

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2022.05.014

针刺强度对类痛经模型大鼠镇痛效应、前列腺素及缩宫素含量的影响

谢海梅¹, 柳依江², 王培¹, 苑鸿雯², 宋越³, 柳杨¹, 黎金凤¹, 李敏¹✉

1. 首都医科大学附属北京潞河医院, 北京市通州区新华南路 82 号, 101149; 2. 首都医科大学中医药学院; 3. 北京中医药大学针灸推拿学院

[摘要] **目的** 观察不同针刺强度对类痛经模型大鼠的镇痛效应, 探讨其可能的作用机制。**方法** 40 只 SD 雌性大鼠随机分为空白组、模型组、弱刺激组及强刺激组, 每组 10 只。除空白组外, 其余各组均采用苯甲酸雌二醇和缩宫素注射法建立类痛经模型。空白组与模型组仅抓取固定, 强刺激组采用粗针、深刺、施手法, 弱刺激组采用细针、浅刺、不施手法, 两组均刺激双侧“三阴交”穴 20 min, 起针后即刻观察大鼠扭体反应。采用 ELISA 法检测血清及子宫组织前列腺素 $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$)、前列腺素 E_2 (PGE_2) 及缩宫素 (OT) 含量, 采用化学法检测血清钙离子 (Ca^{2+}) 含量。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠扭体潜伏期明显缩短、扭体评分升高, 血清及子宫组织 $PGF_{2\alpha}$ 、 $PGF_{2\alpha}/PGE_2$ 、OT 及血清 Ca^{2+} 含量均显著升高, 而血清及子宫组织 PGE_2 含量显著降低 ($P<0.01$)。与模型组比较, 强刺激组与弱刺激组大鼠扭体潜伏期均明显延长、扭体评分均显著降低, 子宫组织 $PGF_{2\alpha}$ 含量、血清及子宫组织中 $PGF_{2\alpha}/PGE_2$ 及 OT 含量均显著降低, 血清 PGE_2 含量显著升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 强刺激组血清 $PGF_{2\alpha}$ 、 Ca^{2+} 含量显著降低 ($P<0.05$)。与弱刺激组比较, 强刺激组扭体潜伏期显著延长、扭体评分显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 且强刺激组血清 $PGF_{2\alpha}$ 显著低于弱刺激组 ($P<0.05$)。**结论** 针刺能缓解类痛经模型大鼠的疼痛程度, 且强刺激优于弱刺激。其作用机制可能是通过调节血清和子宫组织中 $PGF_{2\alpha}$ 、 PGE_2 及 OT 含量, 降低血清 Ca^{2+} 含量, 从而改善平滑肌异常收缩而实现的。

[关键词] 针刺; 刺激量; 强刺激; 原发性痛经

原发性痛经 (primary dysmenorrhea, PD) 是育龄期女性的常见疾病, 一般始于初潮或其后 1~2 年, 临床表现为月经前后和行经期的下腹及腰骶部痉挛性疼痛、头晕头痛、乏力、恶心呕吐等, 对女性的生活质量造成严重影响^[1]。目前, 临床上对本病主要采用药物治疗, 广泛应用的治疗药物包括非甾体抗炎药、避孕药和 Ca^{2+} 通道阻滞剂等, 但药物常易引起消化不良、头痛、嗜睡等不良反应, 且仍有 20%~25% 的患者疼痛未能得到有效减轻^[2]。因此, 寻求能缓解疼痛且副作用小的物理治疗方法成为本病临床研究的热点。

长期以来针刺疗法已被广泛应用于 PD 的治疗, 并显示出明显优势^[3-4], 其临床疗效确切、操作便

捷、无毒副作用; 但亦有研究^[5]认为针刺改善 PD 的临床证据并不充分。分析此不一致的结果可能与针刺方法、参数尤其是针刺强度的应用不统一有关。针刺强度是指针刺过程中影响疗效的因素总和, 包括针灸针粗细、针刺深度、是否行手法和留针时间长短等^[6]。一项系统评价^[7]结果显示, 毫针刺且施手法、手法强刺激结合深刺、施行特殊补泻手法治疗 PD 的效果优于不施手法、手法弱刺激结合浅刺、施行平补平泻法的治疗。前期研究亦表明, 粗针、深刺、施手法的强刺激比细针、浅刺、不施手法的弱刺激更容易诱导患者得气, 而得气比不得气对寒凝证 PD 患者的镇痛效应更佳^[8], 且得气强度越高疼痛缓解越显著^[9]。因此, 本研究拟通过苯甲酸雌二醇结合缩宫素注射法建立类痛经大鼠模型, 探讨不同针刺强度对类痛经模型大鼠镇

基金项目: 首都医科大学科研培育基金 (PYZ2018147)

✉ 通讯作者: lhyylimin@mail.ccmu.edu.cn, (010)69543901

痛作用的差异及可能机制,为临床针刺治疗PD方案的优化提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

SD大鼠40只,清洁级,雌性,11周龄,性成熟未交配,体质量(220 ± 20)g,由首都医科大学实验动物部提供,实验动物许可证号SCXK(京)2016-0011。每笼8只,饲养于首都医科大学动物房屏障环境中,自由饮水,SPF级饲料喂养,光照周期12 h/12 h模拟昼夜交替,温度为(23 ± 2)℃,环境湿度40%~50%。适应性饲养1周后,采用随机数字表法将大鼠分为空白组、模型组、强刺激组与弱刺激组,每组10只。实验过程中大鼠的操作按首都医科大学实验动物伦理委员会标准执行,符合动物福利的基本原则。

1.2 主要试剂与仪器

瑞氏-姬姆萨复合液(北京索莱宝生物科技有限公司,批号G1020);10%水合氯醛(北京东方龙顺化学合成技术开发中心,批号20190316);大鼠前列腺素 $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$)ELISA检测试剂盒(批号FU-D1275)、大鼠前列腺素 E_2 (PGE_2)ELISA检测试剂盒(批号FU-D1273)、大鼠缩宫素(OT)ELISA试剂盒(批号FU-D1510),北京方程生物公司;苯甲酸雌二醇注射液(宁波三生生物科技有限公司,批号315105);缩宫素注射液(杭州动物药品厂,批号310017)。

0.25 mm×40 mm一次性无菌针灸针(批号SD19A0106)、0.18 mm×13 mm一次性无菌针灸针(批号SD19A0102),北京科苑达医疗器械有限公司;0.2 ml巴氏滴管(北京毅事合科技有限公司,货号DM20753);光学显微镜(日本尼康公司,型号Eclipse C1);37℃恒温箱(武汉一恒苏净科学仪器有限公司,型号LHS-150);全自动多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司,型号Spectra Max Plus);Sigma台式冷冻离心机(美国Sigma公司,型号3-18KS)。

1.3 动情间期筛选方法

每日定时用细棉签蘸生理盐水湿润后轻轻插入大鼠阴道约0.5 cm,稍微转动后取出,将带有阴道分泌物的细棉签在载玻片上均匀转动涂片,在空气中干燥。使用瑞氏-姬姆萨复合液染色5 min,用清水将染色剂轻轻冲掉,然后在显微镜下观察阴道涂片的组织学变化,根据细胞形态、种类及数量筛

选出动情间期大鼠以备造模。动情周期中各时期表现^[10]:1)动情前期:全部见有核上皮细胞,偶见角化细胞。2)动情期:全部见无核角化细胞,间有少量白细胞。3)动情后期:细胞成分多,可见白细胞、角化细胞及有核上皮细胞。4)动情间期:可见大量白细胞、少量上皮细胞和黏液。

1.4 类痛经模型制备

除空白组外,其他各组均于动情间期采用苯甲酸雌二醇和缩宫素注射法^[11-12]建立类痛经模型。每日给予大鼠腹部皮下注射苯甲酸雌二醇注射液,连续10天,第1天及第10天每日注射0.5 mg/只,第2~9天每日注射0.2 mg/只,末次给药1 h后腹腔注射缩宫素2 U/只。以核心表观指标扭体反应(大鼠腹部收缩内凹,躯干与后肢伸展,臀部与一侧肢体内旋)评价造模成功与否,大鼠扭体潜伏期明显缩短,扭体次数明显增加提示造模成功^[12]。空白组只进行抓取,第1天皮下注射生理盐水每日0.5 ml/只,第2~9天每日0.2 ml/只,第10天皮下注射生理盐水0.5 ml/只1 h后,腹腔注射生理盐水0.2 ml/只。

1.5 干预方法

针刺取穴:参考《实验针灸学》大鼠标准穴位图谱^[13]取双侧“三阴交”穴,定位于后肢内踝尖上10 mm处。

综合临床强弱刺激界定标准,强刺激组采用粗针、深刺、施手法,用0.25 mm×40 mm的无菌针灸针刺入大鼠“三阴交”穴4~5 mm,刺入即刻和留针10 min时分别施平补平泻手法(均匀平和提插捻转,提插时针身垂直,上提与下插用力均匀,幅度2~3 mm,频率80~120次/min;捻转时左转与右转幅度、频率相等,捻转角度90°~180°,频率60~80次/min)30 s,留针20 min后起针。弱刺激组采用细针、浅刺、不施手法,用0.18 mm×13 mm的无菌针灸针刺入大鼠“三阴交”穴1~2 mm,不施任何手法,留针20 min后起针。

各组均针刺1次,观察起针即刻的效应。空白组和模型组于相同时间内给予抓取固定,观察20 min后的效应。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 扭体反应 采用扭体反应评价大鼠的痛经程度。记录注射缩宫素后20 min内模型组、强刺激组及弱刺激组大鼠扭体潜伏期、扭体次数,并计算扭体评分。

扭体潜伏期为注射缩宫素后至出现扭体反应的

时间。扭体评分根据 Schmauss 行为学评分标准分为 0~3 四个等级^[14]，0 级：正常姿势（前爪平放盒底或正常探查行为）；1 级：身体斜向一边；2 级：后肢伸展，后爪背屈，躯体伸展伴频繁地盆骨侧向旋转；3 级：腹部肌肉收缩，后肢后伸。扭体评分=0 级次数×0 分+1 级次数×1 分+2 级次数×2 分+3 级次数×3 分。

1.6.2 ELISA 法检测血清及子宫组织中 PGF_{2α}、PGE₂ 及 OT 含量 起针后即刻对各组大鼠肌肉注射 10% 水合氯醛（3 ml/kg）进行麻醉，开腹，腹主动脉取血 4~5 ml，4℃ 下静置 2 h 后，2~8℃ 低温 4000 r/min 离心 10 min，离心半径 17 cm，取上清待测；取血完毕后，快速取子宫组织，于冰上剪去附着的结缔组织及血管后，取“Y”字形子宫组织，分装至 EP 管，经液氮迅速降温后-80℃ 冰箱保存。

取各组大鼠血清及子宫组织匀浆液，使用 PGF_{2α}、PGE₂、OT ELISA 试剂盒测定，严格按照试剂盒说明书进行操作。每个样本测定两次，取平均值进行统计分析，并计算 PGF_{2α}/PGE₂。

1.6.3 化学法检测大鼠血清钙离子（Ca²⁺）含量 腹主动脉取血 2 ml，4℃ 下静置 2 h 后，2~8℃ 低温 4000 r/min 离心 10 min，离心半径 17 cm，取上清，采用化学法检测大鼠血清 Ca²⁺ 含量。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析。数据均为计量资料，均符合正态性分布，以均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，多组比较采用单因素方差分析，方差齐者组间两两比较采用 LSD 法；方差不齐者两两比较采用 Dunnett's *T*³ 法。以 *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠扭体反应比较

表 1 示，与空白组比较，模型组大鼠扭体潜伏期明显缩短、扭体评分升高（*P* < 0.01）。与模型组比较，弱刺激组、强刺激组大鼠扭体潜伏期明显延长、扭体评分降低（*P* < 0.05 或 *P* < 0.01）；与弱

刺激组比较，强刺激组大鼠扭体潜伏期更长、扭体评分更低（*P* < 0.05 或 *P* < 0.01）。

表 1 各组大鼠扭体反应比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	扭体潜伏期/s	扭体评分/分
空白组	10	505.10±75.63	6.80±1.87
模型组	10	252.20±79.04 ^{a)}	32.90±18.33 ^{a)}
弱刺激组	10	343.80±111.50 ^{b)}	20.50±11.71 ^{b)}
强刺激组	10	484.90±85.63 ^{c)} d)	7.50±4.00 ^{e)} e)

注：a) 与空白组比较，*P* < 0.01；b) 与模型组比较，*P* < 0.05；c) 与模型组比较，*P* < 0.01；d) 与弱刺激组比较，*P* < 0.01；e) 与弱刺激组比较，*P* < 0.05。

2.2 各组大鼠血清 PGF_{2α}、PGE₂、PGF_{2α}/PGE₂、OT 水平比较

表 2 示，与空白组比较，模型组血清 PGF_{2α}、PGF_{2α}/PGE₂ 及 OT 水平均显著升高、PGE₂ 含量显著降低（*P* < 0.01）。与模型组比较，弱刺激组血清 PGF_{2α}/PGE₂ 及 OT 水平均降低（*P* < 0.01）、血清 PGE₂ 含量升高（*P* < 0.01），强刺激组 PGF_{2α}、PGF_{2α}/PGE₂ 及 OT 水平降低，PGE₂ 含量升高（*P* < 0.05 或 *P* < 0.01）；与弱刺激组比较，强刺激组血清 PGF_{2α} 含量降低（*P* < 0.05）。

2.3 各组大鼠子宫组织 PGF_{2α}、PGE₂、PGF_{2α}/PGE₂ 及 OT 水平比较

表 3 示，与空白组比较，模型组子宫组织 PGF_{2α}、PGF_{2α}/PGE₂ 及 OT 水平均升高，PGE₂ 降低（*P* < 0.01）。与模型组比较，弱刺激组、强刺激组大鼠子宫组织 PGF_{2α}、PGF_{2α}/PGE₂ 及 OT 均降低（*P* < 0.01），PGE₂ 差异无统计学意义（*P* > 0.05）。与弱刺激组比较，强刺激组血清 PGF_{2α}、PGE₂、PGF_{2α}/PGE₂ 及 OT 含量差异均无统计学意义（*P* > 0.05）。

2.4 各组大鼠血清 Ca²⁺ 含量比较

表 4 示，与空白组比较，模型组大鼠血清 Ca²⁺ 含量显著升高（*P* < 0.01），弱刺激组血清 Ca²⁺ 含量亦明显升高（*P* < 0.05）。与模型组比较，强刺激组血清 Ca²⁺ 含量显著下降（*P* < 0.05），弱刺激组差异无统计学意义（*P* > 0.05）。弱刺激组与强刺激组比较差异亦无统计学意义（*P* > 0.05）。

表 2 各组大鼠血清 PGF_{2α}、PGE₂、PGF_{2α}/PGE₂、OT 水平比较 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PGF _{2α}	PGE ₂	PGF _{2α} /PGE ₂	OT
空白组	10	74.72±26.50	509.69±74.53	0.15±0.06	15.12±3.36
模型组	10	182.47±42.03 ^{a)}	307.89±48.74 ^{a)}	0.62±0.22 ^{a)}	26.85±3.65 ^{a)}
弱刺激组	10	156.68±63.98	400.23±68.71 ^{b)}	0.29±0.14 ^{b)}	17.53±3.41 ^{b)}
强刺激组	10	104.73±37.73 ^{c)} d)	377.66±70.72 ^{b)}	0.40±0.19 ^{b)}	17.23±3.84 ^{b)}

注：PGF_{2α}，前列腺素 F_{2α}；PGE₂，前列腺素 E₂；OT，缩宫素。
a) 与空白组比较，*P* < 0.01；b) 与模型组比较，*P* < 0.01；c) 与模型组比较，*P* < 0.05；d) 与弱刺激组比较，*P* < 0.05。

表3 各组大鼠子宫组织PGF_{2α}、PGE₂、PGF_{2α}/PGE₂、OT含量比较(pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PGF _{2α}	PGE ₂	PGF _{2α} /PGE ₂	OT
空白组	10	105.82±24.96	444.22±56.68	0.24±0.05	15.91±4.00
模型组	10	197.01±48.81 ^{a)}	295.31±59.18 ^{a)}	0.69±0.20 ^{a)}	24.92±4.22 ^{a)}
弱刺激组	10	126.20±36.63 ^{b)}	336.20±68.05	0.37±0.15 ^{b)}	14.48±4.27 ^{b)}
强刺激组	10	110.06±41.33 ^{b)}	312.55±70.93	0.39±0.13 ^{b)}	14.13±3.37 ^{b)}

注: PGF_{2α}, 前列腺素F_{2α}; PGE₂, 前列腺素E₂; OT, 缩宫素。a) 与空白组比较, $P < 0.01$; b) 与模型组比较, $P < 0.01$ 。表4 各组大鼠血清Ca²⁺含量比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	Ca ²⁺
空白组	10	2.35±0.26
模型组	10	2.67±0.12 ^{a)}
弱刺激组	10	2.60±0.21 ^{b)}
强刺激组	10	2.40±0.31 ^{c)}

注: a) 与空白组比较, $P < 0.01$; b) 与空白组比较, $P < 0.05$; c) 与模型组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

PD属于中医学“经行腹痛”范畴,相关论述最早见于张仲景《金匮要略·妇人杂病脉证并治》:“带下经水不利,少腹满痛”,并认为痛经的病机主要为“寒凝血瘀”,主张以活血、化瘀、温里法治疗。目前多认为痛经的发生与肝、脾、肾三脏功能失调密切相关,病位在子宫、冲任,主要病机为“不通则痛”或“不荣则痛”^[15]。临床观察^[16]显示,针刺三阴交可缓解痛经。三阴交是足少阴、足厥阴、足太阴三经的交会之处,足三阴经皆循行且过小腹,经脉所过,主治所及,故三阴交可通过调和肝、脾、肾三脏,疏通经络,通畅气血运行,缓解痛经^[17]。一项针刺治疗PD辨证选穴规律的文献研究^[18]结果显示,三阴交穴分别是PD实证和虚证治疗中使用频次居第1位和第2位的穴位。用热敏灸不同单穴治疗PD即刻止痛效应及疗效观察^[19]发现,三阴交穴为热敏灸治疗PD(寒凝血瘀型)即刻止痛的首选穴。故本研究选用三阴交穴对类痛经模型大鼠进行干预。

现代医学认为,内分泌因素导致的子宫平滑肌收缩是PD发生的关键,其致病因子较多,包括前列腺素(PGs)、缩宫素、血管升压素、性激素、促炎因子等^[20]。其中,PGs是研究者深入研究的一类致痛因素,其来源于花生四烯酸经环氧合酶途径,在人体共有9种PGs物质,而PGF_{2α}和PGE₂比例的失衡被认为是影响痛经发生的关键^[21]。高浓度的PGF_{2α}作用于螺旋小动脉壁上的PGF_{2α}受体,可引起子宫平滑肌痉挛性收缩,致使子宫缺血缺

氧,酸性代谢产物堆积于子宫肌层进而诱发痛经,相反,PGE₂具有松弛子宫平滑肌、抑制子宫收缩的功能^[22]。研究表明,女性痛经越严重,其体内的PGF_{2α}越高,PGE₂越低,且二者的比值(PGF_{2α}/PGE₂)亦越高^[23]。

本研究结果表明,模型组大鼠血清及子宫组织中PGF_{2α}及PGF_{2α}/PGE₂均高于空白组,PGE₂低于空白组。经过强刺激和弱刺激针刺后,大鼠扭体潜伏期较模型组延长,扭体评分、子宫组织PGF_{2α}、血清及子宫组织中PGF_{2α}/PGE₂均下降,PGE₂均升高,提示针刺能降低类痛经模型大鼠的疼痛程度,该过程可能是通过调节前列腺素PGF_{2α}与PGE₂的含量及比值而实现的。此外,与弱刺激组比较,强刺激组大鼠扭体潜伏期更长、扭体评分更低,血清PGF_{2α}含量更低,提示针刺过程中施以较强的刺激对类痛经模型大鼠的镇痛效应更佳,这与齐丹丹等^[24]的研究结果一致。

PGs作为化学信号经G蛋白偶联受体-磷脂酶C途径生成三磷酸肌醇(IP₃)和二酰甘油(DAG),是直接调节Ca²⁺通路的激素。而OT与子宫收缩亦密切相关。研究^[25]表明,OT主要通过结合子宫平滑肌上的OT受体(OTR)而发挥收缩子宫平滑肌的作用,当OT与OTR结合后会改变构型,OTR可与G蛋白偶联并激活磷脂酶C,通过细胞内的磷酸肌醇信号系统,亦可调节Ca²⁺通路,引起子宫收缩而导致痛经。本研究结果表明,模型组大鼠血清及子宫组织内OT含量均明显高于空白组;而强刺激组和弱刺激组大鼠血清及子宫组织中OT含量较模型组均明显降低。此外,本研究模型组大鼠血清Ca²⁺明显高于空白组,而强刺激组血清Ca²⁺水平低于模型组。这些结果提示,PGs和OT含量在痛经发生和针刺治疗的过程中是有明显变化的,结合此过程中血清Ca²⁺含量的变化可知,PGs和OT的变化可能影响了血清Ca²⁺的含量,从而引起子宫平滑肌收缩的变化。

针刺刺激量是关系针刺疗效的重要因素之一,

在临床中,根据患者病情选取恰当的腧穴处方、补泻手法及适宜的刺激量,才能取得良好的疗效^[26]。《黄帝内经》首次提出了针刺治疗起效的最小刺激量“得气”,如《灵枢·九针十二原》云:“刺之要,气至而有效”。现代针灸理论亦认为毫针的治疗必须建立在得气的基础上,调整经气是毫针治疗的主要目的,是毫针取效的基础^[27]。影响得气的因素主要包括针具、针刺的深度、是否施手法、取穴的准确度、留针的时间等^[28]。本研究固定了取穴(“三阴交”单穴)及留针时间(20 min),以不同针具、不同针刺深度及是否施手法来区分针刺强弱刺激,且强刺激强度设定为针刺起效的最小强度,即保证得气的较为平和的平补平泻手法,以探讨针刺强度这一因素对疗效的影响。研究表明,针刺能缓解类痛经模型大鼠的腹痛程度,且强刺激优于弱刺激。其可能的机制是通过良性调节血清和子宫组织中PGs及OT含量,降低血清内Ca²⁺含量,从而改善平滑肌的异常收缩。

本研究存在一定局限性,首先我们选择的刺激是毫针刺,虽然对针刺操作者进针深度和捻转角度已进行反复训练,但仍具有一定主观性,今后可尝试开展可固定刺激参数的电针进行干预。其次,本研究为减少干扰因素,仅选择“三阴交”单穴进行针刺治疗,可能导致部分指标未出现阳性结局,下一步可尝试选择对PD疗效较好的组穴进行治疗。此外,本研究所设定的强弱刺激的针刺参数对于大鼠是否为适宜的强弱刺激尚无确切依据,有待今后研究对实验动物的适宜刺激参数及相应针具进行进一步探讨。

参考文献

- [1] 丰有吉. 妇产科学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2017: 239.
- [2] OLADOSU FA, TU FF, HELLMAN KM. Nonsteroidal anti-inflammatory drug resistance in dysmenorrhea: epidemiology, causes, and treatment[J]. Am J Obstet Gynecol, 2018, 218(4): 390-400.
- [3] AFSHARI F, MOHAMMADI A, MA LX, et al. Comparison of the immediate analgesic effect of perpendicular needling and transverse needling at SP6 in patients with primary dysmenorrhea: study protocol for a randomized controlled trial [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(3): e18847.
- [4] WOO HL, JI HR, PARK YK, et al. The efficacy and safety of acupuncture in women with primary dysmenorrhea: a systematic review and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(23): e11007.
- [5] SMITH CA, ARMOUR M, ZHU X, et al. Acupuncture for dysmenorrhea [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2016, 4: CD007854. doi: 10.1002/14651858.CD007854.
- [6] 王东岩, 杨海永, 董旭, 等. 针刺量效关系研究进展与评述[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(11): 5014-5017.
- [7] 孙俊俊, 王亚峰, 张壮, 等. 毫针针刺手法对原发性痛经效应影响的系统评价[J]. 中国针灸, 2017, 37(8): 887-892.
- [8] 王培, 张鹏, 吴桂雯, 等. 得气对寒湿凝滞证原发性痛经患者镇痛效应的影响[J]. 针刺研究, 2018, 43(1): 48-54.
- [9] HU NJ, LIU YQ, ZHAO MY, et al. Influence of the intensity, components, and spreading of the deqi sensation on the analgesic effect of sp6 needling in primary dysmenorrhea patients: a secondary analysis of a randomised controlled trial [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019: 6462576. doi: 10.1155/2019/6462576.
- [10] WESTWOOD FR. The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging[J]. Toxicol Pathol, 2008, 36(3): 375-384.
- [11] 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.
- [12] 嵇波, 张露芬, 朱江, 等. 痛经模型建立和评价方法的思考[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(6): 711-714.
- [13] 林文注, 王佩. 实验针灸学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 285.
- [14] SCHMAUSS C, YAKSH L. In vivo studies on spinal opiate receptor systems mediating antinociception II pharmacological profiles suggesting a differential association of mu, delta and kappa receptors with visceral chemical and cutaneous thermal stimuli in the rat[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1984, 228(1): 1-12.
- [15] 张庆悦. 中西医结合妇产科疾病诊疗学[M]. 西安: 西安交通大学出版社, 2014: 186.
- [16] 潘秋银. 毫火针疗法配合针刺三阴交对原发性痛经患者血清β-EP、ET-1水平的影响[J]. 针灸临床杂志, 2020, 36(11): 30-33.
- [17] 辛思源, 庞嘉, 刘玉祁, 等. 三阴交治疗原发性痛经的疗法及其影响因素分析[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(1): 138-141.
- [18] 杨莹莹, 赵丽红, 王天芳. 基于现代文献分析针刺治疗原发性痛经辨证选穴的规律[J]. 环球中医药, 2021, 14(1): 26-31.
- [19] 刘静, 王立, 李芳, 等. 热敏灸不同单穴治疗原发性痛经即刻止痛效应及疗效观察[J]. 江西中医药大学

- 学报, 2021, 33(1): 72-75.
- [20] BARCIKOWSKA Z, RAJKOWSKA-LABON E, GRZYBOWSKA ME, et al. Inflammatory markers in dysmenorrhea and therapeutic options[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(4): E1191.
- [21] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 217-221.
- [22] 李香萍, 汪明德. 原发性痛经的中西医研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2007, 9(1): 65-68.
- [23] HAIDARI F, HOMAYOUNI F, HELLI B, et al. Effect of chlorella supplementation on systematic symptoms and serum levels of prostaglandins, inflammatory and oxidative markers in women with primary dysmenorrhea [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2018, 229: 185-189. doi: 10.1016/j.ejogrb.2018.08.578.
- [24] 齐丹丹, 张玲, 申松希, 等. 不同针刺刺激量对寒凝证类痛经模型大鼠扭体反应及子宫内前列腺素物质含量的影响[J]. 中医药信息, 2015, 32(4): 48-51.
- [25] 蒲宝婵, 姜国云, 方玲. 原发性痛经疼痛因子及其关联性研究[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(6): 1368-1370.
- [26] 周清辰. 不同刺激量针刺治疗心脾两虚型原发性失眠症临床疗效观察[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [27] 陆寿康. 刺灸法[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 53.
- [28] 王培. 得气与经穴效应关系及得气部分机体影响因素的随机对照试验研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.

Effect of Different Stimulation Strength of Acupuncture on Pain and the Content of Prostaglandin and Oxytocin in Dysmenorrhea-like Model Rats

XIE Haimei¹, LIU Yijiang², WANG Pei¹, YUAN Hongwen², SONG Yue³, LIU Yang¹, LI Jinfeng¹, LI Min¹

1. Beijing Luhe Hospital, Capital Medical University, Beijing, 101149; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University; 3. School of Acupuncture-moxibustion and Tuina, Beijing University of Chinese Medicine

ABSTRACT **Objective** To observe the analgesic effect of acupuncture with different stimulation strength on dysmenorrhea-like rats and to explore the possible mechanism. **Methods** Forty SD female rats were randomly divided into blank group, model group, weak-stimulation acupuncture (WA) group and strong-stimulation acupuncture (SA) group, with 10 rats in each group. Dysmenorrhea-like model was established by injection of estradiol benzoate and oxytocin in all groups except for the blank group. Rats in the blank group and the model group were only grasped and fixed without interventions; a 20-minute deep needling at bilateral sanyinjiao (SP6) acupoints with thick needles added by manipulation techniques was given to the SA group, while a 20-minute superficial needling at the same acupoints with a thin needles without manipulation techniques was given to the WA group. Writhing response of the rats was observed after withdrawal of needles. The content of prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), prostaglandin E_2 (PGE_2) and oxytocin (OT) in serum and uterine tissue were detected by ELISA method, while the content of Ca^{2+} in serum was detected by chemical methods. **Results** Compared to those in the blank group, the latent period of writhing in the model group was significantly shortened, and the writhing score was increased; the content of $PGF_{2\alpha}$, $PGF_{2\alpha}/PGE_2$, and OT in serum and uterine tissue, and the content of Ca^{2+} in serum were significantly increased; the PGE_2 content in serum and uterine tissue were reduced in the model group ($P < 0.01$). Compared to the model group, the SA and WA groups had a significantly prolonged latent period of writhing, decreased writhing scores, $PGF_{2\alpha}$ content in uterine tissue, $PGF_{2\alpha}/PGE_2$ and OT content in serum and uterine tissue, as well as increased PGE_2 content in serum ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The SA group had significantly decreased $PGF_{2\alpha}$ and Ca^{2+} content in serum ($P < 0.05$). The latent period of writhing in the SA group was significantly longer than that in the WA group, while the writhing score was lower ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the $PGF_{2\alpha}$ content in serum was obviously lower in the SA group than that in the WA group ($P < 0.05$). **Conclusion** Acupuncture could relieve the pain in dysmenorrhea-like rats, and strong-stimulation has better effects than weak-stimulation. The possible mechanism may be explained by that acupuncture can regulate the content of $PGF_{2\alpha}$, PGE_2 and OT in serum and uterine tissue, and reduce the content of Ca^{2+} in serum, thereby improving the contraction of smooth muscle.

Keywords acupuncture; stimulation strength; strong stimulation; primary dysmenorrhea

(收稿日期: 2021-05-23; 修回日期: 2021-12-27)

[编辑: 焦 爽]