

以高嘌呤饮食评估罗伊氏乳杆菌 *Lactobacillus reuteri* GKR1 之降尿酸效果

王启宪¹, 林诗伟¹, 赵 敞², 陈炎炼¹, 陈劲初^{1,3,4,5*}

¹葡萄王生技股份有限公司, 台湾 桃园

²上海葡萄王企业有限公司, 上海

³台湾大学食品科技研究所, 台湾 台北

⁴实践大学食品营养与保健生技学系, 台湾 台北

⁵中原大学生物科技学系, 台湾 桃园

收稿日期: 2021年12月20日; 录用日期: 2022年1月31日; 发布日期: 2022年2月15日

摘 要

近年来, 高尿酸血症的盛行率居高不下, 高嘌呤饮食为引起高尿酸血症之重要因素, 高尿酸血症会增加罹患心血管疾病、糖尿病、肾脏病功能异常、高血压等疾病的机率, 而降尿酸药物具有副作用, 因此需开发替代治疗之策略。本试验先以体外试验筛选具有降尿酸潜力菌株, 发现效果最佳菌株为 *Lactobacillus reuteri* GKR1, 再以高嘌呤饮食饲料评估 *Lactobacillus reuteri* GKR1 于小鼠之降尿酸效果, 试验将 ICR 小鼠分为5组: 正常对照组、负对照组、阳性对照组、低剂量GKR1组及高剂量GKR1组, 连续14天将试验物质经管喂投予小鼠, 在试验第7及第14天收集各组小鼠血清, 分析尿酸(Uric acid)、尿素氮(BUN)与肌肝酸(Creatinine)含量, 在试验第14天采集小鼠肝脏分析黄嘌呤氧化酶活性。实验结果显示, 低、高剂量组GKR1可降低血清中尿酸、尿素氮含量, 高剂量GKR1组显着减少肝脏中黄嘌呤氧化酶活性, 综合以上结果, GKR1具有开发为降尿酸保健食品之潜力。

关键词

Lactobacillus reuteri GKR1, 益生菌, 尿酸, 黄嘌呤氧化酶, 高嘌呤饮食

Evaluation of *Lactobacillus reuteri* GKR1 on Lowering Uric Acid with High Purine Diet

Ci-Sian Wang¹, Shih-Wei Lin¹, Chang Zhao², Yen-Lien Chen¹, Chin-Chu Chen^{1,3,4,5*}

¹Grape King Bio Ltd., Taoyuan Taiwan

*通讯作者。

文章引用: 王启宪, 林诗伟, 赵敞, 陈炎炼, 陈劲初. 以高嘌呤饮食评估罗伊氏乳杆菌 *Lactobacillus reuteri* GKR1 之降尿酸效果[J]. 食品与营养科学, 2022, 11(1): 56-63. DOI: 10.12677/hjfn.2022.111007

²Shanghai Grape King Enterprise CO., Ltd., Shanghai

³Institute of Food Science and Technology, National Taiwan University, Taipei Taiwan

⁴Department of Food Science, Nutrition, and Nutraceutical Biotechnology, Shih Chien University, Taipei Taiwan

⁵Bioscience Technology, Chung Yuan Christian University, Taoyuan Taiwan

Received: Dec. 20th, 2021; accepted: Jan. 31st, 2022; published: Feb. 15th, 2022

Abstract

In recent years, the prevalence of hyperuricemia has remained high. High-purine diet is an important factor in causing hyperuricemia. Hyperuricemia will increase the risk of cardiovascular disease, diabetes, abnormal kidney disease, hypertension and other diseases. However, uric acid-lowering drugs have side effects, so it is necessary to develop alternative treatments. In this experiment, we first screened lactobacillus strains with uric acid-lowering potential by *in vitro* tests, and found that the best strain was *Lactobacillus reuteri* GKR1. Then, the high-purine diet was used to evaluate the uric acid-lowering effect of *Lactobacillus reuteri* GKR1 in mice. The test divided ICR mice into 5 groups: normal control group, negative control group, positive control group, low-dose GKR1 group and high-dose GKR1 group. The test substance was administered to the mice via tube for 14 consecutive days, and the serum of each group was collected on the 7th and 14th days of the test analyze the content of uric acid, urea nitrogen (BUN) and Creatinine, and collect and analyze the xanthine oxidase activity in mouse liver on the 14th day of the experiment. Experimental results show that low and high dose GKR1 can reduce serum uric acid and urea nitrogen content, and high dose GKR1 group significantly reduces xanthine oxidase activity in the liver. Based on the above results, GKR1 has the potential to be developed as a healthy food for lowering uric acid.

Keywords

Lactobacillus reuteri GKR1, Probiotics, Uric Acid, Xanthine Oxidase, High-Purine Diet

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

尿酸(Uric acid)是嘌呤(purine)经由肝脏代谢后的终产物。血清中尿酸来源 80%是由体内氨基酸、核酸等分解而来,而 20%是由含普林或核蛋白食物代谢而来。每天人体制造的尿酸约有 750 mg,绝大多数由肾脏排出体外。体内尿酸产生过多或肾脏排泄尿酸不良,使血中尿酸浓度高于可溶性饱和点时,就称为高尿酸血症。当男性每 100 mL 血液中的尿酸值在 7 mg 以上,女性在 6 mg 以上时,便称为高尿酸血症。

尿酸是一种弱酸,在人体生理的酸碱值下,是以离子化形式 - 尿酸盐(urate)存在。当 1) 人体摄取富含嘌呤或导致嘌呤合成增加的食物; 2) 尿酸的合成增加; 3) 排泄出体外的尿酸量减少,皆会引起高尿酸血症。尿酸浓度增加时,尿酸分解并产生自由基,导致氧化压力上升、发炎及第二型血管张力素分泌[1],因此高尿酸血症与心血管疾病、糖尿病、肾脏病功能异常、高血压等有关[2]。因此,有必要降低血液中尿酸值来防止高尿酸血症相关疾病。

目前降低血液中尿酸的药物可分为两类,一类为包含黄嘌呤氧化酶抑制剂(Allopurinol、febuxostat)

另一类为促尿酸排泄剂(Benzbromarone、probenecid、sulfapyrazone)等。然而, 降尿酸药物都有可能产生副作用[3] [4], 因此需要开发降低尿酸的替代治疗策略。

益生菌是活的微生物, 对宿主的健康产生有益的影响, 具有抗氧化、抗发炎及减少肠胃道疾病等功效, 而近期研究指出, 益生菌也会参与宿主的能量代谢, 使益生菌具有抗肥胖、降血糖的效果。因此本研究利用体外模式, 筛选出对于嘌呤具有最佳降解能力之菌株, 再利用高尿酸血症的动物模式, 评估益生菌对于降低血液中尿酸的功效。

2. 材料与方法

2.1. 降尿酸益生菌株体外筛选

欲筛选之益生菌株培养于 MRS 培养基中, 经 37℃、16 小时培养, 以 4200 rpm 离心 10 分钟, 去掉上清液取得菌体, 将菌体回溶于含 1.25 mM inosine 及 1.25 mM guanosine 之 PBS 溶液中, 于 120 rpm、37℃ 下震荡培养 2 小时。培养完成后以 4200 rpm 离心 10 分钟, 取得上清液, 利用 HPLC 分析上清液中残留 inosine 及 guanosine 浓度, 选出最具有降尿酸潜力之菌株(*Lactobacillus reuteri* GKR1)进行动物试验。

2.2. 动物试验菌株菌粉制备

罗伊氏乳杆菌 *Lactobacillus reuteri* GKR1 培养于 5 L MRS 培养基中, 经 37℃、16 小时培养, 以 4200 rpm 离心 10 分钟, 去掉上清液取得菌泥, 混入 20%脱脂奶粉后冷冻干燥而得。

2.3. 试验动物分组

ICR 雄鼠 40 只, 每只体重约 20~25 g, 购自乐斯科生物科技(台湾, 台北)。适应环境 1 周后, 将小鼠随机分为 5 组, 每组 8 只小鼠, 分别为正常对照组、负对照组、阳性对照组、低剂量 GKR1 组及高剂量 GKR1 组, 饲养温度维持于 22℃ ± 3℃, 相对湿度 55% ± 15%, 定时 12 小时之光暗周期, IACUC 编号为: 108-14h。

2.4. 试验设计与喂食剂量

试验期间, 正常对照组每天给予 MFG 饲料, 负对照组、阳性对照组、低剂量 GKR1 组及高剂量 GKR1 组每天给予制作成固态饲料的 LabDiet 5001 粉状饲料添加 potassium oxonate 2.5%及 RNA 1%, 使小鼠造症为高尿酸血症。试验时间为 14 日, 每日由研究人员称取阳性对照组与 GKR1, 以逆渗透水配置, 限当天使用。不同剂量之 GKR1 各有不同的人体建议剂量, 分别为成人每日服用 0.05、0.1 g 的 GKR1, 投予剂量之换算公式为每位成人每日服用剂量 ÷ 60 kg (成人平均体重) × 12.3 (小鼠与人的换算系数), 换算下 GKR1 低、高剂量分别为 10.25、20.5 mg/kg BW。使用喂食针将负对照组物质逆渗透水、阳性对照组物质 Allopurinol (0.5 mg/kg BW)以及 GKR1 分别管喂投予各组试验小鼠。每只小鼠投予体积为 10 mL/kg BW。

2.5. 检测项目

2.5.1. 体重测定

试验动物于投予试验物质前, 试验期间每周量测 1 次体重。

2.5.2. 摄食量

试验期间每周进行结算 1 次, 量测方法为每周固定时间加入定量饲料, 1 周后结算剩余饲料量, 计算动物摄食量。

2.5.3. 血中尿酸(Uric Acid, UA)、尿素氮(BUN)、肌酸酐(Creatinine)检测

于第 7 天及第 14 天时,以颊窝采血方式采及小鼠血液后,将全血于室温静置 30 分钟,待血清分离后,以 10,000 rpm, 4℃ ± 1℃ 环境下,离心 10 分钟,取上清液即为血清,并保存于 -20℃ ± 1℃,待日后分析。

2.5.4. 黄嘌呤氧化酶(Xanthine Oxidase)活性分析

以二氧化碳牺牲小鼠,取出肝脏进行均质,将肝脏组织与缓冲溶液以 1:4 混合,以 6800 rpm, 15 秒条件下,取肝脏均质液分析黄嘌呤氧化酶酵素活性(Xanthine Oxidase Assay Kit, Biovision)。

2.6. 统计分析

实验数据以平均值(mean)及标准偏差(standard deviation, SD)表示。试验数据利用 SPSS 统计软件中单因子变异数分析(One-Way ANOVA)后以 Duncan's multiple range test 分析各组间数据之差异性,并以 p 值小于 0.05 作为显著差异水平。

3. 结果

3.1. 最佳嘌呤降解能力菌株

11 种益生菌株进行嘌呤降解筛选,多数益生菌株降解环境中 inosine 及 guanosine 不超过 30%,而 *L. reuteri* GKR1 可完全降解 inosine 及 guanosine 能力达 100% (图 1),因此后续使用 *L. reuteri* GKR1 进行动物试验。

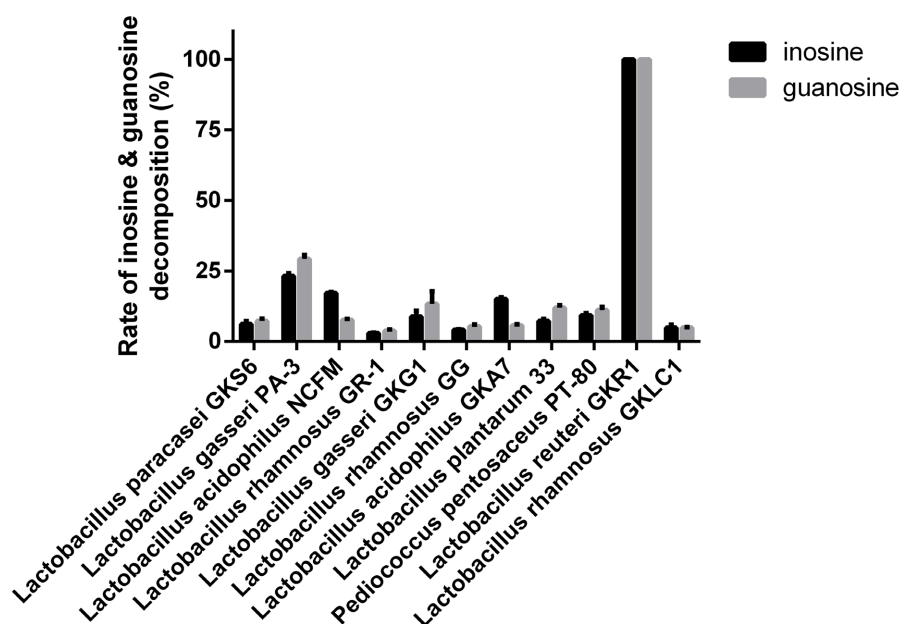


Figure 1. Purine decomposing ability in each probiotics strain

图 1. 各益生菌株降解嘌呤能力

3.2. 体重与摄食量

第 0、7、14 天小鼠体重,进行各组组间比较,皆无显著差异,结果如表 1 所示。各组小鼠组间摄食量无明显异常状况,如表 2 所示。

Table 1. Average body weight of mice in each groups
表 1. 试验期间每组小鼠平均体重

组别	体重(g)		
	第 0 天	第 7 天	第 14 天
正常对照组	27.2 ± 1.3 ^a	30.0 ± 1.4 ^a	32.9 ± 2.3 ^a
负对照组	27.3 ± 0.9 ^a	30.6 ± 0.8 ^a	34.4 ± 1.1 ^a
阳性对照组	27.8 ± 1.7 ^a	30.7 ± 2.1 ^a	33.6 ± 2.1 ^a
低剂量 GKR1	27.9 ± 0.9 ^a	30.4 ± 1.1 ^a	32.7 ± 1.3 ^a
高剂量 GKR1	28.0 ± 1.8 ^a	30.9 ± 1.7 ^a	33.6 ± 1.6 ^a

所有数据均以 Mean ± S.D.表示，以英文字母表示统计之结果，相同字母表示组间不具统计上差异，不同字母表示组间具有统计上差异($p < 0.05$)。

Table 2. Average food intake of mice in each groups
表 2. 试验期间每组小鼠平均摄食量

组别	摄食量(g/day/mouse)	
	第 7 天	第 14 天
正常对照组	4.6	4.4
负对照组	5.8	5.6
阳性对照组	5.8	5.6
低剂量 GKR1	5.7	5.6
高剂量 GKR1	5.7	5.6

3.3. 血清中尿酸、尿素氮、肌肝酸浓度

3.3.1. 尿酸(UA)

试验第 7 天，负对照组显著高于正常对照组($p < 0.05$)，阳性对照组与 GKR1 低、高剂量组皆显著低于负对照组($p < 0.05$) (表 3)。试验第 14 天，负对照组显著高于正常对照组($p < 0.05$)；与负对照组相比，阳性对照组、GKR1 低、高剂量组皆无显著差异(表 4)。

3.3.2. 尿素氮(BUN)

试验第 7 天及第 14 天，与正常对照组相比，负对照组、阳性对照组显著增加($p < 0.05$)。与负对照组相比，GKR1 低、高剂量组皆显著降低($p < 0.05$) (表 3、表 4)。

3.3.3. 肌肝酸(Creatinine)

试验第 7 天，正常对照组相比负对照组、阳性对照组及 GKR1 低、高剂量组显著增加($p < 0.05$) (表 3)。试验第 14 天，所有组别均无显著差异(表 4)。

Table 3. Serum biochemical parameters of mice in each group at day 7
表 3. 各组小鼠第 7 天之血清生化分析

组别	UA (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)
正常对照组	5.90 ± 0.41 ^b	24.7 ± 1.5 ^a	0.37 ± 0.05 ^b
负对照组	6.69 ± 0.71 ^c	36.0 ± 3.9 ^c	0.22 ± 0.04 ^a

Continued

阳性对照组	5.67 ± 0.87 ^{ab}	33.2 ± 3.3 ^b	0.19 ± 0.07 ^a
低剂量 GKR1	5.01 ± 0.66 ^a	25.8 ± 3.7 ^a	0.19 ± 0.04 ^a
高剂量 GKR1	5.26 ± 0.44 ^{ab}	27.7 ± 3.0 ^a	0.16 ± 0.08 ^a

所有数据均以 Mean ± S.D.表示, 以英文字母表示统计之结果, 相同字母表示组间不具统计上差异, 不同字母表示组间具有统计上差异($p < 0.05$)。

Table 4. Serum biochemical parameters of mice in each group at day 14

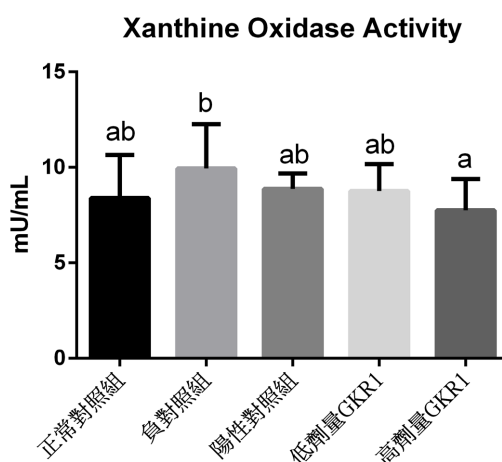
表 4. 各组小鼠第 14 天之血清生化分析

组别	UA (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)
正常对照组	4.27 ± 0.87 ^a	25.1 ± 1.5 ^c	0.24 ± 0.07 ^a
负对照组	5.58 ± 0.49 ^b	34.0 ± 1.9 ^e	0.24 ± 0.04 ^a
阳性对照组	4.95 ± 0.64 ^b	28.7 ± 0.9 ^d	0.21 ± 0.04 ^a
低剂量 GKR1	5.13 ± 0.35 ^b	19.7 ± 1.2 ^a	0.20 ± 0.03 ^a
高剂量 GKR1	5.42 ± 0.57 ^b	21.7 ± 3.4 ^b	0.23 ± 0.03 ^a

所有数据均以 Mean ± S.D.表示, 以英文字母表示统计之结果, 相同字母表示组间不具统计上差异, 不同字母表示组间具有统计上差异($p < 0.05$)。

3.4. 肝脏中黄嘌呤氧化酶活性检测

试验第 14 天, 正常对照组、负对照组与阳性对照组之间无显著差异。与负对照组相比, GKR1 高剂量组显著降低($p < 0.05$) (图 2)。



所有数据均以 Mean ± S.D.表示, 以英文字母表示统计之结果, 相同字母表示组间不具统计上差异, 不同字母表示组间具有统计上差异($p < 0.05$)。

Figure 2. Liver xanthine oxidase activity of mice in each group at day 14

图 2. 各组小鼠第 14 天之肝脏中黄嘌呤氧化酶活性分析

4. 讨论

近年来, 高尿酸血症之盛行率持续增加中, 尤其是在西方高收入国家和经济发展中国家, 尽管患病率受遗传的影响, 但饮酒和饮食因素仍是患病之重要因素[5] [6]。尿酸为人体蛋白质及嘌呤代谢的终产物,

一些高嘌呤食物,如啤酒、海鲜、豆制品、肉类等,会导致体内产生高尿酸[7][8]。因此,我们利用体外试验筛选益生菌株,发现 *L. reuteri* GKR1 在本试验模式中可完全降解嘌呤,根据 Yamada 等人[9]研究指出,加氏乳杆菌 PA-3 具有直接利用嘌呤成长之能力,推测 *L. reuteri* GKR1 可能也具有相同的能力。后续动物试验中,我们在小鼠饮食中,加入含有高嘌呤的 RNA 以及 potassium oxonate (尿酸酶抑制剂),诱导小鼠提高血清尿酸浓度,在血清尿酸结果中(表 3、表 4),负对照组皆显著高于正常对照组,显示此实验以高嘌呤饮食诱导小鼠高尿酸血症模式造症成功。

在试验第 7 天,低、高剂量 GKR1 组血清中尿酸浓度皆显著低于负对照组($p < 0.05$) (表 3),试验第 14 天,低、高种剂量 GKR1 组,与负对照组相比,虽无统计上的差异,但皆有下降的趋势。推测 *L. reuteri* GKR1 具有降尿酸效果,是由于饮食中多余的嘌呤被菌体吸收,减少嘌呤被生物体代谢的机会,达到减少血清中尿酸的效果[10][11]。研究指出,高尿酸血症小鼠中,肠道菌群失调并且肠道屏障会受损[12],使得肠道中内毒素容易通过肠黏膜进入血液中,造成肾脏的损伤,使得血清内尿素氮含量增加[13]。于试验第 7 天及 14 天,低、高剂量 GKR1 组血清中 BUN 浓度皆显著低于负对照组($p < 0.05$) (表 3、表 4),显示补充 GKR1 可降低因高尿酸带来的肾脏损伤。血清中 Creatinine 结果,试验第 7 天正对照组 Creatinine 显著高于其他组别,第 14 天所有试验组均无显著差异(表 3、表 4),而根据 Serfilippi 等人[14]研究指出,ICR 小鼠之 Creatinine 正常值介于 0.2~0.4 mg/dL,虽试验第 7 天正对照组 Creatinine 数值为 0.37 mg/dL,还是介于正常值中。

Dolati [15]等人研究指出,使用 potassium oxonate 诱导小鼠产生高尿酸血症,其肝脏中黄嘌呤氧化酶会增加,本试验与上述研究具有一致性,黄嘌呤氧化酶为嘌呤代谢为尿酸的关键酵素,其活性增加,会使得更多的嘌呤代谢为尿酸,导致高尿酸血症。试验第 14 天,高剂量 GKR1 组,与负对照组相比,显著减少黄嘌呤氧化酶活性($p < 0.05$) (图 1),且低于降尿酸药物 Allopurinol,显示服用 GKR1 可帮助降低肝脏中黄嘌呤氧化酶活性。

5. 结论

本试验以体外试验筛选出具有高降解嘌呤能力之 GKR1 菌株,后以高尿酸血症小鼠,授予 GKR1 低、高剂量,皆可降低血清中尿酸,也可显著减少血清中 BUN 含量,减少高尿酸带来的肾脏损伤,而 GKR1 高剂量可显著降低肝脏中黄嘌呤氧化酶活性,减少体内嘌呤转化为尿酸。综合以上结果,喂食小鼠中剂量 *L. reuteri* GKR1,换算成人剂量为每日服用 0.1 g,即对于降尿酸具有效果,且与降尿酸药物 Allopurinol 效果差异不大,而益生菌可安全食用,相较药物极少有副作用,未来具有进一步开发为降尿酸保健产品之潜力。

参考文献

- [1] Gersch, C., Palii, S.P., Kim, K.M., Angerhofer, A., Johnson, R.J. and Henderson, G.N. (2008) Inactivation of Nitric Oxide by Uric Acid. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, **27**, 967-978.
<https://doi.org/10.1080/15257770802257952>
- [2] Zhou, Y., Fang, L., Jiang, L., Wen, P., Cao, H., He, W., Dai, C. and Yang, J. (2012) Uric Acid Induces Renal Inflammation via Activating Tubular NF- κ B Signaling Pathway. *PLoS One*, **7**, e39738.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039738>
- [3] Pacher, P., Nivorozhkin, A. and Szabó, C. (2006) Therapeutic Effects of Xanthine Oxidase Inhibitors: Renaissance Half a Century after the Discovery of Allopurinol. *Pharmacological Reviews*, **58**, 87-114.
<https://doi.org/10.1124/pr.58.1.6>
- [4] Heel, R.C., Brogden, R.N., Speight, T.M., et al. (1977) Benzbromarone: A Review of Its Pharmacological Properties and Therapeutic Use in Gout and Hyperuricaemia. *Drugs*, **14**, 349-366.
<https://doi.org/10.2165/00003495-197714050-00002>

-
- [5] Singh, G., Lingala, B. and Mithal, A. (2019) Gout and Hyperuricaemia in the USA: Prevalence and Trends. *Rheumatology (Oxford, England)*, **58**, 2177-2180. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kez196>
- [6] Liu, H., Zhang, X.M., Wang, Y.L. and Liu, B.C. (2014) Prevalence of Hyperuricemia among Chinese Adults: A National Cross-Sectional Survey Using Multistage, Stratified Sampling. *Journal of Nephrology*, **27**, 653-658. <https://doi.org/10.1007/s40620-014-0082-z>
- [7] Kan, Y., Zhang, Z., Yang, K., Ti, M., Ke, Y., Wu, L., Yang, J. and He, Y. (2019) Influence of d-Amino Acids in Beer on Formation of Uric Acid. *Food Technology and Biotechnology*, **57**, 418-425. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.03.19.6022>
- [8] Choi, H.K., Liu, S. and Curhan, G. (2005) Intake of Purine-Rich Foods, Protein, and Dairy Products and Relationship to Serum Levels of Uric Acid: The Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arthritis and Rheumatism*, **52**, 283-289. <https://doi.org/10.1002/art.20761>
- [9] Yamada, N., Saito, C., Kano, H., Fukuuchi, T., Yamaoka, N., Kaneko, K. and Asami, Y. (2020) Lactobacillus Gasseri PA-3 Directly Incorporates Purine Mononucleotides and Utilizes Them for Growth. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 1-10. <https://doi.org/10.1080/15257770.2020.1815768>
- [10] Kuo, Y.W., Hsieh, S.H., Chen, J.F., Liu, C.R., Chen, C.W., Huang, Y.F. and Ho, H.H. (2021) *Lactobacillus reuteri* TSR332 and Lactobacillus Fermentum TSF331 Stabilize Serum Uric Acid Levels and Prevent Hyperuricemia in Rats. *PeerJ*, **9**, e11209. <https://doi.org/10.7717/peerj.11209>
- [11] Wang, H., Mei, L., Deng, Y., Liu, Y., Wei, X., Liu, M., Zhou, J., Ma, H., Zheng, P., Yuan, J., et al. (2019) Lactobacillus Brevis DM9218 Ameliorates Fructose-Induced Hyperuricemia through Inosine Degradation and Manipulation of Intestinal Dysbiosis. *Nutrition*, **62**, 63-73. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.11.018>
- [12] Guo, Y., Li, H., Liu, Z., Li, C., Chen, Y., Jiang, C., Yu, Y. and Tian, Z. (2019) Impaired Intestinal Barrier Function in a Mouse Model of Hyperuricemia. *Molecular Medicine Reports*, **20**, 3292-3300. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10586>
- [13] Wang, R., Ma, C.H., Zhou, F. and Kong, L.D. (2016) Siwu Decoction Attenuates Oxonate-Induced Hyperuricemia and Kidney Inflammation in Mice. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **14**, 499-507. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(16\)30059-0](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(16)30059-0)
- [14] Serfilippi, L.M., Pallman, D.R. and Russell, B. (2003) Serum Clinical Chemistry and Hematology Reference Values in Outbred Stocks of Albino Mice from Three Commonly Used Vendors and Two Inbred Strains of Albino Mice. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*, **42**, 46-52.
- [15] Dolati, K., Rakhshandeh, H., Golestani, M., Forouzanfar, F., Sadeghnia, R. and Sadeghnia, H.R. (2018) Inhibitory Effects of Apiumgraveolens on Xanthine Oxidase Activity and Serum Uric Acid Levels in Hyperuricemic Mice. *Preventive Nutrition and Food Science*, **23**, 127-133. <https://doi.org/10.3746/pnf.2018.23.2.127>