

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20241021.001

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.r.20241021.1057.002>

## 牡荆素对多囊卵巢综合征大鼠卵巢纤维化的改善作用

宋子纯<sup>1</sup>, 闫传智<sup>1</sup>, 徐婕径<sup>1</sup>, 王可盈<sup>2</sup>, 宋家乐<sup>2,3,4,5</sup>, 周燕园<sup>1,6</sup>

(1. 桂林医学院药学院, 广西 桂林 541199; 2. 桂林医学院公共卫生学院, 广西 桂林 541199; 3. 广西环境暴露组学与全生命周期健康重点实验室, 广西 桂林 541101; 4. 桂林理工大学国家母婴乳品健康工程技术研究中心南亚分中心, 广西 桂林 541004; 5. 桂林医学院第二附属医院产科, 广西 桂林 541199; 6. 广西药物分子发现与成药性优化重点实验室, 广西药物分子筛选与成药性评价工程研究中心, 广西 桂林 541199)

**[摘要]** **目的:**探讨牡荆素(Vitexin)对多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)模型大鼠卵巢纤维化的改善作用。**方法:**40只5周龄雌性SD大鼠,随机分为正常(Control)组、模型(PCOS)组、二甲双胍(Met)组、牡荆素低剂量(Vitexin-L)组和牡荆素高(Vitexin-H)剂量组。除Control组外每组每日灌服来曲唑(1 mg/kg);此外, Met组每日灌服二甲双胍(256 mg/kg); Vitexin-L组每日灌服 Vitexin(20 mg/kg); Vitexin-H组每日灌服 Vitexin(40 mg/kg);巴氏染色法检测各组大鼠阴道涂片并统计动情周期。连续灌胃28 d后检测大鼠体质量, H&E及Masson's染色观察大鼠卵巢形态学变化、检测大鼠脂代谢水平;酶联免疫吸附法检测血清性激素水平及相关氧化应激因子水平、Western blot检测大鼠卵巢组织中纤维化因子的蛋白表达。**结果:** Vitexin显著降低了PCOS模型大鼠的体质量( $P < 0.01$ ),并调节血清性激素睾酮、雌二醇、促黄体生成素和卵泡刺激素水平,显著降低PCOS大鼠低密度脂蛋白胆固醇、甘油三酯、总胆固醇以及丙二醛水平,增强了抗氧化酶的活性,减少卵巢组织中纤维化蛋白的表达。**结论:** Vitexin给药调节PCOS大鼠的性激素水平、脂代谢水平及氧化应激水平,进而改善了大鼠卵巢的纤维化。

**[关键词]** 多囊卵巢综合征;牡荆素;氧化应激;纤维化

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2025)15-1130-11

### Ameliorating effect of Vitexin on ovarian fibrosis in rats with polycystic ovary syndrome

SONG Zichun<sup>1</sup>, YAN Chuanzhi<sup>1</sup>, XU Jiejing<sup>1</sup>, WANG Keying<sup>2</sup>, SONG Jiale<sup>2,3,4,5</sup>, ZHOU Yanyua<sup>1,6</sup>

(1. School of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541199, China; 2. School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin 541199, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Environmental Exposomes and Whole Life Cycle Health, Guilin 541101, China; 4. South Asia Branch of National Engineering Research Center for Maternal and Child Dairy Health, Guilin University of Technology, Guilin 541004, China; 5. Department of Obstetrics, the Second Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541199, China; 6. Guangxi Key Laboratory of Drug Molecule Discovery and Druggability Optimization, Guangxi Engineering Research Center for Drug Molecule Screening and Druggability Evaluation, Guilin 541199, China)

**[Foundation Project]:** This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (82360854), Natural Science Foundation Project of Guangxi Province (2022GXNSFAA035603); Central Government Guides Local Science and Technology Development Special Fund Projects (Guike ZY22096025), Guangxi Key Laboratory of Drug Molecule Discovery and Druggability Optimization Open Project Funding (GKLPMDDO-2022-C01), and Guilin Science and Technology Program (20220139-8-2)

**[Authors]:** SONG Zichun, E-mail: songchun@stu.glmc.edu.cn; YAN Chuanzhi, E-mail: yanchuanzhi@stu.glmc.edu.cn.

**[Correspondence to]:** ZHOU Yanyua, Professor, E-mail: zyy@glmc.edu.cn; SONG Jiale, Ph.D., Professor, E-mail: songjiale@glmc.edu.cn.

Received: 2024-06-21 Revised: 2024-10-11

JHMU, 2025;31(15);1130-1140

**View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.**

**[Abstract] Objective:** To investigate the ameliorating effect of Vitexin on ovarian fibrosis in rats with polycystic ovary syndrome (PCOS). **Methods:** A total of 40 5-week-old female SD rats were randomly divided into a normal (control) group, a mod-

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(82360854);广西自然科学基金资助项目(2022GXNSFAA035603);中央引导地方科技发展资金专项(桂科ZY22096025);广西药物分子发现与成药性优化重点实验室开放课题资助项目(GKLPMDDO-2022-C01);桂林市科技计划资助项目(20220139-8-2)

**[作者简介]** 宋子纯, E-mail: songchun@stu.glmc.edu.cn; 闫传智, E-mail: yanchuanzhi@stu.glmc.edu.cn.

**[通讯作者]** 周燕园, 教授, E-mail: zyy@glmc.edu.cn; 宋家乐, 博士, 教授, E-mail: songjiale@glmc.edu.cn.

**[收稿日期]** 2024-06-21 **[修回日期]** 2024-10-11 **网络出版时间:** 2024-10-22 09:46:54

el (PCOS) group, a metformin (Met) group, a Vitexin low dose (Vitexin-L) group, and a Vitexin high dose (Vitexin-H) group. In addition to the control group, each group was given a daily dose of letrozole (1 mg/kg); In addition, the Met group received metformin (256 mg/kg) every day; the Vitexin-L group was given a daily dose of Vitexin (20 mg/kg); and the Vitexin-H group was given a daily dose of Vitexin (40 mg/kg). Pap staining was used to detect the vaginal smears of rats in each group, and the estrous cycle was counted. After 28 d of continuous gavage, the body weight of rats was measured, the ovarian morphological changes and lipid metabolism levels of rats were observed by H&E and Masson's staining, serum sex hormone levels and related oxidative stress factor levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and the protein expression of fibrotic factors in rat ovarian tissues was detected by Western blot. **Results:** Vitexin significantly reduced the body weight of PCOS rats ( $P<0.01$ ), regulated the levels of serum sex hormones testosterone, estradiol, luteinizing hormone, and follicle-stimulating hormone, significantly reduced the levels of LDL cholesterol, triglycerides, total cholesterol, and malondialdehyde in PCOS rats, enhanced the activity of antioxidant enzymes, and reduced the expression of fibrotic protein in ovarian tissue. **Conclusion:** Vitexin administration regulates the level of sex hormones, lipid metabolism, and oxidative stress in PCOS rats, and then improves the fibrosis of the ovaries of rats.

[Key words] Polycystic ovary syndrome; Vitexin; Oxidative stress; Fibrosis

多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS)是一种困扰青春期及育龄期女性的代谢性疾病,全球范围内该病的患病率在10%~13%之间<sup>[1]</sup>。而我国育龄妇女在2020年PCOS的患病率接近7.8%<sup>[2]</sup>。PCOS临床以稀发排卵或无排卵、胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、高雄激素血症(hyperandrogenemia, HA)等为主要特征,远期可并发子宫内膜癌、Ⅱ型糖尿病及心脑血管疾病等,危害患者的身心健康<sup>[3]</sup>。PCOS的发病机制涉及多种因素,包括表观遗传变化、IR、炎症、氧化应激及线粒体功能障碍等。大量研究证实氧化应激在PCOS的发病因素中占据重要位置,氧化应激与PCOS患者的HA、IR和排卵障碍等有着密切联系<sup>[4]</sup>。卵巢成纤维细胞的过度增殖以及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分的沉积会造成卵巢纤维化,进而引起卵巢功能障碍<sup>[5]</sup>。有报道显示PCOS患者体内TGF- $\beta$ 1和CTGF含量明显高于正常女性<sup>[6]</sup>,表明PCOS常伴有卵巢纤维化的发生。

二甲双胍(metformin, Met)是临床常见的胰岛素增敏剂,许多国家都将其用于治疗型Ⅱ糖尿病。同时Met作为无排卵性PCOS女性的一线治疗药物,与传统药物相比, Met具有一些潜在优势,包括没有对子宫内膜的不良影响,且无卵巢癌风险。Met在减轻体重、降低IR和雄激素水平,以及改善排卵功能障碍等方面都发挥着正面作用。然而,长期使用Met会出现恶心、呕吐和胃肠道不适等明显副作用<sup>[7]</sup>。Met治疗PCOS产生的不良反应促使在临床上寻找毒性低、疗效优、不良反应少的潜在药物。

黄酮类成分多数具有雌激素样作用、抗炎、抗氧化等药理活性,因此黄酮在改善PCOS中发挥重要作用<sup>[8]</sup>。牡荆素(Vitexin)又名牡荆苷,是存在于山里红叶、绿豆、金莲花和山楂干燥成熟果实或山

楂叶中的一种黄酮类化合物<sup>[9]</sup>。研究表明, Vitexin具有抗癌、抗氧化、抗炎、抗阿尔茨海默症、抗高血压、抗痉挛、抗缺氧损伤、抗抑郁作用和抗病毒等活性<sup>[10]</sup>。已有报道显示 Vitexin可以减轻高糖诱导的内皮细胞及脑缺血再灌注大鼠的氧化损伤<sup>[11,12]</sup>。目前国内外尚未见有 Vitexin对改善PCOS的生物学效应的研究报道。因此,本文拟采用经典的来曲唑诱导雌性大鼠制备PCOS大鼠模型,通过观察 Vitexin对PCOS大鼠卵巢纤维化的改善作用,初探其作用机制,为PCOS的临床药物防治提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物、材料与试剂

40只5周龄SPF级雌性SD大鼠(170~192 g)购于河南斯克贝斯生物科技有限公司[SCXK(豫)2020-0005]。大鼠饲养桂林医学院公共卫生学院SPF级动物房[单位许可证号:SCKY(桂)2020-0005],相对湿度70%,室温22~25℃,喂食维持型标准饲料,自由饮水。

Vitexin购自四川德斯特生物有限公司,批号DST230713-034;来曲唑(S25071)及盐酸二甲双胍(S30880)购自上海源叶生物科技有限公司;巴氏染色液(L25063103)购自南昌雨露实验器材有限公司;雌二醇(estradiol, E2)、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、睾酮(testosterone, T)、卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、ELISA试剂盒购自江苏酶免实业有限公司;总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、TG、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)试剂盒购自江苏爱迪生生物科技有限公司;过氧化氢酶(catalase, Cat)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,

SOD)试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

Leica DM4B 显微镜,德国徕卡仪器有限公司; Allegra 64R 高速冷冻离心机,美国 Beckman Coulter 有限公司;KZ-II 高速组织研磨仪,武汉塞维尔生物科技有限公司;ELx808 酶标仪,美国 BioTek 公司; Quant Studio™ 6 Flex PCR 仪,美国 Thermo Fisher 科技公司。

1.3 动物造模及分组

将 40 只大鼠随机分为 Control 组、PCOS 组、Met 组、Vitexin-L 组及 Vitexin-H 组,每组 8 只。Control 组每日灌服 1 wt% CMC,PCOS 组每日灌服 1 wt% CMC 混悬液(含来曲唑 1 mg/kg),Met 组每日分别灌服 1 wt% CMC 混悬液(含来曲唑 1 mg/kg+Met 265 mg/kg)<sup>[13]</sup>,Vitexin-L 组每日分别灌服 1 wt% CMC 混悬液(含来曲唑 1 mg/kg+Vitexin 20 mg/kg),Vitexin-H 组每日分别灌服 1 wt% CMC 混悬液(含来曲唑 1 mg/kg+Vitexin 40mg/kg),每日灌服 28 d 后 2% 三溴乙醇(10 mL/kg)麻醉后处死,取用血清、卵巢等用于后续实验。动物实验方案通过桂林医学院动物伦理委员会审查批(GLMC-IACUC-20241029)。

1.4 大鼠动情周期的监测

从造模的第 17 天起,每日同一时间对各组大鼠

进行连续 10 d 的阴道涂片检查。以阴道上皮细胞分类染色法观察实验动物的动情周期<sup>[13,14]</sup>。

1.5 生物样本采集

实验第 28 天,将实验动物禁食 12 h 后,2% 三溴乙醇(10 mL/kg)麻醉大鼠,腹腔静脉取血,高速冷冻离心机在 4℃,离心力 1 000( $\times g$ )条件下离心 10 min 制备血清。拍照记录每只大鼠卵巢及子宫形态,取部分子宫周脂肪及一侧卵巢经 10%(V/V)福尔马林溶液固定,H&E 染色和 Masson's 染色卵巢后观察各组大鼠卵巢组织病理学变化。

1.6 血清生化指标检测

取上述步骤制备的血清,按照相应的 ELISA 试剂盒说明书操作,检测大鼠血清中性激素 E2、T、FSH、LH 含量,并计算 LH/FSH 比值;检测血清中脂质代谢因子 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平;检测血清中氧化应激因子 MDA、SOD、Cat、GPx 的水平。

1.7 qRT-PCR 检测大鼠卵巢组织中抗氧化基因酶的 mRNA 表达

剪取适量大鼠卵巢组织,Trazol 法提取组织 RNA,逆转录为 cDNA,实时荧光定量 PCR 检测大鼠卵巢组织中抗氧化基因酶的 mRNA 表达。PCR 反应程序为:95℃预变性 15 min,95℃变性 10 s,60℃退火 30 s,共 40 个循环,引物序列见表 1。

表 1 引物序列  
Tab1 Primers sequence

| 基因           | 正向序列                       | 反向序列                       |
|--------------|----------------------------|----------------------------|
| <i>GAPDH</i> | 5'-ACAGCAACAGGTTGGTGGAC-3' | 5'-TTTGAGGGTGCAGCGAACTT-3' |
| <i>Sod1</i>  | 5'-GCGTCATTCACTTCGAGCAG-3' | 5'-TGGACCGCCATGTTTCTTA-3'  |
| <i>Sod2</i>  | 5'-TCACAGCATTTTTCTGGACA-3' | 5'-CAGCCTGAACCTTGGACTC-3'  |
| <i>Cat</i>   | 5'-GTTTTACCGACGAGATG-3'    | 5'-ACCTTTGCCTTGGAGTAT-3'   |
| <i>GPx</i>   | 5'-CTGGTCATTCTGGGCTTCC-3'  | 5'-GCTCTTTCTCCCCGTTCA-3'   |

1.8 Western blot 检测卵巢组织中纤维化因子的蛋白表达

取蛋白质样品分别加入 6%、12% SDS-PAGE 凝胶中进行电泳分离,样品的浓缩压为 80 V,分离压为 120 V。电泳结束将蛋白转至聚偏二氟乙烯膜(PVDF)膜,冰浴,250 mA 恒流转膜 90 min,5% 脱脂牛奶封闭 2 h。将 PVDF 膜分别孵育于一抗 Col-lagen I、 $\alpha$ -SMA、CTGF、GAPDH 中 4℃过夜。第 2 天于室温下孵育二抗 1 h,使用化学成像仪显影。采用 ImageJ 软件对目标条带进行灰度分析。

1.9 统计学处理

实验数据采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析,

结果以( $\bar{x} \pm s$ )表示,使用单因素方差分析(ANO-VA)进行多组间比较,组间两两比较采用最小显著性差异法(LSD)进行显著性差异检验,方差齐性采用 Tamhane'T2 法检验,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。使用 Graphpad Prism 9.5 进行绘图<sup>[13]</sup>。

2 结果与分析

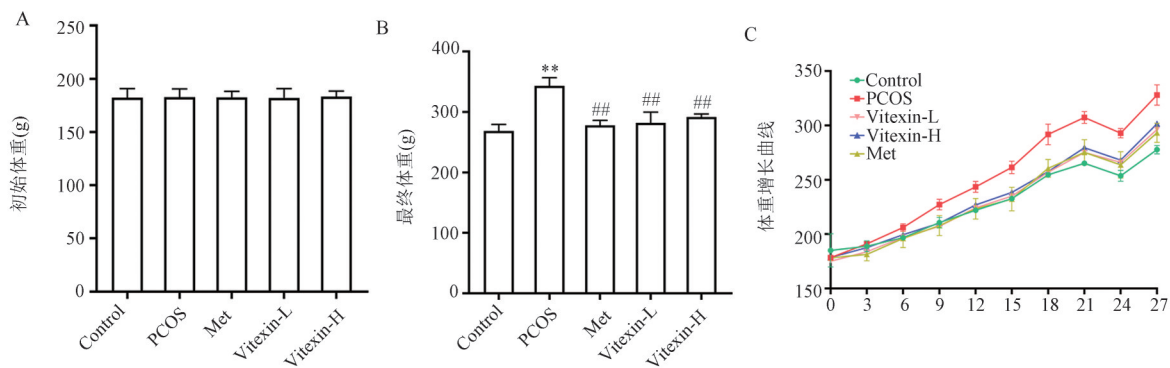
2.1 Vitexin 对 PCOS 大鼠体重变化及其动情周期的影响

各组大鼠初始体重无明显差异(图 1A),28 d 造模结束后,PCOS 组大鼠体重与 Control 组大鼠相比出现显著升高( $P < 0.01$ ),经 Met 处理后 PCOS 大鼠体重下降 19.05%( $P < 0.01$ ),Vitexin 低、高剂量处

理后 PCOS 大鼠体重分别下降 17.87% 与 14.95% ( $P<0.01$ , 图 1B)。造模期间每 3 d 测量 1 次体重并绘制各组大鼠增长曲线(图 1C)。

SD 雌性大鼠具有平均持续 4 至 5 天的动情周期, 可分为四个阶段(图 2A): 动情前期、动情期、动

情后期和动情间期。如图 2B 所示, 在造模第 17 天对 各 组 大 鼠 进 行 连 续 10 d 的 阴 道 涂 片, 观 察 动 情 周 期 的 变 化。来 曲 唑 诱 导 的 PCOS 组 大 鼠 动 情 周 期 长 期 滞 留 在 动 情 间 期 或 前 期; Met 和 Vitexin 分 别 干 预 后, PCOS 大 鼠 的 动 情 周 期 紊 乱 有 所 改 善。



与 Control 组比较, \*\* $P<0.01$ ; 与 PCOS 组比较, ## $P<0.01$   
图 1 Vitexin 对 PCOS 大鼠体重的影响 ( $n=8$ )

Fig 1 Effects of Vitexin on body weight of PCOS rats ( $n=8$ )

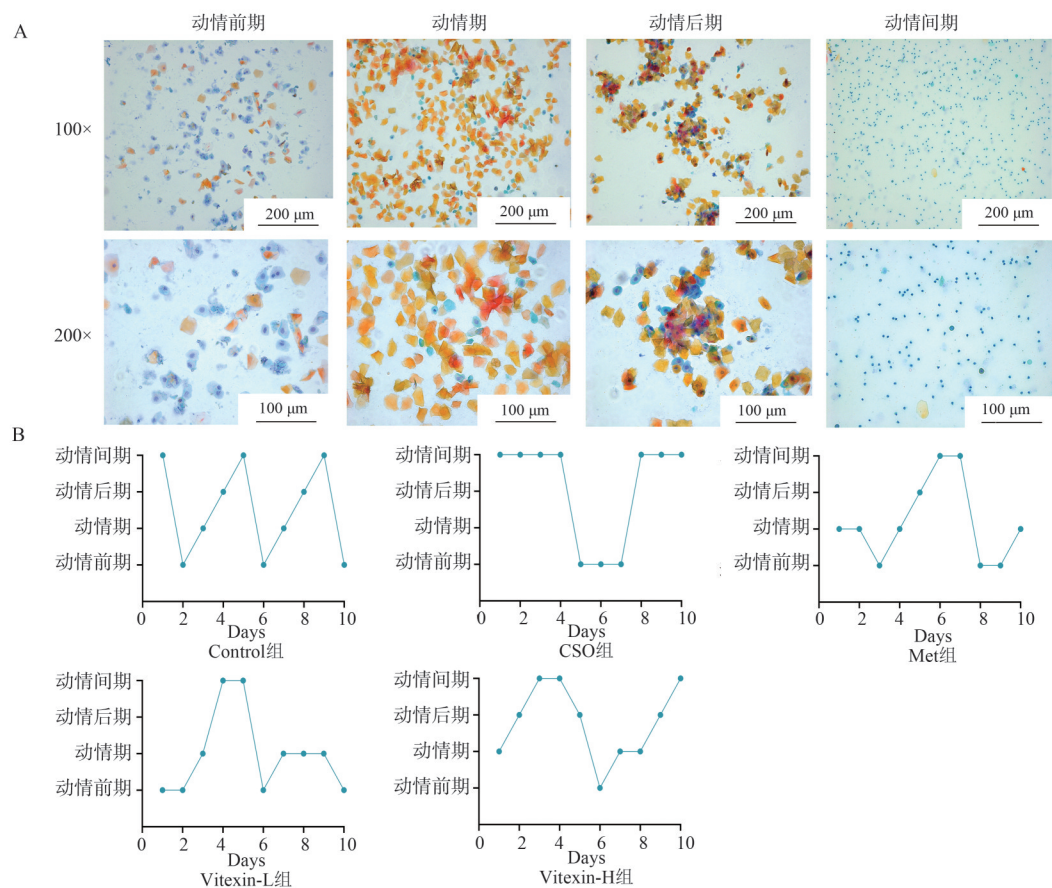


图 2 (A) 大鼠各个发情时段阴道涂片特征; (B) 各组大鼠动情周期的变化 ( $n=8$ )

Fig 2 (A) Characteristics of vaginal smear in each estrus period of rats; (B) Changes of estrous cycle of rats in each group ( $n=8$ )

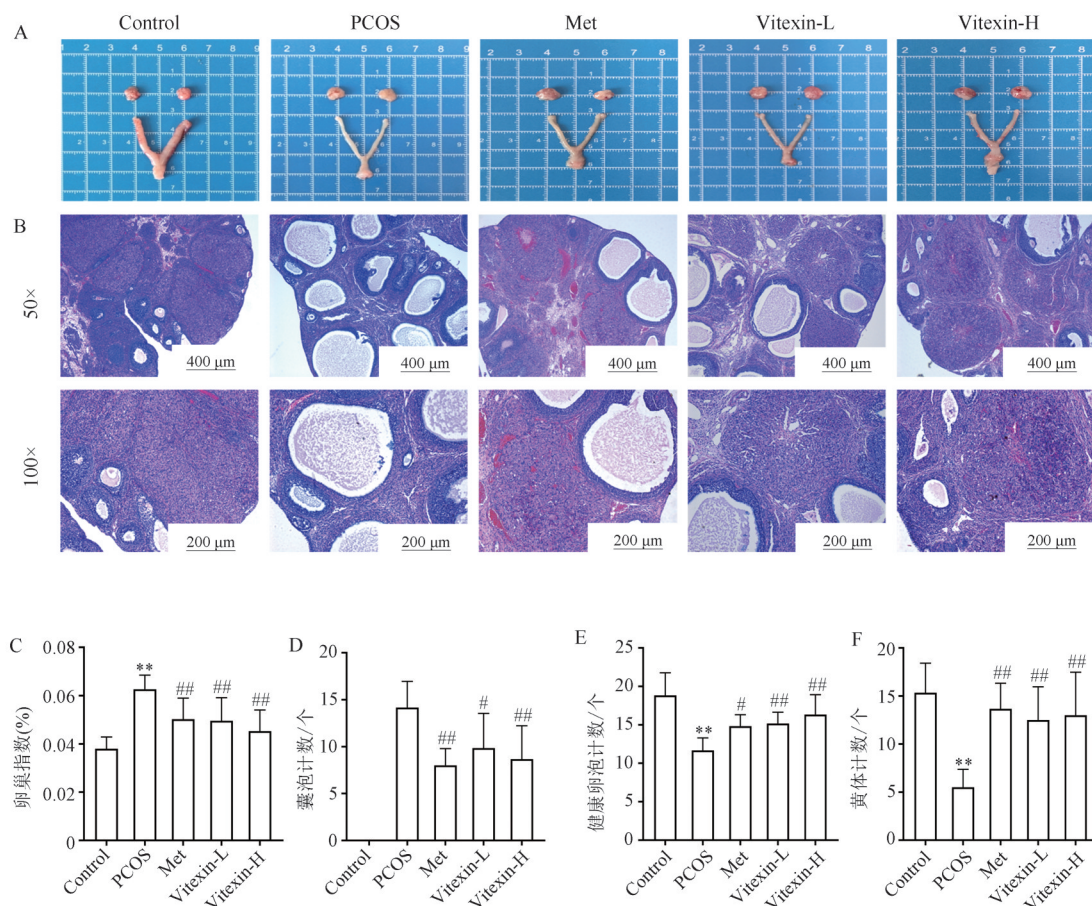
2.2 Vitexin 对 PCOS 大鼠卵巢病理学的影响

如图 3A 所示, PCOS 大鼠卵巢普遍表面苍白,

体积较 Control 组有明显增大; 同时子宫供血不足, 颜色发白。H&E 染色进一步观察大鼠卵巢结构(图

3B)发现,Control组卵巢发育正常,具有较多黄体及成熟卵泡,未见囊性卵泡。而PCOS组大鼠则出现多个囊性扩张卵泡,黄体数量显著减少( $P<0.01$ )。经Met和Vitexin干预后,囊性卵泡减少,健康卵泡数量增多,黄体数量明显增加( $P<0.01$ )。PCOS组

卵巢相对质量较Control组相比增加了1.66倍( $P<0.01$ ),经Met处理后卵巢相对质量下降19.93%( $P<0.01$ ),Vitexin低、高剂量干预后卵巢相对质量分别降低20.88%与27.76%( $P<0.01$ )。



与Control组比较, \*\* $P<0.01$ ; 与PCOS组比较, # $P<0.05$ , ## $P<0.01$

图3 Vitexin对PCOS大鼠子宫和卵巢(A)形态及(B)病理学变化的影响;(C)卵巢相对质量;(D)囊泡计数;(E)健康卵泡计数;(F)黄体计数

Fig 3 Effects of Vitexin on (A) morphology and (B) pathological changes of uterus and ovary in PCOS rats; (C) Ovarian relative mass; (D) Vesicle count; (E) Healthy follicle count; (F) Luteal count

### 2.3 Vitexin对PCOS大鼠血清性激素的影响

大鼠血清中T、E2、LH和FSH的水平如表2所示,较PCOS组大鼠而言,Met干预使PCOS大鼠T、LH的水平分别降低11.24%( $P<0.05$ )和22.79%( $P<0.01$ ),E2、FSH的水平增加了1.13倍( $P<0.01$ )和1.22倍( $P<0.05$ )。而Vitexin-L组大鼠的T和LH水平分别降低14.04%( $P<0.05$ )、24.83%( $P<0.01$ ),E2、FSH的水平增加了1.12倍( $P<0.01$ )、1.24倍( $P<0.05$ )。Vitexin-H组大鼠的T和LH水平分别降低14.19%、38.96%( $P<0.01$ ),E2、FSH水平分别增加了1.13、1.32倍( $P<0.01$ )。Met组及Vitexin低、高剂量组的LH/FSH比值较

PCOS组相比均有显著降低( $P<0.01$ )。

### 2.4 Vitexin对PCOS大鼠血清脂代谢水平的影响

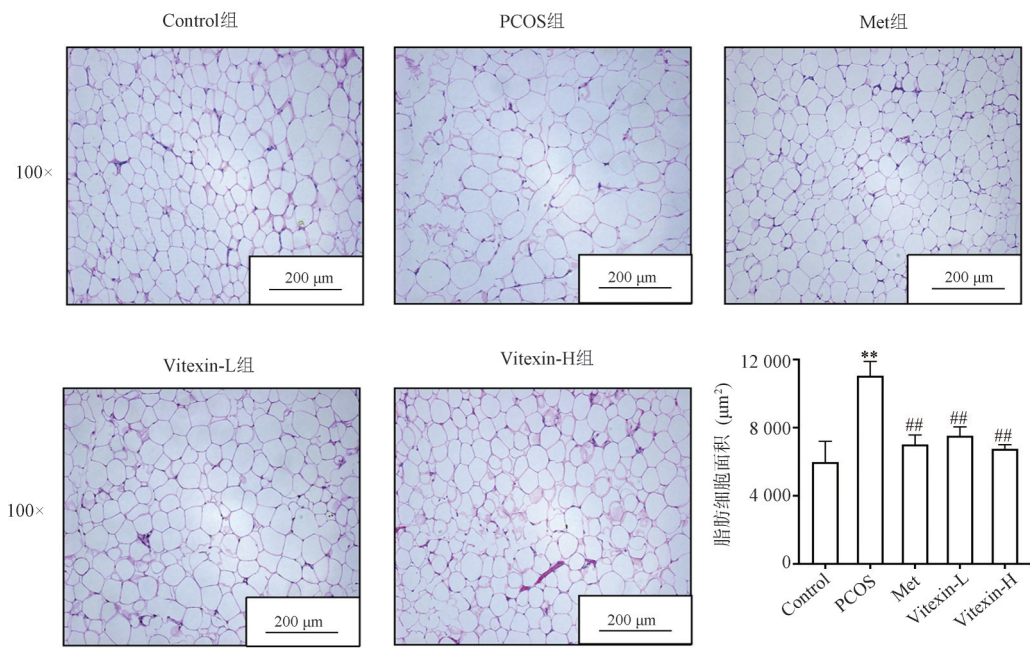
PCOS患者常伴有IR和脂代谢异常等情况。与Control组相比,PCOS组大鼠的脂肪细胞增大且变形,细胞排列松散。Met和Vitexin处理后,各组大鼠子宫周脂肪细胞均有所减小,细胞排列逐渐紧密,边界清晰。PCOS组大鼠子宫周脂肪细胞面积较Control组增加了1.85倍( $P<0.01$ ),Vitexin低、高剂量组大鼠的脂肪细胞面积分别较PCOS组相比减少了31.91%和38.79%( $P<0.01$ )(图4)。

进一步检测大鼠血清中的脂代谢指标发现,反映大鼠脂代谢水平的TG、TC和LDL-C在PCOS

表2 Vitexin对PCOS大鼠血清性激素的影响 (n=8,  $\bar{x} \pm s$ )  
Tab 2 Effects of Vitexin on serum sex hormones in PCOS rats (n=8,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别         | T (nmol/L)             | E2 (ng/L)                | LH (ng/L)                | FSH (IU/L)               | LH/FSH                  |
|------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Control组   | 5.95±0.32              | 61.89±3.16               | 32.29±4.31               | 12.62±0.94               | 2.55±0.25               |
| PCOS组      | 7.12±0.15**            | 52.46±6.18**             | 44.66±1.77**             | 10.53±1.83*              | 4.41±0.98**             |
| Met组       | 6.32±0.54 <sup>#</sup> | 59.46±1.03 <sup>##</sup> | 32.25±3.02 <sup>##</sup> | 12.89±1.57 <sup>#</sup>  | 2.54±0.38 <sup>##</sup> |
| Vitexin-L组 | 6.12±1.02 <sup>#</sup> | 58.56±2.65 <sup>##</sup> | 33.57±0.59 <sup>##</sup> | 13.05±2.22 <sup>#</sup>  | 2.64±0.38 <sup>##</sup> |
| Vitexin-H组 | 6.11±0.53 <sup>#</sup> | 59.04±1.54 <sup>##</sup> | 28.60±2.04 <sup>##</sup> | 13.86±0.97 <sup>##</sup> | 2.07±0.21 <sup>##</sup> |

注:与Control组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01;与PCOS组比较,<sup>#</sup>P<0.05,<sup>##</sup>P<0.01。



与Control组比较,\*\*P<0.01;与PCOS组比较,<sup>##</sup>P<0.01

图4 Vitexin对PCOS大鼠子宫周脂肪细胞形态的影响

Fig 4 Effect of Vitexin on the morphology of periuterine adipocytes in PCOS rats

组里均有显著升高( $P<0.01$ ),HDL-C与Control组相比降低了50.38%( $P<0.01$ ),见表3。Met组大鼠的TG下降了16.96%( $P<0.05$ ),TC和LDL-C分别下降了22.22%和30.43%( $P<0.01$ ),HDL-C升高了1.4倍( $P<0.01$ )。Vitexin-L组大鼠的TG下降了15.18%( $P<0.05$ ),TC和LDL-C分别下降了

23.01%和34.78%( $P<0.01$ ),HDL-C升高了1.31倍( $P<0.01$ );Vitexin-H组大鼠的TG、TC和LDL-C分别下降了22.32%、26.98%和41.30%( $P<0.01$ ),HDL-C升高了1.37倍( $P<0.01$ )。上述结果表明Vitexin对PCOS大鼠的脂质代谢紊乱具有一定的改善作用。

表3 Vitexin对PCOS大鼠脂代谢的影响 (mmol/L, n=8,  $\bar{x} \pm s$ )  
Tab 3 Effects of Vitexin on lipid metabolism in PCOS rats (mmol/L, n=8,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别         | TG                      | TC                      | LDL-C                   | HDL-C                   |
|------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Control组   | 0.84±0.14               | 1.88±0.31               | 0.87±0.17               | 1.31±0.04               |
| PCOS组      | 1.12±0.03**             | 2.52±0.34**             | 1.38±0.10**             | 0.65±0.02**             |
| Met组       | 0.93±0.01 <sup>#</sup>  | 1.96±0.24 <sup>##</sup> | 0.96±0.16 <sup>##</sup> | 0.91±0.09 <sup>##</sup> |
| Vitexin-L组 | 0.95±0.19 <sup>#</sup>  | 1.94±0.08 <sup>##</sup> | 0.90±0.14 <sup>##</sup> | 0.85±0.06 <sup>##</sup> |
| Vitexin-H组 | 0.87±0.06 <sup>##</sup> | 1.84±0.18 <sup>##</sup> | 0.81±0.07 <sup>##</sup> | 0.89±0.08 <sup>##</sup> |

注:与Control组比较,\*\*P<0.01;与PCOS组比较,<sup>#</sup>P<0.05,<sup>##</sup>P<0.01。

2.5 Vitexin对PCOS大鼠血清中氧化应激因子水平及卵巢中抗氧化酶的影响

如表4所示,PCOS组大鼠血清中MDA水平较Control组升高了2.45倍( $P<0.01$ ),SOD、Cat及GPx水平较Control组均有显著下降( $P<0.01$ )。Met干预后PCOS大鼠血清中MDA水平较PCOS组降低了43.66%( $P<0.01$ ),Cat及GPx分别升高了1.89、1.18倍( $P<0.01$ )。Vitexin-L组的MDA较PCOS组降低了39.44%( $P<0.01$ ),Cat及GPx与PCOS组相比分别升高了1.59、1.17倍( $P<0.01$ )。Vitexin-H组的MDA较PCOS组下降了46.48%( $P<0.01$ ),SOD、Cat及GPx水平与PCOS组相比分别升高了1.50、1.74、1.17倍( $P<0.01$ )。上述结果表明Vitexin可以调节PCOS大鼠血清中氧化应激水平大鼠血清中氧化应激水平。

为了进一步研究Vitexin的抗氧化作用,检测大鼠卵巢组织中抗氧化酶的mRNA水平(图5)。PCOS组中大鼠抗氧化酶*Cat*、*Gpx*、*Sod1*和*Sod2*的mRNA表达水平较Control组相比均有显著降低( $P<0.01$ )。Met干预后的PCOS大鼠卵巢组织中*Cat*、*Gpx*、*Sod1*和*Sod2*的mRNA表达水平较PCOS组显著升高1.92、1.30、1.55和1.39倍( $P<0.01$ )。Vitexin-L组大鼠卵巢组织中的*Gpx*、*Sod1*和*Sod2*的mRNA表达水平分别较PCOS组提高了1.27、1.71和1.42倍( $P<0.01$ ),*Cat*的mRNA表达水平提高了1.49倍( $P<0.05$ )。Vitexin-H组大鼠卵巢组织中*Cat*、*Gpx*、*Sod1*和*Sod2*的mRNA表达水平较PCOS组显著提高1.79、1.41、1.87和1.55倍( $P<0.01$ )。

表4 Vitexin对PCOS大鼠血清中氧化应激水平的影响( $n=8, \bar{x} \pm s$ )  
Tab 4 Effects of Vitexin on serum oxidative stress in PCOS rats ( $n=8, \bar{x} \pm s$ )

| 组别         | SOD (U/mL)         | MDA (nmol/mL)     | Cat ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$ ) | GPx (nmol/min/mL)    |
|------------|--------------------|-------------------|----------------------------------------------|----------------------|
| Control组   | 46.82 $\pm$ 2.86   | 0.29 $\pm$ 0.07   | 86.46 $\pm$ 7.65                             | 448.51 $\pm$ 1.51    |
| PCOS组      | 35.13 $\pm$ 1.09** | 0.71 $\pm$ 0.16** | 44.29 $\pm$ 7.49**                           | 362.65 $\pm$ 41.92** |
| Met组       | 47.22 $\pm$ 6.57   | 0.40 $\pm$ 0.07## | 83.88 $\pm$ 9.85##                           | 427.12 $\pm$ 42.42## |
| Vitexin-L组 | 49.09 $\pm$ 8.22   | 0.43 $\pm$ 0.09## | 70.56 $\pm$ 12.58##                          | 424.22 $\pm$ 41.99## |
| Vitexin-H组 | 52.78 $\pm$ 1.63## | 0.38 $\pm$ 0.04## | 77.18 $\pm$ 17.31##                          | 423.91 $\pm$ 41.48## |

注:与Control组比较,\*\* $P<0.01$ ;与PCOS组比较,## $P<0.01$ 。

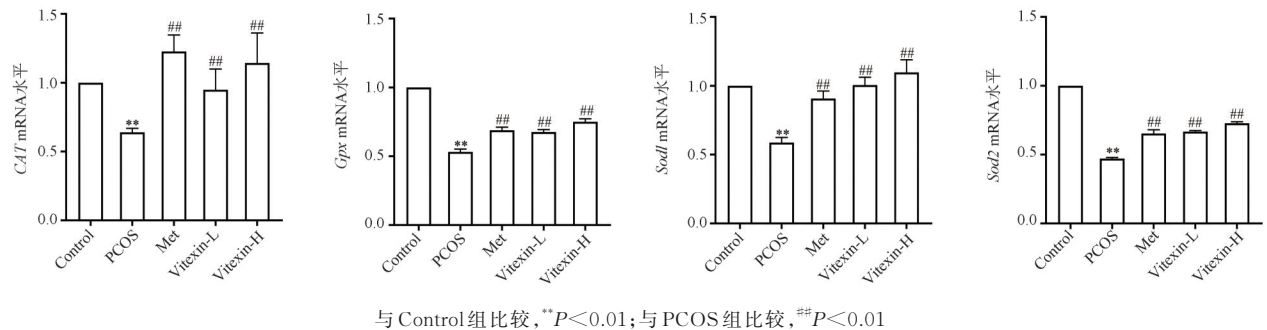


图5 Vitexin对PCOS大鼠卵巢中抗氧化酶*Cat*、*Gpx*、*Sod1*、*Sod2* mRNA水平的影响

Fig 5 Effects of Vitexin on mRNA levels of antioxidant enzymes *Cat*, *Gpx*, *Sod1*, and *Sod2* in ovary of PCOS rats

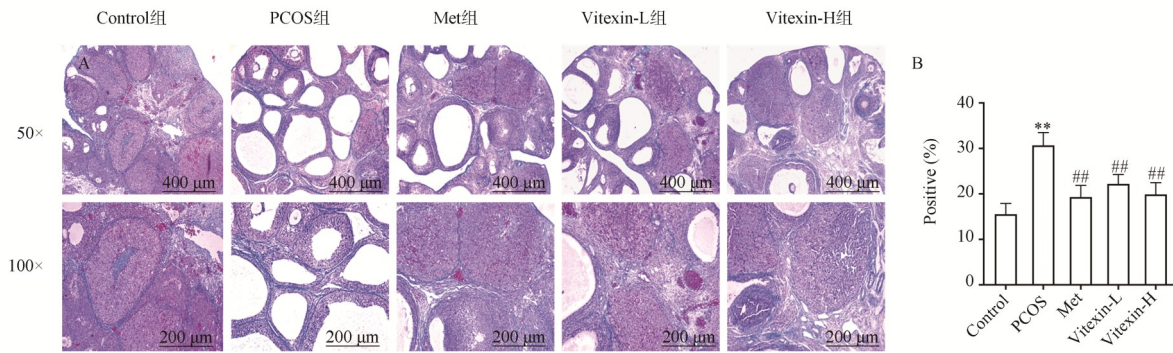
2.6 大鼠卵巢组织Masson's染色结果

Masson's染色结果显示PCOS大鼠卵巢存在纤维化(图6A),ImageJ进行定量分析,结果显示PCOS组卵巢纤维化阳性面积比Control组增加了1.97倍,而经Met治疗后,PCOS大鼠卵巢纤维化阳性面积降低了37.07%( $P<0.01$ )。低、高两个剂量Vitexin干预后,PCOS大鼠卵巢纤维化阳性面积分别降低了27.58%、35.20%( $P<0.01$ )(图6B)。

2.7 大鼠卵巢组织中纤维化因子Collagen I、 $\alpha$ -SMA及CTGF的蛋白表达

如图7所示,PCOS大鼠卵巢中Collagen I、 $\alpha$ -

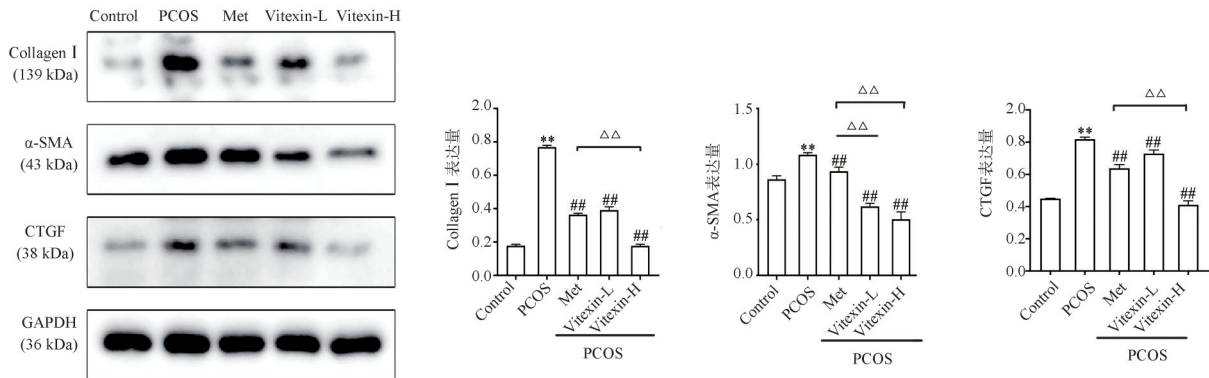
SMA及CTGF较Control组相比有显著升高( $P<0.01$ )。Met干预后PCOS大鼠卵巢中Collagen I、 $\alpha$ -SMA及CTGF的蛋白表达分别降低了52.70%、13.69%及22.08%( $P<0.01$ )。Vitexin-L组大鼠卵巢组织中Collagen I、 $\alpha$ -SMA及CTGF的蛋白表达水平较PCOS组分别降低了49.14%、42.78%和10.97%( $P<0.01$ )。Vitexin-H组大鼠卵巢组织中Collagen I、 $\alpha$ -SMA及CTGF的蛋白表达水平较PCOS组分别降低了76.96%、53.43%和49.86%( $P<0.01$ )。



与 Control 组比较, \*\* $P < 0.01$ ; 与 PCOS 组比较, ## $P < 0.01$

图6 各组卵巢组织的(A)Masson's染色;(B)卵巢纤维化的阳性区域面积

Fig 6 (A) Masson's staining of ovarian tissue in each group; (B) positive area of ovarian fibrosis



与 Control 组比较, \*\* $P < 0.01$ ; 与 PCOS 组比较, ## $P < 0.01$ ; 与 Met 组相比,  $\Delta\Delta P < 0.01$

图7 Vitexin对大鼠卵巢组织中纤维化相关蛋白Collagen I、α-SMA及CTGF表达的影响

Fig 7 Effects of Vitexin on the expression of fibrosis-associated protein Collagen I, α-SMA and CTGF in rat ovarian tissue

### 3 讨论

女性患者体内高雄激素水平在PCOS的发展过程中发挥着关键作用,雄激素过量会降低促性腺激素释放激素(Gonadotropin-releasing hormone, GnRH)脉冲发生器对孕激素抑制作用的敏感性,导致GnRH脉冲失控,LH水平升高,而高水平的LH会进一步刺激卵泡膜细胞合成过多的雄激素,形成恶性循环<sup>[15]</sup>。此外,HA还会导致游离睾酮浓度升高,增加LH与FSH的比值,进而导致排卵功能障碍<sup>[16]</sup>。在本研究中,Vitexin对PCOS大鼠进行干预后,各药物组动情周期紊乱出现不同程度的改善,病理切片及生化结果也显示干预后大鼠卵巢功能、性激素水平趋于正常。研究发现,山楂叶总黄酮能够调节来曲唑建立的PCOS大鼠血清性激素水平,改善PCOS大鼠卵巢内环境<sup>[17]</sup>。而Vitexin则是山楂叶总黄酮中主要活性成分之一。也有研究表明,与Vitexin结构类似的槲皮素能够调节高脂饮食

和来曲唑诱导的胰岛素抵抗型PCOS大鼠模型中卵巢颗粒细胞的E2、FSH、LH和T水平<sup>[18]</sup>。以上结果均提示Vitexin具有可以调节PCOS大鼠的性激素分泌的功能,且改善效果与剂量成正相关趋势。

在PCOS患者中,其中50%~80%为肥胖患者,30%~35%为糖耐量受损患者<sup>[19]</sup>,肥胖会加重PCOS患者的代谢紊乱和生殖障碍。肥胖不仅会升高鞘细胞对LH刺激的敏感性,造成功能性卵巢HA<sup>[20]</sup>。而且,肥胖还会加剧PCOS患者的IR,加重PCOS患者的高胰岛素血症<sup>[21]</sup>。实验发现,Vitexin和Met都能有效减缓PCOS大鼠体重增加速度。同时,生化结果显示Vitexin和Met处理都改善了PCOS大鼠的脂代谢紊乱。Vitexin可以通过激活AMP活化蛋白激酶α,减轻高脂饮食(high fat diet, HFD)诱导的小鼠肥胖,并减少3T3-L1细胞中脂肪积累<sup>[22]</sup>。而富含Vitexin的无花果提取物也被证明具有降低HFD所诱发的肥胖大鼠血清胆固醇的作

用<sup>[23]</sup>。Choo等<sup>[24]</sup>证实 Vitexin 可以通过抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶来延缓葡萄糖吸收,从而降低大鼠的餐后血糖。槲皮素和柚皮苷等 Vitexin 类似物也能通过调控脂肪生产酶 PPAR $\gamma$  和肉毒碱棕榈酰转移酶的活性来改善大鼠肥胖<sup>[25]</sup>。以上结果均表明, Vitexin 能有效调节 PCOS 脂代谢水平,具有良好的降脂潜力。

PCOS 患者中自由基产生增加,血清总抗氧化水平下降,即使是纤瘦的 PCOS 女性也会表现出机体氧化应激水平升高<sup>[26]</sup>。氧化应激会对卵巢卵泡产生负面影响,影响卵泡成熟;过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)还会损害卵泡内的卵母细胞和颗粒细胞,进一步损害生育能力<sup>[27]</sup>。Vitexin 是一个多羟基黄烷类黄酮,其相邻的 A 环二羟基结构能够结合并清除过多的自由基<sup>[28]</sup>,同时通过激活机体内抗氧化酶 GPx、SOD 和 Cat 的活性来发挥抗氧化作用。本研究中, Vitexin 干预后 PCOS 大鼠血清的氧化应激紊乱程度有所改善,同时大鼠卵巢中抗氧化酶 mRNA 水平均有显著上升。研究证实,山楂叶总黄酮可以通过 Nrf2/HO-1 信号通路调节 PCOS 大鼠卵巢组织中 SOD、MDA 和 GPx 水平,发挥抗氧化应激作用<sup>[17]</sup>。Vitexin 也可以通过调节 Nrf2 降低高糖诱导的人脐静脉内皮细胞中 ROS 水平从而发挥抗氧化作用<sup>[11]</sup>。此外,也有研究发现 Vitexin 在牛乳腺上皮细胞和小鼠乳腺组织中都减少了 ROS 的产生,保护了抗氧化酶的活性<sup>[29]</sup>。以上充分说明 Vitexin 可以改善 PCOS 大鼠的氧化应激水平,具有潜在的抗氧化能力。

纤维化病理特征表现为器官实质细胞及功能细胞的减少,成纤维细胞过度增殖和 ECM 沉积,继而加重器质性病变并导致器官功能衰退。Hughesdon 等<sup>[30]</sup>首次证实了 PCOS 患者共有卵巢纤维化特征,即卵巢皮质及皮质下基质增厚。在 PCOS 的发展过程中,卵泡功能障碍和无排卵与卵巢纤维化密切相关。大量研究表明,持续的高雄激素和炎症会加重卵巢损伤,在 Wang 等<sup>[31]</sup>的研究中发现,高雄激素可以激活小鼠体内 NLRP3 炎性小体来诱发炎症反应,导致卵泡功能障碍和卵巢纤维化。本研究中,Masson's 染色提示 PCOS 组大鼠卵巢纤维组织沉积增多。进一步检测相关纤维化因子发现, Vitexin 干预后纤维化因子的蛋白表达均有所降低。已有研究证实,黄酮类化合物鼠李柠檬素可以降低 PCOS 大鼠卵巢组织中纤维化因子 Collagen I、 $\alpha$ -SMA 及 CTGF 的蛋白表达<sup>[32]</sup>。与 Vitexin 具有类

似结构的槲皮素也被证实可以降低博来霉素诱导的肺纤维化小鼠中  $\alpha$ -SMA、Collagen I 的蛋白表达<sup>[33]</sup>。此外,有研究发现 Vitexin 可以抑制大鼠心肌梗死后的心肌纤维化,减少心肌细胞凋亡<sup>[34]</sup>。上述结果提示 Vitexin 具有改善 PCOS 大鼠卵巢纤维化的潜能。

综上所述, Vitexin 能够减轻卵巢病理变化。同时, Vitexin 改善 PCOS 大鼠血清脂质代谢水平。此外, Vitexin 缓解了 PCOS 大鼠氧化应激状态及卵巢纤维化程度。上述研究结果可为 Vitexin 预防和治疗 PCOS 提供科学依据,但对于作用机制及靶点还有待深入研究。

#### 作者贡献度说明:

宋子纯:实验设计;宋子纯、闫传智:执行实验,统计分析及文稿撰写;徐婕径:执行实验和指标检测;王可盈:补充部分内容;周燕园、宋家乐:论文指导及校审。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

#### 参考文献

- 1 Teede HJ, Tay C, Laven JJ, et al. Recommendations from the 2023 international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2023, 108(10): 2447-2469.
- 2 Yang R, Li Q, Zhou Z, et al. Changes in the prevalence of polycystic ovary syndrome in China over the past decade [J]. *Lancet Reg Health West Pac*, 2022, 25: 100494.
- 3 刘颖,丁锐,严欣,等.多囊卵巢综合征女性更年期相关并发症的研究进展[J]. *中国性科学*, 2024, 33(3): 49-53.
- 4 Liu Y, Ding R, Yan X, et al. Progress in the study of complications associated with polycystic ovary syndrome in women in midlife [J]. *Chin J Hum Sex*, 2024, 33(3): 49-53.
- 4 王甜,莫少康,黄冰雪,等.氧化应激在卵巢相关生殖障碍疾病中的作用[J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2023, 42(4): 317-322.
- 5 Wang T, Mo S, Huang B, et al. Oxidative stress in ovary-related reproductive disorders [J]. *J Intern Reprod Health Family Plan*, 2023, 42(4): 317-322.
- 5 Zhou F, Shi L, Zhang S. Ovarian fibrosis: A phenomenon of concern [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2017, 130(3): 365-371.
- 6 崔蓉,苗竹林,黄密琼,等.多囊卵巢综合征患者体内 TGF- $\beta$ 1、CTGF 含量及意义[J]. *中国计划生育学杂*

- 志, 2012, 20(9): 616-618.
- Cui R, Miao Z, Huang M, et al. Expressions of transforming growth factor  $\beta 1$  and connective tissue growth factor in serum and peritoneal fluid of the patient with polycystic ovary syndrome[J]. Chin J Family Plan, 2012, 20(9): 616-618.
- 7 McCreight LJ, Bailey CJ, Pearson ER. Metformin and the gastrointestinal tract [J]. Diabetologia, 2016, 59(3): 426-435.
- 8 姬敏, 王文婷, 吴盈, 等. 天然产物治疗多囊卵巢综合征的研究进展[J]. 海南医学院学报, 2023, 29(12): 942-948, 953.
- Ji M, Wang W, Wu Y, et al. Research progress of natural products in treating polycystic ovary syndrome [J]. J Hainan Med Univ, 2023, 29(12): 942-948, 953.
- 9 盛亚男, 王长远. 牡荆素预防和治疗疾病作用机制研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(17): 2156-2161.
- Sheng Y, Wang C. Research progress on the mechanism of vitexin in preventing and treating diseases[J]. Chin J Modern App Pharm, 2021, 38(17): 2156-2161.
- 10 He M, Min JW, Kong WL, et al. A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin[J]. Fitoterapia, 2016, 115: 74-85.
- 11 Zhang S, Jin S, Zhang S, et al. Vitexin protects against high glucose-induced endothelial cell apoptosis and oxidative stress *via* Wnt/ $\beta$ -catenin and Nrf2 signalling pathway [J]. Arch Physiol Biochem, 2024, 130(3): 275-284.
- 12 Guo L, Shi L. Vitexin improves cerebral ischemia-reperfusion injury by attenuating oxidative injury and ferroptosis *via* Keap1/Nrf2/HO-1 signaling [J]. Neurochem Res, 2023, 48(3): 980-995.
- 13 种超杰, 吴亚琪, 董哲文, 等. 灰树花多糖对多囊卵巢综合征大鼠症状的改善作用[J]. 现代食品科技, 2023, 39(8): 10-20.
- Chong C, Wu Y, Dong Z, et al. Ameliorating effects of *Grifola frondosa* polysaccharides on symptoms of polycystic ovary syndrome in rats[J]. Modern Food Sci Technol, 2023, 39(8): 10-20.
- 14 种超杰. 灰树花多糖对 PCOS 大鼠卵巢纤维化的影响 [D]. 桂林: 桂林医学院, 2023.
- Chong C. Effect of *Grifola frondosa* polysaccharides on ovarian fibrosis in PCOS rats [D]. Guilin: Guilin Medical University, 2023.
- 15 Rosenfield RL, Ehrmann DA. The pathogenesis of polycystic ovary syndrome (PCOS): The hypothesis of PCOS as functional ovarian hyperandrogenism revisited [J]. Endocr Rev, 2016, 37(5): 467-520.
- 16 Li Y, Chen C, Ma Y, et al. Multi-system reproductive metabolic disorder: Significance for the pathogenesis and therapy of polycystic ovary syndrome (PCOS) [J]. Life Sci, 2019, 228: 167-175.
- 17 刘桂宇, 谢倩倩, 陈希芬, 等. 基于 Nrf2/HO-1 信号通路探讨山楂叶总黄酮对多囊卵巢综合征大鼠卵巢氧化应激的影响[J]. 中成药, 2023, 45(9): 2883-2889.
- Liu G, Xie Q, Chen X, et al. Effects of hawthorn leaves flavonoids on ovarian oxidation stress in rats with polycystic ovary syndrome based on Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. Chin Tradit Patent Med, 2023, 45(9): 2883-2889.
- 18 江雪娟, 陈晓菲, 俞佳, 等. 槲皮素对多囊卵巢综合征大鼠卵巢颗粒细胞增殖与凋亡的影响研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2022, 46(10): 1055-1062, 1069.
- Jiang X, Chen X, Yu J, et al. Effect of quercetin on proliferation and apoptosis of ovarian granulosa cells in rats with polycystic ovarian syndrome [J]. J Zhejiang Chin Med Univ, 2022, 46(10): 1055-1062, 1069.
- 19 Xu Y, Qiao J. Association of insulin resistance and elevated androgen levels with polycystic ovarian syndrome (PCOS): A review of literature [J]. J Healthc Eng, 2022, 2022: 9240569.
- 20 Glueck CJ, Goldenberg N. Characteristics of obesity in polycystic ovary syndrome: Etiology, treatment, and genetics[J]. Metabolism, 2019, 92: 108-120.
- 21 Bril F, Ezech U, Amiri M, et al. Adipose tissue dysfunction in polycystic ovary syndrome [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2023, 109(1): 10-24.
- 22 Peng Y, Sun Q, Xu W, et al. Vitexin ameliorates high fat diet-induced obesity in male C57BL/6J mice *via* the AMPK $\alpha$ -mediated pathway [J]. Food Funct, 2019, 10(4): 1940-1947.
- 23 Belguith-Hadriche O, Ammar S, Contreras Mdel M, et al. Antihyperlipidemic and antioxidant activities of edible Tunisian *Ficus carica* L. fruits in high fat diet-induced hyperlipidemic rats [J]. Plant Foods Hum Nutr, 2016, 71(2): 183-189.
- 24 Choo CY, Sulong NY, Man F, et al. Vitexin and isovitexin from the leaves of ficus deltoidea with *in vivo*  $\alpha$ -glucosidase inhibition [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 142(3): 776-781.
- 25 Galleano M, Calabro V, Prince PD, et al. Flavonoids and metabolic syndrome [J]. Ann N Y Acad Sci, 2012, 1259: 87-94.
- 26 Murri M, Luque-Ramírez M, Insenser M, et al. Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): A systematic review and meta-anal-

- ysis[J]. Hum Reprod Update, 2013, 19(3): 268-288.
- 27 Shaeib F, Khan SN, Ali I, et al. The defensive role of cumulus cells against reactive oxygen species insult in metaphase II mouse oocytes[J]. Reprod Sci, 2016, 23(4): 498-507.
- 28 Babaei F, Moafizad A, Darvishvand Z, et al. Review of the effects of vitexin in oxidative stress-related diseases [J]. Food Sci Nutr, 2020, 8(6): 2569-2580.
- 29 Chen Y, Yang J, Huang Z, et al. Vitexin mitigates *Staphylococcus aureus*-induced mastitis via regulation of ROS/ER stress/NF- $\kappa$ B/MAPK pathway[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 7977433.
- 30 Hughesdon PE. Morphology and morphogenesis of the Stein-Leventhal ovary and of so-called "hyperthecosis" [J]. Obstet Gynecol Surv, 1982, 37(2): 59-77.
- 31 Wang D, Weng Y, Zhang Y, et al. Exposure to hyperandrogen drives ovarian dysfunction and fibrosis by activating the NLRP3 inflammasome in mice[J]. Sci Total Environ, 2020, 745: 141049.
- 32 Zhou Y, Lan H, Dong Z, et al. Rhamnocitrin attenuates ovarian fibrosis in rats with letrozole-induced experimental polycystic ovary syndrome[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 5558599.
- 33 张兴彩, 蔡余力, 张伟, 等. 吡非尼酮与槲皮素通过 S1P/SPHK 信号通路抗小鼠肺纤维化比较研究[J]. 中医药学报, 2019, 47(5): 4-8.
- Zhang X, Cai Y, Zhang W, et al. A comparative study of pifenidone and quercetin against pulmonary fibrosis via S1P/SPHK signaling pathway in mice[J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2019, 47(5): 4-8.
- 34 赵天昊, 袁慧, 麻祖青, 等. 牡荆素调节环磷酸腺苷激活的交换蛋白 1/钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II 信号对大鼠心肌梗死后心肌肥大与纤维化的作用[J]. 心脑血管病防治, 2024, 24(2): 10-15.
- Zhao T, Yuan H, Ma Z, et al. Effects of vitexin on cardiac hypertrophy and fibrosis after myocardial infarction in rats through modulation of the exchange proteins activated directly by cyclic adenosinemonophosphate 1/calcium/calmodulin-dependent protein kinase II pathway [J]. Cardio Cerebrovasc Dis Prev Treat, 2024, 24(2): 10-15.

[本文编辑] 雷燕 宋睿璞 陈思润