

雌性不孕症动物模型制备规范(草案)

中华中医药学会 中药实验药理专业委员会

[摘要] 目前,不孕不育已成为常见多发病,30%以上的育龄夫妇需要借助医疗手段获得受孕。不孕症动物模型是开展相关研究的基础,目前不育症动物模型主要是以西医诊断标准为主、兼顾中医证型特点的病因模型。基于对不孕症中西医临床病证特点的分析及对其现有动物模型的大量实验研究,形成了如下雌性不孕症动物模型制备规范(草案)。

[关键词] 不孕症; 动物模型; 规范; 草案; 免疫因素; 环磷酰胺; 多囊卵巢综合征

[中图分类号] R24;R22;TU202;R285;R271.14 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)19-0025-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20183006

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180103.1644.008.html>

[网络出版时间] 2018-01-06 15:43

Specifications for Preparation of Female Infertility Animal Models (Draft)

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

[Abstract] At present, infertility has become a common disease, more than 30% of couples of childbearing age need to get pregnant by medical means. Animal models of infertility are the basis for related studies. At present, the animal model of infertility is mainly based on the diagnostic criteria of western medicine, and taking into account the characteristics of traditional Chinese medicine (TCM) syndromes. Based on the analysis of the clinical symptoms of infertility in TCM and western medicine and a large number of experimental studies on the existing animal models, this article forms the following specifications (draft) for preparation of female infertility models (draft).

[Key words] infertility; animal model; specifications; draft; immune factors; cyclophosphamide; polycystic ovary syndrome

1 造模动物

不孕症动物模型常选用的实验动物为大鼠、小鼠、家兔。

2 造模方法

不孕症的病因病机尚未完全清晰,现有模型主要以西医标准为主,中医标准为辅,根据临床雌性不孕症患者病证特点建立模型,造模方法如下:

2.1 子宫内膜异位致大鼠不孕症模型

2.1.1 原理 内膜细胞种植在子宫内膜以外的位置使得内膜细胞可由输卵管进入盆腔异位生长形成子宫内膜异位不孕症。

2.1.2 方法 取成年雌性SD大鼠,体质量200~

220 g,按0.003 mL·g⁻¹腹腔注射10%水合氯醛麻醉,大鼠固定四肢,备皮,消毒,于下腹正中尿道上方作一斜向右侧的切口,切取右侧子宫角处的一段子宫,迅速将其置于生理盐水中,将子宫内膜与肌层分离,并切取两块子宫内膜组织片段,令其表面上皮层对着腹壁,将组织块四角与腹壁肌肉缝合,左右各一。右侧宫角断端吻合结扎。关腹前给后向腹腔滴入以0.9%氢氧化钠溶液溶解的氨苄青霉素腹腔消毒(1.6×10⁵ U·kg⁻¹),逐层缝合关腹。术后正常饲养,按剂量8.0×10⁵ U·kg⁻¹肌内注射青霉素(每只0.1 mL)以防感染,连续3 d,每天1次。5~6周后,剖腹可见移植物生长情况,若异位病灶呈透明结节

状或囊状,体积增大,内有不透明囊液,周围及表面有结缔组织黏连及血管形成。制备大鼠子宫内膜异位不孕症模型成功,此模型持续不少于5周。

2.2 卵巢早衰制备大(小)鼠不孕症模型 原理为采用药物或其他因素使卵巢储备功能下降甚至衰竭,导致卵巢内存留的卵泡数量和卵泡质量下降,致卵巢出现早衰。

2.2.1 免疫因素诱导卵巢早衰致小鼠不孕症模型
BALB/c 雌性小鼠,体质量 15 ~ 18 g,以小鼠透明带 3 的第 330 ~ 342 个氨基酸序列(NSSSSQFQIHGPR)所合成透明带多肽(1 mg)为免疫原,以其免疫 SPF 级 BALB/c 雌性小鼠。在双后脚掌处及腹部皮肤皮下多点注射,皮下 5 点注射 0.2 mL/只,0.04 mL/点。每 2 周 1 次,连续 3 次。第 1 次加入等量弗氏完全佐剂,第 2 次和第 3 次加入等量弗氏不完全佐剂。第 6 ~ 7 周可制备免疫因素诱导卵巢早衰致小鼠不孕症模型。制备小鼠不孕症模型成功,此模型维持不少于 4 周。

称取透明带 3 粉末 1 mg,加入三蒸水配成质量浓度 0.2 g·L⁻¹ 的小鼠透明带多肽溶液。将小鼠透明带多肽溶液和弗氏完全佐剂按照 1:1 的比例混合,搅拌 30 min,充分混匀,得免疫试剂。将小鼠透明带多肽溶液和弗氏不完全佐剂按照 1:1 的比例混合,搅拌 30 min,充分混匀,得免疫强化试剂。不完全佐剂中加卡介苗(最终质量浓度 3 ~ 20 g·L⁻¹),得弗氏完全佐剂。液体石蜡与羊毛脂组分为 2:1 混合而成,得弗氏不完全佐剂。

2.2.2 代谢因素诱导卵巢早衰致大鼠不孕症模型
SD 雌性大鼠,体质量 200 ~ 220 g,将大鼠与具有生育能力的同品系雄性大鼠合笼,每日早晨阴道涂片,发现大量浸渍当天为妊娠第 1 日。从受孕第 3 日,妊娠大鼠给予添加 35% 半乳糖的饲料进行喂养,直至产后第 21 日,即断乳之日。子代即为卵巢早衰模型大鼠。子代大鼠 28 ~ 35 d,可形成大鼠不孕症模型。此模型可维持不少于 4 周。

2.2.3 化学因素诱导卵巢早衰致大鼠不孕症模型
SD 雌性大鼠,体质量 180 ~ 200 g,按 75 mg·kg⁻¹ 灌胃给予雷公藤多苷片,每日 1 次,连续给药 14 d。第 14 天即可制备大鼠不孕症模型。此模型可维持不少于 21 d。

2.2.4 环磷酸腺苷诱导卵巢早衰致小鼠不孕症模型
雌性 C57BL/6 小鼠,体质量 18 ~ 22 g,首次腹腔注射环磷酸腺苷磷酸盐缓冲液(pH 7.4),剂量为 100 mg·kg⁻¹;随后以剂量 10 mg·kg⁻¹ 每日腹腔注射

1 次,连续注射 2 周。第 14 日即可制备小鼠不孕症模型。

2.3 多囊卵巢综合征制备大鼠不孕症模型 原理为下丘脑-垂体-卵巢轴功能失常,肾上腺功能紊乱,影响了体内激素水平,致大鼠不孕症模型。

2.3.1 雄激素制备大鼠不孕症模型 23 日龄 SD 幼年雌性大鼠,头颈部皮下按每 100 g 体质量注入去氢表雄酮(DHEA)6 mg + 芝麻油混合剂 0.2 mL,每天 1 次,连续给药 20 d,即可制备大鼠不孕症模型。

2.3.2 芳香酶抑制剂(来曲唑)制备大鼠不孕症模型 雌性 SD 大鼠,6 周龄,每日灌服来曲唑-羧甲基纤维素溶液(给药体积 8 mL·kg⁻¹,给药质量浓度 0.125 g·L⁻¹),每天 1 次,连续给药 21 d,即可制备大鼠不孕症模型。

2.3.3 孕激素联合人绒毛膜促性腺激素(HCG)制备大鼠不孕症模型 SD 雌性大鼠,24 日龄,皮下埋植左旋 18-甲基炔诺酮硅胶棒(3 mm/只),3 d 后(27 日龄)开始皮下注射 HCG(1.5 × 10³ U·L⁻¹),每天 2 次(间隔 6 h)。注射 9 d,大鼠卵巢出现类多囊卵巢的改变,血清睾酮(T),空腹胰岛素水平(FINS)和空腹血糖(FBG)水平升高,血清雌二醇(E₂),孕酮(P),促卵泡激素(FSH),促黄体生成素(LH)水平降低,即可制备大鼠不孕症模型。

2.3.4 胰岛素联合 HCG 制备大鼠不孕症模型 雌性大鼠,体质量 180 ~ 220 g,正常喂养 4 d 后,给予高脂饲料喂养,然后皮下注射 HCG 及胰岛素[HCG 3 IU·d⁻¹ + 诺和灵 30R(INS)2 IU·d⁻¹],每日 1 次,连续注射 22 d,22 d 后继续饲养至第 6 周,制备大鼠不孕症模型。

3 观测指标

3.1 表观指标 表观指标主要有①体质量,②活动量,③受孕率,④产仔数,④妊娠率,⑤卵巢质量,⑥子宫内膜异位灶生长情况,⑦垂体质量,⑧卵巢表面颜色等。模型复制成功,可见体质量增加,活动量降低,受孕率降低,产仔数明显降低或无产仔,并与正常产仔数具有显著差异,妊娠率降低,卵巢、垂体质量增加,异位病灶应呈透明结节状或囊状,体积增大,内有不透明囊液,周围及表面有结缔组织黏连及血管形成,卵巢表面苍白等。不孕症表观指标是临床诊断的重要依据,也应是模型成功与否的判定指标,为核心指标,其权重系数选择 0.4。

3.2 病理指标 通过光学显微镜对动物子宫、卵巢等组织器官进行形态学观察。模型制备成功后,

子宫内膜上皮细胞扁平,肌层较薄,结构不清。卵巢包膜增厚,表面不平,黏连,并见表面褐色陈旧性出血斑块。卵巢呈现卵泡状,与正常情况相比呈现多囊样发育,卵泡闭锁,囊状扩张卵泡明显增加,颗粒层数减少至2~3层,卵泡内卵母细胞或放射冠消失,黄体数下降并有不完全黄素化。病理指标是动物实验不孕症的直接反映,是直接相关指标,权重系数选择0.3。

3.3 生化指标 生化指标主要有①FSH,②LH,③催乳素(PRL),④E₂,⑤T,⑥P,⑦HCG(提供妊娠率依据)⑧FINS,⑨抗精子抗体(AsAb)。其中①②③

④⑦为重要指标,⑤⑥⑧⑨为相关指标。模型制备成功后,①②③⑤⑧⑨升高,④⑥⑦降低。生化指标在不孕症临床诊断中具有重要地位,是不孕症模型制备是否成功的间接相关指标,权重系数选择0.3。

4 备注

本规范(草案)收录的是与临床吻合度较高且应用较多的动物不孕症模型。还有一些其他的模型,如输卵管结扎法、输卵管内注射感染液、盆腔内注射感染液等所致不孕症动物模型,因与中西医临床诊断标准吻合度低或应用少,故未纳入本规范(草案)。

雌性不孕症动物模型制备规范(草案)起草说明

1 造模动物^[1-2]

目前不孕症动物模型有牛、家兔、大(小)鼠、猕猴及灵长类动物。基于临床稳定、成熟及中医药动物实验相似性、经济性、模型化和重复性原则,目前,大(小)鼠及家兔是临床最为常用的不孕症动物模型。

2 饲养环境^[3-6]

大(小)鼠的饲养条件全部使用独立通风笼具(IVC),每笼饲养密度严格按照国标的要求,屏障环境温度的要求是20~26℃,湿度40%~70%,实验动物垫料选用锯末、刨花等,保证干燥、清洁、定期更换等。实验动物的饮水应当符合城市生活饮水的卫生标准,适宜的住所环境、运动时间自由,食物、水及适合于健康的福利照料,保证所有实验动物都能享受各种权益。

3 造模原理及评价标准^[7]

现代医学对女性不孕症的诊断标准主要参照《妇产科学》第6版教材中不孕症的有关内容,此标准指出女性不孕的原因主要有排卵障碍、输卵管阻塞、免疫因素。排卵障碍主要原因有中枢神经系统性无排卵、下丘脑性无排卵、垂体性无排卵、卵巢性无排卵、多囊卵巢综合征、卵泡黄素化不破裂综合征,其主要临床表现如下:[由于本规范(草案)中模型主要为卵巢性无排卵和多囊卵巢综合征,故针对以上2种病因进行详述,其余病因可参考《妇产科学》第6版]卵巢性无排卵主要症状为①抑郁、焦虑、敌对、恐惧潮热、烦躁失眠、阴道干燥等;②高促性腺激素性闭经;③卵巢中颗粒细胞和卵母细胞的凋亡,卵泡数量减少;④雌激素和孕激素水平降低;

⑤颗粒细胞发生黄素化而卵泡未破裂。多囊卵巢综合征主要症状为①体质量超重或肥胖,月经紊乱甚至闭经、多毛、脱发;②卵巢增大,卵巢多囊样改变,稀发排卵或无排卵;③卵泡数增加,成熟卵泡数及黄体数均减少;④高雄激素血症或高胰岛素血症。输卵管阻塞主要症状为①盆腔炎症、充血;②痛经;③腹部不同程度疼痛;④精神抑郁、乏力,性交疼痛;⑤月经不调、白带增多;⑥输卵管周围黏连。免疫因素主要症状为血清或宫颈黏液检查出AsAb和抗子宫内膜抗体等抗体阳性。

中医诊断主要依据根据《中药新药临床研究指导原则》及《中医妇科学》,可分为肾虚、肝郁、血瘀、痰湿及外邪等方面,其相对应的常见中医证候主要有肝郁证、痰湿证、血瘀证、肾虚证。对应临床可见证型如下:肝郁证主证为①乳房胀痛;②情志抑郁不畅,烦躁易怒;③月经量少色暗或经量多少不一;次证为①月经先后无定期;②经行腹痛;③月经夹有血块;④胸胁,胀闷。肾虚证主证为①婚久不孕,女子月经后期而量少;②月经先期量少色红无块;③月经稀发,甚则经闭;④腰膝酸软;次证为①形体消瘦,面色晦暗;②畏寒肢冷,腰膝酸软,头晕目眩,咽干口燥,耳鸣;③五心烦热,心悸失眠;④大便溏薄,小便清长,小腹冷痛。血瘀证主证为①婚久不孕,月经后期,经量多少不一,经色暗;②有血块,经行少腹;③骶骨疼痛,拒按;次证无。痰湿证主证为①年久不孕,月经失调;②则经闭带下量多黏;③腰骶酸痛;次证为①形体肥胖,面色白;②头晕心悸,呕恶胸闷,食少纳呆,神疲乏力,倦怠嗜睡;③少腹坠胀疼痛,经行或劳累后加重;④经前乳房胀痛,会低热起伏;⑤大

便不实。目前,临床针对不同不孕症病人的病证特征展开了相应的动物模型研究,相应的造模方法如下:

3.1 羧基脲灌胃 + 手术制备大鼠肾虚血瘀型不孕症模型^[8-9] 内膜细胞种植在子宫内膜以外的位置,使得内膜细胞可经由输卵管进入盆腔异位生长形成子宫内膜异位不孕症。与临床诊断标准吻合情况为符合临床西医诊断标准输卵管阻塞②④⑤⑥ $\geq 70\%$;符合临床中医诊断标准血瘀证主证①②③ $\geq 70\%$ 。应注意手术的一致性,这是模型一致性的基础。

3.2 卵巢早衰模型构建法制备小鼠不孕症模型^[10]

采用药物或其他因素干预使机体产生自身免疫反应,出现闭经不排卵,雌激素缺乏,促性腺激素升高,等卵巢早衰症导致不孕。

3.2.1 免疫因素诱导的卵巢早衰动物模型 透明带 3 抗原可诱导机体产生自身免疫性卵巢炎,使免疫系统不能识别自身卵巢,导致卵巢早衰症。与临床诊断标准吻合情况为符合临床西医诊断标准卵巢性无排卵①②③④ $\geq 70\%$;符合临床中医诊断标准肾虚证主证③④,次证①② $\geq 50\%$ 。此模型成功率高、方法可行,便于药物治疗研究。

3.2.2 代谢因素诱导的卵巢早衰动物模型 半乳糖及其代谢产物产生毒性,直接作用于卵巢,可导致卵泡闭锁加速和原始卵泡池内原始卵泡数目的减少,最终发生卵巢早衰,生殖能力下降。与临床诊断标准吻合情况为符合临床西医诊断标准卵巢性无排卵①②③④ $\geq 70\%$;符合临床中医诊断标准肾虚证主证③④,次证①② $\geq 50\%$ 。该模型是公认的卵巢衰老模型,与人类的卵巢早衰有相同的动情周期紊乱、卵泡数量减少、卵泡对促性腺激素抵抗等病理过程。

3.2.3 化学因素诱导的卵巢早衰动物模型 雷公藤制剂会对女性生殖系统产生毒性损伤,主要包括妇女的月经失调和闭经,使体内雌激素降低、促性腺激素升高,甚至闭经导致卵巢早衰。与临床诊断标准吻合情况为符合临床西医诊断标准卵巢性无排卵①②③④ $\geq 70\%$;符合临床中医诊断标准肾虚证主证③④,次证①② $\geq 50\%$ 。注意事项为雷公藤制剂有一定肝肾损害,可引起消化道不良反应。

3.2.4 环磷酸胺诱导卵巢早衰动物模型 环磷酸胺为化疗药物,其注射液可显著降低小鼠卵泡计数和卵巢储备功能,导致卵巢早衰。与临床诊断标准吻合情况为符合临床西医诊断标准卵巢性无排卵①

②③④ $\geq 70\%$;符合临床中医诊断标准肾虚证主证③④,次证①② $\geq 50\%$ 。此模型方法结果显示调控因子(SIRT6)蛋白虽呈现降低趋势,但与正常组相比无显著性差异,原因可能与环磷酸胺剂量有关。

3.3 多囊卵巢综合征构建大鼠不孕症模型^[11-18]

下丘脑-垂体-卵巢轴功能失常,肾上腺功能紊乱,性激素水平异常,从而导致内分泌紊乱。

3.3.1 雄激素成模法 通过雄激素注射模拟中医肾虚病机,造成卵泡成熟和排卵障碍。与临床诊断标准吻合情况为符合临床西医诊断标准多囊卵巢综合征①②③④ $\geq 80\%$;符合临床中医诊断标准肾虚证主证③④,次证①②④ $\geq 50\%$ 。雄激素致不孕大鼠具有高雄激素血症、无排卵性不孕及胰岛素拮抗等表现,故常被用作高胰岛素高雄激素无排卵综合征病理模型而展开研究。

3.3.2 来曲唑造模法 芳香化酶抑制剂能够阻断雄激素向雌激素的转换,来曲唑是一种非甾体类芳香化酶抑制剂,可导致类固醇激素生成紊乱,进而导致雄激素水平升高并发展为多囊卵巢。与临床诊断标准吻合情况为符合临床西医诊断标准多囊卵巢综合征①②③④ $\geq 80\%$;符合临床中医诊断标准肾虚证主证③④,次证①②④ $\geq 50\%$ 。该模型简单易行、稳定性好。

3.3.3 孕激素联合 HCG 造模法 用左旋 18-甲基炔诺酮硅胶棒抑制下丘脑-垂体-卵巢性腺轴的功能,使性激素分泌处于较低水平,抑制排卵,然后利用 HCG 发挥 LH 的作用,导致卵巢多囊改变和一系列内分泌方面的改变。与临床诊断标准吻合情况为符合临床西医诊断标准多囊卵巢综合征①②③ $\geq 70\%$;符合临床中医诊断标准肾虚证主证③④,次证①②④ $\geq 50\%$ 。多囊卵巢综合征很可能起源于早期发育阶段,雄激素过高的雌性哺乳动物模型都会出现几乎所有典型的多囊卵巢综合征的症状,包括高雄激素血症, LH 分泌过多,月经稀发和卵巢囊性增大。

3.3.4 胰岛素联合 HCG 造模法 多囊卵巢综合征随着年龄增长可伴有日益明显的胰岛素抵抗、高胰岛素血症和高血脂症,通过 HCG 和 INS 共同作用可引起高雄激素血症,使卵泡发育停止。与临床诊断标准吻合情况为符合临床西医诊断标准多囊卵巢综合征①②③④ $\geq 80\%$;符合临床中医诊断标准肾虚证主证③④,次证①②④ $\geq 50\%$ 。筛选动物时,至少应连续观察 2 个动情周期,将动情周期规律的动物纳入实验,以免引起实验误差。另外在配制精蛋白

生物合成人胰岛素和 HCG 时,需佩戴口罩与手套,防止吸入和接触。

4 观测指标

4.1 表观指标——I 类核心指标 表观指标主要包括①体质量,②活动量,③受孕率,④产仔数,④妊娠率,⑤卵巢质量,⑥子宫内膜异位灶生长情况,⑦垂体质量,⑧卵巢表面颜色等。模型复制成功后可见体质量增加,活动量降低;受孕率降低或未受孕,并与正常受孕率具有显著差异;产仔数明

显降低或无产仔,并与正常产仔数有显著性差异;妊娠率降低或未发生妊娠,并与正常妊娠率具有显著性差异;卵巢、垂体质量增加,异位病灶应呈透明结节状或囊状,体积增大,内有不透明囊液,周围及表面有结缔组织黏连及血管形成,卵巢表面苍白等。此指标符合西医诊断标准且可进行量化分级,见表 1。不孕症的表观指标是直接诊断的重要依据,也是模型成功与否的判定标准,权重系数选择 0.4。

表 1 雌性不孕症动物模型表观指标的分级

Table 1 Classification of apparent indexes of female infertility animal models

分级	体质量	活动量	受孕率	妊娠率	产仔数	卵巢体质量	垂体质量	卵巢表面	子宫内膜异位灶
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	基本正常	基本正常	基本正常
1	增加	减少	降低	降低	减少	卵巢变大,质量增加	增加	发白	体积增大,呈半透明状
2	明显增加	明显减少	显著降低或未受孕	显著降低或未出现妊娠	明显减少或无产仔	卵巢明显变大,质量增加	明显增加	呈苍白色	呈透明结节状或囊状,表面有结缔组织黏连及血管形成

4.2 病理学指标——II 类直接相关指标 通过光学显微镜对动物子宫、卵巢、输卵管等组织器官进行形态学观察。若模型复制成功,则子宫内膜上皮细胞扁平,肌层较薄,结构不清。卵巢包膜增厚,表面不平,黏连,并见表面褐色陈旧性出血斑块。卵巢呈现卵泡状,与正常形态相比呈现多囊样发育,卵泡闭锁,囊状扩张卵泡明显增加,颗粒层数减少至 2~3 层,卵泡内卵母细胞或放射冠消失,黄体数下降并有不完全黄素化。输卵管黏膜损伤,输卵管积水,输卵管峡部结节、黏连。卵巢局部病理半定量分级参考标准:“+”表示卵泡表面及间质出现增生,表面不平,表面出现血块、有黏连,见卵泡囊性扩张,少量的生长卵泡黄体、颗粒细胞数减少,排列疏松;“++”表示卵泡表面包膜增生明显,卵巢呈现卵泡状,且呈现多囊样发育,卵泡囊性扩张明显,卵泡闭锁,黄体数量下降明显并有不完全黄素化;“+++”表示囊状扩张卵泡大量呈现,颗粒层数减少至 2~3 层,卵泡内卵母细胞或放射冠消失,极少发现黄素化。病理学观察可以更加准确地说明不孕症发病部位的具体情况,因此该指标是判断不孕症模型是否成功的直接相关指标,权重系数选择 0.3。此指标根据中西医临床诊断标准而定。

4.3 生化指标——III 类间接相关指标 主要包括①FSH,②LH,③PRL,④E₂,⑤T,⑥P,⑦HCG(提供妊娠依据)⑧FINS,⑨AsAb。其中①②③④⑦为重

要指标,⑤⑥⑧⑨为相关指标。模型制备成功后,①②③⑤⑧⑨升高,④⑥⑦降低,则且实验过程中指标的差异明显。不孕症的发病与体内激素的变化有着直接的关系,这些指标可直接反映不孕症的发病过程,能够直接反映激素等的变化情况,是一类间接相关的指标。此指标根据中西医临床诊断标准而定,权重系数选择 0.3。

4.4 指标归类^[2,4,6] 不孕证动物模型 I, II, III 类指标的积分可参照文献中方法,按整体为 1 进行各指标的量化积分,例如表观指标是由体质量、活动量、卵巢体积质量、垂体质量等多项小指标组成的,均按同一贡献度计算;具体而言,假如观察的表观指标有 8 项,积分时各项小指标的权重均为 1/8,该小指标的最高分值为 1/8。在实验过程中,如果具体每一类指标中有非常重要的小指标,可参照指标分类时的权重,再对同一类指标中的小指标进行不同的权重分类。

每一类指标造模成功后的总积分乘以相应指标的权重,将三类指标积分相加,即得不孕症动物模型制备的总积分。按上述方法计算,羟基脲灌胃法制备不孕症动物模型的总积分约 0.7。免疫因素诱导、代谢因素诱导的卵巢早衰动物模型的总积分约 0.65。化学因素、环磷酸胺诱导的卵巢早衰动物模型的总积分约 0.68。雄激素成模法、芳香酶抑制剂(来曲唑)造模法诱导的多囊卵巢综合征动物模型

的总积分约0.74。孕激素联合HCG诱导的多囊卵巢综合征动物模型的总积分约0.7。胰岛素联合HCG造模法诱导的多囊卵巢综合征动物模型的总积分约0.72。不孕症动物模型制备成功率相对较高,每次造模可能会出现不同的总积分,为保证每次制备不孕症动物模型的基本一致,建议总积分可以有20%左右的偏差,以此作为评价不孕症动物模型成功与否的标准。所得总积分>0.6即可认为该模型制备成功。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,对指标总积分计算方法作适当调整。

4.5 说明 本规范(草案)及其起草说明中的权重系数提示的是该类指标在不孕症模型制备及判定中的重要性,但并不是绝对的。研究者可根据具体不孕症模型实验的情况进行适当调整。因不同不孕症模型中采用的标准不一致,表观指标、病理学指标所采用的分级方法也会有所差异;所列生化指标也并没有全面涵盖不孕症相关指标。上述标准及指标仅作参考,研究者应根据各类指标对不孕症模型的贡献度进行分级,尽量将单纯的定性描述转变成可量化或半量化的指标,以提高判定的可控性;所列的具体分级、指标等仅作参考,研究者可根据具体不孕症实验研究的特点,对观察指标作增加、减少或另行设定。

[起草人] 苗明三, 张梦飞, 苗艳艳, 方晓艳

[参考文献]

[1] 王灿,苗艳艳,苗明三. 中医药动物实验研究的再思考[J]. 中医学报,2015,30(4):548-550.
[2] 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.
[3] 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.
[4] 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.
[5] 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.

[6] 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.
[7] 张梦飞,李欢,苗明三. 基于不孕症临床病证特征的动物模型分析[J]. 中医学报,2017,32(2):265-268.
[8] 崔阳阳,孙伟伟,赵瑞华. 子宫内膜异位症动物模型研究进展[J]. 中国实验动物学报,2013,21(5):86-89.
[9] 陈彦辛. 子宫内膜异位症证候分布研究与病证结合动物模型的研制[D]. 广州:广州中医药大学,2013.
[10] 张丽娟,陶仕英,赵丕文,等. 顺铂建立大鼠卵巢早衰动物模型的实验研究[J]. 世界中医药,2015,10(10):1563-1565.
[11] LI H, XU X, WANG X, et al. Free androgen index and irisin in polycystic ovary syndrome [J]. J Endocrinol Invest, 2016, 39(5):549-556.
[12] Yildiz B O, Bozdag G, Yapici Z, et al. Prevalence, phenotype and cardiometabolic risk of polycystic ovary syndrome under different diagnostic criteria [J]. Hum Reprod, 2012, 27(10):3067-3073.
[13] 姚莉娟,徐晓娟,王婧婧,等. 体现中医病因病机的多囊卵巢综合征动物模型评价及筛选[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2014,16(10):2137-3148.
[14] 闫晓丽,张志强,苗明三,等. 基于中西医临床特征的多囊卵巢综合征模型分析[J]. 中医学报,2017,32(4):598-601.
[15] 王爽,兰楠,杨洋博君,等. 复方麦芽丸对来曲唑诱导的多囊卵巢综合征大鼠模型卵巢ER α 和ER β 表达的影响[J]. 中南大学学报:医学版,2016,41(2):134-142.
[16] 李明明,潘文,康开彪. 不同造模方法对大鼠多囊卵巢综合征伴胰岛素抵抗模型的影响[J]. 西部中医药,2015,28(4):11-14.
[17] 杨柳,郭钦源. 中医药治疗多囊卵巢综合征高雄激素血症的研究进展[J]. 湖南中医杂志,2016,32(6):195-197.
[18] 郭银华,谈勇,邹奕洁. 补肾促排卵汤对多囊卵巢综合征模型大鼠卵巢形态及性激素的影响[J]. 中国比较医学杂志,2016,26(12):27-31.

[责任编辑 刘德文]