

少腹逐瘀汤配合针刺对痛经大鼠的镇痛作用 及对子宫收缩性和前列腺素水平的影响

巩海亮¹, 贾小红², 宋兰英³, 刘莉宁², 徐因⁴

1. 邯郸明仁医院妇科, 河北 邯郸 056006; 2. 邯郸明仁医院康复科, 河北 邯郸 056006;
3. 邯郸明仁医院护理部, 河北 邯郸 056006; 4. 邯郸明仁医院脑科, 河北 邯郸 056006

摘要: **目的** 观察少腹逐瘀汤配合针刺对痛经大鼠的镇痛作用和对大鼠子宫收缩性及血清前列腺素(PG)水平的影响,探究其治疗大鼠痛经的机制。**方法** 将 80 只雌性大鼠随机分为对照组、模型组、药物组、针刺组及药物配合针刺组 5 组,每组 16 只。对照组大鼠不进行造模处理,其他 4 组建立原发性痛经模型,其中药物组、针刺组及药物配合针刺组分别予少腹逐瘀汤、针刺及少腹逐瘀汤联合针刺治疗。以扭体反应评价各组大鼠的疼痛缓解情况,应用 BL-420F 生物机能系统记录子宫收缩情况,应用 ELISA 试剂盒检测 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、 PGE_2 含量。**结果** 与对照组比较,模型组大鼠扭体潜伏期明显缩短,扭体次数增加,子宫收缩波个数显著增加,收缩波峰值显著升高,子宫活动度显著增加(P 均 < 0.01)。与模型组比较,治疗后药物组、针刺组及药物配合针刺组的扭体潜伏期明显延长($P < 0.05$),扭体次数明显减少(P 均 < 0.01),子宫收缩波个数明显减少,收缩波峰值明显降低,子宫活动度明显降低(P 均 < 0.01),其中药物配合针刺组的上述变化均优于药物组和针刺组(P 均 < 0.01)。与其他各组比较,模型组血清 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的含量最高, PGE_2 含量最低(P 均 < 0.01),治疗后,各治疗组 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的含量均有下降, PGE_2 含量均有升高(P 均 < 0.01),其中药物配合针刺组的这种变化均优于药物组及针刺组(P 均 < 0.01)。**结论** 少腹逐瘀汤配合针刺治疗可有效缓解大鼠原发性痛经,降低痛经大鼠子宫收缩强度,其机制可能与降低痛经大鼠血清 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 含量,增加 PGE_2 含量有关。

关键词: 原发性痛经; 子宫收缩性; 少腹逐瘀汤; 针刺; 前列腺素 $\text{F}_{2\alpha}$; 前列腺素 E_2

中图分类号: R-33 R 271.11⁺3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)05-0590-04

Analgesic effect of acupuncture combined with Shaofuzhuyu decoction and its impact on uterine contractility and serum prostaglandin level in dysmenorrhea rats

GONG Hai-liang*, JIA Xiao-hong, SONG Lan-ying, LIU Li-ning, XU Yin

* Department of Gynaecology, Handan Mingren Hospital, Handan, Hebei 056006, China

Corresponding author: Xu Yin, E-mail: 191650281@qq.com

Abstract: Objective To observe the analgesic effect of acupuncture combined with Shaofuzhuyu decoction and its influence on uterine contractility and serum prostaglandin (PG) level in dysmenorrhea rats and explore the mechanism for treating primary dysmenorrhea. **Methods** Eighty female rats were randomized into five groups ($n = 16$ each): control group, model group, medicine group, acupuncture group and acupuncture plus medicine group. The modeling was not made in control group, and primary dysmenorrheal model was made in other groups in which Shaofuzhuyu decoction, acupuncture, acupuncture plus medicine were respectively used. Pain relief situation of dysmenorrheal rats was assessed by writhing response. Uterine contraction action was recorded with BL-420F biological function system. Serum $\text{PGF}_{2\alpha}$ and PGE_2 levels were detected by ELISA kit. **Results** Compared with control group, in model group, the latent period of writhing response was significantly shortened; the writhing times significantly increased; the number of uterine contraction wave significantly increased; the peak of systolic wave significantly rose; the uterine activity significantly increased (all $P < 0.01$). Compared with model group, after treatment, the latent period of writhing response was significantly prolonged ($P < 0.05$); the writhing times significantly decreased (all $P < 0.01$); the number of uterine contraction wave significantly decreased; the peak

of systolic wave significantly descended; the uterine activity was significantly reduced in medicine group, acupuncture group and acupuncture plus medicine group (all $P < 0.01$); the aforementioned changes after treatment in acupuncture plus medicine group were all superior to medicine group and acupuncture group (all $P < 0.01$). Before treatment, serum $\text{PGF}_{2\alpha}$ content in model group was significantly higher than those in remaining groups (all $P < 0.01$), and serum PGE_2 content in model group was significantly lower than those in remaining groups (all $P < 0.01$). After treatment, serum $\text{PGF}_{2\alpha}$ content decreased significantly in all treatment group; serum PGE_2 content in all treatment groups increased significantly (all $P < 0.01$); the aforementioned changes after treatment in acupuncture plus medicine group were superior to medicine group and acupuncture group (all $P < 0.01$). **Conclusion** The treatment of acupuncture combined with Shaofuzhuyu decoction can effectively relieve primary dysmenorrhea of rats, decrease the uterine contraction intensity, and the mechanism may be associated with increasing serum $\text{PGF}_{2\alpha}$ level and decreasing serum PGE_2 level.

Key words: Primary dysmenorrhea; Uterine contractility; Shaofuzhuyu decoction; Acupuncture; Prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$; Prostaglandin E_2

原发性痛经 (primary dysmenorrhea) 是由生殖器官的非器质性病变引起的行经前后或经期出现下腹痛、坠胀, 常伴有腰酸或其他不适。现代医学研究认为, 痛经的发生与经期子宫内膜中前列腺素 (PG) 的增高有关^[1], 而 PG 的含量增高又是引起子宫平滑肌细胞痉挛性收缩的主要原因。本研究中, 我们对少腹逐瘀汤与针刺联合治疗大鼠原发性痛经的作用及其机制进行了研究。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选用 3 月龄的 SPF 级健康 Sprague-Dawley (SD) 雌鼠 80 只, 所有大鼠均性成熟但未交配。于 SPF 级动物房内饲养, 室内温度 (23 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 湿度 (45 ± 5)%, 日光灯光照。使用清洁级大鼠普通饲料, 自由饮用自来水。

1.2 实验动物分组 通过阴道涂片法观察实验动物的生理周期。将湿润的细棉签在大鼠阴道约 0.5 cm 处转动, 将带有内含物的棉签在载玻片上均匀转动涂片, 置于空气中干燥。美兰染色后根据细胞形态判断大鼠生理周期。将处于动情期的大鼠平均分为 5 组: 对照组、模型组、针刺组 (针刺关元、三阴交两穴)、药物组 (少腹逐瘀汤, 每日灌胃)、药物配合针刺组。每组 16 只。

1.3 仪器与药品 美兰染色溶液 (北京化工厂); 苯甲酸雌二醇注射液 (宁波市三生药业有限公司, 批号: 120207); 缩宫素注射液 (上海禾丰制药厂, 批号: 120302); 少腹逐瘀汤 (小茴香 10 g, 干姜 8 g, 延胡索 15 g, 没药 10 g, 当归 10 g, 川芎 10 g, 肉桂 8 g, 赤芍 12 g, 蒲黄 10 g, 五灵脂 10 g); -80°C 冰箱 (青岛海尔); -20°C 冰柜 (青岛海尔); 汉医针灸针 (华佗牌); ELISA 试剂盒。

1.4 模型制备 依据《药理实验方法学》^[2] 上的痛经大鼠模型进行造模^[3]。连续 10 d, 每日给予大鼠

腹部皮下注射苯甲酸雌二醇注射液, 首次及末次给药的注射量为 0.5 mg/只, 其他时间注射剂量为 0.2 mg/只。末次给药后 1 h, 腹腔注射缩宫素 2 U/只。每日给药后放入 -25°C 冰柜冷冻 4 h, 中途开柜换气 5 s。对照组每日给予等量生理盐水。

1.5 取穴及治疗方法 根据《实验针灸学》^[4] 中所述穴位标准并根据大鼠形态及解剖特点, 定位穴位。针刺三阴交及关元穴, 三阴交穴位位于后肢内踝尖上 10 mm, 腓骨前缘; 关元穴位于脐下约 25 mm (脐平双髂嵴连线中点)。针刺深度约为 4 ~ 5 mm, 进针后留针 10 min, 行提插捻转手法约 30 s, 留针 20 min, 再缓慢将针退出。

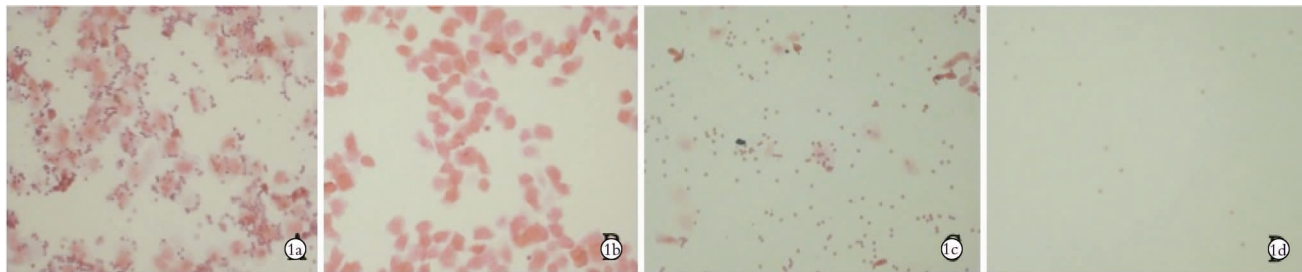
1.6 观察指标

1.6.1 扭体反应 腹腔注射缩宫素, 观察 20 min 内大鼠出现的扭体反应。根据 Schmauss 提出的行为学评分标准, 统计大鼠扭体次数、扭体潜伏期。扭体潜伏期 = 注射缩宫素后至出现扭体反应的时间^[5]。

1.6.2 子宫收缩强度 造模第 10 天, 大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉 (1 ml/250 g), 取仰卧位, 于腹部正中线上约 0.5 cm 处纵切约 2 ~ 3 cm 的开口, 拉出子宫角, 于分叉处上端 1 cm 处穿线, 并连接于张力传感器上, 加 0.1 g 的负荷后, 开启生物技能试验系统记录仪, 记录子宫收缩波及子宫活动度。模型组和各治疗组在针刺前子宫滴注 2 U 缩宫素, 对照组子宫滴注 2 U 生理盐水。针刺治疗 20 min 后结束, 同时停止记录。

1.6.3 大鼠血清中 PG 含量 大鼠尾静脉取血, 约 5 ml, 4°C , 3 000 r/min, 离心 15 min, 取上清液, 置于 -80°C 冰箱内保存, ELISA 试剂盒检测血清中 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 和 PGE_2 的含量。

1.7 统计学方法 应用 SPSS 13.0 软件对数据进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析以及两两比较的 SNK- q 检验。计数资料



1a: 动情前期;1b: 动情期;1c: 动情后期;1d: 动情间期

图 1 大鼠阴道图片美兰染色(×1 000)

表 1 大鼠扭体反应比较 (n = 16, $\bar{x} \pm s$)

组别	潜伏期(min)	扭体次数
对照组	30	0
模型组	4.67 ± 1.25 ^Δ	3.06 ± 8.33 ^Δ
药物组	8.06 ± 7.26 ^{Δ#*}	10.45 ± 6.62 ^{Δ#*}
针刺组	8.56 ± 4.77 ^{Δ#*}	8.87 ± 12.40 ^{Δ#*}
药物配合针刺组	10.13 ± 5.13 ^{Δ#}	3.79 ± 4.14 ^{Δ#}

注:与对照组比较,^ΔP < 0.01;与模型组比较,[#]P < 0.01;与药物配合针刺组比较,^{*}P < 0.01。

表 2 大鼠子宫收缩强度的变化 (n = 16, $\bar{x} \pm s$)

组别	收缩波数	峰值(g)	子宫活动度
对照组	6.03 ± 1.71	0.16 ± 0.33	0.72 ± 1.40
模型组	13.25 ± 4.15 ^Δ	0.43 ± 0.15 ^Δ	4.81 ± 2.06 ^Δ
药物组	10.17 ± 1.64 ^{Δ#*}	0.35 ± 0.56 ^{Δ#*}	3.73 ± 2.45 ^{Δ#*}
针刺组	10.35 ± 0.97 ^{Δ#*}	0.31 ± 0.72 ^{Δ#*}	3.05 ± 0.39 ^{Δ#*}
药物配合针刺组	8.33 ± 3.59 ^{Δ#}	0.23 ± 1.14 ^{Δ#}	1.91 ± 1.25 ^{Δ#}

注:与对照组比较,^ΔP < 0.01;与模型组比较,[#]P < 0.01;与药物配合针刺组比较,^{*}P < 0.01。

表 3 大鼠血清前列腺素 PGF_{2α}、PGE₂ 含量 (pg/ml, n = 16, $\bar{x} \pm s$)

组别	PGF _{2α}	PGE ₂
对照组	65.87 ± 13.87	372.25 ± 18.33
模型组	160.17 ± 14.63 ^Δ	137.71 ± 12.56 ^Δ
药物组	119.57 ± 8.14 ^{Δ#*}	241.17 ± 15.40 ^{Δ#*}
针刺组	113.15 ± 7.83 ^{Δ#*}	253.05 ± 20.13 ^{Δ#*}
药物配合针刺组	102.33 ± 3.59 ^{Δ#}	294.87 ± 14.33 ^{Δ#}

注:与对照组比较,^ΔP < 0.01;与模型组比较,[#]P < 0.01;与药物配合针刺组比较,^{*}P < 0.01。

以%表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠生理周期阴道涂片 每天固定时间进行大鼠阴道图片,并进行美兰染色,观察大鼠的生理周期。实验所用大鼠生理周期均正常,4 d 为 1 个周期,如图 1 所示,分别为动情前期,动情期,动情后期及动情间期,取动情期大鼠进行实验。

2.2 各组大鼠扭体反应比较 与对照组比较,模型组的扭体潜伏期明显缩短,扭体次数、扭体评分明显

增高(P 均 < 0.01),说明大鼠痛经模型制备成功。与模型组比较,药物组、针刺组及药物配合针刺组的扭体潜伏期明显延长(P 均 < 0.05),扭体次数明显减少(P 均 < 0.01);药物组与针刺组比较,扭体潜伏期、扭体次数均无明显差异(P 均 > 0.05),药物配合针刺组与药物组和针刺组分别比较,在扭体潜伏期、扭体次数方面均有明显差异(P 均 < 0.01)。见表 1。

2.3 各组大鼠子宫收缩强度比较 与对照组相比,模型组的大鼠子宫收缩波个数显著增加($P < 0.01$),子宫收缩波的峰值显著升高($P < 0.01$),子宫活动度显著增加($P < 0.01$)。与模型组相比,3 个治疗组均可显著减少子宫收缩波个数及峰值(P 均 < 0.01),降低子宫活动度($P < 0.01$),药物配合针刺治疗组在减少子宫收缩波次数及峰值,降低子宫活动度方面效果明显优于药物和针刺治疗组(P 均 < 0.01)。见表 2。

2.4 各组大鼠血清中 PGF_{2α} 和 PGE₂ 的比较 模型组 PGF_{2α} 的含量最高,PGE₂ 含量最低(P 均 < 0.01)。治疗后,PGF_{2α} 的含量均有下降(P 均 < 0.01),其中药物配合针刺组 PGF_{2α} 含量低于药物组和针刺组(P 均 < 0.01);治疗后 PGE₂ 含量明显升高,药物配合针刺组高于药物组和针刺组(P 均 < 0.01)。见表 3。

3 讨论

祖国医学认为,痛经是行经期间受到致病因素的影响导致冲任郁阻等情况,使气血运行不畅,经血流动受阻,“不通则痛”,引发痛经^[5]。在实验的动物模型中,我们使用皮下注射苯甲酸雌二醇联合缩宫素的方法,并适当使用冷冻法,最大程度的模拟了临床痛经状况。

关元穴具有“主胞胎”的作用,是精血之室及元气之所在,乃人生命之根本,可主治泌尿、生殖、妇科疾病及脾胃方面的疾病可以调理冲任、温通胞脉。三阴交穴具有活血调经、健脾利水、疏肝益肾、祛风除湿、疏风通络等作用,主要用于治疗胃病、妇科病、肝

胆病等^[6]。少腹逐瘀汤是治疗寒凝血瘀痛经的经典方剂,它作为四物汤类方之一,包含了四物汤,又在其基础上辨证加减,方中小茴香、干姜、肉桂可以温经散寒,通达下焦;蒲黄、五灵脂有活血祛瘀止痛的功效;而延胡索、没药、川芎可活血止痛;当归、芍药有祛瘀养血的功效。因此,少腹逐瘀汤具有温经化瘀,平和气血、畅行经血,调经止痛的功效^[7]。实验证实,少腹逐瘀对原发性寒凝血瘀痛经有良好的临床疗效^[8]。

扭体反应是检测中枢及外周镇痛效果的金指标^[9],并广泛应用于大鼠疼痛的机制研究中^[10]。本实验中,我们研究发现,造模后的大鼠扭体反应的潜伏期明显缩短,扭体次数明显增多,说明苯甲酸雌二醇痛经模型可明显增强大鼠的痛经症状,而治疗组可明显改善大鼠的痛经症状。单独给予少腹逐瘀汤的药物组治疗和单独给予针刺治疗的针刺组均对痛经症状有所缓解,说明针刺或药物治疗均有利于舒经化瘀,缓解疼痛;我们对药物联合针刺组对大鼠扭体反应的潜伏期和扭体次数进行统计,发现少腹逐瘀汤联合针刺的治疗效果优于药物和针刺的单独治疗组,说明药物与针刺可起到相互促进的作用。

PG 及其通路已被证实与痛经程度相关^[5]。PGF_{2α} 可以作用于螺旋小动脉壁上的 PGF_{2α} 受体,引起子宫平滑肌痉挛性收缩。在黄体期 PGE₂ 的含量升高,抑制子宫平滑肌自发性活动;月经期则相反。月经期溶解酶破坏子宫内膜细胞,释放大量 PGF_{2α},引起子宫平滑肌收缩^[11],降低血清中 PGF_{2α} 的含量能够有效抑制子宫平滑肌痉挛性收缩,缓解子宫缺血状态。而 PGE₂ 含量的升高同样可以抑制子宫平滑肌痉挛性收缩,改善子宫缺血缺氧的状态,最终发挥止痛效果^[12-13]。

本研究中,我们利用 BL-420 生物机能实验系统对各治疗组对大鼠子宫收缩及子宫兴奋性的变化进

行了观察,研究结果显示,模型组大鼠子宫收缩最强,子宫兴奋性高,而通过治疗后,大鼠的子宫兴奋性减少,收缩波下降。这一结果说明,少腹逐瘀汤和针刺都可以改善大鼠的子宫兴奋性,而两者联合应用的效果最强,这与 PGF_{2α} 和 PGE₂ 含量变化相一致。

参考文献

- [1] 乐杰. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:318-319.
- [2] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:1582-1587.
- [3] 张玲,申松希,朱世鹏,等. 寒凝证动物模型的建立[J]. 山东中医药大学学报,2013,37(3):248-250.
- [4] 林文注,王佩. 实验针灸学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:288.
- [5] 范郁山,苗芙蕊,廖爱妮,等. 隔药灸“命门”穴对痛经模型大鼠血清雌激素、孕激素水平及其受体表达的影响[J]. 针刺研究,2013,38(5):352-357.
- [6] 曹怀宁. 中药内外兼施治疗原发性痛经临床观察[J]. 中国中医急症,2008,17(9):1226-1227.
- [7] 马春芬. 少腹逐瘀冲剂治疗寒凝血瘀痛经 50 例[J]. 陕西中医,2001,22(6):322-323.
- [8] 孙蓉,张帆. 少腹逐瘀汤治疗青春期少女原发性痛经疗效观察[J]. 湖北中医杂志,2010,32(8):50-51.
- [9] 李艳,向兴华. 少腹逐瘀汤治疗原发性痛经 46 例[J]. 云南中医中药杂志,2009,30(9):11.
- [10] 吴远. 四妙君逸软膏对醋酸致痛小鼠血清 PGE₂、脑组织 5-HT_{2A} 受体影响及对蟾蜍局麻作用的实验研究[D]. 长沙:湖南中医药大学,2013.
- [11] Dawood MY. Primary dysmenorrhea: advances in pathogenesis and management[J]. Obstet Gynecol,2006,108(2):428-441.
- [12] 申松希,赵雅芳,张玲,等. 针刺刺激量对寒凝证类痛经模型大鼠疼痛反应、子宫前列腺素含量的影响[J]. 颈腰痛杂志,2014,38(5):482-484.
- [13] 赵伟国,李运景,李雪芹. 红花黄色素、阿魏酸对痛经模型大鼠催产素受体及加压素受体 mRNA 表达的影响[J]. 中国临床研究,2015,28(2):151-154.

收稿日期:2015-12-08 修回日期:2016-01-27 编辑:王娜娜