

红花如意丸对寒凝血瘀型子宫内膜异位症 痛经患者疼痛的疗效及机制

杜煜晗^{1,2,3}, 孙莹^{2,3}, 杜惠兰^{2,3}

(1.河北中医药大学研究生学院,河北石家庄 050200; 2.河北省中西医结合生殖疾病协同创新中心,河北石家庄 050200;
3.河北省中西医结合肝肾病证研究重点实验室,河北石家庄 050200)

摘要: **目的** 探讨红花如意丸治疗寒凝血瘀型子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)痛经的止痛效果及其机制。**方法** 采用随机、双盲、安慰剂对照研究方法,纳入河北中医药大学第一附属医院及河北中医药大学门诊部门诊部EMs患者60例,分为治疗组30例和对照组30例。治疗组口服红花如意丸,对照组口服红花如意丸模拟剂。治疗3个月,于治疗前、治疗1、3个月及随访3个月后评估数字疼痛分级法(numeric rating scale, NRS)评分,并于治疗前及治疗3个月空腹采集静脉血5 mL,离心取上清液,采用酶联免疫吸附试验检测血清中血清前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)、血清前列腺素F2 α (prostaglandin F2 α , PGF2 α)、血管舒张剂刺激磷蛋白(vasodilator-stimulated phosphoprotein, VASP)、脂肪酸结合蛋白5(fatty acid-binding protein 5, FABP5)、纽蛋白(vinculin, VCL)及黑色素瘤细胞黏附分子(melanoma cell adhesion molecule, MCAM)的含量。**结果** 治疗1、3个月及随访3个月,治疗组患者NRS评分较治疗前降低($P<0.01$),且低于对照组($P<0.01$);治疗后治疗组PGF2 α 、MCAM水平较治疗前降低,且低于对照组($P<0.05$);治疗组PGE2、VCL、FABP5、VASP含量较治疗前升高,且高于对照组($P<0.05$)。NRS评分与PGF2 α 、MCAM呈正相关($P<0.001$),与PGE2、VASP、FABP5、VCL呈负相关($P<0.001$)。**结论** 红花如意丸可降低寒凝血瘀型EMs痛经患者的NRS评分,升高血清中PGE2、VCL、FABP5、VASP含量,降低PGF2 α 、MCAM水平,提示红花如意丸可能通过改善细胞黏附、血管内皮细胞的形态和功能、改善血流、控制炎症反应、改善能量代谢等机制改善盆腔血供和营养,发挥治疗寒凝血瘀型EMs痛经的作用。

关键词: 子宫内膜异位症;前列腺素;黑色素瘤细胞粘附分子;血管舒张剂刺激磷蛋白;脂肪酸结合蛋白5;纽蛋白

中图分类号:R711;R271.9

文献标志码:A

Effects and the mechanism of Honghua Ruyi Wan on dysmenorrhea in patients with cold congealing and blood stasis type endometriosis

DU Yuhan^{1,2,3}, SUN Ying^{2,3}, DU Huilan^{2,3}

(1. Graduate School, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, Hebei, China;

2. Cooperative Innovation Center of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Reproductive Diseases in Hebei Province, Shijiazhuang 050200, Hebei, China;

3. Hebei Key Laboratory of Integrative Medicine on Liver-Kidney Patterns, Shijiazhuang 050200, Hebei, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism and analgesic effect of Honghua Ruyi Wan in treatments of dysmenorrhea in patients with cold congealing and blood stasis type endometriosis (EMs). **Methods** Sixty endometriosis patients from the First Affiliated Hospital and the Outpatient Department of Hebei University of Traditional Chinese Medicine participated in a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. They were divided into two groups: a treatment group (30 cases) and a control group (30 cases). Honghua Ruyi Wan was orally administered to the treatment group, while Honghua Ruyi Wan simulator was administered to the control group. The numeric rating scale (NRS) score was assessed before treatment, and after one month and three months of treatment, as well as after three

months of follow-up. Before and after three months of treatment, 5 mL of venous blood was collected on a fasting stomach, and the supernatant was extracted using centrifugation. Serum prostaglandin PGE₂, PGF₂α, vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP), fatty acid-binding protein 5 (FABP5), vinculin (VCL), and melanoma cell adhesion molecule (MCAM) were determined by enzyme-linked immunosorbent test. **Results** Following one and three months of treatment and a three-month follow-up, the NRS scores of the patients in the treatment group were lower than those before treatment ($P<0.01$) and lower than those in the control group ($P<0.01$). After treatment, the PGF₂α and MCAM levels in the treatment group were lower than those before treatment ($P<0.05$) and lower than those in the control group ($P<0.05$); the contents of PGE₂, VCL, FABP5, and VASP were higher than those before treatment and those of the control group ($P<0.05$). The NRS score had a positive correlation with PGF₂α and MCAM ($P<0.001$), but a negative correlation with PGE₂, VASP, FABP5, and VCL ($P<0.001$). **Conclusion** In patients with cold coagulation and blood stasis EMs dysmenorrhea, the Honghua Ruyi Wan can reduce the NRS score, increase the serum levels of PGE₂, VCL, FABP5 and VASP, and reduce the serum levels of PGF₂α and MCAM, suggesting that Honghua Ruyi Wan may improve pelvic blood supply and nutrition through improving cell adhesion, morphology and function of vascular endothelial cells, improving blood flow, controlling inflammatory response, improving energy metabolism, and other mechanisms to treat dysmenorrhea in cold coagulating and blood stasis type EMs.

Key words: Endometriosis; Prostaglandin; Melanoma cell adhesion molecule; Vasodilator-stimulated phosphoprotein; Fatty acid-binding protein 5; Vinculin

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)是临床常见病,临床常见的证候有寒凝血瘀证、气虚血瘀证、湿热瘀结证等^[1]。EMs是子宫腔以外的异位内膜伴随卵巢周期性变化增生、分泌、剥脱出血,形成异位灶或卵巢异位囊肿,中医认为是离经之血不能及时消散而形成血瘀,瘀积日久成为癥瘕。因此,血瘀是EMs痛经的核心病机。女子以血为主,寒为阴邪,主收引、凝滞,易与血搏结,形成血瘀。瘀阻冲任胞脉,气血运行不通,则发为痛经。红花如意丸具有散结镇痛、温经散寒的功效,治疗原发性痛经、EMs痛经有较好的临床效果^[2-3]。笔者课题组前期进行的花红如意丸治疗寒凝血瘀型EMs的双盲随机对照临床试验结果证实,红花如意丸治疗寒凝血瘀型EMs痛经可降低VAS评分,可减小子宫体积、子宫内膜异位囊肿体积、触痛性结节直径,可减少盆腔触痛的例数以及非经期盆腔痛的天数以及使用止痛药的剂量^[4],但是红花如意丸治疗EMs痛经的作用机制尚不清楚。

本团队前期对寒凝血瘀型EMs痛经患者以及寒凝血瘀型原发性痛经患者的血浆蛋白组学分析结果表明^[5],黑色素瘤细胞黏附分子(melanoma cell adhesion molecule, MCAM)、血管舒张剂刺激磷蛋白(vasodilator-stimulated phosphoprotein, VASP)、脂肪酸结合蛋白5(fatty acid-binding protein 5, FABP5)、纽蛋白(vinculin, VCL)是二者的交集蛋白,也是二者与正常组相比的差异蛋白。本研究拟在前期研究的基础上,采用数字疼痛分级法(numeric rating scale, NRS)研究红花如意丸对寒凝血瘀型

EMs痛经患者疼痛程度的改善,以及对上述4个EMs痛经的交集蛋白、血清前列腺素F₂α(prostaglandin F₂α, PGF₂α)、血清前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)、PGF₂α/PGE₂水平的影响,以探讨红花如意丸治疗寒凝血瘀型EMs痛经的作用机制。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 研究对象

收集2021年7月至2022年9月河北中医药大学门诊部及河北中医药大学第一附属医院就诊的60例EMs患者资料。本研究方案经河北中医药大学伦理委员会审批通过(No.YXLL2021046)。

1.1.2 诊断标准

诊断标准参照2019年中国中西医结合学会妇产科专业委员会制定的《子宫内膜异位症中西医结合诊治指南》^[6]制定:①症状为进行性加剧的痛经;②妇科检查示阴道后穹窿、子宫峡部或者子宫骶骨韧带等处有触痛性结节;③B超检查示一侧或双侧附件囊肿、超声影像为无回声区内有密集光点;④EMs术后复发者。

1.1.3 中医辨证标准

参照《中医临床诊疗术语 第2部分:证候》^[7]拟定寒凝血瘀证诊断标准:①经前或经期小腹冷痛、拒按,得温痛减;②经行夹血块,痛处固定,块下痛减;③形寒肢冷,面色苍白;④舌淡黯、苔白;⑤脉沉紧。

符合①及②~⑤中至少1项即可诊断。

1.1.4 纳入标准

①符合寒凝血瘀型 EMs 诊断标准同时痛经 NRS 评分 ≥ 4 分;②年龄 18~45 岁;③月经周期规律(28 ± 7) d;④就诊时未怀孕且服药期间没有妊娠计划,能坚持避孕;⑤盆腔结节或附件包块 ≤ 4 cm;⑥CA125 正常或轻度升高(< 100 U/mL);⑦患者同意参加并自愿签署知情同意书,且有条件随诊。

1.1.5 排除标准

①严重的精神疾病、心脑血管疾病、肝肾功能或携带恶性肿瘤者;②子宫肌瘤(≥ 3 cm)、子宫腺肌病导致的子宫大于孕 6 周者;③入组前 3 个月内口服激素类药物者;④哺乳期患者。

1.2 方法

1.2.1 干预方法

采用随机双盲安慰剂平行对照研究方法,药物按规程编号后隐藏随机方案,按照药物编号先后顺序给患者发放研究药物,研究者及患者均不知患者服用的哪种药物。治疗组口服红花如意丸(每粒 0.2 g,组成有红花、西红花、桃儿七等,批号 2012092),对照组口服红花如意丸模拟剂,药物由甘肃奇正藏药有限公司生产,西藏奇正藏药股份有限公司提供。服药剂量:餐后半小时口服,NRS < 7 分者 5 粒/次,2 次/d;NRS ≥ 7 分者,10 粒/次,2 次/d。治疗组及对照组均口服试验药物 3 个月经周期。服药期间如腹痛剧烈可口服布洛芬缓释胶囊(批号:FP3D,规格:每粒 0.4 g,中美天津史克制药有限公司生产,1~2 次/d,1~2 粒/次)止痛。

1.2.2 结局指标

1.2.2.1 临床疗效指标

NRS 评分:测量时点为开始服药至随访结束,每次月经来潮的第 1 天至第 5 天,连续记录 6 个月经周期,取最大值纳入统计。

1.2.2.2 止痛机制研究指标

所有受试者于服药前与服药 3 个月经周期后,月经第二天清晨 9 点空腹采集静脉血 5 mL,于 4 °C,2 000 \times g 离心 10 min,取上层淡黄色血清样品置于组织冻存管中,保存于-80 °C 冰箱中待测。

采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测患者血清中前列腺素 PGE2 和 PGF2 α 、MCAM、VASP、FABP5、VCL 的含量,操作步骤严格按照试剂盒的使用说明操作,该指标检测 2 次,每次检测设置 4 个复孔,舍弃不可信的数据,最终计算 PGE2、PGF2 α 、MCAM、VASP、FABP5、VCL 的表达量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析。计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量资料符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据比较采用独立样本 t 检验或重复测量方差分析。采用 Pearson 相关分析进行相关性分析,脱落患者将最后一次随访数据纳入统计。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 基线及脱落情况

治疗组入组 30 例,脱落 2 例(1 例因为服药 1 个月后症状明显好转,拒绝继续服用而要求退出;1 例因路途遥远而要求退出)。对照组入组 30 例,脱落 2 例(1 例是服药 1 个月后因为盆腔痛加重入院治疗而退出;1 例是因为囊肿增长过快,服药 3 个月后退出)。脱落率均低于预估的 20%。治疗组和对照组年龄、月经周期、生育史、腹腔镜手术史、囊肿例数、结节例数合并腺肌症基线资料符合正态分布,组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组基线资料比较
Table 1 Comparison of base line data of the two groups

项目	治疗组	对照组	t/χ^2	P
身高/cm	162.70 \pm 4.68	164.03 \pm 4.87	-1.081	0.284
体质量/kg	58.80 \pm 7.36	58.46 \pm 5.67	0.197	0.845
年龄/岁	36.00 \pm 6.72	36.23 \pm 5.00	-0.153	0.879
病程/年	3.80 \pm 4.02	5.13 \pm 3.67	-1.991	0.056
初潮年龄/岁	13.20 \pm 1.10	13.07 \pm 0.94	0.505	0.616
月经周期/d	29.13 \pm 2.78	27.16 \pm 2.05	-1.813	0.070
行经时长/d	6.30 \pm 1.34	5.60 \pm 1.33	-1.895	0.058
CA125 评分	34.15 \pm 20.15	36.33 \pm 18.50	-1.072	0.663
囊肿体积/cm ³	22.63 \pm 22.98	23.72 \pm 19.81	-0.157	0.876

续表

项目	治疗组	对照组	t/χ^2	P
囊肿例数/ n (%)	25(83.33)	24(80)	0.111	0.739
NRS 评分	7.357±1.339	7.107±1.257	1.103	0.275
子宫体积/ cm^3	132.13±76.11	127.70±72.77	-0.296	0.767
结节直径/cm	0.89±0.56	0.96±0.53	-0.158	0.878
结节例数/ n (%)	10(33.33)	12(40)	0.287	0.592
盆腔触痛/ n (%)	15(50)	11(57.89)	1.086	0.297
止痛药使用/ n (%)	16(53.33)	20(66.67)	1.111	0.292
性生活史/ n (%)	25(83.33)	28(93.33)	1.456	0.228
流产史/ n (%)	15(50)	15(50)	0.000	>0.999
生育史/ n (%)	21(70)	22(73.33)	0.082	0.774
腹腔镜手术史/ n (%)	7(23.33)	5(16.67)	0.417	0.519
合并子宫肌瘤/ n (%)	5(16.67)	7(23.33)	0.417	0.519
合并腺肌症/ n (%)	9(30)	11(36.67)	0.300	0.584

2.2 红花如意丸对 EMs 痛经患者 NRS 评分的影响

治疗 1、3 个月以及随访 3 个月,治疗组 NRS 评

分显著低于对照组($P<0.01$);治疗组治疗 3 个月后的评分较治疗前显著降低($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组不同时间点 NRS 评分比较

Table 2 Comparison of NRS scores in two groups at different time points

时间	例数	治疗前	治疗 1 个月	治疗 3 个月	随访 3 个月
治疗组	28	7.357±1.339	5.607±1.423 [#]	3.536±1.427 ^{*#}	2.429±1.643 [#]
对照组	28	7.107±1.257	6.214±1.595	5.357±1.193 [*]	5.107±1.499

注:数据符合正态分布,脱落患者在重复测量方差分析中不纳入统计,故 $n=28$ 。 $F_{\text{时间}}=200.719, P<0.001; F_{\text{交互}}=10.943, P=0.002; F_{\text{交互}}=128.398, P<0.001$ 。^{*} $P<0.05$ vs. 治疗前,[#] $P<0.05$ vs. 同期对照组。

2.3 红花如意丸对血清前列腺素及痛经差异蛋白的影响

2.3.1 血清前列腺素含量比较

检测治疗前后血清中 PGF2 α 、PGE2 的含量,并计算 PGF2 α /PGE2 的比值,结果表明,治疗前治疗组与对照组之间 PGE2($t=0.525, P=0.602$)、PGF2 α ($t=1.317, P=0.193$)及 PGF2 α /PGE2($t=0.893,$

$P=0.376$)的差异均无统计学意义。治疗组治疗后较治疗前 PGF2 α 、PGF2 α /PGE2 均明显降低,PGE2 升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);对照组治疗后 PGF2 α 较治疗前降低,差异有统计学意义($P<0.05$)、PGE2 较治疗前有升高的趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$);PGF2 α /PGE2 有降低的趋势,差异亦无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 两组治疗前后 PGF2 α 、PGE2 含量比较Table 3 Comparison of the PGF2 α and PGE2 levels in two groups before and after therapy

指标	治疗组				对照组			
	治疗前	治疗后	t	P	治疗前	治疗后	t	P
PGF2 α	153.03±58.03	76.90±39.06 [#]	6.268	<0.01	132.88±60.48	100.46±42.82	2.023	0.005
PGE2	205.29±43.09	236.07±55.25 [#]	2.479	0.005	238.15±67.92	240.02±57.96	0.143	0.903
PGF2 α /PGE2	0.78±0.35	0.35±0.21 [#]	6.543	<0.01	0.58±0.31	0.44±0.23	1.730	0.094

注:[#]与对照组同期比较, $P<0.05$ 。

2.3.2 内异症痛经差异蛋白结果比较

治疗前治疗组与对照组之间 VCL($t=-1.688, P=0.097$)、VASP($t=0.833, P=0.409$)、FABP5($t=-0.500, P=0.619$)、MCAM($t=1.918, P=0.06$)的差

异均无统计学意义。治疗组治疗后 VASP、FABP5、VCL 均较治疗前升高,差异有统计学意义($P<0.05$);MCAM 较治疗前降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表4 两组治疗前后VCL、FABP5、VASP、MCAM含量比较
Table 4 Pre- and post-treatment comparison of the contents of VCL, FABP5, VASP, and MCAM

指标	治疗组(n=30)				对照组(n=30)			
	治疗前	治疗后	t	P	治疗前	治疗后	t	P
VCL	0.81±0.17	1.00±0.32 [#]	5.474	0.001	0.90±0.24	0.88±0.22	1.452	0.683
FABP5	0.37±0.06	0.45±0.07 [#]	6.775	0.001	0.38±0.06	0.40±0.05	3.689	0.144
VASP	146.95±71.19	187.34±80.29 [#]	3.414	0.034	131.99±51.65	183.51±69.84	5.152	0.001
MCAM	438.22±107.23	314.64±115.08 [#]	6.116	0.041	394.10±159.98	289.02±161.57	6.038	0.080

注:[#]与对照组同期比较,P<0.05。

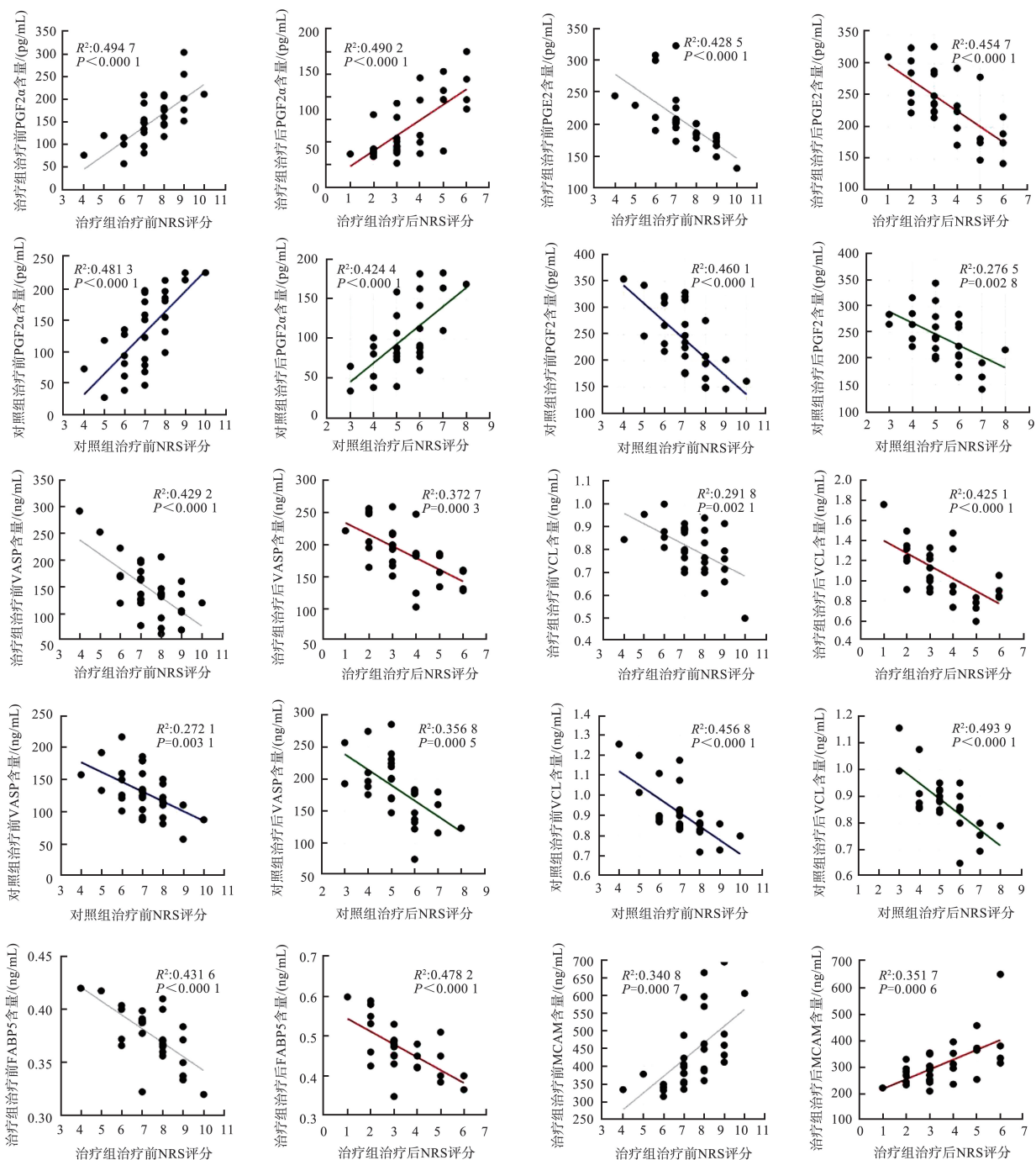
2.4 NRS与PGF2 α 、PGE2、VCL、FABP5、VASP、MCAM的相关性分析

Pearson 相关的结果分析显示,NRS评分与

PGF2 α 、MCAM呈正相关(P<0.001),NRS评分与

PGE2、VASP、VCL、FABP5呈负相关(P<0.001)。

见图1。



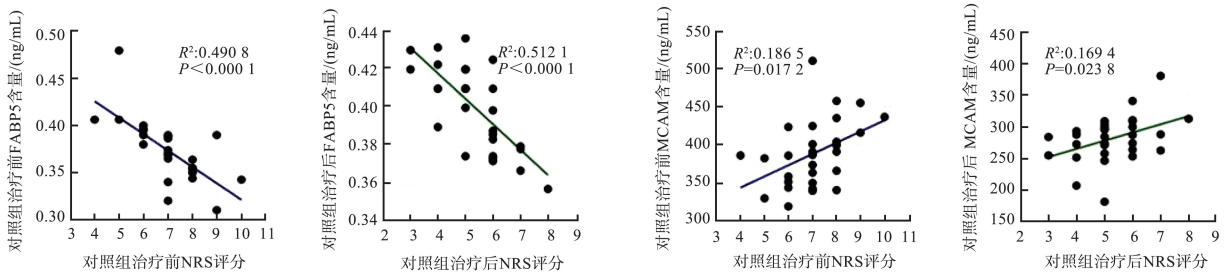


图1 两组治疗前后 NRS 评分与 PGF2 α 、PGE2、VASP、VCL、FABP5、MCAM 的相关性

Figure 1 Correlation of NRS score with PGF2 α , PGE2, VASP, VCL, FABP5 and MCAM before and after therapy

3 讨论

本团队前期研究,将寒凝血瘀型 EMs 痛经患者与寒凝血瘀型原发性痛经患者的血浆进行蛋白组学分析,VCL、FABP5、VASP、MCAM 是二者的交集蛋白,与正常组相比,差异有统计学意义;将四个蛋白扩大样本,进行临床验证显示,与正常组相比,寒凝血瘀型 EMs 痛经患者组 MCAM 表达升高 ($P < 0.05$); VASP、FABP5、VCL 均表达降低 ($P < 0.05$)^[8]。本研究结果表明,NRS 评分与 MCAM 呈正相关 ($P < 0.001$),与 VASP、FABP5、VCL 呈负相关 ($P < 0.001$),与前期结果一致,说明以上 4 个蛋白与寒凝血瘀型痛经关系密切。治疗组治疗后,MCAM 表达降低 ($P < 0.05$),VASP、FABP5、VCL 表达升高 ($P < 0.05$),表明红花如意丸能有效缓解寒凝血瘀型 EMs 痛经。

中医认为,EMs 患者的盆腔结节、包块,有物可征,且疼痛部位固定不移,符合血瘀证的特点。《景岳全书·妇人规·下》云:“总由血动之时,余血未净,而一有所逆,则留滞日积而渐以成癥矣”。所以血瘀是产生本病的病机关键。寒凝血瘀证是 EMs 疼痛的常见证型之一^[1,9],治疗时当以温通散寒,祛瘀止痛为主。红花如意丸中肉桂、藏红花温通经脉、活血化瘀止痛;胡椒温中散寒;沉香温中行气;桃儿七祛风除湿、活血止痛;降香、沙棘膏活血化瘀、止血止痛;藏木香健脾和胃、行气解郁;枸杞子滋补肝肾;诸药合用,共奏温经散寒、化瘀止痛之效,恰与寒凝血瘀型 EMs 痛经的病机相符,故能奏效。

NRS 评分曾被美国疼痛学会视为疼痛评估的“金标准”^[10],由 0~10 共 11 个数字组成,评价时让患者选择 1 个数字代表其评分时的疼痛强度:无疼痛(0)、轻度疼痛(1~3)、中度疼痛(4~6)、重度疼痛(7~10)。在本研究中,治疗组在治疗 1、3 个月,后,NRS 评分与治疗前相比明显减低,随访 3 个月,NRS 评分也有降低的趋势,并且低于同期对照组,

说明红花如意丸可有效降低寒凝血瘀型 EMs 痛经患者的疼痛程度,且有较好的远期疗效。对照组治疗后评分较治疗前降低,在治疗过程中,可能存在安慰剂效应^[11]。

前列腺素与疼痛的发生密切相关,通过对 T 细胞以及一些炎性递质、趋化因子的抑制作用,使炎症时血管扩张、水肿加剧,引起发热和疼痛^[12]。子宫内膜主要合成 PGF2 α 和 PGE2,PGF2 α 可促进子宫平滑肌收缩,PGE2 抑制子宫平滑肌自发活动。在月经期间,PGF2 α 增加,PGF2 α /PGE2 比值升高使子宫平滑肌收缩,子宫血流量降低,肌细胞缺血缺氧,产生痉挛,引起痛经^[13]。因此,目前血清 PGF2 α 、PGE2、PGF2 α /PGE2 水平是应用最广泛的测定痛经程度的指标^[14]。NRS 评分与 PGF2 α 、PGE2 的相关性分析显示,NRS 评分与 PGF2 α 呈正相关,与 PGE2 呈负相关,提示 PGF2 α 升高、PGE2 降低参与了 EMs 痛经的发生。在本研究中,治疗组治疗后 PGF2 α 与治疗前相比含量明显降低,并且低于同期对照组含量。治疗组治疗后 PGE2 与治疗前相比明显升高,治疗后治疗组 PGF2 α /PGE2 与治疗前相比明显降低,与对照组同期相比,差异有统计学意义,说明红花如意丸通过抑制子宫平滑肌,改善平滑肌细胞缺血缺氧,修复血管内皮细胞,增加血流量,发挥治疗寒凝血瘀型 EMs 痛经的作用。

MCAM 与细胞侵袭、黏附、免疫、炎症反应有关^[15-18]。EMT 广泛迁移、侵袭,有恶性肿瘤的特点^[19]。MCAM 高表达可促进血管内皮细胞的损伤,进而导致释放的舒血管物质减少,缩血管物质增多,使血管收缩,促使血栓形成,即形成血瘀^[20]。在本研究中,NRS 评分与 MCAM 呈正相关,说明 MCAM 含量升高参与了寒凝血瘀型 EMs 痛经的发生。治疗组 MCAM 与治疗前相比,明显减少,且低于对照组同期水平,说明红花如意丸通过改善血管内皮细胞损伤、血流动力学等过程,减少异位内膜细胞侵袭、黏附,阻碍 EMT 发展,改善寒凝血瘀型 EMs 痛经。

VASP是一种在血小板中存在的细胞骨架蛋白^[21],缺乏会加速血小板聚集,其磷酸化会减少组织损害血小板-中性粒细胞复合物的形成和存在^[22]。在本研究中,NRS评分与VASP呈负相关,说明寒凝血瘀型EMs痛经患者VASP含量较低,血小板聚集较快。在之前的研究中^[8],EMs患者血浆中VASP较正常组降低,寒凝血瘀证患者VASP含量下调,细胞机械支持和保护作用的功能减弱,进而影响了内皮细胞的正常形态,导致功能障碍,同时血小板聚集,血流速度下降,与中医理论寒性凝滞相吻合。红花的主要成分红花黄色素能够阻断血小板活化因子,抑制五羟色胺的释放,降低血管的外周阻力,抑制血小板的聚集,使血液流动加快,改善微循环^[23]。肉桂的主要成分肉桂醛有抗血小板聚集以及抑制血栓的作用^[24]。治疗组治疗后VASP的含量较治疗前明显增多,并且含量多于对照组同期水平,说明红花如意丸可能从改善血小板聚集,以及异位内膜侵袭方面,起到缓解疼痛、控制包块生长的作用。

FABP5是脂肪酸结合蛋白之一,主要参与脂质的运输^[25]。它在多种免疫细胞中均有表达,促进CD4+ T细胞中Th17的分化,在炎症反应以及维持细胞氧化还原状态中发挥重要作用,缺失可使炎症反应加重^[26-27]。本研究中,NRS评分与FABP5呈负相关,说明寒凝血瘀型EMs痛经患者的FABP5的含量减少,FABP5的异常表达,说明其确实参与了寒凝血瘀型EMs痛经的发生。EMT患者存在脂质功能障碍和脂肪流失^[28]。也有研究表明高脂食物会使小鼠EMs病灶增大^[29]。笔者课题组之前研究显示^[8],寒凝血瘀证EMT患者中FABP5表达下调,其抗炎及抗氧化的功能降低,同时为机体提供的能量减少,使机体脂质代谢减慢,加重了寒凝血瘀证的炎症反应、氧化损伤、能量代谢低下等病理过程。上述过程在中医中,与机体气血津液输布排泄有关,痰、湿、瘀等病理产物无法顺利排泄,又有重浊、粘滞、趋下的病理特点,互结于少腹,成为囊肿。红花如意丸中,红花的主要成分红花黄色素可降低小鼠血清中三酰甘油、低密度脂蛋白和葡萄糖水平,能够减轻氧化应激反应及脂质过氧化损伤,加快脂质代谢^[30]。过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR)在脂质代谢中发挥着重要作用,PPAR- γ 多存在于脂肪组织中,通过调控调节相关基因的表达影响糖脂代谢和脂肪形成等过程^[31]。藏红花的主要成分藏红花素及其代谢产物藏红花酸可以提高脂肪组织中PPAR- γ mRNA和蛋白含量,提高脂质代谢水平^[32]。胡椒的

主要成分胡椒碱可提高三磷酸腺苷及盒蛋白的表达,促进脂质代谢^[33]。在本研究中,治疗组治疗后患者FABP5含量较治疗前增多,说明红花如意丸可能从抗炎、抗氧化、增强机体能量代谢方面改善EMs痛经。

VCL是一种肌动蛋白结合蛋白,与黏附分子相互作用,形成局灶性粘连^[34]。黏着斑是调控细胞黏附和细胞稳定性的关键连接,VCL参与调节黏着斑的解聚,增加细胞的定向迁移能力^[35]。本研究结果显示,NRS评分与VCL含量呈负相关,说明VCL的异常表达导致了寒凝血瘀型EMs痛经患者细胞迁移能力降低。红花如意丸中肉桂、胡椒、桃儿七等主要成分的药理作用主要是抗癌、抗炎、抗氧化^[33,36-37],红花黄素能抑制血小板活化因子介导的中性粒细胞聚集和黏附,抑制超氧化物产生^[38]。藏红花中的主要成分藏花醛可抑制促炎因子(IL-1 β 、TNF- α)、促进抗炎因子(IL-10)的表达^[39]。与治疗前相比,治疗组治疗后VCL与治疗前相比明显增多,且多于对照组同期水平,说明红花如意丸可能通过改善细胞的迁移能力,使血小板聚集减少,即血瘀减少,以增加细胞的稳定性,发挥治疗寒凝血瘀型EMs疼痛的作用。

综上所述,红花如意丸可能从改善细胞黏附、血管内皮细胞的形态和功能、改善血流、控制炎症反应、改善能量代谢等方面缓解寒凝血瘀型EMs痛经,本研究为红花如意丸改善寒凝血瘀型EMs痛经提供了实验依据。由于NRS评分是患者主观评价,对实验结果可能略有影响。本研究样本量尚少,纳入的证型只有寒凝血瘀证,对其他的证型研究不足,今后可扩大样本,探讨红花如意丸治疗其他类型的EMs痛经的理论依据。

参考文献:

- [1] 中华预防医学会生殖健康分会,中国医师协会妇产科医师分会子宫内膜异位症学组. 子宫内膜异位症疼痛管理指南(2024年实践版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2024, 40(1): 50-61.
- [2] 胡立华,霍素芬. 红花如意丸治疗原发性痛经与继发性痛经的对比观察[J]. 环球中医药, 2015, 8(S1): 64-65. HU Lihua, HUO Sufen. Comparative observation on the treatment of primary dysmenorrhea and secondary dysmenorrhea with Honghua Ruyi Pill[J]. Global Traditional Chinese Medicine, 2015, 8(S1): 64-65.
- [3] 杨钟莉,王建六,花琪,等. 红花如意丸治疗子宫内膜异位症痛经的临床观察[J]. 中国性科学, 2014, 23(10): 57-60.

- YANG Zhongli, WANG Jianliu, HUA Qi, et al. Efficiency of Red Ruyi pill in the treatment of endometriosis pain[J]. Chinese Journal of Human Sexuality, 2014, 23(10): 57-60.
- [4] 杜煜晗, 陈俊瀚, 周真真, 等. 红花如意丸治疗寒凝血瘀型子宫内膜异位症痛经的双盲随机对照试验[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(10): 5069-5074.
- DU Yuhan, CHEN Junlu, ZHOU Zhenzhen, et al. Cold-induced blood stasis type endometriosis dysmenorrhea treatment with Honghua Ruyi Pills: a randomized double-blind controlled trial [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2023, 38(10): 5069-5074.
- [5] Sun Y, Chu JZ, Geng JR, et al. Label-free based quantitative proteomics analysis to explore the molecular mechanism of gynecological cold coagulation and blood stasis syndrome[J]. Anat Rec, 2023, 306(12): 3033-3049.
- [6] 中国中西医结合学会妇产科专业委员会. 子宫内膜异位症中西医结合诊治指南[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(10): 1169-1176.
- [7] 国家技术监督局. 中医临床诊疗术语 证候部分: GB/T 16751.2-1997 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [8] 孙莹, 左茜茜, 景晓昭, 等. 基于 Label-free 定量技术及异病同证理论的妇科实寒证患者血浆蛋白质组学研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(1): 110-117.
- SUN Ying, ZUO Qianqian, JING Xiaozhao, et al. Study on plasma proteomics of gynecological patients of excess cold syndrome based on label-free quantitative technology and theory of same syndrome in different diseases [J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2022, 29(1): 110-117.
- [9] 中华中医药学会子宫内膜异位症相关疼痛中医诊疗指南起草组. 子宫内膜异位症相关疼痛中医诊疗指南[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(5): 250-258.
- Drafting Group Of Guideline For Diagnosis And Treatment Of Chinese Medicine In Endometriosis Associated Pain From China Association Of Chinese Medicine. Guideline for diagnosis and treatment of Chinese medicine in endometriosis-associated pain[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2024, 42(5): 250-258.
- [10] Dworkin RH, Turk DC, Farrar JT, et al. Core outcome measures for chronic pain clinical trials: IMMPACT recommendations[J]. Pain, 2005, 113(1/2): 9-19.
- [11] 张会娟, 彭微微, 周丽丽, 等. 安慰剂效应的心理机制及临床应用[J]. 中国临床心理学杂志, 2018, 26(3): 467-471, 453.
- ZHANG Huijuan, PENG Weiwei, ZHOU Lili, et al. Placebo effects: psychological mechanisms and clinical applications[J]. Chinese Journal of Clinical Psychology, 2018, 26(3): 467-471, 453.
- [12] 徐潘, 李锐, 谢作钢, 等. 精浆 β -内啡肽和前列腺素 E2 与慢性盆腔疼痛综合征疼痛症状关系的研究[J]. 浙江中西医结合杂志, 2019, 29(3): 228-230.
- XU Pan, LI Rui, XIE Zuogang, et al. Study on the relationship between β -endorphin and prostaglandin E2 in seminal plasma and pain symptoms of chronic pelvic pain syndrome[J]. Zhejiang Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2019, 29(3): 228-230.
- [13] 王艳英. 原发性痛经发病机制及治疗的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(7): 2447-2449.
- WANG Yanying. Research progress of pathogenesis and treatment of primary dysmenorrhea[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2015, 30(7): 2447-2449.
- [14] 梁潇, 宋亚静. 中医病证诊断疗效标准·原发性痛经(修订)[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(4): 1884-1887.
- [15] Dudzik P, Trojan SE, Ostrowska B, et al. Aberrant promoter methylation may be responsible for the control of CD146 (MCAM) gene expression during breast cancer progression[J]. Acta Biochim Pol, 2019, 66(4): 619-625.
- [16] Wu GJ. Ectopic expression of MCAM/MUC18 increases *in vitro* motility and invasiveness, but decreases *in vivo* tumorigenesis and metastasis of a mouse melanoma K1735-9 subline in a syngeneic mouse model[J]. Clin Exp Metastasis, 2016, 33(8): 817-828.
- [17] Wu GJ. METCAM/MUC18 decreases the malignant propensity of human ovarian carcinoma cells[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10): 2976. doi:10.3390/ijms19102976
- [18] Hasan AU, Obara M, Sato S, et al. CD146/MCAM links doxorubicin-induced epigenetic dysregulation to the impaired fatty acid transportation in H9c2 cardiomyoblasts[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2024, 693: 149370. doi:10.1016/j.bbrc.2023.149370
- [19] Rahal D, Andrade F, Nisihara R. Insights into the role of complement system in the pathophysiology of endometriosis[J]. Immunol Lett, 2021, 231: 43-48. doi:10.1016/j.imlet.2021.01.005
- [20] Wang D, Cheng XM, Fang HM, et al. Effect of cold stress on ovarian & uterine microcirculation in rats and the role of endothelin system[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2020, 18(1): 29. doi:10.1186/s12958-020-00584-1
- [21] Gopalakrishnan K, Kannan B, Pandi C, et al. Aberrant expression of VASP serves as a potential prognostic biomarker and therapeutic target for oral squamous cell carcinoma[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2024, 138(3): 391-402.
- [22] Cakir Z, Lord SJ, Zhou Y, et al. Quantitative proteomic analysis reveals apoE4-dependent phosphorylation of the actin-regulating protein VASP[J]. Mol Cell Proteomics, 2023, 22(5): 100541. doi:10.1016/j.mcpro.2023.100541
- [23] Li X, Yang YX, Feng PP, et al. Quercetin improves the

- protection of hydroxysafflor yellow a against cerebral ischemic injury by modulating of blood-brain barrier and src-p-gp-mmp-9 signalling[J]. *Heliyon*, 2024, 10(10): e31002. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e31002
- [24] 高铭哲, 李婷, 田晨琪, 等. 肉桂化学成分与药理作用研究进展[J]. *亚太传统医药*, 2021, 17(11): 201-205. GAO Mingzhe, LI Ting, TIAN Chenqi, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of cinnamomi cortex[J]. *Asia-Pacific Traditional Medicine*, 2021, 17(11): 201-205.
- [25] George Warren W, Osborn M, Yates A, et al. The emerging role of fatty acid binding protein 5 (FABP5) in cancers[J]. *Drug Discov Today*, 2023, 28(7): 103628. doi:10.1016/j.drudis.2023.103628
- [26] Xu JP, Zheng BL, Xie CL, et al. Inhibition of FABP5 attenuates inflammatory bowel disease by modulating macrophage alternative activation[J]. *Biochem Pharmacol*, 2024, 219: 115974. doi:10.1016/j.bcp.2023.115974
- [27] Zhang MY, Chen JT, Zhang H, et al. Interleukin-10 increases macrophage-mediated chemotherapy resistance via FABP5 signaling in multiple myeloma[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 124(Pt A): 110859. doi:10.1016/j.intimp.2023.110859
- [28] Zhou G, Ren J, Huang QY, et al. Gene associations of lipid traits, lipid-lowering drug-target genes and endometriosis[J]. *Reprod Biomed Online*, 2024, 49(1): 103856. doi:10.1016/j.rbmo.2024.103856
- [29] 陆杰, 杨立, 朱远航, 等. 高脂饮食对子宫内异症小鼠异位病灶生长及 FABP4 蛋白表达的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2022, 57(5): 640-645. LU Jie, YANG Li, ZHU Yuanhang, et al. Effects of high-fat diet on endometriosis lesion growth and FABP4 expression in mice with endometriosis[J]. *Journal of Zhengzhou University (Medical Sciences)*, 2022, 57(5): 640-645.
- [30] 郭婉琴, 王语晴, 任宇婷, 等. 注射用红花黄色素对高脂血症模型小鼠血脂水平影响[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2023, 25(1): 9-14. GUO Wanqin, WANG Yuqing, REN Yuting, et al. Effects of safflower yellow for injection on blood lipid levels in hyperlipidemia model mice[J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2023, 25(1): 9-14.
- [31] Iwase M, Yamamoto T, Nishimura K, et al. Suksdorfin promotes adipocyte differentiation and improves abnormalities in glucose metabolism via PPAR γ activation[J]. *Lipids*, 2017, 52(7): 657-664.
- [32] 魏琳玲, 丁科. 藏红花水提液对高脂血症模型金黄色地鼠肝脏保护作用研究[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2019, 29(1): 16-20. WEI Linling, DING Ke. Protective effects of aqueous extract from *Crocus sativus* on the liver of hyperlipemia golden Hamster (*Mesocricetus auratus*) [J]. *Zhejiang Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2019, 29(1): 16-20.
- [33] 于岚, 郝正一, 胡晓璐, 等. 胡椒的化学成分与药理作用研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(6): 234-242. YU Lan, HAO Zhengyi, HU Xiaolu, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Piperis fructus* [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2020, 26(6): 234-242.
- [34] Horton ER, Humphries JD, James J, et al. The integrin adhesome network at a glance[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(22): 4159-4163.
- [35] Zhong TT, Li YL, He XH, et al. Adaptation of endothelial cells to shear stress under atheroprone conditions by modulating internalization of vascular endothelial cadherin and vinculin[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(21): 1423. doi:10.21037/atm-20-3426
- [36] 邓淑蓉, 潘宇政. 肉桂主要化学成分及药理作用研究概况[J]. *现代中西医结合杂志*, 2018, 27(4): 448-451.
- [37] 严淑婷, 樊浩, 李若岚, 等. 桃儿七化学成分及药理作用研究进展[J]. *中国野生植物资源*, 2020, 39(7): 43-50. YAN Shuting, FAN Hao, LI Ruolan, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Sinopodophyllum hexandrum* [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2020, 39(7): 43-50.
- [38] Wu YG, Song LJ, Yin LJ, et al. Mechanism of hydroxysafflower Yellow A inhibiting NLRP3 expression in microglia after ischemic stroke through TLR4/NF- κ B signaling pathway to reduce neuroinflammatory injury [J]. *J Neurol Sci*, 2023, 455: 122373. doi:10.1016/j.jns.2023.122373
- [39] 张晨, 吕雷锋, 李苗, 等. 藏红花通过抗凋亡、抗炎和抗水肿机制发挥对大鼠脊髓损伤模型的神经保护作用[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2017, 38(2): 280-289. ZHANG Chen, Lyu Leifeng, LI Miao, et al. Neuroprotective effects of safranal on a rat model of traumatic injury to the spinal cord by anti-apoptotic, anti-inflammatory and edema-attenuating actions[J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences)*, 2017, 38(2): 280-289.

(编辑:房红娟)