine nitrite, lactate dehydrogenase, creatine kinase, α -hydroxybutyrate dehydrogenase, creatine kinase isoenzyme CKMB were higher than the human reference value. White blood cell, urine protein, ketone, occult blood most of them were negative as the same to human reference value, but sometimes were positive, and the positive rates respectively were 3.95% and 46.1%, 39.5%, 2.63%. The measured value of Vitamin C was positive that is completely opposite to human reference value, but sometimes is negative, the negative rate was 6.6%.

Conclusion Urea, urine specific gravity, urine, urobilinogen, urine bilirubin, urine nitrite can be directly used as the indexes for evaluating tree shrews models of human disease, other indexes can be used as indexes for judgment of the normal physiological and biochemical basis of tree shrews.

[**Key words**] *Tupaia belangeri chinensis*; Myocardial enzymes; Renal function; Measurement; Analysis

树鼯 (*Tupaia Belangeris* 或 Tree Shrew) 在国际上通俗地称之为树仙 (*Tupaia Glis*), 是一种形似松鼠的小型哺乳动物。分布在热带和亚热带, 如中国云南、广西、广东海南岛以及东南亚-印度恒河北部、缅甸、越南、泰国、马来西亚、印度尼西亚和菲律宾等地。树鼯外形似松鼠, 尾部毛发达, 并向两侧分散。体长约 18 cm, 尾长约 16 cm, 成年体重在 120 ~ 150 g。前后肢各有 5 趾, 每趾都有发达而尖锐的爪。树鼯是杂食性动物, 食物以虫类为主, 也可食用幼鸟、鸟蛋、谷类、果类、树叶等。树鼯性成熟时间约为 6 个月, 怀孕期 41 ~ 50 d, 胎仔数为 2 ~ 4 只, 终年可繁殖, 每年 3 ~ 8 月为繁殖的高峰期但存活率低^[1]。实验室饲养宜雌雄分居, 交配时合笼, 怀孕时分笼将雌者转到繁殖笼内, 分娩育仔。由于树鼯具有体型小、繁殖快、易捕捉和饲养、养殖成本低、进化程度高, 新陈代谢比犬、鼠等动物更接近于人, 大体解剖也近似于人以及分子细胞层面与人的相似性, 已经作为一种新型的实验动物模型广泛用于生物医学研究和药物安全性评价。随着树鼯基因组测序的完成, 科研人员利用全基因组序列重构树鼯与其他物种的系统发育关系, 证实了树鼯与灵长类亲缘关系最为接近, 从分子水平上为树鼯分类学研究奠定了科学基础, 并且为其在生物医学研究中用作人类疾病动物模型奠定重要的遗传学基础, 进而使其更好的发挥在生物医药科学研究中的作用^[2-3]。目前, 已建立了感染性疾病模型、精神和神经疾病模型、代谢性疾病模型、癌症模型等, 但树鼯的饲养繁殖条件、质量、检测方法和手段的标准化和规范化有待进一步的完善和提升^[4-7]。因此, 本文对滇西亚种树鼯心肌酶、部分肾功能指标进行测定, 不仅丰富了树鼯的基础生理生化数

据, 而且为建立人类疾病树鼯模型提供有效的评价指标。

1 材料与方法

1.1 实验动物

滇西亚种树鼯 92 只, 雌雄各半, 体重 100 ~ 140 g, 饲养时间为 6 ~ 10 月龄, 由昆明医科大学实验动物学部提供。

1.2 饲养条件

普通级树鼯饲养房, 温度: 22℃ ~ 25℃, 相对湿度 45% ~ 60% 左右, 每天人工光照 12 h 和定时清理粪尿 1 次。

1.3 饲料

树鼯全价颗粒饲料由昆明医科大学实验动物学部提供。

1.4 血样的采集

禁食 12 h 后, 非麻醉状态下心脏采血 1.0 ~ 1.5 mL, 平均采血时间为 15 ~ 30 s。其中 0.8 ~ 1.0 mL 用于制备血清进行血清生化指标测定, 0.5 mL 装入 EDTA-K2 抗凝管颠倒充分混匀后用于血常规生理指标的测定。每只树鼯人工挤尿 1.5 ~ 2.0 mL 存于灭菌离心管用于尿液分析测定。

1.5 样本检测仪器及试剂

Olympus AU5400 全自动生化分析仪进行血清分析测定, 检测试剂为原装配套试剂。Combi-scan500 尿液分析仪进行尿液分析测定, 检测试剂为原装配套试剂。

1.6 样本检测方法

采用 Olympus AU5400 全自动生化分析仪进行血清分析测定, 严格按其标准操作程序 (SOP) 操

作. 采用 Combi-scan500 尿液分析仪进行尿液分析测定, 严格按其标准操作程序 (SOP) 操作.

1.7 统计学分析

用 SPSS 软件包分析数据, 各项数据以“均值 ± 标准差” ($\bar{x} \pm s$) 表示, 参考值范围的计算方

法则根据数据是否正态分布决定, 若正态分布进一步计算平均值、标准差和 95% CI (Confidence interval, 置信区间). 统计检验方法: 正态分布数据采用 *t* 检验, 非正态分布数据采用秩和检验.

表 1 滇西亚种树鼩心肌酶与部分肾功能指标测定结果与人参考值的比较

Tab. 1 Comparison of myocardial enzymes and some renal function indice of *Tupaia belangeri chinensis* with the reference values of human

项 目	雌雄合并(n = 92)		雌性(n = 46)		雄性(n = 46)		人参考值
	$\bar{x} \pm s$	95%CI	$\bar{x} \pm s$	95%CI	$\bar{x} \pm s$	95%CI	
乳酸脱氢酶 LDH-L(U/L)	1 686.40 ±	1 593.04 ~ 1	1 476.43 ±	1 379.68 ~ 1	1 921.38 ±	1 784.57 ~ 2	109 ~ 240
肌酸激酶CK (U/L)	443.23	779.77 ↑	329.49	573.17 ↑	439.02	058.19 ↑	25 ~ 200
α-羟丁酸脱 氢酶 a-HRD (U/L)	402.25 ±	366.96 ~	394.48 ±	330.86 ~	411.66 ±	354.83 ~ 468.48	72 ~ 182
α-羟丁酸脱 氢酶 a-HRD (U/L)	195.64	793.61 ↑	214.21	458.09 ↑	172.88	↑	0 ~ 25
α-羟丁酸脱 氢酶 a-HRD (U/L)	547.08 ±	521.34 ~	480.70 ±	330.86 ~	625.08 ±	593.73 ~ 656.42	3 ~ 7.2
α-羟丁酸脱 氢酶 a-HRD (U/L)	120.74	572.81 ↑	96.54*	458.09 ↑	98.01*	↑	44 ~ 133
尿素UREA (mmol/L)	157.83 ± 57.59	145.55 ~ 170.10 ↑	153.38 ± 45.48	140.03 ~ 166.74 ↑	163.05 ± 69.44	140.84 ~ 185.26 ↑	117 ~ 416
肌酐GREA (μmol/L)	6.59 ± 1.94	6.17 ~ 7.00	6.45 ± 1.91	5.89 ~ 7.01	6.74 ± 2.00	6.11 ~ 7.37	1.003 ~ 1.03
尿酸(μmol/L)	18.88 ± 4.57	17.91 ~ 19.84 ↓	19.87 ± 4.16*	18.65 ~ 21.09 ↓	17.76 ± 4.80*	16.27 ~ 19.26 ↓	5.5 ~ 8.5
尿比重SG	36.11 ± 22.61	31.34 ~ 40.88 ↓	26.26 ± 18.83*	20.73 ~ 31.78 ↓	47.14 ± 21.54*	40.43 ~ 53.85 ↓	阴性(0 ~ 24)
尿酸碱度pH	1.02 ± 0.01	1.020 ~ 1.024	1.03 ± 0.01*	1.023 ~ 1.027	1.02 ± 0.01*	1.016 ~ 1.021	正常(0 ~ 2.8)
尿白细胞 (leu/μL)	5.49 ± 0.62	5.34 ~ 5.63	5.24 ± 0.43*	5.10 ~ 5.37	5.79 ± 0.69*	5.55 ~ 6.03	正常(0 ~ 1)
尿蛋白PRO (g/L)	多为阴性(3.95%阳性率)		多为阴性(4.76%阳性率)		多为阴性(2.95%阳性率)		正常(0 ~ 50)
尿糖GLU (mmol/L)	多为阴性(46.1%阳性率)		多为阴性(9.52%阳性率)		多为阳性(8.82%阴性率)		正常(0 ~ 17)
尿酮体KET (mmol/L)	正常		正常		正常		正常(0 ~ 24)
尿胆原UBG (μmol/L)	多为阴性(39.5%阳性率)		多为阴性(11.9%阳性率)		多为阳性(26.5%阴性率)		正常(0 ~ 24)
尿胆红素BIL (μmol/L)	多为阴性(2.63%阳性率)		多为阴性(2.38%阳性率)		多为阴性(2.94%阳性率)		正常(0 ~ 24)
尿隐血ERY (mg/L)	阴性		阴性		阴性		正常(0 ~ 24)
尿亚硝酸盐 NIT	多为阳性(6.6%阴性率)		阳性		多为阳性(14.7%阴性率)		正常(0 ~ 24)
尿维生素C ASC	多为阳性(6.6%阴性率)		阳性		多为阳性(14.7%阴性率)		正常(0 ~ 24)

测定项目指标雌雄相比有显著性差异, **P* < 0.05, ↑和↓分别表示树鼩测定结果高于和低于人参考值下限; 未做任何标识的树鼩测定结果在人参考值范围内.

2 结果

滇西亚种树鼩雌雄合并、雌性和雄性心肌酶与部分肾功能指标测定结果及雌雄间进行比较(见表 1), 滇西亚种树鼩雌雄间心肌酶与部分肾功能指标测定值中乳酸脱氢酶、 α -羟丁酸脱氢酶、肌酐、尿酸、尿比重、酸碱度比较差异性显著($P < 0.05$), 其余的指标无显著性差异($P > 0.05$)。

滇西亚种树鼩雌雄合并、雌性和雄性心肌酶与部分肾功能指标测定值与人的参考值比较结果(见表 1), 滇西亚种树鼩雌雄合并、雌性和雄性心肌酶与部分肾功能指标测定值与人的参考值比较得出: 乳酸脱氢酶、肌酸激酶、 α -羟丁酸脱氢酶、肌酸激酶同工酶 CKMB 均高于人的参考值。尿素在人的参考值范围内, 肌酐和尿酸均低于人的参考值。尿比重、尿糖、尿胆原、胆红素、亚硝酸盐均在人的参考值范围内, 酸碱度稍低于人的参考值, 白细胞、尿蛋白、酮体、隐血多数与人的参考值一致为阴性, 但偶有阳性的, 阳性率分别为 3.95%、46.1%、39.5%、2.63%。维生素 C 与人的参考值相反为阳性, 但也偶有阴性的, 阴性率为 6.6%。

3 讨论

心肌酶是存在于心肌的多种酶的总称, 一般由天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)及同工酶、 α -羟丁酸脱氢酶(α -HBD)和肌酸激酶(CK)及同工酶(CKMB)组成。临床上常将这一组与心肌损伤相关的酶合称为心肌酶谱, 对诊断心肌梗塞有重要的意义, 也用于肝病、脑病和骨骼肌疾病的诊断、鉴别诊断和治疗监测^[8]。滇西亚种树鼩血清中的天门冬氨酸氨基转移酶测定值已记录在待发表的另一篇研究论文中。滇西亚种树鼩心肌酶的测定可为建立树鼩心肌梗塞模型奠定血清生化的评价指标。

树鼩的部分血清生化指标彭燕章等(1986年)就有了报道。近年来, 谢丽等(2007年)、白继丽等(2009年)、马旭通等(2011年)也对树鼩的血清生化指标进行了测定, 但由于检测仪器、检测方法、检测项目单位及统计分析方法有所差异, 所以本文所测定的滇西亚种树鼩血清生化指标与谢丽等(2007年)、白继丽等(2009年)所测定的生化指标进行部分项目的比较分析^[9-11]。尿素(6.59 ± 1.94)稍低于谢丽等测定的(8.03 ± 3.85), 稍高于白继丽等测定的(5.54 ± 1.69)。肌酐($18.88 \pm$

4.57)接近于谢丽等测定的(16.63 ± 6.19), 低于白继丽等测定的(40.88 ± 9.60)。血清尿素和血清肌酐在一定程度上反映肾小球滤过功能的变化。肾小球滤过率降低, 血清尿素的浓度就会增加, 血清尿素测定值增高的程度与病情的严重程度成正比, 所以对判断肾病和疾病的发展趋向有重要的意义。血清肌酐主要由肌肉代谢产生, 极小部分来自食物。在肾功能减退早期(代偿期), 肌酐清除率下降而血肌酐可以是正常的。血肌酐明显高于正常时, 常表示肾功能已严重损害。肾外因素对血中尿酸值影响较大, 故血中尿酸增高程度与肾功能损害程度是不成正比的^[12, 13]。

对树鼩尿液分析测定本文是国内外首次研究报道的。尿比重、尿糖、尿胆原、尿胆红素、尿亚硝酸盐均在人的参考值范围内, 这些指标可直接用作人类疾病树鼩模型的评价指标。尿比重反映肾小管的浓缩和稀释能力。人患糖尿病时, 尿糖检测是判断病情和疗效观察的指标之一。在建立糖尿病树鼩模型时, 血清尿素、血清肌酐、尿糖、尿酮体等可作为评价糖尿病树鼩模型指标之一^[14, 15]。胆红素代谢障碍时, 血、粪、尿中的胆红素及其代谢产物会改变为阳性, 红素定性检查可协助诊断肝胆等疾病。尿胆原检查和尿胆红素定性检查同时进行, 对黄疸的鉴别有一定意义。溶血性黄疸时尿胆原生成及排除明显增加, 肝细胞性黄疸时尿胆原排除增加, 完全阻塞性黄疸时尿胆原为阴性。尿亚硝酸盐主要用于尿路感染的过筛试验。新鲜尿时亚硝酸盐呈阴性, 如标本放置时间过久或有细菌生长繁殖可呈假阳性。尿白细胞、尿蛋白、尿酮体、尿隐血多数与人的参考值一致为阴性, 但偶有阳性的, 阳性率分别为 3.95%、46.1%、39.5%、2.63%。尿白细胞一般是泌尿系统有炎症才会异常增多出现在尿中的。终尿中蛋白质含量极少, 如泌尿系统发生器质性病变时, 尿蛋白含量会增加。尿蛋白含量的多少可作为判断病情轻重的参考, 但蛋白量的多少不能反映肾病变的程度和预后。尿酮体是脂肪代谢的中间产物, 正常生理情况下, 肝合成的酮体大部分被其他组织利用, 当体内脂肪代谢加速时, 生产的大量酮体便在血中蓄积, 从尿中排出而形成酮尿。滇西亚种树鼩尿蛋白、尿酮体阳性率相对较高可能是由于树鼩活动量较大摄入过量的蛋白和脂肪所致。尿隐血试纸阳性反映的是血红蛋白和肌红蛋白尿液中含有较多的红细胞, 称为血尿。如果尿液中经常出现较多的红细胞则提示异常, 应密切加以检查尿隐血阳性同时有蛋白者, 首先考虑肾脏疾病和出血性疾病, 可进一步做肾功能检查^[12]。

滇西亚种树鼩尿维生素 C 与人的参考值相反为阳性, 但也偶有阴性的, 阴性率为 6.6%。在人的尿液分析中维 C 检查的意义在于衡量尿其他检测项目的准确性。维生素 C 作为强还原剂, 可干扰各种尿液成分与试剂条中化学物质的氧化还原反应, 从而常常造成假阴性的检测结果, 干扰临床的诊断和治疗。如果维生素 C 阳性, 那么相关项目的结果可信性就应受到置疑。人类和其他灵长类、豚鼠等动物体内不能合成维生素 C, 必须由食物供给^[6]。为排除维生素 C 对尿液成分分析的干扰作用, 以了解其真实情况, 必要时在停止服用维生素 C 后再送尿液检查。据 Elliot 等 (1966 年), 普通树鼩像懒猴一样, 能在肝脏中合成维生素 C, 其肾中未发现维生素 C 合成^[7]。滇西亚种树鼩肝脏或肾脏是否能够合成维生素 C 有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 彭燕章, 叶智彰, 邹如金, 等. 树鼩生物学[M]. 昆明: 云南科技出版社, 1991:91 - 117.
- [2] 许凌, 范宇, 蒋学龙, 等. 树鼩进化分类地位的分子证据[J]. 动物学研究, 2013, 34(2):70 - 76.
- [3] YU FAN, ZHIYONG HUANG, CHANGCHANG CAO, et al. Genome of the Chinese tree shrew [J]. Nature communication, 4:1426 doi:10.1038/Ncomms2416(2013)
- [4] 徐林, 张云, 梁斌, 等. 实验动物树鼩和人类疾病的树鼩模型研究概述[J]. 动物学研究, 2013, 34(2):59 - 69.
- [5] 黄晓燕, 徐娟, 孙晓梅, 等. 树鼩在人类疾病动物模型中应用研究进展[J]. 实验动物科学, 2013, 30(2):59 - 64.
- [6] 王新兴, 李婧潇, 王文广, 等. 野生中缅树鼩病毒携带情况的初步调查[J]. 动物学研究, 2011, 32(1):66 - 69.
- [7] 韩建保, 张高红, 段勇, 等. 中缅树鼩自然感染六种病毒的血清流行病学[J]. 动物学研究, 2011, 31(1):11 - 16.
- [8] 黄绍湘, 李峰, 路超, 等. 安心颗粒对大鼠心肌梗塞模型血管新生作用的影响 [J]. 陕西中医, 2013, 34(4):493 - 495.
- [9] 谢丽, 秦雪, 陈晓燕. 实验室繁育树鼩生理指标的检测分析[J]. 四川动物, 2007, 26(3):682 - 685.
- [10] 白继丽, 孙晓梅, 王欣, 等. 人工饲养树鼩血液学及生化指标正常值测定及分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(7):38 - 41.
- [11] 马旭通, 李福林, 蒋宏君, 等. 野生和人工繁育树鼩部分生理指标检测与比较[J]. 动物学研究, 2011, 32(1):4 - 10.
- [12] 侯治富. 实验诊断学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2011:12 - 16.
- [13] 王俊东. 兽医药实验室检验技术[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2005:20 - 24.
- [14] 吴晓云, 李昀海, 常青, 等. 链脲佐菌素诱导树鼩2型糖尿病[J]. 动物学研究, 2013, 34(2):108 - 115.
- [15] JING WANG, XINLI XU, ZE-YANG DING, et al. Basal physiological parameters in domesticated tree shrews (*Tupaia belangeri chinensis*) [J]. Zoological Research, 2013, 34 (E2):69 - 74.
- [16] 查锡良. 生物化学(第七版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010:444 - 446.
- [17] ELLIOT, O., N.J. Yess and D.M. Hegsted. Biosynthesis of ascorbic acid in the tree shrew and slow loris [J]. Nature, Lond, 1966, 212(12):739 - 740.

(2013 - 06 - 13 收稿)