

刘子馨,贾飞凡,孟红旭,等. 四物合剂对缩宫素所致原发性痛经模型小鼠的影响研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(4): 1-6.

Liu ZX, Jia FF, Meng HX, et al. Effect of Siwu mixture on primary dysmenorrhea model mice induced by oxytocin [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(4): 1-6.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 04. 001

四物合剂对缩宫素所致原发性痛经模型小鼠的影响研究

刘子馨^{1,2,3}, 贾飞凡⁴, 孟红旭^{1,2,3}, 韩 笑^{1,2,3}, 李玲美^{1,2,3}, 尤 越^{1,2,3}, 王奥奥^{1,2,3},
王紫艳^{1,2,3}, 杨 斌⁵, 李 磊^{1,2,3*}, 付建华^{1,2,3*}, 刘建勋^{1,2,3}

(1. 中国中医科学院西苑医院基础医学研究所, 北京 100091; 2. 国家中医心血管病临床医学中心, 北京 100091;
3. 中药药理北京市重点实验室, 北京 100091; 4. 解放军总医院第六医学中心, 北京 100048;
5. 中国中医科学院西苑医院病理科, 北京 100091)

【摘要】 目的 研究四物合剂对原发性痛经小鼠模型的影响, 探讨其可能的作用机制。**方法** 健康 SPF 级 KM 雌性小鼠 60 只, 随机分为 4 组, 分别为正常组、模型组、痛经宝颗粒组、四物合剂组。采用雌激素联合缩宫素诱导的原发性痛经小鼠模型, 适应性喂养 3 d 后, 小鼠皮下注射苯甲酸雌二醇 2 mg/kg, 连续给药 10 d。第 4 天开始, 正常组和模型组给予等剂量蒸馏水, 阳性药痛经宝颗粒组按 4 g/kg 给药, 四物合剂组按 8 mL/kg 给药, 连续给药 7 d。以注射缩宫素后 30 min 内扭体次数和扭体潜伏期为主要观测指标, 考察四物合剂的镇痛作用, 测定血清中的超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA); 酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测子宫组织前列腺素 F_{2α}(PGF_{2α})、白介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)含量; 制备子宫病理切片观察腺体增生、炎性细胞浸润情况, 免疫组化检测环氧合酶 2(COX-2)表达。**结果** 与正常组相比, 模型组 30 min 内扭体次数明显增加、扭体潜伏期显著缩短($P<0.01$), 血清 MDA 水平显著增加($P<0.01$), 子宫组织 PGF_{2α}、TNF-α 水平明显增加($P<0.01$), IL-6 含量增加($P<0.05$); 子宫内腺体扩张呈乳头状增生, 间质水肿, 炎性细胞增生、浸润, COX-2 表达增强。与模型组相比, 阳性药组、四物合剂组 30 min 内扭体次数降低($P<0.05$, $P<0.01$), 四物合剂组扭体潜伏期增加($P<0.05$), 阳性药组、四物合剂组血清 MDA 水平降低($P<0.01$), 子宫组织 PGF_{2α} 水平降低($P<0.01$, $P<0.05$), IL-6、TNF-α 含量降低($P<0.05$), 腺体增生减少, 间质紧密, 炎性细胞浸润减少, COX-2 表达降低。**结论** 四物合剂能显著减少原发性痛经小鼠 30 min 扭体次数, 延长扭体潜伏期, 其作用机制可能与降低血清 MDA 含量、子宫组织中 PGF_{2α}、IL-6、TNF-α 水平以及 COX-2 表达, 改善组织病理学变化有关, 值得进一步深入研究。

【关键词】 四物合剂; 原发性痛经; 中药

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 04-0001-06

Effect of Siwu mixture on primary dysmenorrhea model mice induced by oxytocin

LIU Zixin^{1,2,3}, JIA Feifan⁴, MENG Hongxu^{1,2,3}, HAN Xiao^{1,2,3}, LI Lingmei^{1,2,3}, YOU Yue^{1,2,3},
WANG Aoao^{1,2,3}, WANG Ziyang^{1,2,3}, YANG Bin⁵, LI Lei^{1,2,3*}, FU Jianhua^{1,2,3*}, LIU Jianxun^{1,2,3}

【基金项目】 国家自然科学基金资助项目(82174219); 北京市中医药科技发展基金项目(JJ-2020-78); 中国中医科学院科技创新工程项目资助(CI2021A00912)。

【作者简介】 刘子馨(1995—), 在读硕士研究生, 研究方向: 心血管中药药理。E-mail: 641758689@qq.com

【通信作者】 李磊(1982—), 博士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 心血管中药药理。E-mail: lilei0502@126.com

付建华(1970—), 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 心血管中药药理。E-mail: jianhuaaffcn@263.net * 共同通信作者

- (1. Institute of Basic Medical Sciences of Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China. 2. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Cardiology, Beijing 100091. 3. Beijing Key Laboratory of Chinese Materia Pharmacology, Beijing 100091. 4. the Sixth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048. 5. Department of Pathology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091)

【Abstract】 Objective Siwu mixture is derived from Siwu decoction, a classical Chinese medicine prescription, which is widely used in a variety of gynecological diseases. However, There are few studies on the therapeutic effect of Siwu mixture on primary dysmenorrhea. This study aims to further explain its therapeutic effect. **Methods** Sixty healthy animals were divided into four groups: the control group, model group, Siwu mixture group and Tongjingbao granule group. The primary dysmenorrhea mice model was induced by estrogen combined with oxytocin. After 3 days of adaptive feeding, mice were subcutaneously injected with estradiol benzoate 2 mg/kg for 10 days. The normal and the model group received the same dosage of distilled water from the 4th day. The Tongjingbao granule group was given 4 g/kg for 7 days. The Siwu mixture group was given 8 mL/kg for 7 days. The analgesic effect of Siwu mixture was studied by writhing and the latency of writhing within 30 min after oxytocin injection. The serum contents of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) were determined. Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) were measured in tissue homogenates by ELISA method. Uterine pathological sections were prepared to observe glandular hyperplasia and inflammatory cell infiltration, and the expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) was detected by immunohistochemistry. **Results** Compared with result in the control group, the body twisting in the model group increased ($P<0.01$) and serum MDA increased ($P<0.01$). Uterine tissue PGF_{2α}, TNF-α and IL-6 increased. In the model group, endometrial glands were dilated and papillary hyperplasia, interstitial edema, inflammatory cell proliferation and infiltration were observed; COX-2 expression was enhanced. The number of writhing events within 30 min in Tongjingbao granule group and Siwu mixture group decreased compared with controls ($P<0.05$, $P<0.01$); the writhing latency in the Siwu mixture group increased ($P<0.05$) and the level of serum MDA in the positive drug group and Siwu mixture group decreased ($P<0.01$). **Conclusions** Siwu mixture could significantly reduced the 30 min writhing times and prolonged the writhing latency of primary dysmenorrhea mice. The mechanism may be related to reducing the content of serum MDA and PGF_{2α}, TNF-α and IL-6 in uterine tissue and COX-2 expression are related to the improvement of histopathological changes.

【Keywords】 Siwu mixture; primary dysmenorrhea; traditional Chinese medicine

原发性痛经(primary dysmenorrhea, PD)是指伴随月经周期出现以下腹部疼痛为主要症状且无其他生殖器官器质性病变的疾病,是最常见的妇科疼痛性疾病,占痛经的 90% 以上^[1],在不同年龄、国籍的女性人群中发病率占 45%~97% 不等,可以占到学校与工作缺勤原因的 1%~3%^[2]。原发性痛经属于中医“经行腹痛”的范围。清代陈莲舫所著《女科秘决大全》中将经行腹痛称为“痛经”,后世医者沿用此名。针对原发性痛经的治疗,西医临床常使用非甾体抗炎药和避孕药^[3],此类药物主要作用靶点为前列腺素,通过抑制前列腺素缓解疼痛^[4]。然而长期使用非甾体抗炎药和口服避孕药对肝、肾、胃肠功能甚至心脏系统都有许多副作用^[5]。中医临床常使用四物汤及其类方或佐以针灸、穴位贴敷、耳穴、熏蒸、灌肠等方法,疗效显著且副作用少^[6-8]。四物合剂始载于 2000 年版《中国药典》一部^[9],源于中医经典方剂“四物汤”其组成成分为:当归、熟地黄、白芍、川芎。四物汤最早记载于唐代蔺道人

所著的《仙授理伤续断秘方》,后世应用较为广泛的药方则取自宋代《太平惠民和剂局方》中,具有调经止痛、补血活血的功效,主治冲任虚损、月水不调……经行腹痛等妇人诸疾^[10]。方中当归补血养肝,和血调经,熟地黄补血滋阴,佐以白芍和营柔肝,川芎活血行滞,通畅气血,被称为“妇科第一方”是治疗妇科疾患的基础方。通过网络药理学研究分析得出四物汤治疗 PD 的关键作用机制为舒张子宫、调节激素、抗炎镇痛等^[3]。基于此,本研究旨在探究四物合剂治疗原发性痛经的作用及其可能的机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

KM 雌性小鼠 60 只,SPF 级,体重 18~22 g,由维通利华实验动物技术有限公司提供[SCXK(京)2021-0006]。动物饲养、实验操作均在中国中医科学院西苑医院实验动物中心[SYXK(京)2018-

0018]进行。实验动物处置严格遵循“减少、替代、优化”的 3R 原则,给予人道主义关怀。本研究获得中国中医科学院西苑医院动物伦理委员会批准(2022XLC001)。

1.2 主要试剂与仪器

四物合剂,神威药业(四川)有限公司提供,每瓶 10 mL,批号 2001141,有效期至 2022 年 1 月,根据 2020 年版《中国药典》一部计算,每 1 mL 四物合剂相当于 1 g 生药;缩宫素注射液,上海禾丰制药有限公司,1 mL:10 单位,批号:09201009,有效期至 2022 年 10 月;苯甲酸雌二醇注射液,宁波第二激素厂,2 mL:4 mg,批号:2011051,有效期至:2022 年 10 月;痛经宝颗粒,仲景宛西制药股份有限公司,每袋 10 g,批号:200704。

丙二醛(SOD)测定试剂盒:南京建成生物工程有限公司,货号:A001-3-2;超氧化歧化酶(MDA)测定试剂盒:南京建成生物工程有限公司,货号:A003-1-2;前列腺素 $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) ELISA 试剂盒:上海江莱生物科技有限公司,货号:JL13273;白介素 6 (IL-6) ELISA 检测试剂盒:上海酶联生物科技有限公司,货号:ml002293-C;肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 试剂盒:上海酶联生物科技有限公司,货号:ml002095-C;环氧化酶-2 抗体(COX-2):proteintech,货号:66351-1-1g。多功能酶标仪:BioTek 公司(美国)SYNERGY44 型;低温冷冻离心机:Thermo Fisher Scientific 公司(美国)MP-150 型。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组

正常雌性小鼠 60 只,随机均分成 4 组,即空白组、模型组、阳性药痛经宝颗粒组(4 g/kg)、四物合剂组(8 mL/kg),按照药品说明书给药方式设置给药剂量,适应性饲养 3 d 后各组给予相应药物灌胃给药。

1.3.2 造模与给药

小鼠皮下注射苯甲酸雌二醇(2 mg/kg),每日 1 次,连续 10 d。第 4 天开始,空白组与模型组给予等剂量蒸馏水,痛经宝组按 4 g/kg 给药,四物合剂组每日按 8 mL/kg 给药,每日给药 1 次,连续给药 7 d。

1.3.3 扭体次数、潜伏期测定

末次注射苯甲酸雌二醇后 1 h,按 10 U/kg 腹腔注射缩宫素,制备小鼠原发性痛经模型。小鼠腹腔注射 10 U/kg 缩宫素后,即刻放入透明的观察箱中,观察记录小鼠首次出现扭体时的潜伏期以及小鼠

30 min 内所有扭体次数,计算出药物扭体反应抑制率。观察标准:小鼠腹腔出现内凹,以及躯干与后肢伸展,臀部与一侧肢体内旋。抑制率(%)=(模型组扭体反应均数-给药组扭体反应均数)/模型组扭体反应均数 $\times 100\%$ 。

1.3.4 血清 MDA、SOD 检测

观察出现扭体反应 30 min 后,进行小鼠麻醉。小鼠眼底静脉丛取血放至不含抗凝剂试管中,室温下静置 1 h 后,3500 r/min 离心,离心 10 min 后取上清。用黄嘌呤氧化酶法(羟胺法)检测血清 SOD 活性,硫代巴比妥酸(TBA)法测定血清 MDA 含量。

1.3.5 ELISA 法检测子宫组织 $PGF_{2\alpha}$ 、IL-6、TNF- α

小鼠眼底静脉丛取血后,冰上迅速摘取小鼠新鲜的子宫组织,预冷的 PBS 冲洗子宫组织,去除残留血液,称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的 PBS 按 1:9 加入匀浆器中,充分研磨,将匀浆液于 7300 r/min,离心 10 min,取上清检测。ELISA 检测子宫组织 $PGF_{2\alpha}$ 、IL-6、TNF- α 的含量。以上均严格按照说明书要求操作。

1.3.6 子宫 HE 染色与免疫组化

取出子宫组织后用 4%多聚甲醛固定 24 h 后,石蜡包埋,制备子宫组织切片,HE 染色后显微镜下观察子宫组织。石蜡切片常规脱蜡至水,0.3% H_2O_2 氧化 15 min, PBS 洗 3 遍,每遍 5 min,滴加一抗 COX-2(1:200 稀释)4℃过夜, PBS 洗 3 遍,每遍 5 min,滴加 EnVision II 抗,室温 60 min, PBS 洗 3 遍,每遍 5 min。每张切片加 100 μ L 新鲜配制的 DAB 溶液,显微镜下观察 3 min,阳性显色为棕色。蒸馏水洗终止染色,苏木素复染,0.1%盐酸分化,自来水冲洗, PBS 冲洗返蓝,梯度乙醇脱水,透明,封片。采用 Image J 统计数据进行分析。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 25.0 软件进行数据统计分析,计量资料结果用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)示,将测定数据进行正态性、方差齐性检验,组间比较采用 t 检验,多样本均数比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠扭体反应及潜伏期检测

与正常组相比较,模型组 30 min 内小鼠扭体反应次数显著增多($P<0.01$),潜伏期显著缩短($P<0.01$)。与模型组比较,阳性药组 30 min 扭体次数

增加($P<0.05$)四物合剂组 30 min 内扭体次数显著减少,潜伏期明显增加($P<0.01, P<0.05$),见表 1。

2.2 小鼠血清 SOD、MDA 含量测定

与正常组相比,模型组、阳性药组、四物合剂组小鼠血清中 SOD 无显著性差异;与正常组相比,模型组血清 MDA 显著增加($P<0.01$);与模型组相比,阳性药组、四物合剂组血清 MDA 显著降低($P<0.01$),见表 2。

2.3 小鼠子宫匀浆 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、IL-6、TNF- α 测定

与正常组相比,模型组子宫组织中 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 显著增高($P<0.01$);与模型组相比,阳性药组 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 显著降低($P<0.01$),四物合剂组 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 降低($P<0.05$);与正常组相比,模型组子宫组织 IL-6、TNF- α 增加($P<0.05$),与模型组相比,阳性药组、四物合剂组子宫组织 IL-6、TNF- α 降低($P<0.05$),见

表 3。

2.4 小鼠子宫组织病理观察

小鼠子宫组织病理分析见图 1。正常组小鼠子宫腺体多,腔大饱满,间质疏密均匀,血管丰富,内膜上皮固有层结构紧密,间质细胞丰富,未见明显异常。

模型组子宫内膜腺体扩张,呈乳头状增生,间质水肿血管扩张,炎性细胞浸润,说明模型制备成功。与模型组相比,阳性药组小鼠子宫水肿和炎性细胞浸润明显减轻,四物合剂组小鼠子宫腺腔见少量炎症细胞浸润。

2.5 小鼠子宫组织 COX-2 表达

与正常组相比,模型组子宫组织 COX-2 表达增加($P<0.05$);与模型组相比,阳性药组、四物合剂组子宫组织 COX-2 表达降低($P<0.05$),见图 2、图 3。

表 1 各组原发性痛经小鼠模型潜伏期、扭体次数($\bar{x}\pm s, n=15$)

Table 1 Comparison of latency and body twisting times of primary dysmenorrhea model mice in each group

组别 Groups	剂量 Dose	潜伏期(min) Incubation period	30 min 扭体次数 30 min twisting times	抑制率(%) Inhibition rate
正常组 Normal group	/	30.0 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	100
模型组 Model group	/	3.07 $\pm$ 0.96 ^{##}	22.73 $\pm$ 10.35 ^{##}	0
阳性药组 Positive drug group	4 g/kg	3.25 $\pm$ 1.65	14.00 $\pm$ 8.21 [*]	38.42
四物合剂组 Siwu mixture group	8 mL/kg	7.33 $\pm$ 9.39 [*]	12.88 $\pm$ 11.25 ^{**}	43.33

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

Note. Compared with the normal group, ^{##} $P<0.01$. Compared with the model group, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$.

表 2 各组原发性痛经模型小鼠血清 SOD、MDA($\bar{x}\pm s, n=15$)

Table 2 Serum SOD and MDA of primary dysmenorrhea model mice in each group

组别 Groups	剂量 Dose	SOD(U/mL)	MDA(nmol/mL)
正常组 Normal group	/	21.778 $\pm$ 0.473	3.046 $\pm$ 0.427
模型组 Model group	/	21.686 $\pm$ 1.595	4.680 $\pm$ 0.546 ^{##}
阳性药组 Positive drug group	4 g/kg	21.439 $\pm$ 0.884	3.629 $\pm$ 0.516 ^{**}
四物合剂组 Siwu mixture group	8 mL/kg	21.319 $\pm$ 1.027	3.492 $\pm$ 0.331 ^{**}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$ 。

Note. Compared with the normal group, ^{##} $P<0.01$. Compared with the model group, ^{**} $P<0.01$.

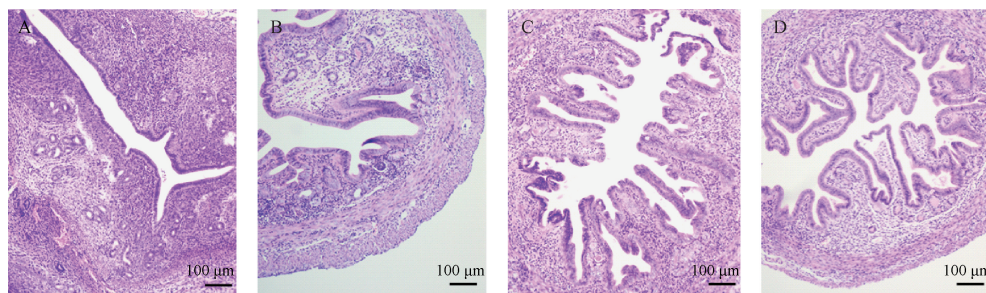
表 3 各组原发性痛经模型小鼠子宫组织 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、IL-6、TNF- α ($\bar{x}\pm s, n=15$)

Table 3 Uterine tissue of primary dysmenorrhea model mice in each group $\text{PGF}_{2\alpha}$, IL-6, TNF- α

组别 Groups	剂量 Dose	$\text{PGF}_{2\alpha}$ (pg/mL)	IL-6(pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
正常组 Normal group	/	31.378 $\pm$ 16.922	16.488 $\pm$ 3.489	88.087 $\pm$ 16.276
模型组 Model group	/	193.205 $\pm$ 19.338 ^{##}	20.955 $\pm$ 1.973 [#]	107.426 $\pm$ 7.664 [#]
阳性药组 Positive drug group	4 g/kg	117.012 $\pm$ 36.872 ^{**}	18.626 $\pm$ 2.813 [*]	100.051 $\pm$ 7.981 [*]
四物合剂组 Siwu mixture group	8 mL/kg	158.536 $\pm$ 37.652 [*]	18.564 $\pm$ 2.394 [*]	97.982 $\pm$ 6.759 [*]

注:与正常组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

Note. Compared with the normal group, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$. Compared with the model group, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$.

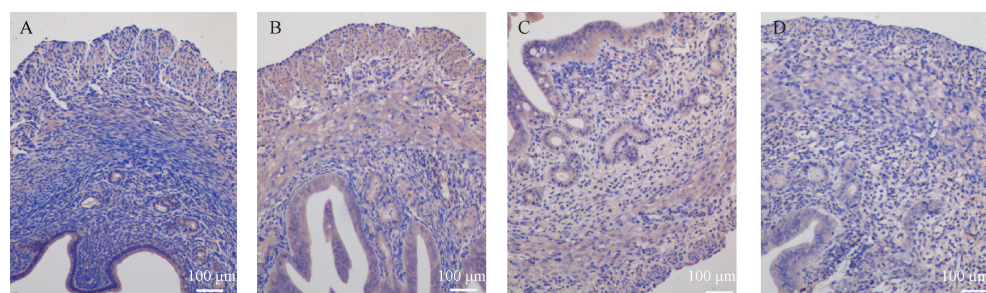


注:A:正常组;B:模型组;C:阳性药组;D:四物合剂组。

图1 原发性痛经模型小鼠 HE 染色切片

Note. A, Normal group. B, Model group. C, Positive drug group. D, Siwu mixture group.

Figure 1 HE staining sections of primary dysmenorrhea model mice

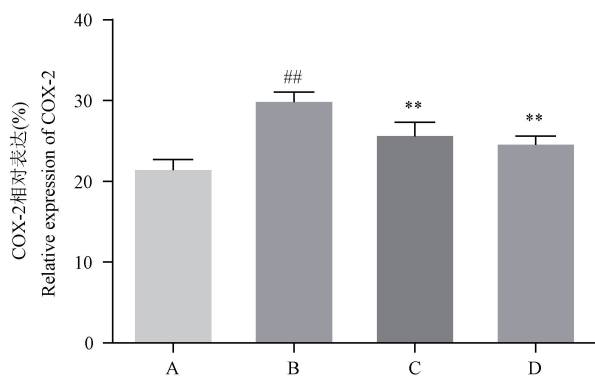


注:A:正常组;B:模型组;C:阳性药组;D:四物合剂组。

图2 原发性痛经模型小鼠 COX-2 免疫组化切片

Note. A, Normal group. B, Model group. C, Positive drug group. D, Siwu mixture group.

Figure 2 COX-2 immunohistochemical section of primary dysmenorrhea model mice



注:A:正常组;B:模型组;C:阳性药组;D:四物合剂组。与正常组相比, ^{##} $P < 0.01$;与模型组相比, ^{**} $P < 0.01$ 。

图3 COX-2 在小鼠子宫组织中的表达

Note. A, Normal group. B, Model group. C, Positive drug group. D, Siwu mixture group. Compared with the normal group, ^{##} $P < 0.01$. Compared with the model group, ^{**} $P < 0.01$.

Figure 3 Expression of COX-2 in mice uterus

3 讨论

原发性痛经病位在子宫,变化在气血主要病机为“不荣则痛、不通则痛”^[4]。清代《傅青主女科》的“舒则通畅,郁则不扬,经欲行而肝不应,则抑拂其

气而疼生”进一步阐明原发性痛经形成原因为体虚、寒、气郁、血结等。四物合剂组成成分为:当归、熟地黄、白芍、川芎,具有益气活血、补血养血功效,为临床治疗原发性痛经常用药物。

缩宫素诱发的小鼠原发性痛经模型是被广泛认可的痛经药效学实验模型,常应用于原发性痛经的研究^[11]。原发性痛经的主要临床症状是剧烈的急性腹痛,因此采用扭体反应为主要指标用来评价实验药物的疗效^[12-13]。本研究发现,与正常组相比,模型组小鼠 30 min 内扭体次数显著增加,潜伏期缩短,阳性药组、四物合剂组有效降低了 PD 模型小鼠 30 min 内扭体反应次数,延长疼痛潜伏期,说明四物合剂可拮抗缩宫素诱发的小鼠急性腹痛。

现代研究发现,原发性痛经与子宫内膜平滑肌阵发性收缩所导致的肌间血管受压而引起的子宫肌层及内膜暂时性缺血,产生过多自由基有关^[14]。MDA 是脂质过氧化代谢的重要产物,可引起细胞损伤,其含量可间接反映子宫细胞受自由基损伤的严重程度^[15]。研究发现,与正常组相比,模型组小鼠血清 MDA 水平显著增加,阳性药组、四物合剂组血清 MDA 水平较模型组降低说明四物合剂组小鼠子

宫组织内脂质过氧化程度低,提示四物合剂在一定程度上减少子宫氧化应激水平。

子宫内膜是合成前列腺素的重要部位,研究表明,PD 的病因是子宫前列腺素(PGs)的过多分泌使子宫过度收缩^[5],前列腺素的生物合成在疼痛模型的疼痛机制中有重要作用^[16]。特别是 PGF_{2α}刺激子宫收缩、缺血,导致月经痛^[5]。与正常组相比,模型组小鼠子宫组织中的 PGF_{2α} 水平显著增高,阳性药组、四物合剂组小鼠子宫组织 PGF_{2α} 水平较模型组降低。炎症与痛经息息相关,研究发现原发性痛经的主要机制与前列腺素、白细胞介素的增高密切相关^[17]。TNF-α 具有调控免疫应答、促进细胞生长分化等多种生物学功能,参与了多种炎症反应和神经相关慢性疼痛^[17]。白介素 6 是一种多效性细胞因子,在免疫调节、再生过程、骨稳态调节、心血管系统保护等方面发挥多种生物学作用^[18]。研究表明子宫内膜异位症患者血清 TNF-α、IL-6 水平显著升高且严重痛经患者较无痛经患者血清 TNF-α、IL-6 显著升高^[19]。本研究中,模型组子宫组织 TNF-α、IL-6 含量增高,阳性药组、四物合剂组子宫组织 TNF-α、IL-6 含量降低,表明四物合剂可能通过降低 TNF-α、IL-6 减轻痛经症状。

环氧化酶(COX)是参与 PGs 的生物合成限速酶,临床常用非甾体类抗炎药治疗原发性痛经,其机制主要是通过抑制 COX 减少 PGs 的生成,COX-2 高表达使 PGF_{2α} 升高加重痛经^[20]。本研究表明,四物合剂可降低 COX-2 表达,其治疗痛经机制可能与降低 COX-2 表达从而抑制 PGF_{2α} 治疗小鼠原发性痛经有关。

综上所述,四物合剂能显著减少原发性痛经小鼠 30 min 扭体次数,延长扭体潜伏期,其作用机制可能与降低血清 MDA 含量、子宫组织中 PGF_{2α}、IL-6、TNF-α 水平以及 COX-2 表达,改善组织病理学变化有关,其机制值得进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 谢幸,孔北华,段涛. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2018.
- [2] Sharghi M, Mansurkhani SM, Larky DA, et al. An update and systematic review on the treatment of primary dysmenorrhea[J]. JBRA Assist Reprod, 2019, 23(1): 51-57.
- [3] 李杰,石金凤,聂欣,等. 基于网络药理学的四物汤治疗原发性痛经的作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(3): 559-565.
- [4] 聂文佳,徐帅师,张咏梅. 原发性痛经治疗方法的研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(7): 683-689.
- [5] 徐珊,刘鹏宇,何全中. 白芷总香豆素对痛经模型小鼠的影响[J]. 中医药信息, 2020, 37(5): 5-10.
- [6] 吴红斌. 桂枝四物汤配合熏蒸治疗原发性痛经临床观察[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(8): 141-142.
- [7] 王巧英,赵兴国,李兆艾. 香附四物汤对原发性痛经患者凝血功能的影响[J]. 中药材, 2016, 39(7): 1670-1672.
- [8] 张丽君,李杰. 妇产科病中医经验集成[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,2012.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2000.
- [10] 陈庆平,陈冰鸥. 太平惠民和剂局方[M]. 北京:中国中医药出版社,1996.
- [11] 陈景伟,全瑞晓,孙晓换,等. 补佳乐联合缩宫素建立小鼠原发性痛经模型[J]. 中国实验动物学报, 2013, 21(5): 78-81.
- [12] 孙兰,李家春,刘莉娜,等. 散结镇痛胶囊对缩宫素诱导小鼠痛经的作用机制[J]. 中成药, 2021, 43(8): 2030-2035.
- [13] 中华中医药学会,中药实验药理专业委员会. 痛经动物模型制备规范(草案)[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(19): 20-24.
- [14] Chung D, Caruso RL. Potential role for oxidative stress in 2,2'-dichlorobiphenyl-induced inhibition of uterine contractions but not myometrial gap junctions[J]. Toxicol Sci, 2006, 93(1): 172-179.
- [15] 邵田娉,钱燕娜,吕品秋,等. 红花注射液对痛经模型小鼠血清 NO、Ca²⁺、MDA、SOD 的影响[J]. 新中医, 2020, 52(12): 1-4.
- [16] Franzotti EM, Santos CV, Rodrigues HM, et al. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca)[J]. J Ethnopharmacol, 2000, 72(1-2): 273-277.
- [17] 邓霁辉. 血清炎性生物标记物在子宫内膜异位症患者血清中的表达及意义[J]. 河北医药, 2016, 38(24): 3685-3689, 3694.
- [18] 姜少杰,梁仕睿,张雪芹,等. IL-6/IL-6 受体轴及其靶向抑制剂研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2019, 35(6): 569-574.
- [19] 王健,杨海燕,李振国,等. 艾附暖宫软胶囊镇痛抗炎作用研究及对雌性小鼠和催产素所致小鼠痛经模型的影响[J]. 中医学报, 2019, 47(2): 37-41.
- [20] 叶宇齐,王佩娟. 少腹逐瘀汤治疗原发性痛经的机制研究[J]. 长春中医药大学学报, 2012, 28(3): 551-553.

[收稿日期]2021-12-13