

# 电针关元、三阴交对痛经模型大鼠血清 IL-2、5-HT 及 P 物质的影响

赵正芳 唐纯志

**【摘要】 目的** 观察电针关元、三阴交对痛经模型大鼠血清白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)及 P 物质水平的影响,探讨其镇痛作用机制。**方法** 选用 40 只健康成年 SPF 级雌性 Sprague-Dawley 大鼠,根据体重随机分为正常对照组、模型组、电针组、布洛芬组,每组 10 只。模型组、电针组及布洛芬组采用己烯雌酚和催产素联合制备痛经大鼠模型,电针组给予电针关元、三阴交,布洛芬组给予布洛芬灌胃给药,余组不予治疗。于第 11 日观察并记录各组 30 分钟内大鼠扭体反应发生的次数,检测各组大鼠血清内 IL-2、5-HT、P 物质的含量。**结果** 经治疗后,痛经模型大鼠的扭体反应发生率明显下降( $P < 0.01$ ),电针组大鼠血清中 IL-2、5-HT 及 P 物质水平较模型组均有明显改善( $P < 0.05$ )。**结论** 电针关元、三阴交可明显缓解痛经所致疼痛,其作用机制可能与降低外周炎症致痛因子水平有关。

**【关键词】** 电针; 痛经; 白细胞介素-2; 5-羟色胺; P 物质

**【中图分类号】** R245 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.05.007

**Effect of electroacupuncture at Guanyuan (CV4) and Sanyinjiao (SP6) on serum IL-2, 5-HT and substance P in dysmenorrhea model rats** ZHAO Zhengfang, TANG Chunzhi. College of Acupuncture and Moxibustion, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China  
Corresponding author: TANG chunzhi, E-mail: jordan664@163.com

**【Abstract】 Objective** To observe the effect of electroacupuncture at Guanyuan (CV4) and Sanyinjiao (SP6) in dysmenorrhea rats, to observe the content of IL-2, 5-HT and substance P(SP) in serum and to explore the mechanism of analgesic action. **Methods** Forty healthy SD female rats (2 ~ 3 months, weight of 200 ~ 250 g) were randomly divided into normal group, model group, electroacupuncture group and Ibuprofen group, 10 rats in each group. The dysmenorrhea model rats were prepared with Diethylstilbestrol and Oxytocin. The electroacupuncture group rats were treated with electroacupuncture at Guanyuan (CV4) and Sanyinjiao (SP6), and the Ibuprofen group rats were given by Ibuprofen, and the other groups were untreated. The writhing response in 30mins were recorded, and the content of IL-2, 5-HT and substance P (SP) in serum was detected at the eleventh day. **Results** After treatment, the occurrence rate of writhing response was obviously decreased. Compared with the model group, the content of IL-2, 5-HT and substance P in serum of the electroacupuncture group was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The electroacupuncture can obviously alleviate dysmenorrhea, the mechanism may be related to the reduction of the level of inflammatory factors in peripheral.

**【Key words】** Electroacupuncture; Dysmenorrhea; Interleukin-2; 5-hydroxytryptamine; Substance P

痛经是妇科临床常见病,分为原发性痛经和继

发性痛经,目前研究多认为原发性痛经主要与前列腺素(prostaglandin, PG)、催产素、血管加压素及β-内啡肽等有关<sup>[1]</sup>,而继发性痛经则多由子宫器质性病变引起。中医对疼痛病因的认识多归于“不通则痛”或“不荣则痛”,其中针灸通过疏通经络、调和气血,可以有效减轻疼痛的症状,并改善机体的免疫功能紊乱状态<sup>[2-3]</sup>,但其作用机制仍不明确。本

作者单位: 510006 广州中医药大学针灸康复临床医学院[赵正芳(硕士研究生)、唐纯志]

作者简介: 赵正芳(1990-),女,2014级在读硕士研究生。研究方向: 针灸治疗疾病机理。E-mail: 491558050@qq.com

通信作者: 唐纯志(1966-),博士,教授,博士生导师。研究方向: 针灸治疗脑病机理。E-mail: jordan664@163.com

研究选用电针关元、三阴交,观察其痛经模型大鼠的镇痛作用以及大鼠血清白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)及P物质水平的变化,试阐述电针治疗痛经的作用机制,为针灸治疗原发性痛经提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

选用健康成年 SPF 级雌性 SD 大鼠 40 只(动物合格证号:0025478,许可证号:SYXK(粤)2013-0001),2~3 月龄,体重 200~250 g,实验动物均购自广州中医药大学动物实验中心,并于广州中医药大学动物实验中心完成。

### 1.2 仪器与试剂

“华佗牌”无菌针灸针(苏州医疗用品厂生产,26 号 1 寸针);G6805 型电针治疗仪(上海医用电子仪器厂);己烯雌酚注射液(上海通药业有限公司生产,产品批号 070208);催产素(上海禾丰制药有限公司生产,产品批号 H310210430);芬必得(天津葛兰素史克生产,产品批号 H10100089);ELISA 检测试剂盒(广州中山生物试剂公司)。

### 1.3 分组与模型制备

所有大鼠适应性饲养 1 周,按照体重将 40 只大鼠随机分为正常对照组、模型组、电针组及布洛芬组,每组 10 只。各组大鼠均在相同环境下饲养,环境温度控制在 22~26℃,湿度保持 60% 左右,明暗周期设定为 12/12 小时。模型制备参照王黎等<sup>[4]</sup>、罗绮薇等<sup>[5]</sup>、曾昭菱<sup>[6]</sup> 股部皮下注射己烯雌酚配合腹腔注射催产素联合制备痛经模型大鼠的方法,给予模型组、电针组及布洛芬组大鼠股部皮下注射己烯雌酚注射液,连续 10 天。第 1 天 0.8 mg/只,第 2~9 天 0.4 mg/只,第 10 天 0.8 mg/只,第 11 天腹腔注射催产素 2 u/只;同时给予正常对照组大鼠股部皮下注射等量生理盐水,每天 1 次。

### 1.4 治疗

1.4.1 电针组 造模完成第一天即开始针刺治疗,每天 1 次,连续治疗 10 天,穴位定位参照李忠仁主编《实验针灸学》,关元穴位于脐下 25 mm 处,三阴交位于后肢内踝尖直上 10 mm。选用华佗牌 26 号 1 寸毫针,关元直刺 2 mm,三阴交直刺 4~5 mm,选用上海产 G6805 型电针治疗仪施以密波,频率为 50 次/秒,刺激强度以大鼠针刺穴位局部肌肉可见轻微抽搐,大鼠保持安静为度,治疗 20 分钟。

1.4.2 布洛芬组 造模完成后,将芬必得 125 mg 混入 100 mL 生理盐水中,以 0.8 mL/只灌胃给药,

每天 1 次,连续给药 10 天。

1.4.3 正常对照组和模型组 每日抓握 1 次,每次 5 分钟。

### 1.5 扭体实验

各组治疗 10 天后,于第 11 天开始观察并记录各组大鼠 30 分钟内扭体反应发生的次数。

### 1.6 血清指标检测

血清 IL-2 检测:分别取各组大鼠血 2 mL,放置离心管中,以 3000 r/min 频率离心 10 分钟,吸取血清后放置于-30℃待检测,检测均采用酶联免疫吸附试验,具体操作参照试剂盒步骤;血清 5-HT、P 物质检测:血清提取步骤同上,检测时采用高效液相-电化学的方法检测,具体操作参照试剂盒步骤进行。

### 1.7 统计学方法

运用 SPSS 19.0 统计软件对各组所得数据进行统计学处理与分析,计量资料采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组均数比较采用单因素方差分析,继以 Student-Newman-keuls 检验,检验水平  $\alpha_1 = 0.05$ ,显著性检验水平  $\alpha_2 = 0.01$ 。

## 2 结果

### 2.1 电针对痛经大鼠扭体反应的影响

正常对照组大鼠扭体反应发生率为 0%,其余三组大鼠的扭体发生率是 100%,与正常对照组相比,其余三组大鼠 30 分钟内扭体反应发生的次数显著增多( $P < 0.01$ ),表明造模成功;与模型组相比,电针及布洛芬组大鼠扭体反应发生的次数显著下降( $P < 0.01$ ),说明电针及药物治疗均能有效缓解疼痛,降低大鼠扭体发生次数。详见表 1。

表 1 电针对痛经大鼠扭体反应的影响( $n=10$ )

组别	30 min 扭体次数( $\bar{x} \pm s$ )	扭体发生率(%)
正常对照组	0	0/10(0)
电针组	14.40±5.87 <sup>ab</sup>	10/10(100)
布洛芬组	11.90±3.54 <sup>ab</sup>	10/10(100)
模型组	32.50±6.72 <sup>a</sup>	10/10(100)

注:与正常对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>b</sup> $P < 0.01$ 。

### 2.2 电针对痛经大鼠血清 IL-2、5-HT、P 物质水平的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清 IL-2、5-HT、P 物质水平均明显升高( $P < 0.05$ );与模型组比较,电针组、布洛芬组大鼠血清 IL-2、5-HT、P 物质水平明显降低( $P < 0.05$ ),说明电针及药物治疗可以降低痛经大鼠外周血清 IL-2、5-HT、P 物质水平,从而减轻疼痛。详见表 2。

表 2 电针对各组大鼠血清 IL-2、5-HT、P 物质水平的影响 ( $n=10$ , ng/mL)

组别	IL-2	5-HT	P 物质
正常对照组	8.76±1.96	2.43±1.30	3.25±1.18
电针组	11.72±2.13 <sup>b</sup>	13.74±2.81 <sup>b</sup>	10.46±3.25 <sup>b</sup>
布洛芬组	11.02±2.06 <sup>b</sup>	13.37±2.79 <sup>b</sup>	8.11±1.48 <sup>b</sup>
模型组	15.68±3.15 <sup>a</sup>	19.10±3.16 <sup>a</sup>	15.05±3.24 <sup>a</sup>

注:与对正常对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 3 讨论

原发性痛经是指伴随月经出现的周期性小腹痛或痛引腰骶。有研究证实,中国原发性痛经的发生率占 36.6%<sup>[7]</sup>,对女性的工作和生活造成严重影响。原发性痛经的主要与体内炎症致痛因子 PG 有关,多种物质引起子宫平滑肌的痉挛收缩,致使子宫缺血缺氧,酸性代谢产物堆积,子宫疼痛神经纤维敏感化而引发痛经<sup>[8]</sup>。治疗上西医多选用非甾体类抗炎药,该类药物可抑制环氧化酶活性,减少 PG 合成,但易引起胃肠道及中枢系统的不良反应<sup>[1,9]</sup>,因此中医药治疗痛经越来越受到重视。

中医关于痛经的记载很多,其病名首见于宋代陈自明《妇人大全良方》<sup>[10]</sup>。早在《黄帝内经》中已有关于“血崩”“血枯”的记载,汉代张仲景《金匮要略·妇人杂病脉证并治》<sup>[11]</sup>中对痛经的病因病机及治疗已有了明确论述,指出痛经的发生与瘀血阻滞、冲任虚寒等有关,如“带下,经水不利,少腹满痛,经一月再见者,土瓜根散主之”,即瘀血致痛的症状及治法。后世医家通过大量临床实践,对痛经的治疗也日趋多样化,其中针灸治疗痛经疗效显著<sup>[12]</sup>,现代文献及临床研究表明针刺治疗痛经选穴繁多,以三阴交、关元使用频次最高<sup>[7,13]</sup>。三阴交属足太阴脾经穴,为足三阴经交会穴,“循经所过,主治之及”,足三阴经循行皆过少腹,故临床多用于妇科及生殖系统疾病。关元属任脉经穴,为十二募穴之一,与冲脉相通,又“任主胞胎”,可调和气血,培元固本。故本研究选用电针关元、三阴交,以观察针刺治疗痛经的疗效。

IL-2 是一种具有免疫调节功能的淋巴因子,它可增强自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)活性,并促进 NK 细胞产生多种细胞因子,对抗免疫抑制因子的作用,从而发挥宿主抗肿瘤的免疫作用<sup>[14-15]</sup>。5-HT 系统以血脑屏障为界分为中枢和外周两个独立的系统,在中枢系统中 5-HT 是参与镇痛作用的神经活性物质,而在外周是介导疼痛的炎症因子<sup>[16-17]</sup>。P 物质是一种多肽,广泛分布于中枢、

外周神经系统,与痛觉的传递和调节密切相关,可参与炎症反应和免疫调节,外周 P 物质不仅参与传痛和致痛,还可以刺激淋巴细胞和巨噬细胞释放更多炎症介质,进一步加重炎症反应<sup>[18]</sup>。

本研究结果显示电针痛经大鼠关元、三阴交可减少大鼠扭体反应次数,降低大鼠血清 IL-2、5-HT、P 物质水平,不仅证实针刺治疗痛经有效,还提示外周 IL-2、5-HT、P 物质的水平与痛经发生密切相关,上述物质水平升高,引起局部炎症反应,而针刺可以降低外周 IL-2、5-HT、P 物质水平,改善患者免疫功能状态,减轻外周炎症反应,从而有效镇痛。

### 参 考 文 献

- [1] 王艳英. 原发性痛经发病机制及治疗的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(7): 2447-2449.
- [2] 王瑞霞, 俞超芹. 原发性痛经患者外周血 T 淋巴细胞亚群的研究[J]. 实用妇产科杂志, 2004, 7(24): 229.
- [3] 王秀芳, 李居怡, 邓柏颖. 针灸治疗原发性痛经的机理研究述评[J]. 中医学报, 2013, 28(3): 454-456.
- [4] 王黎, 鞠琰莉, 邝枣园, 等. 针刺治疗痛经的免疫机制研究[J]. 广州中医药大学学报, 2007, 24(3): 219-221.
- [5] 罗绮薇, 张倩君, 郑泳霞, 等. 电针对实验性痛经大鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-1 水平的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2008, 14(9): 712-716.
- [6] 曾昭菱. 针刺对痛经大鼠镇痛机制的实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2011.
- [7] 叶大智. 试述针刺治疗原发性痛经取穴规律[J]. 中外医学研究, 2015, 13(10): 147-149.
- [8] 连伟清, 王唯迪, 徐梅, 等. 原发性痛经发病机制及治疗的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2012, 39(1): 29-31.
- [9] 禹龙香. 原发性痛经的发病机理与治疗[J]. 中国校医, 2005, 19(3): 325-327.
- [10] 南宋·陈自明. 妇人大全良方[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 9.
- [11] 东汉·张仲景. 金匮要略[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 87.
- [12] 齐金玲. 中药外敷关元穴治疗寒凝血瘀型原发性痛经临床观察[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(1): 201-203.
- [13] 任晓暄. 电针不同穴位对实验性类痛经大鼠镇痛效应及其机理的研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2010.
- [14] 邵雪峰, 李琳琳, 邵骏, 等. 子宫内异位症患者治疗前后血清 IL-2、SIL-2R 和 TNF- $\alpha$  检测的临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2008, 21(3): 204-206.
- [15] 冯利霞, 徐韶杰, 孔翠华, 等. 子宫内异位症腹腔液中 IL-2、IL-6 的变化[J]. 河北医药, 2010, 32(13): 1723.
- [16] 梁宜等. 5-羟色胺痛觉调制与针灸镇痛相关研究[J]. 上海针灸杂志, 2009, 29(8): 492-495.
- [17] 陈瑾, 刘光谱, 唐勇. 中枢及外周 5-HT、5-HIAA 在针刺镇痛后效应中的作用[J]. 中医药学刊, 2003, 21(9): 1446-1449.
- [18] 陈波, 李明月, 赵雪, 等. P 物质与针灸效应的研究进展[J]. 上海针灸杂志, 2014, 33(1): 82-87.

(收稿日期: 2016-08-26)

(本文编辑: 王馨瑶)