

• 临床研究 •

虚寒证原发性痛经患者血清氧化应激的变化及金匱温经汤的干预机制*

徐丁洁¹, 张碧激¹, 徐 洪², 董玉山¹, 杜晨光¹, 成秀梅³, 杜惠兰³

(1. 华北理工大学中医学院, 河北 唐山 063000; 2. 华北理工大学医学实验研究中心, 河北 唐山 063000;

3. 河北中医学院中西医结合学院, 河北 石家庄 051000)

摘要: **目的** 探讨虚寒证原发性痛经患者血清氧化应激指标的变化, 完善金匱温经汤治疗本病的作用机制。**方法** 收集 60 例虚寒证原发性痛经患者, 给予金匱温经汤连续治疗 3 个月经周期; 60 例正常女性作为对照组, 比较治疗前后痛经患者血清生殖激素(FSH、LH、E₂、P、T)及氧化应激指标(SOD、MDA、GSH-PX、T-AOC)的变化。**结果** 痛经组患者治疗前, 血清 E₂、SOD 活性、GSH-PX 和 T-AOC 均显著降低, MDA 升高, 与正常组比较, 差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 治疗后, 血清 E₂、SOD 活性、GSH-PX 和 T-AOC 均有不同程度升高, MDA 降低, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且治疗后 E₂、SOD 活性、MDA 与正常组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 虚寒证原发性痛经患者存在氧化应激损伤; 金匱温经汤能够通过激活机体抗氧化能力缓解机体氧化损伤状态, 有效治疗虚寒证原发性痛经。

关键词: 虚寒证; 原发性痛经; 金匱温经汤; 氧化应激

中图分类号: R271.11+3

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2016)02-0053-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.02.015

原发性痛经(primary dysmenorrhea, PD)是妇科临床的常见病及多发病, 指在行经前后或月经期出现小腹疼痛、坠胀, 伴腰酸或其他不适症状, 而无器质性变化, 以致影响工作及生活。目前, 西医治疗主要以非甾体抗炎药、避孕药、维生素 E、钙离子通道阻滞剂等药物为主, 但有时效果不理想, 且存在一定副反应。中医辨证其病机有寒、湿、虚等, 据临床流调学统计, 虚寒证在人群中的患病率颇高^[1]。根据“寒则热之, 虚则补之, 通则不痛”的基本理论对虚寒证痛经治疗采用暖宫祛瘀、养血温通, 临床以张仲景《金匱要略》温经汤化裁, 效果明显。研究表明, 虚寒证原发性痛经与能量、免疫等多种因素有关^[2], 氧化应激作为多种妇科疾病的共有病理学基础^[3], 是否参与虚寒证原发性痛经的发生发展, 目前国内外并无相关研究。本研究从氧化应激角度进行临床观察, 并给予金匱温经汤治疗, 以期挖掘虚寒证原发性痛经的病理过程及完善经方的作用机制。

1 资料

1.1 一般资料

痛经组 60 例, 选自 2014 年 12 月-2015 年 12 月在华北理工大学附属医院妇科门诊就诊的原发性痛经患者证属虚寒者, 平均年龄(29.1 ± 4.02)岁; 对照组 60 例, 选择无心脑血管疾病, 肝肾疾病, 肾上腺、甲状腺、垂体等其他内分泌疾病, 无神经、精神系统疾病及血液病等疾病, 年龄在 18~35 岁之间的正常健康女性, 平均(28.5 ± 3.87)岁。2 组年龄比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 诊断标准

虚寒证原发性痛经: 参照《妇产科学》、《中医病证治法术语》及《中医妇科学》等拟定^[2]

主证: 行经前后或经期小腹疼痛, 喜温喜按, 得热痛减。

次证: 月经后期或经血量少; 经色淡, 质稀或夹小血块; 下腹坠胀或腰骶冷痛; 面色淡白, 畏寒肢冷; 尿清便溏, 或尿少浮肿; 舌淡胖, 苔白, 脉沉迟无力。

* 基金项目: 国家自然科学基金(81503451); 河北省自然科学基金(H2014209172); 河北省中医药管理局项目(2014186); 唐山市科技支撑项目(14130221a); 华北理工大学博士科研启动基金(35757199)

收稿日期: 2016-03-14

作者简介: 徐丁洁(1984-), 女, 山东临沂人, 医学博士, 讲师, 研究方向: 妇科寒证。E-mail: xudingjie@163.com

以上主症必备,次症兼有 2 项或 2 项以上者,结合舌脉及妇科检查、B 超正常者,即可诊断虚寒证原发性痛经。

1.3 痛经程度分级标准

症状积分参照《中药治疗痛经的临床研究指导原则》^[4]:①经期及经行前后小腹痛(基础分)5 分;②腹痛难忍 1 分;③腹痛明显 0.5 分;④坐卧不宁 1 分;⑤休克 2 分;⑥面色淡白 0.5 分;⑦冷汗淋漓 1 分;⑧四肢厥冷 1 分;⑨需卧床休息 1 分;⑩影响工作学习 1 分;⑪用一般止痛措施不缓解 1 分;⑫用一般止痛措施可暂缓 0.5 分;⑬伴腰部酸痛 0.5 分;⑭恶心呕吐 0.5 分;⑮肛门坠胀 0.5 分;⑯疼痛在 1d 以内 0.5 分(每增加 1d 加 0.5 分)。

根据上述痛经程度评分标准将痛经程度分为 3 度。

轻度:痛经程度积分在 8 分以下;中度:痛经程度积分在 8~14 分;重度:痛经程度积分在 14 分以上者。

1.4 纳入标准

符合诊断标准者;痛经程度为“中度”;年龄 18~35 岁;志愿参加试验者;近期无受孕要求。

1.5 排除标准

生理性闭经及月经周期、经期不规律者;生殖器官器质性病变者;3 个月内服用过激素类药物者;神经-精神系统疾病者;心、脑、肝肾等出现功能性或器质性病变者;依从性较差者。

2 方法

2.1 治疗方法

金匱温经汤组成:吴茱萸 12g,当归 9g,白芍 12g,川芎 9g,人参 9g,桂皮 9g,阿胶 12g,丹皮 9g,麦冬 9g,半夏 6g,生姜 6g,甘草 9g,购于北京同仁堂药业。人参单煎,阿胶烱化,其余药物一起水煎。经前 7d 开始服药,每日 1 剂,分 2 次服,至月经来潮停药,连续用药 3 个月经周期。

正常组与痛经组(用药前及用药后),均于月经

周期第 5 天,清晨空腹,肘静脉采血 5mL;统一备检。

2.2 观察指标

2.2.1 血清生殖内分泌激素指标

放射免疫分析法检测雌二醇(E₂)、孕酮(P)、睾酮(T)、卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH),试剂盒均购自天津九鼎医学生物有限公司,均按试剂盒说明由专人操作。

2.2.2 血清氧化应激指标

羟胺法测定超氧化物歧化酶(SOD)、TBA 法测定脂质过氧化物(MDA)、比色法测定谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)及总抗氧化能力(T-AOC),试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,均按试剂盒说明由专人操作。

2.3 统计学方法

采用 SPSS16.0 统计软件进行统计处理,所有结果均以($\bar{x} \pm s$)表示,对用药前后测定结果进行正态性及方差齐性检验,组间比较用单因素方差分析,检验以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 生殖内分泌激素水平比较

治疗前,痛经组患者血清 E₂ 下降,与正常组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$);治疗后,痛经组患者血清 E₂ 升高,与治疗前比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$),与正常组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);其余指标,与正常组比较,以及与治疗前后比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

3.2 氧化应激指标比较

痛经组治疗前,血清 SOD 活性、GSH-PX 和 T-AOC 均显著降低,MDA 升高,与正常组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);治疗后,SOD 活性、GSH-PX 和 T-AOC 均有不同程度升高,MDA 降低,与治疗前比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);SOD 活性及 MDA,与正常组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);GSH-PX 和 T-AOC,与正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 生殖内分泌激素水平比较($\bar{x} \pm s, n=60$)

组别		FSH /(mIU/mL)	LH /(mIU/mL)	E ₂ /(pg/mL)	P /(ng/mL)	T/ (ng/dL)
痛经组	治疗前	6.22±2.17	5.64±1.34	54.71±15.12*	1.54±0.62	46.41±13.98
	治疗后	6.64±1.87	6.25±1.51	73.14±13.44 [#]	1.47±0.66	45.13±14.38
正常组		7.12±1.74	6.28±1.23	75.23±14.01	1.31±0.55	48.25±12.59

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$;与正常组比较,[#] $P < 0.05$

表2 氧化应激指标比较($\bar{x} \pm s, n=60$)

组别		SOD 活性/ (U/mL)	MDA / (nmol/mL)	GSH-PX/ (nmol/mL)	T-AOC/ (U/mL)
痛经组	治疗前	13.9±4.8**	102.4±25.9**	101.3±51.2*	14.3±4.0**
	治疗后	77.4±18.4 ^{###}	36.8±9.3 ^{###}	215.23±60.1 ^{##}	30.1±7.7 ^{##}
正常组		81.6±20.5	28.9±4.2	314.4±79.5	49.1±10.5

注:与治疗前比较,* $P<0.05$ 、^{##} $P<0.01$;与正常组比较,* $P<0.05$ 、** $P<0.01$

4 讨论

氧化应激是指机体在各种有害刺激下由于活性氧(ROS)过度产生和抗氧化防御机制减弱,导致氧化系统和抗氧化防御系统失衡,引起机体损伤。已有报道,如子宫内膜异位症、多囊卵巢综合症、不孕症、先兆子痫、习惯性流产等诸多妇科疾病与氧化应激有关^[3];动物实验中,寒证模型大鼠也存在子宫、卵巢的氧化损伤,影响靶器官功能,导致生殖功能紊乱^[5-6]。从中医角度,虚寒证原发性痛经患者,主要病因为感受寒邪,研究显示,机体在遭受寒冷刺激时,体内高活性分子产生过多,氧化程度超出氧化物的清除,导致组织损伤^[7-9],故虚寒证原发性痛经患者是否存在氧化应激损伤?金匱温经汤作为治疗虚寒证妇科疾病的经方,是否对机体氧化应激产生影响?

SOD对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,此酶能清除超氧阴离子自由基,保护细胞免受损伤。氧自由基不但通过生物膜中多不饱和脂肪酸的过氧化引起细胞损伤,而且还能通过脂质过氧化物的分解产物引起细胞损伤,其中最主要的是MDA^[10-11]。因而检测MDA的量常常可反映机体内脂质过氧化的程度,间接地反映出细胞损伤的程度。SOD活力的高低间接反应了机体清除氧自由基的能力,而MDA的高低又间接反应了机体细胞受自由基攻击的严重程度^[12],目前该两物质的水平是临床上反映人体内氧化应激程度最经典的指标。T-AOC的作用主要是维持内环境活性氧的动态平衡,提高机体抗自由基能力、减少脂质过氧化,能够反映机体酶及非酶促体系总抗氧化能力水平^[13]。GSH-PX是机体内源性清除系统的抗氧化剂,它特异的催化还原型谷胱甘肽对过氧化氢的还原反应,可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。故本实验选用SOD、MDA、GSH-PX和T-AOC反映虚寒证原发性痛经患者机体的氧化与抗氧化的情况。

金匱温经汤原文见于《金匱要略》,妇人年五十所,病下利数十日不止,暮即发热,少腹里急,腹满,

手掌烦热,唇口干燥,当以温经汤主之。方中吴茱萸、桂枝共为君,旨在温经散寒,通利血脉;当归、川芎活血祛瘀以生新,共为臣,阿胶、麦冬、芍药滋阴益营,养血止血,补肝肾而固冲任;丹皮辛寒清阴分虚热,助桂、芍祛瘀通经;人参、甘草补中益气,生姜、半夏温胃降逆,祛瘀通经助生化;以上共为佐药。甘草调和诸药,为使药。整方基于“血得寒则凝,得热则行”、“虚者补之”的中医理论,温、清、消、补并用,以温经化瘀为主,温中寓养、温中寓通,以奏温通、温养之功。依据中医“辨证论治”及“异病同治”理论,临证以月经不调,小腹冷痛,经来有血块,时发烦热,舌质暗红,脉细涩为辨证要点,凡属“冲任虚寒,瘀血阻滞”者皆可加减应用。药理研究显示,方中多味药物(单味药提取物)具有抗氧化应激的作用,如桂枝能够抑制链脲霉素诱导的糖尿病大鼠SOD活性的减弱,抑制MDA水平的上调^[14]。川芎的醇和水提取物对大鼠肝组织和血清内的MDA也具有较好抑制作用,同时上调SOD蛋白表达水平^[15],但对于整方的氧化应激作用国内未曾有报道。

本实验结果显示,虚寒证原发性痛经患者血清SOD活力、GSH-PX和T-AOC均显著下降、MDA水平明显增高,提示,虚寒证原发性痛经患者存在氧化应激损伤,虚寒证引发的损伤是相对缓慢而延续的,以致机体会长期处于氧化应激状态,由此引发的自由基累积和氧化型损伤破坏了机体内环境的平衡而致病。并且,血清 E_2 明显下降,一是表明卵巢功能受影响,二是机体芳香化酶活性的下降, E_2 的产生减少;同时, E_2 亦有抗氧化作用^[16],其下降进一步影响组织的总抗氧化能力,加重机体氧化与抗氧化失衡。

经金匱温经汤治疗后,虚寒证原发性痛经患者血清SOD活力、GSH-PX和T-AOC均不同程度升高,MDA水平下降,SOD活性及MDA恢复至正常水平,且血清 E_2 升高亦恢复至正常水平。表明金匱温经汤能够通过激活机体抗氧化能力来清除 H_2O_2 等过氧化物,减少氧化损伤和脂质过氧化物的沉

积,缓解机体氧化损伤状态,有效治疗虚寒证原发性痛经。本实验主要从氧化损伤方面,揭示了虚寒证原发性痛经发生的生物学机制,完善了金匱温经汤治疗虚寒证妇科疾病的机制。

参考文献:

- [1] 陈冬梅,杜惠兰,苏健,等. 虚寒证病因学的流行病学调查[J]. 第四军医大学学报,2007,28(17):1618-1620.
- [2] 徐丁洁. 妇科实寒证与虚寒证代谢组学及证候形成过程中相关网络调控的比较研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2012.
- [3] Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, et al. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2012, 10: 49.
- [4] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 中药治疗痛经的临床研究指导原则[J]. 中国医药学报, 1989, 4(2): 70-73.
- [5] 徐丁洁,杜惠兰,成秀梅,等. 加减温经汤对寒凝血瘀模型大鼠卵巢氧化损伤的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(1): 58-60.
- [6] 徐丁洁,杜惠兰,成秀梅. 妇科虚寒证大鼠模型的创建[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(11): 1518-1522.
- [7] Venditti P, Di Stefano L, Di Meo S. Vitamin E reduces cold-induced oxidative stress in rat skeletal muscle decreasing mitochondrial H₂O₂ release and tissue susceptibility to oxidants[J]. Redox Rep, 2009, 14(4): 167-175.
- [8] Manjula KR, Subramanyam MV, Asha Devi S. Protection against oxidative stress caused by intermittent cold exposure by combined supplementation with vitamin E and C in the aging rat hypothalamus [J]. Neurochem Res, 2013, 38(4): 876-885.
- [9] Niu X, Arthur PG, Jeffrey GP. Iron and oxidative stress in cold-initiated necrotic death of rat hepatocyte[J]. Transplant Proc, 2010, 42(5): 1563-1568.
- [10] Cakir-Atabek H, Demir S, Pinarbasili RD. Effects of different resistance training intensity on indices of oxidative stress[J]. J Strength Cond Res, 2010, 24(9): 2491-2497.
- [11] 陈瑗,周玫. 自由基医学基础与病理生理[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002: 36-58.
- [12] Jansson AM, Bosman CB, Duijn W, et al. Superoxide dismutases in gastric and esophageal cancer and the prognostic impact in gastric cancer [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(8): 3183-3192.
- [13] Blaszezak R, Kujawski K, Kedziora-Kornatowska K, et al. The total non-oxidant capacity and low-molecular antioxidant concentration in plasma of type-2 diabetes patients with different stage of metabolic compensation and concomitant diabetic nephropathy [J]. Pol Merkur Lekarski, 2005, 18(103): 29-32.
- [14] He K, Li X, Chen X, et al. Evaluation of antidiabetic potential of selected traditional Chinese medicines in STZ-induced diabetic mice [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 137(3): 1135-1142.
- [15] 李玉亮,彭洁,梁欣,等. 川芎提取物的多模型体系抗氧化活性测定[J]. 癌变畸变突变, 2011, 23(2): 87-92.
- [16] Yagi K, Kumura S. Inhibitory effect of female hormones on lipid peroxidation [J]. Biochem Int, 1986, 13(6): 1051-1055.

(编辑:徐建平)

Change of Oxidative Stress in Asthenia-cold Syndrome of Primary Dysmenorrhea in Serum and the Interventional Mechanis of Jingui Wenjing Decoction

XU Dingjie¹, ZHANG Biwei¹, XU Hong², DONG Yushang¹, DU Chenguang¹, CHENG Xiumei³, DU Huilan³

(1. College of Traditional Chinese Medicine, North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, China;

2. Research Center of Medical Experiment, North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, China;

3. College of Integrated Traditional and Western Medicine, Hebei University of Chinese Medical, Shijiazhuang 050091, China)

ABSTRACT: **Objective** To discuss the change of oxidative stress in Asthenia-cold syndrome of primary dysmenorrhea in serum, and complete the interventional mechanis of Jin Gui Wenjing decoction to curing the disease. **Methods** Collected 60 cases with Asthenia-cold Syndrome of Primary Dysmenorrhea, curing with Jingui Wenjing decoction. Collected 60 cases of normal women as control group. Compared the changes of serum reproductive hormones (FSH, LH, E₂, P, T) and oxidative stress index (SOD, MDA, GSH-Px, T-AOC) between before and after treatment. **Results** Dysmenorrhea patients before treatment, the serum E₂, SOD, GSH-Px and T-AOC were significantly lower, and MDA increased, compared with normal group, the difference statistically significant ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). After treatment, serum E₂, SOD, GSH-Px and T-AOC also increased to different extent, MDA decreased, compared with before treatment, statistically significant difference ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); And E₂, SOD activity and MDA after treatment compared with normal group, there was no statistically significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** Asthenia-cold Syndrome of Primary Dysmenorrhea have oxidative stress injury; Jingui Wenjing decoction can effectively treat the asthenia-cold syndrome of primary dysmenorrhea by activating the body's antioxidant ability to alleviate the body state of oxidative damage.

KEY WORDS: asthenia-cold syndrome; primary dysmenorrhea; Jingui Wenjing decoction; oxidative damage