

注意力缺陷多动障碍啮齿类动物模型中西医研究新进展

井贺云¹, 康乐², 董亚博³, 杨艳丽⁴, 李秀敏¹, 苗明三^{2*}

(1. 河南中医药大学 中医药科学院, 郑州 450046; 2. 河南中医药大学 药学院, 郑州 450046;
3. 河南中医药大学 第一临床医学院, 郑州 450046; 4. 郑州泰丰制药有限公司, 郑州 450046)

[摘要] 注意力缺陷多动障碍(ADHD)又称儿童多动症,是一种多见于儿童,尤其是学龄前儿童的行为障碍性疾病。该病可能会引起认知障碍、学习困难、品行障碍等其他精神疾病,严重影响儿童的生活质量,而且目前全球患病人数仍旧在不断增加。建立一种与临床病证及发病原理吻合度高的动物模型对于深入研究该疾病的预防治疗是至关重要的。近年来,关于ADHD动物模型的研究迅速发展,研究者们从遗传和环境等角度开发了近20种动物模型,但是大多数动物模型目前还处在探索阶段,并没有足够的研究来详细探讨其发病机制、核心特征和药物作用。自发性高血压(SHR)大鼠因为其优秀的表面有效性及发病阶段更加符合儿童期等诸多优势成为目前应用最为普遍的ADHD动物模型。此外多巴胺转运体(DAT)敲除小鼠、蛛毒素受体基因3(LPHN3)敲除大鼠和新生期大鼠缺氧模型也都表现出了良好的表面有效性。有研究者给SHR大鼠每日注射左旋甲状腺肝素钠,造模后大鼠既可以表现出多动症的典型症状,还具有阴虚阳亢的证候表现,成功模拟了ADHD阴虚阳亢证型的病证模型,为中西医病证结合ADHD动物模型的构建及评价提供了全新思路。该文综述了近10年来国内外报道的ADHD动物模型,将ADHD啮齿类动物模型总结归纳为遗传模型、化学物质诱导型及环境诱导型3大类,并分别对其进行概括分析,以期ADHD的实验研究选择和合适模型地探索提供参考。

[关键词] 注意力缺陷多动障碍; 动物模型; 实验动物; 研究进展

[中图分类号] R2-0;R22;R242;R285.5;R856.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2024)15-0280-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20240429 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20240105.1650.008>

[网络出版日期] 2024-01-08 10:40:34

Rodent Models of Attention Deficit Hyperactivity Disorder: A Review Based on Chinese and Western Medicine

JING Heyun¹, KANG Le², DONG Yabo³, YANG Yanli⁴, LI Xiumin¹, MIAO Mingsan^{2*}

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;
3. First School of Clinical Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;
4. Zhengzhou Taifeng Pharmaceutical Co. Ltd., Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD), also known as hyperactivity disorder in children, is a behavioral disorder commonly found in children, particularly preschool-aged children. This disorder can lead to cognitive impairment, learning difficulties, conduct disorders, and other mental health issues, severely impacting the quality of life for affected children. Moreover, the global prevalence of ADHD continues to rise. Establishing an animal model that closely aligns with clinical symptoms and the pathogenesis of the disease is crucial for advancing research on the prevention and treatment of ADHD. In recent years, research

[收稿日期] 2023-09-18

[基金项目] 岐黄学者支持项目(国中医药人教函2022-6);河南省重大科技专项(221100310400);河南省重大科技专项(201300310100);国家中医药管理局联合开放课题(GZY-KJS-2022-040-1)

[第一作者] 井贺云,在读硕士,从事中药学研究,E-mail: jhy15064333816@163.com

[通信作者] *苗明三,博士,教授,从事中药药理学研究,E-mail: miaomingsan@163.com

on animal models of ADHD has rapidly developed. Researchers have developed nearly 20 animal models from genetic and environmental perspectives. However, most of these models are still in the exploratory stage, and there is insufficient research to thoroughly investigate their pathogenesis, core characteristics, and drug effects. The spontaneously hypertensive rat (SHR) is currently the most commonly used animal model for ADHD because of its excellent face validity and developmental stage that better corresponds to childhood. In addition, dopamine transporter (DAT) knockout mice, LPHN3 knockout rats, and neonatal rat hypoxia models have also shown good face validity. Some researchers have injected SHRs with daily doses of levothyroxine sodium, which not only induces typical ADHD symptoms in the rats but also exhibits signs of Yin deficiency and Yang hyperactivity, which successfully simulates the Yin deficiency and Yang hyperactivity syndrome type of ADHD, providing a new approach for constructing and evaluating ADHD animal models that combine both traditional Chinese and western medicine. This article reviewed ADHD animal models reported in China and abroad over the past decade, summarized rodent models of ADHD into three major categories: genetic models, chemically induced models, and environmentally induced models, and analyzed each category to provide a reference for selecting and exploring appropriate models for experimental ADHD research.

[Keywords] attention deficit hyperactivity disorder; animal model; experimental animal; research progress

注意力缺陷多动障碍(ADHD)是儿童时期一种较为常见的行为异常性疾患,临床三大核心症状为持续的与年龄不相称的多动、冲动及注意力缺陷。全球受ADHD影响的儿童大约为9.8%,其中60%的多动症儿童至少伴发一种其他精神、情感或行为障碍,并呈现出逐年上升的趋势^[1]。ADHD患儿除了表现出多动等核心症状外,执行功能也有受损。执行功能是一组相互关联的认知能力,包括工作记忆、反应抑制、认知灵活和计划,涉及以目标为导向的问题解决^[2]。工作记忆是指使用信息执行动作或不相关动作时暂时记住信息的能力^[3];反应抑制是抑制或中断反应的能力,受损的反应抑制表现为冲动^[4];认知灵活性是与在不同不兼容视角或描述之间灵活转换的能力有关^[5]。注意力由几个部分组成,包括警觉性等。警觉性即进入警觉状态并专注于情况的重要方面的能力^[6]。因其行为障碍,不仅严重影响患儿的日常生活学习,甚至会在患者步入社会后引发一系列的社会问题,如家庭暴力、抢劫、强奸等,严重影响患儿生活质量、家庭和谐及社会安定。鉴于此,明确ADHD的发病原理,探寻合适的治疗手段具有重要的意义。而合适的动物模型是解决这些问题的重要基础。随着人们对于儿童身心健康重视程度的提高及科研手段的成熟发展,近年来国内外关于ADHD的研究迅速发展,其治疗手段和发病机制的探索得以不断地深化。目前ADHD的研究主要集中在遗传、神经生理生化、免疫病因学及环境因素上,但是其病因始终未完全明

确。ADHD通常被认为是一种基因-环境障碍,即遗传和环境因素共同作用的产物^[7]。遗传被认定为最主要的因素,环境因素也可以导致儿童多动症状的发生,如母亲在妊娠期间吸烟、可卡因或酒精暴露、早产等。目前临床上主要采用兴奋中枢类药物来缓解患者症状,但是其不良反应多,容易造成患儿的药物依赖。动物模型是人类研究疾病病因病理、疾病诊断、预防治疗及药物有效性的基本手段,理想的动物模型主要特征包括表面有效性、结构有效性和预测有效性三部分^[8]。表面有效性是指模型的行为表现与疾病症状和体征的类比度;结构有效性是指疾病的发病原理与模型中生物学的一致性;预测有效性代表动物模型对有据可查的疾病治疗做出反应能力的相似性,这对于表征有效的动物模型至关重要^[9]。本文根据目前国内外的文献报道及造模手段的差异,将现有的ADHD动物模型分为遗传模型、化学物质诱导型及环境诱导型3种类型,总结了现有ADHD动物模型的应用特点,并分别对其分析概括,为后续ADHD动物模型的构建及完善提供信息思考。

1 遗传模型

1.1 自发性高血压大鼠 自发性高血压(SHR)大鼠是由Wistar-Kyoto(WKY)大鼠选育而来。实验证明,与WKY大鼠相比,SHR大鼠在冲动、过度活跃、注意力不集中、学习和记忆能力差等方面具有ADHD行为表象一致性^[10]。SHR在八字迷宫等实验中比WKY更活跃,但是在野外测试中活跃性却

不如 Sprague Dawley (SD)大鼠,这表明大鼠是否过度活跃与实验还与所选的空白组有关。SHR 大鼠还可以表现出更多的冲动行为^[11],主要表现在延迟折扣任务中的选择中^[12]。与 WKY 大鼠相比,SHR 大鼠表现出较大奖励百分比减少,表明其在延迟满足方面存在实质性问题^[13]。哌醋甲酯(MPH)是目前 ADHD 治疗时最常用的药物,所以了解 MPH 对 SHR 大鼠的影响是非常重要的。然而通过 MPH 对 SHR 大鼠行为影响进行系统分析和荟萃分析发现 MPH 在中低剂量下并没有减少大鼠的多动行为,高剂量反而增加了大鼠的活动水平。基于此矛盾作用,因此目前的研究并未完全支持 SHR 大鼠作为 ADHD 动物模型的预测有效性,其作为 ADHD 动物模型的有效性也受到质疑^[14]。在结构有效性方面,SHR 表现为谷氨酸(Glu)、多巴胺(DA)和去甲肾上腺素(NE)功能紊乱。有研究发现,SHR 大鼠在 Glu 刺激下前额叶皮层和海马切片中释放的活性标记 NE 比 WKY 大鼠或 SD 大鼠更多,与 SD 和 WKY 相比,SHR 大鼠海马体内 γ -氨基丁酸(GABA)的细胞外浓度降低,进而提示 GABA 功能的潜在缺陷可能是 SHR 中儿茶酚胺传递功能障碍的根源,并可能是其 ADHD 样行为的基础^[15]。SHR 大鼠在 4~10 周龄时会表现出典型的 ADHD 的症状,在生理上更接近儿童期,并且在此时期大鼠不会表现出高血压的症状,对于研究儿童多动症具有重要意义。目前 SHR 大鼠被看做是一种较为理想的 ADHD 动物模型,也是应用最为广泛的啮齿类动物 ADHD 模型。

1.2 蛛毒素受体基因 3(LPHN3)敲除大鼠 LPHN3 是一种黏附 G 蛋白偶联受体,参与神经调节的可塑性,在纹状体和前额叶皮层中大量存在,可以调节神经递质的释放具有大脑特异性,其变异被认为可以增加 ADHD 的发病风险。LPHN3 的破坏与多动行为的发生和纹状体 DA 标志物的变化显著相关。有研究表明,LPHN3 基因对中国人群的 ADHD 有显著影响^[16]。LPHN3 敲除的 SD 大鼠可以表现出学习与记忆的缺陷及纹状体中 DA 的变化。在行为上,成年 LPHN3 敲除大鼠会表现出冲动样的行为^[17],此外,水迷宫实验也表明,LPHN3 敲除的大鼠认知灵活性也表现出一定的缺陷^[18]。对刺激的适当过滤是注意力的关键组成部分,LPHN3 敲除大鼠在笼内活动测试和旷场实验中都表现出过度活跃的状态,在声惊厥测试中也表现为高反应性,说明其可能存在注意力缺陷。此外,LPHN3 敲除大鼠脑中 DA 调节的纹状体标志物也都有不同程度的变化,包括单

胺类神经递质、多巴胺转运体(DAT)的增加,多巴胺受体 D1(DRD1)减少等。目前药物对 LPHN3 敲除大鼠冲动和注意力影响的研究相对不足,所以该模型的预测有效性还需要进一步的完善。ADHD 是一种多基因遗传疾病,因此单独一组基因的变化并不能用于构建完美的 ADHD 动物模型,LPHN3 的编译增加了 ADHD 的发病风险,但并不是其主要病因^[19]。

1.3 DAT 敲除动物 DAT 是一种位于 DA 神经元突触前膜上的 DA 转运蛋白,可以将突触释放的 DA 再摄取回突触前。DAT 敲除小鼠被认为可以最好地模拟 ADHD 内表型,因为他们表现出睡眠失调、自发多动、认知障碍及良好的预测有效性^[20]。与正常组相比,DAT 敲除大鼠纹状体中 DA 的水平显著下降,5-羟色胺(5-HT)水平降低;在新环境中表现出强烈的运动活动,Y 迷宫自发交替减少,表明其工作记忆受损;且大鼠前额叶皮层脑源性神经营养因子(BDNF)失调^[21]。DAT 敲除小鼠除了在旷场实验中表现得极度活跃,在悬崖回避反应实验中还会表现出冲动行为^[22]。有研究利用该模型观察 MPH 对多动症的影响,结果显示 MPH 可显著降低其过度运动的症状,且呈剂量依赖性,MPH 还可以改善 DAT 敲除小鼠额叶皮层中 DA 的水平^[23]。DAT 敲除小鼠在 Y 迷宫任务中自发交替减少,证明其也具有一定的工作记忆缺陷。

杂合子 DAT 敲除小鼠在五项目连续反应时间任务实验可以表现出注意力不集中的症状^[24],此外,杂合子 DAT 敲除小鼠还会表现出工作记忆缺陷和认知灵活性缺陷。因此,根据其不同的表面有效性,纯合子 DAT 敲除小鼠可以模拟多动症的多动冲动亚型,而杂合的 DAT 敲除小鼠能模拟多动症注意力不集中亚型。

1.4 鸟苷酰环化酶-C(GC-C)敲除小鼠 GC-C 被认为是在肠黏膜细胞中表达,可以调节 DA 信号^[25]。GC-C 敲除小鼠在高架零迷宫实验、Morris 水迷宫实验中与空白组相比差异无统计学意义;旷场实验中基因敲除小鼠表现出典型的药物诱导的活性增加,在 70 min 时达到峰值,并且在接下来的 50 min 内下降,但是与空白组相比差异无统计学意义。所以此模型并不符合 ADHD 动物模型的大部分标准^[26]。

1.5 DA 受体敲除小鼠 DA 受体敲除小鼠种类较多,但是大多数 DA 受体敲除小鼠并没有 ADHD 样的表型。目前研究较多的是多巴胺受体 D4(DRD4)敲除小鼠,DRD4 被认为与药物依赖、病理

性赌博及ADHD存在关联性。但是研究表明DRD4敲除小鼠并没有表现出更大的冲动性或注意力不集中^[27]。DRD4敲除小鼠还会表现出背侧纹状体DA释放减少,DA合成及其代谢产物升高。综上所述,DRD4敲除小鼠模型并不会表现出ADHD的典型症状,不能用于ADHD的动物研究。

2 环境诱导型

2.1 新生儿大鼠缺氧模型 ADHD被认为是环境和遗传共同作用的结果,在环境因素中,出生窒息等围产期并发症与ADHD的发病风险增加显著相关^[28]。缺血缺氧会导致新生儿死亡和疾病的发生,包括长期精神系统后遗症,如脑瘫、癫痫、运动障碍、认知障碍等^[29-30]。研究表明,新生儿缺氧严重的儿童表现出更多的多动行为和注意力不集中,认知能力较差^[31]。新生儿缺氧的大鼠表现出大脑皮层、白质、海马和纹状体的脑体积丢失^[32]。急性缺氧也会引起大鼠小脑NE、5-HT、5-羟色胺及纹状体DA不同程度的紊乱^[33]。缺氧缺血的动物在新对象识别和Morris水迷宫实验任务中表现出学习和记忆缺陷;另有研究表明,出生后第90天缺氧一段时间的大鼠成年后在5项连续反应时间任务测试中会表现出认知障碍,持续的注意力缺陷及冲动和强迫性增加,而在旷场实验中的运动行为并没有表现出明显的差异^[31]。幼年期缺血缺氧还会导致大鼠前额叶皮层中组织萎缩和DA功能紊乱^[34]。预测有效性方面,MPH可以增加该模型大鼠脑组织中海马BDNF的水平,但是不能改善缺氧缺血大鼠的记忆缺陷^[35]。另有研究表明,MPH增加了模型大鼠在旷场中的自发活动,逆转了新生儿缺氧缺血诱导的注意力不灵活性,使得前额叶皮层中DRD2受体的表达降低,DA转运体减少,磷酸化酪氨酸羟化酶(p-TH)水平升高,这可能是为了补偿DA传递障碍,进而提高大鼠的注意灵活性和运动活性^[36]。

2.2 社会隔离(SI)小鼠 在SI环境中长大的幼鼠可以表现出多种应激反应,如攻击性增加、过度运动、冲动、戊巴比妥诱导的翻正反射消失时间缩短等^[37],此外,据报道SI环境会导致啮齿类动物学习记忆能力缺陷,前额叶皮质体积减少及皮质和海马突触的可塑性降低^[38]。在找水实验中,SI组小鼠的饮水潜伏期显著延长,表明SI小鼠空间注意力被损伤;SI导致的攻击行为的增加存在明显的性别依赖性;在Y迷宫中SI小鼠与空白组的表现没有显著差异,表明SI对小鼠的短期空间记忆没有影响。预测有效性方面,MPH显著改善了SI小鼠潜在学习障

碍,且呈剂量依赖性。此外胆碱能拮抗剂东莨菪碱可以阻断MPH对SI小鼠的改善作用,而DA受体拮抗剂舒必利则不能阻断MPH的改善作用,结果提示MPH改善SI动物的潜在学习障碍可能通过中枢胆碱能系统介导^[39]。另有研究发现SI可以下调小鼠大脑皮质中早期生长反应因子-1(Egr-1)的表达,Egr-1是一种转录因子,参与调节突触可塑性相关及认知表现^[40]。

3 化学物质诱导型

3.1 6-羟基多巴胺(6-OHDA)损伤动物 该动物模型是针对ADHD发病机制中的DA缺损理论而设计的。6-OHDA是一种神经毒素,会严重消耗大脑DA,导致中枢DA丧失,引起神经元损伤,进而引起多动。在出生16~22 d给新生大鼠脑内注射6-OHDA,新生大鼠6-OHDA损伤不会引起冲动,但是大鼠会表现出过度运动、认知障碍、焦虑样行为等,具有表面有效性^[41]。6-OHDA损伤小鼠会表现出潜伏抑制(即学习表现)的破坏,即表明其出现选择性注意的缺陷。低剂量的MPH、d-安非他明和托莫西汀治疗可以减少6-OHDA引起的多动症状,低剂量的托莫西汀还可以减少产前6-OHDA暴露导致的注意力不集中和记忆力丧失,具有预测有效性。但是该模型对尾状核区DAT的减少是不可逆的,这与特点与临床特征不符^[42]。

3.2 产前乙醇暴露大鼠 孕妇在怀孕期间饮酒的一个后果就是胎儿酒精谱系障碍(FASD)其特征包括智力缺陷、面部特征异常、生长迟缓等。虽然ADHD与FASD是独立的疾病,但是相当数量的FASD儿童会表现出典型的ADHD行为,提示产前酒精暴露可能是ADHD发病的外源性因素之一^[43]。产前暴露于酒精的大鼠会表现出与ADHD相似的症状,如表现出更多的冲动行为^[44],旷场实验中的多动行为,在Morris水迷宫实验中表现出视觉空间记忆障碍^[45],八臂迷宫中表现出工作记忆障碍^[46]等。出生前接触乙醇的大鼠和小鼠体内DA水平会发生改变,降低其与DA受体在纹状体的结合^[47]。但是,与空白组相比,产前乙醇暴露反而增加了大鼠对MPH和安非他明的活动反应,因此目前为止,还没有足够的研究表明,该模型具有预测有效度。

3.3 产前尼古丁暴露 产前尼古丁暴露会使儿童ADHD的发病概率更高^[48]。在啮齿类动物中,产前暴露于尼古丁会引起小鼠后代的过度活动。产前尼古丁暴露同样使得大鼠在八臂迷宫实验中正确选择的数量减少,在5项连续反应时间任务实验中

表现出冲动增加。旷场实验中,产前暴露于尼古丁的小鼠活动增加,在高架零迷宫实验和高架十字迷宫实验中产前尼古丁组小鼠进入开放区域次数高于空白组小鼠,明暗箱实验中在光照下的时间显著增加,表明其比正常小鼠更少的焦虑,Morris水迷宫实验中,最后1 d尼古丁产前暴露小鼠到达平台的时间比对照组长。而在Cincinnati水迷宫和强迫游泳实验中并未表现出差异性。产前暴露尼古丁对中枢神经系统功能具有长期不利的影响^[49-50],产前尼古丁暴露大小鼠ADHD模型具有表面有效性。在预测有效度方面,MPH和托莫西汀可以改善尼古丁引起的啮齿动物多动行为^[51]。

3.4 农药-溴氰菊酯 有研究报道儿童拟虫菊酯暴露与神经发育障碍和发育迟缓有关,与ADHD存在关联,特别是多动冲动症状,而且对男性的影响更加突出^[52]。啮齿动物研究表明,从胚胎0~21 d II型拟除虫菊酯的发育暴露会增加小鼠纹状体DAT及DAD1的水平,同时减少整年小鼠纹状体中细胞外DA的释放。研究表明,溴氰菊酯可以诱导小鼠出现ADHD样表型。旷场实验中,溴氰菊酯暴露的雄性小鼠表现得更加活跃,但是经过MPH处理后恢复正常;而在Y迷宫实验中,溴氰菊酯暴露的雄性小鼠的交替行为显著降低,并增加了相同手臂的进入次数,说明其在工作记忆能力方面也有缺陷;行为学实验还表示溴氰菊酯暴露的雄性小鼠会表现出更多的冲动行为。但是溴氰菊酯对雌性小鼠的影响缺大大降低^[53-54]。

3.5 发育性铅暴露 发育性铅暴露经常被报道与ADHD的患病率增加有关,可以减少注意力和反应抑制。且暴露于铅的儿童和实验动物在注意力和执行功能等许多方面会表现出缺陷,包括工作记忆、警惕性和警觉性测试等。虽然动物实验支持铅暴露与ADHD的发病率增加这一结论,但是根据剂量、暴露年龄、结果指标和动物种类的不同,结果的差异性很大。比如大鼠的发育过程中高剂量的铅暴露($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)会使其产生工作记忆缺陷,但不会令其多动,较低剂量铅暴露则不会影响大鼠的工作记忆及活动水平^[55]。从神经化学的角度看,暴露在铅环境中的动物会发生不同程度的DA信号紊乱,这也符合ADHD的结构有效性。预测有效性方面,有研究表明,安非他明可以减少小鼠铅暴露导致的共济失调。虽然铅暴露与儿童ADHD的发病联系紧密,但早期铅暴露在动物模型中一致性较差^[56]。

3.6 有机磷农药暴露 农药种类繁多,根据其化学性质的不同大致可以分为有机氯类、有机磷类、氨基酸甲酯类和拟除虫菊酯类。有机磷杀虫剂适用于农业和住宅环境,其在食品上的残留是其主要的接触源^[57]。其主要通过抑制大脑中的乙酰胆碱酯酶对神经发育产生不良影响,进而导致神经发育障碍和认知缺陷^[58]。大鼠毒死蜱发育性暴露会导致幼鼠超声发生显著降低,幼鼠超声波发生是引起护理的关键信号,没有这种信号,幼鼠将无法进行体温调节或哺乳。但是动物并未发生运动能力缺陷及ADHD样表型^[59]。

4 中医病证结合模型

中医在临床上常将ADHD归属于“脏燥”“健忘”“失聪”等范畴。概括本病的临床特点为意不周、思不专、情绪反复、性急躁等。其主要病因有先天禀赋不足,后天养护失调或为他病所伤,以致患者阴静不足,阳常有余,最终形成阴亏阳亢的病理状态。本病的发病机制为脏腑阴阳失调,以阴虚为本,阳盛为标,其病位涉及心肝脾肾,主要在心。而“痰”是主要的病理产物。根据其临床见证不同,可以将其分为阴虚阳亢证、痰火扰神证等不同证型。分类方法不同,所分证型也不尽相同,根据现有的相关资料,ADHD的辨证类型多达20种。临床研究中,各医家因为临床经验不同并未遵循规定分型。参考2019年中华中医药学会发布的《中医儿科临床诊疗指南》及2011年国家中医药管理局医政司发布的儿童多动症中医诊疗方案,常将ADHD分为心肝火旺证、痰火内扰证、肝肾阴虚证、心脾两虚证和脾虚肝亢证5种证型,进而采用不同的治法。随着中医药现代化的发展,越来越多的中医中药手段被运用于ADHD的临床治疗,如安神定志灵和小儿黄龙颗粒等^[60-63]。但是ADHD中医病证结合模型的研究目前仍处于起步阶段,有着巨大的研究潜力。

4.1 阴虚阳亢证 中医认为,小儿“阴常不足,阳常有余”所以本病患者阴虚阳亢证偏多。ADHD患者中,阴虚阳亢者常多动难静,急躁易怒,冲动任性,注意力不集中,或学习成绩低下,记忆力欠佳,或有遗尿,腰酸乏力,或五心烦热,睡眠不宁,舌红,苔薄,脉悬细,患者常表现出心率和呼吸频率加快等症状^[62]。上述症状在动物身上则表现为心率增加及代谢旺盛;动物的多动、冲动等行为可以利用各类行为学实验加以体现;动物舌体的色彩向量数值中绿色向量和蓝色向量数值升高等。

幼龄SHR大鼠皮下注射左旋肝素钠,有研究每

日向SHR大鼠皮下注射左旋肝素钠($0.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$),连续注射14 d后,与空白组相比,模型组大鼠心率显著升高,排便量增加,舌象色彩向量值中G、B数值升高,提示模型组大鼠出现代谢旺盛、舌色加深(舌红色程度提高与患者舌红少苔的症状相吻合)等症状。与空白组相比,模型组大鼠在旷场中移动距离、移动速度均显著增加,提示大鼠具有多动特性;注意定势转移实验中,模型组大鼠在复杂条件下注意定势转移障碍严重,在复杂辨别正向学习阶段错误率升高,说明大鼠学习能力及认知灵活性降低;激惹实验表明,模型组大鼠的攻击行为次数增加,说明模型组大鼠更容易被激怒,与临床患儿冲动、急躁易怒的行为特征相符^[64]。

4.2 心肝火旺证 心肝火旺证ADHD患儿常伴睡眠和行为功能的损害,多动、冲动,平时性情急躁易怒,语声高亢,常与人打闹,注意力不集中,睡眠不安,大便秘结,舌质红,苔薄黄,脉弦紧或弦数。这被认为是由“热”扰乱心神所致,内热过于旺盛,阳不入阴,导致患儿夜寐不安、心烦不寐等。患儿如果素体偏热,又喜肥甘厚味,助火内生,上扰心神肝火盛则急躁易怒、失眠;如果家长过于溺爱,小儿过于喜乐,心神失和,则会导致小儿多动多语,兴奋过度,注意力不集中;如果小儿平时压力过大,情绪压抑,进而导致肝气郁结,阳气过盛,则见急躁易怒,冲动任性等症状。多以清心平肝,安神定志为主要治法,可以搭配儿童认知行为干预、饮食调理等方法,家长平时也应该注意教育方法,及时辨证治疗,临床应用主方为安神定志灵加减。目前并无典型的ADHD心肝火旺证及单纯的心肝火旺证动物模型,还需进一步开发研究^[65]。

4.3 痰火内扰证 本证患儿多表现为冲动任性、喉有痰声,入睡困难,口苦纳呆,胸中烦热,尿赤,大便秘结,舌质红,苔黄腻,脉滑数。小儿平素喜食肉食、煎炸、甜腻食物,而果蔬进食较少,酿生痰湿困于脾,脾失健运,上蒙清窍故患儿多动难静神思涣散。痰邪久蕴化热,进而扰其心神,心神失守则注意力不集中,患儿多动难静、躁扰不宁。应以清热泻心,化痰宁心为主要治法,主方为黄连温胆汤加减。但是目前并无典型的ADHD痰火内扰证及单纯地痰火内扰证动物模型,需要进一步开发^[66-67]。

4.4 肝肾阴虚证 小儿体质常“阳有余,阴不足”,如果久病后肝肾阴虚,或素体阴液亏损,易肝肾阴血不足,水不涵木筋脉失去滋养则多动难静,神思涣散,记忆力差,常盗汗、遗尿、多梦,舌质红,苔少,

脉细数或弦细。应以养心安神,健脾益智为主要治法,临床上应用主方为杞菊地黄丸加减。目前并无ADHD肝肾阴虚证动物模型相关研究。现有的肝肾阴虚动物模型包括慢性激惹模型、温燥性中药模型、甲状腺激素类模型、甲状腺激素结合夹尾情志刺激模型等,后续实验中可以尝试将ADHD的造模方法和肝肾阴虚模型有机的结合起来进行研究,尝试构建互出一种符合中西医临床病症的ADHD肝肾阴虚证动物模型^[68-69]。

4.5 心脾两虚证 小儿脏腑娇嫩,心智尚未发育完全,一旦受惊则情志不定,引起五脏损伤,进而导致机体阴阳平衡失调。ADHD心脾两虚证患儿临床表现为平时倦怠懒言,乏力气短,形体消瘦,常神思涣散,面色萎黄,注意力不集中导致患儿成绩落后,厌食纳少,舌质淡,舌苔薄白,脉细弱。应以养心安神,健脾益智为主要治法,临床上应用的主方为归脾汤合甘草小麦大枣汤加减^[70]。有研究表明,小鼠负重游泳复合心得安+利血平方法可以成功复制中医心脾两虚小鼠证候模型,后续实验中可以将ADHD和心脾两虚动物模型两者相结合,尝试构建ADHD心脾两虚证动物模型^[71]。

4.6 脾虚肝亢证 儿童脾胃娇弱,脾虚则肝木不能制约而亢盛,尤其是学龄期儿童由于需要承担较大的学习压力,儿童容易积累不良情绪,从而引起气血生化不足,运行逆乱的情况。此证患儿通常表现为注意力缺陷、多动、冲动,平素爱生闷气,性格内向,多动不安,神思涣散,食欲不振且睡眠欠佳,情绪不稳,舌淡红或舌红,苔薄,脉弦细。临床上以健脾和中,平肝定志为主要治法,主方为逍遥散加减^[72]。目前暂无典型ADHD脾虚肝亢证结合动物模型,可查证的脾虚肝亢证的“证”模型有亚氨基二丙腈腹腔注射复合大黄颗粒剂溶液灌胃小鼠模型和亚氨基二丙腈腹腔注射复合饮食失节、慢性束缚及过度疲劳大鼠模型2种,但是样本量都较小,还需要更多的研究数据来支撑这两种模型的有效性。后续研究可以考虑结合ADHD及脾虚肝亢证动物模型,尝试构建ADHD脾虚肝亢证动物模型^[73]。

综上,目前ADHD造模方式还在不断探索中,现有造模方式各有特点,详见增强出版附加材料。

5 结论

目前ADHD的动物模型种类繁多,但大多数仍处于探索阶段,且少有模型可以完全符合表面有效性、结构有效性和预测有效性3个方面。ADHD生理病理学十分复杂且并不完全明晰,疾病的发生涉

及到多个基因的变异,是一种多网络、多基因的脑部疾病,目前并未发现驱动症状发生的主要影响基因,其复杂程度可想而知。构建一种完全符合临床病证及发病机理的ADHD动物模型是非常困难的。在这种情况下,表面有效性成为了研究者在选择ADHD动物模型时的主要考虑因素,主要依据行为学特征^[74]。SHR大鼠是从WKY大鼠中选育而来,在4~10周龄时会表现出典型的ADHD的症状,如冲动、过度活跃、注意力不集中、学习记忆能力缺陷等,在生理上更接近儿童期,并且此时期大鼠不会表现出高血压的,还会表现出Glu、DA和NE功能紊乱;GABA功能的潜在缺陷等表面有效性,是目前最为常用的ADHD动物模型,但是该模型仍旧在预测有效性和结构有效性方面有所不足,所以其作为ADHD动物模型的有效性也一直受到质疑。

随着中医药事业的蓬勃发展,中医药在治疗ADHD的临床新药研究、病因病机、治疗方案等方面不断完善,运用中医药治疗疾病具有辨证施治,千人千方,不良反应少等优势,是未来ADHD治疗的重要思路。合适的动物模型是疾病机制研究及新药开发的重要前提,因此,构建一种与中医临床病证相吻合的动物模型迫在眉睫。ADHD阴虚阳亢动物模型将基因因素和化学诱导有机结合,模型大鼠既具备ADHD多动、冲动和注意力不集中等典型症状,还具有代谢旺盛、脉数、舌色加深等中医临床典型症状。为运用中医药治疗ADHD做出重大贡献。但是中医病证结合ADHD动物模型的相关实验研究并不多,样本量少且缺乏长期性研究。后续实验中,建议将中医的四诊信息纳入到ADHD动物模型的评价指标中,灵活运用脉搏血氧仪和血流变测试仪等相关技术,尽可能地采集模型动物的中医指标特征,以期构建符合中西医临床病证特点的动物模型^[75]。

当前的研究公认ADHD是一种基因-环境障碍,即基因和环境两者都是ADHD生理病理学的重要组成部分但是现存的动物模型多为单纯的基因模型或环境诱导模型。随着基因测序及筛选技术的不断成熟,定位到了许多确切的基因位点与ADHD的发病直接相关,对这些基因位点进行干预之后,动物会表现出多动、冲动等相关表型。进而构建出了DAT敲除小鼠、LPHN3敲除大鼠等基因模型。但是由于目前大部分基因位点的生物学意义仍然不完全明确,所以基因编辑的动物模型存在许多缺陷,还需要更大量、更长时间的样本研究。而

且ADHD的发病本身会涉及多个基因的变异,并不是特殊基因疾病,现有的基因编辑ADHD动物模型都只是敲除或修饰单一位点的基因,所以基因编辑动物模型还存在一定的局限性。此外,基因动物价格昂贵、可应有的物种也有限,这都给基因动物模型的广泛应用带来了困难。目前单细胞测序技术等遗传研究方法迅速发展,可以更加准确、方便地检测疾病相关基因的突变情况,以上的困难也有望逐渐被克服,所以基因编辑方法构建ADHD动物模型仍然具有很大的优势和潜力。现有的报道中与ADHD发病联系最为紧密的环境原因为铅、杀虫剂(如拟除虫菊酯)、锰、多氯联苯、尼古丁和酒精灯,且很多研究都已经开发了暴露于这些物质的动物模型,且许多环境诱导模型在表面有效性、预测有效性等方面都表现得十分突出。

下一步研究中可以尝试将筛选出的基因遗传模型与环境诱导结合起来,测试其作为ADHD动物模型的合理性,这样会更符合ADHD作为基因-环境障碍的发病机理,也可以为ADHD动物模型的研究提供新思路。

[参考文献]

- [1] BITSKO R H, CLAUSSEN A H, LICHSTEIN J, et al. Mental health surveillance among children-united states, 2013-2019[J]. MMWR Suppl, 2022, 71(2): 1-42.
- [2] MARCOVITCH S, ZELAZO P D. A hierarchical competing systems model of the emergence and early development of executive function [J]. Dev Sci, 2009, 12(1): 1-18.
- [3] REPOVS G, BADDELEY A. The multi-component model of working memory: Explorations in experimental cognitive psychology [J]. Neuroscience, 2006, 139(1): 5-21.
- [4] WINSTANLEY C A, EAGLE D M, ROBBINS T W. Behavioral models of impulsivity in relation to ADHD: Translation between clinical and preclinical studies [J]. Clin Psychol Rev, 2006, 26(4): 379-395.
- [5] DONG Y, MO J, MIAO X, et al. Impacts of cognitive flexibility on central word identification: Evidence from poor comprehenders' discourse comprehension of first graders with ADHD [J]. Ann Dyslexia, 2023, 73(2): 314-335.
- [6] JENSEN D A, LUNDERVOLD A J, STUBBERUD J, et al. Goal management training improves executive control in adults with ADHD: An open trial employing attention network theory to examine effects on attention

- [J]. *BMC Psychol*, 2022, 10(1):207.
- [7] NÚÑEZ-JARAMILLO L, HERRERA-SOLÍS A, HERRERA-MORALES W V. ADHD: Reviewing the causes and evaluating solutions[J]. *J Pers Med*, 2021, 11(3):166.
- [8] VAN DER STAAY F J, ARNDT S S, NORDQUIST R E. Evaluation of animal models of neurobehavioral disorders[J]. *Behav Brain Funct*, 2009, 5:11.
- [9] NESTLER E J, HYMAN S E. Animal models of neuropsychiatric disorders[J]. *Nat Neurosci*, 2010, 13(10):1161-1169.
- [10] WELLS A M, JANES A C, LIU X, et al. Medial temporal lobe functioning and structure in the spontaneously hypertensive rat: Comparison with Wistar-Kyoto normotensive and Wistar-Kyoto hypertensive strains [J]. *Hippocampus*, 2010, 20(6):787-797.
- [11] CARBAJAL M S, BOUNMY A J C, HARRISON O B, et al. Impulsive choice in two different rat models of ADHD-Spontaneously hypertensive and LPHN3 knockout rats [J]. *Front Neurosci*, 2023, doi: 10.3389/fnins.2023.1094218.
- [12] APARICIO C F, HENNIGAN P J, MULLIGAN L J, et al. Spontaneously hypertensive (SHR) rats choose more impulsively than Wistar-Kyoto (WKY) rats on a delay discounting task [J]. *Behav Brain Res*, 2019, 364:480-493.
- [13] SJOBERG E A, RAMOS S, LÓPEZ-TOLSA G E, et al. The irrelevancy of the inter-trial interval in delay-discounting experiments on an animal model of ADHD [J]. *Behav Brain Res*, 2021, doi: 10.1016/j.bbr.2021.113236.
- [14] LEFFA D T, PANZENHAGEN A C, SALVI A A, et al. Systematic review and meta-analysis of the behavioral effects of methylphenidate in the spontaneously hypertensive rat model of attention-deficit/hyperactivity disorder [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2019, 100:166-179.
- [15] STERLEY T L, HOWELLS F M, RUSSELL V A. Evidence for reduced tonic levels of GABA in the hippocampus of an animal model of ADHD, the spontaneously hypertensive rat [J]. *Brain Res*, 2013, 1541:52-60.
- [16] REGAN S L, WILLIAMS M T, VORHEES C V. Latrophilin-3 disruption: Effects on brain and behavior [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2021, 127:619-629.
- [17] SABLE H J K, LESTER D B, POTTER J L, et al. An assessment of executive function in two different rat models of attention-deficit hyperactivity disorder: Spontaneously hypertensive versus LPHN3 knockout rats [J]. *Genes Brain Behav*, 2021, 20(8):e12767. DOI:10.1111/gbb.12767.
- [18] REGAN S L, PITZER E M, HUGFARD J R, et al. A novel role for the ADHD risk gene latrophilin-3 in learning and memory in LPHN3 knockout rats [J]. *Neurobiol Dis*, 2021, 158:105456.
- [19] REGAN S L, HUGFARD J R, PITZER E M, et al. Knockout of latrophilin-3 in Sprague-Dawley rats causes hyperactivity, hyper-reactivity, under-response to amphetamine, and disrupted dopamine markers [J]. *Neurobiol Dis*, 2019, doi:10.1016/j.nbd.2019.104494.
- [20] GAINETDINOV R R, CARON M G. An animal model of attention deficit hyperactivity disorder [J]. *Mol Med Today*, 2000, 6(1):43-44.
- [21] LEO D, SUKHANOV I, ZORATTO F, et al. Pronounced hyperactivity, cognitive dysfunctions, and bdnf dysregulation in dopamine transporter knockout rats [J]. *J Neurosci*, 2018, 38(8):1959-1972.
- [22] KASAHARA Y, KUBO Y, SORA I. Analysis of dopamine transporter knockout mice as an animal model of AD/HD [J]. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, 2013, 33(5/6):185-189.
- [23] TAKAMATSU Y, HAGINO Y, SATO A, et al. Improvement of learning and increase in dopamine level in the frontal cortex by methylphenidate in mice lacking dopamine transporter [J]. *Curr Mol Med*, 2015, 15(3):245-252.
- [24] MEREU M, CONTARINI G, BUONAGURO E F, et al. Dopamine transporter (DAT) genetic hypofunction in mice produces alterations consistent with ADHD but not schizophrenia or bipolar disorder [J]. *Neuropharmacology*, 2017, 121:179-194.
- [25] GONG R, DING C, HU J, et al. Role for the membrane receptor guanylyl cyclase-C in attention deficiency and hyperactive behavior [J]. *Science*, 2011, 333(6049):1642-1646.
- [26] MANN E A, SUGIMOTO C, WILLIAMS M T, et al. Mouse knockout of guanylyl cyclase C: Recognition memory deficits in the absence of activity changes [J]. *Genes Brain Behav*, 2019, 18(5):e12573.
- [27] HELMS C M, GUBNER N R, WILHELM C J, et al. D4 receptor deficiency in mice has limited effects on impulsivity and novelty seeking [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2008, 90(3):387-393.
- [28] MIKKELSEN S H, OLSEN J, BECH B H, et al. Birth asphyxia measured by the pH value of the umbilical cord blood may predict an increased risk of

- attention deficit hyperactivity disorder [J]. *Acta Paediatr*, 2017, 106(6):944-952.
- [29] LU-EMERSON C, KHOT S. Neurological sequelae of hypoxic-ischemic brain injury [J]. *Neuro Rehabilitation*, 2010, 26(1):35-45.
- [30] HAMDY N, EIDE S, SUN H S, et al. Animal models for neonatal brain injury induced by hypoxic ischemic conditions in rodents [J]. *Exp Neurol*, 2020, 334: 113457.
- [31] MARLOW N, ROSE A S, RANDS C E, et al. Neuropsychological and educational problems at school age associated with neonatal encephalopathy [J]. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2005, 90(5): F380-387.
- [32] MIGUEL P M, SCHUCH C P, ROJAS J J, et al. Neonatal hypoxia-ischemia induces attention-deficit hyperactivity disorder-like behavior in rats [J]. *Behav Neurosci*, 2015, 129(3):309-320.
- [33] DELL'ANNA M E, LUTHMAN J, LINDQVIST E, et al. Development of monoamine systems after neonatal anoxia in rats [J]. *Brain Res Bull*, 1993, 32(2):159-170.
- [34] MIGUEL P M, DENIZ B F, DECKMANN I, et al. Prefrontal cortex dysfunction in hypoxic-ischaemic encephalopathy contributes to executive function impairments in rats: Potential contribution for attention-deficit/hyperactivity disorder [J]. *World J Biol Psychiatry*, 2018, 19(7):547-560.
- [35] MIGUEL P M, DENIZ B F, CONFORTIM H D, et al. Methylphenidate treatment increases hippocampal BDNF levels but does not improve memory deficits in hypoxic-ischemic rats [J]. *J Psychopharmacol*, 2020, 34(7):750-758.
- [36] MIGUEL P M, DENIZ B F, CONFORTIM H D, et al. Methylphenidate administration reverts attentional inflexibility in adolescent rats submitted to a model of neonatal hypoxia-ischemia: Predictive validity for ADHD study [J]. *Exp Neurol*, 2019, 315:88-99
- [37] MATSUMOTO K, PUIA G, DONG E, et al. GABA_A receptor neurotransmission dysfunction in a mouse model of social isolation-induced stress: Possible insights into a non-serotonergic mechanism of action of SSRIs in mood and anxiety disorders [J]. *Stress*, 2007, 10(1):3-12.
- [38] FONE K C, PORKESS M V. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents-relevance to developmental neuropsychiatric disorders [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2008, 32(6): 1087-1102.
- [39] OUCHI H, ONO K, MURAKAMI Y, et al. Social isolation induces deficit of latent learning performance in mice: a putative animal model of attention deficit/hyperactivity disorder [J]. *Behav Brain Res*, 2013, 238:146-153.
- [40] MATSUMOTO K, ONO K, OUCHI H, et al. Social isolation stress down-regulates cortical early growth response 1 (Egr-1) expression in mice [J]. *Neurosci Res*, 2012, 73(3):257-262.
- [41] KOSTRZEWA J P, KOSTRZEWA R A, KOSTRZEWA R M, et al. Perinatal 6-hydroxydopamine modeling of ADHD [J]. *Curr Top Behav Neurosci*, 2016, 29:279-293.
- [42] 周荣易,王娇娇,韩新民. ADHD实验动物模型比较研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(9):88-92, 82.
- [43] MURAWSKI N J, MOORE E M, THOMAS J D, et al. Advances in diagnosis and treatment of fetal alcohol spectrum disorders: From animal models to human studies [J]. *Alcohol Res*, 2015, 37(1):97-108.
- [44] WANG R, MARTIN C D, LEI A L, et al. Prenatal ethanol exposure leads to attention deficits in both male and female rats [J]. *Front Neurosci*, 2020, doi: 10.3389/fnins.2020.00012.
- [45] GIRARD T A, XING H C, WAR D G R, et al. Early postnatal ethanol exposure has long-term effects on the performance of male rats in a delayed matching-to-place task in the Morris water maze [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2010, 24(3):300-306.
- [46] REYES E, WOLFE J, SAVAGE D D. The effects of prenatal alcohol exposure on radial arm maze performance in adult rats [J]. *Physiol Behav*, 1989, 46(1):45-48.
- [47] ROJAS-MAYORQUÍN A E, PADILLA-VELARDE E, ORTUÑO-SAHAGÚN D. Prenatal alcohol exposure in rodents as a promising model for the study of ADHD molecular basis [J]. *Front Neurosci*, 2016, doi:10.3389/fnins.2016.00565.
- [48] KWAN L Y, EATON D L, ANDERSEN S L, et al. This is your teen brain on drugs: In search of biological factors unique to dependence toxicity in adolescence [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2020, doi: 10.1016/j.ntt.2020.106916.
- [49] AMOS-KROOHS R M, WILLIAMS M T, BRAUN A A, et al. Neurobehavioral phenotype of C57BL/6J mice prenatally and neonatally exposed to cigarette smoke [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2013, 35:34-45.
- [50] ZHU J, FAN F, MCCARTHY D M, et al. A prenatal

- nicotine exposure mouse model of methylphenidate responsive ADHD-associated cognitive phenotypes [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2017, 58:26-34.
- [51] ALKAM T, MAMIYA T, KIMURA N, et al. Prenatal nicotine exposure decreases the release of dopamine in the medial frontal cortex and induces atomoxetine-responsive neurobehavioral deficits in mice [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2017, 234(12):1853-1869.
- [52] WAGNER-SCHUMAN M, RICHARDSON J R, AUINGER P, et al. Association of pyrethroid pesticide exposure with attention-deficit/hyperactivity disorder in a nationally representative sample of U. S. children [J]. *Environ Health*, 2015:14-44.
- [53] GILLETTE J S, BLOOMQUIST J R. Differential up-regulation of striatal dopamine transporter and alpha-synuclein by the pyrethroid insecticide permethrin [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2003, 192(3):287-293.
- [54] PITZER E M, SUGIMOTO C, GUDELSKY G A, et al. Deltamethrin exposure daily from postnatal day 3-20 in sprague-dawley rats causes long-term cognitive and behavioral deficits [J]. *Toxicol Sci*, 2019, 169(2):511-523.
- [55] AGUIAR A, EUBIG P A, SCHANTZ S L. Attention deficit/hyperactivity disorder: A focused overview for children's environmental health researchers [J]. *Environ Health Perspect*, 2010, 118(12):1646-1653.
- [56] SPROWLES J L N, AMOS-KROOHS R M, BRAUN A A, et al. Developmental manganese, lead, and barren cage exposure have adverse long-term neurocognitive, behavioral and monoamine effects in Sprague-Dawley rats [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2018, 67:50-64.
- [57] CEQUIER E, SAKHI A K, HAUG L S, et al. Exposure to organophosphorus pesticides in Norwegian mothers and their children: Diurnal variability in concentrations of their biomarkers and associations with food consumption [J]. *Sci Total Environ*, 2017, 590:655-662.
- [58] RICHARDSON J R, FITSANAKIS V, WESTERINK R H S, et al. Neurotoxicity of pesticides [J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 138(3):343-362.
- [59] BERG E L, CHING T M, BRUUN D A, et al. Translational outcomes relevant to neurodevelopmental disorders following early life exposure of rats to chlorpyrifos [J]. *J Neurodev Disord*, 2020, 12(1):40.
- [60] 孙继超, 尤月, 周荣易, 等. 安神定志灵对 ADHD 模型大鼠前额叶、纹状体 CDK5/DARPP32/PP1 信号通路的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(17):81-86.
- [61] 刘小凡, 马融, 丁樱, 等. 小儿黄龙颗粒治疗注意缺陷多动障碍随机、双盲双模拟、多中心临床研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(2):171-176.
- [62] 万源. 小儿黄龙颗粒治疗 ADHD 的 30 例 IV 期临床试验总结 [D]. 南京:南京中医药大学, 2019.
- [63] 中国中西医结合学会儿科专业委员会情志病学组, 中国中药协会儿童健康与药物研究专业委员会神经精神学组. 注意缺陷多动障碍中西医结合诊疗专家共识 [J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(4):1674-1679.
- [64] 伍永鸿, 田骄, 欧文静, 等. 儿童注意缺陷多动障碍阴虚阳亢证病证结合动物模型的构建 [J]. *北京中医药大学学报*, 2023, 46(5):657-664.
- [65] 高秀芳. 韩新民教授从心肝火旺论治儿童多动症经验 [J]. *中医儿科杂志*, 2020, 16(5):10-12.
- [66] 纪宁, 蒋镔. 健脑豁痰开窍法治疗小儿注意力缺陷多动障碍(痰火内扰证)的临床经验 [J]. *中国社区医师*, 2020, 36(8):108-109.
- [67] 周进. 黄连温胆汤加减治疗痰火内扰型小儿多动症的效果观察 [J]. *当代医药论丛*, 2017, 15(18):180-181.
- [68] 李瑞暖, 刁丽梅. 探索急性癫痫肝肾阴虚证病证结合动物模型构建思路 [J]. *中医药学报*, 2023, 51(2):88-92.
- [69] 王志鑫, 崔艳艳, 宋婷婷, 等. 三种肾阴虚证动物模型造模方法比较研究 [J]. *山东中医药大学学报*, 2023, 47(3):323-329.
- [70] 孙伟伟. 归脾汤加减辅治小儿多动症心脾两虚型疗效观察 [J]. *实用中医药杂志*, 2023, 39(3):534-536.
- [71] 徐立, 宋文婷, 韩冰, 等. 灵芪加口服液对心脾两虚小鼠益气宁心安神功效研究 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2015, 17(7):1361-1366.
- [72] 程耕田. 缓肝理脾颗粒治疗脾虚肝亢型儿童多动症的临床效果 [J]. *临床医学研究与实践*, 2022, 7(20):139-141.
- [73] 史文丽, 陈慧敏, 马丙祥. 脾虚肝亢证抽动障碍动物模型制备研究与应用现状 [J]. *世界中医药*, 2022, 17(24):3559-3563.
- [74] 张亚同, 赵书艺, 杨莉斌, 等. 基于中西医临床病证特点的孤独症谱系障碍动物模型评价 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20240362.
- [75] 刘悦, 姚明江, 梁晓, 等. 瘀毒互结证动物模型的建立与评价 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(13):72-78.

[责任编辑 张丰丰]