

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.13.016

隔药灸神阙穴对原发性痛经模型大鼠血液代谢组学的影响

朱英¹, 熊飞升^{2,3}, 朱青青³, 李敏萍³, 柴杰^{3,4}, 陈日兰^{3*}

(1. 广西中医药大学附属瑞康医院, 广西壮族自治区南宁市华东路 10 号, 530011; 2. 柳州市妇幼保健院; 3. 广西中医药大学; 4. 亳州市人民医院)

摘要 目的 探讨隔药灸神阙穴治疗原发性痛经的可能作用机制。方法 将 40 只 SD 雌性大鼠随机分为空白组、模型组、隔药灸组、灌胃组, 每组 10 只。除空白组外, 其余各组大鼠采用皮下注射苯甲酸雌二醇和催产素联用的方法制备原发性痛经大鼠模型。第 5 日开始, 隔药灸组给予隔药灸神阙穴; 灌胃组给予复方益母草膏溶液 80 g/(kg·d) 灌胃, 两组均每日 1 次, 连续 6 日。空白组皮下注射等容积生理盐水, 每日 1 次, 连续 10 日。观察各组大鼠腹腔注射催产素后 30 min 内的扭体反应情况。给药结束后检测大鼠腹主动脉血, 进行主成分分析和正交偏最小二乘法-判别分析, 寻找隔药灸组与灌胃组主要差异性代谢产物和代谢通道。结果 与模型组比较, 隔药灸组、灌胃组扭体潜伏期均延长, 扭体次数均减少 ($P < 0.01$); 与灌胃组比较, 隔药灸组扭体潜伏期、扭体次数差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。隔药灸组筛选后得到 10 种差异性代谢物, 其中鉴定了 4 种对分类有重要贡献的差异性代谢物, 主要表现为血液中的羟脯氨酸、丙酮酸、L-半胱氨酸、谷氨酸的上升, 涉及的代谢通路有谷胱甘肽代谢通道、氨基酸代谢通道、苯丙氨酸代谢通道。灌胃组筛选后得到 12 种差异性代谢物, 其中鉴定了 3 种对分类有重要贡献的差异性代谢物, 主要表现为血液中的氯化肉桂酸、硫磺酸、2-酮己二酸 3 的下降, 涉及的代谢通路有氨基酸代谢通道、苯丙氨酸代谢通道。结论 隔药灸神阙穴对通过谷胱甘肽代谢通道代谢的胶原蛋白类氨基酸的影响可能是其治疗原发性痛经的特异性机制之一。

关键词 原发性痛经; 隔药灸; 神阙穴; 当归四逆汤; 代谢组学; 主成分分析

前期开展的隔药灸治疗原发性痛经相关基因及其计量诊断的临床与实验研究证实, 隔药灸神阙穴治疗原发性痛经疗效确切^[1-7]。本研究拟采用代谢组学方法, 通过检测分析原发性痛经模型大鼠的血清样本代谢产物谱, 寻找出原发性痛经模型大鼠潜在的生物标志物, 从代谢组学角度阐明隔药灸神阙穴治疗原发性痛经的效应机理。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康、清洁级、雌性、未孕的 40 只 SD 大鼠, 月龄 2~3 个月, 体重 (200 ± 20) g, 由广西医科大学实验动物中心供应, 实验动物许可证号: SCXK (桂) 2014-0002。饲养于广西中医药大学教学动物实验室, 自然采光, 通风清洁, 室温 20~

22℃, 相对湿度 30%~35%, 明暗周期 12 h, 大鼠自由饮水摄食, 随时更换垫料。

1.2 实验药物

当归四逆汤加减, 组成: 当归、桂枝、赤芍各 200 g, 细辛、木通、炮姜、桃仁、红花各 100 g, 饮片购于同仁堂河北药业有限公司, 将药物研碎成粉备用。复方益母草膏, 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂生产, 批号: Z11020359。小艾炷, 每壮重量为 0.5 g, 底部直径为 0.5 cm, 高为 0.5 cm。鲜姜片, 鲜姜统一制成直径约 3 cm、厚约 0.3 cm 的薄片, 姜片中心用针扎 10 个孔。

1.3 实验试剂和仪器

苯甲酸雌二醇注射液, 山西芮城维尔福兽药有限公司, 批号: 040372512; 缩宫素, 马鞍山丰原制药有限公司生产, 批号: H34020474; 催产素, 德国 Roche 公司, 批号: 20160921; 人催产素受体

基金项目: 广西自然科学基金(2014GXNSFAA118159)

* 通讯作者: 492355256@qq.com, 13877172326

(OTR) 检测试剂盒, 南宁博仁生物有限公司, 批号: 20160918; L-2-氯苯丙氨酸, 中国上海恒柏生物科技有限公司, 货号: 103616-89-3; 10% 水合氯醛溶液, 上海国药集团, 批号: 20151023; 衍生化试剂 BSTFA (含 1% TMCS), 购于美国 REGIS Technologies, Inc 公司, 批号: CFCQ-270121。台式高速离心机 (型号: TG16-WS, 湘仪离心机仪器有限公司); 电子天平 (型号: MODELDS-671, 大连星海电子衡器有限公司); 气相色谱仪 (型号: 7890A, 美国 Agilent 公司); 高通量飞行时间质谱仪 (型号: Pegasus HT, 美国 LECO 公司)。

1.4 动物造模、分组及给药

应用 SPSS 22.0 统计软件产生随机数字, 将 40 只 SD 雌性大鼠按体重分层随机分为空白组、模型组、隔药灸组、灌胃组, 每组 10 只。适应性饲养 1 周后, 除空白组外, 其余大鼠参照文献 [8] 制备原发性痛经大鼠模型。造模大鼠股部皮下注射苯甲酸雌二醇注射液促使其发育成熟: 第 1 天、第 10 天 0.33 mg/只, 第 2~9 天 0.13 mg/只, 每天 1 次。空白组连续 10 天股部皮下注射等容积生理盐水, 每天 1 次。末次注射苯甲酸雌二醇注射液 24 h 后, 除空白组外, 其余各组腹腔注射催产素 2 U/只, 空白组予腹腔注射等容积生理盐水。观察 30 min 内大鼠扭体反应, 如大鼠出现扭体反应提示造模成功 [9]。

空白组、模型组大鼠每天正常饲养、固定, 不做任何治疗。隔药灸组干预方案: 隔药灸神阙穴 6 壮。取穴: 神阙穴 (在大鼠腹部正中线上, 在剑突和耻骨联合上作一条连线, 分为三等份, 以上 2/3 和下 1/3 的交点作为神阙穴 [10])。于注射苯甲酸雌二醇注射液第 5 天 (月经前 5 天) 开始隔药灸。操作方法: 用自制布袋固定大鼠, 使其保持仰卧位, 以温开水调面粉成圆环状 (水面比例 1:1, 内径约 0.5 cm, 厚 0.5 cm), 置于大鼠神阙穴上, 将备用药物当归四逆汤加减的药粉填平于大鼠神阙穴中, 把制备好的鲜姜片 and 艾炷放在填有药粉的神阙穴上, 点燃艾炷施灸, 当艾炷烧尽后, 更换新艾炷继续灸, 共灸 6 壮。如若局部皮肤灼热大鼠躁动时, 可用镊子上下移动姜片以减轻灼热感, 灸度以局部皮肤潮红不起泡为准。操作过程中用手安抚大鼠, 使其尽量保持安静。在反复施灸的过程中, 艾炷燃烧壮数过多会使姜片变干变薄, 可以更换鲜姜片继续操作。每天 1 次, 连续 6 天。灌胃组从注射苯甲酸雌二醇注射液第 5 天开始, 用复方益母草膏加纯净水配制成溶液, 按照 80 g/(kg·d) 进行灌

胃, 每天 1 次, 连续 6 天。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 扭体反应 观察每组大鼠腹腔注射催产素后 30 min 内的扭体反应情况, 记录大鼠扭体潜伏期、扭体次数, 按照扭体抑制率公式计算出大鼠扭体抑制率。扭体反应标准 [9]: 大鼠腹部的肌肉出现收缩并向里凹陷, 躯干和后肢伸展, 伴盆骨与一侧肢体频繁内旋。扭体抑制率 (%) = (模型组平均扭体反应次数 - 观察组平均扭体反应次数) / 模型组平均扭体反应次数 × 100%

1.5.2 代谢组学分析 扭体反应后, 用 0.3 ml/100 g 10% 水合氯醛溶液腹腔注射进行麻醉, 用采血针取大鼠腹主动脉血 4 ml, 4℃ 1500 r/min 离心 10 min, 以去除血细胞, 用移液枪采集上清液 1.8 ml 置于 EP 管内, 加盖密封, 置于 -80℃ 低温冰箱中保存待检测。由于 3 份血清样本凝固, 故此次收集有效大鼠血清样本共 37 份, 其中空白组 8 份、模型组 10 份、隔药灸组 9 份、灌胃组 10 份。将有效样本进行气相色谱-飞行时间质谱 (GC-TOF-MS) 代谢组学检测分析。代谢组学检测由上海百趣生物医学科技有限公司完成。代谢物萃取: 取 100 μl 样本, 加入 20 μl L-2-氯苯丙氨酸和 0.35 ml 甲醇, 漩涡混匀; 将混匀后的样本 4℃ 12000 r/min 离心 15 min; 用移液枪从离心后的样本中取 0.4 ml 上清液, 装入 2 ml 进样瓶 (甲烷硅基化) 中; 取同一样本等体积约 10 μl (依据样本量而定) 装入新的 2 ml 进样瓶中, 混匀, 把混样留作质控样本。代谢物衍生化: 设置真空浓缩器温度 (37℃)、时间 (约 2 h), 提取干燥样本; 设置烘箱温度 (80℃)、时间 (20 min), 将 60 μl 甲氧胺盐试剂加入干燥后的代谢物中, 轻轻摇晃混匀后放入设置好的烘箱进行孵育; 将 80 μl BSTFA 迅速加入每个样本中, 将混样放入已设置好的烘箱 (70℃、1 h) 进行孵育, 随后冷却至室温, 向混合后的样本中加入 10 μl FAMES (饱和脂肪酸甲酯标准混合液, 可溶于氯仿 C8 - C16: 1 mg/ml; C18 - C24: 0.5 mg/ml), 样本混匀后, 上机进行 GC-TOF-MS 检测分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 先进行正态性、方差齐性检验, 方差齐者多组间比较用单因素方差分析, 两两比较采取 LSD-*t* 检验; 方差不齐者用 Kruskal-Wallis *H* 非参数检验。计数资料用频数表示, 采用 χ^2 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

本研究数据分析使用的是 LECO 公司提供的 FiehnRtx5 数据库和 Chroma TOF4.3X 软件, 主要为了识别原始峰, 降噪, 峰对齐, 校正基线, 对峰进行定性和定量, 谱图去卷积解析。主成分分析 (PCA) 运用数据标度换算方式 (LOG 转换 + UV 格式化处理) 精减样本数据, 删去多余, 建立与研究相关的新的数据集; 正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA) 在主成分分析后对第一、第二主成分进行自动建模分析, 以区别各组间的差异; 差异性代谢物筛选及鉴定出潜在的生物标记物; SIMCA 软件 (V14, Umetrics AB, Umea, Sweden) 最大化地显现出各组血清样本代谢产物内部和预测主成分之间的差别, 以区分各组间的差异。

2 结果

2.1 各组大鼠扭体反应比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组 30 min 扭体反应次数增加 ($P < 0.01$), 说明造模成功。隔药灸组扭体抑制率为 57.00%, 高于灌胃组的 49.04%; 与模型组比较, 隔药灸组、灌胃组扭体潜伏期均延长, 且扭体次数均减少 ($P < 0.01$); 与灌胃组比较, 隔药灸组扭体潜伏期、扭体次数差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠扭体反应比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	潜伏期 (min)	扭体次数	扭体抑制率 (%)
空白组	10	—	0	—
模型组	10	6.02 ± 2.43	$31.40 \pm 9.00^*$	—
灌胃组	10	$19.19 \pm 2.08^\Delta$	$16.00 \pm 4.74^\Delta$	49.04
隔药灸组	10	$20.39 \pm 1.67^\Delta$	$13.50 \pm 1.84^\Delta$	57.00

注: 与空白组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$

2.2 色谱分析结果

使用 FiehnRtx5 数据库和 Chroma TOF4.3X 软件识别原始峰, 降噪, 峰对齐, 校正基线, 对峰进行定性和定量, 谱图去卷积解析。运用保留时间指数方法 (把保留时间指数定性的偏差设置为 5000), 进行定性分析, 得到 331 个色谱峰。各组大鼠血清代谢物经 GC-MS 分析后, 得到代表性的总离子流图 (图略)。

2.3 PCA 分析结果

PCA 得分图反映的是样本的聚合、离散情况, 样本分布点越是堆积靠拢, 越能说明这些样本中所包含的变量、分子组成和浓度相似度高; 反之, 样本点越是远离, 它们之间的差别就越大^[1]。图 1 示, 各组血清代谢物样本在使用 SIMCA 软件对归

一化后的数据进行多元变量模式识别分析后, 采用 LOG 转换 + CTR 格式化处理的数据标度换算方式对数据进行自动建模分析, 各组在 PCA 得分图上区分不显著, 样本大多处于 95% 的置信区间内^[2], 不能明显区分。

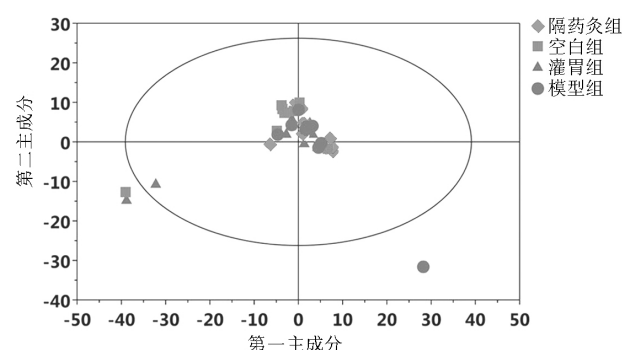


图 1 各组主成分分析得分图

2.4 OPLS-DA 分析结果

图 2 示, 隔药灸组与模型组散点在 OPLS-DA 得分图上分布在不同的区域, 且均较集中, 说明两组间的代谢物质存在明显差异, 具有可比性。

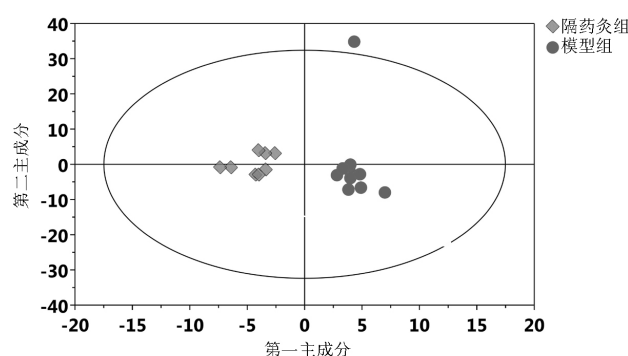


图 2 隔药灸组与模型组正交偏最小二乘法-判别分析得分图

图 3 示, 灌胃组与模型组散点在 OPLS-DA 得分图上分布在不同的区域, 且均较集中, 说明两组间的代谢物质存在明显差异, 二者具有可比性。

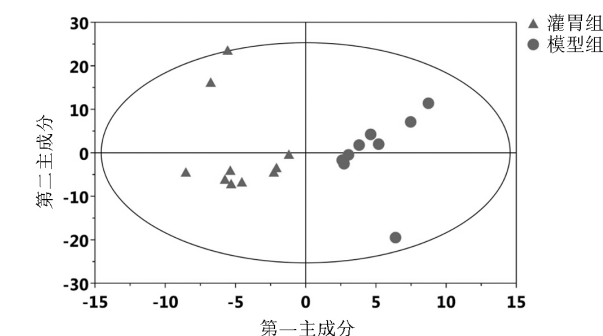


图 3 灌胃组与模型组正交偏最小二乘法-判别分析得分图

表 2 隔药灸组和模型组中有重要贡献的差异性代谢物鉴定结果

质荷比	代谢物	相关代谢通道	VIP	P 值	变化趋势
156	羟脯氨酸	谷胱甘肽代谢	1.47	0.02	↑
174	丙酮酸	苯丙氨酸代谢	1.94	0.02	↑
220	L-半胱氨酸	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	1.98	0.04	↑
146	谷氨酸	丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢	2.95	0.02	↑

注: VIP, 表示某种差异物对组间分类的贡献, VIP 值越大则贡献越大; P 值对样本数据的检验概率; ↑, 表示隔药灸组含量升高

表 3 灌胃组和模型组中有重要贡献的差异性代谢物鉴定结果

质荷比	代谢物	相关代谢通道	VIP	P 值	变化趋势
104	氢化肉桂酸	苯丙氨酸代谢	2.09	0.02	↓
281	硫磺酸	半胱氨酸和蛋氨酸代谢	1.33	0.01	↓
96	2-酮己二酸 ³	赖氨酸生物合成	1.29	0.04	↓

注: VIP, 表示某种差异物对组间分类的贡献, VIP 值越大则贡献越大; P 值, 对样本数据的检验概率; ↓, 表示灌胃组含量降低

2.5 有重要贡献的差异性代谢物鉴定结果

2.5.1 隔药灸组和模型组中有重要贡献的差异性代谢物 以阈值 $VIP > 1$ 且 $P < 0.05$ 为标准寻找隔药灸组和模型组的差异性代谢物。表 2 示, 将 peak 值导入 FiehnRtx5 数据库检索相应物质, 筛选后得到 10 种差异性代谢物, 其中鉴定了 4 种对分类有重要贡献的差异性代谢物。与模型组比较, 隔药灸组血液中的羟脯氨酸、丙酮酸、L-半胱氨酸、谷氨酸均表现为上升。通过文献检索匹配后, 代谢物质所涉及有研究报道的代谢通路有谷胱甘肽代谢通道、氨基酸代谢通道、苯丙氨酸代谢通道。

2.5.2 灌胃组和模型组中有重要贡献的差异性代谢物 以阈值 $VIP > 1$ 且 $P < 0.05$ 为标准寻找灌胃组和模型组的差异性代谢物。表 3 示, 将 peak 值导入 FiehnRtx5 数据库检索相应物质, 筛选后得到 12 种差异性代谢物, 其中鉴定了 3 种对分类有重要贡献的差异性代谢物。与模型组比较, 灌胃组血液中的氢化肉桂酸、硫磺酸、2-酮己二酸³ 均表现为下降。通过文献检索匹配后, 代谢物质所涉及有研究报道的代谢通路有氨基酸代谢通道、苯丙氨酸代谢通道。

3 讨论

痛经是指妇女月经期或行经前出现周期性小腹疼痛, 或痛引腰骶, 乃至剧痛昏厥的症状, 又名“经行腹痛”。中医学认为, 痛经主要是气血运行不畅“不通则痛”, 或胞宫失养“不荣则痛”。痛经的病位在胞宫, 变化在气血, 亦常因湿热蕴结、肾气亏损、寒凝血瘀、气滞血瘀、气血虚弱等病因所致。当归四逆汤出自张仲景《伤寒杂病论·辨厥阴病脉证并治》, 该方主要起温经散寒、养血通脉

的功效。方中当归活血、养血、行血为君药; 桂枝温经通脉, 畅血行, 赤芍养阴和营, 二药配伍, 调和营卫为臣; 细辛温里散寒, 木通通经脉为佐; 炮姜温经散寒, 桃仁、红花活血通经, 三药均为使药。诸药合用, 使经脉得养, 血行通畅。隔药灸神阙穴治疗原发性痛经是集药物、艾灸、穴位三者治疗作用为一体的综合性外治疗法, 既具有艾灸操作简便、起效快、无副作用、远期疗效好、易于推广等特点, 又兼顾了药物温经散寒、养血通脉和神阙穴调节内脏组织生理病理活动功能、增强机体免疫力和抵抗力的作用。现代研究表明, 复方益母草膏苯对甲酸雌二醇所致的痛经大鼠模型有很好的改善作用^[3]。

本实验隔药灸组在延长扭体潜伏期和减少 30min 扭体反应次数上与灌胃组疗效相当, 均有止痛作用。GC-MS 分析后得到各组总离子流图, 根据图中各峰的保留时间指数挑选共有峰, 获取 peak 值, 隔药灸组、灌胃组治疗后在同一保留时间指数上, 血清代谢物波谱存在明显差异, 但具体区别需进行进一步的模式识别。对数据进行 PCA 分析, 结果各组样本在 PCA 得分图上区分不显著, 经 OPLS-DA 分析后, 隔药灸组、灌胃组样本与模型组样本在散点图上清晰分离, 且各组样本之间无交叉重叠, 说明隔药灸神阙穴及复方益母草膏灌胃均对痛经模型大鼠产生一定的干预作用。

本研究结果显示, 隔药灸后发现通过谷胱甘肽代谢的羟脯氨酸含量升高。作为合成胶原蛋白的重要氨基酸, 羟脯氨酸含量的升高增加了胶原蛋白的含量, 有效修复受损的子宫内壁平滑肌, 缓解子宫平滑肌痉挛所造成的疼痛, 从而有效地治疗原发性

痛经^[4-17]。谷氨酸和 L-半胱氨酸是氨基酸衍生的重要含氮化合物,直接或间接地参与了氧自由基的代谢,而机体内氧自由基含量的多少影响着原发性痛经的发生^[18]。经隔药灸神阙穴后大鼠血清代谢产物中谷氨酸和 L-半胱氨酸通过氨基酸代谢通道代谢含量增多,产生的抗氧化剂增多,能更好地清除氧自由基以缓解子宫平滑肌收缩带来的疼痛。丙酮酸通过苯丙氨酸代谢通道代谢含量升高,间接增加了抗氧化剂即还原型谷胱甘肽的含量,从而清除氧自由基,缓解子宫平滑肌痉挛导致的原发性痛经^[19]。经益母草膏灌胃后,大鼠血清中代谢物中的氢化肉桂酸含量经苯丙氨酸通道代谢减少,影响儿茶酚胺的代谢,导致儿茶酚胺在血液中的合成数量减少,从而起到减轻或消除子宫阵发性收缩引起疼痛的作用^[20]; 硫磺酸通过氨基酸通道代谢后活性硫减少,降低了子宫血管平滑肌细胞凋亡的数量^[21]; 而 2-酮己二酸 3 经氨基酸通道代谢后含量降低,说明灌胃治疗后的大鼠糖代谢量降低,子宫对能量的需求减少^[22],从而可解除子宫肌肉痉挛,缓解疼痛。

综上所述,隔药灸神阙穴和复方益母草膏治疗原发性痛经的大鼠血清中均检测出涉及苯丙氨酸代谢通道和氨基酸代谢通道的代谢产物,证明二者均可以通过调节神经递质和影响免疫系统相关物质来改善疼痛症状,但是隔药灸神阙比复方益母草膏灌胃多发现了谷胱甘肽代谢通道,隔药灸神阙穴对通过谷胱甘肽代谢通道代谢的胶原蛋白类氨基酸的影响可能是其治疗原发性痛经的特异性机制所在。

参考文献

- [1] 姬乐,陈日兰,朱英,等. 隔药灸不同灸量对寒凝型痛经的 IL-4、IL-10 和 IFN- γ 影响 [J]. 针灸临床杂志,2014,30(9):4-7.
- [2] 陈日兰,姬乐,朱英,等. 隔药灸对原发性痛经细胞因子表达的影响 [J]. 四川中医,2014,32(4):150-153.
- [3] 陈日兰,姬乐,朱英,等. 隔药灸治疗原发性痛经疗效及对 PGF 2α /PGE 2 的影响 [J]. 辽宁中医药大学学报,2013,15(1):19-21.
- [4] 朱英,苗芙蕊,陈日兰,等. 隔药灸对寒凝型原发性痛经的量效关系及对前列腺素的影响 [J]. 辽宁中医杂志,2012,39(10):2038-2041.
- [5] 朱英,姬乐,苗芙蕊. 隔药灸神阙穴对原发性痛经患者经期血液流变学的影响 [J]. 辽宁中医杂志,2011,38(3):548-550.
- [6] 朱英,陈日兰,姬乐,等. 隔药灸神阙穴治疗原发性痛经疗效观察 [J]. 中国针灸,2010,30(6):453-455.
- [7] 朱英,姬乐,苗芙蕊. 隔药灸治疗原发性痛经临床观察 [J]. 针灸临床杂志,2010,34(7):36-38.
- [8] 王霞灵,曹大农,单志群. 艾附暖宫丸治疗痛经的实验研究 [J]. 湖北中医学院学报,2003,5(2):18.
- [9] 李宝华,高望新. 药物所致小白鼠“扭体反应” [J]. 药理学学报,1965,12(10):705-707.
- [10] 王海军,冀来喜. 关于大鼠“神阙”穴的定位 [J]. 针刺研究,2007,32(5):312.
- [11] 阿基业. 代谢组学数据处理方法:主成分分析 [J]. 中国临床药理学与治疗学,2010,15(5):481-489.
- [12] 刘峰,叶义成,黄勇. 安全系统稳健回归方法及预测置信区间探讨 [J]. 安全,2007(1):15-17.
- [13] 苗明三,张玉林,史晶晶,等. 复方益母草口服液对大鼠痛经模型的影响 [J]. 中药药理与临床,2008,24(5):56-57.
- [14] 张自强,赵东旭,杨新林. 羟脯氨酸的研究与开发 [J]. 氨基酸和生物资源,2006,28(1):55-58.
- [15] 顾其胜. 胶原蛋白的临床应用 [J]. 中国修复重建外科杂志,2006,20(10):1052-1058.
- [16] MEISTER A, TATE SS. Glutathione and related γ -glutamyl compounds: biosynthesis and utilization [J]. Annu Rev Biochem, 1976, 45(1):559-604.
- [17] ELSKENS MT, JASPERS CJ, PENNINGCKX MJ. Glutathione as an endogenous sulphur source in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. J Gen Microbiol, 1991, 137(3):637-644.
- [18] 尹兴玲. 灸脐法治疗原发性痛经的代谢组学机制差异研究 [J]. 济南: 山东中医药大学, 2005: 21.
- [19] VARMA SD, HEGDE K, HENEIN M. Oxidative damage mouse lens in culture. Protective effect of pyruvate [J]. Biophys Acta, 2003, 1621(3):246-252.
- [20] 王晓玲,乐健,洪战英,等. 疼痛模型大鼠血清单胺类递质的测定 [J]. 药学服务与研究, 2011, 11(1):53-55.
- [21] 金红芳,李真真. 内源性含硫氨基酸代谢终产物的心血管调节作用 [J]. 北京大学学报(医学版), 2013, 45(2):177-181.
- [22] 缪明永. 氨基酸代谢与临床 [J]. 中华普通外科学文献(电子版), 2008, 2(1):58-61.

Effects of Herbs-partition Moxibustion at Shenque (CV8) Acupoint on Serum Metabolism of Primary Dysmenorrhea Model Rats

ZHU Ying¹, XIONG Feisheng^{2,3}, ZHU Qingqing³, LI Minping³, CHAI Jie^{3,4}, CHEN Rilun¹

(1. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530011; 2. Maternal and Child Care Service Centre of Liuzhou City; 3. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine; 4. People's Hospital of Bozhou City)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of herbs-partition moxibustion at Shenque (CV8) acupoint in treating primary dysmenorrhea. **Methods** Forty female SD rats were randomly divided into blank group, model group, herb-partition moxibustion group, and intragastric administration group, with 10 rats in each group. Except for the blank group, rats were treated with subcutaneous injection of estradiol benzoate and oxytocin to prepare a primary dysmenorrhea rat model. On the 5th day, the herb-partition moxibustion group was given moxibustion at Shenque (CV8) point; the intragastric administration group was given compound folicum roxburghii cream 80 g/(kg · d) to gavage. Both groups were given once a day for 6 consecutive days. The blank group was subcutaneously injected with equal volume of normal saline once a day for 10 consecutive days. The writhing response was observed within 30 min after intraperitoneal injection of oxytocin. Abdominal aorta blood was measured after the end of administration. Principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis were performed to find the main metabolites and metabolic pathways in the herb-partition moxibustion group and the intragastric administration group. **Results** Compared with the model group, the writhing latency of the herb-partition moxibustion group and the gavage group both prolonged and the writhing times decreased ($P < 0.01$). Compared with the gavage group, the writhing latency and writhing frequency of the herb-partition moxibustion group were different without statistical significance ($P > 0.05$). After screening the herb-partition moxibustion group, 10 differential metabolites were obtained, among which 4 differential metabolites that contributed to the classification were identified, mainly hydroxyproline, pyruvate, and L-cysteine in the blood. The rise of glutamic acid involves the metabolic pathways of glutathione metabolism, amino acid metabolism, and phenylalanine metabolism. In the gavage group, 12 differential metabolites were obtained, among which 3 differential metabolites that contributed to the classification were identified. The main manifestations were the decline of hydrocinnamic acid, sulfuric acid, and 2-ketoadipate in the blood. The metabolic pathways involved were amino acid metabolic pathways, phenylalanine metabolic pathways. **Conclusion** The effect of herb-partition moxibustion at Shenque (CV8) point on collagen amino acids metabolized through glutathione metabolism pathway may be one of the specific mechanisms for the treatment of primary dysmenorrhea.

Keywords primary dysmenorrhea; herbs-partition moxibustion; Shenque (CV8) acupoint; Danggui Sini Decoction (当归四逆汤); metabonomics; principal component analysis

(收稿日期: 2017 - 09 - 20; 修回日期: 2018 - 03 - 20)

编辑: 王利芬

中医古籍出版社重印《文渊阁四库全书子部医家类》

医之所宝者典籍, 典籍之精审者《四库》。《四库全书》是清代中期在朝廷主持下编纂的一部大型丛书, 一直受到学术界的高度重视。《四库全书》系按传统的经、史、子、集四部分类, 故以“四库”名书。其中将医家类书籍收入子部。既往书志, 包括史志在内, 多将医家退之于子部末简。总纂官纪昀重视医书, 认为“医虽一技, 亦良命之所关, 故升诸他艺术之上”, 列于儒家、兵家、法家、农家之后, 为子部第五。

《四库全书》所收历代医籍共 96 种, 以时代为序, 始于《黄帝素问》, 终于徐大椿《医学源流论》, 包括了秦汉至清代乾隆中两千多年间重要的有影响的医经、方书、本草及临床诸科著作。其编纂十分注意考求版本, 所收版本分别为敕撰本、内府本、《永乐大典》本、各省采进本、私人进献本、通行本等, 精钞精校, 且所收珍本甚多, 向为医界推崇。

《四库全书》先后抄录七部, 其中文渊阁本是七部《四库全书》中成书最早、抄录质量最佳、校勘最精的一部, 也是保存较为完好的一部, 是其他六部所无法比拟的。为弘扬岐黄学术, 探求医理真谛, 沾溉杏林学子, 中医古籍出版社此次重印《文渊阁四库全书子部医家类》, 以飨医界广大学者。

联系方式: 中医古籍出版社发行部 (中国中医科学院大楼 537 室), 电话号码 (兼传真) 010 - 64002949。