

# 头痛宁胶囊对紧张性头痛模型大鼠神经递质的影响

陈荣华, 肖迎春\*

(福建医科大学附属协和医院, 福建省福州市鼓楼区新权路 29 号, 350001)

**摘要** 目的 探讨头痛宁胶囊治疗紧张性头痛的可能作用机制。方法 将 80 只 SD 大鼠随机分为模型组、对照组及头痛宁高、中、低剂量组, 每组 16 只。采用颈部肌肉注射三磷酸腺苷诱发紧张性头痛。头痛宁高、中、低剂量组分别给予头痛宁胶囊悬液 (760、380、190 mg/kg), 模型组、对照组给予等量生理盐水, 各组均连续灌胃 7 天。观察大鼠给药前后张颌反射的阈值及潜伏期, 并检测脑组织及血清中一氧化氮合酶 (NOS)、5-羟色胺 (5-HT) 及谷氨酸含量。结果 头痛宁各剂量组给药后张颌反射潜伏期明显延长 ( $P < 0.05$ ), 且随头痛宁剂量增加改善更加显著 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 头痛宁各剂量组张颌反射阈值均明显升高 ( $P < 0.05$ ), 各剂量组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。头痛宁各剂量组较模型组血浆中 NOS 活性、5-HT 含量明显下降, 谷氨酸含量升高 ( $P < 0.05$ ), 且随药物剂量增加, 各指标改善均更加显著 ( $P < 0.05$ )。结论 头痛宁胶囊可通过影响头区肌肉和皮肤的张颌反射阈值, 改变头区肌筋膜痛敏感性来影响紧张性头痛的发作, 其机制可能与下调 NOS 活性, 降低 5-HT 和上调谷氨酸含量有关。

**关键词** 紧张性头痛; 头痛宁胶囊; 一氧化氮合酶; 5-羟色胺; 谷氨酸; 张颌反射

紧张性头痛 (TH) 是最常见的原发性头痛, 其临床特点是无搏动性钝痛, 以额、颞及枕部轻度或中度疼痛为主, 可伴有头部肌群的痉挛性收缩及压痛。目前紧张性头痛的病因和发病机制尚不明确, 普遍认为可能与颅周肌肉、筋膜功能障碍、神经介质代谢紊乱、中枢调节机制异常以及心理因素有关<sup>[1-2]</sup>。头痛宁胶囊治疗紧张性头痛具有良好疗效<sup>[3-4]</sup>, 但是其作用机制目前尚不明确。本研究通过建立大鼠紧张性头痛动物模型, 观察头痛宁胶囊对紧张性头痛的治疗作用及对脑部神经递质的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级雄性大鼠 80 只, 体质量 ( $150 \pm 30$ ) g, 由福建中医药大学实验动物中心提供, 许可证号: SCXK (京) 2012-0001。

### 1.2 主要药品和试剂

三磷酸腺苷 (ATP, 上海阿拉丁试剂有限公司, 批号: A11205), 用前以生理盐水配置成  $1 \mu\text{mol/L}$  的溶液; 10% 水合氯醛 (天津福晨试剂厂, 批号 20150509); 一氧化氮合酶 (NOS, 批号:

201504A)、5-羟色胺 (5-HT, 批号: 201412H)、谷氨酸 (批号: 20150213) 均由 13IOSWAMP 公司生产。头痛宁胶囊 (每粒 0.4 g, 主要成分: 土茯苓、天麻、制何首乌、当归、防风、全蝎, 咸阳步长制药有限公司批号 20150810)。

### 1.3 主要仪器

RT-6000 酶标仪 (深圳雷杜生命科学股份有限公司); RT-3000 全自动洗板机 (深圳雷杜生命科学股份有限公司); LG10-2-4A 离心机 (北京医用离心机厂); SY11-N2 电热恒温水浴锅 (北京长源实验设备厂); MDF-5412 超低温冰箱 (日本三洋公司)。

### 1.4 动物模型的建立

参照文献 [5-6], 应用颈部肌肉注射 ATP 模拟外周伤害性刺激, 提高颈部肌筋膜敏感性诱发紧张性头痛, 并通过监测张颌反射 (JOR) 判断模型是否成功。

### 1.5 分组和给药

适应性喂养 1 周后, 采用区组随机法分为对照组、模型组及头痛宁高、中、低剂量组, 每组 16 只。造模后头痛宁高、中、低剂量组分别给予头痛宁胶囊悬液 760、380、190 mg/kg 灌胃。各组大鼠

\* 通讯作者: xyc@medmail.com.cn, (0591) 86218036

按 1 ml/(100 g · d) 灌胃给药, 每日 1 次, 连续用药 1 周。对照组、模型组均给予等容积的生理盐水。

### 1.6 观察指标及方法

各组大鼠在末次给药后 1h 开始进行 JOR 检测。用 10% 水合氯醛腹腔注射 (0.30 ml/100 g) 对大鼠进行麻醉。大鼠俯卧位, 颈部备皮, 消毒, 沿颈部正中切口 1.5 ~ 2.0 cm, 分离出双侧半棘肌后备用。将大鼠仰卧位, 沿颈部正中切口 1.0 ~ 1.5 cm, 分离出二腹肌前腹备用。将大鼠右侧卧位, 将两根不锈钢针刺刺激电极 (直径 150 μm) 纵向插入舌右侧, 将两根记录电极插入右侧二腹肌前腹 (两电极间距 3 ~ 5 mm) 肌肉内, 以记录舌刺激诱发的二腹肌肌电反应 (dEMG), 即 JOR; 同时将两台单道微量注射泵头皮针插入双侧半棘肌。休息 30 min。JOR 波形记录: 待波形基线稳定后, 给予舌电极电刺激 (刺激参数: 方波刺激, 频率为 1 次/s, 波宽 200 μs, 强度 0 ~ 10 mA), 记录双侧半棘肌泵入 ATP 前的 JOR。5 min 后双侧半棘肌同时以 20 μl/min 的速度泵入 ATP, 对照组注射等量生理盐水, 持续 1 min, 然后给予舌极电刺激, 记录并测定 JOR 出现的阈值、潜伏期, 连续测定 3 次, 间隔 2 min, 取其平均值。

JOR 检测结束后, 打开腹腔, 从腹主动脉取血 5 ml, 3000 转/min 离心, 分离血清, -80℃ 冰箱保存。应用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测大鼠血浆中一氧化氮合酶 (NOS) 活性及 5-羟色胺 (5-HT) 及谷氨酸含量。

### 1.7 统计学方法

用 SPSS 13.0 对数据进行统计分析, 结果用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 利用成组  $t$  检验分析组间差异,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠注射 ATP 前后 JOR 潜伏期和阈值比较

表 1 示, 给药前各组大鼠 JOR 潜伏期和阈值比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。对照组模型组给药前后潜伏期与阈值均无明显变化 ( $P >$

0.05), 模型组给药后阈值显著下降 ( $P < 0.05$ )。头痛宁各剂量组给药后潜伏期明显延长 ( $P < 0.05$ )。与对照组和模型组给药后比较, 头痛宁各剂量组潜伏期均明显延长 ( $P < 0.05$ )。头痛宁高剂量组潜伏期长于中、低剂量组, 而中剂量组又长于低剂量组 ( $P < 0.05$ )。与对照组给药后比较, 头痛宁各剂量组给药后 JOR 阈值均明显降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组给药后比较, 头痛宁各剂量组给药后 JOR 阈值均显著升高 ( $P < 0.05$ )。头痛宁各剂量组间阈值变化比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 1 各组大鼠给药前后张颌反射潜伏期和阈值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | 时间  | 鼠数 | 潜伏期 (ms)                         | 阈值 (mA)                 |
|---------|-----|----|----------------------------------|-------------------------|
| 对照组     | 给药前 | 16 | 4.38 ± 0.57                      | 8.01 ± 2.09             |
|         | 给药后 | 16 | 4.36 ± 0.65                      | 7.93 ± 1.86             |
| 模型组     | 给药前 | 16 | 4.54 ± 0.63                      | 7.36 ± 1.41             |
|         | 给药后 | 16 | 4.55 ± 0.68                      | 6.89 ± 1.56*            |
| 头痛宁低剂量组 | 给药前 | 16 | 4.45 ± 0.49                      | 7.53 ± 1.59             |
|         | 给药后 | 16 | 4.71 ± 0.61* $\Delta$ ▲ $\nabla$ | 7.35 ± 1.98* $\Delta$ ▲ |
| 头痛宁中剂量组 | 给药前 | 16 | 4.50 ± 0.62                      | 7.58 ± 2.05             |
|         | 给药后 | 16 | 4.83 ± 0.63* $\Delta$ ▲#         | 7.33 ± 1.71* $\Delta$ ▲ |
| 头痛宁高剂量组 | 给药前 | 16 | 4.55 ± 0.65                      | 7.56 ± 1.67             |
|         | 给药后 | 16 | 4.92 ± 0.79* $\Delta$ ▲          | 7.36 ± 1.88* $\Delta$ ▲ |

注: 与本组给药前比较, \*  $P < 0.05$ ; 与对照组给药后比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与模型组给药后比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与头痛宁高剂量组给药后比较,  $\#P < 0.05$ ; 与头痛宁中剂量组给药后比较,  $\nabla P < 0.05$

### 2.2 各组大鼠血浆 NOS 活性、谷氨酸和 5-HT 含量比较

表 2 示, 模型组大鼠血浆中 NOS 活性和 5-HT 含量较对照组明显升高 ( $P < 0.05$ ), 谷氨酸含量明显降低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 头痛宁各剂量组 NOS 活性、5-HT 含量明显降低, 谷氨酸含量明显升高 ( $P < 0.05$ )。与头痛宁低剂量组比较, 中剂量组和高剂量组 NOS 活性、5-HT 含量明显下降, 谷氨酸含量明显升高 ( $P < 0.05$ )。与头痛宁中剂量组比较, 高剂量组 NOS 活性、5-HT 含量明显降低, 谷氨酸含量明显升高 ( $P < 0.05$ )。

表 2 各组大鼠血浆中 NOS 活性、谷氨酸和 5-HT 含量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | 鼠数 | NOS (U/L)                 | 谷氨酸 (μmol/L)              | 5-HT (ng/ml)                |
|---------|----|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| 对照组     | 16 | 35.70 ± 5.24              | 27.03 ± 3.92              | 341.21 ± 18.34              |
| 模型组     | 16 | 39.60 ± 4.39*             | 25.45 ± 3.68*             | 364.74 ± 16.68*             |
| 头痛宁低剂量组 | 16 | 34.19 ± 5.89* $\Delta$    | 27.13 ± 4.56* $\Delta$    | 356.77 ± 19.69* $\Delta$    |
| 头痛宁中剂量组 | 16 | 29.59 ± 5.60* $\Delta$ ▲  | 29.34 ± 4.86* $\Delta$ ▲  | 347.86 ± 20.06* $\Delta$ ▲  |
| 头痛宁高剂量组 | 16 | 25.82 ± 5.52* $\Delta$ ▲# | 31.33 ± 5.22* $\Delta$ ▲# | 335.66 ± 18.33* $\Delta$ ▲# |

注: NOS, 一氧化氮合酶; 5-HT, 5-羟色胺; 与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与头痛宁低剂量组比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与头痛宁中剂量组比较,  $\#P < 0.05$

### 3 讨论

近年来的研究发现, 颅周肌肉的敏感度提高在紧张性头痛发生发展中发挥重要作用<sup>[1]</sup>。本研究应用 ATP 局部注射提高颈部肌筋膜敏感度建立紧张性头痛模型, 通过监测 JOR 来确定模型是否建立成功和观察疗效。在此基础上应用头痛宁胶囊进行干预, 探讨头痛宁胶囊的机制。头痛宁胶囊是基于中医理论的复方制剂, 将孟元瑞《春脚集》之“立愈汤”去僵蚕组方形成, 具有熄风涤痰、滋阴养血、祛风通络、逐瘀止痛之功效。临床应用发现, 头痛宁胶囊对于紧张性头痛疗效明显, 具有改善症状起效快、疗程短、复发症状轻、持续时间短的特点, 且无明显毒副反应<sup>[3-4, 6]</sup>。在本研究中, 我们发现应用头痛宁胶囊干预后, JOR 潜伏期明显延长, 且随剂量增加, 潜伏期延长明显增加。因此我们推测, 头痛宁胶囊降低肌筋膜敏感度, 且这种作用与头痛宁剂量存在一定的相关性, 头痛宁剂量越大作用越明显。本研究中 JOR 阈值变化与头痛宁剂量关系不明显, 我们推测有以下两个可能, 其一是, 头痛宁对阈值的影响较小, 即使使用很大剂量亦很难改变; 其二是, 头痛宁胶囊对阈值的量效需要更大剂量才可能实现, 这需进行更多剂量方面的研究才能明确。考虑到大鼠对头痛宁胶囊的耐受性, 药物不能无限制的提高剂量, 且对于阈值的影响只是头痛宁胶囊作用机制的一部分, 我们未对此进行进一步探讨。

心理学研究清楚地表明, 焦虑、抑郁是紧张性头痛的常见心理因素, 临床观察发现紧张性头痛患者或轻或重伴有焦虑和(或)抑郁障碍, 酌情给予心理调节治疗可以明显减轻紧张性头痛的发作次数和头痛的程度<sup>[8-9]</sup>。5-HT 和谷氨酸是与心境障碍有关的关键性神经递质, 与焦虑和抑郁关系密切<sup>[10]</sup>。本研究中头痛宁胶囊各剂量组与模型组比较 5-HT 和谷氨酸明显变化, 头痛宁胶囊可有效降低血浆 NOS 和 5-HT 的浓度, 提高谷氨酸的含量,

降低头区肌筋膜痛敏感性。头痛宁胶囊可能通过调节体内血浆 NOS、5-HT 和谷氨酸的含量对紧张性头痛发挥作用。

### 参考文献

- [1] FERNÁNDEZ-DE-LAS-PEÑAS C, ALONSO-BLANCO C, CUADRADO ML, et al. Myofascial trigger points in the suboccipital muscles in episodic tension-type headache [J]. Man Ther, 2006, 11(3): 225-230.
- [2] FERNÁNDEZ-DE-LAS-PEÑAS C, ALONSO-BLANCO C, CUADRADO ML, et al. Trigger points in the suboccipital muscles and forward head posture in tension-type headache [J]. Headache, 2006, 46(3): 454-460.
- [3] 王立云. 步长头痛宁胶囊治疗紧张性头痛的远期疗效观察 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2011, 19(4): 593.
- [4] 张晓波. 步长头痛宁治疗紧张性头痛的临床研究 [J]. 中国医药指南, 2010, 8(32): 73-74.
- [5] MAKOWSKA A, PANFIL C, ELLRICH J. Long-term potentiation of orofacial sensorimotor processing by noxious input from the semispinal neck muscle in mice [J]. Cephalalgia, 2005, 25(2): 109-116.
- [6] MAKOWSKA A, PANFIL C, ELLRICH J. ATP Induces sustained facilitation of craniofacial nociception through P2X receptors on neck muscle nociceptors in mice [J]. Cephalalgia, 2006, 26(6): 697-706.
- [7] 刘光健, 王云甫, 刘勇, 等. 联合黛力新治疗伴有情感障碍慢性紧张性头痛随机对照研究 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2009, 15(2): 72-75.
- [8] GOADSBY PJ, SILBERSTEIN SD, DAVID W, et al. 慢性每日头痛诊断与处置 [M]. 滕继军, 唐丽瓯, 译. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 5, 21-23.
- [9] 王军民, 驰欣杰, 王金成. 紧张型头痛临床发病机制及治疗手段研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2013, 34(4): 266-269.
- [10] 贾海燕, 韩守峰, 王德功, 等. 慢性紧张性头痛患者的心理与药物联合治疗模式 [J]. 中国临床康复, 2004, 8(32): 7088-7089.
- [10] 郝伟, 于欣. 精神病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 108-121.

### Effects of Toutongning Capsule (头痛宁胶囊) on Tension Headache Model Rats

CHEN Ronghua, XIAO Yingchun

(Xiehe Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Fuzhou 350001)

**ABSTRACT** Objective To explore possible functional mechanism of Toutongning Capsule (头痛宁胶囊) on tension headache (TH). **Methods** Injected triphosphadenine into neck muscles to induce TH. Eighty SD rats were randomly divided into model group, control group and the Tongtongning high, middle and low dose group, with 16 rats each. The Tongtongning high, middle and low dose group were respectively given Tongtongning capsule suspen-

sion 760, 380, 190 mg/kg for continuous gavage of seven days. The model and control group was continuously perfused with normal saline of equal dose for seven days. Observed the jaw-opening reflex amplitude and latency before and after treatment. And examined nitric oxide synthase (NOS), 5-hydroxytryptamine (5-HT) and glutamic acid (Glu) level in brain tissue and serum. **Results** Jaw-opening reflex latency in all dose groups of the Toutongning capsule remarkably lengthened after treatment ( $P < 0.05$ ), and Jaw-opening reflex latency improved more obviously with Toutongning dose increasing ( $P < 0.05$ ). Jaw-opening reflex thresholds in all Toutongning dose groups all remarkably increased compared with the model group ( $P < 0.05$ ). There was no statistical difference in different dose groups ( $P > 0.05$ ). Activity of NOS and the levels of 5-HT in plasma in all Toutongning dose groups remarkably increased while the levels of Glu remarkably increased compared with those of the model group ( $P < 0.05$ ). The improvement showed increase with dose increase ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Toutongning capsule could influence the attacks of TH by affecting thresholds of jaw-opening reflex in head muscles and skin and by changing pain sensitivity of muscular fasciae in head. The mechanism may be related to decreasing activity of NOS, decreasing 5-HT and increasing level of Glu.

**Keywords** tension headache; Toutongning capsule; nitric oxide synthase; 5-hydroxytryptamine; glutamic acid; jaw-opening reflex

(收稿日期: 2015-11-17; 修回日期: 2016-08-27)

编辑: 叶 晨

## 中医杂志社医海林音像书店邮购图书目录

- |                     |                     |                    |                            |
|---------------------|---------------------|--------------------|----------------------------|
| ●国医大师临床丛书           | 肿瘤 24               | 金匱要略临床运用 48        | 128                        |
| 李济仁医论医选集 98         | 呼吸疾病 24             | 金匱要略临床精要 58        | 伤寒论方剂当代研究 128              |
| 中医古籍文献学 (第 2 版) 228 | 骨伤病 24              | 伤寒论临床精要 59         | 柴浩然医论医案集 128               |
| 张琪学术思想探赜 78         | 神经精神疾病 24           | 伤寒论临床运用 59         | 林沛湘学术经验集 138               |
| ●名老中医方药心得丛书         | 儿科疾病 25             | 内经临床精要 59          | 康复评定学 148                  |
| 祁宝玉眼科方药心得 50        | 老年疾病 25             | 内经临床运用 79          | 现代脉诊学 148                  |
| 晁恩祥临证方药心得 58        | 风湿免疫及内分泌疾病 28       | ●其它图书              | 岭南本草集锦 148                 |
| 姜良铎内科方药心得 68        | 社区常见疾病预防与保健 29      | 抗微生物药物合理应用手册 39    | 中药血清药物化学 188               |
| 段富津方剂学讲读实录 78       | 社区急症 29             | 中药药对表解 (修订版) 39    | 天然产物化学研究 198               |
| 周文泉老年病临证经验集 79      | 流行病与传染病 29          | 章次公《药理学》点校 48      | 广西特色中草药资源选编 498            |
| 徐福松男科纲目 88          | 社区医学检查诊断技术 29.8     | 病毒性感染性疾病中医治疗学概要 54 | 千金翼方译注 110                 |
| 白兆芝临证经验集萃 88        | 肾脏及血液疾病 29.9        | 全国名老中医柴瑞霭临床经验集萃 78 | 中医百年百名中医临床家丛书 340          |
| ●名医讲学荟萃             | 泌尿生殖疾病 30           | 病毒性传染病中医治疗概要 58    | 冯氏绵囊秘录 94                  |
| 裴沛然讲《内经》 38         | 外科疾病 30             | 黄德彰医文精华 68         | 医宗金鉴 86                    |
| 张琪讲临床 42            | 眼科疾病 35             | 中医学概论 (英文版) 68     | 伤寒论现代研究与临床应用 38            |
| 孟庆云讲中医经典 58         | 消化疾病 35             | 常见肿瘤的非手术治疗 79      | 国医大师验案精粹 (内科篇) 58          |
| ●农村卫生适宜技术推广丛书       | 社区护理 35             | 张灿理医论医案纂要 79       | 经方化裁—伤寒论现代研究丛刊 36          |
| 地方性疾病中西医诊疗技术 27     | ●中医药科学方法学研究系列丛书     | 中医学名词内科学妇科学儿科学 88  | 以上书均免费邮寄,欲购者               |
| 中药炮制实用技术 29.8       | 中医学科学方法特征与沿革 69     | 脊髓损伤的中西医结合治疗 98    | 请汇款至北京市东直门内南小              |
| 农村实用针灸技术 34         | 当代中医药学家谈科学思维与方法 88  | 中国的藏医(汉文、藏文、英文) 98 | 街 16 号中医杂志社医海林音像           |
| 农村实用液体疗法 37         | 古代中医药名家学术思想与认识论 98  | 现代中成药的药材炮制 98      | 书店 图书部 收, 邮 政 编 码:         |
| 灾害医学救治技术 39.8       | 中医药理论技术发展的方法学思考 118 | 刘炳凡医论医案 118        | 100700。电话: (010) 64035632。 |
| ●社区医师中西医诊疗规范丛书      | 中医临床基础医学研究 128      | 华廷芳学术经验集 128       | 请在汇款单附言栏写清所购书              |
| 心血管病 22             | ●重读中医经典丛书           | 临床常见疾病影像诊断及治疗原则    | 名、册数及邮编。                   |
| 社区康复 22             |                     |                    |                            |