

陈美安, 黄凤, 梁晓庆, 等. 兰香草对寒凝血瘀证原发性痛经大鼠的防治作用及机制研究 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(7): 879–888.

CHEN M A, HUANG F, LIANG X Q, et al. Preventive and therapeutic effects and mechanisms of *Caryopteris incana* in a rat model of primary dysmenorrhea with cold coagulation and blood stasis syndrome [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(7): 879–888.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.07.007

兰香草对寒凝血瘀证原发性痛经大鼠 的防治作用及机制研究

陈美安*, 黄凤, 梁晓庆, 蓝小琪, 崔祥祥, 曾雪琪

(广西中医药大学药学院, 南宁 530001)

【摘要】 目的 探讨兰香草水煎液对寒凝血瘀证原发性痛经大鼠的防治效果及其作用机制。方法 随机将 60 只健康 SPF 级 SD 雌性大鼠分为正常组、模型组、布洛芬组、兰香草高剂量组、兰香草中剂量组、兰香草低剂量组, 每组 10 只。除正常组外, 其余各组采用寒冷刺激联合苯甲酸雌二醇以及缩宫素建立寒凝血瘀证原发性痛经大鼠模型。于造模第 5 天开始灌胃给药, 连续给药 10 d。观察记录大鼠症状表现, 测定大鼠扭体反应情况、血液流变学指标, 测定大鼠血清中血浆血栓素 B_2 (thromboxane B_2 , TXB_2)、6-酮前列环素 $F_{1\alpha}$ (6-Ketoprostacyclin $F_{1\alpha}$, 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$)、雌二醇 (estradiol, E_2) 和孕酮 (progesterone, PROG) 水平, 测定大鼠子宫组织中前列腺素 $F_{2\alpha}$ (prostaglandin $F_{2\alpha}$, PGF $_{2\alpha}$)、前列腺素 E_2 (prostaglandin E_2 , PGE $_2$)、一氧化氮 (nitric oxide, NO) 和钙离子 (calcium, Ca^{2+}) 水平, 以及计算子宫、卵巢脏器指数并观察其组织病理形态变化。结果 与正常组比较, 模型组大鼠出现明显寒凝血瘀证症状及扭体反应, 子宫、卵巢组织形态出现明显增生、炎症、水肿等病变, 血浆粘度、红细胞压积和全血粘度均明显升高 ($P < 0.01$), 血清中 TXB_2 、 E_2 水平和 E_2 /PROG 比值明显升高 ($P < 0.01$) 以及 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 和 PROG 水平明显降低 ($P < 0.01$), 子宫指数和卵巢指数均明显增高 ($P < 0.01$), 子宫组织中 PGF $_{2\alpha}$ 、 Ca^{2+} 水平和 PGF $_{2\alpha}$ /PGE $_2$ 比值明显升高 ($P < 0.01$) 以及 PGE $_2$ 、NO 水平明显降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 兰香草水煎液可明显改善模型大鼠的症状表现和子宫、卵巢组织形态病变, 显著延长扭体反应潜伏时间和降低扭体次数 ($P < 0.01$), 显著降低血浆粘度、红细胞压积和全血粘度 ($P < 0.01$), 降低血清中 TXB_2 、 E_2 水平及 E_2 /PROG 比值和升高血清中 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 、PROG 水平, 降低子宫指数和卵巢指数 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 降低子宫组织中 PGF $_{2\alpha}$ 、 Ca^{2+} 水平及 PGF $_{2\alpha}$ /PGE $_2$ 比值 ($P < 0.01$, $P < 0.05$) 和升高子宫组织中 PGE $_2$ 、NO 水平 ($P < 0.01$)。结论 兰香草水煎液可有效改善寒凝血瘀证原发性痛经大鼠的临床症状, 具有良好的防治效果, 其作用机制可能与大鼠血清中 TXB_2 、6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 、 E_2 、PROG 水平和子宫组织中 PGF $_{2\alpha}$ 、PGE $_2$ 、NO、 Ca^{2+} 水平有关。

【关键词】 兰香草; 寒凝血瘀证; 原发性痛经; 大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 07-0879-10

Preventive and therapeutic effects and mechanisms of *Caryopteris incana* in a rat model of primary dysmenorrhea with cold coagulation and blood stasis syndrome

CHEN Meian*, HUANG Feng, LIANG Xiaoqing, LAN Xiaoqi, CUI Xiangxiang, ZENG Xueqi

(College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

Corresponding author: CHEN Meian. E-mail: meianchen.2008985@163.com

[基金项目] 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目 (2022KY0296), 广西中医药大学自然科学基金项目 (2020MS004)。

Funded by the Project of Enhancing Young and Middle-Aged Teacher's Research Basis Ability in Colleges and Universities in Guangxi (2022KY0296), Natural Science Research Project of Guangxi University of Chinese Medicine (2020MS004)。

[作者简介] 陈美安, 女, 博士, 讲师, 研究方向: 中药、民族药药效物质基础与质量标准化研究。Email: meianchen.2008985@163.com

[Abstract] Objective To explore the preventive and therapeutic effects of *Caryopteris incana* decoction in a rat model of primary dysmenorrhea with cold coagulation and blood stasis syndrome. **Methods** Sixty healthy specific pathogen-free SD female rats were randomly divided into six groups of ten rats each: normal group, model group, ibuprofen group, *C. incana* high-dose group, *C. incana* medium-dose group, and *C. incana* low-dose group. All groups except the normal group were treated with cold stimulation combined with estradiol benzoate and oxytocin to establish a rat model of primary dysmenorrhea with cold coagulation and blood stasis syndrome. On the fifth day of modeling, the rats were intragastrically administered the study drugs for 10 days. Their symptoms were observed and recorded. The writhing response and hemorheological indices were measured. The serum levels of TXB₂, 6-keto-prostaglandin F_{1α} (6-Keto-PGF_{1α}), estradiol (E₂), and progesterone (PROG) were measured. Additionally, the levels of prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), prostaglandin E₂ (PGE₂), nitric oxide (NO), and calcium (Ca²⁺) in the uterine tissues were measured. The organ indices of the uterus and ovary were calculated, and histopathological changes were observed. **Results** Compared with the normal group, the rats in the model group showed obvious symptoms of cold coagulation and blood stasis syndrome and writhing reaction. The morphology of uterus and ovary showed obvious hyperplasia, inflammation, edema and other lesions. The plasma viscosity, packed cell volume and whole blood viscosity were significantly increased ($P < 0.01$). The serum levels of thromboxane B₂ and E₂ and the E₂/PROG ratio were significantly increased ($P < 0.01$), the levels of 6-Keto-PGF_{1α} and PROG were significantly decreased ($P < 0.01$). The uterine index and ovarian index were significantly increased ($P < 0.01$). The levels of PGF_{2α} and Ca²⁺ and the PGF_{2α}/PGE₂ ratio in uterine tissue were significantly increased ($P < 0.01$), while the levels of PGE₂ and NO were significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, *Caryopteris incana* significantly improved the symptoms of model rats, improved the morphological lesions of the uterus and ovary, prolonged the latency time of the writhing reaction, and reduced the number of writhing episodes ($P < 0.01$); significantly reduced the plasma viscosity, packed cell volume, and whole blood viscosity ($P < 0.01$); significantly reduced the serum levels of TXB₂ and E₂ and the E₂/PROG ratio, increased the serum levels of 6-Keto-PGF_{1α} and PROG, and reduced the uterine and ovarian indices ($P < 0.01$, $P < 0.05$); significantly reduced the levels of PGF_{2α} and Ca²⁺ and the PGF_{2α}/PGE₂ ratio in uterine tissue ($P < 0.01$, $P < 0.05$); and significantly increased the levels of PGE₂ and NO in the uterine tissue ($P < 0.01$). **Conclusions** *Caryopteris incana* decoction can effectively improve the clinical symptoms of primary dysmenorrhea in rats with cold coagulation and blood stasis syndrome, and it has a good control effect. Its mechanism may be correlated with the levels of TXB₂, 6-Keto-PGF_{1α}, E₂, and PROG in serum and PGF_{2α}, PGE₂, NO, and Ca²⁺ in uterine tissue.

[Keywords] *Caryopteris incana*; cold coagulation and blood stasis syndrome; primary dysmenorrhea; rat

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

原发性痛经(primary dysmenorrhea, PD)为妇科临床常见疾病,虽无生殖器官病理性改变,但其发病高、疼痛频繁,严重影响了女性的学习、工作和生活。中医理论认为,原发性痛经主要分为寒凝血瘀、气滞血瘀、肝肾亏损、阳虚内寒、气血虚弱、湿热瘀阻 6 种证型,其中尤以寒凝血瘀证痛经最为多见^[1-2]。寒凝血瘀证痛经与中医“寒”有关,温经散寒、化瘀止痛是中医药治疗寒凝血瘀证痛经的重要疗法,而许多民族药或民间草药在妇科疾病的治疗上亦颇具疗效,也引起了众多科研工作者的广泛关注。

兰香草,为马鞭草科莸属植物兰香草(*Caryopteris incana*, *C. incana*)的全草或带根全草,在浙江、江苏、安徽、江西、湖北、湖南、福建、广东、广西等省均有分布。其味辛、气香、性微温,具有疏

风解表、祛寒除湿、散瘀止痛之功效^[3],中西部山区少数民族常用来治疗妇科疾病,如产后瘀滞腹痛、寒淤痛经、月经不调、崩漏、白带等^[4-5]。目前兰香草的药理及临床研究基础极为薄弱,迄今未见其治疗痛经方面的研究报道。

因此,在前期完成兰香草抗炎镇痛活性初步研究的基础上^[6-7],以兰香草为研究对象,根据受寒后引起体内血行不畅、血脉不通的症状,采用符合中医症候特点的冰水浴法致寒结合苯甲酸雌二醇致敏和缩宫素致痛^[8],从而建立寒凝血瘀证 PD 大鼠模型,从症状表现、扭体反应、血液流变学指标及相关生化指标等方面来评价兰香草水煎液对寒凝血瘀证 PD 大鼠的防治效果及明确其可能的作用机制,为兰香草药用价值的开发利用及临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级健康成熟雌性 SD 大鼠 60 只, 7 周龄, 未交配, 体重 180 ~ 220 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司【SCXK(湘)2019-004】, 饲养于广西中医药大学科学实验中心动物实验室【SYXK(桂)2019-001】。在温度为 22 ± 2 °C, 湿度为 50% ~ 60%, 明暗各 12 h 交替的日光灯照射及通风好的环境中饲养。饲养期间大鼠自由摄食和饮水, 饲喂普通维持饲料, 以保证营养充足。本研究经广西中医药大学实验动物福利伦理委员会批准(DW20220106-245), 实验过程符合动物伦理指导原则。

1.1.2 主要试剂与仪器

兰香草, 采自广西宜州, 经广西中医药大学药用植物教研室的朱意麟实验师鉴定为马鞭草科菰属植物兰香草的干燥全草, 阴干, 粉碎成粗粉; 苯甲酸雌二醇注射液(上海全宇生物科技(驻马店)动物药业有限公司, 批号: 210301); 缩宫素注射液(西安华兽动物药业有限公司, 批号: 220101); 布洛芬缓释胶囊(中美天津史克制药有限公司, 批号: 20220107); 血浆血栓素 B_2 酶联免疫试剂盒、6-酮前列环素 $F_{1\alpha}$ 酶联免疫分析试剂盒、雌二醇酶联免疫分析试剂盒、孕酮酶联免疫分析试剂盒、前列腺素 $F_{2\alpha}$ 酶联免疫分析试剂盒、前列腺素 E_2 酶联免疫分析试剂盒(均购自武汉贝茵莱生物科技有限公司, 批号均为: 20220510); NO 酶联免疫分析试剂盒(合肥莱尔生物科技有限公司, 批号: 20220510); 钙含量检测试剂盒(上海酶联生物科技有限公司, 批号: G20220512K)。

AJ150 电子分析天平(瑞士梅特勒); HH-S 恒温水浴锅(江苏金坛市医疗仪器厂); 优普纯水仪(四川优普超纯科技有限公司); 3H16RI 智能高速冷冻离心机(湖南赫西仪器装备有限公司); ZL9000 全自动血流变分析仪(北京众驰伟业科技发展有限公司); Infinite M200 PRO 全波长多功能酶标仪(帝肯(上海)贸易有限公司); Eclipse Ci-L 正置白光拍照显微镜(Nikon, 日本)。

1.2 方法

1.2.1 实验药物的制备

取兰香草粗粉 2560 g, 加入 10 倍量水, 浸泡 1 h

后, 依次煎煮 3 次, 每次煎煮 1 h, 过滤, 合并 3 次滤液, 浓缩至 1000 mL, 得浓度为 2.56 g/mL 兰香草水煎液。

灌胃给药前, 用纯净水配成高(1.28 g/mL)、中(0.64 g/mL)、低(0.32 g/mL)三个不同浓度的兰香草溶液, 备用。

1.2.2 动物分组与造模

将常规适应性饲养 7 d 的雌性大鼠, 随机分为 6 组, 即正常组、模型组、布洛芬组、兰香草高剂量组(*C. incana* high-dose group)、兰香草中剂量组(*C. incana* medium-dose group)、兰香草低剂量组(*C. incana* low-dose group), 每组 10 只。除正常组外, 其余各组每日固定时间采用 0 ~ 1 °C 冰水浸泡大鼠, 每天 1 次, 每次 10 min, 连续 14 d; 同时, 除正常组外, 其余各组每日给大鼠皮下注射苯甲酸雌二醇, 第 1、14 天注射 4 mg/kg, 其余每天注射 2 mg/kg; 在第 14 天末次给药 1 h 后腹腔注射缩宫素 20 IU/kg, 以制备寒凝血瘀证 PD 模型。以大鼠症状表现作为寒凝血瘀证造模成功的指标^[9-10]: 大鼠寒战、蜷缩不动、喜扎堆、朦胧欲睡、两眼无神、反应迟钝、呼吸微弱、体温下降、心跳减慢、弓背竖毛、毛色枯槁无光泽、爪甲紫暗、耳色暗红、唇周发黑、舌质紫暗、舌下脉络增粗增长、下腹部和肛周发黑、小便色清、大便湿软不成形; 以大鼠扭体反应作为 PD 造模成功的指标^[9-11]: 腹部收缩内凹, 躯干与后肢伸展, 臀部与一侧肢体内旋。以此指标为判断标准, 造模成功率为 100%。

1.2.3 给药干预

于造模第 5 天开始灌胃给药(温服), 兰香草水煎液按生药量计给予兰香草高剂量组(12.8 g/kg)、兰香草中剂量组(6.4 g/kg)、兰香草低剂量组(3.2 g/kg), 以兰香草每日服用生药量 50 g 计, 分别相当于 60 kg 成人每日临床用药的 15.4、7.7 和 3.85 倍; 布洛芬组给予布洛芬缓释胶囊 0.06 g/kg, 正常组和模型组给予纯净水, 灌胃 10 mL/kg, 连续给药 10 d。

1.2.4 一般情况观察

造模及给药治疗期间, 每日观察记录大鼠的精神状态、活动情况、皮毛变化、饮食量、饮水量、大小便、垫料、死亡及体重等情况。

1.2.5 扭体反应测定

于末次给药 1 h 后, 除正常组外, 其余各组腹腔注射缩宫素 20 IU/kg, 以公认的扭体反应(即腹部收缩内凹, 躯干与后肢伸展, 臀部与一侧肢体内

旋)^[11]为指标,观察 30 min 内的扭体潜伏时间及扭体次数,计算扭体反应抑制率。扭体反应抑制率 = (模型组扭体反应均数 - 试药组扭体反应均数)/模型组扭体反应均数 × 100%。

1.2.6 血液流变学测定

大鼠处死前禁食不禁水 12 h,采用吸入麻醉法用异氟烷麻醉大鼠,麻醉成功后将大鼠仰面固定在手术板上,腹主动脉取血约 2 mL 于肝素管中,轻轻震荡混匀,采用全自动血流变分析仪迅速检测大鼠的血液流变学指标。

1.2.7 血清中 TXB₂、6-Keto-PGF_{1α}、E₂ 和 PROG 含量测定

腹主动脉取血约 3 mL 于真空管中,室温静置约 30 min,3000 r/min,低温 4 ℃ 离心 10 min 后,分取血清,严格按照相关酶联免疫分析试剂盒说明书采用 ELISA 法测定大鼠血清中 TXB₂、6-Keto-PGF_{1α}、E₂ 和 PROG 含量。

1.2.8 子宫、卵巢组织脏器指数测定及其病理学观察

分别取出子宫、卵巢,剥离脂肪组织,以冰冻的 0.9%氯化钠注射液洗净血渍,滤纸吸干表面水分后,称重,计算子宫脏器指数和卵巢脏器指数。用 4%多聚甲醛分别固定子宫、卵巢,固定 24 h 后,乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡切片包埋,进行苏木素-伊红(HE)染色,在光镜下观察组织形态及病变表现。脏器指数 = 脏器重量(g)/体重(g) × 100%。

1.2.9 子宫组织中 PGF_{2α}、PGE₂、NO 和 Ca²⁺含量测定

取子宫,以冰冻 0.9%氯化钠注射液洗净、拭干、称重,制成 10%子宫组织匀浆,以 3000 r/min,低温 4 ℃ 离心 10 min,取上清液,严格按照酶联免疫分析试剂盒说明书,采用 ELISA 法测定大鼠子宫组织中 PGF_{2α}、PGE₂ 和 NO 含量,以及严格按照钙含量检测试剂盒说明书,采用邻甲酚酞络合铜比色法测定 Ca²⁺含量。

1.3 统计学分析

计量数据以平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学处理,多组间比较使用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况的影响

正常组大鼠精神状态佳,反应灵敏、活泼好动、

毛发整洁、柔顺、光亮且紧贴皮肤,饮食、饮水正常,大小便正常,粪质褐色坚硬,垫料干湿度适宜且无明显异臭味,体重持续增加。模型组大鼠从造模第 3 天开始逐渐精神欠佳,出现寒战、蜷缩不动、喜扎堆、朦胧欲睡、两眼无神、反应迟钝、呼吸微弱、体温下降、心跳减慢、弓背竖毛、毛色枯槁无光泽、爪甲紫暗、耳色暗红、唇周发黑、舌质紫暗、舌下脉络增粗增长、下腹部和肛周发黑、大小便量明显增多、小便色清、大便湿软不成形、垫料易潮湿且有明显异臭味,饮食、饮水量减少,体重下降等寒凝血瘀证症状;注射缩宫素后,出现明显扭体反应的痛经症状。与模型组比较,经给药治疗 10 d 后,兰香草高剂量组和兰香草中剂量组大鼠的寒凝血瘀证症状有明显改善;布洛芬组和兰香草低剂量组大鼠的寒凝血瘀证症状有一定程度改善但不明显。

2.2 对扭体反应的影响

结果如表 1 所示,与正常组比较,模型组大鼠出现明显扭体反应($P < 0.01$)。与模型组比较,兰香草高剂量组、兰香草中剂量组、兰香草低剂量组和布洛芬组均能显著延长大鼠扭体反应的潜伏时间($P < 0.01$),并能显著降低大鼠的扭体次数($P < 0.01$)。

2.3 对血液流变学的影响

结果如表 2 所示,与正常组比较,模型组大鼠血浆粘度、红细胞压积及全血粘度均明显升高($P < 0.01$)。与模型组比较,布洛芬组可显著降低大鼠的红细胞压积及低切变率下全血粘度($P < 0.05$, $P < 0.01$);兰香草高剂量组和兰香草中剂量组均能显著降低大鼠的血浆粘度、红细胞压积及高、中、低切变率下全血粘度($P < 0.01$);兰香草低剂量组可显著降低大鼠的低切变率下全血粘度($P < 0.05$)。

2.4 对血清中 TXB₂、6-Keto-PGF_{1α}、E₂ 和 PROG 含量的影响

结果如表 3 所示,与正常组比较,模型组大鼠血清中 TXB₂、E₂ 水平及 E₂/PROG 比值明显升高($P < 0.01$),6-Keto-PGF_{1α} 和 PROG 水平明显降低($P < 0.01$)。与模型组比较,布洛芬组可显著降低大鼠血清中 E₂ 水平及 E₂/PROG 比值($P < 0.05$, $P < 0.01$);兰香草高剂量组和兰香草中剂量组均能显著降低大鼠血清中 TXB₂、E₂ 水平及 E₂/PROG 比值($P < 0.01$),并显著升高大鼠血清中 6-Keto-PGF_{1α} 和 PROG 水平($P < 0.01$);兰香草低剂量组可明显

表 1 兰香草水煎液对大鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of *Caryopteris incana* decoction on writhing response in rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Groups	潜伏时间/min Latent time/min	扭体次数 Writhing frequency	扭体反应抑制率/% Inhibition rate of writhing response/%
正常组 Normal group	—	—	—
模型组 Model group	4.40 ± 0.67 ^{▲▲}	41.00 ± 4.42 ^{▲▲}	—
布洛芬组 Ibuprofen group	8.72 ± 1.20 ^{**}	13.30 ± 2.31 ^{**}	67.56
兰香草高剂量组 <i>C. incana</i> high-dose group	7.61 ± 1.07 ^{**}	16.50 ± 1.35 ^{**}	59.76
兰香草中剂量组 <i>C. incana</i> medium-dose group	7.81 ± 0.97 ^{**}	18.80 ± 2.44 ^{**}	54.15
兰香草低剂量组 <i>C. incana</i> low-dose group	6.69 ± 8.20 ^{**}	25.50 ± 3.63 ^{**}	37.80

注:与正常组相比, ^{▲▲} $P < 0.01$;与模型组相比, ^{**} $P < 0.01$ 。(下表同)
Note. Compared with the normal group, ^{▲▲} $P < 0.01$. Compared with the model group, ^{**} $P < 0.01$. (The same in the following tables)

表 2 兰香草水煎液对大鼠血浆黏度、红细胞压积及全血黏度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of *Caryopteris incana* decoction on plasma viscosity, packet cell volume and whole blood viscosity in rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Groups	血浆粘度/ (m Pa·s) Plasma viscosity/ (m Pa·s)	红细胞压 积/(L/L) Packet cell volume (L/L)	全血粘度/(m Pa·s) Whole blood viscosity/(m Pa·s)		
			高切/(m Pa·s) High shear rates/(m Pa·s) (200/s)	中切/(m Pa·s) Medium shear rates/(m Pa·s) (50/s)	低切/(m Pa·s) Low shear rates/(m Pa·s) (1/s)
正常组 Normal group	1.59 ± 0.02	0.39 ± 0.02	4.08 ± 0.55	5.55 ± 0.96	21.76 ± 1.97
模型组 Model group	1.90 ± 0.07 ^{▲▲}	0.46 ± 0.01 ^{▲▲}	5.54 ± 0.50 ^{▲▲}	8.29 ± 0.76 ^{▲▲}	30.99 ± 2.03 ^{▲▲}
布洛芬组 Ibuprofen group	1.84 ± 0.07	0.43 ± 0.02 [*]	5.06 ± 0.66	7.71 ± 0.85	25.52 ± 1.74 ^{**}
兰香草高剂量组 <i>C. incana</i> high-dose group	1.63 ± 0.06 ^{**}	0.42 ± 0.02 ^{**}	4.69 ± 0.47 ^{**}	6.21 ± 0.78 ^{**}	23.14 ± 2.69 ^{**}
兰香草中剂量组 <i>C. incana</i> medium-dose group	1.67 ± 0.09 ^{**}	0.41 ± 0.02 ^{**}	4.50 ± 0.45 ^{**}	6.82 ± 1.05 ^{**}	26.13 ± 1.62 ^{**}
兰香草低剂量组 <i>C. incana</i> low-dose group	1.82 ± 0.07	0.44 ± 0.03	4.93 ± 0.46	7.32 ± 1.04	27.67 ± 2.14 [*]

注:与模型组相比, ^{*} $P < 0.05$ 。(下表同)
Note. Compared with the model group, ^{*} $P < 0.05$. (The same in the following tables)

表 3 兰香草水煎液对大鼠血清中 TXB₂、6-Keto-PGF_{1α}、E₂ 和 PROG 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of *Caryopteris incana* decoction on the contents of TXB₂, 6-Keto-PGF_{1α}, E₂ and PROG in serum of rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Groups	TXB ₂ /(ng/mL)	6-Keto-PGF _{1α} /(pg/mL)	E ₂ /(pg/mL)	PROG/(ng/mL)	E ₂ /PROG
正常组 Normal group	5.42 ± 0.22	128.83 ± 7.40	45.20 ± 2.33	37.14 ± 1.91	1.22 ± 0.10
模型组 Model group	8.07 ± 0.32 ^{▲▲}	76.02 ± 4.05 ^{▲▲}	74.17 ± 4.16 ^{▲▲}	21.29 ± 1.52 ^{▲▲}	3.50 ± 0.29 ^{▲▲}
布洛芬组 Ibuprofen group	7.79 ± 0.34	78.94 ± 6.12	69.29 ± 4.36 [*]	23.07 ± 2.02	3.02 ± 0.23 ^{**}
兰香草高剂量组 <i>C. incana</i> high-dose group	6.02 ± 0.32 ^{**}	98.68 ± 4.97 ^{**}	50.43 ± 2.74 ^{**}	32.08 ± 2.12 ^{**}	1.58 ± 0.16 ^{**}
兰香草中剂量组 <i>C. incana</i> medium-dose group	6.58 ± 0.37 ^{**}	93.44 ± 4.78 ^{**}	55.23 ± 3.10 ^{**}	34.14 ± 1.38 ^{**}	1.62 ± 0.13 ^{**}
兰香草低剂量组 <i>C. incana</i> low-dose group	7.70 ± 0.35	81.47 ± 5.11	66.34 ± 4.06 ^{**}	23.93 ± 1.65 [*]	2.78 ± 0.27 ^{**}

降低大鼠血清中 E_2 水平及 E_2 /PROG 比值 ($P < 0.01$) 和显著升高大鼠血清中 PROG 水平 ($P < 0.05$)。

2.5 对子宫指数和卵巢指数的影响

结果如表 4 所显示,与正常组比较,模型组大鼠子宫指数和卵巢指数均明显增高 ($P < 0.01$)。与模

型组比较,兰香草高剂量组、兰香草中剂量组和布洛芬阳性组均能显著降低大鼠子宫指数和卵巢指数 ($P < 0.01$);兰香草低剂量组可显著降低大鼠子宫指数 ($P < 0.01$),但其对大鼠卵巢指数的影响无显著性差异。

表 4 兰香草水煎液对大鼠子宫指数和卵巢指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Groups	子宫指数/(mg/g) Uterine index of rats/(mg/g)	卵巢指数/(mg/g) Ovarian index of rats/(mg/g)
正常组 Normal group	1.76 ± 0.23	0.31 ± 0.03
模型组 Model group	6.60 ± 0.76 ^{▲▲}	0.71 ± 0.09 ^{▲▲}
布洛芬组 Ibuprofen group	3.34 ± 0.45 ^{**}	0.56 ± 0.05 ^{**}
兰香草高剂量组 <i>C. incana</i> high-dose group	2.62 ± 0.14 ^{**}	0.42 ± 0.05 ^{**}
兰香草中剂量组 <i>C. incana</i> medium-dose group	3.12 ± 0.29 ^{**}	0.52 ± 0.05 ^{**}
兰香草低剂量组 <i>C. incana</i> low-dose group	3.99 ± 0.52 ^{**}	0.63 ± 0.07

2.6 对子宫组织中 $PGF_{2\alpha}$ 、 PGE_2 、NO 和 Ca^{2+} 含量的影响

结果如表 5 所示,与正常组比较,模型组大鼠子宫组织中 $PGF_{2\alpha}$ 、 Ca^{2+} 水平及 $PGF_{2\alpha}$ / PGE_2 比值明显升高 ($P < 0.01$), PGE_2 、NO 水平明显降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较,布洛芬组可显著降低大鼠子宫组织中 $PGF_{2\alpha}$ 水平及 $PGF_{2\alpha}$ / PGE_2 比值 ($P < 0.01$) 和显著升高大鼠子宫组织中 PGE_2 水平 ($P < 0.01$);兰香草高剂量组和兰香草中剂量组均能显著降低大鼠子宫组织中 $PGF_{2\alpha}$ 、 Ca^{2+} 水平和 $PGF_{2\alpha}$ / PGE_2 比值 ($P < 0.01$),并能显著升高大鼠子宫组织中 PGE_2 、NO 水平 ($P < 0.01$);兰香草低剂量组可显著降低大鼠子宫组织中 $PGF_{2\alpha}$ 、 Ca^{2+} 水平及 $PGF_{2\alpha}$ / PGE_2 比值 ($P < 0.05, P < 0.01$) 和明显升高大鼠子宫组织中 NO 水平 ($P < 0.05$)。

2.7 对子宫、卵巢组织病理学变化的影响

结果如图 1 所示,正常组子宫组织可见内膜由单层柱状上皮和固有层构成,子宫内膜上皮为单层柱状上皮细胞,未见明显的变性以及增生;固有层子宫腺分布均匀,未见明显的扩张和增生;属于正常发情期变化。模型组子宫组织可见内膜上皮细胞呈高柱状,少量细胞坏死溶解,胞质空泡化(黑色箭头);固有层可见细胞坏死固缩,伴少量淋巴细胞浸润(蓝色箭头);子宫腺扩张,少量上皮细胞坏死,核固缩,胞质空泡化(绿色箭头)。布洛芬组子宫组

织可见少量内膜上皮细胞水样变性,胞质疏松淡染(黑色箭头);子宫腺丰富,多量子宫腺扩张(蓝色箭头);固有层少量淋巴细胞浸润(绿色箭头)。兰香草高剂量组子宫组织可见少量内膜上皮细胞水样变性,胞质疏松淡染(黑色箭头);固有层散在分布淋巴细胞(蓝色箭头);少量子宫腺扩张(绿色箭头)。兰香草中剂量组子宫组织可见内膜上皮呈高柱状,少量上皮细胞增生(黑色箭头);多量上皮细胞水样变性,胞质疏松淡染(蓝色箭头);少量子宫腺扩张(绿色箭头);固有层可见散在分布的淋巴细胞(红色箭头)。兰香草低剂量组子宫组织可见内膜上皮呈高柱状,少量上皮细胞水样变性,胞质疏松淡染;固有层散在分布淋巴细胞;多量子宫腺扩张,少量子宫腺上皮细胞水样变性,胞质疏松淡染。子宫组织可见内膜上皮呈高柱状,少量上皮细胞水样变性,胞质疏松淡染(黑色箭头);固有层散在分布淋巴细胞(蓝色箭头);多量子宫腺扩张(绿色箭头),少量子宫腺上皮细胞水样变性,胞质疏松淡染(红色箭头)。

结果如图 2 所示,正常组卵巢组织可见表面附有一层上皮,未见异常;实质分为皮质及髓质,皮质内有各级不同发育阶段的卵泡、黄体 and 闭锁细胞,各级细胞形态结构正常;卵泡间的基质富含梭形的基质细胞和网状纤维;髓质为疏松结缔组织;卵巢结构和形态发育正常,卵泡形态结构清晰,未见明

显的病理改变。模型组卵巢组织中少量卵泡内可见卵母细胞坏死,透明环崩解,形态不规则,伴少量巨噬细胞浸润;少量卵泡内可见少量卵泡颗粒细胞坏死,胞核固缩,未见卵母细胞;少量黄体细胞可见水样变性,胞质疏松淡染。卵巢组织中少量卵泡内可见卵母细胞坏死,透明环崩解,形态不规则,伴少

表 5 兰香草水煎液对大鼠子宫组织 PGF_{2α}、PGE₂、NO 和 Ca²⁺ 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effects of *Caryopteris incana* decoction on the contents of PGF_{2α}, PGE₂, NO and Ca²⁺ in uterus of rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Groups	PGF _{2α} /(pg/mL)	PGE ₂ /(pg/mL)	PGF _{2α} /PGE ₂	NO/(μmol/L)	Ca ²⁺ /(μmol/g)
正常组 Normal group	80.42 ± 9.99	115.13 ± 5.89	0.70 ± 0.09	28.93 ± 2.30	13.17 ± 1.63
模型组 Model group	122.50 ± 8.42 ^{▲▲}	82.38 ± 6.48 ^{▲▲}	1.49 ± 0.12 ^{▲▲}	16.42 ± 1.81 ^{▲▲}	139.51 ± 12.56 ^{▲▲}
布洛芬组 Ibuprofen group	88.33 ± 6.69 ^{**}	107.01 ± 5.25 ^{**}	0.83 ± 0.09 ^{**}	16.68 ± 2.06	130.94 ± 6.64
兰香草高剂量组 <i>C. incana</i> high-dose group	94.67 ± 7.63 ^{**}	105.13 ± 5.10 ^{**}	0.90 ± 0.09 ^{**}	26.11 ± 3.01 ^{**}	56.59 ± 3.93 ^{**}
兰香草中剂量组 <i>C. incana</i> medium-dose group	87.58 ± 7.00 ^{**}	100.51 ± 4.17 ^{**}	0.87 ± 0.07 ^{**}	23.02 ± 2.94 ^{**}	73.47 ± 3.21 ^{**}
兰香草低剂量组 <i>C. incana</i> low-dose group	110.08 ± 6.74 [*]	89.51 ± 3.96	1.23 ± 0.09 ^{**}	19.99 ± 2.81 [*]	91.02 ± 5.11 ^{**}

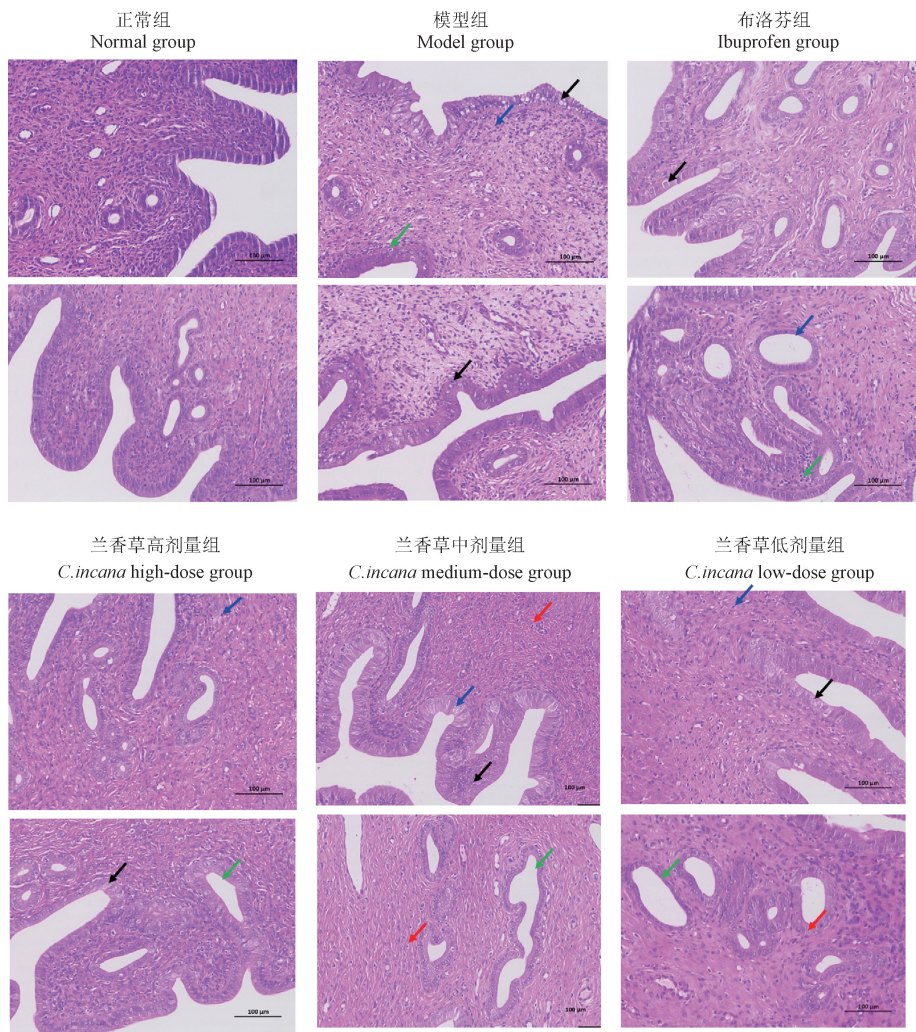


图 1 大鼠子宫病理形态观察图

Figure 1 Pathological observation on uterus of rat

量巨噬细胞浸润(黑色箭头);少量卵泡内可见少量卵泡颗粒细胞坏死,胞核固缩(红色箭头),未见卵母细胞;少量黄体细胞可见水样变性,胞质疏松淡染(蓝色箭头)。布洛芬组卵巢组织中可见少量黄体细胞可见水样变性,胞质疏松淡染(黑色箭头);少量卵泡未见卵母细胞(蓝色箭头)。兰香草低剂量组卵巢组织中少量卵泡内可见卵母细胞坏死,透明环崩解,形态不规则(黑色箭头);少量卵泡内可见少量卵泡细胞坏死,胞核碎裂(蓝色箭头),未见卵母细胞。

样变性,胞质疏松淡染(黑色箭头)。兰香草中剂量组卵巢组织中少量黄体可见黄体细胞水样变性,胞质疏松淡染(黑色箭头);少量卵泡未见卵母细胞(蓝色箭头)。兰香草低剂量组卵巢组织中少量卵泡内可见卵母细胞坏死,透明环崩解,形态不规则(黑色箭头);少量卵泡内可见少量卵泡细胞坏死,胞核碎裂(蓝色箭头),未见卵母细胞。

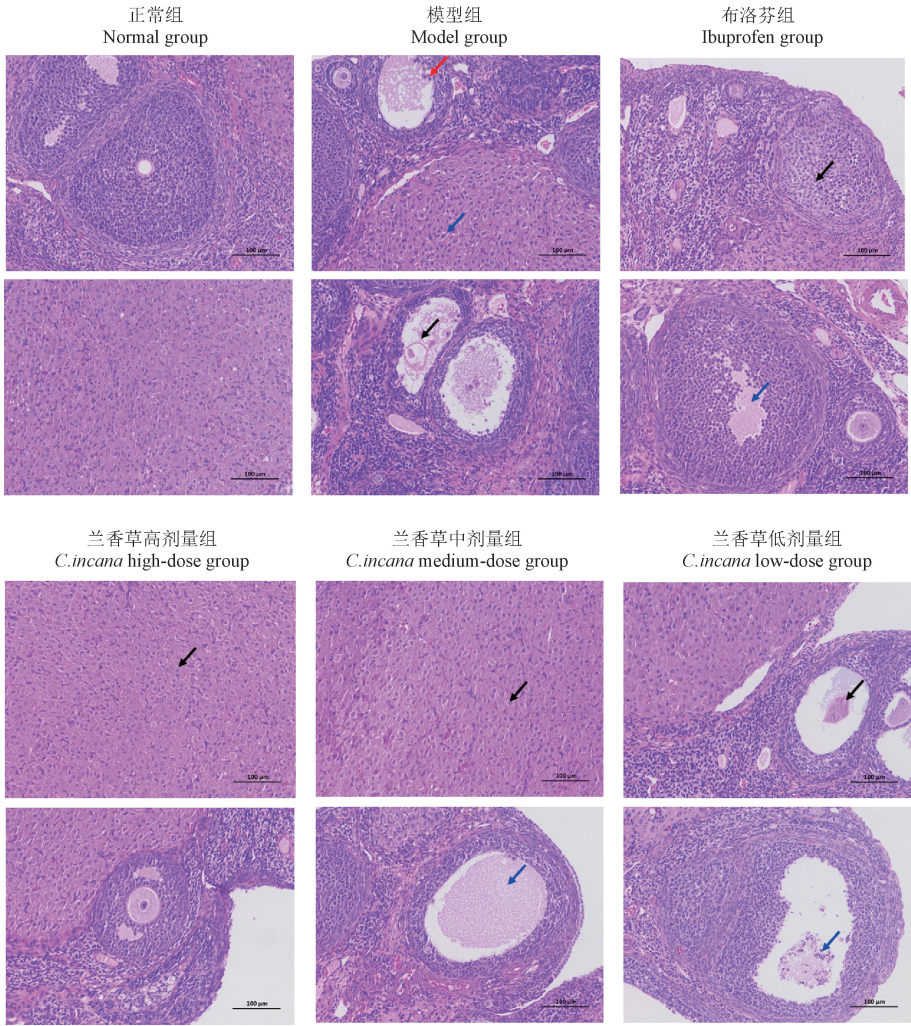


图 2 大鼠卵巢病理形态观察图

Figure 2 Pathological observation on ovary of rat

3 讨论

在现代动物实验研究中,建立理想的具有中医特色的证候动物模型是研究中医病因病机,阐明中药临床疗效、作用机理及物质基础的重要途径。中医认为“寒为阴邪而主收引,其性凝滞,不论外寒或内寒,均能致气血不畅,形成血瘀,导致不通则痛”。显然,制备寒凝血瘀证的模型最关键的病因是“寒”。本实验通过冰水浴寒冷刺激,诱导形成寒凝血

瘀证。同时给予致敏物质苯甲酸雌二醇可使大鼠子宫同步化,使大鼠处于同一动情期,并使子宫内膜增生,增强子宫平滑肌收缩及提高子宫对致痛物质缩宫素的敏感性;末次给药后给予缩宫素可使大鼠子宫产生强烈收缩,引起子宫组织缺血、缺氧,并促进 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的产生与释放^[12];根据苯甲酸雌二醇和缩宫素的共同作用诱导形成 PD。因此,通过“病症结合”制造出符合中医证候特点的寒凝血瘀证 PD 模型。造模后,模型组大鼠具有典型的寒凝血瘀证

临床症状表现,出现明显的扭体反应,表明造模成功。在造模第 5 天开始给予药物治疗,发现兰香草高剂量组、兰香草中剂量组和兰香草低剂量组均能显著改善大鼠的扭体反应,提示经过给药治疗后能有效缓解缩宫素所致 PD 大鼠的痛经症状,且止痛效果随着剂量的增加而增强。另外,由于注射了苯甲酸雌二醇以及“寒凝血瘀”病症的影响,解剖时肉眼观察可见模型组大鼠的子宫和卵巢明显增生、水肿,体积增大,且子宫壁很薄。通过组织病理形态观察,发现兰香草高剂量组和兰香草中剂量组可改善大鼠的子宫和卵巢组织形态的病变程度,其组织细胞的增生、炎症、水肿情况均有所缓解。

中医理论中的“血瘀证”与机体的血液流变学状态息息相关,血液流变学主要研究血液流动性、凝滞性和凝固性的变化。血瘀证时由于血液成分变化,血液流速减慢,将出现明显的血液流变学变化^[13]。在各种类型血瘀证中,血液流变学是一项重要的检测指标,其反映与血液黏滞性相关的常用检测指标有全血还原黏度、全血黏度、血浆黏度、红细胞压积等。本实验选择血浆黏度、红细胞压积及全血黏度 3 个指标考察大鼠的血液流变学变化,结果显示冰水浴引起模型大鼠的血液黏滞性增强,符合中医“寒凝血瘀”理论,进一步表明 PD 的寒凝血瘀证病理模型制备成功。而兰香草高剂量组和兰香草中剂量组可显著改善大鼠血液的高黏、浓状态,降低其黏度和浓度,从而改善其血液流变学特性。

目前,PD 的发病机制尚未完全明确。现代医学已公认子宫内膜和血内合成与释放前列腺素(prostaglandin, PG)的含量增加及其比例失调是导致 PD 的主要原因,其中研究最多的为 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 和 PGE_2 。异常升高的 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 可与子宫螺旋小动脉壁上相应受体结合,引起子宫平滑肌痉挛性收缩,造成子宫血流减少,子宫缺血缺氧及酸性代谢产物堆积于子宫平滑肌内,从而诱发 PD^[12,14];对于非妊娠子宫, PGE_2 能松弛子宫平滑肌,抑制子宫收缩、促进血管扩张,拮抗 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的作用^[15-16]。可见,当 PD 发生时两者比值($\text{PGF}_{2\alpha}/\text{PGE}_2$)就会增高,其比值越高,痛经越严重。其次,非妊娠子宫肌层合成具有血管活性的 PGs 主要是血栓烷 A_2 (thromboxane A_2 , TXA_2) 和前列腺素 I_2 (prostacyclin I_2 , PGI_2)。其中, TXA_2 由血小板释放,可刺激血管收缩及促进血小板聚集; PGI_2 由血管内皮细胞释放,可拮抗血小板聚集及扩张血管^[17]。正常生理状态下, $\text{TXA}_2/\text{PGI}_2$ 处

于平衡状态,当两者比例失衡时,即 TXA_2 水平升高, PGI_2 水平下降,可导致血小板聚集甚至血栓形成,血管痉挛收缩,血液循环障碍,血液处于高凝状态,属中医学“血瘀证”,从而进一步导致子宫血供流量减少,子宫平滑肌痉挛收缩,诱发与加重痛经。由于 TXA_2 和 PGI_2 半衰期短且在体内不稳定,因此大多选择考察二者的代谢产物 TXB_2 和 6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的含量,从而间接反映 TXA_2 和 PGI_2 的水平。最后,雌孕激素失衡也是导致 PD 的主要原因。 E_2 可刺激 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的合成与释放,从而引发痛经; E_2 还能使 Ca^{2+} 内流,促进子宫收缩,加重痛经。PROG 可松弛子宫平滑肌,扩张血管,同时可使 E_2 转化为雌酮,减少 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的合成与释放,从而缓解痛经^[12]。可见,若 E_2 水平升高,PROG 水平降低,则 E_2/PROG 比值增加,即雌孕激素失调,可诱发与加重痛经。此外,PD 的发生亦与机体内 NO、 Ca^{2+} 含量变化密切相关。NO 是一种具有多种生物功能的气体分子,可通过 NO-cGMP 途径表现为致痛和镇痛双重作用,参与外周及中枢水平的痛觉调节;含量减少时,产生致痛作用;含量增多时,起镇痛作用;NO 还是内皮舒张因子(endothelial relaxing factor, EDRF)的主要成分之一,具有扩张血管的作用,能够抑制血小板的黏附和聚集,减少 TXB_2 释放,抑制血栓形成,亦属“血瘀证”的主要测定指标。痛经时, Ca^{2+} 大量进入细胞内, Ca^{2+} 过多会引起细胞能量耗竭、细胞膜受损,导致子宫平滑肌痉挛性收缩,加重痛经^[18]。实验结果表明,兰香草高剂量组和兰香草中剂量组可显著下调血清中 TXB_2 、 E_2 水平及上调血清中的 6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 、PROG 水平,还可显著下调子宫组织中 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、 Ca^{2+} 水平及上调子宫组织中 PGE_2 、NO 水平,从而抑制子宫平滑肌收缩,扩张血管,改善血液循环,增加子宫供血量,达到有效缓解“血瘀”和“痛经”的作用。

综上,兰香草对寒凝血瘀证 PD 大鼠具有良好的防治效果,可有效改善寒凝血瘀证 PD 大鼠的临床症状,缓解痛经反应,改善血液黏滞性,增强血液流动性,其作用机制可能是通过调控大鼠血清中 TXB_2 、6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 、 E_2 、PROG 水平和子宫组织中 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、 PGE_2 、NO、 Ca^{2+} 水平以共同达到有效缓解血瘀和痛经作用,而其他因素的影响,具体作用靶点及环节有待进一步验证和探讨。本研究结果为兰香草防治妇科疾病的深入研究及临床应用提供科学依据。

参 考 文 献(References)

- [1] 孙玉阳, 纪宏宇, 陈博, 等. 原发性痛经的发病机制及中医药治疗的研究进展 [J]. 中国药师, 2017, 20(1): 144-147.
SUN Y Y, JI H Y, CHEN B, et al. Research progress in pathogenesis and traditional Chinese medicine treatment of primary dysmenorrhea [J]. Chin Pharm, 2017, 20(1): 144-147.
- [2] 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.
WANG Y Y. Research progress of pathogenesis and treatment of primary dysmenorrhea [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2015, 30(7): 2447-2449.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社; 1982.
Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China [M]. Beijing: Science Press; 1982.
- [4] 赵春玲. 兰香草在宁夏的引种适应性研究 [J]. 宁夏农林科技, 2014, 55(1): 15-16.
ZHAO C L. A study of adaptability of common bluebeard herb in Ningxia [J]. Ningxia J Agric For Sci Technol, 2014, 55(1): 15-16.
- [5] 孙凌峰, 陈新, 刘秀娟, 等. 杉木根精油化学成分研究 [J]. 江西师范大学学报(自然科学版), 2000, 24(1): 45-49.
SUN L F, CHEN X, LIU X J, et al. Studies on chemical constituents of the essential oil from the root of *Cunninghamia lanceolata* [J]. J Jiangxi Norm Univ (Nat Sci Ed), 2000, 24(1): 45-49.
- [6] 陈美安, 黄健军, 贾智若, 等. 兰香草不同提取部位抗炎作用及其机制研究 [J]. 中药材, 2018, 41(12): 2921-2924.
CHEN M A, HUANG J J, JIA Z R, et al. Study on anti-inflammatory effects of different extracts of *Vanilla* and its mechanism [J]. J Chin Med Mater, 2018, 41(12): 2921-2924.
- [7] 陈美安, 莫晓方, 吴小燕. 兰香草水煎液急性毒性试验和止血抗炎镇痛作用 [J]. 中国兽医杂志, 2022, 58(2): 74-78.
CHEN M A, MO X F, WU X Y. Acute toxicity, hemostatic, Anti-inflammatory and analgesic effects of water decoction of *Caryopteris incana* [J]. Chin J Vet Med, 2022, 58(2): 74-78.
- [8] 宋晓丹, 成秀梅, 周湘, 等. 寒凝血瘀证动物模型研究现状 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(15): 267-274.
SONG X D, CHENG X M, ZHOU X, et al. Animal model of cold congeal and blood stasis syndrome: a review [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2022, 28(15): 267-274.
- [9] 翟凤婷, 王东梅, 王丹丹, 等. 基于 MAPK/ERK 信号通路探讨温经化瘀止痛法治疗寒凝血瘀证原发性痛经的机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(17): 66-74.
ZHAI F T, WANG D M, WANG D D, et al. Mechanisms of Wenjing Huayu Zhitong therapy for primary dysmenorrhea with cold coagulation and blood stasis syndrome based on MAPK/ERK signaling pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2021, 27(17): 66-74.
- [10] 王丹丹, 王东梅, 张英杰, 等. 基于神经生长因子探讨温经活血汤治疗寒凝血瘀证原发性痛经的作用机制 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(10): 1468-1473.
WANG D D, WANG D M, ZHANG Y J, et al. Explore the mechanisms of Wenjing Huoxue Decoction in the treatment of primary dysmenorrhea with cold coagulation and blood stasis syndrome based on nerve growth factor [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2021, 32(10): 1468-1473.
- [11] WEI Y, MA T Y, WANG H X, et al. Extracts of compound Muniziqi Granule suppressed uterus contraction and ameliorated oxytocin-induced primary dysmenorrhea [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 223: 33-40.
- [12] 李凤金, 雷易朋, 李贵森, 等. 五加生化胶囊治疗原发性痛经的作用及机制研究 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(5): 109-115.
LI F J, LEI Y P, LI G S, et al. Effect and mechanism of Wujia Shenghua capsule against primary dysmenorrhea [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2021, 37(5): 109-115.
- [13] 郝剑, 邱研博, 魏蔚. 血瘀证动物模型客观化评价方法概述 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(6): 3323-3329.
HAO J, DI Y B, WEI W. Objective evaluation of blood-stasis syndrome animal models [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2022, 37(6): 3323-3329.
- [14] FERRIES-ROWE E, COREY E, ARCHER J S. Primary dysmenorrhea: diagnosis and therapy [J]. Obstet Gynecol, 2020, 136(5): 1047-1058.
- [15] 徐莉莉, 宋晓琳, 张露芬, 等. 电针合谷穴对痛经大鼠扭体行为、PGE₂、PGF_{2α}、β-EP 含量的影响 [J]. 中国中医药科技, 2014, 21(5): 479-481.
XU L L, SONG X L, ZHANG L F, et al. Effects of electroacupuncture at Hegu point on writhing behavior, PGE₂, PGF_{2α} and β-EP content in dysmenorrhea rats [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol, 2014, 21(5): 479-481.
- [16] 马青, 师伟, 刘少玲, 等. 温经化瘀止痛法对寒凝血瘀证原发性痛经大鼠血清 E₂、P、PGE₂、PGF_{2α}、TXB₂ 及 6-Keto-PGF_{1α} 的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(5): 1281-1284.
MA Q, SHI W, LIU S L, et al. Effect of warming meridian, removing blood stasis and relieving pain on serum E₂, P, PGE₂, PGF_{2α}, TXB₂ and 6-Keto-PGF_{1α} in rats with primary dysmenorrhea of cold blood stasis syndrome [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2017, 35(5): 1281-1284.
- [17] DENG Z Y, SHAN W G, WANG S F, et al. Effects of astaxanthin on blood coagulation, fibrinolysis and platelet aggregation in hyperlipidemic rats [J]. Pharm Biol, 2017, 55(1): 663-672.
- [18] CHEN W, KHALIL R A. Differential Ca²⁺ signaling of vasoconstriction in mesenteric microvessels of normal and reduced uterine perfusion pregnant rats [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2008, 295(6): R1962-R1972.