

· 配伍 ·

基于Nrf2/SLC7A11/GPX4信号通路探讨栀子-丹参调控铁死亡减轻心肌梗死大鼠心肌重构的机制

陈学嵩¹, 邱荣楠¹, 王圣皓¹, 冯雁¹, 谢举彤¹, 颜瑜文¹, 杨添琳¹,
解长旭², 高磊¹, 沈建平², 沈月红^{1*}

(1. 南京中医药大学 中西医结合学院, 南京 210023;
2. 南京中医药大学 附属中西医结合医院, 南京 210028)

【摘要】 目的:探究栀子-丹参对心肌梗死大鼠心肌铁死亡的影响,并进一步揭示其对心肌重构的作用。**方法:**采用冠状动脉左前降支结扎的方式建立心肌梗死大鼠模型,将造模成功的50只大鼠随机分为模型组,铁死亡抑制剂组($2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),依那普利组($2.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),栀子-丹参低、高剂量组($4, 8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),每组10只。另取10只正常大鼠作为假手术组。干预4周后,心脏彩超观察心脏的结构和功能,苏木素-伊红(HE)染色、马松(Masson)染色观察心脏的病理形态和纤维化情况,酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清N末端B型利钠肽前体(NT-proBNP)、转化生长因子- β (TGF- β)、肌球蛋白重链- β (MHC- β)含量,普鲁士蓝染色检测心肌铁沉积,透射电镜观察心肌线粒体结构,脂质过氧化物试剂盒检测心肌组织丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)水平,免疫荧光法检测大鼠心肌核因子E₂相关因子2(Nrf2)的荧光表达,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测Nrf2/溶质载体家族7成员11(SLC7A11)/谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)通路的蛋白表达。**结果:**与假手术组比较,模型组大鼠心功能指标左室舒张末内径(LVEDD)、左室收缩末内径(LVESD)值及血清NT-proBNP、TGF- β 、MHC- β 水平显著升高($P<0.01$),左室射血分数(LVEF)和左室短轴缩短率(LVFS)值显著下降($P<0.01$),心肌细胞排列紊乱、炎性细胞浸润明显、心肌纤维化程度严重,心肌铁沉积明显增加,线粒体形态不规则、空泡样变,MDA含量显著增加($P<0.01$),GSH水平显著下降($P<0.01$),心肌Nrf2荧光强度明显降低,Nrf2、SLC7A11、GPX4蛋白表达水平显著下降($P<0.01$)。与模型组比较,栀子-丹参可显著降低心肌梗死大鼠LVEDD、LVESD值及血清NT-proBNP、TGF- β 、MHC- β 水平($P<0.05, P<0.01$),提高LVEF、LVFS值($P<0.05, P<0.01$);减轻心肌细胞排列紊乱、炎性细胞浸润、心肌纤维化、铁沉积等病理改变;明显降低MDA含量($P<0.05, P<0.01$),提高GSH水平($P<0.05, P<0.01$);改善心肌线粒体形态、空泡样变;提高Nrf2荧光强度及Nrf2、SLC7A11、GPX4蛋白表达水平($P<0.05, P<0.01$)。**结论:**栀子-丹参通过抑制心肌铁死亡减轻心肌梗死大鼠的病理损伤和心肌重构,其作用机制与Nrf2/SLC7A11/GPX4信号通路的激活有关。

【关键词】 核因子E₂相关因子2(Nrf2)/溶质载体家族7成员11(SLC7A11)/谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)信号通路; 栀子-丹参; 铁死亡; 心肌梗死; 心肌重构

【中图分类号】 R277;R285;R289 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2026)20-0054-09

【doi】 10.13422/j.cnki.syfjx.20260632

【网络出版地址】 <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260324.1038.002>

【网络出版日期】 2026-03-24 17:56:09 **【增强出版附件】** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma Regulates Ferroptosis via Nrf2/SLC7A11/GPX4 Signaling Pathway to Alleviate Myocardial Remodeling in Rat Model of Myocardial Infarction

CHEN Xuesong¹, QIU Rongnan¹, WANG Shenghao¹, FENG Yan¹, XIE Jutong¹, YAN Yuwen¹,
YANG Tianlin¹, XIE Changxu², GAO Lei¹, SHEN Jianping², SHEN Yuehong^{1*}

【收稿日期】 2025-12-19

【基金项目】 国家自然科学基金青年基金项目(82305124, 82304941);国家自然科学基金面上项目(82374203);南京中医药大学国家自然科学基金经费配套项目(XPT82305124);南京中医药大学2025级大学生创新训练计划项目(S202510315003)

【第一作者】 陈学嵩,从事中西医结合疾病诊治研究, E-mail: 2133178461@qq.com

【通信作者】 * 沈月红,博士,讲师,从事中西医结合防治心血管病的基础与临床研究, E-mail: 1436132769@qq.com

- (1. School of Integrative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;
2. Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma on ferroptosis in the rat model of myocardial infarction and further elucidate its role in myocardial remodeling. **Methods:** The rat model of myocardial infarction was established by ligation of the left anterior descending coronary artery. The 50 successfully modeled rats were randomly divided into model group, ferroptosis inhibitor group ($2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), enalapril group ($2.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), and low- and high-dose ($4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ and $8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively) Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma, with 10 rats in each group. The rat model of myocardial infarction was established by ligation of the left anterior descending coronary artery. After 4 weeks of treatment, echocardiography was used to assess the cardiac structure and function. Hematoxylin-eosin (HE) staining and Masson staining were employed to observe pathological morphology and fibrosis of the myocardial tissue. Serum levels of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP), transforming growth factor- β (TGF- β), and myosin heavy chain- β (MHC- β) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Prussian blue staining was performed to detect myocardial iron deposition. The myocardial mitochondrial structure was observed by transmission electron microscopy. Levels of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) in the myocardial tissue were determined by lipid peroxidation assay kits. Immunofluorescence assay was conducted to observe the fluorescence intensity of nuclear factor E₂-related factor 2 (Nrf2) in the myocardial tissue. Western blot analysis was performed to evaluate the expression levels of proteins in the Nrf2/solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11)/glutathione peroxidase 4 (GPX4) pathway. **Results:** Compared with the sham group, the model group showed increased left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), left ventricular end-systolic diameter (LVESD), and serum levels of NT-proBNP, TGF- β , and MHC- β ($P<0.01$), decreased left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fractional shortening (LVFS) ($P<0.01$), disarrangement of myocardial cells, inflammatory cell infiltration, severe myocardial fibrosis, increased myocardial iron deposition, and irregular mitochondrial morphology with vacuolation. Furthermore, the modeling led to increased MDA ($P<0.01$), decreased GSH ($P<0.01$), diminished Nrf2 fluorescence intensity in the myocardial tissue, and downregulated expression levels of Nrf2, SLC7A11, and GPX4 ($P<0.01$). Compared with the model group, Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma reduced the LVEDD, LVESD, and serum levels of NT-proBNP, TGF- β , and MHC- β ($P<0.05$, $P<0.01$), increased the LVEF and LVFS ($P<0.05$, $P<0.01$), alleviated pathological changes such as myocardial cell disarrangement, inflammatory cell infiltration, myocardial fibrosis, and iron deposition, lowered the level of MDA ($P<0.05$, $P<0.01$), raised the level of GSH ($P<0.05$, $P<0.01$), improved the mitochondrial morphology and reduced vacuolation in the myocardial tissue, enhanced Nrf2 fluorescence intensity, and upregulated the expression levels of Nrf2, SLC7A11, and GPX4 ($P<0.05$, $P<0.01$) in the rat model of myocardial infarction. **Conclusion:** Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma alleviates pathological damage and myocardial remodeling in the rat model of myocardial infarction by inhibiting ferroptosis, the mechanism of which is related to the activation of Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling pathway.

[Keywords] nuclear factor E₂-related factor 2/solute carrier family 7 member 11/glutathione peroxidase 4 (Nrf2/SLC7A11/GPX4) signaling pathway; Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma; ferroptosis; myocardial infarction; myocardial remodeling

心肌梗死(简称心梗)作为全球心血管疾病领域的首要致死病因之一,已成为公共卫生体系的重大挑战与疾病负担。近年来我国心梗的发病率、死亡率呈现上升态势,严重威胁患者的生命安全^[1]。心肌细胞的丢失和心肌重塑是心梗后的重要病理环节,也是心梗后心力衰竭发生的关键病理机制。尽管早期的血管再通能够挽救部分濒临坏死的心肌,但无法完全阻止心肌细胞的持续死亡和心脏重构的进程。因此,深入揭示心梗后心肌细胞死亡机制、寻找阻断心肌重构的有效干预靶点,对提升心梗救治水平、改善远期预后具有重要的临床意义。

铁死亡是近年来新发现的一种程序性细胞死

亡形式,可通过铁代谢紊乱、抗氧化系统失衡与脂质过氧化反应促使细胞膜结构破坏、细胞功能衰竭。大量研究证实铁死亡广泛参与心梗、心力衰竭、脓毒性心肌病等多种心血管疾病的病理进程,是心梗后心肌细胞死亡的重要方式之一^[2]。心梗后缺血缺氧微环境可触发心肌细胞铁超载、谷胱甘肽(GSH)耗竭及脂质过氧化物堆积,从而诱发铁死亡,导致存活心肌细胞发生代偿性肥大,加重心肌重构^[3]。因此,靶向抑制铁死亡已成为防治心梗后心肌损伤与重构的新策略。在分子机制上,核因子E₂相关因子2(Nrf2)是调控细胞氧化应激与铁死亡的关键转录因子,激活后可上调谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)、溶质载体家族7成员11(SLC7A11)等下游

靶基因表达,共同维持细胞内氧化还原稳态,从而有效抑制脂质过氧化损伤、延缓铁死亡的进程^[4]。

中医药在冠心病防治中具有整体调节、多靶点协同的独特优势。课题组前期提出“瘀毒互结”是冠心病心肌铁死亡的重要中医病机,活血化瘀、清热解毒是其主要治法^[5]。基于该理论和临证经验,课题组选取临床治疗心血管疾病的常用药对栀子-丹参,该药对以栀子清热解毒、丹参活血化瘀为核心,二者配伍协同增效,契合心肌铁死亡“瘀毒互结”的病机。前期研究证实,栀子活性成分栀子苷可通过富含鸟嘌呤序列的RNA结合因子1(Grsf1)/GPX4通路抑制心肌梗后心肌铁死亡和氧化应激损伤^[6];丹参水溶性成分丹酚酸B可激活Nrf2通路调控铁死亡保护缺血损伤的心肌^[7]。课题组进一步基于《中华人民共和国药典》(2020年版)推荐剂量完成栀子-丹参药对配伍筛选,确定最优配比,证实其可抑制心肌脂质过氧化、上调GPX4表达,有效改善急性心肌缺血铁死亡损伤,发挥协同心肌保护作用^[8]。目前栀子-丹参药对是否通过Nrf2/GPX4/SLC7A11信号通路抑制铁死亡,进而干预心肌梗后心肌重构的分子机制尚未明确。因此,本研究拟从动物水平探讨栀子-丹参抑制铁死亡、改善心肌重构的效应及机制,为中医药靶向铁死亡防治心肌梗后心肌重构提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 SPF级雄性SD大鼠80只,6~8周龄,体质量220~250 g,购自斯贝福(苏州)生物技术有限公司,动物合格证号SCXK(苏)2021-0025,许可证号SYXK(苏)2022-0006。动物饲养于江苏省中医药研究院动物实验中心,分笼饲养,每笼5只,饲养温度为22~24℃,相对湿度为40%~60%,通风良好,专人照顾,自由饮水摄食和活动。所有动物手术前均适应性喂养1周,相关实验流程严格遵照动物实验管理规范。

1.2 伦理 动物实验获江苏省中医药研究院伦理委员会批准(伦理编号AEWC-20240205-371)。

1.3 药物 栀子(重庆三峡云海药业股份有限公司,批号2508012)、丹参(贵州同德药业股份有限公司,批号20250501-01)购自南京中医药大学附属中西医结合医院,经过南京中医药大学附属中西医结合医院药学部童黄锦主任药师鉴定符合标准。准确称取栀子100 g、丹参150 g,加入药材质量10倍量体积的纯净水,水煎2次,滤液混合,浓缩药液至250 mL,相当于生药1 g·mL⁻¹保存备用;依那普利(上

海源叶生物科技有限公司,批号S31566);铁抑素(Ferrostatin-1,美国MCE公司,批号HY-100579)。

1.4 试剂 苏木素-伊红(HE)染液、马松(Masson)染液、普鲁士蓝染液、Nrf2抗体、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为G1003、G1006、G1029、GB113808、GB15003、GB23303);N末端B型利钠肽前体(NT-proBNP)检测试剂盒、转化生长因子- β (TGF- β)检测试剂盒、肌球蛋白重链- β (MHC- β)检测试剂盒(南京有梦生物科技有限公司,批号分别为YM-22167A1、YM-6734A1、YM-7549A1);丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为A003-1、A006-2);GPX4抗体和SLC7A11抗体(英国Abcam公司,批号分别为ab125066、ab175186)。

1.5 仪器 R510-22型小动物呼吸机(深圳市瑞沃德生命科技有限公司);ABS-100型小动物麻醉机(上海玉研科学仪器有限公司);Vevo2100型小动物高频彩色超声仪(加拿大VisualSonics公司);HT7800型透射电子显微镜(日本Hitachi公司);RM2016型病理切片机(上海徕卡仪器有限公司);Allegra™21R Centrifuge型离心机(美国Beckman公司);Infinite M200 PRO型酶标仪(瑞士NanoQuant公司);5200凝胶成像仪(上海天能科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物模型制备、分组及给药 SD大鼠适应性喂养1周,术前12 h禁食禁水后采用冠状动脉左前降支结扎的方式构建心肌梗大鼠模型^[9]。异氟烷吸入麻醉,气管插管连接小动物呼吸机通气,四肢接好心电图机监测心脏电活动。消毒备皮后,用组织剪沿左侧第3、4肋间剪开胸肌,逐层钝性分离后显露胸腔,暴露心脏。在肺动脉圆锥和左心耳交界下方轻轻撕开心包,用持针器夹住5-0带线缝针紧贴左心耳下缘(2~3 mm)结扎冠状动脉左前降支,深度约为1 mm,进针处与出针处间距约为2 mm。造模成功的标志是结扎部位以下左心室前壁由鲜红色变为灰白色,心肌运动减弱,心电图相应导联显示ST段上抬^[10]。将造模成功的50只大鼠随机分为模型组、铁死亡抑制剂组、依那普利组、栀子-丹参低剂量组和栀子-丹参高剂量组,每组10只。另取10只正常大鼠作为假手术组,经历同样的手术步骤,但穿线不结扎。参照课题组前期研究,栀子-丹参低、高剂量组分别给药4、8 g·kg⁻¹剂量灌胃,其中栀子-丹参低剂量组是根据人与大鼠表面积换算所得临床

等效剂量^[8]。铁死亡抑制剂组给予铁抑素 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[11]腹腔注射给药,依那普利组给予依那普利 $2.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[12]灌胃给药,模型组和假手术组给予等体积生理盐水灌胃,连续给药4周。

2.2 动物标本采集 给药结束后,使用1%戊巴比妥钠 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射麻醉大鼠,腹主动脉取血装入离心管后静置2 h,之后以 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min(离心半径8 cm),吸取上清分装放入 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱待测。取血完成后立即打开胸腔,剪下完整的大鼠心脏放入冰上器皿中,用生理盐水快速清洗,纱布擦干后拍照、称质量记录。剪下一部分心脏组织放入4%多聚甲醛中固定,制作病理组织切片;其余 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存用于检测。

2.3 指标检测

2.3.1 超声心动图检测心脏的功能 大鼠给药4周时予以超声心动图检查评估心功能。使用高分辨小动物超声仪器探头,M模式超声心动图评估以下心功能指标:左室舒张末内径(LVEDD)、左室收缩末内径(LVESD)、左室射血分数(LVEF)和左室短轴缩短率(LVFS)。所有原始数据均选择连续测量3个心动周期后计算的平均值。

2.3.2 HE、Masson 染色检测心肌组织病理变化

新鲜的左室心肌组织经4%多聚甲醛充分固定后取出脱水浸蜡处理后进行包埋,然后将冷却的蜡块放在石蜡切片机上切片。进行HE染色,于显微镜下观察心肌细胞的病理形态;进行Masson染色,于显微镜下观察心肌组织胶原纤维(蓝色)的变化。

2.3.3 酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清NT-proBNP、TGF- β 、MHC- β 含量 分装好的大鼠血清按照ELISA试剂盒说明书检测血清中NT-proBNP、TGF- β 、MHC- β 含量。

2.3.4 普鲁士蓝染色检测心肌铁沉积 将制备好的石蜡切片脱蜡至水,进行普鲁士蓝染色,于显微镜下观察心肌组织铁离子阳性细胞(蓝色)的数量。

2.3.5 透射电镜观察心肌线粒体结构 取大鼠左室心肌病灶区新鲜组织,大小约 1 mm^3 ,于电镜固定液中避光固定1.5 h,然后依次放入1%锇酸避光固定2 h、不同浓度乙醇梯度脱水20 min、入纯丙酮2次15 min,经过包埋、切片后入2%醋酸铀溶液避光染色8 min,2.6%枸橼酸铅溶液避二氧化碳染色8 min,清洗、干燥后于透射电镜下观察心肌组织的线粒体结构。

2.3.6 脂质过氧化物试剂盒检测心肌组织MDA、GSH水平 每只大鼠称取心肌组织约300 mg制备

10%组织匀浆 $[3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10min(离心半径82 mm)],将离心后的匀浆上清液按照试剂盒检测说明书测定心肌组织MDA含量和GSH水平。

2.3.7 免疫荧光法检测大鼠心肌Nrf2的荧光表达

心肌组织切片经抗原修复、封闭后孵育Nrf2一抗(1:1 000),PBS清洗后滴加与一抗相应种属的二抗,4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染液复染细胞核,淬灭组织自发荧光、封片后于荧光显微镜下观察Nrf2的表达情况。

2.3.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测Nrf2/GPX4/SLC7A11信号通路关键蛋白的表达 每个样本称取左室前壁心肌组织60~80 mg,经匀浆、裂解、离心处理,吸取上清液,使用Nanodrop1000测定蛋白浓度,水浴锅煮沸使蛋白变性,制备电泳胶,经上样、电泳、转膜、封闭后,分别加入Nrf2、GPX4、SLC7A11一抗(1:1 000)及内参抗体 β -actin(1:100 000), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日TBST洗膜后根据一抗来源加入对应的二抗(1:10 000),室温孵育2 h,使用自动化学发光图像分析系统曝光条带,保存图片进行分析。

2.4 统计学分析 实验定量结果以 $\bar{x}\pm s$ 来表示,采用Graphpad Prism 8.0软件和Microsoft Excel 2019进行数据分析和绘制图表。两组数据比较使用 t 检验,多组数据比较使用单因素方差分析(One-way ANOVA)。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 栀子-丹参对心梗大鼠心脏结构和功能的影响

4周后检测各组大鼠的心功能,结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠心功能指标LVEDD、LVESD值显著升高($P<0.01$),LVEF、LVFS值显著下降($P<0.01$);与模型组比较,铁死亡抑制剂组、依那普利组及栀子-丹参低、高剂量组大鼠LVEDD、LVESD值明显下降($P<0.05$, $P<0.01$),LVEF、LVFS值明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。见表1及增强出版附加材料。

3.2 栀子-丹参对心梗大鼠心脏病理形态和纤维化程度的影响

HE染色结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠心肌细胞排列紊乱,细胞肿胀变形、数量减少,细胞间隙明显增大,胶原纤维增生,大量炎性细胞浸润。与模型组比较,铁死亡抑制剂、依那普利、栀子-丹参给药后心梗大鼠的心肌组织病理损伤程度减轻,纤维组织增生、炎性细胞浸润减少。见图1。Masson染色结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠梗死区心室壁变薄,心肌间质分布有弥漫性蓝色胶原纤维。与模型组比较,各给药组大鼠浸

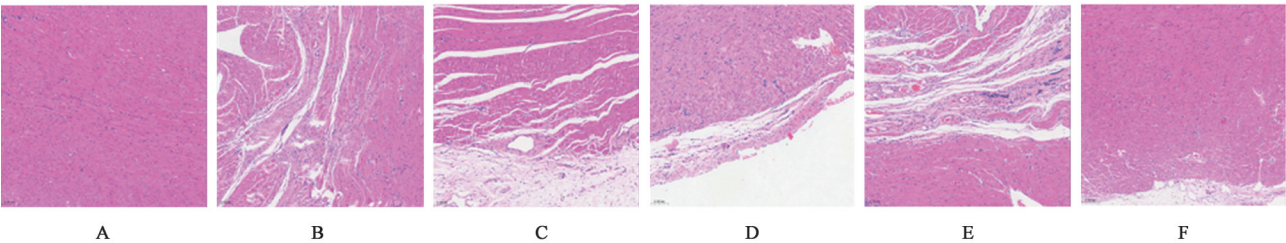
表1 栀子-丹参对心梗大鼠心脏功能指标的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 1 Effect of Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma on cardiac function indicators in rats with myocardial infarction ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	LVEDD/mm	LVESD/mm	LVEF/%	LVFS/%
假手术组		7.05±0.41	3.73±0.21	76.09±3.17	43.68±2.57
模型组		10.41±0.28 ¹⁾	8.75±0.23 ¹⁾	32.55±1.73 ¹⁾	15.90±2.09 ¹⁾
铁死亡抑制剂组	0.002	8.57±0.29 ³⁾	5.99±0.28 ³⁾	55.17±2.05 ³⁾	32.12±1.99 ³⁾
依那普利组	0.002 1	8.29±0.18 ³⁾	5.42±0.24 ³⁾	59.98±2.16 ³⁾	33.77±2.34 ³⁾
栀子-丹参低剂量组	4	9.76±0.56 ²⁾	7.80±0.43 ³⁾	38.91±1.59 ³⁾	20.31±3.16 ²⁾
栀子丹参-高剂量组	8	8.85±0.42 ³⁾	6.24±0.63 ³⁾	55.26±3.49 ³⁾	30.13±3.14 ³⁾

注：与假手术组比较¹⁾ $P<0.01$ ；与模型组比较²⁾ $P<0.05$ ，³⁾ $P<0.01$ (表2-表4同)

润于心肌间质的蓝色胶原纤维的分布范围缩小。 见图2。



注：A.假手术组；B.模型组；C.铁死亡抑制剂组；D.依那普利组；E.栀子-丹参低剂量组；F.栀子-丹参高剂量组(图2-图6同)

图1 栀子-丹参对心梗大鼠心肌组织HE染色的影响 (HE,×400)

Fig. 1 Effect of Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma on HE staining of myocardial tissue in rats with myocardial infarction (HE,×400)

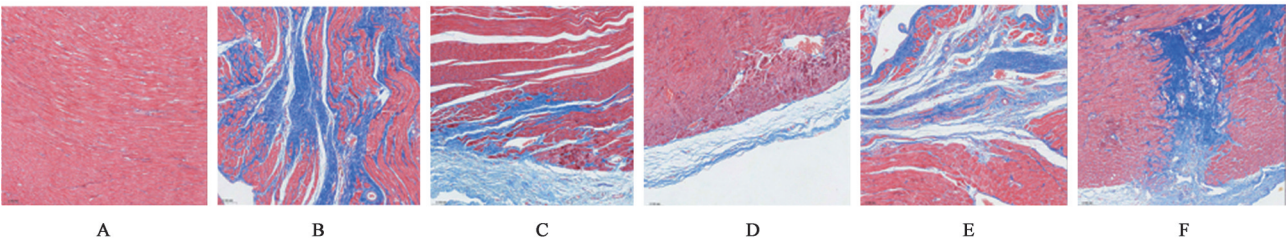


图2 栀子-丹参对心梗大鼠心肌组织Masson染色的影响 (Masson,×400)

Fig. 2 Effect of Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma on Masson staining of myocardial tissue in rats with myocardial infarction (Masson,×400)

3.3 栀子-丹参对心梗大鼠血清NT-proBNP、TGF-β、MHC-β水平的影响 与假手术组比较,模型组大鼠血清NT-proBNP、TGF-β、MHC-β水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,铁死亡抑制剂组、依那普利组、栀子-丹参各组大鼠血清NT-proBNP、TGF-β、MHC-β水平显著降低($P<0.01$)。见表2。

3.4 栀子-丹参对心梗大鼠心肌铁沉积的影响 普鲁士蓝染色结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠梗死区心肌组织中铁沉积明显增加,细胞排列紊乱。与模型组比较,各给药组干预后大鼠心肌铁沉积减少,细胞排列致密。见图3。

3.5 栀子-丹参对心梗大鼠心肌线粒体结构的影响 透射电镜结果显示,与假手术组比较,模型组大

表2 栀子-丹参对心梗大鼠血清NT-proBNP、TGF-β、MHC-β水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma on levels of NT-proBNP, TGF-β and MHC-β in serum of rats with myocardial infarction ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NT-proBNP /ng·L ⁻¹	TGF-β /ng·L ⁻¹	MHC-β /μg·L ⁻¹
假手术组		500.87±10.71	121.03±3.93	88.69±1.91
模型组		820.23±9.69 ¹⁾	244.52±1.68 ¹⁾	136.15±1.32 ¹⁾
铁死亡抑制剂组	0.002	631.36±12.16 ³⁾	164.69±3.66 ³⁾	104.87±1.99 ³⁾
依那普利组	0.002 1	508.19±15.43 ³⁾	177.13±1.16 ³⁾	115.02±1.49 ³⁾
栀子-丹参低剂量组	4	701.95±13.10 ³⁾	207.49±2.68 ³⁾	125.29±3.73 ³⁾
栀子-丹参高剂量组	8	605.41±15.12 ³⁾	174.24±4.38 ³⁾	116.59±3.06 ³⁾

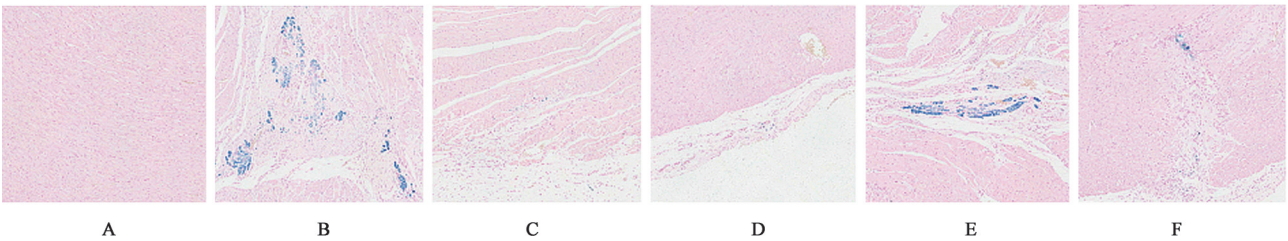


图3 栀子-丹参对心梗大鼠心肌铁沉积的影响(普鲁士蓝,×400)
Fig. 3 Effect of Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma on iron deposition in myocardial tissue of rats with myocardial infarction (Perls, ×400)

鼠心肌线粒体形态不规则,体积萎缩,线粒体嵴结构破坏,部分空泡样变。与模型组比较,各给药组大鼠心肌的线粒体形态较规则,体积增大,线粒体嵴结构清晰,空泡样变减少。见图4。

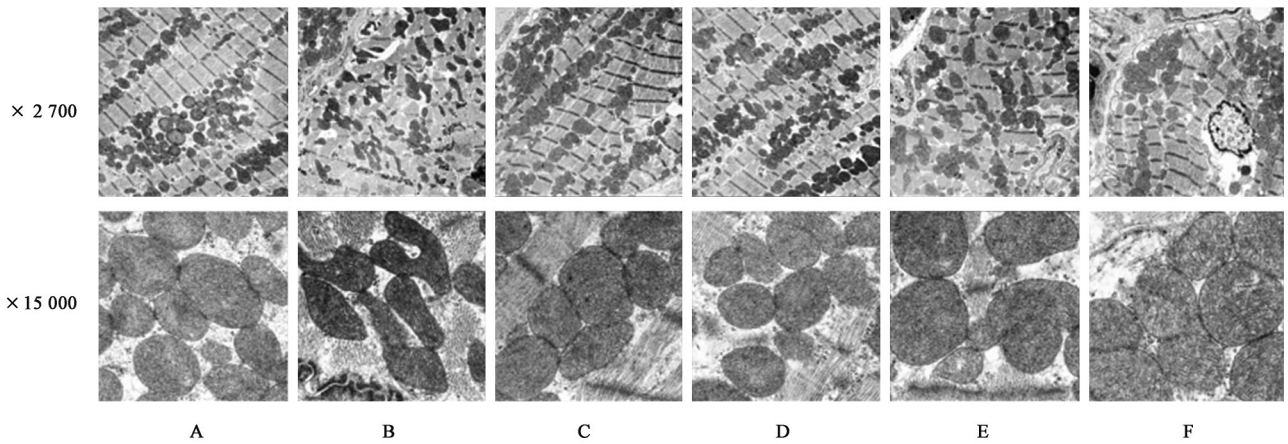


图4 栀子-丹参对心梗大鼠心肌线粒体结构和形态的影响(透射电镜)
Fig. 4 Effect of Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma on mitochondrial structure and morphology in myocardial tissue of rats with myocardial infarction (TEM)

3.6 栀子-丹参对心梗大鼠脂质过氧化的影响 与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织中MDA含量显著升高($P<0.01$),GSH水平显著下降($P<0.01$);与模型组比较,铁死亡抑制剂组、依那普利组、栀子-丹参各给药组大鼠心肌组织中MDA含量明显下降,差异具有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$),GSH水平明显提高($P<0.05$, $P<0.01$)。见表3。

表3 栀子-丹参对心梗大鼠心肌MDA、GSH水平的影响($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 3 Effect of Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma on levels of MDA and GSH in myocardial tissue of rats with myocardial infarction ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)			
组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	MDA	GSH $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$
假手术组		1.30±0.23	44.86±2.51
模型组		2.44±0.31 ¹⁾	17.18±2.27 ¹⁾
铁死亡抑制剂组	0.002	1.64±0.21 ³⁾	33.11±2.09 ³⁾
依那普利组	0.002 1	1.56±0.23 ³⁾	33.64±2.38 ³⁾
栀子-丹参低剂量组	4	2.04±0.13 ²⁾	21.48±2.35 ²⁾
栀子-丹参高剂量组	8	1.75±0.21 ³⁾	36.06±2.07 ³⁾

3.7 栀子-丹参对心梗大鼠心肌Nrf2荧光表达的影响 免疫荧光结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织Nrf2的荧光强度明显降低。与模型组比较,各给药组大鼠心肌Nrf2的荧光强度均有不同程度的升高。见图5。

3.8 栀子-丹参对心梗大鼠心肌Nrf2/SLC7A11/GPX4通路关键蛋白表达的影响 与假手术组比较,模型组大鼠心肌Nrf2、SLC7A11、GPX4蛋白表达水平显著降低($P<0.01$);与模型组比较,铁死亡抑制剂组、依那普利组、栀子-丹参各剂量组大鼠心肌Nrf2、SLC7A11、GPX4蛋白表达水平明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。见图6、表4。

4 讨论

心梗后的心肌重构是诱发心力衰竭、导致患者远期不良预后乃至心源性死亡的核心病理过程,尽管目前的再灌注治疗、规范化二级预防及新型药物的干预一定程度上能够延缓心力衰竭进程,但心梗患者的远期风险仍未得到有效控制^[13-14]。心梗后心肌缺血缺氧导致大量心肌细胞死亡,后续启动的自

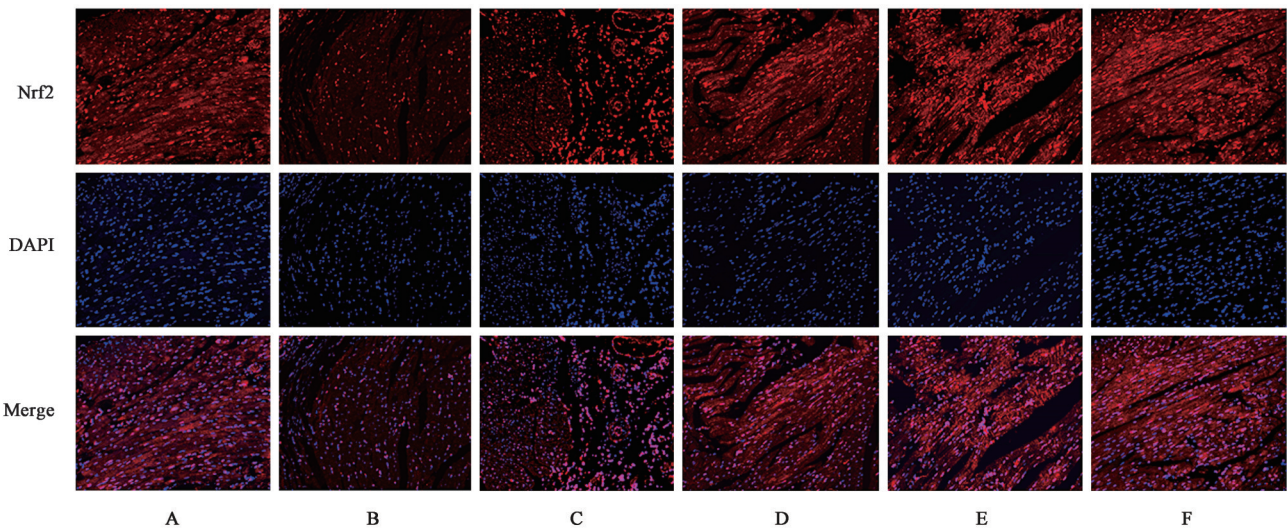


图5 栀子-丹参对心梗大鼠心肌 Nrf2 荧光表达的影响 (免疫荧光,×400)
Fig. 5 Effect of Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma on fluorescent expression of Nrf2 in myocardial tissue of rats with myocardial infarction (IF, ×400)

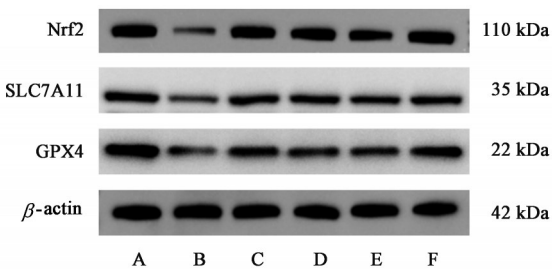


图6 各组大鼠心肌 Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白表达电泳
Fig. 6 Electrophoresis of Nrf2, SLC7A11 and GPX4 protein expression in myocardial tissue of rats in each group

表4 栀子-丹参对心梗大鼠心肌 Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 4 Effect of Gardeniae Fructus-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma on Nrf2, SLC7A11 and GPX4 protein expression in myocardial tissue of rats with myocardial infarction ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Nrf2 /β-actin	SLC7A11 /β-actin	GPX4 /β-actin
假手术组		0.93±0.04	1.61±0.07	1.66±0.10
模型组		0.21±0.04 ¹⁾	0.88±0.08 ¹⁾	0.79±0.09 ¹⁾
铁死亡抑制剂组	0.002	0.82±0.05 ³⁾	1.31±0.09 ³⁾	1.21±0.08 ³⁾
依那普利组	0.002 1	0.78±0.03 ³⁾	1.28±0.05 ³⁾	1.13±0.05 ³⁾
栀子-丹参低剂量组	4	0.65±0.04 ³⁾	1.15±0.07 ³⁾	0.93±0.02 ²⁾
栀子-丹参高剂量组	8	0.87±0.09 ³⁾	1.39±0.06 ³⁾	1.18±0.07 ³⁾

我修复过程伴随不可逆的心肌损伤,该过程交织着氧化应激、炎症反应、细胞凋亡与坏死等多种细胞死亡形式,最终推动病理性心肌肥厚、心肌纤维化、心肌扩张及几何形态改变的心肌重构发生^[15-16]。铁死亡作为铁依赖性、以脂质过氧化为核心的调节性细胞死亡方式,已被证实是心梗后心室重构的重要

调控因素^[17-18],其与氧化应激、炎症反应形成的病理网络,共同加速了心肌重构的进程;而 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路作为内源性抗铁死亡的核心防御轴,其功能异常是铁死亡激活、心肌损伤和心脏重构加剧的关键分子基础。

中医药在调控铁死亡、改善心梗后心肌重构方面展现出独特优势,越来越多的中药复方及提取物被证实可通过抑制铁死亡发挥心肌保护作用^[19-20]。心梗是冠心病的常见类型,根据其临床表现可归属于中医学“胸痹”“真心痛”范畴。课题组基于中医理论深入挖掘铁死亡与冠心病的相关性,提出“瘀毒互结”是铁死亡所致心肌损伤的基本病机^[5]。栀子-丹参是课题组结合“瘀毒”理论与临证经验拟定的活血解毒代表药对。栀子味苦性寒,具有凉血解毒、泻火除烦之效,可发挥抗血栓、降压抗炎、抗氧化等药理作用,广泛应用于心血管疾病^[21];丹参味苦性微寒,能活血祛瘀、通经止痛、清心除烦,现代研究证实其具有抗血栓、改善微循环、抗氧化等作用,是中医药防治心血管疾病常用的药物^[22]。两药配伍药性相近、功效互补,贴合心肌铁死亡“瘀毒”病机的防治思路,从而发挥心肌保护作用。

本研究通过冠状动脉左前降支结扎术构建心梗大鼠模型,给予栀子-丹参低、高剂量干预4周,同时设血管紧张素转换酶抑制剂依那普利和铁死亡抑制剂铁抑素为阳性对照。心超检测结果显示,栀子-丹参能够改善心梗大鼠的心脏整体功能(LVEDD、LVESD 值降低,LVEF、LVFS 值升高);HE 染色和 Masson 染色结果证实,栀子-丹参能够减轻

心肌梗大鼠心肌组织的炎性细胞浸润,减少胶原纤维沉积,缓解心肌纤维化;血清学检测发现,栀子-丹参可显著降低心力衰竭标志物 NT-proBNP、纤维化标志物 TGF- β 和心肌肥厚标志物 MHC- β 水平,多维度佐证其对心肌梗大鼠的心功能和心肌重构有明显的改善作用,并推测其调控作用可能与干预心肌铁死亡有关。

铁死亡与心肌梗后的心肌重构密切相关,以铁超载和脂质过氧化为核心特征。心肌梗发生后,一方面缺血坏死区铁离子的异常聚集引发铁超载,通过“芬顿反应”产生大量脂质 ROS 引起心肌氧化损伤^[23];另一方面心肌细胞内的抗氧化防御系统被削弱,ROS 的过量积累和脂质过氧化物的生成对细胞膜具有毒性作用,可造成细胞功能障碍、DNA 损伤甚至铁死亡,共同加速心肌梗后心脏重构的病理过程^[24-25]。铁死亡的发生中还伴随线粒体超微结构改变的形态学特征,其相关的铁沉积、脂质过氧化物积累、氧化应激等生物过程,均为栀子-丹参干预的关键病理环节。本研究中普鲁士蓝染色结果显示,栀子-丹参可显著减少心肌梗大鼠心肌组织的铁沉积,有效缓解铁超载,从源头阻断铁死亡的启动;透射电镜观察发现,模型组大鼠心肌线粒体出现皱缩变小、嵴结构破坏、空泡样改变等铁死亡特征性形态异常,而栀子-丹参给药后可明显改善线粒体形态,恢复其正常结构与功能,从而减少脂质 ROS 的生成;脂质过氧化相关指标检测表明,栀子-丹参能显著降低心肌组织 MDA 含量,升高 GSH 水平,有效抑制脂质过氧化反应,减轻心肌氧化损伤。由此可见,栀子-丹参通过对铁超载的缓解和脂质过氧化的抑制,减轻铁死亡所致的心肌损伤,为改善心室重构奠定基础。

Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路是细胞内源性抵抗铁死亡的核心防御轴^[26-27]。Nrf2 作为该通路的关键转录因子,可正向调控下游包括 SLC7A11 与 GPX4 在内的多个抗氧化基因的表达,在铁死亡防御中发挥核心调控作用^[28]。SLC7A11 是系统 Xc 的功能亚基,负责胱氨酸的摄取,为 GSH 的生物合成提供限速原料^[29];GPX4 是抑制铁死亡的最终执行者,可利用 GSH 特异性催化还原脂质过氧化物,阻断细胞膜的氧化性损伤^[30-31]。本研究通过免疫荧光和 Western blot 检测发现,心梗模型组大鼠心肌组织中 Nrf2 核转位减少,Nrf2 及其下游靶蛋白 SLC7A11 和 GPX4 的表达水平均显著下调,提示心肌梗后心肌重构进程中,内源性抗氧化防御体系功能严重受损,无法有效合成 GSH、清除脂质过氧化物,最终诱

发心肌细胞铁死亡。栀子-丹参药对的干预可有效逆转这一病理趋势,与模型组比较,栀子-丹参能够显著促进 Nrf2 的核转位,同时上调 SLC7A11 和 GPX4 的蛋白表达,其通过激活 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路,一方面增强系统 Xc 的胱氨酸摄取功能,保障心肌细胞内 GSH 的生物合成,恢复机体抗氧化能力;另一方面直接提升 GPX4 的蛋白水平,增强其清除脂质过氧化物的能力,从而有效维持心肌细胞膜的氧化还原稳态,从分子层面减轻铁死亡及随后发生的心肌损伤和病理重构。

综上,本研究证实栀子-丹参可有效改善心肌梗后的心脏结构和功能,减轻心肌细胞炎症和心肌纤维化,缓解铁死亡病理形态改变,抑制脂质过氧化反应,从而阻止铁死亡损伤,延缓心肌的病理重构,其机制可能与激活 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路有关。本研究为活血解毒中药防治心肌梗后心肌重构提供了实验依据,但仍存在一定的局限性:首先,仅在整体动物水平验证药效与通路关联,未采用基因敲除/过表达等工具对通路进行反向验证;其次,药对药效物质基础不明确,缺乏量效关系与长期安全性评价;此外,动物实验结果与临床转化存在差距,未来还需结合细胞实验与临床样本进一步验证。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

- [1] 国家心血管病中心,中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2024 概要[J]. 中国循环杂志,2025,40(6):521-559.
National Center for Cardiovascular Diseases, The Writing Committee of the Report on Cardiovascular Health and Diseases in China. Report on cardiovascular health and diseases in China 2024: An updated summary[J]. Chin Circ J, 2025, 40(6): 521-559.
- [2] FATIMA S, ZHOU H, CHEN Y, et al. Role of ferroptosis in the pathogenesis of heart disease[J]. Front Physiol, 2024, 15: 1450656.
- [3] SHEN C, WEI Y, KANG W, et al. Persistent ferroptosis modulates cardiac remodeling and M2 macrophage polarization, which can be mitigated by astaxanthin during myocardial infarction recovery[J]. Cardiovasc Toxicol, 2025, 25(1): 58-73.
- [4] 揣强,翟文静,贾苏杰,等. 基于 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路探究泄浊解毒方通过抑制铁死亡和缓解肠黏膜损伤治疗溃疡性结肠炎的机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2026,32(1): 160-169.
CHUAI Q, ZHAI W J, JIA S J, et al. Based on Nrf2/SLC7A11/GPX4 pathway, mechanism of Xiezhuo Jiedu prescription in treatment of ulcerative colitis by inhibiting ferroptosis and alleviating intestinal mucosal injury was studied[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2026, 32(1): 160-169.

- [5] 沈月红,裴可,汪树林,等. 基于“瘀毒”理论探析铁死亡与冠心病心肌损伤的相关性[J]. 世界中医药,2025,20(7):1168-1172.
SHEN Y H, PEI K, WANG S L, et al. Correlation between ferroptosis and myocardial injury in coronary heart disease based on the "stasis and toxin" theory[J]. World Chin Med, 2025, 20(7):1168-1172.
- [6] SHEN Y, WANG X, SHEN X, et al. Geniposide possesses the protective effect on myocardial injury by inhibiting oxidative stress and ferroptosis via activation of the Grsf1/GPx4 axis[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 879870.
- [7] SHEN Y, SHEN X, WANG S, et al. Protective effects of salvianolic acid B on rat ferroptosis in myocardial infarction through upregulating the Nrf2 signaling pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 112: 109257.
- [8] ZHAO J, LI Y, ZHI H, et al. Danshen and Zhizi compatibility alleviates heart injury and cardiac ferroptosis in myocardial infarction in rats by cyclic adenosine monophosphate/protein kinase a signaling[J]. Heart Surg Forum, 2024, 27(3):E252-E263.
- [9] RADWAN A M, SHAYBOB S G, TOUSSON E, et al. Nano astaxanthin ameliorates myocardial infarction in rats through autophagy[J]. Sci Rep, 2025, 15(1):20195.
- [10] LAI X, ZHANG N, CHEN L, et al. Latifolin protects against myocardial infarction by alleviating myocardial inflammatory via the HIF-1 α /NF- κ B/IL-6 pathway[J]. Pharm Biol, 2020, 58(1): 1156-1166.
- [11] 木其尔,许舒婷,闫红贺,等. 铁死亡抑制剂在6-羟基多巴胺诱导帕金森病模型大鼠中的应用价值[J]. 中国实用医药, 2024, 19(23):173-177.
MU Q E, XU S T, YAN H H, et al. Practical value of ferroptosis inhibitor in a rat model of 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's disease[J]. China Pract Med, 2024, 19(23): 173-177.
- [12] 庄金龙,刘莉,钟渊福,等. 参芪利心汤对心力衰竭大鼠心肌细胞的保护作用及机制研究[J]. 中草药, 2021, 52(19):5922-5931.
ZHUANG J L, LIU L, ZHONG Y F, et al. Protective effects and mechanism of Shenqi Lixin decoction on cardiomyocytes of rats with heart failure[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(19): 5922-5931.
- [13] FRANTZ S, HUNDERTMARK M J, SCHULZ-MENGER J, et al. Left ventricular remodelling post-myocardial infarction: Pathophysiology, imaging, and novel therapies[J]. Eur Heart J, 2022, 43(27): 2549-2561.
- [14] LIU C, HUANG J, QIU J, et al. Quercitrin improves cardiac remodeling following myocardial infarction by regulating macrophage polarization and metabolic reprogramming [J]. Phytomedicine, 2024, 127: 155467.
- [15] PEET C, IVETIC A, BROMAGE D I, et al. Cardiac monocytes and macrophages after myocardial infarction[J]. Cardiovasc Res, 2020, 116(6): 1101-1112.
- [16] HEUSCH G, LIBBY P, GERSH B, et al. Cardiovascular remodelling in coronary artery disease and heart failure [J]. Lancet, 2014, 383(9932): 1933-1943.
- [17] FANG X, ARDEHALI H, MIN J, et al. The molecular and metabolic landscape of iron and ferroptosis in cardiovascular disease[J]. Nat Rev Cardiol, 2023, 20(1): 7-23.
- [18] WANG K, LI Z, DING Y, et al. Klotho improves cardiac fibrosis, inflammatory cytokines, ferroptosis, and oxidative stress in mice with myocardial infarction[J]. J Physiol Biochem, 2023, 79(2): 341-353.
- [19] 王梓仪,范星宇,王哲,等. 慢性心力衰竭的铁死亡机制及中医药调控进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(23): 119-129.
WANG Z Y, FAN X Y, WANG Z, et al. Mechanism and traditional Chinese medicine regulation of ferroptosis in chronic heart failure: A review[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(23): 119-129.
- [20] 周嘉澍,韩金洹,魏陵博. 中医药治疗冠心病的研究进展[J]. 光明中医, 2025, 40(18): 4122-4126.
ZHOU J S, HAN J H, WEI L B. Progress on the treatment of coronary heart disease with traditional Chinese medicine [J]. Guangming J Chin Med, 2025, 40(18): 4122-4126.
- [21] 张嘉豪,呼田,周雪薇,等. 栀子药理作用及临床应用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(5): 93-98.
ZHANG J H, HU T, ZHOU X W, et al. Research progress on the pharmacological effects and clinical application of Zhizi (Gardeniae Fructus)[J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2024, 26(5): 93-98.
- [22] 屈媛,王婷,付慧婕,等. 丹参有效成分及药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(9): 172-176.
QU Y, WANG T, FU H J, et al. Research progress on the active ingredients and pharmacological effects of Danshen (Salviae Miltiorrhizae)[J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2024, 26(9): 172-176.
- [23] LI D, PI W, SUN Z, et al. Ferroptosis and its role in cardiomyopathy[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 153: 113279.
- [24] CHEN B, FAN P, SONG X, et al. The role and possible mechanism of the ferroptosis-related SLC7A11/GSH/GPX4 pathway in myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. BMC Cardiovasc Disord, 2024, 24(1): 531.
- [25] TAN M, YIN Y, MA X, et al. Glutathione system enhancement for cardiac protection: Pharmacological options against oxidative stress and ferroptosis[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(2): 131.
- [26] HAN Q, SHI J, YU Y, et al. Calycosin alleviates ferroptosis and attenuates doxorubicin-induced myocardial injury via the Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling pathway[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1497733.
- [27] HAN Q, GUO Y, YU Y, et al. Fuxin decoction regulates the Nrf2/SLC7A11/GPX4 pathway to ameliorate doxorubicin-induced ferroptosis in cardiomyocytes[J]. J Ethnopharmacol, 2026, 355 (Pt B): 120037.
- [28] DODSON M, CASTRO-PORTUGUEZ R, ZHANG D D. Nrf2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis [J]. Redox Biol, 2019, 23: 101107.
- [29] LI Q, PENG F, YAN X, et al. Inhibition of SLC7A11-GPX4 signal pathway is involved in aconitine-induced ferroptosis *in vivo* and *in vitro* [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 303: 116029.
- [30] URSINI F, MAIORINO M. Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPX4[J]. Free Radic Biol Med, 2020, 152: 175-185.
- [31] ZHANG X D, LIU Z Y, WANG M S, et al. Mechanisms and regulations of ferroptosis[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1269451.

[责任编辑 孙丛丛]