

谢海纳,潘志强,曹琳娜. 双侧卵巢切除术和他莫昔芬给药诱发的潮热模型大鼠证候评价 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(12): 1545-1554.

Xie HN, Pan ZQ, Cao LN. Evaluation of hot-flash model rats induced by bilateral oophorectomy and tamoxifen administration [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(12): 1545-1554.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.12.004

双侧卵巢切除术和他莫昔芬给药诱发的潮热模型大鼠证候评价

谢海纳,潘志强*,曹琳娜

(上海中医药大学中医学院,上海 201203)

【摘要】 目的 探索用于妇女潮热现象研究的证候动物模型。**方法** 24 只雌性 SD 大鼠随机分为假手术组、双侧卵巢切除组和他莫昔芬组,每组 8 只,分别采用双侧卵巢切除术和灌胃 10 mg/(kg·d)他莫昔芬模拟两种潮热动物模型。在造模第 14 和 28 天,检测大鼠旷场活动、肛温、体表红外热像图等表征信息。第 29 天处死大鼠,取子宫称重并制作病理切片;ELISA 检测血液雌二醇与儿茶酚胺类物质含量;RT-qPCR 检测肾上腺性激素合成酶(Star、Cyp11a1、Cyp17a1、Cyp19a1、Por、Hsd3b2、Hsd17b1)基因表达,肾上腺髓质儿茶酚胺物质合成酶(Th、Ddc、Dbh、Pnmt)基因表达。**结果** 与假手术组相比,双侧卵巢切除组大鼠体重增长显著($P < 0.01$),而他莫昔芬组大鼠体重增长缓慢。双侧卵巢切除组大鼠体表最高温度在第 28 天显著下降($P < 0.01$),类似于阳虚表现,而其腹部最高温度与最低温度之差在第 14 天显著升高($P < 0.05$)、背部最高温度与最低温度之差在第 28 天显著升高($P < 0.01$),类似于内热表象,且大鼠旷场活动度下降($P < 0.01$),类似于精气不足表现;他莫昔芬组大鼠给药 14 d 其体表最高温度显著下降($P < 0.01$),但大鼠旷场活动度上升($P < 0.01$)。两种造模方式均导致大鼠子宫指数呈明显下降($P < 0.01$)。与假手术组相比,双侧卵巢切除组和他莫昔芬组 E2 均显著下降($P < 0.01$),NE、Epi 均呈降低趋势($P < 0.05$),双侧卵巢切除组 β -EP 也明显下降($P < 0.05$);与假手术组相比,双侧卵巢切除大鼠肾上腺 Cyp11a1 基因表达显著上升($P < 0.05$),而 Cyp17a1 与 Hsd17b1 基因表达显著下降($P < 0.05$);他莫昔芬组 Star 与 Por 基因表达显著上升($P < 0.01$),而 Cyp17a1 基因表达量明显下降($P < 0.01$);双侧卵巢切除组 Pnmt 基因表达显著下调($P < 0.01$)。**结论** 双侧卵巢切除 SD 大鼠可以用于围绝经期潮热的研究,其证候特征类似于中医的肾阳不足兼阴虚内热。

【关键词】 潮热;双侧卵巢切除;他莫昔芬;动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 12-1545-10

Evaluation of hot-flash model rats induced by bilateral oophorectomy and tamoxifen administration

XIE Haina, PAN Zhiqiang*, CAO Linna

(School of Traditional Chinese Medical, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Corresponding author: PAN Zhiqiang. E-mail: pzq527@163.com

【Abstract】 Objective To explore the animal model of syndrome used in the study of hot flash phenomenon in women. **Methods** Twenty-four female SD rats were divided randomly into three groups: Con group, Ovx group, and

【基金项目】上海市科委项目(19140905000)。

Funded by Shanghai Science and Technology Commission Project (19140905000).

【作者简介】谢海纳(1994—),女,在读博士研究生,研究方向:中医基础实验研究。Email:xhn2021@163.com

【通信作者】潘志强(1977—),男,教授,博士,博士生导师,研究方向:实验中医教学与中医基础实验研究。Email:pzq527@163.com

tamoxifen group ($n = 8$ rats per group). Hot flashes were induced by bilateral oophorectomy and intragastric tamoxifen $10 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, respectively. Open-field activity, anal temperature, and body surface infrared thermograms were detected on model days 14 and 28. The rats were then killed on day 29 and their uteruses were removed, weighed, and sectioned. Blood estradiol and catecholamine levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Gene expression levels of adrenal sex hormone synthetases (Star, Cyp11a1, Cyp17a1, Cyp19a1, Por, Hsd3b2, Hsd17b1) and catecholamine synthetases (Th, Ddc, Dbh, Pnmt) in the adrenal medulla were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction. **Results** Rat body weight was significantly higher in the Ovx group compared with Con group ($P < 0.01$), while body weight increased slowly in the tamoxifen group. The maximum body surface temperature was significantly decreased on day 28 in the Ovx group ($P < 0.01$), the difference between the maximum and minimum abdominal temperatures was significantly increased on day 14 ($P < 0.05$), the difference between the maximum and minimum temperatures on the back was significantly increased on day 28 ($P < 0.01$), and the open-field activity was decreased ($P < 0.01$). Compared with the sham operation group, the maximum body surface temperature in the tamoxifen group was significantly decreased ($P < 0.01$) but the open-field activity was increased ($P < 0.01$). The uterine index was significantly decreased in both models ($P < 0.01$). Estradiol levels were significantly decreased ($P < 0.01$) and NE and epinephrine were also significantly decreased in the Ovx group compared with Con group ($P < 0.05$), and β -EP was also significantly decreased in Ovx group ($P < 0.05$). Adrenal Cyp11a1 gene expression was significantly increased ($P < 0.05$) while Cyp17a1 and Hsd17b1 gene expression levels were significantly decreased ($P < 0.05$) in bilateral ovariectomized rats compared with Con group. Compared with Con group, gene expression levels of Star and Por were significantly increased ($P < 0.01$) while Cyp17a1 gene expression was significantly decreased ($P < 0.01$) in the tamoxifen group, and Pnmt gene expression was significantly down-regulated in Ovx group ($P < 0.01$). **Conclusions** Bilateral ovariectomized rats can be used for the study of perimenopausal hot flashes, which resemble kidney Yang and Yin deficiency in traditional Chinese medicine.

【Keywords】 hot flash; bilateral ovariectomy; tamoxifen; animal model

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

潮热是临床较常见的症状,主要发生于妇女围绝经期及乳腺癌内分泌治疗过程中^[1-2]。现代医学认为潮热发生与雌激素水平下降关系密切,激素补充治疗被认为是治疗潮热的金标准,然而使用激素对乳腺、子宫内膜、心血管均存在潜在的风险^[3-4],患者普遍存在对激素制剂的恐惧和误解,降低了激素治疗的依从性。祖国传统中医学认为潮热与肝肾藏象有关,是阴虚证的表现^[5-6],中医药对改善潮热现象具有一定的优势,然而中药作用机制的阐明有赖于合适的动物模型。基于此,本研究以SD大鼠为受试对象,观察卵巢切除与灌胃他莫昔芬两种模型大鼠是否出现潮热现象及其可能的中医证候类型,为中药复方药效研究提供合适的动物模型。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

24只12周龄SPF级雌性SD大鼠,体重230~250g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司【SCXK(沪)2022-0004】。室温22~25℃,湿度

40%~70%,12h明暗交替,予以常规普通饲料喂养以及自由饮水,饲养于上海中医药大学实验动物中心SPF级饲养室【SYXK(沪)2020-0009】。本实验方案遵守上海中医药大学实验动物伦理委员会要求(PZSHUTCM220124016)。

1.1.2 主要试剂与仪器

他莫昔芬购自上海国药集团化学试剂有限公司(批号20220831);苏木素-伊红染色液购自上海碧云天生物技术有限公司(货号C0105M-1);RNAiso Plus、PrimeScript® RT reagent Kit、SYBR® Premix Ex Taq™(TliRNaseH Plus)Ⅱ购自宝生物工程(大连)有限公司(B21703);大鼠ELISA试剂盒(E2、NE、Epi、 β -EP、DA、5-HT)购自BioSwamp(货号RA20666、RA20557、RA20337、RA20683、RA20050、RA20031);大鼠Star、Cyp11a1、Cyp17a1、Cyp19a1、Por、Hsd3b2、Hsd17b1、Th、Ddc、Dbh、Pnmt、Gapdh基因引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。

旷场笼底部铺设透明塑料板(课题组自制),ThermaCAM P30红外热像仪(FLIR公司,美国),WMY-01数字温度计(上海),酶标仪(BioTek,美国),7500 Fast型实时荧光定量PCR仪(ABI,美国)。

1.2 方法

1.2.1 分组

雌性大鼠适应性饲养 1 周后,随机设置 3 组,分别为假手术组 8 只、双侧卵巢切除组 8 只、他莫昔芬组 8 只。

1.2.2 造模

将大鼠麻醉固定后,剃去腹部毛发,纵向切开下腹部皮肤约 1 cm,拨开皮肤和脂肪,在腹腔深处先找到大鼠子宫,形态呈“Y”形,再用组织镊沿着 Y 字子宫分叉处向上提出粉红色的团块,形状呈桑葚样,表面有不规则的结节,被周围的白色脂肪包裹。用手术线结扎输卵管后,剪去完整卵巢组织,随后将其余部分送入腹腔(假手术组仅剪去少量脂肪)。最后进行 2 层缝合,再用红霉素软膏涂抹伤口处消炎。术后第 2 天开始每天相同时间进行连续阴道涂片 5 d,光镜下观察涂片中细胞的形态、数量及分布,拍照,当镜下连续出现大量白细胞、且有核上皮细胞和无核上皮细胞数量较少时,类似于动情间期的表现,提示大鼠去势造模成功。确认去势成功之后,他莫昔芬组每日 9:00 采用他莫昔芬(10 mg/(kg·d))灌胃,假手术组灌胃等体积的灭菌水,持

续 28 d。
1.2.3 四诊指标检测

在造模前后分别称量大鼠体重,在他莫昔芬灌胃后 14、28 d 后,运用课题组创建的大鼠辨证论治实验方法学,检测大鼠体重、旷场实验、肛温、体表红外热像图等表征信息,具体参见本课题组以往文献^[7-8]。

1.2.4 组织切片及 HE 染色

将大鼠子宫称重并用 10% 甲醛溶液固定 24 h 后,按照组织切片常规的流程,进行组织脱水、透明、包埋、切片,苏木素-伊红染色,中性树胶封片,光学显微镜下观察组织结构和细胞形态并采集图像。

1.2.5 RT-qPCR 检测肾上腺基因表达

取大鼠肾上腺,加入 RNAiso Plus 试剂抽提总 RNA。采用 Primer3(v.0.4.0)在线软件设计引物并委托 Life Technologies 公司合成(见表 1)。采用 PrimeScript RT 试剂盒进行逆转录反应生成 cDNA,反应体系为 20 μL,反应条件为 37℃ 15 min,85℃ 5 s,4℃ 终止;PCR 扩增反应体系为 20 μL,反应程序为 95℃ 变性 3 min,95℃ 退火 30 s,60℃ 延伸 30 s,40 个循环。每组 3 个复孔,采用 2^{-ΔΔCt}法计算各目的基因的相对表达量。

表 1 大鼠上、下游引物序列

Table 1 Sequence of forward and reverse primer in rat			
基因 Genes	mRNA 序列号 Serial number	引物序列 Primer sequence	产物 (bp) Product size (bp)
Cyp11a1	NM_017286	F:5'-GCTGGAAGGTGTAGCTCAGG-3' R:5'-CACTGGTGTGGAACATCTGG-3'	224
Cyp17a1	NM_012753	F:5'-ACTGAGGGTATCGTGGATGC-3' R:5'-TCGAACCTTCTCCCTGCACTT-3'	161
Star	NM_031558	F:5'-CATCCAGCAAGGAGAGGAAG-3' R:5'-CACCTGGCACCACTTACTT-3'	122
Cyp19a1	NM_017085	F:5'-CAGAGTATCCGGAGGTGGAA-3' R:5'-ACTCGAGCCTGTGCATTCTT-3'	249
Por	NM_031576	F:5'-ACAGGGAACACCTGTGGAAG-3' R:5'-CTAGTGAGTAGCGGCCCTTG-3'	189
Hsd3b2	NM_017265	F:5'-ATCTGTTGGAGGCCTGTGTC-3' R:5'-AAGTATGCAATGTGCCACCA-3'	228
Hsd17b1	NM_012851	F:5'-GTTATGAGCAAGCCCTGAGC-3' R:5'-TCTGGATCCCCTGAAACTTG-3'	247
Th	NM_012740	F:5'-CAGGGCTGCTGTCTTCTAC-3' R:5'-GGGCTGTCCAGTACGTCAAT-3'	247
Ddc	NM_001270852	F:5'-CAGCTCCTACCCAGCTATGC-3' R:5'-TTTTAGTCCGAGCAGCCACT-3'	239
Dbh	NM_013158	F:5'-TCTGTGCCCTGGAACCTCTTT-3' R:5'-CTGCGGAAGTGATCTTAGGC-3'	145
Pnmt	NM_031526	F:5'-ATCATATCACGACGCTGCTG-3' R:5'-TACCCTTGACGTCATCCACA-3'	219
Gapdh	NM_017008	F:5'-TGCCACTCAGAAGACTGTGG-3' R:5'-TTCAGCTCTGGGATGACCTT-3'	129

1.2.6 ELISA 检测血液雌二醇与儿茶酚胺类物质含量

取大鼠血液,离心机 3000 r/min 分离血清,按照 ELISA 试剂盒说明书方法,检测大鼠血液中 E2、NE、Epi、β-EP、DA、5-HT 含量。

1.3 统计学分析

采用 GraphPad Prism 7.0 软件进行统计学分析和作图。采用非配对 *t* 检验或 Mann-Whitney test 分析,*P* < 0.05 表示有统计学意义。

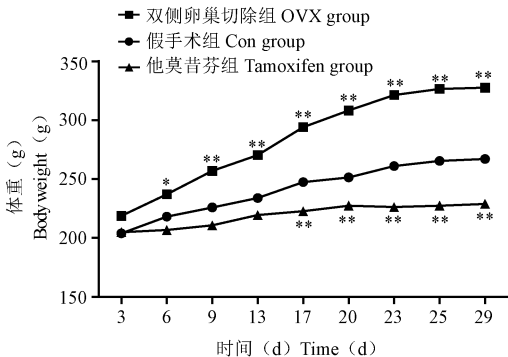
2 结果

2.1 大鼠体重的变化

假手术组大鼠体重平稳增长,与假手术组同期比较,术后第 6 天起双侧卵巢切除组大鼠体重增长显著(*P* < 0.05),而他莫昔芬组大鼠体重增长缓慢(*P* < 0.01),见图 1。提示卵巢切除后,大鼠雌激素快速匮乏,影响机体代谢过程导致肥胖现象;而给予抗雌激素药物他莫昔芬后,可能影响大鼠摄食量或促进蛋白质分解代谢,从而导致体重下降。

2.2 大鼠体温的变化

与假手术组相比,两种模型组大鼠肛温均无明显变化,提示采用肛温检测难以发现大鼠核心体温的敏感性变化。然而,就大鼠体表的红外温度而言,与假手术组相比,双侧卵巢切除组大鼠术后第 14 天其腹部最高温度与最低温度之差显著升高(*P* < 0.05);术后第 28 天背部最高温度与最低温度之



注:与假手术组相比, * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01。(下同)
图 1 不同时间各组大鼠体重(*n* = 8)
Note. Compared with Con group, * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01.
(The same in the following figures)

Figure 1 Body weight of rats in different time groups (*n* = 8)

差显著升高(*P* < 0.01),且体表最高温度(眼部温度)显著下降(*P* < 0.01)。他莫昔芬组大鼠给药 14 d 其体表最高温度显著下降(*P* < 0.01)。而体表最低温度(尾根部温度)未见明显变化(见图 2,图 3)。提示双侧卵巢切除后大鼠阳气减弱,表现为体表最高温度下降;而背腹部温差增大可能是潮热阵发性表现;他莫昔芬可能影响大鼠阳气,但是潮热现象不典型。

2.3 大鼠自主活动度的变化

与假手术组相比,双侧卵巢切除组大鼠术后第 28 天旷场水平活动下降(*P* < 0.01);他莫昔芬组大

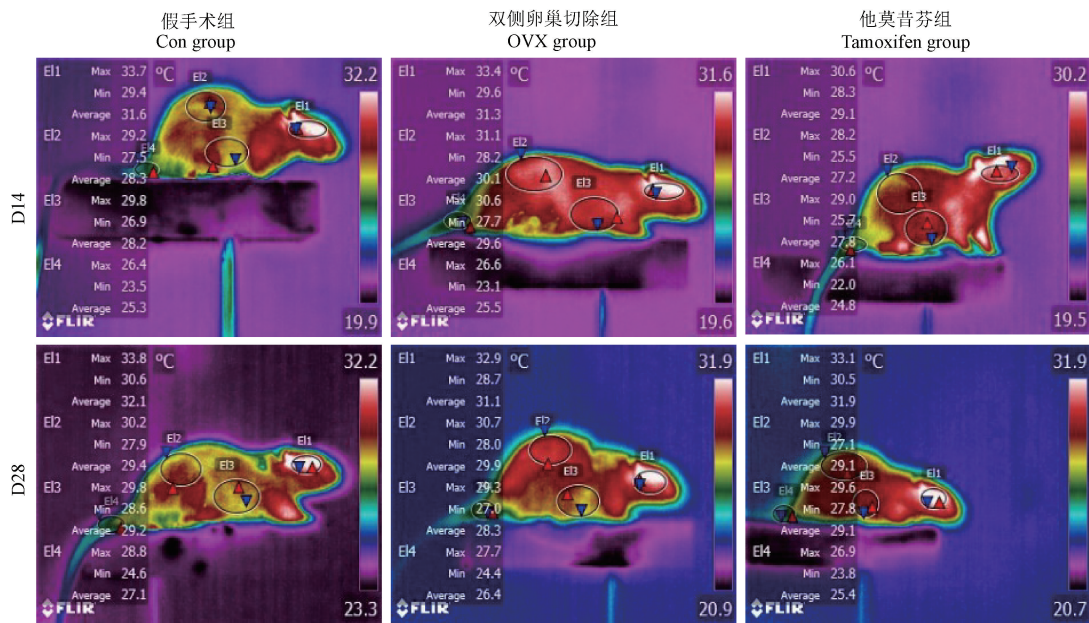


图 2 各组大鼠体表红外热图

Figure 2 Infrared heat map of body surface of rats in each group

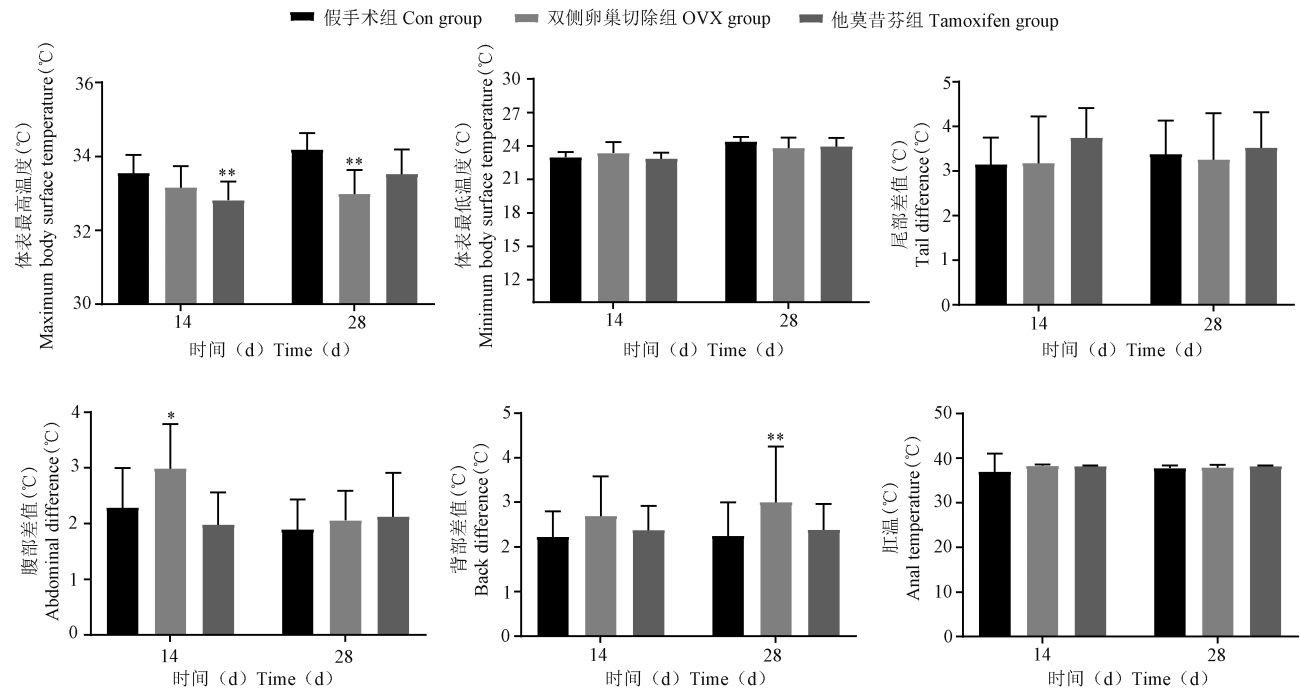


图3 各组大鼠肛温与体表红外温度变化($n = 8$)

Figure 3 Changes of anal temperature and body surface infrared temperature in each group ($n = 8$)

鼠第 14 天旷场水平活动增加 ($P < 0.01$), 见图 4。提示双侧卵巢切除后大鼠精力不济, 表现为疲乏少动状态; 他莫昔芬组则呈现虚性亢奋状态。

2.4 大鼠子宫及内分泌组织形态的变化

2.4.1 对大鼠子宫重量的影响

与假手术组相比, 双侧卵巢切除组和他莫昔芬组子宫指数均明显下降 ($P < 0.01$), 其中双侧卵巢切除后子宫萎缩更明显, 见图 5。

2.4.2 对大鼠子宫病理形态的影响

假手术组大鼠子宫壁厚度、子宫肌层厚度和内膜厚度均正常, 与假手术组相比, 双侧卵巢切除组大鼠子宫各层厚度均显著变薄; 他莫昔芬组大鼠子

宫各层厚度也变薄, 见图 6。

2.5 大鼠血液雌二醇与儿茶酚胺类物质变化

与假手术组相比, 双侧卵巢切除组和他莫昔芬组 E2 均显著下降 ($P < 0.01$), NE、Epi 也下降 ($P < 0.05$), 双侧卵巢切除组 β -EP 也明显下降 ($P < 0.05$), 见图 7。雌二醇的降低提示大鼠围绝经期造模成功, NE、Epi 和 β -EP 等的变化提示大鼠卵巢功能丧失后, 出现体内儿茶酚胺类物质的代谢异常。

2.6 大鼠雌激素替代合成途径肾上腺类固醇激素合成酶基因表达变化

2.6.1 肾上腺性激素合成途径基因表达变化

与假手术组相比, 双侧卵巢切除大鼠肾上腺

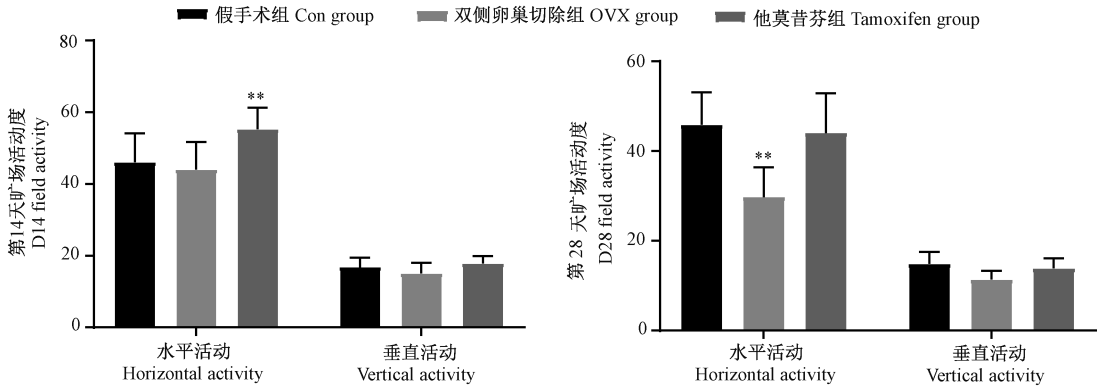


图4 各组大鼠旷场活动度($n = 8$)

Figure 4 Open field activity of rats in each group ($n = 8$)

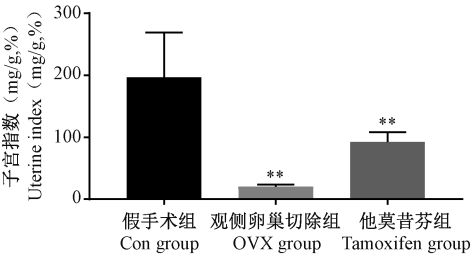


图 5 各组大鼠子宫指数 ($n = 8$)

Figure 5 Uterine index of rats in each group ($n = 8$)

Cyp11a1 基因表达量上升 ($P < 0.05$), 而 Cyp17a1 与 Hsd17b1 基因表达量下降 ($P < 0.05$), 见图 8。提示卵巢切除后, 来源于卵巢的雌激素丧失, 而肾上腺网状带细胞合成的性激素代偿需求, 导致 Cyp11a1 基因表达增强; Cyp17a1 与 Hsd17b1 基因表达量下降, 推测与雌激素实际水平下降有关。他莫昔芬组 Star 与 Por 基因表达量上升 ($P < 0.01$), 而 Cyp17a1 基因表达量明显下降 ($P < 0.01$), 见图

8。推测他莫昔芬竞争性结合雌激素受体后, 引起体内雌激素下降, 肾上腺网状带细胞代偿性合成雌激素, 导致 Star 与 Por 基因表达上调。

2.6.2 肾上腺髓质儿茶酚胺类物质基因表达变化
与假手术组相比, 双侧卵巢切除组 Pnmt 基因显著下调 ($P < 0.01$), Th 表达也减弱, 而使用他莫昔芬对儿茶酚胺类物质无影响, 见图 9。提示双侧卵巢切除后大鼠肾上腺髓质儿茶酚胺物质合成的限速酶合成能下降。

2.7 大鼠下丘脑 ER 及温度感受器 TRPV3、TRPV4 免疫组化变化

与假手术组相比, 在 $\times 200$ 镜下, 双侧卵巢切除组下丘脑 ER 和 TRPV4 阳性细胞数有显著减少, 他莫昔芬组 TRPV3 阳性细胞数显著减少, 见图 10。提示双侧卵巢切除后, 雌激素水平降低, 下丘脑中枢体温调定点正常生理机制发生改变, 从而产生潮热。

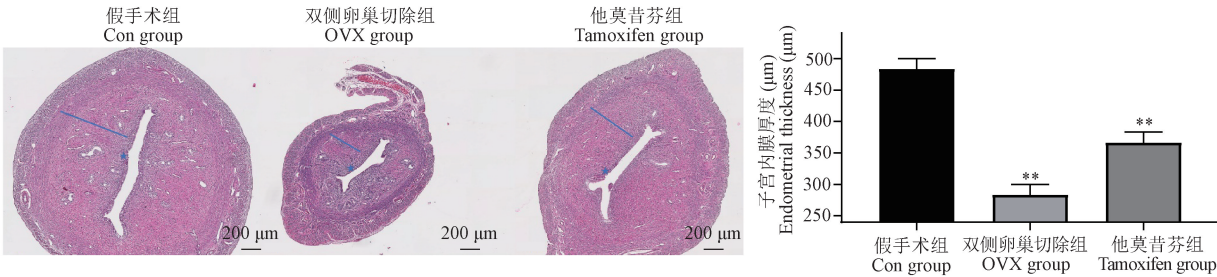


图 6 各组大鼠子宫病理切片及内膜厚度

Figure 6 Pathological section and endometrial thickness of rats in each group

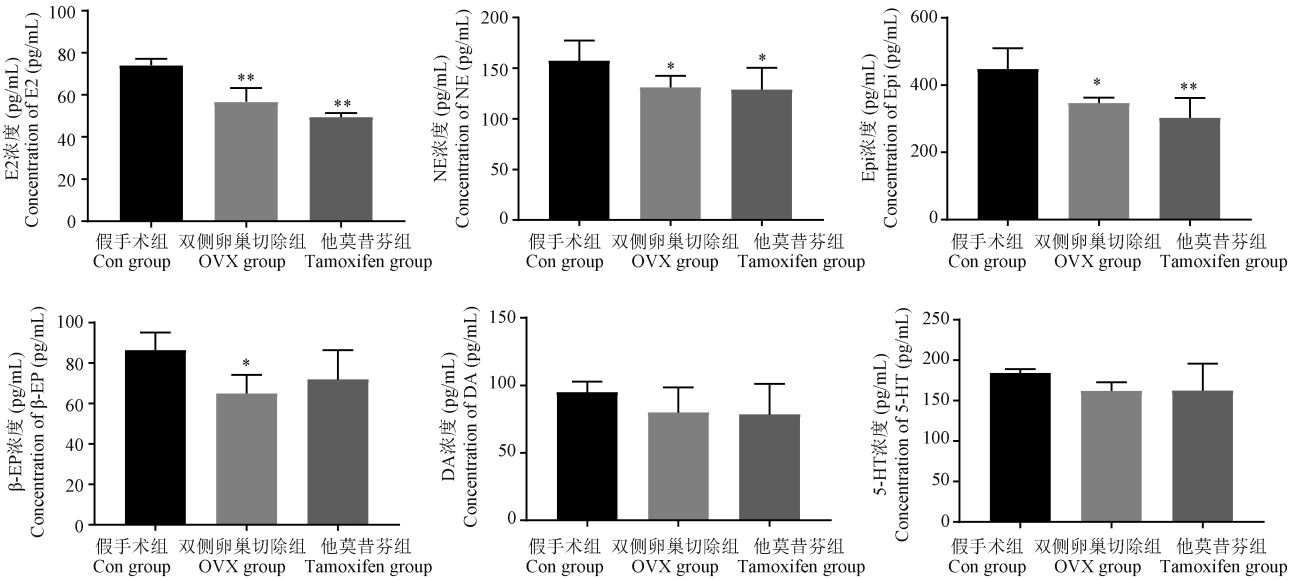


图 7 各组大鼠血液雌二醇与儿茶酚胺类物质变化

Figure 7 Changes of estradiol and catecholamines in blood of rats in each group

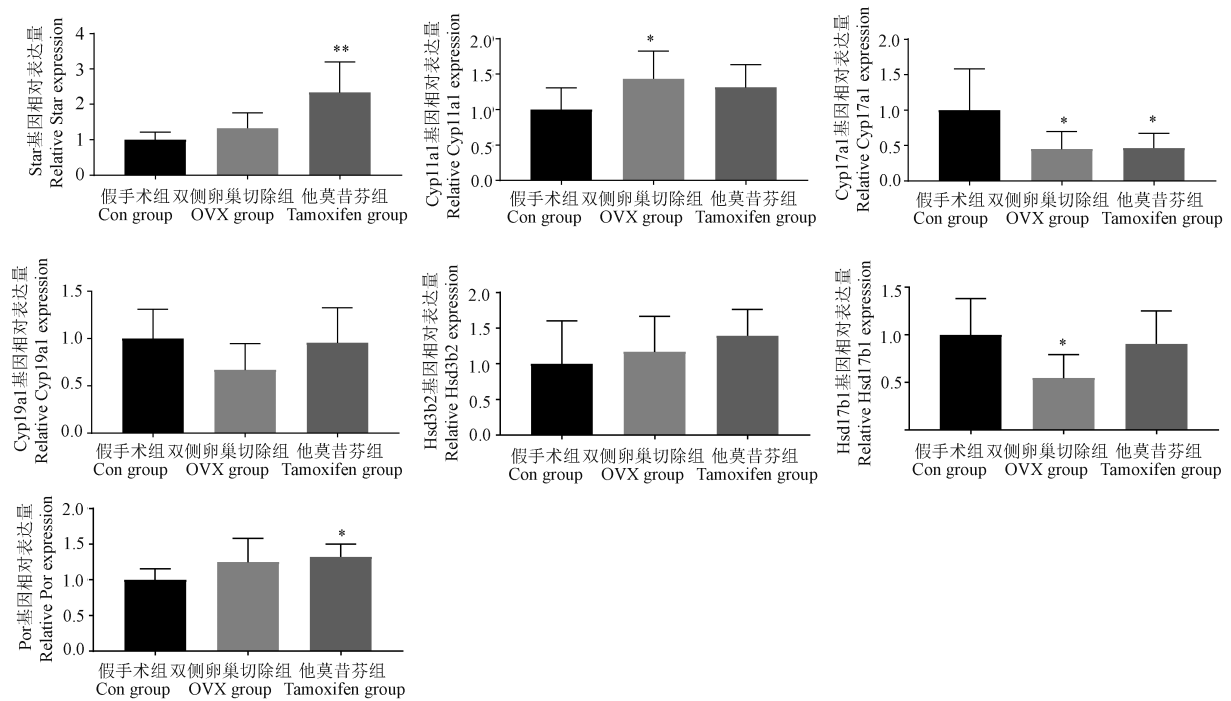


图 8 各组大鼠肾上腺性激素合成酶基因表达

Figure 8 Expression of adrenal sex hormone synthetase gene in each group

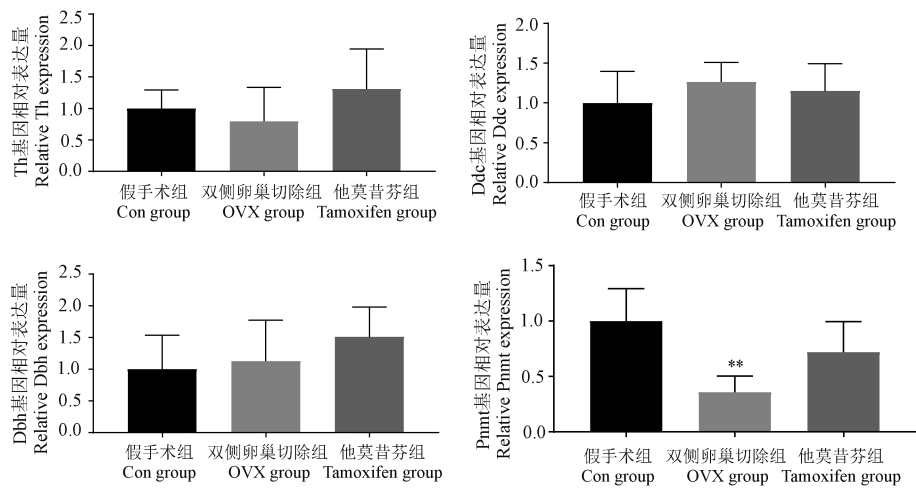


图 9 各组大鼠肾上腺儿茶酚胺类物质合成酶基因表达

Figure 9 Expression of adrenal catecholamine synthetase gene in each group

3 讨论

围绝经期是女性生理功能最重要的转折点,此阶段卵巢功能减弱,雌激素分泌自然逐渐减少,常伴随出现潮热、汗出、睡眠障碍、情绪变化、性功能障碍以及关节和肌肉疼痛等躯体或情志异常现象。据报道,40 ~ 64 岁女性约半数以上人群有潮热和汗出症状^[9],部分人群的潮热可持续数年甚至 10 年以上^[10],严重影响女性日常生活和工作效率。近年来,为了探索潮热发生的分子机制,有关围绝经期

潮热动物模型陆续被报道^[11-12],然而评价潮热模型的客观指标及中医证候属性仍待明确。

为了建立稳定的潮热动物模型及评价指标,本研究同步比较了双侧卵巢切除术和他莫昔芬给药两种造模方式。结果表明,卵巢切除后,大鼠体重增长明显,呈现肥胖现象,类似中医“肥人多痰”的特点,子宫明显萎缩,自主活动能力减弱,红外检测体表温度下降,但背腹部温度差更大,类似于中医的阴阳失调,以阳气不足兼阴虚内热为主的证候特征,提示双侧卵巢切除模型可以模拟临床围绝经期

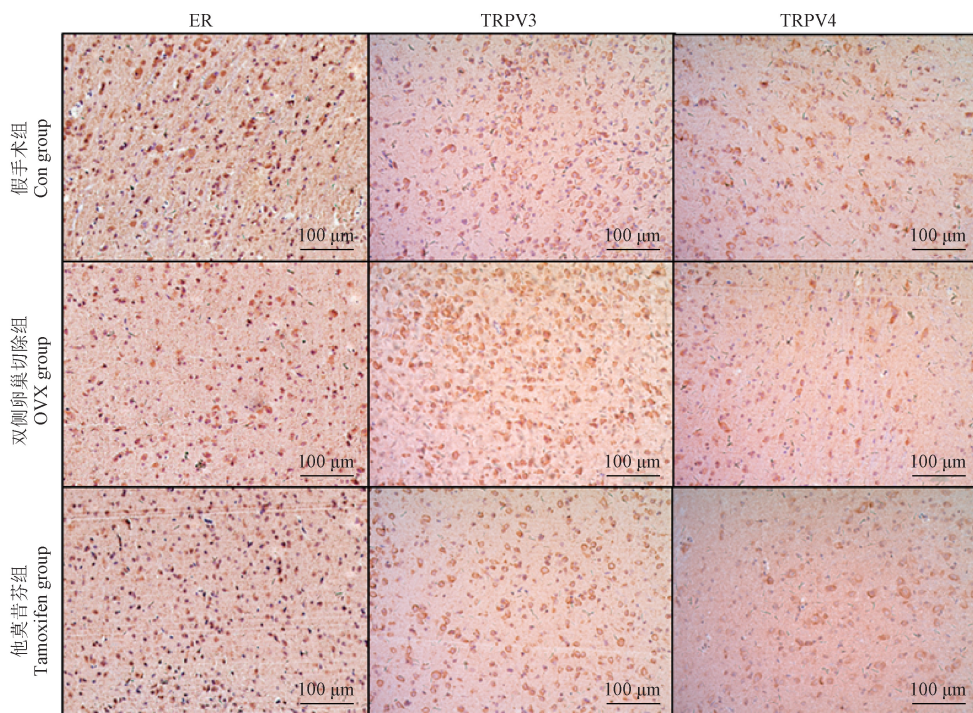


图 10 各组大鼠下丘脑 ER、TRPV3、TRPV4 免疫组化

Figure 10 Immunohistochemistry of ER, TRPV3 and TRPV4 in rat hypothalamus

综合征的潮热表现,与文献报道一致^[12-13]。此外,卵巢切除动物模型除应用于围绝经期综合征的研究外,还用于骨质疏松症、糖脂代谢紊乱等^[14-16]。

然而,给予他莫昔芬后,大鼠体重增长缓慢,但未呈现下降趋势,同样,大鼠子宫也有所萎缩,体表最高温度下降,自主活动能力却增加,类似于中医的虚性亢奋状态,提示他莫昔芬造模可能影响大鼠阳气的生发,而潮热现象不典型,该造模方法不宜潮热发生的机制研究。由于他莫昔芬是乳腺癌患者雌激素受体阳性人群的内分泌治疗药物^[17],临床观察发现服用他莫昔芬后多数患者潮热的发生率明显增加^[18-19],因此,有报道认为他莫昔芬可以构建围绝经期潮热动物模型^[20-21]。本研究结果提示他莫昔芬导致大鼠 E2 下降显著,但是潮热现象不典型,可能与物种的差异性有关。

进一步检测了两种造模方式后大鼠雌激素替代合成途径的变化,结果发现卵巢切除后,大鼠血液雌二醇水平下降,由于卵巢缺失,雌激素合成主要由肾上腺皮质网状带细胞替代合成,检测肾上腺性激素合成酶,发现 Cyp11a1 基因表达量上升,而 Cyp17a1 与 Hsd17b1 基因表达下降,推测雌激素下降后的代偿需求,导致肾上腺 Cyp11a1 基因表达增强,促使胆固醇裂解合成孕烯醇酮的过程活跃,而 Cyp17a1 与 Hsd17b1 基因表达下降,使得肾上腺雌

激素合成进一步减弱。此外,血液肾上腺素水平下降,并发现肾上腺髓质 Pnmt 基因表达下降,Th 表达也减弱,说明肾上腺髓质儿茶酚胺物质合成能力下降。综合肾上腺皮质与髓质相关激素合成酶的变化,提示卵巢切除后大鼠肾上腺类固醇激素合成能力代偿性增强,但是转化成雌激素与肾上腺素和去甲肾上腺素的能力仍减弱。

然而,他莫昔芬造模后,大鼠血液雌二醇水平下降,肾上腺 Star 与 Por 基因表达增强,而 Cyp17a1 基因表达量明显下降,肾上腺髓质功能无明显变化。提示他莫昔芬通过竞争雌激素受体的结合,降低雌激素水平后,也会导致大鼠肾上腺类固醇激素合成能力代偿性增强,但是转化成雌激素的能力也减弱。

临床一般使用激素替代疗法,通过调节卵巢功能,刺激其分泌雌二醇,抑制促卵泡生成素分泌,并调节 5-羟色胺含量,改善内分泌功能,进而达到缓解潮热症状的目的^[22]。而雌二醇又可以通过肾上腺皮质网状带转化而来,本研究检测了雌激素替代合成途径的肾上腺皮质性激素合成酶变化,发现双侧卵巢切除大鼠肾上腺 Cyp11a1 基因表达量上升,而 Cyp17a1 与 Hsd17b1 基因表达量下降,提示卵巢切除后大鼠类固醇合成代偿性增强,但是向性激素转化的合成酶减弱,可能减少性激素合成量。他莫

昔芬组 Star 与 Por 基因表达量上升,而 Cyp17a1 基因表达量明显下降,提示他莫昔芬给药后大鼠类固醇合成代偿性增强更明显,向性激素转化的能力也减弱。

临床研究发现^[23-24],围绝经期血浆儿茶酚胺水平升高,儿茶酚胺紊乱可引发一些症状,尤其是潮热,发现酪氨酸在 Th 催化下合成二羟苯丙氨酸,此步骤为限速过程,再依次合成多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素^[25-26]。本研究实验发现双侧卵巢切除组 Pnmt 基因显著下调,Th 表达也减弱,由于 Pnmt 是去甲肾上腺素代谢为肾上腺素的关键酶,Th 是肾上腺髓质儿茶酚胺物质合成的限速酶,提示卵巢切除后肾上腺髓质儿茶酚胺类物质合成减少;而使用他莫昔芬对儿茶酚胺类物质无影响。

综上所述,本研究认为大鼠双侧卵巢切除术可以较好地模拟围绝经期潮热现象,类似于中医的肾阳不足兼阴虚内热为主的证候特征,其中大鼠体重、背腹部最高温度与最低温度的温差、自主活动能力是较好的宏观评价指标,而血液雌二醇、子宫大小及各层形态学变化是理想的客观化指标,综合各指标变化,可用于围绝经期潮热的中药复方药效机制研究。

参 考 文 献(References)

[1] Kronenberg F. Hot flashes: epidemiology and physiology [J]. Ann N Y Acad Sci, 1990, 592: 52-86.

[2] Mitchell ES, Woods NF. Menstrual cycle phase, menopausal transition stage, self-reports of premenstrual syndrome and symptom severity: observations from the seattle midlife women's health study [J]. Menopause, 2022, 29(11): 1269-1278.

[3] Mehroosh H, Ryan R, Arreguin Joseph M, et al. The effects of estrogen and hormone replacement therapy on cardiovascular systems [J]. Future Cardiol, 2021, 17(2): 347-353.

[4] Poggio F, del Mastro L, Bruzzone M, et al. Safety of systemic hormone replacement therapy in breast cancer survivors: a systematic review and meta-analysis [J]. Breast Cancer Res Treat, 2022, 191(2): 269-275.

[5] 国际中医临床实践指南 更年期综合征(2020-10-11) [J]. 世界中医药, 2021, 16(2): 190-192.

International guide to clinical practice of traditional Chinese medicine; climacteric syndrome (october-november, 2020) [J]. World Chin Med, 2021, 16(2): 190-192.

[6] 国家药品监督管理局. 中药新药临床研究指导原则: 试行 [M]. 北京: 中国医药科技出版社; 2002.

National Medical Products Administration (NMPA). Guiding Principles for Clinical Research of New Chinese Medicine [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press; 2002.

[7] 方肇勤, 潘志强, 卢文丽, 等. 大鼠、小鼠常见证候计量化辨

证方法的建立及其评价 [J]. 中医基础医学杂志, 2007, 13(7): 502-505.

Fang ZQ, Pan ZQ, Lu WL, et al. Establishment and evaluation of quantitative syndrome differentiation method for common syndromes in rats and mice [J]. J Basic Chin Med, 2007, 13(7): 502-505.

[8] 方肇勤. 大鼠、小鼠辨证论治实验方法学 [M]. 北京: 科学出版社; 2009.

Fang ZQ. Dashu/Xiaoshu Bianzhenglunzhi Shiyen Fangfaxue [M]. Beijing: Science Press; 2009.

[9] Voedisch AJ, Dunsmoor-Su R, Kasirsky J. Menopause: a global perspective and clinical guide for practice [J]. Clin Obstet Gynecol, 2021, 64(3): 528-554.

[10] Santoro N, Epperson CN, Mathews SB. Menopausal symptoms and their management [J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2015, 44(3): 497-515.

[11] 张晓鹏, 刘兆平, 向钱, 等. 两种更年期妇女潮热动物模型的对比研究 [J]. 卫生研究, 2010, 39(1): 110-111.

Zhang XP, Liu ZP, Xiang Q, et al. Comparative study on two animal models of hot flashes in menopausal women [J]. J Hyg Res, 2010, 39(1): 110-111.

[12] 苗明三, 田硕, 辛卫云, 等. 围绝经期综合征动物模型制备规范(草案) [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(3): 996-1000.

Miao MS, Tian S, Xin WY, et al. Standard (draft) for preparation of perimenopausal syndrome model [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2018, 33(3): 996-1000.

[13] 赵梓妍, 张艳丽, 常文慧, 等. 双侧卵巢切除术建立雌激素缺乏大鼠模型的研究 [J]. 山西医科大学学报, 2020, 51(3): 269-274.

Zhao ZY, Zhang YL, Chang WH, et al. Experimental study on the establishment of estrogen deficiency rat model by bilateral ovariectomy [J]. J Shanxi Med Univ, 2020, 51(3): 269-274.

[14] 杰永生, 郭安忆, 綦惠, 等. 分散式冲击波治疗双侧卵巢切除大鼠晚期骨质疏松症的实验研究 [J]. 北京生物医学工程, 2022, 41(3): 275-279, 306.

Jie YS, Guo AY, Qi H, et al. Effect of radial extracorporeal shock wave therapy on ovariectomy-induced advanced osteoporosis in rats [J]. Beijing Biomed Eng, 2022, 41(3): 275-279, 306.

[15] 曹国龙, 田发明, 刘家寅. 洛伐他汀联合胰岛素干预双侧卵巢切除 2 型糖尿病 SD 模型大鼠骨折的愈合 [J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(5): 673-681.

Cao GL, Tian FM, Liu JY. Lovastatin combined with insulin effects on fracture healing in rat models of bilateral ovariectomized type 2 diabetic mellitus [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2020, 24(5): 673-681.

[16] Chapman JS, Powell CB, McLennan J, et al. Surveillance of survivors: follow-up after risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA 1/2 mutation carriers [J]. Gynecol Oncol, 2011, 122(2): 339-343.

[17] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版) [J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(9):

695-759.
Breast Cancer Professional Committee of Chinese Anti-Cancer Association. Guidelines and specifications for diagnosis and treatment of breast cancer of China Anti-Cancer Association (2017 edition) [J]. Chin Oncol, 2017, 27(9): 695-759.

[18] 鲁泽春. 围绝经期潮热的神经内分泌机制研究进展 [J]. 国际妇产科学杂志, 2011, 38(2): 97-100.
Lu ZC. Progress in the neuroendocrine origin of perimenopausal hot flushes [J]. J Int Obstet Gynecol, 2011, 38(2): 97-100.

[19] Fenlon DR, Corner JL, Haviland J. Menopausal hot flushes after breast cancer [J]. Eur J Cancer Care (Engl), 2009, 18(2): 140-148.

[20] 唐佳, 徐川, 唐勇, 等. 他莫昔芬引发潮热大鼠模型建立与评价 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(11): 2717-2719.
Tang J, Xu C, Tang Y, et al. Establishment and evaluation of a rat model of hot flashes induced by tamoxifen [J]. Chin J Gerontol, 2019, 39(11): 2717-2719.

[21] 胡兰, 何娜娜. CYP2D610 等位基因与口服他莫昔芬的乳腺癌患者发生潮热的相关性 [J]. 肿瘤药学, 2019, 9(6): 915-918.
Hu L, He NN. Association between CYP2D610 allele and hot flashes in breast cancer patients treated with oral tamoxifen [J]. Anti Tumor Pharm, 2019, 9(6): 915-918.

[22] Polo-Kantola P, Erkkola R, Irjala K, et al. Effect of short-term transdermal estrogen replacement therapy on sleep: a randomized, double-blind crossover trial in postmenopausal women [J]. Fertil Steril, 1999, 71(5): 873-880.

[23] Kronenberg F, Cote LJ, Linkie DM, et al. Menopausal hot flashes; thermoregulatory, cardiovascular, and circulating catecholamine and LH changes [J]. Maturitas, 1984, 6(1): 31-43.

[24] Rebar RW, Spitzer IB. The physiology and measurement of hot flushes [J]. Am J Obstet Gynecol, 1987, 156(5): 1284-1288.

[25] Flatmark T, Stevens RC. Structural insight into the aromatic amino acid hydroxylases and their disease-related mutant forms [J]. Chem Rev, 1999, 99(8): 2137-2160.

[26] Kobayashi K, Nagatsu T. Molecular genetics of tyrosine 3-monooxygenase and inherited diseases [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 338(1): 267-270.

[收稿日期] 2023-06-16

《中国比较医学杂志》稿约

国内刊号 CN 11-4822/R 国际刊号 ISSN 1671-7856 邮局代号 82-917

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊)。征稿的范围是与人类生命与健康密切相关的实验动物与动物实验等生命科学各分支学科,重点刊载比较医学成果和进展。栏目设置包括研究报告、综述与专论、研究快报、研究简讯、技术与方法、经验交流、学术动态、国外研究进展、学术信息、简讯等栏目。要求来稿数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、被《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》、中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、中国生物医学期刊数据库等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章正文字数在 5000 字左右。

投稿网址: <http://zgswdw.cnjournals.com/zgbjyxzz/ch/index.aspx>

期待您的来稿!