

围绝经期综合征动物模型研究进展

周丹妮¹, 卫若楠¹, 康梦娇¹, 陈佳¹, 赵林华², 张伟^{1,2*}

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053)

[摘要] 为探究围绝经期综合征病理机制,寻求防治措施,需要建立与人类围绝经期综合征相类似的动物模型,进一步为药物研究、新药开发、临床应用等提供参考。该文通过主题词及关键词“围绝经期”“围绝经期综合征”“更年期”“更年期综合征”“绝经期”“绝经综合征”“动物”在中国知网、重庆维普、中国生物医学文献数据库(CBM), Pubmed 4个数据库检索,并对近年来国内外围绝经期综合征模型动物的选择及对应模型的优缺点进行梳理。共确定了673项研究,其中61项被纳入分析。围绝经期综合征动物模型以去势模型最为常见,免疫缺陷模型较为少用。结果显示,随着人口老龄化及社会心理压力剧增,围绝经期综合征呈高发的态势。因此,探索围绝经期综合征的机制研究尤为重要,根据实验目的、实验周期、实验技术等因素,选择合适的模型动物和造模方法是围绝经期综合征实验成功的关键。

[关键词] 更年期; 更年期综合征; 围绝经期综合征; 绝经期; 动物模型

[中图分类号] G353.11;R2-0;R33;R711 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)18-0243-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211836

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210728.1259.003.html>

[网络出版日期] 2021-07-29 10:02

Research Progress on Animal Models of Menopausal Syndrome: A Review

ZHOU Dan-ni¹, WEI Ruo-nan¹, KANG Meng-jiao¹, CHEN Jia¹, ZHAO Lin-hua², ZHANG Wei^{1,2*}

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

2. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China)

[Abstract] In order to explore the pathological mechanism of perimenopausal syndrome and seek prevention and treatment measures, it is necessary to establish animal models that similar to human perimenopausal syndrome, so as to provide reference for drug research, new drug development and clinical application. In this paper, the keywords of "perimenopausal period" "perimenopausal syndrome" "menopause" "menopausal syndrome" "menopausal period" "menopausal syndrome" and "animal" were searched in China National Knowledge Infrastructure (CNKI), Chongqing Weipu, China Biomedical Literature Database (CBM) and Pubmed. In addition, the selection of domestic peripheral menopausal syndrome model animals in recent years and the advantages and disadvantages of corresponding models were summarized. A total of 673 studies were identified, of which 61 were included in the analysis. The most common animal model of perimenopausal syndrome is castration model, while the immunodeficiency model is less used. With the aging of the population and the rapid increase of psychosocial stress, the incidence of perimenopausal syndrome is high. Therefore, it is particularly important to explore the mechanism of perimenopausal syndrome. According to the experimental purpose, experimental period, experimental technology and other factors, the selection of appropriate model animals and modeling methods is the key of the success of the experiment of perimenopausal syndrome.

[收稿日期] 20210628(028)

[基金项目] 国家中医药管理局“中医药传承与创新‘百千万’人才工程(岐黄工程)岐黄学者”项目(国中医药人教函[2018]284号)

[第一作者] 周丹妮,在读硕士,从事方证的规范化及方剂临床应用研究,E-mail:zhdnier@163.com

[通信作者] *张伟,博士,副主任医师,从事内分泌代谢病的中医药防治及方药量效学研究,E-mail:zhangweitcm@foxmail.com

[Keywords] pre-menopause; climacteric syndrome; menopausal syndrome; post-menopause; animal model

围绝经期综合征,以往也被称为“更年期综合征(climacteric syndrome)”,是女性从月经紊乱至绝经的一个必经阶段,以烘热汗出、烦躁易怒、面红潮热、失眠健忘、手足心热等为临床表现,其本质为卵巢功能的衰竭。截至2010年,中国有约1.6亿的围绝经期女性,每年有超过75%的围绝经期女性深受围绝经期综合征的困扰,且预计到2030年将达到2.8亿,全球将增长到12亿,妇女将出现与绝经相关的症状上涨至90%以上,严重影响其工作及生活质量^[1-2]。近年来,为进一步探究治疗围绝经期综合征的本质,诸多学者建立了一系列围绝经期综合征的动物模型。其中,双侧卵巢切除是人类围绝经期的最佳特征和报道最多的动物模型,并满足其类似并发症模型,如心血管疾病、糖脂代谢紊乱、骨质疏松等^[3]。笔者系统整理相关动物模型的制备,寻求可操作性、可重复性、成本较低、便于推广的理想围绝经期综合征模型,以便于围绝经期综合征的机制研究。

1 实验动物

常用于医学基础研究的动物有大小鼠、兔、狗、绵羊、灵长类动物等。MA等^[4]运用兔研究围绝经期综合征干眼症,研究结果显示羊膜泪管支架对围绝经期雌性兔干眼症的特殊治疗作用。李良等^[5]的研究内容为建立绝经后骨质疏松大动物模型,实验数据主要分析山羊的髌骨骨活检组织的病理形态学变化、血清骨钙素(BGP)的变化及长骨的骨密度、整体骨弯曲结构力学性能等,实验结果提示山羊可能是研究绝经后骨质疏松的经济而有效的大动物模型。COLEMAN等^[6]通过改变给药时间观察对老年更年期猕猴饮食行为、性行为、久坐行为和焦虑型行为的影响,EGHLIDI等^[7]研究结果表明围绝经期恒河猕猴下丘脑KNDy途径的主要调节是通过配体,除此之外,LEITA等^[8]还发现运用恒河猴通过模拟人类女性焦虑和压力时发现激素替代疗法增加了蓝斑中 β -内啡肽的抑制作用,这有助于减少焦虑并增加压力恢复能力等。动物学研究显示灵长类动物及鼠类衰老期间会有类似围绝经期综合征的潮热等症状。常用大、小鼠品系主要有ICR^[9],BALB/c^[10],C57BL/6J^[11],B6C3F1^[12],C57BL/6^[13],昆明(KM)^[14]小鼠和Sprague-Dawley(SD)^[15],Wistar^[16],Fischer-344^[17]大鼠等。大小鼠均为性成

熟后全年多发情物种,动物学研究表明小鼠性成熟早,雌性小鼠在37 d即可发情排卵,35~50 d即可性成熟;成熟雌性为65~75 d,性周期为4~5 d,可分为动情前期、动情期、动情后期、动情间期4个阶段^[18]。大鼠2月龄即可达到性成熟,性周期为4 d,其汗腺仅分布在爪垫上。

在围绝经期综合征实验研究中,实验动物学研究发现在免疫系统方面,家兔相较于啮齿类动物与人类更接近,因此观察干眼症等使用兔作为模型动物更为合适;鼠类、犬类、家兔、猪、灵长类均可作为骨质疏松模型,结合实验费用、饲养条件、实验周期等条件,目前美国食品药品监督管理局(FDA)已认可羊作为测量围绝经期骨质疏松最具潜力的大动物模型;观察潮热汗出及行为实验主要以灵长类、鼠类动物为主,其中大鼠因其个体大小以汗腺的分布,较小鼠更容易观察汗出的症状,又因其实验成本、实验特定条件发情周期,选择鼠类已成为首选。

2 实验模型研究进展

2.1 去势模型

去势手术最早应用于家畜类,多用于养殖业中,且有完全去势与不完全去势两种。去势模型在围绝经期综合征研究中即指摘除单侧或双侧雌性动物的卵巢^[19-22],使其失去性激素的分泌源,现已广泛应用。XUAN等^[15]选取体质量为180~220 g的3个月大的雌性SD大鼠,均接受了双侧卵巢切除术(OVX)。通过阴道上皮细胞涂片分析检查所有OVX大鼠,连续5 d的白细胞结果表明持续发情期和卵巢切除成功。从心脏采集血液,分析血清雌二醇(E₂),卵泡刺激素(FSH),催乳素(PRL)和黄体生成素(LH)水平,结果显示卵巢切除术导致PRL和E₂水平降低,但LH水平升高,FSH显著升高。与假手术组比较,OVX模型组阴道萎缩和阴道上皮变薄,多样化程度低。结果证明手术去势可以作为围绝经期大鼠模型的方法。

诸多学者研究去势手术后导致骨质疏松^[23-25],LI等^[26]对体质量为(280±20) g,月龄为6个月的SD大鼠实行双侧卵巢切除手术,术后测量骨质量参数,包括小梁微结构、骨矿物质密度(BMD)和骨力学,测量体质量、子宫湿重、血清生化参数和免疫组织化学,结果显示造模成功。

去势模型优点在于不仅可以在动物的正常性周期内进行去势,也可以在动物性周期紊乱时进行

去势,去势的时间相对灵活,不受动物月龄限制,既可以选择在正常的性周期,即2~6月龄进行去势手术,也可以在出现性周期紊乱的10~15月龄去势。去势手术相对简单,易于操作,其他并发症相对较少,动物存活率较高且成本较低,实验周期较短,实验性较强。但选择在正常性周期和性周期紊乱时期内进行去势时,抑或是选择完全去势,抑或是选择部分去势,其动物体内激素水平以及用药治疗时的剂量与治疗周期也应当发生改变。再者,去势手术会造成研究对象的激素水平变化较快,与人类卵巢自然衰老过程及激素缓慢变化具有一定的差异性。在模拟女性围绝经期综合征过程中,笔者认为相较于完全去势而言,部分去势导致激素变化稍慢,适用于绝经前期模型,而完全去势与女性切除卵巢后出现早衰的过程具有相似性,适用于绝经后期模型,如绝经后引起的心血管疾病、糖脂代谢紊乱、骨质疏松、认知功能及低刺激素状态下产生的炎症、氧化应激等。但就目前研究而言,使用完全去势较多,并且尚未对正常性周期完全去势、正常性周期部分去势、性周期紊乱时期完全去势、性周期紊乱时期部分去势四种模型进行比较。

2.2 自然老化模型 动物的自然老化模型是最接近人类卵巢衰老进程的,通常选用作为围绝经期综合征模型的老鼠是在其10~15个月龄,出现不规则的动情周期时。LI等^[27]选用60只大约10个月的雌性SD大鼠和12只大约3个月大的雌性SD大鼠在一个带有光/暗交替各12 h,湿度40%~60%,温度(23±3)℃,常规饮食、自由饮水的条件下适应1周,进行中青对照。对大鼠阴道脱落细胞进行连续监测,以确定完成发情周期(5 d),并选择发情期紊乱者为实验对象。实验证明中年对照组卵巢的原始卵泡、初级卵泡和次级卵泡的数量明显减少,子宫内膜变薄,上皮细胞增生,细胞呈低柱状,腺体稀少,血管稀少,说明大鼠围绝经期模型造模成功。孙静汾等^[28]将自然老化模型、去势模型分别与青年对照组进行对比分析,前两者的FSH, LH, E₂水平均显著低于青年对照组,说明建模成功,但其认为去势模型缺乏衰老的过程,而自然老化模型高度模拟人自然衰老状态,更具有说服力。

笔者认为根据鼠类的发情期变化,选用生育过的鼠类更能模拟人类女性经历过经带胎产而逐渐衰老的过程。自然老化模型的优势在于其能高度模仿人类围绝经期卵巢自然衰老的过程。但该模型与去势模型相比,实验周期相对较长,又因其个

体性差异,每只大鼠进入围绝经期的状态与时间有所不同,因此实验时应当选用的动物为围绝经期月龄内的发情期紊乱者入组。

2.3 药物诱导模型

2.3.1 生殖毒性药物诱导模型 药物诱导模型的药物选择,一般选用生殖毒性的药物予以灌胃,如使用免疫抑制剂、抗肿瘤、雷公藤等药物或污染环境、工业毒物^[29-34]等,从而导致动物卵巢功能下降,进一步达到围绝经期综合征造模的目的。GE等^[35]选用3个月大的,每只体质量(190±10)g的SD大鼠,除空白组外,其余组每日9点灌服福美司坦,每只动物剂量50 mg·kg⁻¹。建模时,大鼠自由饮水,无豆饮食喂养。用酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒测定大鼠尿液中FSH和E₂的浓度。子宫病理形态学观察结果显示与空白组比较,围绝经期组输卵管及子宫黏膜上皮细胞厚度明显减少,子宫内膜和肌层明显变薄,肌纤维小而松,结果显示造模成功。

生殖毒性药物造模相对于去势手术和自然老化模型而言,相对简单,且实验制备较为方便,但在实验中,因为药物毒性导致并发症发生的几率较高,从而导致实验误差。

2.3.2 加速卵巢衰竭模型 加速卵巢的模型即使用促排卵药物加速卵巢的衰老或者采用4-乙烯基环己烯二环氧氧化物(VCD)破坏初级细胞及卵母细胞,加速卵母细胞闭锁^[36-38],加速卵巢的衰老。ZHANG等^[39]选用6周龄,体质量为(16.7±0.8)g的雌性C57BL/6小鼠,模型组接连用妊娠母马血清促性腺激素(PMSG)对小鼠进行超数排卵,并在给药48 h后用人绒毛膜促性腺激素对小鼠进行腹腔内治疗,19 h后腹腔注射前列腺素F_{2α}。从超数排卵开始到结束,小鼠每天暴露在臭氧中8 h(20:00~04:00),臭氧吸入诱导卵泡的数量和质量下降。通过ELISA测定血清E₂和孕酮(P)的水平,其中模型组的E₂水平最低,并且模型组出现渐进性毛发变灰和脱毛,大部分小鼠出现斑秃。模型组只有50%的小鼠表现出有规律的发情周期,33.3%的小鼠表现出无规律的周期,16.7%表现出周期停止。CAROLINO等^[40]采用28 d的Wistar大鼠,在15 d内每天予以160 mg·kg⁻¹ VCD皮下给药,每隔1 d对每只动物称质量,从治疗开始后第56天到安乐死,每天评估发情周期,动情周期阴道涂片从开始用VCD治疗后的第56天开始,不规则周期大鼠从研究中移除,直到第70天。排除卵泡刺激素的低水平和高水平之间的过渡期即治疗第60~120天,所以在治疗开

始后的70,80,90,100 d这4个时间点的前后3 d内断颈处死。将血液收集,分离血浆后通过放射免疫测定法(RIA)或ELISA测定激素:抗苗勒氏管激素(AMH),孕酮(P4),睾酮(testosterone),二氢睾酮(DHT),皮质脂酮(corticosterone),三碘甲状腺原氨酸(T3)和甲状腺素(T4), E_2 ,FSH,LH,PRL。结果显示AMH和P4在所有VCD组均低于对照组,而 E_2 保持不变或更高。两组DHT在70~90 d中逐渐降低,但紧随其后的是在100 d的VCD组中急剧上升。corticosterone,PRL,T3,T4或LH无变化。且研究证实在大鼠70~100 d时更适用于研究该模型中的围绝经期样状态^[40]。

本模型不受动物月龄及体质量的限制,模型给药相对简单,耗费时间相对较短,尚具有一定的并发症。促排卵药物动物模型与人类怀孕障碍而运用促排卵针后或已生育,或未生育的围绝经期患者颇为相似。使用VCD模型时,选择皮下给药途径较肌内或腹腔内给药途径副作用较小,且适合模拟人类从绝经前期到围绝经期,最后到绝经后的转变,但相较于人类自然老化而言,激素变化水平过于迅速。

2.4 射线疗法损伤卵巢模型

2.4.1 X射线照射破坏卵巢动物模型 成年动物每次发情周期,卵巢中大量初级卵母细胞在促性腺激素或其他因子的作用下恢复减数分裂,发生生发泡破裂,排除第一极体,并发育到第二次减数分裂中期,成为成熟卵母细胞,而X射线照射则导致细胞有丝分裂的不同阶段均有损伤^[41]。曲显俊等^[42]采用150~180 g的Wistar雌性大鼠,除对照组外,余各组下腹部的卵巢区均接受X射线照射2.5 min,总剂量为9 Gy,实验结果显示X射线照射后与正常对照组相比体质量均有增加,LH和FSH均低于最低有效测定值,垂体、卵巢、子宫、阴道的病理切片显示阴道上皮角化。

2.4.2 γ 射线破坏卵巢动物模型 研究显示暴露于电离辐射会导致卵母细胞丢失和卵巢萎缩,并减少卵泡储存,甚至导致月经不调、卵巢衰竭和相关不孕^[43]。ONDER等^[44]为探求不同剂量辐射诱导的体内卵巢功能障碍,将40只体质量为250~300 g的健康Wistar大鼠分为对照组,全身暴露于 γ 射线1 Gy, γ 射线5 Gy, γ 射线10 Gy4组。全身外照射由Co60远程治疗机以3.13 cGy/MU的平均剂量率平行对置场进行 γ 射线照射,以15~20 mrad的剂量给大鼠施用3次,间隔2 min。放射治疗后在卵巢组织中进行

组织病理学检查、卵泡计数和分类,结果显示与对照组相比,随着辐射剂量的增加导致明显的卵巢损伤,总卵泡和原始卵泡的数量显著减少。与对照组相比免疫组织化学结果, γ 射线10 Gy组具有最低的AMH表达水平,而具有最高的肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-1 β (IL-1 β)表达水平。染色切片检测半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶3(Caspase-3)阳性凋亡细胞数,结果显示Caspase-3阳性细胞的数量和B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)相关X蛋白(Bax)免疫反应强度随着辐射剂量的增加而增加,与对照组相比,Bcl-2免疫反应强度随着辐射剂量的增加而降低。结论证明卵巢损伤造模成功,但一般多用于恶性肿瘤。

两种实验结果均显示射线损伤卵巢造模时长较短,费用尚可,但射线有一定危害,对研究人员而言,射线装置使用范围受限,实验条件有限,再者可能受到射线实验的影响。对实验动物来说,射线可能会造成其他与实验设计无关的并发症的可能,在实验过程中影响卵巢细胞的同时,可能会损害其他正常细胞,甚至是实验动物的死亡。

2.5 酒精性模型 酒精性模型是指在动物卵巢注射酒精后,使得动物卵巢出现硬化、脱水等改变,从而使卵巢早衰,构建围绝经期模型。魏立雯等^[45]将体质量为(200 \pm 10)g,选择6~8周龄的健康SPF级SD大鼠麻醉后,手术取出卵巢,并在卵巢内注射0.2 mL无水乙醇后送回大鼠的腹腔内,随后进行缝合、消毒。卵巢组织形态学结果显示模型对照组的卵巢组织与正常对照组相比发生了明显萎缩(9/12)或者呈双侧囊性囊肿(3/12)病变,且卵巢指数明显下降, E_2 水平明显下降,说明酒精性模型造模成功。

酒精性模型较射线损伤卵巢的不良反应小,实验材料准备较为容易,但手术后并发症较多,造模标准尚未明确,模型认定边界不清。

2.6 免疫模型 有研究认为围绝经期综合征是由于卵巢功能衰退所导致的^[46]。部分学者还建立了自身免疫卵巢早衰模型^[47]和去胸腺衰老动物模型^[48],卵巢早衰虽与围绝经期时间上具有重合性,但不能完全等同于围绝经期,胸腺虽是重要的免疫器官,去胸腺能加快衰老,模拟女性器官衰竭的过程,但与围绝经期综合征发生的主要机制略有出入,因此运用此类模型对围绝经期综合征的研究较少,有待进一步验证。

3 中医病证结合模型

3.1 病证结合模型 即动物去势后加以药物或实

行某种行为实验等致动物出现围绝经期综合征相关的特定症状,从而达到造模的目的。目前围绝经期综合征的病证结合模型一般有:肾阳虚证、围绝经期焦虑、肝郁证、阴虚内热证、肾虚肝逆型、围绝经期潮热模型等。肾阳虚造模药物可选用氢化可的松注射液^[49]、氨基导眠能^[50]等,焦虑模型可采取水平台睡眠剥夺的方法^[51],肝郁证模型可选用慢性束缚结合孤养法^[52],阴虚内热型可以用制附子25 g,干姜25 g制成的水煎剂灌胃^[53-54],肾虚肝逆型^[55]在阴虚内热型上加大药量,使用附子干姜溶液(附子50 g,干姜50 g,加水至100 mL,浓度为100%),潮热症状即使用吗啡(morphine)^[56]或氨茶碱^[57]进行造模。其造模成功标准均以出现对应证型的相似症状为依据,较大程度上能模拟围绝经期综合征的相关证型。但目前证型研究相对单一,诸如较为复杂的心肾不交证型、肾阴阳两虚证型等模型的认定有一定难度。

3.2 慢性应激模型 在围绝经期综合征中医病证结合动物实验模型方面,建立肝郁证型相关的模型以使用应激束缚或慢性应激居多。目前慢性应激模型有两种,其一为慢性束缚应激,其二为慢性不可预知性温和应激法(CUMS)。沈建英等^[58]采用去势联合慢性束缚应激法,即将手术后的大鼠置于通风良好的束缚筒内,连续21 d,每次持续6 h(9:00~15:00),束缚期间禁食禁水,并结合孤养法建立肝郁模型。阮璐薇等^[59]采用去势手术联合CUMS,即手术后加入24 h禁食禁水,45℃热环境(5 min),4℃冰水游泳(5 min),夹尾(2 min),束缚(3 h),24 h倾斜鼠笼(45°)等应激条件。以上应激条件随机应用,每日予1种应激1次,每种应激方法使用应大于2次,但不可连续使用,从而建立围绝经期肝郁型模型。

慢性应激模型大部分为去势模型的基础上加上一些应激法即行为实验来建模,其行为实验还包括旷场实验、糖水偏好实验、强迫游泳实验等。其中旷场实验一般是用来测试实验动物在新环境中的自发活动水平,即活动度和好奇程度,以及其在新环境中的恐惧感和紧张状态,身处陌生环境中的警觉性等^[60-61]。强迫游泳实验可检测大鼠是否具有逃避、绝望无助行为的表现^[62-63]。糖水偏好实验即观察糖水的消耗量及偏嗜度,以检测大鼠是否具有快感,观察其敏感度、反应能力的变化^[64]。而自然老化模型上加入应激法的实验相对较少。

慢性束缚应激模型是单一的刺激源应用于实

验动物,虽对其无损伤且其过程与人类患心理疾病的过程具有相似性,但动物的耐受性较人类强,因此其刺激强度应高于人类,但尚未发现此方面研究,后期的实验设计易受到限制。CUMS模型是采用多因素实验方法,随机给予实验动物多种不同程度的应激性刺激,观察动物在不可预料应激条件下发生的反应,其多变性尽可能模拟人类在生活中面对的不同社会压力。

目前中医病证结合的动物模型尚未得到公认,造模时的用药剂量尚未明确,动物的舌诊、脉诊等与人类具有差异性,因此没有统一的、准确的实验模型,其稳定性与重复性有待提高。笔者认为虽然中医病证结合动物实验模型仍存在诸多不足,却为中医实现现代化研究中的关键之一,其中对中医“证”的研究不失为中西医结合的桥梁。如发热患者静脉输液后而导致湿温证者与运用化学药物的反向作用进行动物造模,其过程有异曲同工之妙。

4 结语

当前的围绝经期综合征的动物模型虽然很多,但或多或少都存在各自的优、缺点。家兔广泛应用于干眼症模型、山羊应用于骨质疏松模型、灵长类及鼠类应用于潮热汗出、行为实验等。其中使用去势模型研究围绝经期综合征居多,且完全去势较部分去势使用范围更广,而骨质疏松及病证模型大部分是在此基础上建立起来的。自然老化模型是最贴近人类自然进入围绝经期的模型。相较而言,在国外药物诱导造模使用更为广泛。免疫模型使用频率最少,其作用机制有待进一步验证。而建立围绝经期综合征动物模型的问题主要表现在①模型比较研究缺少:各模型间的比较研究较少,单个因素造模与多个因素造模之间的比较研究较少;②疾病模型相似性:模型建立的过程过于笼统,诸多研究将卵巢早衰模型等同于围绝经期综合征模型,疾病发展各阶段适用的模型尚不清晰,实验条件及操作规范尚未明确;③中医病证结合模型缺乏规范性:人类具有动物缺乏的意识,其主诉具有主观性,而且二者在社会属性方面以及中医四诊“望、闻、问、切”等信息方面具有的差异性,证型研究相对单一,缺乏复杂性证型研究。

综上所述,贴近女性围绝经综合征的理想动物模型还需要在现有基础上运用现代科学技术、循证医学等先进研究方法进一步探究,从而完善围绝经期综合征动物模型制备,其实验结果对药物研究、新药开发、临床应用等有着重要的参考价值。

[参考文献]

- [1] 王小云,朱芝玲. 中成药治疗更年期综合征临床应用指南(2020年)[J]. 中国中西医结合杂志,2021,doi: 11.2787.R.20210325.2021.002.
- [2] 乔林,熊英,徐克惠.“中国绝经管理和绝经激素治疗指南(2018)”解读[J]. 实用妇产科杂志,2019,35(3):184-187.
- [3] MEDINA-CONTRERAS J, VILLALOBOS-MOLINA R, ZARAIN-HERZBERG A, et al. Ovariectomized rodents as a menopausal metabolic syndrome model. A minireview [J]. Mol Cell Biochem, 2020, 475 (1/2) : 261-276.
- [4] MA M, YUAN Q, YE L, et al. An experimental study of amniotic lacrimal duct stents in the treatment of perimenopausal female rabbits with dry eye [J]. Mol Med Rep, 2019, 19(2) : 1056-1064.
- [5] 李良,陈槐卿,陈孟诗,等. 建立骨质疏松山羊模型初探[J]. 中国骨质疏松杂志,1998,4(2):15-19.
- [6] COLEMAN K, ROBERTSON N D, MAIER A, et al. Effects of immediate or delayed estradiol on behavior in old menopausal macaques on obesogenic diet [J]. J Obes, 2018, 2018: 1810275.
- [7] EGHLEIDI D H, HALEY G E, NORIEGA N C, et al. Influence of age and 17 β -estradiol on kisspeptin, neurokinin b, and prodynorphin gene expression in the arcuate-median eminence of female rhesus macaques [J]. Endocrinology, 2010, 151(8) : 3783-3794.
- [8] LEITA, CRISTIANE M, LIMA, et al. Progesterone increased β -endorphin innervation of the locus coeruleus, but ovarian steroids had no effect on noradrenergic neurodegeneration-science direct [J]. Brain Res, 2017, 1663: 1-8.
- [9] HWANG D S, KIM N, JIN G C, et al. Dangguijakyak-san ameliorates memory deficits in ovariectomized mice by upregulating hippocampal estrogen synthesis [J]. BMC Complementary Altern Med, 2017, 17(1) : 501.
- [10] LING W, LI D. Bu-Shen-Ning-Xin decoction: inhibition of osteoclastogenesis by abrogation of the RANKL-induced NFATc1 and NF- κ B signaling pathways via selective estrogen receptor α [J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 3755-3766.
- [11] LIU T, MA Y, ZHANG R, et al. Resveratrol ameliorates estrogen deficiency-induced depression- and anxiety-like behaviors and hippocampal inflammation in mice [J]. Psychopharmacology, 2019, 236(4) : 1385-1399.
- [12] LOHFF J C, CHRISTIAN P J, MARION S L, et al. Effect of duration of dosing on onset of ovarian failure in a chemical-induced mouse model of perimenopause [J]. Menopause, 2006, 13(3) : 482-488.
- [13] LIU Y, WANG C, WANG G, et al. Loureirin B suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis and ovariectomized osteoporosis via attenuating NFATc1 and ROS activities [J]. Theranostics, 2019, 9 (16) : 4648-4662.
- [14] MIAO M, TIAN S, GUO L, et al. The effect of curculigoside on mouse model of perimenopausal depression [J]. Saudi J Biol Sci, 2017, 24(8) : 1894.
- [15] XUAN Z, QIAN C, BO C, et al. Herb formula ZhenRongDan balances sex hormones, modulates organ atrophy, and restores ER α and ER β expressions in ovariectomized rats [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018, 2018(2) : 1-10.
- [16] LAN X, YU H, CHEN Q, et al. Effect of liquiritin on neuroendocrine-immune network in menopausal rat model [J]. Phytother Res, 2020, 34(10) : 2665-2674.
- [17] KOEBELE S V, NISHIMURA K J, BIMONTENELSON H A, et al. A long-term cyclic plus tonic regimen of 17 β -estradiol improves the ability to handle a high spatial working memory load in ovariectomized middle-aged female rats [J]. Horm Behav, 2019, 118: 104656.
- [18] 崔淑芳,陈学进. 实验动物学 [M]. 4版. 上海:第二军医大学出版社,2013:142.
- [19] ASWAR U, GURAV M, MORE G, et al. Effect of aqueous extract of *Solanum xanthocarpum* Schrad. & Wendl on postmenopausal syndrome in ovariectomized rats [J]. J Integr Med, 2014, 12(5) : 439-446.
- [20] BADER M I, WOBER J, KRETZSCHMAR G, et al. Comparative assessment of estrogenic responses with relevance to the metabolic syndrome and to menopausal symptoms in wild-type and aromatase-knockout mice [J]. J Steroid Biochem Mol Bi, 2011, 127(3/5) : 428-434.
- [21] CAO L, QIAO J, HUANG H, et al. PI3K-Akt signaling activation and icariin: the potential effects on the perimenopausal depression-like rat model [J]. Molecules, 2019, 24(20) : 3700.
- [22] SUN Y, YU Q, SHEN Q, et al. Black cohosh ameliorates metabolic disorders in female ovariectomized rats [J]. Rejuvenation Res, 2016, 19(3) : 204-214.
- [23] ANSAM A S. *Nigella Sativa* reverses osteoporosis in ovariectomized rats [J]. BMC Complement Altern Med, 2014, 14(1) : 22.

- [24] LIU F, TAN F, TONG W, et al. Effect of Zuoguiwan on osteoporosis in ovariectomized rats through RANKL/OPG pathway mediated by β 2AR[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103: 1052-1060.
- [25] CARLA P, MARZIA F, LAURA B, et al. Influence of ferutinin on bone metabolism in ovariectomized rats: role in preventing osteoporosis [J]. *J Bone Miner Metab*, 2009, 27(5): 538-545.
- [26] LI F, YANG X, BI J, et al. Antiosteoporotic activity of Du-Zhong-Wan water extract in ovariectomized rats [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(9): 1857-1864.
- [27] LI N, LI J, HAO J, et al. Bilberry anthocyanin improves the serum cholesterol in aging perimenopausal rats via the estrogen receptor signaling pathway[J]. *Food Funct*, 2019, 10(6): 3430-3438.
- [28] 孙静汾, 赵焯, 吴素慧. 围绝经期综合征实验动物模型的比较分析[J]. *山西医科大学学报*, 2007, 171(1): 43-45.
- [29] LUO Q, NA Y, ZHANG L, et al. Role of SDF-1/CXCR4 and cytokines in the development of ovary injury in chemotherapy drug induced premature ovarian failure mice[J]. *Life Sci*, 2017, 179: 103-109.
- [30] AN R, WANG X, YANG L, et al. Polystyrene microplastics cause granulosa cells apoptosis and fibrosis in ovary through oxidative stress in rats [J]. *Toxicology*, 2020, 449: 152665.
- [31] 徐颖, 樊媛芳, 赵元, 等. 近40年雷公藤生殖毒性研究概述[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(16): 3406-3414.
- [32] ALDAWOOD N, ALREZAKI A, ALANAZI S, et al. Acrylamide impairs ovarian function by promoting apoptosis and affecting reproductive hormone release, steroidogenesis and autophagy-related genes: an *in vivo* study[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 197: 110595.
- [33] SAMARE-NAJAF M, ZAL F, SAFARI S. Primary and secondary markers of doxorubicin-induced female infertility and the alleviative properties of quercetin and vitamin e in a rat model[J]. *Reprod Toxicol*, 2020, 96: 316-326.
- [34] HUI C, WF A, KC A, et al. Transcriptomic analysis reveals potential mechanisms of toxicity in a combined exposure to dibutyl phthalate and diisobutyl phthalate in zebrafish (*danio rerio*) ovary [J]. *Aquat Toxicol*, 2019, 216: 105290.
- [35] GE Y, WEI C, WANG W, et al. The effect of sorghum resistance resistant starch-mediated equol on the histological morphology of the uterus and ovaries of postmenopausal rats [J]. *Food Sci Nutr*, 2020, 8(8): 4055-4065.
- [36] ROMEROALESHIRE M J, DIAMONDSTANIC M K, HASTY A H, et al. Loss of ovarian function in the VCD mouse-model of menopause leads to insulin resistance and a rapid progression into the metabolic syndrome [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009, 297(3): 587-592.
- [37] BROOKS H L, POLLOW D P, HOYER P B. The VCD mouse model of menopause and perimenopause for the study of sex differences in cardiovascular disease and the metabolic syndrome [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2016, 31(4): 250-257.
- [38] ELKS C M, TERREBONNE J D, INGRAM D K, et al. Blueberries improve glucose tolerance without altering body composition in obese postmenopausal mice[J]. *Obesity*, 2015, 23(3): 573-580.
- [39] ZHANG J, FANG L, SHI L, et al. Protective effects and mechanisms investigation of Kuntai capsule on the ovarian function of a novel model with accelerated aging ovaries [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 195: 173-181.
- [40] CAROLINO R, BARROS P T, KALIL B, et al. Endocrine profile of the VCD-induced perimenopausal model rat[J]. *PLoS One*, 2019, 14(12): e0226874.
- [41] 李井春, 曹新燕. 动物生殖学理论与实践[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016: 22-23.
- [42] 曲显俊, 崔淑香, 李凤琴, 等. 谷维素注射液对X线致大鼠更年期综合症模型的治疗作用观察[J]. *山东医药工业*, 1998, 17(4): 1-3.
- [43] RINGBORG U, D BERGQVIST, BRORSSON B, et al. The swedish council on technology assessment in health care (SBU) systematic overview of radiotherapy for cancer including a prospective survey of radiotherapy practice in Sweden 2001-summary and conclusions[J]. *Acta Oncol*, 2003, 42(5/6): 357-365.
- [44] ONDER G O, BALCIOGLU E, BARAN M, et al. The different doses of radiation therapy-induced damage to the ovarian environment in rats [J]. *Int J Radiat Biol*, 2021, 97(3): 367-375.
- [45] 魏立雯, 赵海, 赵明德, 等. 六味地黄丸治疗SD大鼠酒精性绝经综合征的作用研究[J]. *四川动物*, 2016, 35(4): 579-583.
- [46] CHATTOPADHYA A B, KAPUR K. Writing Group for the Women's health initiative investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the women's health initiative randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2002, 288(3): 321-333.

- [47] FENG G, LIN M, ZHOU X, et al. Efficacy of Bushenjianpi prescription on autoimmune premature ovarian failure in mice[J]. *J Tradit Chin Med*, 2017, 37(5): 667-674.
- [48] TONG Q, ZHANG J, GUO J, et al. Human thymic involution and aging in humanized mice [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1399.
- [49] 曹俊岩,张帆,张鑫,等. 自拟更年汤对肾阳虚围绝经期模型大鼠卵巢功能的影响[J]. *中医药导报*, 2019, 25(18):17-22.
- [50] 蔡连香,李宏广,魏袁琳,等. 养血补肾片对阳虚证动物模型卵巢功能的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 1998(10):620-622.
- [51] 张梅奎,李敏,刘庆义,等. 柴芍郁欢汤对更年期焦虑小鼠HPA轴的影响[J]. *世界中西医结合杂志*, 2019, 14(9):1247-1251.
- [52] 李生强,谢丽华,许惠娟,等. 疏肝法对围绝经期综合征肝郁证模型大鼠卵巢黄体生成素受体及促卵泡生成素受体的影响[J]. *国际中医中药杂志*, 2018, 40(2):143-147.
- [53] 吴红斌,轩贵平,赖春华,等. 养任调冲汤对阴虚内热型更年期综合征模型大鼠的干预实验研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2013, 18(12):1359-1363.
- [54] 黄丽平,邓敏贞,叶木荣. 更年轻片对更年期阴虚内热证模型大鼠的影响[J]. *中医学报*, 2012, 27(3): 330-333.
- [55] 李荟好. 肾虚肝逆病机与滋肾平肝药理—贞芍醇苷治疗绝经综合征肾虚肝逆大鼠药效机理研究[D]. 济南:山东中医药大学, 2019.
- [56] HOLINKA C F, BRINCAT M, COELINGH H J T. Preventive effect of oral estetrol in a menopausal hot flush model[J]. *Climacteric*, 2008, 11(S1):15-21.
- [57] 檀德宏,韩俊艳,关鹏,等. 甘露散治疗更年期潮热证的实验研究[J]. *实用药物与临床*, 2006(1):17-19.
- [58] 沈建英,丁珊珊,赖新梅,等. 围绝经期综合征肝郁大鼠模型的建立及评价[J]. *中国医学创新*, 2015, 12(22):5-8.
- [59] 阮璐薇,张鹏横,黄睿婷,等. 去势法联合慢性不可预知性温和应激法建立围绝经期综合征肝郁证动物模型的研究[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(1): 394-397.
- [60] GU S, MA Y, GE K, et al. Danshen-Honghua ameliorates stress-induced menopausal depression in rats [J]. *Neural Plast*, 2018, doi: 10.1155/2018/6589608.
- [61] 张鹏横,阮璐薇,卓泽伟,等. 情绪异常大鼠模型的旷场行为实验在中医药领域的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(9):100-103.
- [62] CHEN S, ASAKAWA T, DING S, et al. Chaihu-Shugan-San administration ameliorates perimenopausal anxiety and depression in rats [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e72428.
- [63] WANG Y, XU Z, YANG D, et al. The antidepressant effect of secoisolariciresinol, a lignan-type phytoestrogen constituent of flaxseed, on ovariectomized mice [J]. *J Nat Med*, 2013, 67(1): 222-227.
- [64] ZHOU X, YANG X, ZHENG Y, et al. Jie-Yu pill, a proprietary herbal medicine, ameliorates mood disorder-like behavior and cognitive impairment in estrogen-deprived mice exposed to chronic unpredictable mild stress: implication for a potential therapy of menopause syndrome[J]. *Front Psychiatry*, 2020, 11:579995.

[责任编辑 孙丛丛]