

疏肝养肝法电针调控慢性应激大鼠子宫内膜容受性的实验研究

罗 艳, 沈万莉, 田竞男, 杨艺敏

贵州中医药大学第二临床医学院, 贵州 贵阳

收稿日期: 2025年4月10日; 录用日期: 2025年5月16日; 发布日期: 2025年5月29日

摘 要

目的: 以电针为干预手段, 通过观察慢应激大鼠模型合笼后妊娠率和胚胎着床数, 以验证疏肝养肝法电针对于改善慢应激大鼠子宫内膜容受性的有效性。方法: 采用慢性轻度不可预见性应激模型造模。首先, 按照体重分层随机法将正常动情周期SD大鼠分为正常、模型、阳性对照、低频电针及高频电针5组, 除正常组不给予任何刺激外, 余4组大鼠按造模方法复制肝郁模型。其中模型组不给予任何治疗, 阳性对照组给予阿司匹林0.01 mL/g灌胃; 低频电针治疗组: 刺激参数: 连续波, 2 Hz, 1 mA, 以局部肌肉颤动为度, 留针20 min。高频电针治疗组: 刺激参数: 连续波, 50 Hz, 1 mA, 以局部肌肉颤动为度, 留针20 min。持续刺激三周后, 进行行为测试并将动情期大鼠按照雌雄比2:1合笼, 见阴道栓示为妊娠第1日。于妊娠第10日处死并观察各组大鼠妊娠率和着床点数。结果: 除模型组有1只大鼠未妊娠外, 其余四组均全部妊娠, 模型组妊娠率与其它四组妊娠率的比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 与模型组比较, 阳性对照组和低频、高频电针组的平均着床数明显上升($P < 0.05$); 与正常组比较, 模型组的平均着床数明显下降($P < 0.05$); 高频电针组与低频电针组相比较, 平均着床数明显上升($P < 0.05$)。结论: 疏肝养肝法电针治疗慢性应激不孕大鼠有较好的疗效, 且高频效果佳于低频电针刺激, 证明其能够通过改善大鼠的慢性应激状态调控子宫内膜容受性, 增加大鼠的平均着床点数。

关键词

疏肝养肝法, 电针, 慢性应激, 子宫内膜容受性, 实验研究

Experimental Study on the Modulation of Endometrial Receptivity in Chronically Stressed Rats by Liver Electroacupuncture with Liver Sparing and Nourishing Methods

Yan Luo, Wanli Shen, Jingnan Tian, Yiming Yang

文章引用: 罗艳, 沈万莉, 田竞男, 杨艺敏. 疏肝养肝法电针调控慢性应激大鼠子宫内膜容受性的实验研究[J]. 中医学, 2025, 14(5): 2237-2242. DOI: 10.12677/tcm.2025.145333

Abstract

OBJECTIVE: To verify the effectiveness of liver-sparing and method-supporting electroacupuncture in improving endometrial receptivity in slow-stressed rats by observing the pregnancy rate and the number of embryos implanted after caging in a slow-stressed rat model using electroacupuncture as an intervention. **METHODS:** A chronic mild unpredictable stress model was used for modeling. First, SD rats with normal estrous cycle were divided into 5 groups according to the weight stratified randomization method: normal, model, positive control, low-frequency electroacupuncture and high-frequency electroacupuncture. Except for the normal group, which was not given any stimulation, the remaining 4 groups of rats were replicated in the liver-depression model according to the modeling method. The model group was not given any treatment, and the positive control group was given aspirin 0.01 mL/g by gavage; the low-frequency electroacupuncture treatment group: stimulation parameters: continuous wave, 2 Hz, 1 mA, to the extent of local muscle tremor, leave the needle in place for 20 min; the high-frequency electroacupuncture treatment group: stimulation parameters: continuous wave, 50 Hz, 1 mA, to the extent of local muscle tremor, leave the needle in place for 20 min. three weeks of continuous stimulation, the rats were then subjected to behavioral tests. After three weeks of continuous stimulation, behavioral tests were performed and rats in estrus were combined in cages according to a 2:1 ratio of males to females, and vaginal plugs were seen on day 1 of gestation. The rats were killed on the 10th day of gestation, and the pregnancy rate and the number of implantation points were observed in each group. **RESULTS:** Except for one rat in the model group which was not pregnant, all the other four groups were pregnant, and the difference between the pregnancy rate of the model group and that of the other four groups was not statistically significant ($P > 0.05$); compared with the model group, the average number of beds made in the positive control group and the low-frequency and high-frequency electro-acupuncture groups increased significantly ($P < 0.05$); compared with the normal group, the average number of beds made in the model group decreased significantly ($P < 0.05$); Comparing the high-frequency electroacupuncture group with the low-frequency electroacupuncture group, the average number of beds significantly increased ($P < 0.05$). **CONCLUSION:** Electroacupuncture with the method of liver sparing and liver nourishing has better efficacy in the treatment of chronic stress infertile rats, and the effect of high-frequency electroacupuncture is better than that of low-frequency electroacupuncture stimulation, which proves that it can regulate the endometrial receptivity and increase the average number of beds by improving the state of chronic stress in rats.

Keywords

Liver-Sparing and Liver-Supporting Method, Electroacupuncture, Chronic Stress, Endometrial Receptivity, Experimental Study

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着三胎政策的开发, 然而, 大量夫妇孕育第一个孩子仍未能如愿。随着社会的发展, 生活节奏加快, 女性往往长期处于社会压力、工作与家庭之间的压力、不良情绪刺激等慢性应激的状态之下。有研

究报道[1], 不孕的致病因素中慢性应激占 5%, 在接受辅助生殖技术的不孕女性中有超过一半的人有不同程度的心理障碍。目前对于慢性应激引起的子宫内膜容受性低下尚无明确的治疗方法, 临床常用心理干预、阿司匹林等治标之法[2]。近年来, 在女性生殖障碍方面以针灸为代表的中医干预显示出较好的临床疗效, 又能减少药物代谢对身体带来的副作用, 但是其疗效机理的研究却很难找到合适的切入点。因此, 本研究拟以电针干预为治疗手段, 观察慢应激大鼠模型合笼后妊娠率、胚胎着床数, 以验证疏肝养法肝电针可以通过改善大鼠慢应激状态调控子宫内膜容受性。

2. 实验方法

2.1. 实验动物

选取 8 周龄雌性 SPF 级未孕 SD 大鼠(质量 210 ± 10 g) 50 只, 8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 25 只(质量 280 ± 20 g)。所有大鼠购入后适应性喂养 1 周后, 连续对雌鼠进行阴道脱落细胞涂片观察 2 周, 最终选择有 2 个规则动情周期的大鼠进行实验, 本实验经贵州中医药大学伦理委员会批准(伦理批件编号: 20210018)。

2.2. 药物制备

阿司匹林的给药剂量按有关成人日用量与大鼠体重体表面积比折算为等效剂量后给药。将阿司匹林溶液(100 mg 阿司匹林溶于 76.9 mL 蒸馏水), 常温储存, 用前摇匀。

2.3. 动物模型制备

采用慢性轻度不可预见性应激模型造模。接受刺激的大鼠按组别分别置于不同的房间, 连续 21 天进行不同的应激源刺激处理, 包括束缚桶束缚(2 h/次, 2 次/d)、夹尾(3 min, 3 次/日)、冰水游泳(4°C , 5 min, 3 次/日)、程控穿梭箱声电刺激(40 dB, 持续 10 s, 间隔 30 s, 重复 20 次)、足底电流刺激(电压 50 mV, 每隔 50 s 刺激 1 次, 每次持续 10 s, 共 30 次)。每日随机选择 1 种刺激。造模第 21 日对各组大鼠进行行为学检验, 发现大鼠出现摄食量减少、表情淡漠、精神颓废、倦怠懒动、毛色无光泽等表现, 提示造模成功。

2.4. 电针干预

采用体重分层随机法将有正常动情周期的大鼠分为正常、模型、阳性对照、低频电针及高频电针 5 组, 除正常对照组不给予任何刺激外, 余 4 组大鼠按造模方法复制肝郁模型。其中模型组不给予任何治疗, 阳性对照组给予阿司匹林 0.01 mL/g 灌胃; 低频与高频电针组予以电针治疗, 选取三阴交、太冲穴, 穿自制大鼠固定衣后选用 0.30×13 mm 规格不锈钢毫针, 针刺深度为 3~5 mm, 针刺后接韩式电针治疗仪。低频电针组: 刺激参数: 连续波, 2 Hz, 1 mA, 以局部肌肉颤动为度, 留针 20 min。高频电针组: 刺激参数: 连续波, 50 Hz, 1 mA, 以局部肌肉颤动为度, 留针 20 min。将造模成功的大鼠按照雌雄比 2:1 合笼 2 周, 以见到阴道栓为妊娠第 1 日, 妊娠大鼠分笼饲养。

2.5. 标本采集及检测

于孕第 10 日给予妊娠大鼠 2%戊巴比妥钠(2.5 mL·kg⁻¹)腹腔注射麻醉后, 迅速解剖腹腔, 暴露子宫, 观察并记录双侧子宫胚胎着床数及子宫组织形态。

2.6. 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行处理, 本研究计量资料均符合正态性分布与方差齐性, 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 两组之间采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 实验结果与结论

3.1. 各组大鼠一般情况

通过观察发现，模型组出现神疲倦怠、眼目无神、扎堆懒动、修饰行为减少(抬举、抓痒、添足等)，摄食量减少等表现。正常对照组、阳性对照组、电针组大鼠则精力充沛，双眼有神，饮食正常等。说明阳性对照组及电针组大鼠经治疗后其应激状态得到改善。直至实验结束，无因应激刺激、用药或者电针而导致死亡的大鼠。

3.2. 各组小鼠子宫形态比较

正常组、阳性对照组和低频电针、高频电针组四组大鼠双侧子宫呈淡红色，胚胎着床部位清晰可见，数目多，呈“串珠状”。模型组小鼠双侧子宫色暗，胚胎着床部位子宫膨大不明显，数目少，无明显“串珠状”。结果见图 1。

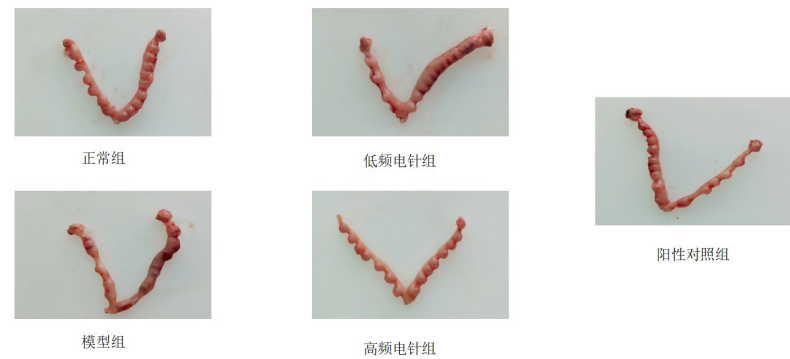


Figure 1. Comparison of uterine morphology among groups of mice
图 1. 各组小鼠子宫形态比较

3.3. 各组大鼠妊娠率和胚胎着床数

实验结果如表 1 所示，各组大鼠合笼后发现，正常组、阳性对照组、电针组均全部妊娠，模型组仍有 1 只大鼠未妊娠。与正常组、阳性对照组、低频电针、高频电针组比较，模型组妊娠率降低，但差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型对照组相比，阳性对照组、低频电针和高频电针组胚胎着床数明显上升($P < 0.05$)。与正常组相比，模型组大鼠胚胎着床数明显下降($P < 0.05$)。与低频电针组相比，高频电针组大鼠胚胎着床数数上升($P < 0.05$)。正常组和高频电针组胚胎着床数相比，差异无统计学意义($P > 0.05$)。

Table 1. Comparison of pregnancy rate and number of embryos implanted in each group of rats
表 1. 各组大鼠妊娠率及胚胎着床数比较

组别	例数(n)	妊娠率	胚胎着床数(n)
正常组	10	100%	13.1 ± 1.2
模型组	10	90.0%	9.5 ± 2.1^1
阳性对照组	10	100%	11.8 ± 2.1^2
低频电针组	10	100%	11.6 ± 1.2^2
高频电针组	10	100%	12.8 ± 2.1^{234}

注：¹与正常对照组相比，差异有统计学意义($P < 0.05$)；²与模型组相比，差异有统计学意义($P < 0.05$)；³与低频组相比，差异有统计学意义($P < 0.05$)；⁴与正常组相比，差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3.4. 结论

疏肝养肝法电针能够通过改善大鼠的慢性应激状态调控大鼠子宫内膜容受性, 进而增加大鼠的胚胎着床数, 且高频电针刺激效果优于低频电针组。

4. 讨论

4.1. 慢性应激对生殖的影响

慢性应激状态是指个体长期处于心理或生理的应激反应中, 持续面对压力源而无法有效缓解的一种状态, 机体可通过神经内分泌系统, 激活下丘脑-垂体-肾上腺轴, 该轴的过度激活对下丘脑-垂体-卵巢(Hypothalamic-pituitary-ovarian, HPO)轴起下调作用, 扰乱 HPO 轴的正、负反馈机制, 导致下丘脑-垂体、卵巢激素分泌失调, 影响卵巢功能及子宫内膜增长, 降低子宫内膜容受性, 导致女性月经紊乱、黄体功能不全等从而出现难以怀孕[3]。不孕患者可因此病出现精神情志的变化, 从另一方面来看, 精神情志的变化又可影响妊娠, 不孕夫妇若无法控制自身情绪或改善心理应激, 将导致不孕的恶性循环[4]。有研究表面, 对不孕患者进行心理干预可以有效的改善患者心理健康和提高怀孕率[5]。

虽然中医学里没有关于“慢性应激”的相关描述, 但是在中医的致病因素里提及有七情内伤, 所以中医学早已认识到了精神情志与疾病有着密切关系。《黄帝内经》说: “百病皆生于气”。任何方式的应激因素都会导致情绪的改变, 影响气的升降出入, 由此诱发机体气血津液、脏腑功能失常, 损伤正气。情志活动与肝主疏泄的功能紧密相关, 肝主疏泄, 调畅气机, 气机调达顺畅则心情舒畅。因此, 精神情志因素与肝的疏泄功能互相影响, 相辅相成, 故当出现精神情志所致之疾病可以采取从肝论治。

子宫内膜容受性是指特定时间段内子宫内膜接受胚胎着床的能力, 其含义与中医学中“的候”、“氤氲之时”相匹配[6]。“的候”、“氤氲之时”, 此时阴阳二气相接, 互相转化, 宜种子妊娠。中医学将子宫内膜容受性降低归于“不孕”等范畴。《临证指南医案》说: “女子以肝为先天。”《傅青主女科·种子·身瘦不孕》中傅氏认为, 女子身瘦不孕是血虚之故。肝藏血, 肾藏精, 精血互化, 肝肾同源, 精血是一切生物生长发育的基础, 如若精血不足, 冲任血海不足, 胞宫失养, 则不能成功孕育胎元。

4.2. 选穴原理

近年来针刺在辅助生殖领域的应用越来越普遍, 且疗效显著。有学者对近 20 年针刺辅助体外受精-胚胎移植(IVF-ET)治疗不孕症的临床研究进行全面系统分析, 研究表明针刺可以调节 HPO 轴功能, 提高子宫内膜容受性, 调节相关蛋白、细胞因子和相关基因表达, 改善患者焦虑抑郁状态, 提高 IVF-ET 女性的妊娠率[7]。中医治疗不孕多从补肾、疏肝、健脾、活血四个方面入手[8]-[10], 因此本研究旨从肝论治, 选取足厥阴肝经的太冲与足太阴脾经的三阴交为代表, 通过补肝疏肝的针刺方法改善子宫内膜容受性, 提高妊娠率。

三阴交穴, 位于足太阴脾经上, 也是足厥阴肝经、足太阴脾经、足少阴肾经的交汇处。肾为先天之本, 肾藏精, 肝藏血, 脾统血, 肝脾肾三脏与女性疾病的发生关系密切[11]。同时, 这三条阴经的经筋循行于阴部, 其位置与冲、任、督、带脉均关系密切, 故三阴交可调整冲任督带经脉气血失常所致的一切妇科病变, 所以三阴交为妇女经、带、胎、产疾病的首选腧穴[12]。三阴交为足三阴经交汇处, 是气血交汇处, 故选取该穴针刺以达补肝之作用。

太冲穴最早记载于《黄帝内经》。《子午流注·说难》: “太冲乃足厥阴肝所注之俞穴, 肝藏血, 女子太冲脉盛, 则月事以下, 太冲又为九针十二原之原穴, 五脏禀受六腑水谷气味精华之冲惧, 故曰太冲。”太, 大也, 穴当冲脉之支别处, 肝与冲脉相应, 脉气合而盛大, 故名太冲[13]。太冲是足厥阴肝经的原穴,

肝主疏泄，且肝经循行“环阴器、抵小腹”，同时与任脉相交，因此可调胞宫气血精津，能疏肝行气解郁[14]。因此选取该穴针刺以达疏肝之作用。

5. 结语

通过实验，我们验证了疏肝养肝法肝电针能够改善大鼠的应激状态调控子宫内膜容受性，增加大鼠的胚胎着床点数，且高频电针刺激效果优于低频电针组。因此在临床上指导寻求辅助生殖技术的不孕女性运用疏肝养肝法肝电针治疗具有一定的参考价值。

致 谢

感谢游方副教授对本课题的支持与帮助。

基金项目

省级大学生创新创业训练计划项目“疏肝养肝法肝电针调控慢性应激大鼠子宫内膜容受性的实验研究”(No.S202310662127)。

参考文献

- [1] 罗丽兰. 不孕与不育[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009.
- [2] 申萌萌, 刘雁峰, 李冰冰, 等. 子宫内膜容受性的影响因素及治疗进展[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(11): 5337-5342.
- [3] 耿会转. 解郁育胞方对慢性应激大鼠子宫内膜容受性影响的实验研究[D]: [博士学位论文]. 武汉: 湖北中医药大学, 2015.
- [4] 胡林燕, 陈单单, 李婧, 等. 疏肝法治疗心理应激相关不孕症的研究进展[J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2022, 9(1): 42-45.
- [5] Dube, L., Bright, K., Hayden, K.A. and Gordon, J.L. (2022) Efficacy of Psychological Interventions for Mental Health and Pregnancy Rates among Individuals with Infertility: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Human Reproduction Update*, 29, 71-94. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmac034>
- [6] 秦一鸣, 张建伟. 氦氖之源流发展考[J]. 医学与哲学, 2020, 41(16): 70-72.
- [7] 徐梦浩, 朱文馨, 郑翠红. 针刺辅助体外受精-胚胎移植治疗不孕症临床研究概述[J]. 中医学报, 2024, 39(8): 1787-1796.
- [8] 孙爱军, 唐旭东, 张巧利, 等. 卵巢储备功能降低不孕症中西医结合治疗的理论与临床试验研究探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(8): 148-157.
- [9] 白妍. 血府逐瘀片运用于早卵泡期长方案血瘀型不孕症患者 IVF-ET 助孕治疗的临床观察[D]: [硕士学位论文]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2022.
- [10] 孙小鸥, 李记泉, 马铁明. 女性不孕症病因及针灸治疗研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2023, 50(3): 207-211.
- [11] 梁少荣, 黄晓桃, 何丹娟. 针药联合治疗肾虚肝郁证早发性卵巢功能不全的临床观察[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(11): 2682-2684.
- [12] 银子涵, 周园芳, 诸毅晖, 等. 三阴交穴敏化现象的文献计量学研究[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(9): 2291-2295.
- [13] 孙小鸥. 基于数据挖掘探讨针灸治疗排卵障碍性不孕症选穴规律[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2023.
- [14] 刘嘉嘉, 何慧英, 陈翠, 等. 《针灸大成》中太冲穴的临床应用探析[J]. 中国当代医药, 2024, 31(11): 92-96.