

# 痛经动物模型制备规范(草案)

中华中医药学会 中药实验药理专业委员会

**[摘要]** 痛经为常见妇科疾病,一般在女子经期或行经前后出现的具有周期性的小腹疼痛,有时会痛引腰骶,严重者可出现剧痛难忍,并伴有恶心呕吐、头昏厥逆等。现痛经动物模型为病理模型,且以西医指标为主。基于对痛经中西医临床病症特点的分析及对其现有动物模型的大量实验研究,形成了如下痛经动物模型制备规范(草案)。

**[关键词]** 痛经;动物模型;规范;草案;催产素;苯甲酸雌二醇;乙烯雌酚

**[中图分类号]** R24;R22;TU202;R285;R271.11+3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)19-0020-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20183005

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180103.1645.009.html>

**[网络出版时间]** 2018-01-06 15:43

## Specifications for Preparation of Dysmenorrhea Animal Models (Draft)

Traditional Chinese Medicine Experimental Pharmacology Professional Committee,  
China Association of Chinese Medicine

**[Abstract]** Dysmenorrhea is a common gynecological disease, it usually occurs in women's menstrual period or go by before and after the emergence of the periodic abdominal pain, lumbosacral pain sometimes, there may be severe unbearable pain, accompanied by nausea and vomiting, dizziness syncope. The dysmenorrhea animal model is pathological model with mainly western medicine indexes. Based on the analysis of characteristics of clinical symptoms of Chinese and western medicine and a large number of animal experiments, this article forms the following specifications (draft) for the preparation of dysmenorrhea models (draft).

**[Key words]** dysmenorrhea; animal model; specifications; draft; oxytocin; estradiol benzoate; diethylstilbestrol

### 1 造模动物

现用于制备痛经模型的动物主要有小鼠、大鼠、家兔、豚鼠等,其中以低龄雌性小鼠、大鼠为常用。

### 2 造模方法

#### 2.1 苯甲酸雌二醇+催产素联用制备大(小)鼠痛经模型

**2.1.1 原理** 连续皮下注射给予动物苯甲酸雌二醇,提高子宫敏感性;再注射催产素,产生类似痛经反应。

**2.1.2 方法** 雌性大鼠,体质量180~220 g,给大鼠皮下注射苯甲酸雌二醇,每天1次,连续10 d;于第1,10天剂量为 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,其余时间的剂量均为 $1.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。于末次注射苯甲酸雌二醇后1 h,

按剂量 $10 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射催产素,制备成大鼠痛经模型。雌性ICR小鼠,体质量18~22 g,给小鼠皮下注射苯甲酸雌二醇(剂量 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),每日1次,连续10 d,末次注射苯甲酸雌二醇后1 h,按 $10 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射催产素,制备成小鼠痛经模型。

#### 2.2 苯甲酸雌二醇+冰水浴+催产素制备大(小)鼠寒凝血瘀型痛经模型

**2.2.1 原理** 连续给予动物苯甲酸雌二醇,提高子宫敏感性;再注射催产素,产生类似痛经反应。冰水浴可致动物出现体温降低。

**2.2.2 方法** 雌性大鼠,体质量130~150 g,给大鼠皮下注射苯甲酸雌二醇,每天1次,连续10 d;第1,10天剂量为 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,其余时间的剂量均为

**[收稿日期]** 20171201(023)

**[基金项目]** 国家“十一五”科技支撑计划项目(2008BA153B09);国家中医药管理局中药标准化专项(2017-149-11)

$1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;同时每天将大鼠置于冰水浴中 30 min,为促进血瘀模型的形成,可在第 11 天给大鼠皮下注射 2 次盐酸肾上腺素( $8 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),间隔 2 h,在第 2 次注射盐酸肾上腺素后,将动物置于冰水中 5 min,5 min 后将大鼠拿出放回笼子中饲养。第 12 天大鼠皮下注射苯甲酸雌二醇 1 h 后,立即腹腔注射催产素(剂量  $10 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),制备成雌激素与催产素联用冰水浴大鼠痛经模型。雌性 ICR 小鼠,体质量 18 ~ 22 g,给小鼠皮下注射苯甲酸雌二醇(剂量  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),每日 1 次,同时每天将小鼠置于冰水浴中 30 min,连续 10 d,末次注射苯甲酸雌二醇后 1 h,按剂量  $10 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$  腹腔注射催产素,制备成小鼠痛经模型。

### 2.3 乙烯雌酚 + 催产素联用制备大(小)鼠痛经模型

**2.3.1 原理** 动物连续给乙烯雌酚,提高子宫的敏感性;然后再注射催产素以诱发子宫的痉挛性收缩产生的疼痛以此来模拟痛经症状。

**2.3.2 方法** 雌性大鼠,体质量 180 ~ 220 g,连续皮下注射己烯雌酚,第 1,10 天皮下注射剂量为  $3.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;第 2 ~ 9 天注射剂量为  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,每日 1 次,连续 10 d,末次注射乙烯雌酚 1 h,按剂量  $10 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$  腹腔注射催产素,制备成大鼠痛经模型。雌性 ICR 小鼠,体重 18 ~ 22 g,连续皮下注射乙烯雌酚( $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),每日 1 次,连续 12 d,末次注射乙烯雌酚 1 h,按剂量  $10 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$  腹腔注射催产素,制备小鼠痛经模型。乙烯雌酚也可灌胃给药。

## 3 动物模型指标

**3.1 表观指标** 痛经动物模型制备成功后,表观指

标可见动物扭体潜伏期明显缩短,扭体次数明显增加;子宫、卵巢质量增加,子宫、卵巢指数增加;动物毛发光泽度降低,活跃度降低,饮水量、进食量减少,活动减少,对外界环境刺激的反应降低等。表观指标是临床上痛经的重要判断标准,也应是模型制备成功与否的重要判断指标,权重系数选择 0.5。

**3.2 生化指标** 痛经模型制备成功后,血清雌激素,孕激素,前列腺素(PG)  $F_{2\alpha}$ /PGE<sub>2</sub>,加压素,催产素水平增高,血清  $\beta$ -内啡肽水平降低。血瘀模型会有血液流变学指标中的血浆黏度、红细胞压积、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数、红细胞变形指数的影响均明显升高,凝血酶原时间、部分凝血活酶时间、凝血酶时间明显缩短。生化指标是痛经动物模型发生、发展、恢复过程的一种机体反映,有一定的临床价值。但是特异性不高,权重系数选择 0.4。

**3.3 病理指标** 痛经模型制备成功后,子宫组织形态可见子宫体积变大,子宫壁变薄,内膜上腺体增多;卵巢组织形态可见卵巢体积大,各级卵泡排列无序,黄体明显增大。病理指标是痛经发生的重要参考,此项指标是间接指标,权重系数选择 0.1。

## 4 备注

本制备规范(草案)主要介绍的是与痛经临床病症特点吻合度高、应用多的动物模型。还有另外一些痛经模型,如子宫韧带微循环障碍痛经模型、排卵障碍模型、离体子宫平滑肌收缩模型、在体子宫平滑肌收缩模型以及相关细胞模型等,因为与临床病症特点的吻合度低、应用少等原因,故上述模型均未纳入本草案。

# 痛经动物模型制备规范(草案)起草说明

## 1 造模动物<sup>[1-3]</sup>

小鼠、大鼠、兔子、豚鼠等,常用低龄雌性小鼠、大鼠。

## 2 饲养环境<sup>[4]</sup>

实验动物所需的饲养环境应符合 GB 14925-2010《实验动物环境及设施》,此外还有《实验动物管理条例》《实验动物国家标准》《关于善待实验动物的指导性意见》以及《中华人民共和国动物保护法》等,符合相应标准和等级动物饲养环境的要求。

## 3 造模原理及评价依据<sup>[5-6]</sup>

痛经的主要临床表现症状是在女子经期或行经

前后出现具有周期性小腹疼痛,有的会痛引腰骶,严重者甚至可能会出现剧痛难忍,并伴有恶心呕吐、头昏厥逆。中医认为痛经是情志所伤。六淫为害而致冲任受阻,或因精血不足,胞脉失于濡养所导致的。现痛经动物模型为病理模型,多采用注射雌激素提高子宫的敏感性,然后给予缩宫素制备痛经模型。

现代医学痛经的诊断标准参照了中华医学会所编著的 2009 年版《临床诊疗指南——妇产科学分册》,形成西医痛经诊断标准:①多见于初潮 1 年的少女或未生育的年轻妇女,痛经多始发生于初潮后半年或 1 年,在月经来潮前数小时或来潮后出现下

腹持续性或阵发性疼痛,可放射至腰骶和大腿内侧,历时 1~3 d,自行缓解;②经现代医学手段检查生殖系统并无器质性病变;③排除由盆腔炎以及子宫内膜异位症等疾病引起的痛经。据临床研究,痛经患者月经来潮时的子宫收缩形态与正常收缩形态不同。正常的子宫张力适度,痛经者子宫基础张力、压力增高,频率加快,造成子宫血流量下降。

中医痛经的诊断标准参照了《中医妇科学》和《中药新药临床研究指导原则》。临床表现症状为腹痛多发生在经潮前 1~2 d,第 1 天达到高峰,呈阵发性痉挛性、胀痛伴下坠感,严重者可放射到腰骶部、肛门、阴道以及股内侧等,可见面色苍白、出冷汗、手足发凉等;也有少数于经血将净或经净后 1~2 d 始觉腹痛或腰腹痛。寒凝血瘀的主证为①小腹冷痛,得热痛减;②形寒肢冷;次证为①紫黯有块;②量少或错后;③呕恶;④大便溏泄;⑤带下量多,色白。气滞血瘀的主证为①小腹胀痛或刺痛;②抑郁,烦躁易怒;次证为①黯红有块,经行不畅;②乳房胀痛;③肛门坠胀;④不定期;⑤经量或多或少。肾虚血瘀的主证为①小腹坠痛;②腰膝酸软;次证为①淡黯或夹块;②量少或错后;③头晕耳鸣;④夜尿频多;⑤性欲减退。湿热瘀阻的主证为①小腹胀痛或灼痛;②带下量多,色黄质稠;次证为①暗红或酱红,质稠或夹黏液;②量多或经期延长;③口腻或纳呆;④大便溏而不爽或干结;⑤小便色黄或短赤。

**3.1 雌激素 + 催产素联用制备大(小)鼠痛经模型<sup>[7-8]</sup>** 动物连续给予雌激素,可提高动物子宫敏感性,同步化子宫周期并造成人工动情;再注射催产素,诱发子宫平滑肌痉挛性收缩,产生疼痛,表现为扭体反应,即间歇发作的腹部收缩内凹、臀部歪扭、后肢伸张等。与临床指标吻合情况为符合西医诊断指标①②③,吻合度 $\geq 90\%$ 。注意每天皮下注射应更换不同部位,以免出现皮下硬结。

**3.2 雌激素 + 冰水浴 + 催产素制备大(小)鼠寒凝血瘀型痛经模型<sup>[9-11]</sup>** 连续给予雌激素可提高动物子宫敏感性,同步化子宫周期并造成人工动情;给予冰水浴刺激,用冷水浴法让其适应性产热低下;加肾上腺素可促进血瘀形成;再注射催产素,引发子宫平滑肌痉挛性收缩,产生疼痛,发生扭体反应,即间歇发作的腹部收缩内凹、臀部歪扭、后肢伸张等。符合西医诊断指标①②③,吻合度 $\geq 90\%$ ;符合中医指标主证①②,次证④,吻合度 $\geq 30\%$ 。注意每天皮下注射应更换不同部位,以免出现皮下硬结,影响吸收;注意冰水温度以及深度,防止冰浴后大(小)鼠的死亡。

**3.3 乙烯雌酚 + 催产素联用制备大(小)鼠痛经模型<sup>[12-13]</sup>** 动物连续给予雌激素可提高动物子宫敏感性,同步化子宫周期并造成人工动情;再注射催产素,诱发子宫平滑肌痉挛性收缩,产生疼痛,表现为扭体反应,即间歇发作的腹部收缩内凹、臀部歪扭、后肢伸张等。与临床指标吻合情况为符合西医指标①②③,吻合度 $\geq 90\%$ 。乙烯雌酚采用灌胃方式给药。

**4 观测指标<sup>[14-18]</sup>**

**4.1 表观指标——I 类指标(核心指标)** 痛经模型制备成功后,表观指标可见动物扭体潜伏期明显缩短,扭体次数明显增加;子宫、卵巢质量增加,子宫、卵巢指数增加;动物毛色、毛发光泽度降低,精神活性降低,饮水量、进食量减少,活动减少、对外界环境刺激的反应降低等。上述表观指标中扭体潜伏期、扭体次数、子宫及卵巢湿重、子宫及卵巢指数、体质量、体温等可以数量表述;动情周期、动物反应、进食量、精神状态、毛色、毛光泽度等可按 3 级半定量,表观指标是痛经的临床重要判定标准,也应是模型成功与否的重要判定指标,权重系数设定 0.5。见表 1。

表 1 痛经动物模型的表现指标分级

Table 1 Classification of epigenetic indexes of dysmenorrhea animal models

分级评分/分	动情周期	动物反应	进食量	精神状态	毛色	毛光泽度
0	基本正常	基本正常	基本正常	基本正常	基本正常	基本正常
1	轻微增加	轻度下降	轻度减少	轻度降低	轻度色变	轻度无光泽
2	显著增加	显著下降	显著减少	显著降低	显著色变	显著无光泽

**4.2 生化指标——II 类指标(直接相关指标)** 痛经的发生主要与经期子宫内膜合成和释放的 PG 异

常有关,即  $PGF_{2\alpha}/PGE_2$  增高,导致子宫平滑肌收缩增强,出现痛经。排卵前后卵泡分泌的大量雌激素

刺激垂体分泌激素,通过催产素受体和加压素受体介导子宫痉挛,也可能与痛经的发生存在关系;还有 $\beta$ -内啡肽水平下降、白细胞介素水平升高等因素通过引发过敏而导致痛经。痛经造模成功后,雌激素、孕激素,前列腺素( $\text{PGF}_{2\alpha}/\text{PGE}_2$ ),加压素,催产素增高; $\beta$ -内啡肽降低。血瘀模型会有血液流变学指标变化,血浆黏度、红细胞压积、红细胞聚集性、刚性指数均明显升高,凝血酶原时间、部分凝血活酶时间、凝血酶时间明显缩短。生化指标是痛经的机体反映,也是模型是否成功的重要指标,但是其特异性稍低,权重系数选择0.3。

**4.3 病理指标——Ⅲ类指标(间接相关指标)** 痛经模型的病理也是模型是否成功的证据之一,模型制备成功后,可见子宫体积显著变大,子宫壁变薄,内膜上腺体增多。可见卵巢体积变大,各级卵泡有序排列,黄体明显增大。病理指标是痛经模型的直接依据,是间接的指标,权重系数选择0.2。痛经模型局部病理观察分级参考标准为子宫组织:“-”表示子宫黏膜上皮细胞和黏膜腺体均正常;“+”表示子宫黏膜上皮细胞和黏膜腺体增生并有少量分泌物;“++”表示子宫黏膜上皮细胞和黏膜腺体明显增生并有明显分泌物;“+++”表示子宫黏膜上皮细胞和黏膜腺体过渡增生并有大量分泌物。卵巢组织:“-”表示卵巢无体积变化,各级卵泡有序排列,黄体无明显变化;“+”表示卵巢有轻微体积变大,各级卵泡较有序排列,黄体有轻微变化;“++”表示卵巢体积变大,各级卵泡较无规则排列,黄体有变化;“+++”表示卵巢体积明显变大,各级卵泡无规则排列,黄体有明显变化。病理观察可以准确、直观地说明组织微观情况,权重系数选择0.2。

**4.4 指标分类** 痛经模型Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ类指标以及其他指标可按整体为1进行各自的量化积分,如痛经动物模型表观指标是由扭体潜伏期、扭体次数、子宫及卵巢质量、子宫及卵巢指数、动物毛色、毛发光泽、精神状态、体质量、体温、饮水量、饮食量、动物反应组成。积分时各项小指标的权重均为1/12。如具体每一类指标中有特殊的指标,可参照分类时的权重,再对同一类指标中的小指标进行权重分类。Ⅱ,Ⅲ类指标的计算同此方法。

造模后的各类指标积分乘以相应权重,再将三类指标相加,即为痛经动物模型的总积分。按照上述方法计算,其中雌激素+催产素联用制备大(小)鼠痛经模型的总积分约0.83,雌激素+冰水浴+催产素制备大(小)鼠寒凝血瘀型痛经模型的总积分

约0.93,乙烯雌酚+催产素联用制备大(小)鼠痛经模型的总积分约0.83。痛经模型制备成功率高,但是造模可能会出现不同的总积分,所以为了保证制备该模型基本一致,建议有20%的偏差,并以此作为评价痛经动物模型是否成功的标准。所得总积分 $>0.60$ 时,则可认为该模型成功。本规范(草案)所采用的计算方法及所得总积分仅供参考,研究者可根据实际情况对所选指标的分类及总积分计算作适当的调整。

**4.5 说明** 本规范(草案)中的权重系数仅提示该类指标在模型制备及判定中的重要性,研究者可根据相应模型实验进行相应调整。例如表观、病理指标采用的分级方法在不同模型中采用的标准不一样,分级自然也会有所差异;生化指标也可能未全面涵盖痛经相关的所有指标。研究者根据各类指标对痛经模型的贡献度不同进行分级,尽量将单纯的定性描述转变成可量化或半量化的指标,以提高评价的可控性;本规范(草案)所列的具体指标、分级等仅供参考,根据具体痛经实验研究的特点,研究者可适当增加、减少或另行设定。

[起草人] 苗明三,王婷,白明,王灿

[参考文献]

- [1] 刘峰林,王瑞琼,金辉,等.血瘀痛经小鼠模型的建立[J].中兽医医药杂志,2013,32(3):17-21.
- [2] 朱世鹏,张玲,申松希,等.寒凝证类痛经大鼠模型建立的探讨[J].中华中医药学刊,2013,31(11):2416-2419.
- [3] MIAO M S, TIAN S, BAI M, et al. Effect of genkwa external application on frostbite model of mice and rats [J]. AMM, 2014, 666:398-402.
- [4] 国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.实验动物环境及设施:GB 14925-2010[S].北京:中国标准出版社,2010:1-24.
- [5] Dawood M Y. Primary dysmenorrhea: advances in pathogenesis and management [J]. Obstet Gynecol, 2006, 108(2):428-441.
- [6] 嵇波,张露芬,朱江,等.痛经模型建立和评价方法的思考[J].中国药理学通报,2008,24(6):711-714.
- [7] 苗明三,张玉林,史晶晶,等.复方益母草口服液对大鼠痛经模型的影响[J].中药药理与临床,2008,24(5):56-57.
- [8] 华永庆,段金廛,朱荃,等.缩宫素诱导的小鼠离体痛经模型的实验方法研究[J].中国药理学通报,2008,24(4):489-493.
- [9] 许咏思,嵇波,胡琅琳,等.寒凝血瘀证痛经大鼠模型

- 制备和评价方法述评[J]. 中医药学报, 2013, 41(4): 25-30.
- [10] 肖璐. 宁心缓痛汤治疗寒凝血瘀型原发性痛经的实验研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2011.
- [11] 刘东霞. 山香胶囊治疗寒凝血瘀型原发性痛经的动物实验研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江省中医研究院, 2008.
- [12] 贺克, 刘姣, 李清, 等. 丹莪妇康煎膏对小鼠痛经模型的影响[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(3): 106-108.
- [13] 方玲, 朱新冰, 范同梅. 缩宫素与痛经的相关性研究进展[J]. 天津中医药, 2011, 28(5): 435-437.
- [14] 中华中医药学会中药实验药理专业委员会. 白癜风动物模型制备规范(草案)[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(24): 1-5.
- [15] 中华中医药学会中药实验药理专业委员会. 乳腺增生动物模型制备规范(草案)[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(24): 17-22.
- [16] 中华中医药学会中药实验药理专业委员会. 湿疹动物模型制备规范(草案)[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(24): 6-10.
- [17] 中华中医药学会中药实验药理专业委员会. 烧(烫)伤动物模型制备规范(草案)[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(24): 11-16.
- [18] 马瑞娟, 苗明三. 一种中药药效的多指标评价新方法——综合权重法[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(5): 569-572.

[责任编辑 刘德文]