

王晓武,李子林,马继鹏,等. 卵巢切除与老龄两种动物模型在研究 GPR30 心肌保护机制中的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(8): 1-7.

Wang XW, Li ZL, Ma JP, et al. Comparison of two animal models establishing by ovariectomy and aging to study the myocardial protective mechanism of GPR30 [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(8): 1-7.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.08.001

卵巢切除与老龄两种动物模型在研究 GPR30 心肌保护机制中的比较

王晓武,李子林,马继鹏,张帅帅,王晓亚,洪紫薇,刘金成*

(空军军医大学第一附属医院心血管外科,西安 710032)

【摘要】 目的 通过比较卵巢切除 (ovariectomized, OVX) 及老龄 (Old) 两种模型的心血管相关指标,明确模拟雌激素缺乏的两种模型的相同点及不同点,为研究 G 蛋白偶联受体 30 (G protein-coupled receptor 30, GPR30) 的心肌保护机制选取合适的动物模型提供依据。**方法** 建立 OVX 和 Old 两种动物模型,通过超声心动图、ELISA、Western blot、形态学以及透射电镜等方法,比较各组的心功能、雌激素水平、心肌组织雌激素受体水平、心肌纤维化程度以及心肌组织线粒体变化。**结果** OVX 组的心脏功能、雌激素水平及雌激素受体蛋白水平具有时间依赖性,OVX-8W 的心脏功能显著低于正常对照组,雌激素水平及雌激素受体蛋白水平呈持续性下降;Old 组的心脏功能显著低于正常对照组及 OVX 组,雌激素水平以及雌激素受体蛋白水平均显著低于正常对照组及 OVX-4W 组;Old 模型组可见明显的心肌纤维化,心肌细胞显著变大,心体比显著增高,心肌细胞线粒体结构肿胀变形、嵴断裂,有空泡化。**结论** OVX 及 Old 两种动物模型均可成功模拟雌激素水平降低。在与纤维化相关的心肌梗死、心力衰竭以及线粒体等能量代谢的相关研究中,建议选择 Old 动物模型;如果选择 OVX 模型,建议实验观察终点在 OVX 后 4 周以上;雌激素与血压、肥胖、缺血再灌等研究建议选择 OVX 模型。

【关键词】 动物模型;G 蛋白偶联受体 30;心肌保护;卵巢切除术;老龄

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 08-0001-07

Comparison of two animal models establishing by ovariectomy and aging to study the myocardial protective mechanism of GPR30

WANG Xiaowu, LI Zilin, MA Jipeng, ZHANG Shuaishuai, WANG Xiaoya, HONG Ziwei, LIU Jincheng*

(Department of Cardiovascular Surgery, First Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710032, China)

【Abstract】 Objective To clarify the similarities and differences between two models simulating estrogen deficiency by comparing cardiovascular indicators of Ovariectomized (OVX) and Old animals, and to provide evidence to study the myocardial protective mechanism of estrogen receptor G protein-coupled estrogen receptor 30 (GPR30) in selected animal models. **Methods** OVX and Old animal models were established. Echocardiography, ELISA, Western blot, morphology, and transmission electron microscopy were used to compare the cardiac functions, estrogen level, estrogen receptor protein level in myocardial tissue, myocardial fibrosis, and mitochondrial changes in myocardial tissue. **Results** The cardiac functions, estrogen level, and estrogen receptor protein level in the OVX group were dependent on time. Cardiac functions in the OVX-8W group were significantly lower than those in the control group, and the estrogen and

【基金项目】 国家自然科学基金 (82070264, 82270420); 陕西省重点研发计划项目 (2022ZDLSF01-09, 2022ZDLSF02-01)。

【作者简介】 王晓武 (1972—), 女, 高级实验师, 研究方向: 雌激素的心肌保护作用。E-mail: 1774754900@qq.com

【通信作者】 刘金成 (1969—), 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 冠心病外科治疗及基础研究。E-mail: liujch@fmmu.edu.cn

estrogen receptor protein levels were decreased continuously. Cardiac functions in the Old model group were significantly lower than those in control and OVX groups, and the levels of estrogen and estrogen receptor protein were significantly lower than those in control and OVX-4W groups. In the Old model group, obvious myocardial fibrosis was observed, and myocardial cells were significantly enlarged. The heart-to-body ratio was significantly increased, and the mitochondrial structure in myocardial cells was swollen and deformed. Mitochondrial cristae were broken, and vacuolation was observed.

Conclusions Both OVX and Old animal models successfully simulate the decrease in the estrogen level. To study fibrosis related to myocardial infarction and heart failure, and conduct research related to mitochondria and other energy metabolism, it is recommended to choose the Old animal model. If the OVX model is selected, it is recommended that the experimental observation endpoint is more than 4 weeks after OVX. Studies on estrogen, blood pressure, obesity, ischemia and reperfusion should use the OVX model.

【Keywords】 animal model; G protein-coupled receptor 30; myocardial protection; ovariectomy; ageing

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

雌激素对于维持机体生殖、心血管、骨骼以及神经系统正常功能,以及免疫稳态、葡萄糖稳态等方面是不可或缺的^[1]。机体处于不同年龄段,雌激素的表达量、组织分布和受体亲和力均会发生变化,从而影响机体的健康状况^[2]。雌激素水平降低会增加老年女性心肌纤维化程度,诱导心力衰竭。临床数据显示,雌激素疗法未能达到理想的疗效,并且还有卒中等风险,而激活雌激素受体能够发挥心肌保护作用。

G 蛋白偶联受体 30(G protein-coupled receptor 30, GPR30)是一种 7 次跨膜雌激素受体蛋白,通过非基因组信号路径发挥生理,相比较于传统的核受体(ER- α 和 ER- β),传导速度更快^[3]。GPR30 能够减轻心肌损伤,发挥心肌保护作用。目前主要通过卵巢切除及老龄的两种方式建立雌激素水平降低的动物模型。本研究主要通过比较这两种模型的心血管相关指标,明确模拟雌激素缺乏的两种模型的相同点及不同点,为研究 GPR30 的心肌保护机制选取合适的动物模型提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

60 只 SPF 级 C57BL/6 雌性小鼠,其中 45 只 7~8 周龄,体重(22 $\pm$ 2)g;15 只 20 月龄,体重(23 $\pm$ 2)g,均来源于空军军医大学实验动物中心[SCXK(陕)2019-001]。所有动物实验在空军军医大学实验动物中心 SPF 区域进行[SYXK(陕)2019-001]。本实验符合空军军医大学动物实验伦理要求(20200308),并按 3R 原则给予人道的关怀。

1.2 主要试剂与仪器

异氟烷(瑞沃德生命科技有限公司,批号:21062701);检测雌二醇 ELISA 试剂盒(碧云天生

物,PE223)。Vevo 2100 小动物超声仪(加拿大 Visual Sonics 公司);酶标仪(美国 Spectra Max M5);蛋白印迹系统(美国 Bio Rad);透射电镜(日本 Hitachi HT7800)。

1.3 实验方法

1.3.1 制备动物模型方法

动物分为 4 组:其中 45 只 7~8 周龄 C57BL/6 雌性小鼠随机平均分为 3 组:正常对照(Control)组、卵巢切除术(Ovariectomy, OVX)后 4 周(OVX-4W)组以及卵巢切除后 8 周(OVX-8W)组;15 只 20 月龄 C57BL/6 雌性小鼠为老年(Old)组。

OVX 是在小鼠背部切口摘除卵巢。如文献所述^[4],异氟烷麻醉小鼠后,在小鼠背部正中切开与身体纵轴方向一致的小切口(与卵巢位置水平),用弯镊分别探取子宫左右角,充分暴露视野,完全切除左右两侧卵巢;术后用 6-0 的丝线依次缝合肌肉组织及皮肤。将动物放于保温毯上,直至苏醒并能自由活动。

1.3.2 小动物超声仪测量小鼠心脏功能,并测量心脏/体重比

使用 Vevo 2100 小动物超声仪检测各组小鼠心脏功能。异氟烷麻醉 C57BL/6 小鼠后胸腹部脱毛,将小鼠仰卧位固定在鼠板中央,四肢固定于涂有导电膏的 4 个金属电极上^[5]。选用 MS400 探头检测小鼠心脏左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室收缩功能(left ventricular systolic function, LVFS)。测量各组小鼠体重(g)及心脏重量(mg),比较各组心脏重量/体重的比值。

1.3.3 ELISA 检测小鼠血清雌激素水平

异氟烷麻醉小鼠后,通过腹主动脉采集血液样本,离心,收集血清。血清雌二醇含量用 ELISA 试剂盒测定。检测前将所制备的血清样品和检测雌

二醇 ELISA 试剂盒放至室温。按照试剂盒的操作要求,将 25 μ L 的血清、对照溶液及标准品溶液分别加入酶标板,37 $^{\circ}$ C 水浴 2 h。冲洗 3 次,加入 100 μ L TMB 底物,室温避光孵育 30 min,加入终止液,轻摇,15 min 内用酶标仪(Spectra Max M5)测量样品在 450 nm 处的吸光度。制作标准曲线,计算样品雌二醇的含量。

1.3.4 Western blot 法检测小鼠心肌组织雌激素受体蛋白水平变化

采用 Western blot 法检测小鼠心肌组织 ER- α 、ER- β 及 GPR30 蛋白水平变化。如前所述^[6],使用带有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液提取心肌和细胞的蛋白质样品,用 8%~12%的 SDS-PAGE 胶进行电泳分离,然后电转到 PVDF 膜上(Millipore)。在室温下用含 5%脱脂奶粉的 TBS 缓冲液中封闭膜 2 h,然后在 4 $^{\circ}$ C 下孵育一抗 GPR30(1 : 1000)、ER- α (1 : 1000)、ER- β (1 : 1000) 及 GAPDH(1 : 1000)过夜。在室温下将膜与相应的辣根过氧化物酶二抗(1 : 5000)孵育 2 h。使用化学发光试剂(Millipore)在化学发光仪中测量条带信号强度,使用 Image Lab 软件(美国 Bio Rad Laboratories)分析数据。

1.3.5 检测各组小鼠心脏组织形态和纤维化程度

通过对各组小鼠心脏组织切片进行 HE 染色,观察各组心脏组织形态学变化;进行 Masson 染色,观察各组心脏组织纤维化程度;进行 WAG 染色,观察各组心脏组织心肌细胞面积的变化。

1.3.6 电镜检测各组小鼠心脏组织线粒体变化

动物依次灌注 4 $^{\circ}$ C 的 0.9% NaCl 和 4%多聚甲醛后,取心脏,用锋利的双面刀在左室游离壁处取材。将左室心肌制备成 1 mm³ 的小块组织,固定于 4 $^{\circ}$ C 的 4%戊二醛磷酸缓冲液中,24 h 后脱水、浸透、包埋,制备 0.5~2 μ m 半薄切片定位;再制备超 50~70 nm 薄切片,经铅-铀染色后在透射电镜下观察心肌细胞线粒体超微结构。

1.4 统计学方法

实验数据采用 GraphPadPrism 5.1 软件进行统计学分析。实验数据以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,各组之间的数据统计学差异采用 Student *t* 检验方法,以 *P*<0.05 为差异有显著性。

2 结果

2.1 各组小鼠心脏功能的比较

小鼠超声结果显示,OVX 及 Old 模型组的心脏

功能发生了变化(图 1A)。数据显示,与正常对照组比较,OVX-4W 组 C57BL/6 小鼠的心脏功能指标 LVEF 有下降趋势;OVX-8W 组的 LVEF 显著低于正常对照组(*P*<0.01);Old 组的 LVEF 下降比较明显,显著低于正常对照组(*P*<0.001)及 OVX-4W 组(*P*<0.05)(图 1B)。OVX-8W 组的 LVFS 显著低于正常对照组;Old 组的 LVFS 显著低于正常对照组(*P*<0.001)及 OVX-4W 组(图 1C)。

2.2 各组小鼠雌激素水平的比较

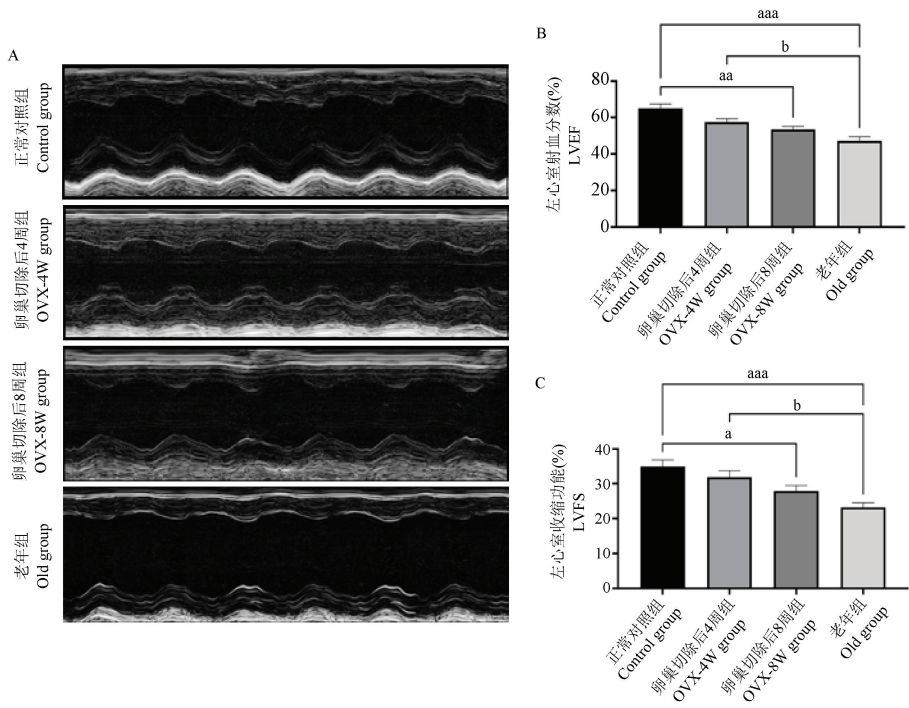
ELISA 检测结果显示,各组小鼠血清雌二醇含量均有显著变化。与正常对照组相比,OVX-4W 组(*P*<0.01)、OVX-8W 组(*P*<0.01)及 Old(*P*<0.01)组的血清中雌二醇含量均显著下降;OVX-8W 组的雌二醇显著低于 OVX-4W 组(*P*<0.01);Old 组的雌二醇显著低于 OVX-8W 组(*P*<0.01)(表 1)。

2.3 各组小鼠雌激素受体蛋白水平变的比较

Western blot 结果显示,OVX 及 Old 模型组的心脏组织中雌激素受体蛋白水平与正常对照组比较均有变化(图 2A)。OVX-8W 组 GPR30 的表达显著低于正常对照组(*P*<0.01)及 OVX-4W 组(*P*<0.01);Old 组的表达量显著低于正常对照组(*P*<0.001)、OVX-4W 组(*P*<0.001)及 OVX-8W 组(*P*<0.05)(图 2B)。OVX-8W 组 ER- α 的表达显著低于正常对照组(*P*<0.01)及 OVX-4W 组(*P*<0.01);Old 组 ER- α 的表达量显著低于正常对照组(*P*<0.001)、OVX-4W 组(*P*<0.001)及 OVX-8W 组(*P*<0.001)(图 2C)。OVX-8W 组 ER- β 的表达显著低于正常对照组(*P*<0.01)及 OVX-4W 组(*P*<0.05);Old 组 ER- β 的表达量显著低于正常对照组(*P*<0.001)、OVX-4W 组(*P*<0.001)及 OVX-8W 组(*P*<0.05)(图 2D)。

表 1 不同组动物血清雌二醇含量($\bar{x}\pm s, n=15$) Table 1 Serum estradiol content in different groups	
组别 Groups	雌二醇含量 (pg/mL) Estradiol content
正常对照组 Control group	22.56
卵巢切除后 4 周组 OVX-4W group	15.33 ^a
卵巢切除后 8 周组 OVX-8W group	10.34 ^{ab}
老年组 Old group	5.42 ^{abc}

注:与正常对照组比较,^a*P*<0.01;与卵巢切除后 4 周组比较,^b*P*<0.01;与卵巢切除后 8 周组比较,^c*P*<0.05。
Note. Compared with Control group, ^a*P*<0.01. Compared with OVX-4W group, ^b*P*<0.01. Compared with OVX-8W group, ^c*P*<0.05.

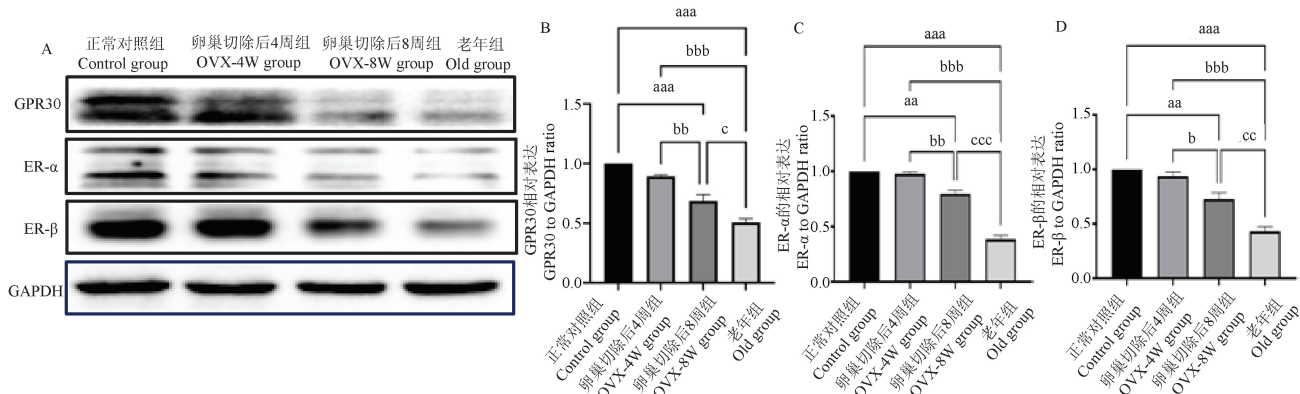


注:A:各组心脏超声结果;B:左心室射血分数;C:左心室收缩功能。与正常对照组比较, ^a $P<0.05$, ^{aa} $P<0.01$, ^{aaa} $P<0.001$;与卵巢切除后4周组比较, ^b $P<0.05$ 。

图1 各组间心脏功能的变化

Note. A, Cardiac ultrasound results in each group. B, LVEF. C, LVFS. Compared with Control group, ^a $P<0.05$, ^{aa} $P<0.01$, ^{aaa} $P<0.001$. Compared with the OVX-4W group, ^b $P<0.05$.

Figure 1 Changes in cardiac function between groups



注:A:各组雌激素受体相关蛋白表达;B:GPR30 相对表达;C:ER-α 的相对表达;D:ER-β 的相对表达。与正常对照组比较, ^{aa} $P<0.01$, ^{aaa} $P<0.001$;与卵巢切除后4周组比较, ^b $P<0.05$, ^{bb} $P<0.01$, ^{bbb} $P<0.001$;与卵巢切除后8周组比较, ^c $P<0.05$, ^{cc} $P<0.01$, ^{ccc} $P<0.001$ 。

图2 各组间心脏组织雌激素受体相关蛋白表达变化

Note. A, Estrogen receptor-related protein expression in each group. B, GPR30 to GAPDH ratio. C, ER-α to GAPDH ratio. D, ER-β to GAPDH ratio. Compared with Control group, ^{aa} $P<0.01$, ^{aaa} $P<0.001$. Compared with the OVX-4W group, ^b $P<0.05$, ^{bb} $P<0.01$, ^{bbb} $P<0.001$. Compared with the OVX-8W group, ^c $P<0.05$, ^{cc} $P<0.01$, ^{ccc} $P<0.001$.

Figure 2 Changes of estrogen receptor-related protein expression in heart tissues between groups

2.4 各组小鼠心肌细胞体积大小、心脏组织纤维化程度以及心脏/体重比的比较

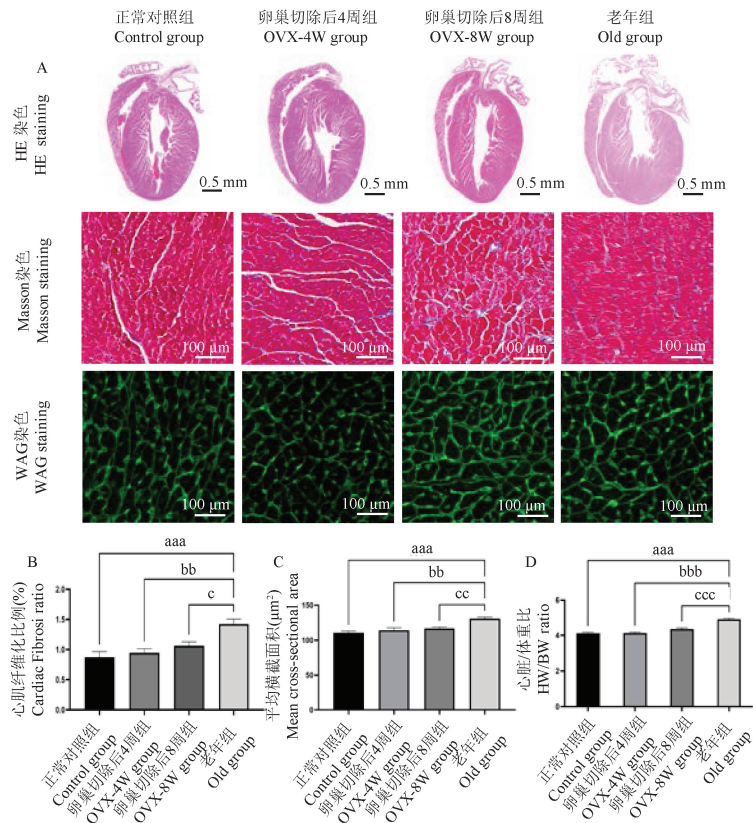
OVX 及 Old 组的形态学相关指标不同组间有

差异(图 3A)。HE 结果可见,OVX-4W、OVX-8W 及 Old 组心脏大小与正常对照组比较均有所增加,其中 Old 组心脏大小变化较明显,心室壁增厚较明显,

心肌组织较为疏松。Masson 结果显示,Old 组心肌组织纤维化程度增高,纤维化程度显著高于正常对照组($P<0.001$)、OVX-4W($P<0.01$)及 OVX-8W($P<0.05$)(图 3B)。WAG 结果显示,Old 组心肌细胞体积增大,心肌细胞横截面积显著高于正常对照组($P<0.001$)、OVX-4W($P<0.01$)及 OVX-8W($P<$

0.05)(图 3C);数据显示,OVX-4W 及 OVX-8W 心体比值与正常对照组无显著差异;Old 组心体比值显著高于 OVX-4W($P<0.001$)、OVX-8W($P<0.001$)及 Old($P<0.001$)(图 3D)。

2.5 各组小鼠心脏组织线粒体超微结构的比较透射电镜结果显示(图4),正常对照组C57BL/



注:A:心肌组织形态学变化;B:心肌纤维化比例;C:平均横截面积;D:心脏/体重比。与正常对照组比较,^{aaa} $P<0.001$;与卵巢切除后4周组比较,^{bb} $P<0.01$,^{bbb} $P<0.001$;与卵巢切除后8周组比较,^c $P<0.05$,^{cc} $P<0.01$,^{ccc} $P<0.001$ 。

图3 各组间心脏组织形态学及心体比值变化

Note. A, Myocardial historphologic changes. B, Cardiac fibrosis ratio. C, Mean cross-sectional area. D, HW/BW ratio. Compared with Control group, ^{aaa} $P<0.001$. Compared with the OVX-4W group, ^{bb} $P<0.01$, ^{bbb} $P<0.001$. Compared with the OVX-8W group, ^c $P<0.05$, ^{cc} $P<0.01$, ^{ccc} $P<0.001$.

Figure 3 Changes of cardiac histomorphology and heart-body ratio among all groups

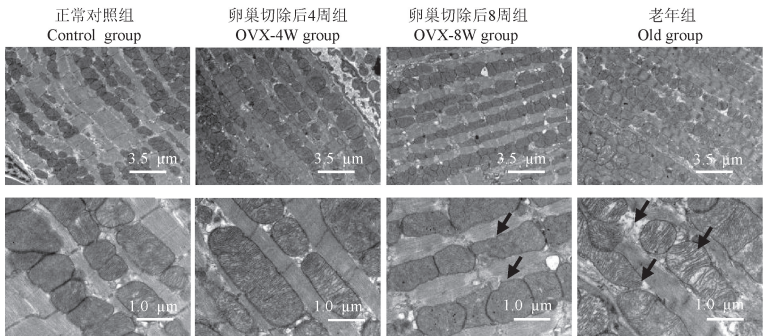


图4 电镜观察各组心脏组织心肌细胞线粒体超微结构

Figure 4 Mitochondrial ultrastructure of myocardial cells in each group was observed by electron microscopy

6 小鼠左心室心肌细胞线粒体结果清晰,嵴板呈层状;与正常对照组比较,OVX 术后 4 周组 C57BL/6 小鼠左心室心肌细胞线粒体未发生明显改变;OVX 术后 8 周组 C57BL/6 小鼠左心室心肌细胞线粒体结构呈现不规则排列;20 月龄老年组 C57BL/6 小鼠左心室心肌细胞线粒体结构肿胀变形、嵴断裂,有空泡化。

3 讨论

流行病学数据及临床研究表明,绝经前的女性患心血管疾病的发生概率低于同龄男性和绝经后女性^[7-8],提示雌激素缺乏可增加女性的心血管疾病风险。雌激素具有抗氧化、抗凋亡和抗炎作用^[9],然而直接补充雌激素在临床上并未取得预期效果,同时还出现高血压等并发症^[10]。雌激素受体激活后亦可发挥类雌激素作用,可以通过调控细胞增殖对抗凋亡和炎症反应^[11]。

建立与人类疾病接近的动物模型是研究心血管相关疾病的发病机理、预防及治疗的基础^[12-14]。目前已有的研究中主要通过卵巢切除及老龄的两种方式建立雌激素水平降低的动物模型,但这两种动物模型的适用范围尚不明确。因此,阐明两种动物模型的特点,为雌激素与心血管相关研究选择合适的动物模型提供依据,对阐明雌激素发挥心血管保护作用的机理具有重要的意义。

本研究结果显示,老年组的雌激素水平、雌激素受体表达量显著低于正常对照组,心肌细胞体积显著增大,线粒体的结构、排列都发生显著变化,从而诱导老龄鼠在心脏功能显著下降,心肌纤维化程度显著增加。以上老龄鼠的各项指标,以及心脏功能、心肌纤维化程度更接近临床老年患者,因此选择老年鼠模型模拟老年女性雌激素缺乏更符合临床特点。Azizian 等^[15]选择老年动物模型研究雌激素对心脏保护作用,研究结果表明,GPR30 表达和信号传导的改变可能导致老年女性的血管功能障碍和高血压男性的血压升高。雌激素缺乏能够诱导许多脏器的纤维化,尤其可以增加心血管系统的纤维化程度^[16]。本课题组在选择老年小鼠模拟雌激素缺乏的研究中发现,GPR30 激活通过抑制 ERK 介导的 MMP-9 表达来抑制老年雌性小鼠心肌纤维化并保护心脏功能^[6]。

然而,与人类女性绝经后年龄 56 岁对应雌性老龄鼠的鼠龄是 20 月龄^[17],建立雌激素缺乏的老龄

鼠模型与卵巢切除模型相比较具有耗时长,投入经费、人力多等不足,因此许多研究选择卵巢切除模拟雌激素缺乏的动物模型。

在雌激素与心肌纤维化的相关研究中,本课题组的研究结果显示,激活雌激素受体 GPR30 可通过抑制心脏组织 iNOS 活性而降低 NO 水平,能够减轻糖尿病 OVX 雌性大鼠的心肌纤维化^[18]。我们的观察发现,GPR30 通过激活 PI3K/AKT 通路来减少 OVX 小鼠的心肌梗死面积和纤维化^[19],Liu 等^[20]选择卵巢切除后 6 周动物模型研究雌激素 GPR30 对心脏保护作用,研究显示 GPR30 是抑制 OVX 小鼠心房纤维化的潜在治疗靶点。

在研究雌激素与血压、肥胖、缺血再灌等相关研究中,选用卵巢切除动物模型能够更客观地观察到雌激素发挥的生物学效应,而不受老龄因素的干扰。Haas 等^[21]研究发现,选择性激动 GPR30,可引起正常血压大鼠的血压急剧降低,并扩张啮齿动物和人的动脉血管。激动雌激素受体可阻止血管收缩剂引起的细胞内钙浓度和血管紧张度变化,以及血清刺激的人类血管平滑肌细胞增殖^[22]。小鼠中 GPR30 基因的缺失消除了 GPR30 激活的血管作用,并与内脏肥胖有关。这些发现提示了雌激动激素受体在预防心血管疾病和肥胖症中的新作用。Feng 等^[23]观察了激动 GPR30 对心肌缺血/再灌注损伤的影响及机制,研究结果显示心肌缺血/再灌注后激动 GPR30 通过减少线粒体吞噬作用保护线粒体结构完整性和功能,诱导了男性和女性对缺血/再灌注损伤的心脏保护作用。当然,如果探讨雌激素对老年女性的血压、肥胖以及缺血/再灌注损伤的影响,选择卵巢切除模型为研究对象则更为合适。

因此,在有关 GPR30 发挥心肌保护机制的研究中,在进行动物模型的选择时应多考虑实验研究关注的是哪些方面,根据卵巢切除模型与老龄模型这两种动物模型的异同点,选择适合的动物模型,避免因选择不合适的动物模型影响研究结果。

参考文献:

- [1] Luo J, Liu D. Does GPER really function as a G protein-coupled estrogen receptor *in vivo*? [J]. Front Endocrinol, 2020, 11: 148.
- [2] Patel S, Homaei A, Raju AB, et al. Estrogen: The necessary evil for human health, and ways to tame it [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 102: 403-411.
- [3] Prossnitz ER, Barton M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease [J]. Nat Rev Endocrinol,

- 2011, 7(12): 715-726.
- [4] Wappler EA, Felszeghy K, Szilágyi G, et al. Neuroprotective effects of estrogen treatment on ischemia-induced behavioural deficits in ovariectomized gerbils at different ages [J]. Behav Brain Res, 2010, 209(1): 42-48.
- [5] 夏麟, 王晓武, 段维勋, 等. 小动物超声在小鼠胸主动脉瘤/夹层模型中的诊断作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(12): 61-66.
- [6] Wang X, Ma J, Zhang S, et al. G protein-coupled estrogen receptor 30 reduces transverse aortic constriction-induced myocardial fibrosis in aged female mice by inhibiting the ERK1/2-MMP-9 signaling pathway [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 731609.
- [7] Writing Group Members, Mozaffarian D, Benjamin EJ, et al. Heart disease and stroke statistics-2016 update: a report from the American heart association [J]. Circulation, 2016, 133(4): e38-e360.
- [8] Appiah D, Schreiner PJ, Demerath EW, et al. Association of age at menopause with incident heart failure: a prospective cohort study and meta-analysis [J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(8): e003769.
- [9] Klinge CM. Estrogens regulate life and death in mitochondria [J]. J Bioenerg Biomembr, 2017, 49(4): 307-324.
- [10] Singh R, Nasci VL, Guthrie G, et al. Emerging roles for G protein-coupled estrogen receptor 1 in cardio-renal health: implications for aging [J]. Biomolecules, 2022, 12(3): 412.
- [11] Prossnitz ER, Barton M. Estrogen biology: new insights into GPER function and clinical opportunities [J]. Mol Cell Endocrinol, 2014, 389(1-2): 71-83.
- [12] Quader M, Cholyway R, Wickramaratne N, et al. Refining murine heterotopic heart transplantation: a model to study ischemia and reperfusion injury in donation after circulatory death hearts [J]. Animal Model Exp Med, 2021, 4(3): 283-296.
- [13] Nguyen-Truong M, Liu W, Boon J, et al. Establishment of adult right ventricle failure in ovine using a graded, animal-specific pulmonary artery constriction model [J]. Animal Model Exp Med, 2020, 3(2): 182-192.
- [14] 丁怡铭, 高杰, 邢元铭, 等. 小鼠心肌梗死模型的建立及系统性评价 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(7): 873-879.
- [15] Azizian H, Khaksari M, Asadi Karam G, et al. Cardioprotective and anti-inflammatory effects of G-protein coupled receptor 30 (GPR30) on postmenopausal type 2 diabetic rats [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 108: 153-164.
- [16] 洪紫薇, 张帅帅, 刘金成. G 蛋白偶联受体 30 的特点及其在纤维化疾病中的作用机制 [J]. 中国病理生理杂志, 2022, 38(2): 370-374.
- [17] 秦川. 医学实验动物学 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2021.
- [18] Wang X, Tan Y, Xu B, et al. GPR30 attenuates myocardial fibrosis in diabetic ovariectomized female rats: role of iNOS signaling [J]. DNA Cell Biol, 2018, 37(10): 821-830.
- [19] Wang X, Lu L, Tan Y, et al. GPR 30 reduces myocardial infarct area and fibrosis in female ovariectomized mice by activating the PI3K/AKT pathway [J]. Life Sci, 2019, 226: 22-32.
- [20] Liu D, Zhan Y, Ono K, et al. Pharmacological activation of estrogenic receptor G protein-coupled receptor 30 attenuates angiotensin II-induced atrial fibrosis in ovariectomized mice by modulating TGF- β 1/smad pathway [J]. Mol Biol Rep, 2022, 49(7): 6341-6355.
- [21] Haas E, Bhattacharya I, Brailoiu E, et al. Regulatory role of G protein-coupled estrogen receptor for vascular function and obesity [J]. Circ Res, 2009, 104(3): 288-291.
- [22] Machuki JO, Zhang HY, Geng J, et al. Estrogen regulation of cardiac cAMP-L-type Ca^{2+} channel pathway modulates sex differences in basal contraction and responses to β_2 AR-mediated stress in left ventricular apical myocytes [J]. Cell Commun Signal, 2019, 17(1): 34.
- [23] Feng Y, Madungwe NB, da Cruz Junho CV, et al. Activation of G protein-coupled oestrogen receptor 1 at the onset of reperfusion protects the myocardium against ischemia/reperfusion injury by reducing mitochondrial dysfunction and mitophagy [J]. Br J Pharmacol, 2017, 174(23): 4329-4344.

[收稿日期] 2022-12-02