

刘自钰,惠亮,马文欣,等. 基于网络药理学探讨月见草油改善多囊卵巢综合征大鼠主动脉内皮损伤的机制研究 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(3): 324–341.

LIU Z Y, HUI L, MA W X, et al. Effect of evening primrose oil on aortic endothelial injury in rats with polycystic ovary syndrome based on network pharmacology [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(3): 324–341.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.03.002

基于网络药理学探讨月见草油改善多囊卵巢综合征大鼠主动脉内皮损伤的机制研究

刘自钰¹, 惠亮², 马文欣¹, 刘畅¹, 虎娜¹, 赵帅¹, 陈冬梅³, 杨丽⁴,
蒲静¹, 穆胜², 马会明^{1*}

(1. 宁夏医科大学生育力保持教育部重点实验室, 银川 750004; 2. 宁夏医科大学中医学院, 银川 750004; 3. 宁夏医科大学总医院宁夏干细胞与再生医学重点实验室, 银川 750003; 4. 宁夏医科大学实验动物中心, 银川 750004)

【摘要】 目的 基于网络药理学和体内实验探究月见草油(evening primrose oil, EPO)对多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)大鼠主动脉血管内皮损伤的改善作用机制。**方法** 通过网络药理学技术预测 EPO 改善 PCOS 大鼠主动脉内皮损伤可能的靶点, 并且通过实验对筛选出的核心靶点及通路进行验证。58 只雌性 SD 大鼠随机分为: 空白对照组(10 只)、造模组(48 只); 空白对照组给予正常饮食, 造模组给予高脂饮食 8 周, 第 6 周联合来曲唑(1 mg/(kg·d))灌胃 21 d 进行 PCOS 模型制备, 造模结束尾静脉取血, 收集血清检测激素水平后, 模型大鼠随机分为 4 组, 给予相应药物灌胃治疗 6 周。给药结束后收集大鼠血液、血管及卵巢组织。苏木素-伊红(HE)染色观察组织形态, ELISA 检测血清中促黄体生成素(LH)、睾酮(T)、促卵泡激素(FSH)、内皮素(ET-1)、肿瘤坏死因子(TNF- α)水平, 分光光度法测定大鼠血清中一氧化氮(NO)水平。Western Blot 及免疫组织化学法(IHC)分别检测核心靶点与 RAS 通路相关因子等蛋白表达水平。**结果** 网络药理学分析得到 EPO 与 PCOS 交集靶点 25 个, KEGG 结果显示 EPO 通过肾素-血管紧张素通路(renin-angiotensin signaling, RAS)等多条通路改善 PCOS 大鼠血管损伤。与模型组相比, EPO 低、高剂量组血清中 TNF- α 、FSH、LH 以及 T 含量均有所下降, 差异具有显著性($P < 0.01$); EPO 低、高剂量组主动脉 Ang I、VEGF-B、AT₂R、ET-1 和 TNF- α 蛋白表达量显著降低($P < 0.01$), Ang II、CD31 蛋白显著升高, 差异具有显著性($P < 0.01$), EPO 高剂量组 eNOS 蛋白显著升高, 差异具有显著性($P < 0.01$)。**结论** EPO 可能通过抑制 RAS 信号通路 ACE/Ang II/AT₁ 轴过度活化改善 PCOS 模型大鼠血管内皮损伤。

【关键词】 多囊卵巢综合征; 肾素-血管紧张素通路; 主动脉内皮损伤; 月见草油; 网络药理学

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 03-0324-18

Effect of evening primrose oil on aortic endothelial injury in rats with polycystic ovary syndrome based on network pharmacology

LIU Ziyu¹, HUI Liang², MA Wenxin¹, LIU Chang¹, HU Na¹, ZHAO Shuai¹,
CHEN Dongmei³, YANG Li⁴, PU Jing¹, MU Sheng², MA Huiming^{1*}

【基金项目】 国家自然科学基金(81660813)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (81660813).

【作者简介】 刘自钰, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中西药和干细胞改善生殖障碍疾病。Email: 14709539296@163.com

【通信作者】 马会明, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 中西药和干细胞改善生殖障碍疾病。Email: mhm289@nxmu.edu.cn

(1. Key Laboratory of Fertility Maintenance of Ministry of Education, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. College of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 3. Ningxia Key Laboratory of Stem Cell and Regenerative Medicine, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750003, China; 4. Laboratory Animal Center, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)
Corresponding author: MA Huiming. E-mail: mhm289@nxmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To explore the effect of evening primrose oil (EPO) on aortic endothelial damage in rats with polycystic ovary syndrome (PCOS), using network pharmacology and *in vivo* experiments. **Methods** The potential targets of EPO for improving aortic endothelial injury in PCOS rats were predicted by network pharmacology, and the selected core targets and renin-angiotensin signaling (RAS) pathway were verified by experiments. Fifty-eight female SD rats were divided randomly into a blank group ($n = 10$) and a modeling group ($n = 48$). Rats in the blank group were fed a normal diet and rats in the modeling group received a high-fat diet for 8 weeks. The PCOS model was prepared at week 6 by administration of letrozole ($1 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$) for 21 days. Blood was taken from the tail vein after modeling and serum was collected to detect hormone levels. The model rats were then divided randomly into four groups and treated with the corresponding drugs for 6 weeks. Blood, blood vessels, and ovaries were then collected. Tissue morphology was examined by hematoxylin and eosin staining and serum levels of luteinizing hormone (LH), testosterone (T), follicle-stimulating hormone (FSH), endothelin (ET-1), and tumor necrosis factor (TNF- α) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Serum levels of nitric oxide (NO) were determined by spectrophotometry. Protein expression levels of core targets and RAS pathway-related factors were assessed by western blotting and immunohistochemistry. **Results** Twenty-five intersection targets of EPO and PCOS were identified by network pharmacological analysis. Kyoto encyclopedia of genes and genomes analysis showed that EPO improved vascular injury in PCOS rats via multiple pathways, including RAS. Serum levels of ET-1, FSH, LH, and T measured by ELISA were significantly decreased after EPO treatment, compared with the model group ($P < 0.01$). EPO significantly decreased the expression levels of Ang I, VEGF-B, AT₂R, ET-1, and TNF- α proteins in the aorta ($P < 0.01$) and significantly increased expression levels of Ang II, CD31, and endothelial NO synthase proteins ($P < 0.01$). **Conclusions** EPO may ameliorate vascular endothelial injury in PCOS model rats by inhibiting the RAS signaling pathway and by overactivation of the ACE/Ang II/AT₁ axis.

【Keywords】 polycystic ovary syndrome; renin-angiotensin signaling; aortic endothelial injury; evening primrose oil; network pharmacology

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是一种影响内分泌和激素代谢的生殖系统相关疾病, 好发于 18 ~ 45 岁育龄女性^[1], PCOS 患者大多激素紊乱, 产生不孕、肥胖、月经紊乱以及多毛和痤疮等症状^[2], 且在疾病初期心血管受累^[3], PCOS 所具备的高雄激素血症、胰岛素抵抗以及脂代谢异常等现象与血管内皮损伤有关^[4-5]。内皮损伤主要表现在一氧化氮 (nitric oxide, NO) 和内皮素-1 (endothelin-1, ET-1) 表达失衡^[6]。研究显示 PCOS 患者的内皮损伤是一个长期演变的过程^[7], 血管内皮损伤主要由血管活性物质、氧化应激、炎症反应及凝血系统失衡等因素引起^[8]。中草药中的一些有效成分可以通过

减少 NO 的含量, 缓解机体长期的氧化应激以达到改善血管内皮损伤的目的^[9-10]。

月见草油 (evening primrose oil, EPO) 属于月见草种子提取物, 富含亚麻酸。EPO 的降血脂及降胆固醇等功效对保护心血管功能具有明显作用^[11], 常制备为胶囊用于心血管疾病的临床治疗^[12]。PCOS 常伴随肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 过度激活^[13], 已证实内皮损伤与 RAS 密切相关^[14]。EPO 也可用于治疗女性的经前症候群以及更年期综合症、潮热等^[15-17] 生殖相关疾病。因此, 本研究建立 PCOS 大鼠模型^[18], 探讨 EPO 是否可以通过 RAS 信号通路改善 PCOS 模型大鼠主动脉内皮损伤, 以期

为 EPO 应用于临床前预防 PCOS 患者心血管疾病相关研究提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

雌性 SPF 级 SD 大鼠 58 只, 8 周龄, 体质量 180 ~ 200 g, 购买于宁夏医科大学实验动物中心【SCXK(宁)2020-0001】, 饲养于宁夏医科大学实验动物中心动物实验室【SYXK(宁)2020-0001】。大鼠饲养条件为: 相对温度 23 ~ 25 ℃、相对湿度 40% ~ 70%、通风良好, 自由采食以及饮水, 12 h 昼夜交替循环。本实验研究方案经过宁夏医科大学实验动物伦理委员会批准(IACUC-NYLAC-2020-143)。

1.1.2 主要试剂与仪器

月见草油胶丸(青岛双鲸药业股份有限公司, H37023160); 美瑞来曲唑片(江苏恒瑞医药股份有限公司, H19991001); 格华止盐酸二甲双胍片(中美上海施贵宝制药有限公司, H20023371); 血管紧张素 I (angiotensin I, Ang I)(北京博奥森生物技术有限公司, bs-0800R); 血管紧张素受体 2(angiotensin receptors, AT₂R)(北京博奥森生物技术有限公司, bs-0438R); 血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)(武汉博士德生物工程有限公司, BA1530); 血小板-内皮细胞黏附分子(platelet-endothelial cell adhesion molecules, CD31)(北京博奥森生物技术有限公司, bs-0195R); 艾比玛特医药科技(上海)有限公司, TA6191S); 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF-B)(santa cruz biotechnology, sc-80442); GAPDH(兰博利德生物技术有限公司, G1100); ET-1(万类生物科技有限公司, WL02780); 内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)(万类生物科技有限公司, WL01789); 肿瘤坏死因子(tumour necrosis factor, TNF- α)(艾博抗贸易有限公司, ab6671); β -actin(兰博利德生物技术有限公司, A1101); 促黄体生成素(luteinising hormone, LH), (博研生物科技有限公司, BY-ER338320); 睾酮(testosterone, T), (博研生物科技有限公司, BY-ER330773); 促卵泡激素(follicle stimulating

hormone, FSH), (博研生物科技有限公司, BY-ER338310); TNF- α (晶美生物科技有限公司, JM-5363H2); ET-1(晶美生物科技有限公司, JM-01966R2)。

动物无创血压测试系统(BP-6, 成都泰盟科技有限公司); 蛋白电泳仪(美国 Bio-Rad 公司); 正置光学显微镜(德国 LEICA 公司)。

1.2 方法

1.2.1 网络药理学研究方法

(1) EPO 活性成分及 PCOS 相关基因的收集与筛选: 以“月见草油”为关键词, 通过检索 TCMSp 数据库(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)、TCMID 数据库(<https://bidd.group/TCMID/>)、HERB 数据库(<http://herb.ac.cn/>)以及中国知网、PubMed 等网站获取 EPO 的化学成分。使用 Swiss Target Prediction 平台(<http://www.SwissTargetPrediction.ch/>)获取 EPO 成分的作用靶点。以“多囊卵巢综合征”为关键词检索 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)获取数据集 GSE98595 平台 GPL6244 信息, 利用 GEO2R 进行分析得到 PCOS 差异表达基因。

(2) EPO 和 PCOS 交集靶点的获取: 将 EPO 活性成分作用相关靶点与 PCOS 潜在靶点取交集获得共同靶点, 作为 EPO 改善 PCOS 大鼠主动脉血管功能障碍的关键靶点。使用 Draw Venn diagrams(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)获得 EPO、PCOS 交集靶点。

(3) 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建及核心查找: 将 EPO 成分靶点与 PCOS 交集靶点基因导入 STRING 网站(<https://cn.string-db.org/>), 设置如下: 蛋白种类为“*Homo sapiens*”, 将 minimum required interaction score 选择为 highest confidence(0.900), 同时去除游离节点, 在线预测各基因间的相互联系。使用 Cytoscape 3.10.2 中 CytoHubba 插件对 PPI 网络进行可视化, 然后根据度值大小筛选核心靶点。

(4) 基因本体(gene ontology, GO)功能及京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析: 使用 R 4.4.1 及 Cluster profiler 包 3.19 对 EPO 改善 PCOS 患者血管损伤的关键靶点基因分别进行 GO 生物学过程(biological process, BP)、分子功能

(molecular function, MF) 和细胞成分 (cellular component, CC) 分析和 KEGG 信号通路富集分析, 借助 ggplot2 包 3.5.1 进行可视化处理。

(5) 分子对接: 利用 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 检索月见草核心成分 2D 结构, 使用 Chem 3D 14.0.0.17 软件绘制 3D 结构并优化能量, 利用 RCSBPDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载核心蛋白 3D 结构, 使用 Pymol 3.1.3 软件去除水分子及配体生成 PDB 文件, 使用 Autodock vina 1.12 win32 软件^[19] 进行分子对接。

1.2.2 体内实验方法

(1) PCOS 模型大鼠制备: 58 只雌性 SD 大鼠适应性饲养 1 周后随机分为: 空白对照组 (10 只) 和造模组 (48 只); 空白对照组给予正常饮食, 造模组给予高脂饲料 (蛋白质 23.7%、碳水化合物 41.4%、脂肪 23.6%) 8 周, 第 6 周联合来曲唑 (1 mg/(kg·d)) 灌胃 21 d 进行 PCOS 模型制备^[20], 空白对照组给予等量生理盐水灌胃 21 d。造模结束尾静脉取血, 收集血清检测生殖激素水平, 初步鉴定模型制备成功。

(2) 分组及给药: 生殖激素水平分析后选取成模大鼠随机分为 4 组, 每组剔除 2 只偏差较大的模型大鼠 (每组 10 只), 给予相应药物灌胃治疗 6 周。剂量如下: 对照组 (等量 1% 纤维素钠溶液); 模型组 (等量 1% 纤维素钠溶液); 阳性药物组 (按 0.1 g/(kg·d) 二甲双胍溶于 1% 纤维素钠溶液); EPO 低剂量组 (按 0.3 g/(kg·d) EPO 溶于 1% 纤维素钠溶液); EPO 高剂量组 (按 0.6 g/(kg·d) EPO 溶于 1% 纤维素钠溶液)。以上药物给药剂量根据动物与成人每千克体质量折算系数来计算。

(3) 大鼠体质量监测: 分别于造模前 1 周及造模后每 7 d 于 8:00 ~ 8:30 称量体质量并记录, 观察体质量变化。

(4) 血压指标监测: 将大鼠固定于大鼠固定器中, 使其尾巴暴露于固定器之外, 将加压感应器环套于大鼠尾巴根部近心端, 待大鼠安静后使用无创血压计测量大鼠清醒血压。造模给药前 1 周, 每天 8:00 检测血压, 使大鼠适应血压测量。造模给药后每隔 7 d 测量血压直至 EPO 治疗结束, 每只大鼠测量 3 次取平均值。

(5) 血清指标检测: 治疗结束后, 禁食 12 h 后心脏采集血液, 3000 r/min, 离心 15 min, 并分离血清, 采用酶联免疫吸附实验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 测定 FSH、LH、ET-1 含量; 分光光度法 (540 nm 测定吸光值) 测定 NO 含量。

(6) 苏木素-伊红 (HE) 染色观察组织形态学变化: 血液采集结束后取大鼠主动脉 (主动脉根部至髂总动脉分叉处) 及同侧卵巢于 4% 多聚甲醛中固定, 另一侧卵巢于液氮冷冻后进行后续实验。将 4% 多聚甲醛固定后的组织, 常规脱水、透明、石蜡包埋, 将制备好的石蜡切片 (厚度 4 ~ 6 μm) 进行 HE 染色 (苏木素 4 min, 伊红 1 min), 光镜下观察主动脉形态变化、卵巢卵泡发育情况并进行卵泡计数^[21]。

(7) 免疫组织化学法 (immunohistochemistry, IHC) 检测血管组织相关因子蛋白: 组织石蜡切片进行烤片、脱蜡、水化, 进行抗原修复后, 一抗 (Ang I、VEGF-B、AT₂R、Ang II、CD31 抗体浓度均为 1 : 250) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 次日孵育二抗后进行显色, 苏木素复染、分化、返蓝后脱水封片, 光学显微镜下进行观察。

(8) Western Blot 检测血管组织相关因子蛋白表达: 提取各组大鼠主动脉的总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度, 蛋白变性后经 SDS-PAGE 电泳, 转膜, 一抗 (GAPDH、 β -actin 抗体浓度为 1 : 8000, 目的蛋白抗体浓度均为 1 : 1000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 二抗 (1 : 20 000) 常温孵育 2 h。使用 Bio-Rad 化学发光仪曝光 PVDF 膜上各条带, Image J 1.54 h 软件分析、计算各条带的相对灰度值, 用以表示相关蛋白的相对表达量。

1.3 统计学分析

用统计软件 SPSS 19.0 计量数据以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 检验, 以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 EPO 活性成分及靶基因的收集与筛选

通过各数据库及检索到的 EPO 相关文献, 共收集到 EPO 相关化学成分 38 个, 去除不规范名称、Swiss Target Prediction 平台无法识别信息的数

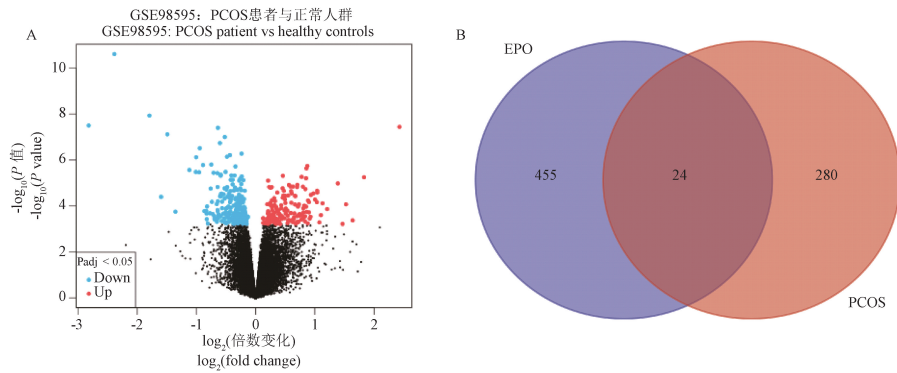
据后,得到 34 个 EPO 有效成分,并且获得 EPO 有效成分的预测靶标 479 个,GSE98595 数据集获得 PCOS 患者与正常人群差异基因 304 个,差异基因火山图如图 1A 所示。将以上数据上传 Draw Venn diagrams (<http://bioinformatics.psb.ugent>

be/webtools/Venn/)得到 EPO 与 PCOS 之间交集靶点 24 个,绘制 Venn 图,如图 1B 所示。

2.2 构建“活性成分-靶点”拓扑网络

将得到的药物-疾病共有靶点导入 Cytoscape

3. 10.2 软件构建“活性成分-靶点”网络图,如图 2



注:A:PCOS 患者与正常人群差异基因火山图;B:EPO 和 PCOS 相关共同靶基因 Venn 图。

图 1 PCOS 差异基因以及与 EPO 交集靶点

Note. A. Volcanic diagram of differential genes in patients with PCOS versus the healthy controls. B. Venn diagram of EPO and PCOS-related common target genes.

Figure 1 PCOS differential genes and intersecting targets with EPO

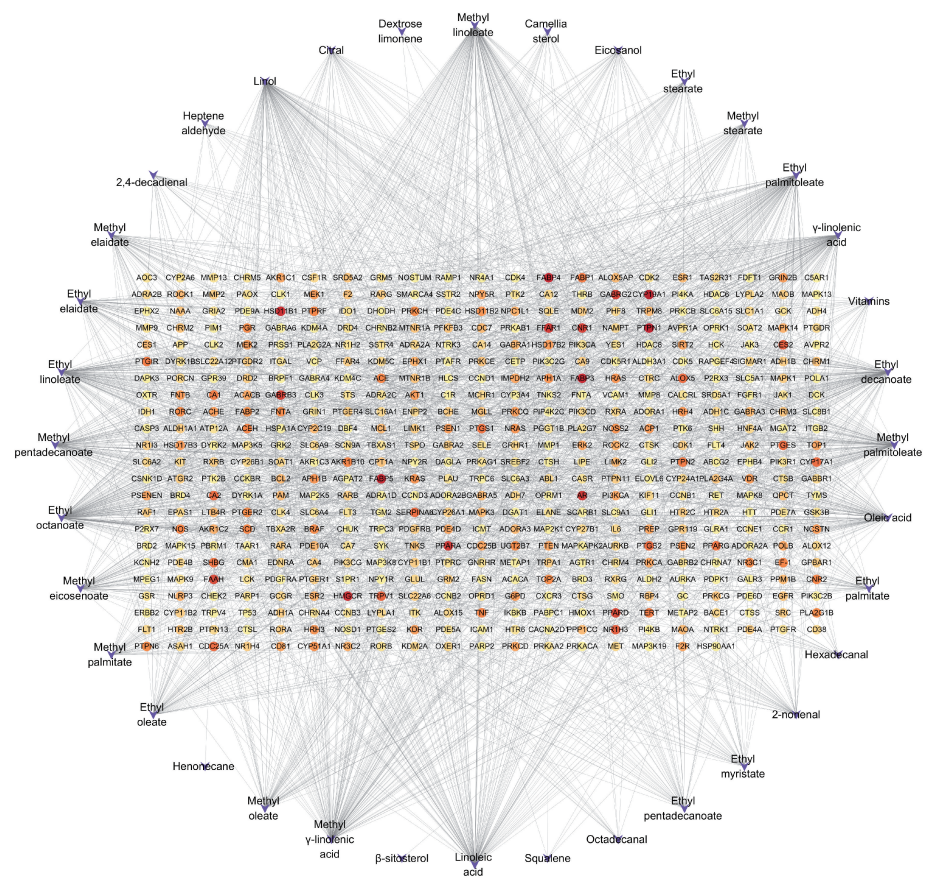
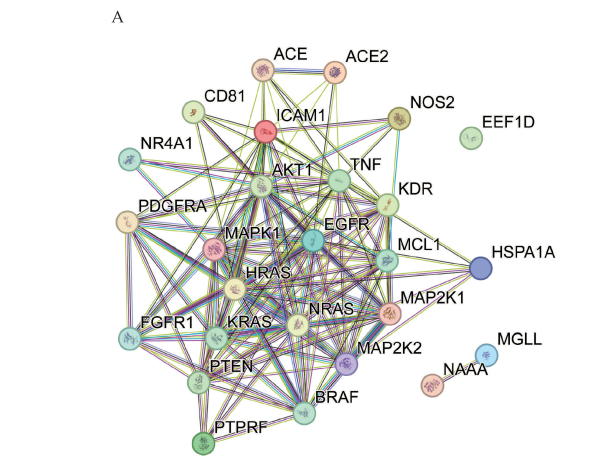


图 2 EPO 与 PCOS 的“活性成分-靶点”拓扑网络

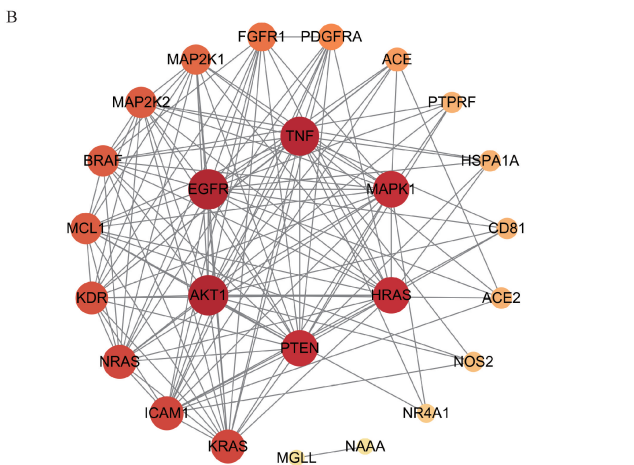
Figure 2 “Active ingredient-target” topological network of EPO and PCOS

所示。图中共有节点 526 个,边 2146 条,利用 CytoNCA 插件计算 degree 值,degree 值前 10 的 EPO 活性成分如表 1 所示,其中度值最高的有效活性成分依次是辛酸乙酯、亚油酸甲酯、 γ -亚麻酸甲酯、亚油酸,提示其为该网络关键的有效活性成分,推测在 EPO 干预 PCOS 的过程中可能发挥着重要作用。从网络图中可以看出,部分活性成分具有相同靶点,说明各有效成分具有协同作用。



2.3 EPO 与 PCOS 交集靶点 PPI 网络分析

采用 EPO 和 PCOS 的共同靶点构建 PPI 网络图,如图 3A 所示,通过 Cytoscape 3. 10. 2 中的 cytoHubba 插件,进行拓扑学参数筛选,以 degree 值排序得到核心靶点 25 个:TNF、EGFR、AKT1、PTEN、HRAS、MAPK1、KRAS、ICAM1、NRAS、KDR、MCL1、BRAF、MAP2K2、MAP2K1、FGFR1、PDGFR1、ACE、PTPRF、HSPA1A、CD81、ACE2、NOS2、NR4A1、NAAA、MGLL,如图 3B 所示。



注:A:EPO 与 PCOS 的共同靶点 PPI 网络;B:EPO 与 PCOS 的核心靶点。

图 3 EPO 与 PCOS 靶点

Note. A. PPI network of the common target of EPO and PCOS. B. Core target of EPO and PCOS.

Figure 3 EPO and PCOS targets

表 1 Degree 值前 10 的 EPO 活性成分	
Table 1 Top 10 EPO active ingredients with degree values	
度值 Degree	名称 Name
133	辛酸乙酯 Ethyl octanoate
131	亚油酸甲酯 Methyl linoleate
125	γ -亚麻酸甲酯 Methyl γ -linolenate
123	亚油酸 Linoleic acid
119	γ -亚麻酸 γ -linolenic acid
119	棕榈油酸乙酯 Ethyl palmitoleate
118	亚麻醇 Linseed alcohol
115	癸酸乙酯 Ethyl decanoate
114	亚油酸乙酯 Ethyl linoleate
106	棕榈油酸甲酯 Methyl palmitoleate

2.4 关键靶点基因 GO 功能及 KEGG 富集分析

在 GO 富集分析结果中,EPO 改善 PCOS 大鼠主动脉血管功能障碍从 BP 方面主要富集到上皮细胞增殖的正向调控、上皮细胞增殖的调节、内皮细胞增殖的调节等方面;在 MF 方面涉及生长因子结合、G 蛋白偶联受体活性等方面;在 CC 方面富集到膜筏等。结果按照排序选取前 30 条,如图 4 所示。

对 EPO 改善 PCOS 大鼠主动脉血管功能障碍的关键靶点基因进行 KEGG 通路分析,得到 261 条信号通路,排序前 30 的核心通路如图 5 所示。主要富集在丝裂原活化蛋白酶 (mitogen-activated protease, MAPK)、RAS、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 等通路。

2.5 分子对接

为进一步验证 EPO 干预 PCOS 的分子机制,利用 UniProt 数据库检索 EPO 核心成分 2D 结构,

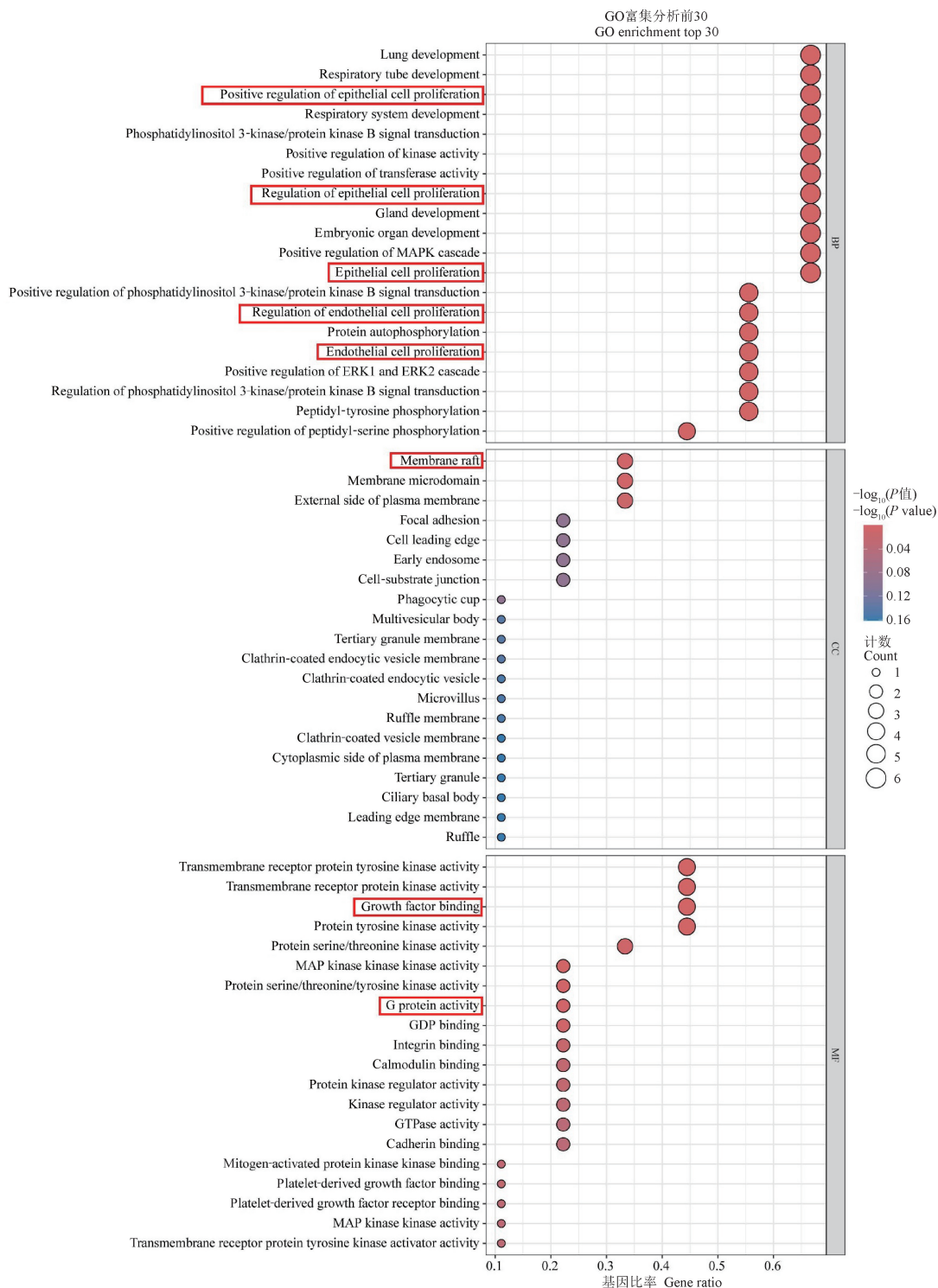


图4 EPO改善PCOS大鼠主动脉内皮损伤关键靶点的GO分析(前30)

Figure 4 GO analysis of key targets of EPO to improve aortic endothelial injury in PCOS rats (top 30)

使用 Chem3D 14.0.0.17 软件绘制 3D 结构并运行使其能量最小化,利用 RCSBPDB 数据库下载核心蛋白 3D 结构,使用 Pymol 3.1.3 软件去除水分子及配体生成 PDB 文件,使用 Autodock vina 1.2.5 软件通过对核心靶点 TNF- α 、Ang I、

Ang II 与 degree 值前 4 的有效活性成分辛酸乙酯、亚油酸甲酯、 γ -亚麻酸甲酯、亚油酸进行分子对接,如图 6 所示,预测小分子配体和蛋白受体结合模式并估算结合强弱,表 2 所示为 EPO 治疗 PCOS 的关键活性成分与目标靶点的结合能。

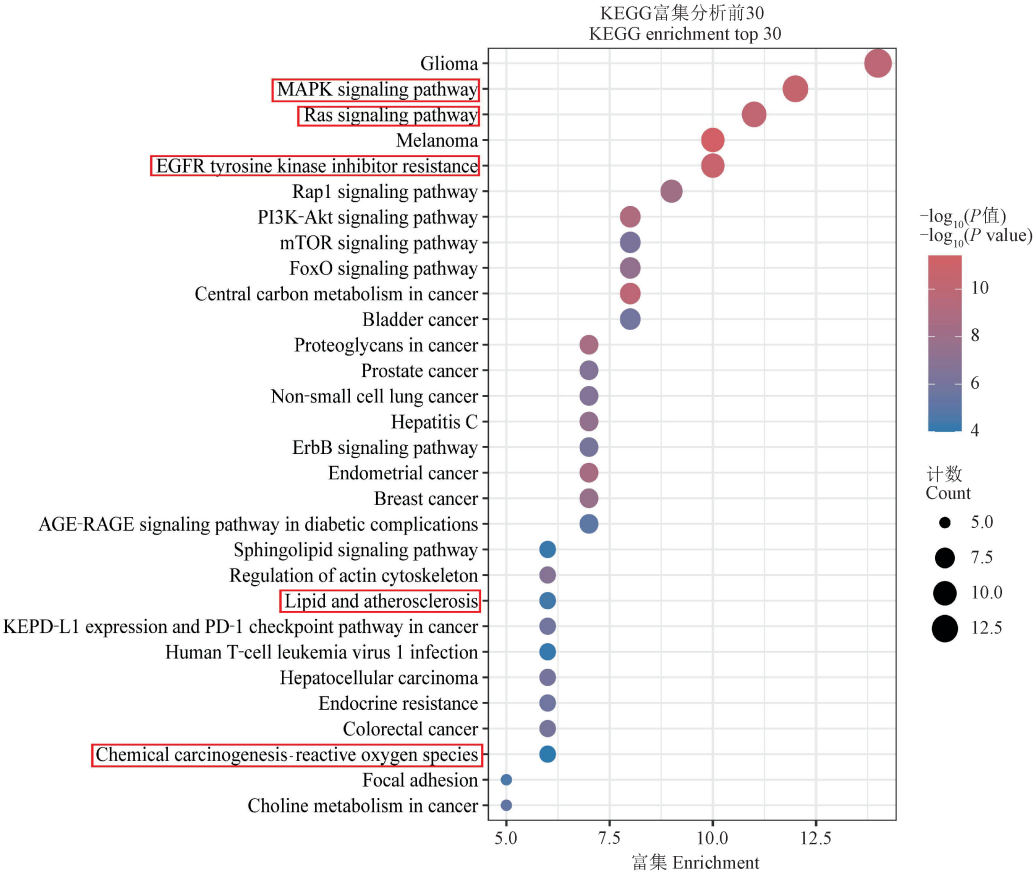


图5 EPO 改善 PCOS 大鼠主动脉内皮损伤关键靶点的 KEGG 分析(前 30)

Figure 5 KEGG analysis of key targets of EPO to improve aortic endothelial injury in rats with PCOS (top 30)

2.6 PCOS 大鼠卵巢病理改变

如图 7、表 3 所示,对照组大鼠卵巢 HE 染色后在光镜下观察,见发育时期不同的初级卵泡、次级卵泡、黄体。与对照组比较,模型组大鼠卵巢内初级卵泡数目及成熟卵泡数目降低,囊状卵泡数增多,卵泡内放射冠消失,颗粒细胞层数减少,符合临床患者指征。EPO 低、高剂量组及阳性药物组初级卵泡及成熟卵泡数目增加,囊状卵泡数目减少,均具有统计学意义($P < 0.01$),提示造模成功,EPO 可有效改善卵巢结构紊乱。

2.7 EPO 对 PCOS 大鼠体质量及大鼠血压的影响

2.7.1 EPO 对大鼠体质量的影响

如表 4 所示,与对照组比较,模型组体质量在 EPO 治疗前升高,具有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,阳性药物组、EPO 低剂量组、EPO 高剂量组在治疗前体质量,无统计学意义($P > 0.05$);治疗后 EPO 低剂量组、EPO 高剂量组体质量较模型组均有所下降,具有统计学意义($P < 0.01$);阳性药物组体质量较模型组有所下降,具

表 2 EPO 治疗 PCOS 的关键活性成分与目标靶点的结合能

EPO 主要成分 EPO main ingredients	结合能/(kcal/mol) Binding energy/(kcal/mol)		
	TNF-α	Ang I	Ang II
辛酸乙酯 Ethyl octanoate	-4.0	-4.6	-4.5
亚油酸甲酯 Methyl linoleate	-4.0	-4.4	-5.4
γ-亚麻酸甲酯 Methyl γ-linolenate	-4.5	-5.2	-5.2
亚油酸 Linoleic acid	-3.9	-4.0	-5.3

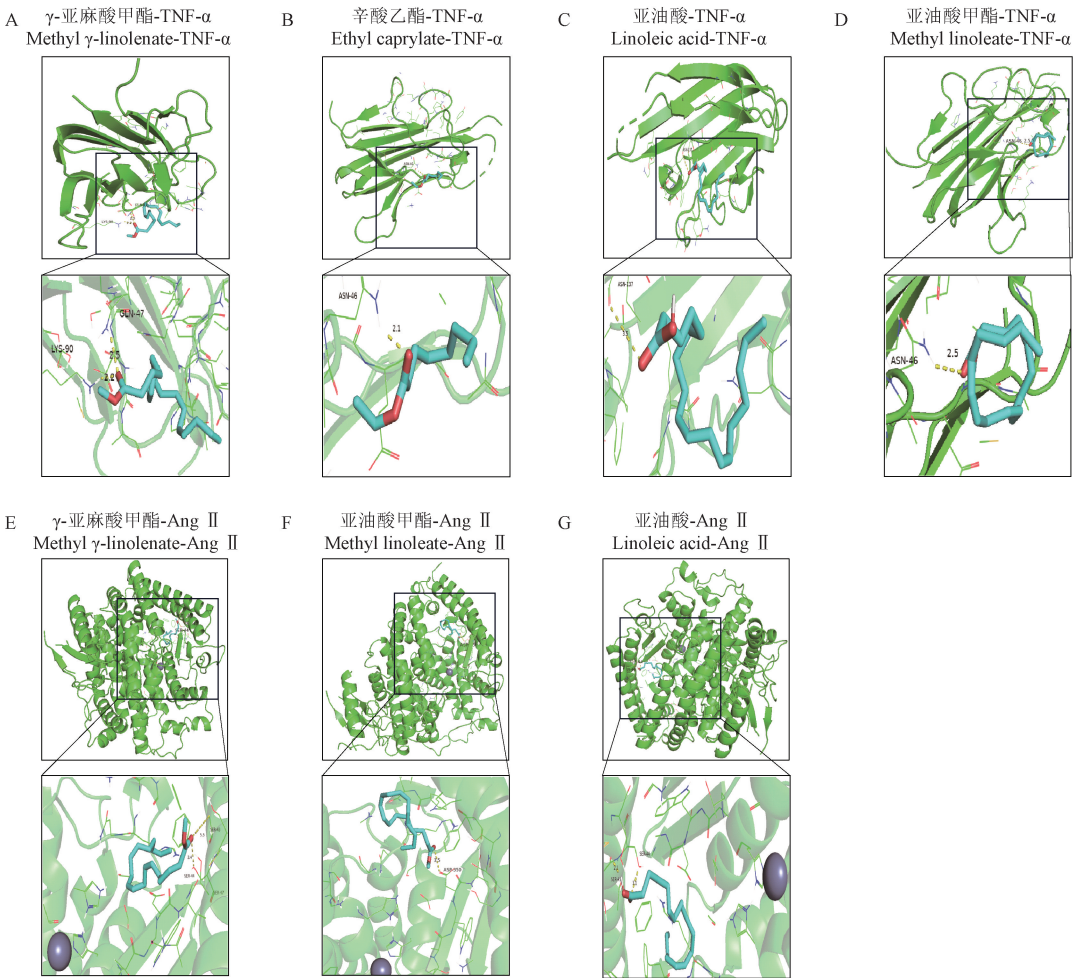


表 3 EPO 对各组大鼠卵泡数量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of EPO on the number of follicles of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Groups	各级卵泡总数数量/个 Total number of follicles at all levels/pcs	初级卵泡数量/个 Number of primary follicle/pcs	囊状卵泡数量/个 Number of cystic follicle/pcs
对照组 Control group	14.40 ± 1.26**	12.00 ± 0.94**	3.80 ± 1.14**
模型组 Model group	6.70 ± 1.16	3.50 ± 0.71	12.60 ± 1.58##
阳性药物组 Positive drug group	10.60 ± 1.43**##	6.90 ± 0.88**##	3.60 ± 0.52**
EPO 低剂量组 EPO low group	8.90 ± 0.74**##	7.20 ± 0.63**##	3.50 ± 0.63**
EPO 高剂量组 EPO high group	8.50 ± 0.85**##	6.60 ± 1.43**##	3.20 ± 0.63**

注:与对照组相比,## $P < 0.05$;与模型组相比,** $P < 0.01$ 。(下图/表同)
Note. Compared with control group, ## $P < 0.05$. Compared with model group, ** $P < 0.01$. (The same in the following figures and tables)

表 4 EPO 对各组大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10, g$)

Table 4 Effect of EPO on body mass of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 10, g$)

组别 Groups	初始体质量 Initial body mass	治疗前体质量 Pre-treatment body mass	治疗后体质量 Post-treatment body mass
对照组 Control group	178.00 ± 5.26	452.00 ± 5.23**	570.00 ± 4.14**
模型组 Model group	180.00 ± 4.67	472.00 ± 2.87##	592.00 ± 2.87##
阳性药物组 Positive drug group	181.00 ± 6.02	463.00 ± 5.75#	582.00 ± 3.09**
EPO 低剂量组 EPO low group	179.00 ± 5.57	469.00 ± 2.42##	578.00 ± 3.67**
EPO 高剂量组 EPO high group	177.00 ± 8.90#	467.00 ± 3.23##	578.00 ± 4.87**

注:与对照组相比,# $P < 0.05$;与模型组相比,* $P < 0.05$ 。(下图/表同)
Note. Compared with control group, # $P < 0.05$. Compared with model group, * $P < 0.05$. (The same in the following figures and tables)

药后阳性药物组、EPO 低剂量组、EPO 高剂量组收缩压均显著降低,具有统计学意义($P < 0.01$)。

2.7.3 EPO 对舒张压的影响

如表 6 所示,与对照组比较,治疗前模型组舒张压明显升高,具有统计学意义($P < 0.05$),与模型组比较,阳性药物组、EPO 低剂量组、EPO 高剂量组舒张压,无统计学意义($P > 0.05$);治疗后阳性药物组、EPO 低剂量组舒张压较模型组均显著降低,具有统计学意义($P < 0.01$),EPO 高剂量组舒张压较模型组有所降低,具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.8 EPO 对 PCOS 大鼠血清指标的影响

如表 7 所示,与对照组比较,模型组大鼠血清中 FSH、LH、T、显著增高,具有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,EPO 低、高剂量组及阳性

药物组血清中 FSH、LH、T 均显著降低,具有统计学意义($P < 0.01$)。以上结果表明 PCOS 大鼠血清性激素水平发生紊乱,符合 PCOS 模型激素变化特征,经过不同剂量的 EPO 治疗后性激素水平恢复。

如表 8 所示,与对照组比较,模型组大鼠血清中 TNF- α 显著增高($P < 0.01$),ET-1 增高($P < 0.05$),NO 显著降低,具有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,EPO 低、高剂量组及阳性药物组血清中 TNF- α 均显著降低,具有统计学意义($P < 0.01$);EPO 高剂量组 ET-1 水平降低($P < 0.05$),EPO 低剂量组和阳性药物组 ET-1 水平显著降低,具有统计学意义($P < 0.01$);EPO 低、高剂量组及阳性药物组血清中 NO 显著升高,具有统计学意义($P < 0.01$)。以上结果表明 PCOS

表 5 EPO 对各组大鼠收缩压的影响($\bar{x} \pm s, n = 10, mmHg$)

Table 5 Effect of EPO on systolic blood pressure in each group of rats($\bar{x} \pm s, n = 10, mmHg$)

组别 Groups	初始收缩压 Initial systolic blood pressure	治疗前收缩压 Pre-treatment systolic blood pressure	治疗后收缩压 Post-treatment systolic blood pressure
对照组 Control group	122.60 ± 5.26	122.70 ± 6.45**	123.07 ± 4.03**
模型组 Model group	123.44 ± 3.67	161.06 ± 5.06##	162.42 ± 5.53##
阳性药物组 Positive drug group	123.33 ± 3.02	158.60 ± 5.87##	138.75 ± 5.45***
EPO 低剂量组 EPO low group	123.90 ± 2.56	159.23 ± 5.44##	119.96 ± 7.17**
EPO 高剂量组 EPO high group	123.70 ± 2.90	157.60 ± 0.87##	126.80 ± 3.09**

表 6 EPO 对各组大鼠舒张压的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$, mmHg)

Table 6 Effect of EPO on diastolic blood pressure in each group of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$, mmHg)

组别 Groups	初始舒张压 Initial diastolic blood pressure	治疗前舒张压 Pre-treatment diastolic blood pressure	治疗后舒张压 Post-treatment diastolic blood pressure
对照组 Control group	82.09 ± 0.23	85.45 ± 9.48 [*]	85.10 ± 5.45 ^{**}
模型组 Model group	89.77 ± 7.52	103.56 ± 7.86 [#]	107.25 ± 8.85 ^{##}
阳性药物组 Positive drug group	92.21 ± 3.54	99.33 ± 8.56	85.34 ± 7.66 ^{**}
EPO 低剂量组 EPO low group	86.75 ± 7.33	99.30 ± 10.16	79.60 ± 8.24 ^{**}
EPO 高剂量组 EPO high group	86.89 ± 2.41	99.63 ± 6.73	88.60 ± 5.89 [*]

表 7 EPO 对 PCOS 大鼠血清 FSH、LH 和 T 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 7 Effect of EPO on serum levels of FSH, LH and T in rats with PCOS($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别 Groups	FSH/(mU/mL)	LH/(mU/mL)	T/(ng/mL)
对照组 Control group	4.62 ± 0.05 ^{**}	5.32 ± 0.06 ^{**}	1.18 ± 0.02 ^{**}
模型组 Model group	6.19 ± 0.03 ^{##}	11.76 ± 0.06 ^{##}	2.75 ± 0.05 ^{##}
阳性药物组 Positive drug group	5.09 ± 0.09 ^{**##}	8.45 ± 0.22 ^{**##}	1.63 ± 0.10 ^{**##}
EPO 低剂量组 EPO low group	4.95 ± 0.12 ^{**##}	9.48 ± 0.24 ^{**##}	1.94 ± 0.14 ^{**##}
EPO 高剂量组 EPO high group	5.91 ± 0.14 ^{**##}	9.80 ± 0.14 ^{**##}	1.83 ± 0.12 ^{**##}

表 8 EPO 对 PCOS 大鼠血清 TNF-α、NO 和 ET-1 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 8 Effect of EPO on serum levels of TNF-α, NO and ET-1 in rats with PCOS($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别 Groups	TNF-α/(ng/mL)	NO/(μmol/L)	ET-1/(ng/mL)
对照组 Control group	4.65 ± 0.09 ^{**}	10.72 ± 0.91 ^{**}	58.68 ± 2.81 [*]
模型组 Model group	8.98 ± 0.11 ^{##}	6.55 ± 1.13 ^{##}	63.95 ± 1.12 [#]
阳性药物组 Positive drug group	7.37 ± 0.53 ^{**##}	11.23 ± 0.15 ^{**}	56.75 ± 0.16 ^{**}
EPO 低剂量组 EPO low group	6.68 ± 0.53 ^{**##}	11.16 ± 0.72 ^{**}	54.65 ± 0.35 ^{**}
EPO 高剂量组 EPO high group	5.13 ± 0.15 ^{**}	13.26 ± 0.84 ^{**}	58.05 ± 0.74 [*]

大鼠 NO 与 ET-1 激素水平失衡,显示 PCOS 大鼠主动脉血管损伤,经过不同剂量的 EPO 治疗后激素水平恢复,血管损伤得到修复。

2.9 EPO 对 PCOS 大鼠主动脉血管组织形态学的影响

2.9.1 HE 染色结果

由 HE 染色(图 8)可见:与对照组比较,模型组大鼠主动脉血管内皮组织出现凸起与凹陷,且血管组织的中膜明显增厚,细胞排列紊乱,表明模型组血管细胞之间生物排列出现了异常;对照组大鼠主动脉血管结构完整,内皮光滑平整,动脉中膜平滑肌细胞呈连续的规则排列;阳性药物组大鼠主动脉中膜细胞排列明显紊乱,EPO 低、高剂量治疗组大鼠的主动脉较 PCOS 模型组大鼠主动脉,血管内皮的形态得到一定的改善,主动脉血管内皮组织较为平滑,血管中膜的平滑肌细胞的排列基本得到恢复。表明不同剂量的 EPO

可以改善 PCOS 大鼠血管形态。

2.9.2 IHC 检测各组血管内皮相关因子及 RAS 通路相关因子表达及定位

由图 9、图 10 可知,VEGF-B、AT₂R 以及 Ang II 主要分布在大鼠主动脉中的内皮组织以及外膜组织中,而主动脉中膜中分布较少;Ang I 及 CD31 在各组大鼠的主动脉中主要分布于血管内皮细胞中;经过分析可知:与对照组相比,Ang I、VEGF-B、AT₂R 在模型组大鼠主动脉内皮中高表达,Ang II、CD31 在模型组大鼠主动脉内皮中低表达,均具有统计学意义($P < 0.01$);经过不同剂量的 EPO 治疗后均有所恢复。以上结果表明经过不同剂量的 EPO 治疗后,VEGF-B、CD31 表达产生相应变化使血管功能损伤有所改善,初步表明 EPO 可以通过影响血管紧张素系统相关蛋白 Ang I、Ang II、AT₂R 的表达以改善 PCOS 大鼠主动脉血管损伤。

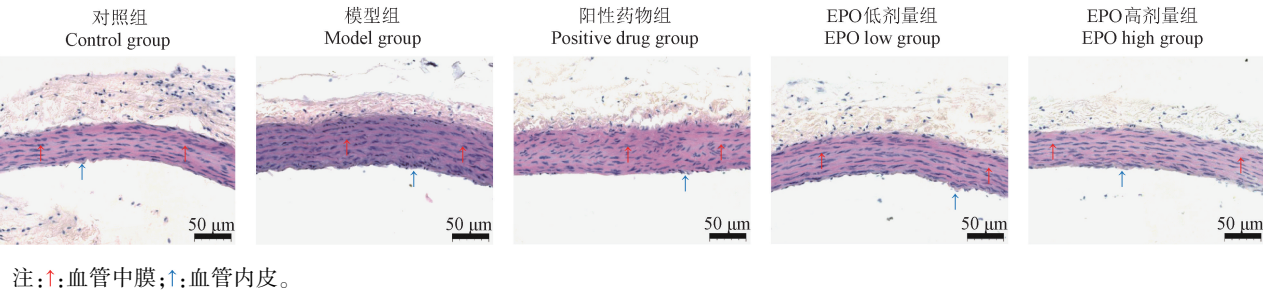
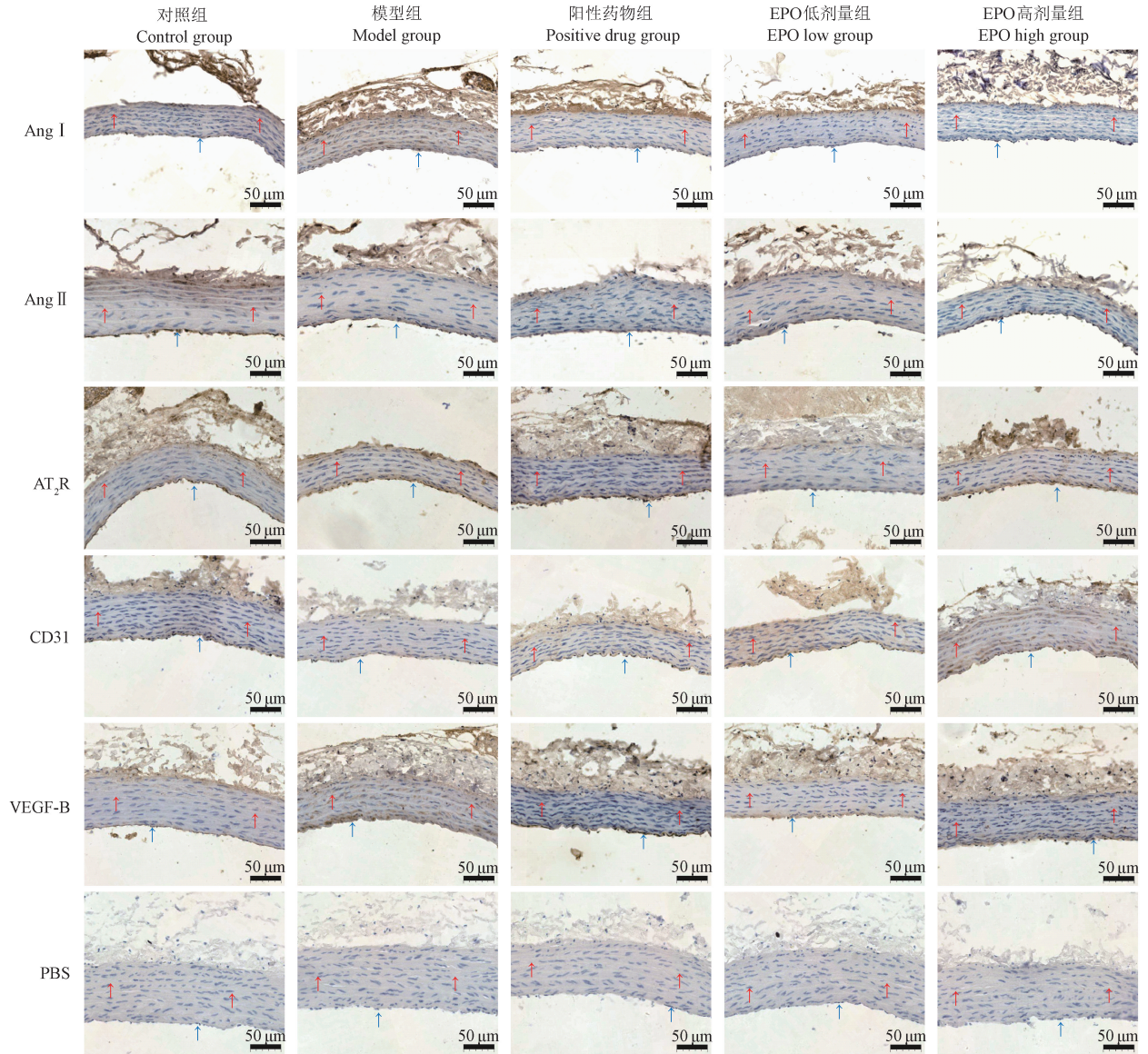


图 8 各组大鼠主动脉形态 HE 染色

Note. ↑. Vascular media. ↑. Vascular endothelium.

Figure 8 HE staining of aortic morphology in each group of rats



注: ↑: 血管中膜; ↑: 血管内皮。

图 9 各组大鼠主动脉各因子的阳性表达情况

Note. ↑. Vascular media. ↑. Vascular endothelium.

Figure 9 Positive expression of aortic factors of rats in each group

2.10 Western Blot 检测各组血管相关蛋白表达量

由图 11 可知 PCOS 模型组与对照组相比, ET-1、VEGF-B 的蛋白表达量均显著上升, 具有统计学意义($P < 0.01$), CD31、内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 显著降低, 具有统计学意义($P < 0.01$)。经过低、高剂量的 EPO 治疗后, 与模型组相比, ET-1、VEGF-B 的表达量均显著降低, 具有统计学意义($P < 0.01$), EPO 高剂量组 CD31、eNOS 显著上升, 具有统计学意义($P < 0.01$), EPO 低剂量组 CD31 显著上升, 具有统计学意义($P < 0.01$), 表明 EPO 可以改善 PCOS 大鼠的血管内皮细胞增殖, 降低内皮损伤。经过阳性药物治疗后与模型组相比, 阳性药物组 CD31 的表达量上升, 具有统计学意义($P < 0.05$), eNOS 表达量显著上升, 具有统计学意义($P < 0.01$), VEGF-B 的表达量降低, 具有统计学意义($P < 0.05$), ET-1 的表达量显著降低, 具有统计学意义($P < 0.01$)。以上结果表明 EPO 及

阳性药物二甲双胍可以通过调节 eNOS、ET-1 的表达, 改善 PCOS 大鼠的血管收缩舒张平衡及血管内皮细胞增殖, 改善内皮损伤。

2.11 Western Blot 检测各组网络药理学核心靶点及信号通路相关蛋白表达量

由图 12 可知 PCOS 模型组与对照组相比 TNF- α 、Ang I、AT₂R 的蛋白表达量均显著上升, 具有统计学意义($P < 0.01$), Ang II 显著降低, 具有统计学意义($P < 0.01$)。经过低、高剂量的 EPO 治疗后, 与模型组相比, TNF- α 、Ang I、AT₂R 的表达量均显著降低, 具有统计学意义($P < 0.01$), 而 Ang II 则显著上升, 具有统计学意义($P < 0.01$)。经过阳性药物治疗后与模型组相比, Ang I 的表达量有所上升, 具有统计学意义($P < 0.05$), 而 AT₂R、Ang II、TNF- α 的表达量变化无显著性差异($P > 0.05$)。

综上所述, EPO 可以降低 PCOS 大鼠 TNF- α 的表达, 降低炎症水平, 并且通过降低 Ang I、AT₂R、VEGF-B 及上升 Ang II 的蛋白表达, 改善

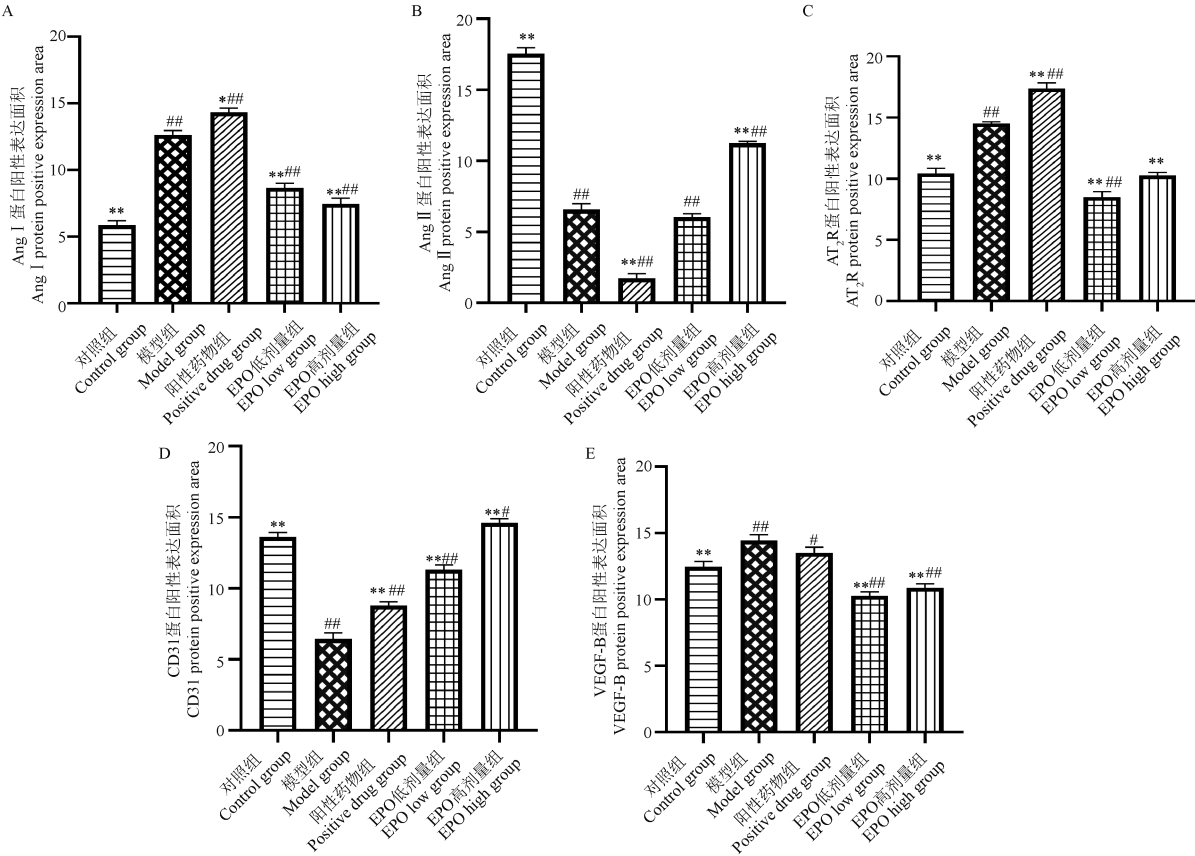


图 10 各组大鼠主动脉各因子的阳性表达情况统计

Figure 10 Statistics of positive expression of each factor in the aorta of rats in each group

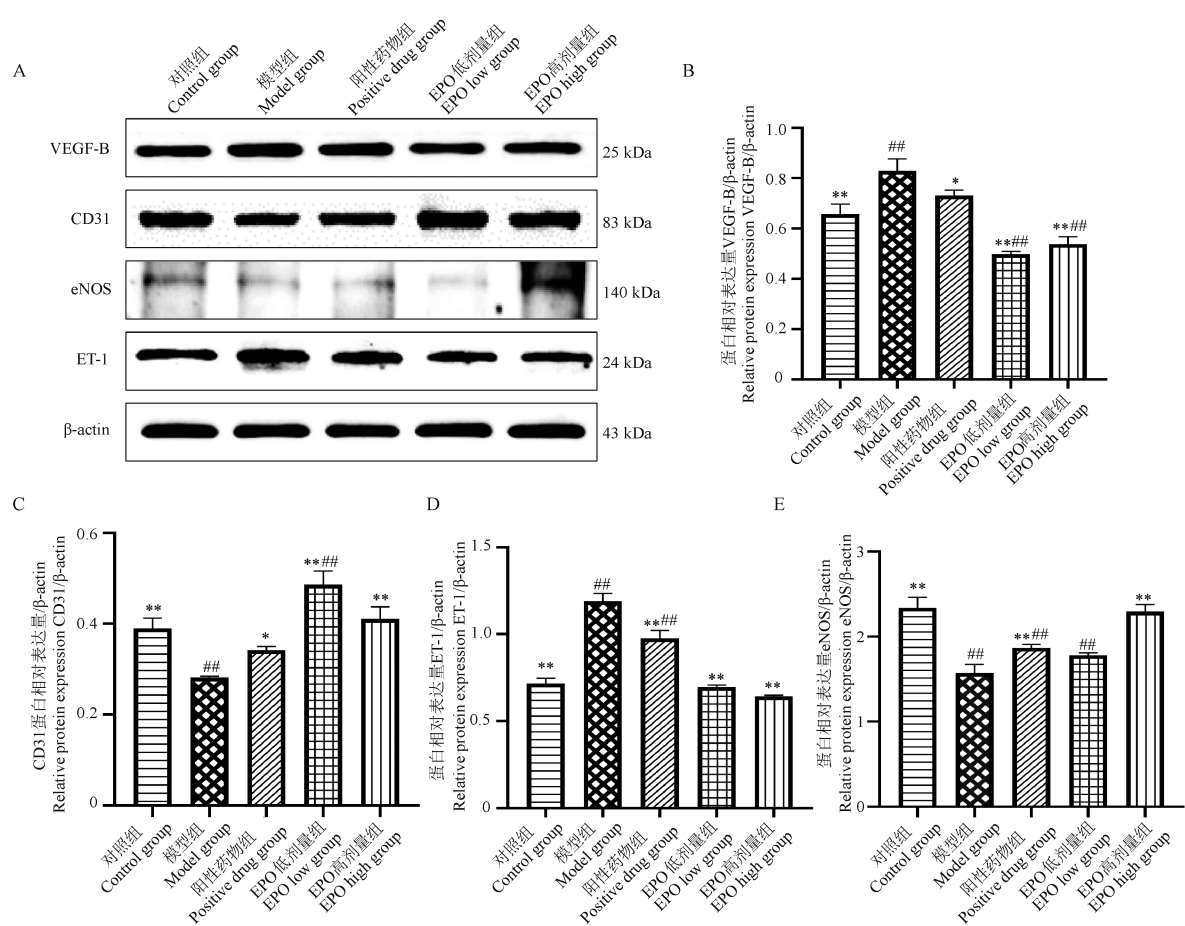


图 11 Western Blot 检测各组大鼠主动脉血管相关蛋白的表达情况

Figure 11 Western Blot detect the expression of aortic vascular-related proteins in each group

血管内皮收缩舒张平衡以及内皮细胞增殖,达到有效改善血管内皮功能的目的。

3 讨论

已有研究显示 PCOS 患者机体内的多条激素代谢途径均有不同程度的异常^[21],影响着女性生殖系统健康^[22]。PCOS 会影响患者的瘦素代谢,引起机体的脂代谢异常,脂肪蓄积诱发患者的血管内皮损伤,进而引发心血管并发症^[23]。本研究选用 EPO 作为治疗药物,其内含多种活性成分,包括 8% ~ 9% 的 γ -亚麻酸^[24],可降低 PCOS 大鼠的炎症反应^[25],同时可增加机体对胰岛素的敏感性,进一步改善高胰岛素血症^[26],降低诱发 PCOS 心血管疾病的危险。而 EPO 降低 PCOS 大鼠炎症,改善主动脉内皮损伤的具体机制尚未完全阐明,故而本研究运用网络药理学及分子对接技术进行研究,并结合体内实验进行验证。

本研究通过网络药理学构建了 EPO“活性成

分-靶点”拓扑网络图,其中度值最高的活性成分依次为辛酸乙酯、亚油酸甲酯、 γ -亚麻酸甲酯和亚油酸;使用生物信息学工具筛选得到“药物-疾病”核心靶点 25 个。经过对靶点 TNF- α 、Ang I、Ang II 与 degree 值前 4 的有效活性成分进行分子对接,预测小分子配体和蛋白受体结合模式并估算结合强弱。GO 富集分析表明 EPO 在 PCOS 大鼠中的作用主要富集到上皮细胞增殖的正向调控、上皮细胞增殖的调节、内皮细胞增殖的调节等方面。KEGG 富集分析发现靶点富集于 MAPK、RAS、EGFR 等通路。表明 EPO 治疗 PCOS 的机制可能与细胞增殖及机体炎症相关,已有证据表明 MAPK 信号通路的激活与动脉粥样硬化的形成密切相关,表明该通路与降低炎症反应,稳定血管增殖有关^[27]。而 RAS 信号通路与 MAPK 信号通路为 VEGF 下游通路常参与血管增殖^[28]及改善机体胰岛素抵抗状态^[29]。基于网络药理学研究得到 EPO 治疗 PCOS 大鼠的核

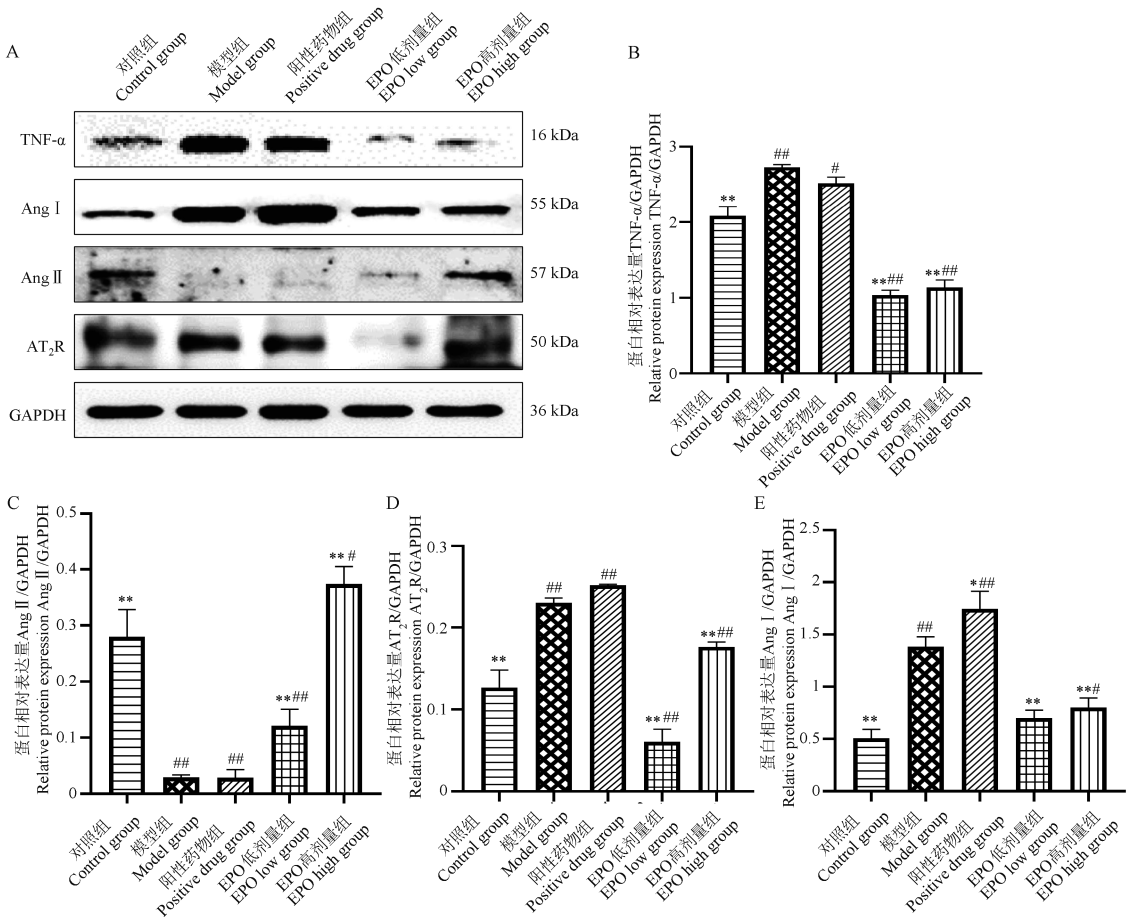


图 12 Western Blot 检测核心靶点及 RAS 通路相关蛋白的表达情况

Figure 12 Western Blot detect the expression of core targets and RAS pathway-related proteins

心靶点及通路后,进一步进行了体内实验验证 RAS 信号通路在 EPO 改善 PCOS 大鼠血管损伤中的作用机制。在脉管系统中,NO 与 ET-1 在血管内皮细胞中发挥主要作用,二者的相对稳定对于调节血管收缩、舒张有着重要的作用^[30],二者表达失衡通常被认为会导致血管内皮损伤,例如继发于内皮功能障碍的 NO 生成减少^[31-32],血管损伤后内皮细胞会分泌过多的内皮素^[33],破坏血管调节稳态。本研究结果显示 eNOS 与 CD31 在模型组中蛋白低表达,而 TNF-α、ET-1、VEGF-B 则表达升高,表明 PCOS 大鼠机体的高炎症状态导致血管收缩、舒张稳态失衡,内皮相关标志物 VEGF-B^[34]、CD31^[35] 表达异常,显示血管内皮损伤,EPO 治疗后 TNF-α 表达降低,PCOS 大鼠炎症水平降低,血管 ET-1 及 eNOS 蛋白表达有所恢复,以上结果表明月见草治疗后血管功能障碍得到改善。

脉管系统相关的疾病发生与 RAS 通路的激

素分泌水平密切相关^[36]。ACE 作为 RAS 系统的关键酶,参与 RAS 系统的多条通路构成。血液中含有的内源性的 Ang II 由 ACE 转化而来,Ang II 是 RAS 系统的核心效应因子之一^[37],其主要功能发挥需要依靠受体 AT₂R、AT₁R,而 AT₂R 的活化对心血管的生理功能调控有重要意义,Ang II 作用于 AT₂ 时,可使缓激肽 B₂ 受体、eNOS 激活,以达到使血管舒张,降低血压的作用效果,同时还具有部分拮抗 AT₁ 受体的作用^[38]。研究结果显示:在 PCOS 模型组大鼠主动脉血管中 AT₂R 蛋白高表达,EPO 治疗后,表达量明显降低,表明 PCOS 大鼠血管存在损伤,EPO 治疗后损伤有所改善。结合以上数据显示 PCOS 模型大鼠血压升高,激活 ACE/Ang (1-7)/Mas 轴^[39],以拮抗 RAS 系统的 ACE/Ang II/AT₁ 轴^[40] 过度活化,因此模型组 Ang I、AT₂R 表达^[41] 升高以维持血管稳态。而 EPO 的有效成分可以抑制 ACE/Ang II/AT₁ 轴过度活化,因此 ACE/Ang (1-7)/Mas 轴的拮抗

作用减弱,使 AT₂R 表达下降至正常水平,Ang II^[42]表达上升,激活 eNOS,使 ET-1 表达下降,以调节血管收缩、舒张稳态,进而达到改善 PCOS 模型大鼠血管功能障碍的作用。

4 结论

综上所述,通过网络药理学筛选到 TNF-α、Ang I、Ang II 等靶点及 RAS 信号通路,以 RAS 信号通路为切入点。通过动物实验验证:EPO 改善了大鼠体质量、血压及血清性激素水平以及 NO、ET-1 的血清及蛋白表达水平,以调节大鼠血管收缩舒张平衡,降低血压;降低了 PCOS 大鼠炎症水平,改善了 PCOS 大鼠主动脉血管内皮损伤,其作用机制是通过抑制 RAS 信号通路 ACE/Ang II/AT₁ 轴过度活化,这为 EPO 应用于临床前预防 PCOS 引起的心血管疾病相关研究提供新思路。

参 考 文 献(References)

[1] SIDDIQI S, MATEEN S, AHMAD R, et al. A brief insight into the etiology, genetics, and immunology of polycystic ovarian syndrome (PCOS) [J]. J Assist Reprod Genet, 2022, 39(11): 2439–2473.

[2] 田玄玄,阮祥燕,杜娟,等. 多囊卵巢综合征女性性功能现状及性功能障碍的危险因素调查分析 [J]. 国际妇产科学杂志, 2021, 48(2): 230–234.

TIAN X X, RUAN X Y, DU J, et al. Investigation and analysis of sexual function in women with polycystic ovary syndrome and their risk factors for sexual dysfunction [J]. J Int Obstet Gynecol, 2021, 48(2): 230–234.

[3] HIRSCHBERG A L. Hyperandrogenism and cardiometabolic risk in pre- and postmenopausal women-what is the evidence? [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2024, 109(5): 1202–1213.

[4] BERBRIER D E, LEONE C A, ADLER T E, et al. Effects of androgen excess and body mass index on endothelial function in women with polycystic ovary syndrome [J]. J Appl Physiol (1985), 2023, 134(4): 868–878.

[5] STENER-VICTORIN E, TEEDE H, NORMAN R J, et al. Polycystic ovary syndrome [J]. Nat Rev Dis Primers, 2024, 10(1): 27.

[6] 贾远航,江义霞,何振华,等. SENP-1/HIF-1α 通路对慢性间歇性低氧诱导大鼠血管内皮损伤的影响 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2024, 50(4): 1026–1034.

JIA Y H, JIANG Y X, HE Z H, et al. Effect of SENP-1/HIF-1α pathway on vascular endothelial injury in rats with

chronic intermittent hypoxia [J]. J Jilin Univ (Med Ed), 2024, 50(4): 1026–1034.

[7] 高慧慧,钱贝冉,倪艳,等. 多囊卵巢综合征发病机制研究进展 [J]. 四川大学学报(医学版), 2024, 55(4): 1049–1054.

GAO H H, QIAN B R, NI Y, et al. Research progress in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome [J]. J Sichuan Univ (Med Sci), 2024, 55(4): 1049–1054.

[8] RUDNICKA E, SUCHTA K, GRYMOWICZ M, et al. Chronic low grade inflammation in pathogenesis of PCOS [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(7): 3789.

[9] LAJTAI K, NAGY C T, TARSZABÓ R, et al. Effects of vitamin D deficiency on proliferation and autophagy of ovarian and liver tissues in a rat model of polycystic ovary syndrome [J]. Biomolecules, 2019, 9(9): 471.

[10] MASSZI G, BENKO R, CSIBI N, et al. Endothelial relaxation mechanisms and nitrative stress are partly restored by Vitamin D3 therapy in a rat model of polycystic ovary syndrome [J]. Life Sci, 2013, 93(4): 133–138.

[11] MERT H, İRAK K, ÇIBUK S, et al. The effect of evening primrose oil (*Oenothera biennis*) on the level of adiponectin and some biochemical parameters in rats with fructose induced metabolic syndrome [J]. Arch Physiol Biochem, 2022, 128(6): 1539–1547.

[12] SHARIFI M, NOURANI N, SANAIE S, et al. The effect of *Oenothera biennis* (evening primrose) oil on inflammatory diseases: a systematic review of clinical trials [J]. BMC Complement Med Ther, 2024, 24(1): 89.

[13] HERRERA J L, KOMATSU M. R-ras deficiency in pericytes causes frequent microphthalmia and perturbs retinal vascular development [J]. J Vasc Res, 2021, 58(4): 252–266.

[14] BUTLER A E, MOIN A S M, SATHYAPALAN T, et al. Vitamin D association with the renin angiotensin system in polycystic ovary syndrome [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2021, 214: 105965.

[15] KAZEMI F, MASOUMI S Z, SHAYAN A, et al. The effect of evening primrose oil capsule on hot flashes and night sweats in postmenopausal women: a single-blind randomized controlled trial [J]. J Menopausal Med, 2021, 27(1): 8–14.

[16] MOGHADAM M Y, NEMAT-SHAHI M, SOROOSH D, et al. Effect of evening primrose oil on postoperative pain after appendectomy: a double-blind, randomized, clinical trial [J]. Biomedicine (Taipei), 2020, 10(1): 28–32.

[17] 李洁. 月见草油对大鼠多囊卵巢综合征模型的影响 [D]. 十堰: 湖北医药学院; 2024.

LI J. The effect of total flavonoids of evening primrose oil on rat model of polycystic ovary syndrome [D]. Shiyan: Hubei

- University of Medicine; 2024.
- [18] 虎娜, 孙苗, 邢莎莎, 等. 月见草油抵抗多囊卵巢综合征大鼠卵巢氧化应激 [J]. 山东大学学报(医学版), 2022, 60(5): 22-30.
- HU N, SUN M, XING S S, et al. Evening primrose oil resists oxidative stress in the ovaries of rats with polycystic ovary syndrome [J]. J Shandong Univ (Health Sci), 2022, 60(5): 22-30.
- [19] ZHANG M, YU X, LI D, et al. Nrf2 signaling pathway mediates the protective effects of daphnetin against D-galactose induced-premature ovarian failure [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 810524.
- [20] 陈苗, 马会明, 陈冬梅, 等. 基于 AMPK/SIRT1/SIRT3 信号通路探讨健脾益肾化浊方治疗多囊卵巢综合征大鼠的机制 [J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(10): 5452-5456.
- CHEN M, MA H M, CHEN D M, et al. Discussion on the mechanism of Jianpi Yishen Huazhuo Formula in the treatment of polycystic ovary syndrome rats based on the AMPK/SIRT1/SIRT3 signaling pathway [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2024, 39(10): 5452-5456.
- [21] MEIER R K. Polycystic ovary syndrome [J]. Nurs Clin North Am, 2018, 53(3): 407-420.
- [22] 高玲, 郭飞, 黄荷凤. 关注多囊卵巢综合征起源的心血管损伤新机制 [J]. 科学通报, 2024, 69(13): 1674-1676.
- GAO L, GUO F, HUANG H F. New insight: the mechanism of cardiovascular injury in polycystic ovary syndrome [J]. Chin Sci Bull, 2024, 69(13): 1674-1676.
- [23] BARANOVA A, TRAN T P, AFENDY A, et al. Molecular signature of adipose tissue in patients with both non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and polycystic ovarian syndrome (PCOS) [J]. J Transl Med, 2013, 11: 133.
- [24] KHORSHIDI M, ZAREZADEH M, MORADI MOGHADDAM O, et al. Effect of evening primrose oil supplementation on lipid profile: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials [J]. Phytother Res, 2020, 34(10): 2628-2638.
- [25] D PRABHU Y, VALSALA GOPALAKRISHNAN A. γ -Linolenic acid ameliorates DHEA induced pro-inflammatory response in polycystic ovary syndrome via PPAR- γ signaling in rats [J]. Reprod Biol, 2020, 20(3): 348-356.
- [26] XU Y, ZHOU Z, ZHANG G, et al. Metabolome implies increased fatty acid utilization and histone methylation in the follicles from hyperandrogenic PCOS women [J]. J Nutr Biochem, 2024, 125: 109548.
- [27] 刘继东, 樊程程, 王天朗, 等. 化痰祛痰方调控 MAPK 通路对 AS 小鼠主动脉巨噬细胞的影响及机制研究 [J]. 时珍国医国药, 2024, 35(6): 1357-1360.
- LIU J D, FAN C C, WANG T L, et al. Effect and mechanism of Huayu Qutan Fang's regulation of MAPK pathway on aortic macrophages in AS mice [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2024, 35(6): 1357-1360.
- [28] 常韦, 李伟莉, 陆莎莎. 基于 VEGFR2 介导的 Ras/MAPK 信号通路探讨补肾安胎冲剂治疗复发性流产的作用机制 [J]. 海南医学院学报, 2021, 27(9): 672-678.
- CHANG W, LI W L, LU S S. VEGFR2 mediated Ras/MAPK signaling pathway to explore the mechanism of Bushen Antai Granule in the treatment of recurrent abortion [J]. J Hainan Med Univ, 2021, 27(9): 672-678.
- [29] 唐思诗. 电针刺激对胰岛素抵抗模型大鼠 Ras-MAPK 信号转导通路的影响 [D]. 成都: 成都中医药大学; 2015.
- TANG S S. The influence of electroacupuncture on Ras-MAPK insulin signal transduction pathway of insulin resistant rat [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine; 2015.
- [30] JENKINS H N, RIVERA-GONZALEZ O, GIBERT Y, et al. Endothelin-1 in the pathophysiology of obesity and insulin resistance [J]. Obes Rev, 2020, 21(12): e13086.
- [31] ZHANG H, ZHANG Y, WANG X, et al. Effects of different nitric oxide synthases on pulmonary and systemic hemodynamics in hypoxic stress rat model [J]. Anim Model Exp Med, 2025, 8(2): 344-352.
- [32] 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.
- [33] BANECKI K M R M, DORA K A. Endothelin-1 in health and disease [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(14): 11295.
- [34] DAGHESTANI M H, DAGHESTANI M H, WARSY A, et al. Adverse effects of selected markers on the metabolic and endocrine profiles of obese women with and without PCOS [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 12: 665446.
- [35] 王浙宇, 许懿, 赵昌波, 等. 中性粒细胞胞外陷阱网通过促进 STAT3 磷酸化诱导内皮细胞凋亡参与下肢动脉再狭窄 [J]. 同济大学学报(医学版), 2024, 45(6): 802-810.
- WANG Z Y, XU Y, ZHAO C B, et al. Neutrophil extracellular traps activate STAT3 to promote apoptosis of endothelial cells in restenosis of lower extremity artery [J]. J Tongji Univ (Med Sci), 2024, 45(6): 802-810.
- [36] PEREIRA V M, REIS F M, CASALECHI M, et al. Angiotensin-(1-7), angiotensin-converting enzyme 2 and mas receptor in rat polycystic ovaries [J]. Protein Pept Lett, 2021, 28(3): 249-254.
- [37] NORAMBUENA-SOTO I, LOPEZ-CRISOSTO C, MARTINEZ-BILBAO J, et al. Angiotensin-(1-9) in hypertension [J]. Biochem Pharmacol, 2022,

203; 115183.

[38] HASSANI B, ATTAR Z, FIROUZABADI N. The renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) signaling pathways and cancer: foes versus allies [J]. Cancer Cell Int, 2023, 23(1): 254.

[39] 刘林, 李弘, 任卫琼, 等. 天麻苘苈止眩片对自发性高血压大鼠 ACE2/Ang(1-7)/Mas 轴的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2022, 42(5): 611-617.

LIU L, LI H, REN W Q, et al. Effect of Tianma xiongling Zhixuan Tablet on ACE2/ang (1-7)/mas axis in spontaneously hypertensive rats [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2022, 42(5): 611-617.

[40] 宋婷婷, 徐慧, 汪莉, 等. 基于 ACE-Ang II-AT1 轴及 ACE2-Ang(1-7)-Mas 轴探讨原发性高血压的中医证候实质 [J]. 中医杂志, 2021, 62(7): 585-590.

SONG T T, XU H, WANG L, et al. Exploring the essence of traditional Chinese medicine syndromes matched with essential hypertension through ACE-Ang II-AT1 axis and ACE2-Ang(1-7)-mas axis [J]. J Tradit Chin Med, 2021, 62(7): 585-590.

[41] WANG L, CHEN Q, PANG J. The effects and mechanisms of ghrelin upon angiogenesis in human coronary artery endothelial cells under hypoxia [J]. Peptides, 2023, 160: 170921.

[42] MONTEZANO A C, NEVES K B, LOPES R A M, et al. Isolation and culture of endothelial cells from large vessels [J]. Methods Mol Biol, 2017, 1527: 345-348.

[收稿日期] 2024-07-30

《中国实验动物学报》稿约

国内刊号 CN 11-2986/Q 国际刊号 ISSN 1005-4847 邮局代号 2-748

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科,栏目设置包括研究报告、研究快报和进展与综述。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》(北大核心)等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章字数在 6000 字之内。

投稿网址: <http://zgswdw.cnjournals.com/>
期待您的来稿!