

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250306.005

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250306.1828.010>

小檗碱调控 FOXO1/GPX4 信号通路对心梗后心衰小鼠的保护作用及机制探讨

张凌霄, 杨成昊, 栾玉玲, 丁新月, 钱俊峰, 刘宗军✉

(上海中医药大学附属普陀医院心内科, 上海 201203)

[摘要] **目的:** 基于 FOXO1/GPX4 通路探讨小檗碱抑制心衰小鼠铁死亡的作用机制。**方法:** 体外培养 H9C2 细胞, 分为对照 (Control) 组、模型 (Model) 组及小檗碱低、中、高 (BBR-L、BBR-M、BBR-H) 剂量组, 采用无糖、无血清培养基联合缺氧培养建立 H9C2 缺氧细胞模型, 检测细胞凋亡、ROS、SOD、MDA 含量, PCR 检测 *FOXO1*、*GPX4*、*SCL7A11* mRNA 表达。体内实验采用冠脉结扎建立心梗后心衰小鼠模型, 分为假手术 (Sham) 组、模型 (Model) 组、小檗碱 (BBR) 组 (100 mg·kg⁻¹·d⁻¹), 每组 6 只, 给药 4 周后检测心脏彩超、H&E 等病理染色, Western blot 检测 FOXO1、GPX4 蛋白含量。**结果:** 体外结果显示, 小檗碱抑制缺氧 H9C2 细胞凋亡, 降低 ROS 的产生, 缓解脂质过氧化损伤, 抑制 *FOXO1*、提高 *GPX4*、*SCL7A11* mRNA 的表达。体内实验表明, 小檗碱能够提高心衰小鼠的心功能, 减少心肌细胞损伤, 抑制心肌纤维化, 抑制 FOXO1 蛋白的表达, 促进抗铁死亡蛋白 GPX4 的表达。**结论:** 小檗碱能够改善心梗后心衰小鼠的心功能, 减轻缺氧引起的细胞损伤, 可能是通过调控 FOXO1/GPX4 通路发挥抗铁死亡、保护心衰的作用。

[关键词] 小檗碱; 心力衰竭; 铁死亡; 谷胱甘肽过氧化物酶 4; 叉头盒蛋白 O1

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)07-0510-09

Study on the mechanism of berberine inhibiting ferroptosis in heart failure mice by regulating FOXO1/GPX4

ZHANG Lingxiao, YANG Chenghao, LUAN Yuling, DING Xinyue, QIAN Junfeng, LIU Zongjun✉

(Department of Cardiology, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Foundation Project]: This study was supported by the Shanghai Pu Zhou District Health Commission Priority Discipline Fund Project (2023yszk01); Shanghai Putuo District Health System Science and Technology Innovation Fund Project (ptkws202418); Shanghai University of Traditional Chinese Medicine Science and Technology Development Fund Project (23KFL083)

[Author]: ZHANG Lingxiao, E-mail: zhanglx199603@163.com.

[Correspondence to]: LIU Zongjun, Chief Physician, Ph.D., E-mail: liuzongjun1548@shutcm.edu.cn.

Received: 2025-01-03

Revised: 2025-02-12

JHMU, 2026;32(7):510-518

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

[Abstract] Objective: To investigate the mechanism of berberine inhibiting ferroptosis in heart failure mice based on the FOXO1/GPX4 pathway. **Methods:** H9C2 cells were cultured *in vitro* and divided into the Control group, the Model group, and the low, medium, and high-dose berberine (BBR-L、BBR-M、BBR-H) groups. A hypoxic cell model of H9C2 was induced using a hypoxic incubator. Cellular apoptosis, reactive oxygen species (ROS), superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA) content were measured. The expression of *FOXO1*, *GPX4*, and *SCL7A11* mRNA was detected by PCR. For *in vivo* experiments, a mouse model of heart failure after myocardial infarction was established by coronary ligation and divided into the sham surgery (Sham) group, the Model group, and the berberine (BBR) group (100 mg·kg⁻¹·d⁻¹), with 6 mice in each group.

[基金项目] 上海市普陀区卫健委优势学科基金资助项目 (2023yszk01); 上海市普陀区卫生健康系统科技创新基金资助项目 (ptkws202418); 上海中医药大学科技发展基金资助项目 (23KFL083)

[作者简介] 张凌霄, E-mail: zhanglx199603@163.com.

[通讯作者] 刘宗军, 主任医师, 博士, E-mail: liuzongjun1548@shutcm.edu.cn.

[收稿日期] 2025-01-03

[修回日期] 2025-02-12

网络出版时间: 2025-03-07 11:25:18

Echocardiography and pathological staining such as hematoxylin and eosin (H&E) staining were performed after 4 weeks of treatment. The protein levels of FOXO1 and GPX4 were detected by Western blot. **Results:** *In vitro* results showed that berberine inhibited apoptosis in hypoxic H9C2 cells, reduced ROS production, alleviated lipid peroxidation damage, inhibited *FOXO1* expression, and increased the expression of *GPX4* and *SCL7A11* mRNA. *In vivo* experiments indicated that berberine improved cardiac function in heart failure mice, reduced myocardial cell damage, inhibited myocardial fibrosis, suppressed FOXO1 protein expression, and promoted the expression of the anti-ferroptotic GPX4 protein. **Conclusion:** Berberine can improve cardiac function in mice with heart failure after myocardial infarction and reduce cell damage caused by hypoxia, potentially through regulating the FOXO1/GPX4 pathway to exert anti-ferroptotic and cardioprotective effects.

[**Key words**] Berberine; Heart failure; Ferroptosis; Glutathione peroxidase 4; Forkhead Box Protein O1

心力衰竭简称“心衰”,是由于心脏收缩或舒张功能减退,不能满足多个系统的有效血液供应,以喘促、乏力、水肿等症状为特征,是多种心血管疾病发展至终末期的表现^[1]。随着我国人口老龄化以及人均寿命的增加,心衰的发病率不断提高^[2]。西医治疗上,“五朵金花”治疗策略的出现,为心衰患者带来了新的希望。然而,单纯的西医治疗具有一定的毒副作用,且忽视整体调理和个体化治疗,使得心衰患者的治疗效果并未达到最大化。

近年来,铁死亡作为一种新型的程序性细胞死亡方式,在心血管疾病中的作用逐渐受到关注。铁死亡的特征是铁依赖的脂质过氧化物积累和谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)活性抑制,最终导致细胞膜完整性破坏和细胞死亡。研究表明,铁死亡在心肌梗死后心肌细胞死亡和心衰进展中起重要作用^[3]。心梗后,缺血再灌注损伤会导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)大量生成,同时铁代谢紊乱,进一步加剧脂质过氧化和细胞损伤,从而促进铁死亡的发生^[4]。此外,铁死亡还与心肌纤维化、炎症反应和心脏重构密切相关,这些过程共同推动了心梗后心衰的发展^[5]。

小檗碱(Berberine)是一种具有多种生物活性的天然化合物,已被证明在心血管疾病中具有保护作用^[6],然而,小檗碱是否通过调控铁死亡途径发挥其对心梗后心衰的保护作用尚不清楚。FOXO1是一种重要的转录因子,参与调控氧化应激和细胞凋亡,同时也有研究表明FOXO1可通过调控GPX4表达影响铁死亡过程^[7]。因此,本研究旨在探讨小檗碱是否通过FOXO1/GPX4信号通路抑制铁死亡,从而减轻心梗后心衰的病理进程。通过揭示小檗碱在铁死亡中的作用机制,本研究不仅为心梗后心衰的治疗提供了新的理论依据,也为小檗碱的临床应用开辟了新的方向。

1 材料与方法

1.1 细胞株

大鼠H9C2,购自上海远见生物科技有限公司。

1.2 实验动物

雄性SPF级C57BL/6小鼠18只,鼠龄6周,体重18~25 g,购自北京斯贝福公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2024-0001。饲养于上海中医药大学附属普陀医院实验中心SPF级动物房,温度21~25℃,相对湿度55%,自由摄食饮水。本实验经上海中医药大学附属普陀医院伦理委员会审批(伦理批号:DWEC-A-202305001)。

1.3 主要试剂与仪器

小檗碱(BBR,上海阿拉丁公司,货号:B414323,批号:C2408205);Hoechst染色试剂盒(批号:A20230211)和ROS检测试剂盒(批号:S0033)购自上海碧云天公司;总超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测定试剂盒(批号:20200622)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定试剂盒(批号:20200622)购自南京建成公司;逆转录试剂盒(批号:AM62082A)和TB Green试剂盒(批号:RR420A)购自日本Takara公司;H&E染色试剂盒(批号:20211207)、马松染色试剂盒(批号:G1340)、天狼星红染色试剂盒(批号:G1472)购自北京索莱宝公司。叉头盒O1(forkhead box O1, FOXO1)、GPX4抗体(批号:2880、59735)购自美国Cell Signaling Technology公司。Collagen I、Collagen III抗体(批号:A1352、A3795)购自武汉爱博泰克公司。多普勒彩超(英国飞利浦公司产品,型号: CX50);实时荧光定量PCR系统(Thermo Fisher公司产品,型号:A28569);高电流电泳仪(美国Bio-Rad公司产品,型号:PowerPac HC);湿式电转槽(美国Bio-Rad公司产品,型号:1703930);石蜡切片器(德国Leika公司产品,型号:RM2235);倒置荧光显微镜(日本Olympus公司产品,型号:CKX41/U-RFLT50)。

1.4 细胞实验

1.4.1 培养及分组干预 H9C2细胞用DMEM+10%胎牛血清培养基,置于37℃、5% CO₂恒温培养箱内培养。取对数生长期的H9C2进行实验,对照

(Control)组正常培养,模型(Model)组采用无糖无血清培养基放入缺氧培养箱作用6 h,实验组分别加入10、20、40 $\mu\text{mol/mL}$ 小檗碱作为低(BBR-L)、中(BBR-M)、高剂量(BBR-H)组预处理24 h后,更换无糖无血清培养基并放入缺氧培养箱作用6 h。分别收集上清液及细胞进行相关指标检测。

1.4.2 Hoechst染色法检测细胞凋亡 根据“1.4.1”分组干预后,加入染色液,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 细胞培养箱孵育10 min,去除染色液,PBS洗涤3次即可在荧光显微镜下观察。

1.4.3 试剂盒检测MDA、SOD的含量 根据“1.4.1”分组干预后,取各组细胞上清液,严格按照试剂盒说明书进行操作,采用酶标仪检测MDA、SOD的含量。

1.4.4 试剂盒检测ROS含量 根据“1.4.1”分组干预后,加入无血清培养液稀释后的染色液,与37 $^{\circ}\text{C}$ 细胞培养箱内孵育20 min。用无血清细胞培养液洗涤细胞3次即可在荧光显微镜下观察。

1.4.5 qRT-PCR检测FOXO1及铁死亡关键基因的表达水平 根据“1.4.1”分组干预后,Trizol法提取细胞RNA。按照逆转录试剂盒说明书将RNA逆转录为cDNA,根据TB Green试剂盒说明书进行qRT-PCR反应。反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,重复40个循环。以GAPDH为内参,按照 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算FOXO1、GPX4、SLC7A11 mRNA的表达量。

1.5 动物实验

1.5.1 模型构建及分组干预 采用冠脉结扎构建心肌梗后心衰小鼠模型,将小鼠随机分为假手术(Sham, $n=6$)组、模型(Model, $n=6$)组和小檗碱(BBR, $n=6$)组。Model组采用冠脉结扎构建心肌梗后心衰模型,Sham组只穿线不结扎^[8],BBR组冠脉结扎后给予小檗碱($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)^[9],Sham组和Model组给予等量生理盐水。3组小鼠每天灌胃1次,连续给药4周。

1.5.2 心脏多普勒超声检测 使用30-MHz程序传感器评估麻醉下小鼠的心脏功能(1.5%异氟醚)。记录超声心动图左心室射血分数(LVEF%)、左心室短轴缩短率(FS%)、舒张末期左心室容积(LV Vol; d)和收缩末期左心室容积(LV Vol; s)。

1.5.3 心脏组织病理学检查 取小鼠心脏组织,经预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗后固定在4%多聚甲醛中。经脱水、透明、包埋和石蜡切片后,按照H&E、马松和天狼星红试剂盒说明书进行染色,并于光镜下观察。

1.5.4 免疫组化染色 心脏组织于4%多聚甲醛中固定后,经脱水、透明、包埋后进行石蜡切片。然后进行抗原修复,使用过氧化物酶阻断溶液孵育20 min,随后使用一抗在4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日二抗孵育45 min,然后与过氧化物酶溶液在37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育20 min。DAB显色,苏木精复染5 min,显微镜下观察。

1.5.5 TUNEL染色 将石蜡切片进行脱蜡、水化、通透后与TUNEL反应液孵育,操作严格按说明书进行。在显微镜下随机选择3个视场,检查凋亡细胞的数量,以凋亡细胞占总细胞数的比例计算凋亡率。

1.5.6 蛋白质印迹法检测FOXO1及铁死亡关键蛋白的表达水平 取小鼠心肌组织,使用RIPA提取组织蛋白,BCA法测定蛋白浓度。取样品进行电泳、转膜、封闭后,加入FOXO1一抗(1:1 000)、GPX4一抗(1:1 000)、GAPDH一抗(1:10 000)孵育过夜。次日洗涤,加入二抗、洗涤后进行显色曝光。使用ImageJ软件对条带进行灰度分析。

1.6 统计学处理

使用GraphPad Prism 7.0进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组内两两比较采用SNK- q 检验,多组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 小檗碱工作浓度的筛选

通过CCK-8检测小檗碱对H9C2细胞活力的影响见图1。当小檗碱浓度不超过40 $\mu\text{mol/L}$ 时,小檗碱对H9C2的细胞活性没有明显的抑制作用,当达到80 $\mu\text{mol/L}$ 时,H9C2的细胞活性有降低趋势。因此,根据CCK-8的结果,在接下来的细胞实验中,分别选用10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 作为小檗碱的低、中、高剂量。

2.2 小檗碱可降低缺氧H9C2细胞的凋亡

与Control组相比,Model组H9C2细胞凋亡明显升高,实验组H9C2细胞凋亡降低。表明小檗碱

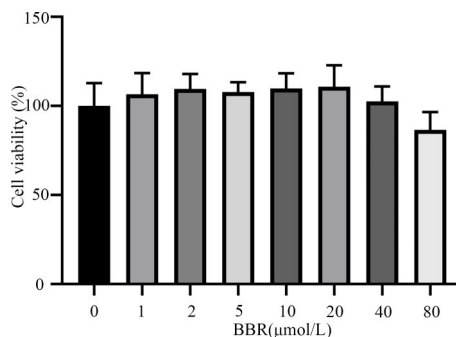


图1 CCK-8观察不同浓度小檗碱对H9C2细胞活力的影响
Fig 1 Effects of berberine on the viability of H9C2 cells were observed with CCK-8

能够提高缺氧H9C2细胞存活率。见图2。

2.3 小檗碱对各组细胞MDA和SOD表达的影响

与Control组相比,Model组H9C2细胞上清液中MDA表达量明显升高($P<0.01$),SOD表达量明显下降,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与Model组相比,BBR-L、BBR-M、BBR-H组H9C2细胞上清液中MDA明显降低($P<0.05$),BBR-H组SOD明

显升高($P<0.01$),表明小檗碱能够明显缓解缺氧H9C2细胞的脂质过氧化损伤。见表1。

2.4 小檗碱可减轻缺氧H9C2细胞ROS的产生

与Control组相比,Model组产生大量的ROS,BBR组低、中、高剂量对ROS的产生有抑制作用,表明小檗碱可以降低ROS的产生,提高缺氧H9C2细胞的抗氧化能力。见图3。

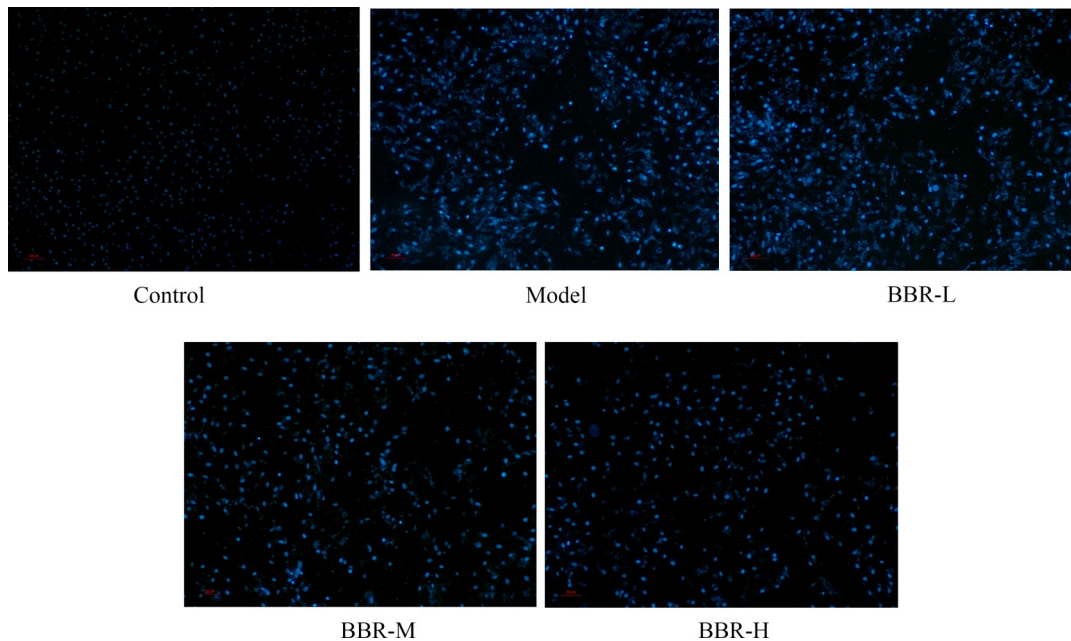


图2 Hoechst染色观察小檗碱对缺氧H9C2细胞凋亡的影响($\times 100$)

Fig 2 Effect of Berberine on apoptosis in hypoxic H9C2 cells using Hoechst staining ($\times 100$)

表1 小檗碱对缺氧H9C2细胞上清液中MDA和SOD含量的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of Berberine on the contents of MDA and SOD in the supernatant of hypoxic H9C2 cells($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	MDA(nmol/mL)	SOD(U/mL)
Control	4.14 \pm 1.83	6.59 \pm 0.22
Model	15.17 \pm 3.60**	4.44 \pm 0.23*
BBR-L	10.00 \pm 1.24#	5.04 \pm 0.69
BBR-M	8.51 \pm 2.22#	5.34 \pm 0.66
BBR-H	4.90 \pm 1.00##	6.09 \pm 0.44##

注:与Control组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与Model组相比,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

2.5 小檗碱对FOXO1及铁死亡关键基因表达的影响

与Control组相比,Model组H9C2细胞中FOXO1明显升高($P<0.01$),铁死亡关键基因GPX4和SCL7A11明显下降($P<0.05$)。与Model组比较,BBR-L、BBR-M、BBR-H组FOXO1 mRNA水平明显下降($P<0.01$),BBR-H组GPX4 mRNA水平明显升高($P<0.01$),小檗碱中、高剂量组SCL7A11 mRNA水平明显升高($P<0.01$)。结果

表明小檗碱可降低FOXO1基因的表达,提高铁死亡关键调节基因GPX4和SCL7A11的表达。见表2。

2.6 小檗碱可提高心衰小鼠的心功能

BBR组给予100 mg/kg的小檗碱,Sham组和Model组给予等量的生理盐水。治疗后,各组小鼠代表性心超图像见图4。与Sham组相比,Model组小鼠的LVEF、FS较Sham组明显下降($P<0.01$);而LV Vol; s;LV Vol; d明显上升($P<0.01$)。与Model组相比,BBR组小鼠LVFS、FS较Model组明显升高($P<0.01$),且LV Vol; s;LV Vol; d明显下降($P<0.01$)。见表3。

2.7 3组小鼠心脏组织的H&E、马松、天狼星红染色结果

Sham组小鼠心肌纤维排列有序,心肌细胞形态正常,未出现炎性细胞浸润,未见明显的纤维化。Model组小鼠心肌纤维排列不规则,心肌纤维缺失,表现为严重的炎性细胞浸润,大量蓝染增生的胶原纤维。与Model组相比,BBR组在心肌纤维排列或

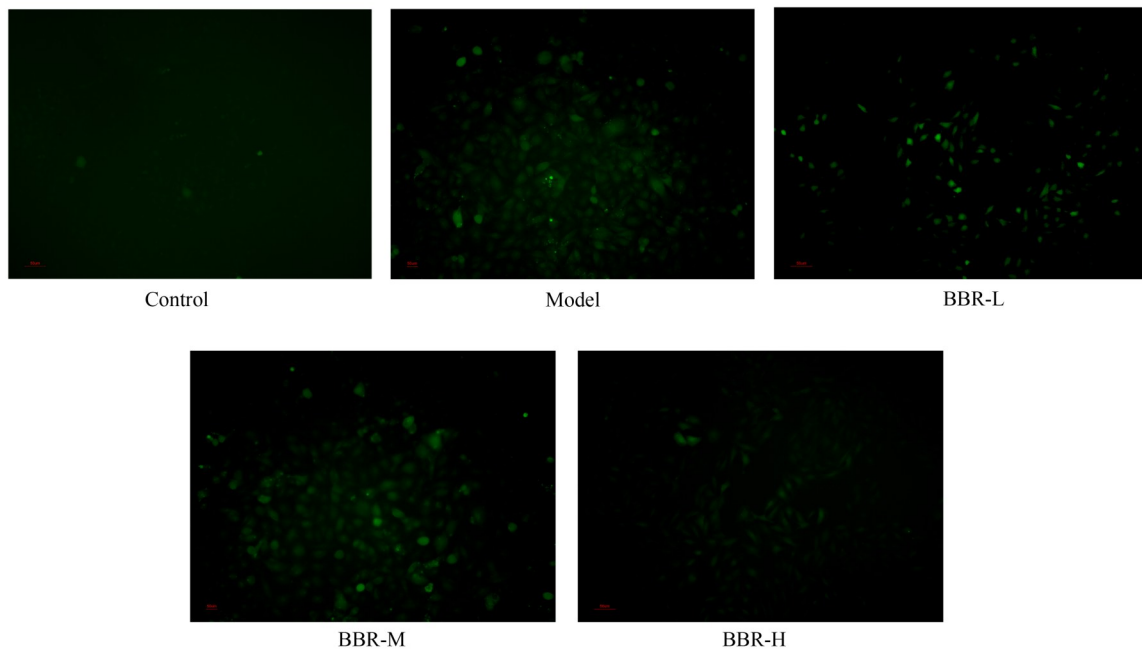


图3 ROS染色观察小檗碱对缺氧H9C2细胞抗氧化能力的影响(×200)

Fig 3 Effect of Berberine on antioxidant capacity in hypoxic H9C2 cells through ROS staining (×200)

表2 小檗碱对FOXO1及铁死亡关键基因表达的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effect of Berberine on the expression of FOXO1 and key genes related to ferroptosis(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	FOXO1	GPX4	SCL7A11
Control	1.00±0.16	1.00±0.21	1.00±0.13
Model	2.11±0.15**	0.49±0.06*	0.23±0.03**
BBR-L	1.69±0.34 ^{##}	0.59±0.15	0.28±0.08
BBR-M	1.51±0.11 ^{##}	0.65±0.10	0.77±0.13 ^{##}
BBR-H	1.49±0.23 ^{##}	0.92±0.16 ^{##}	0.83±0.10 ^{##}

注:与Control组相比,*P<0.05,**P<0.01;与Model组相比,^{##}P<0.01。

缺失、心肌细胞形态、炎性细胞浸润及胶原纤维的增生方面有明显的改善。说明小檗碱能够改善心肌梗诱发心衰的心肌纤维化。见图5。

2.8 小鼠心肌组织免疫组化结果

免疫组化染色结果显示,与Sham组比较,Model组COL1、COL3蛋白表达水平明显升高,提示有更多的胶原沉积,经小檗碱治疗后,这些蛋白表达水平明显降低。以上结果进一步表明,小檗碱可以改善心衰造成的胶原沉积、抑制心室重构。见图6。

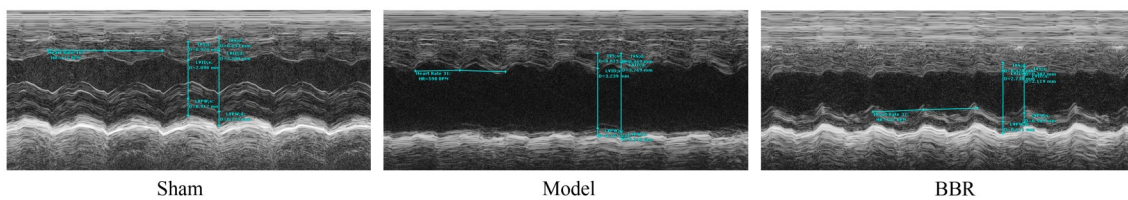


图4 3组小鼠心超代表性图像

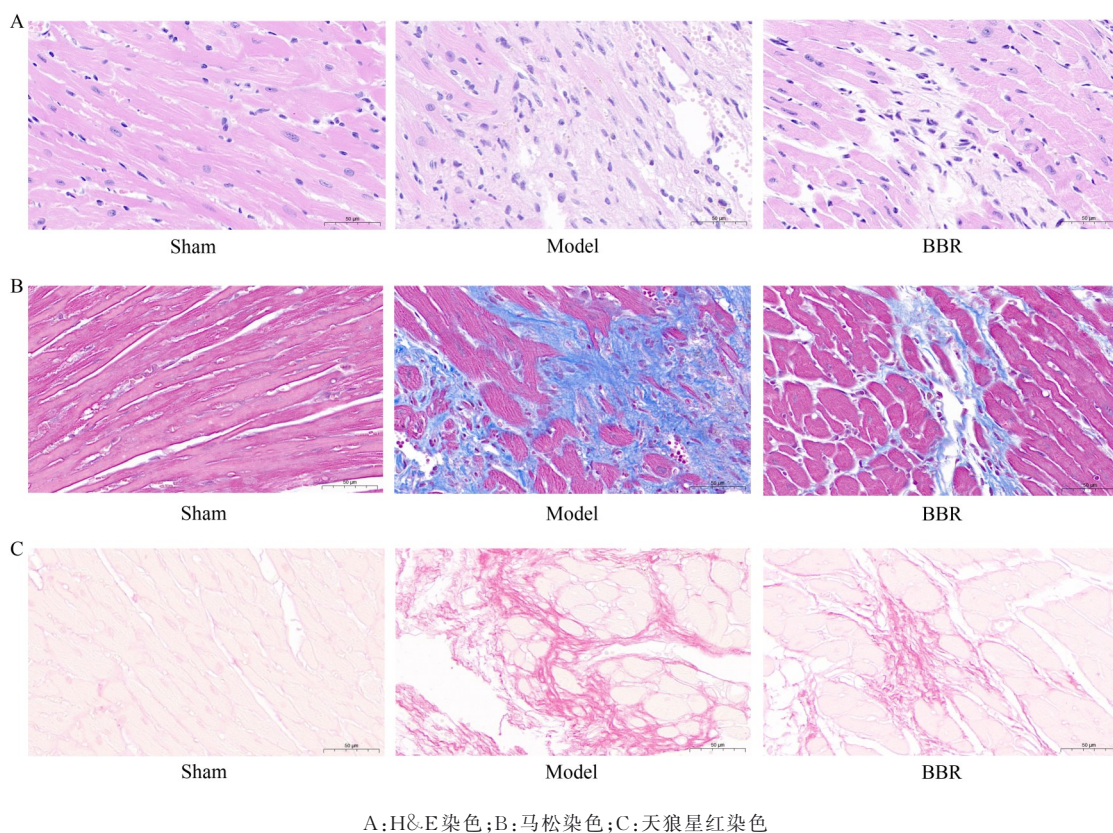
Fig 4 Representative echocardiographic images of three groups of mice

表3 小檗碱对心梗后心衰模型小鼠心脏彩超参数的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effect of Berberine on echocardiographic parameters in a mouse model of post-myocardial infarction heart failure (n=6, $\bar{x} \pm s$)

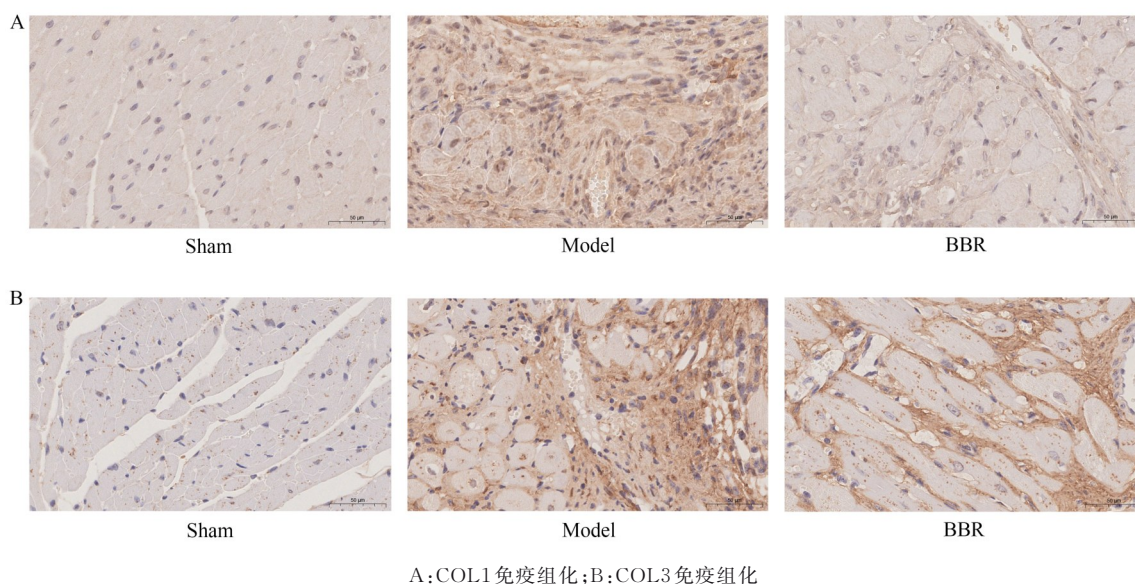
Group	LVEF(%)	FS(%)	LV Vol; s(μL)	LV Vol; d(μL)
Sham	68.37±2.24	36.96±1.60	11.98±3.17	37.58±8.27
Model	31.90±3.27**	14.75±1.63**	41.87±11.39**	61.34±16.28*
BBR	44.82±5.71 ^{##}	21.37±3.33 ^{##}	18.81±7.18 ^{##}	34.26±13.83 ^{##}

注:与Sham组相比,*P<0.05,**P<0.01;与Model组相比,^{##}P<0.01。



A:H&E染色;B:马松染色;C:天狼星红染色
图5 小檗碱对小鼠心脏组织病理的影响(70×)

Fig 5 Effect of Berberine on histopathological changes in mouse heart tissue (70×)



A:COL1免疫组化;B:COL3免疫组化
图6 3组小鼠心脏组织免疫组化染色结果(70×)

Fig 6 Immunohistochemical staining results of heart tissue in three groups of mice (70×)

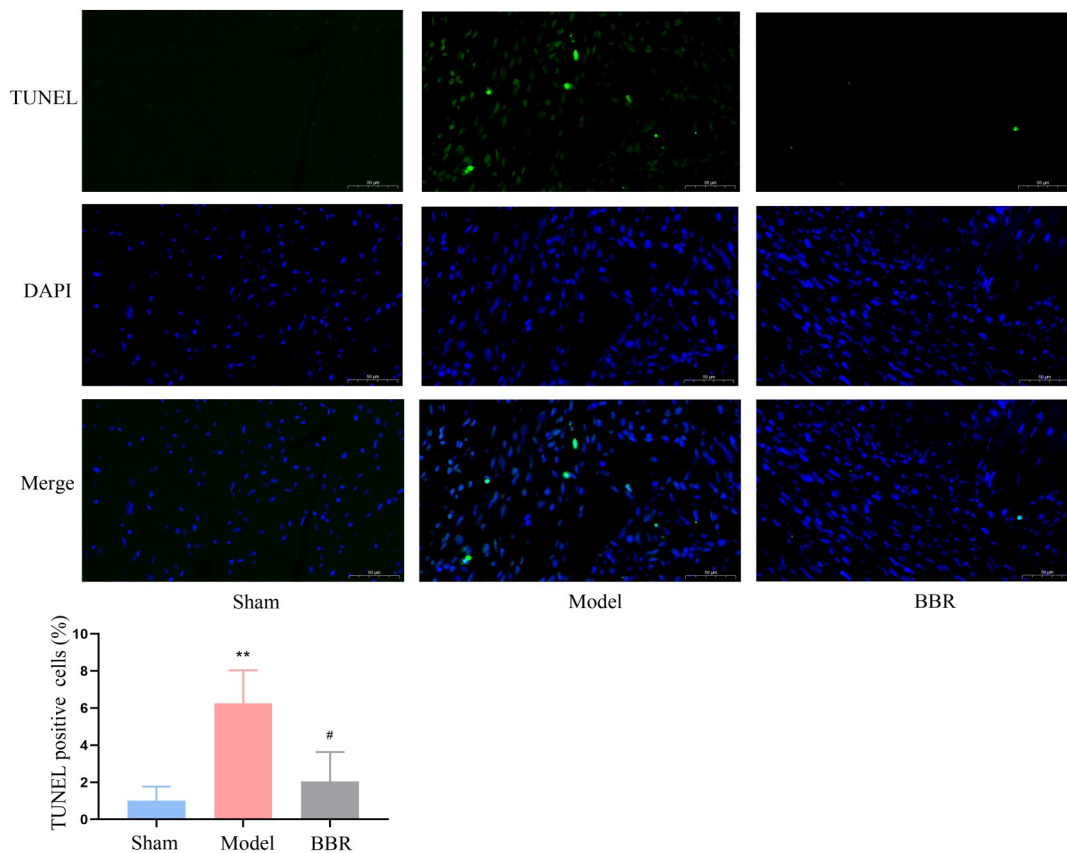
2.9 3组小鼠心肌组织TUNEL染色结果

TUNEL染色结果表明,与Sham组相比,Model组小鼠心肌组织的细胞凋亡率明显升高($P < 0.01$)。与Model组相比,BBR组小鼠心肌组织细胞凋亡率明显降低($P < 0.05$)。提示小檗碱治疗可有

效对抗心梗后心衰小鼠的心肌细胞凋亡。见图7。

2.10 小檗碱对FOXO1和GPX4蛋白表达的影响

与Sham组相比,Model组小鼠心肌FOXO1蛋白相对表达水平明显上升($P < 0.05$),GPX4蛋白相对表达水平明显下降($P < 0.05$);与Model组相比,



与 Sham 组相比, ** $P < 0.01$; 与 Model 组相比, # $P < 0.05$

图 7 3组小鼠心脏组织 TUNEL 染色结果(70×)

Fig 7 TUNEL staining results of heart tissue in three groups of mice (70×)

BBR 组 FOXO1 蛋白相对表达水平明显下降 ($P < 0.01$), GPX4 蛋白相对表达水平明显上升 ($P < 0.05$)。见图 8、表 4。

表 4 3组小鼠心肌组织 FOXO1 和 GPX4 蛋白表达比较 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

Tab 4 Comparison of FOXO1 and GPX4 protein expression in myocardial tissue of three groups of mice ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	FOXO1	GPX4
Sham	1.00±0.10	1.00±0.17
Model	1.33±0.18*	0.62±0.12*
BBR	0.14±0.06##	1.02±0.12#

注: 与 Sham 组相比, * $P < 0.05$; 与 Model 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.05$ 。

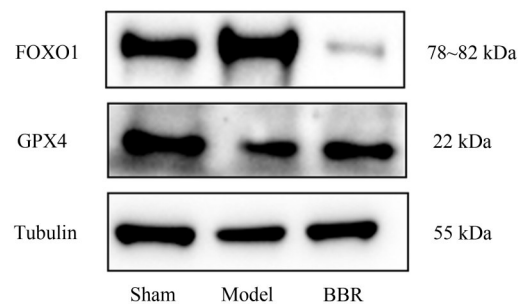


图 8 3组小鼠心肌组织 FOXO1 和 GPX4 蛋白免疫印迹
Fig 8 Western blot analysis of FOXO1 and GPX4 protein expression in myocardial tissue of three groups of mice

3 讨论

心力衰竭是全球最常见的心血管疾病之一,其患病率呈上升趋势^[10]。心力衰竭属中医学“心水”“心胀”范畴,其基本病机为“本虚标实,虚实夹杂”,临床表现包括心悸、喘促、水肿等。中医药以其治病求本、毒副作用小等为特点,在心衰的治疗方面占据重要的地位。中药黄连入心经,王好古云“主

心病逆而盛,心积伏梁”。现代药理学表明,小檗碱,又名黄连素,是黄连的主要有效生物碱成分,具有抗心律失常、抗炎、抗病毒、降脂等广泛的药理作用^[11-14]。研究表明,在横主动脉收缩术(TAC)诱导的心衰小鼠模型中,小檗碱通过上调 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬来促进心脏功能恢复^[15]。在射血分数保留型心衰小鼠模型中,小檗碱可能通过调

节 Drp1 介导的线粒体裂变和 Ca^{2+} 稳态来改善心肌舒张功能^[16]。但关于小檗碱在心梗后心衰中的作用及具体机制尚不明确。

铁死亡是一种调节细胞死亡的方式,以铁过载和脂质过氧化为特征^[17,18]。研究表明,铁死亡是多种心血管疾病的潜在治疗靶点,包括心衰、阿霉素心肌病、心肌梗死、心脏缺血再灌注等^[19-21]。铁过载和 GPX4 失活可以激活铁死亡,GPX4 是防止铁死亡的主要内源性机制^[22],直接抑制 GPX4 的合成引起铁死亡的发生^[23]。ROS 介导脂质过氧化在铁死亡过程中起重要作用^[24]。Erastin 和 RSL3 是常见的铁死亡激活剂,Erastin 通过抑制胱氨酸-谷氨酸转运蛋白摄取半胱氨酸来减少谷胱甘肽(GSH)的合成,从而诱导铁死亡。RSL3 抑制 GPX4 活性以诱导铁死亡^[25]。Yang 等^[26]采用 Erastin 和 RSL3 干预正常培养的 H9C2 建立铁死亡细胞模型,MTT、ROS、流式检测结果表明小檗碱降低了 H9C2 细胞的铁死亡,然而其作用机制尚不清楚。本研究进一步揭示了小檗碱通过 FOXO1/GPX4 信号通路发挥保护作用的分子机制。

体外实验表明,小檗碱在心肌细胞中的保护作用主要通过其抗氧化和抗凋亡特性实现。在缺氧复氧损伤的 H9C2 细胞模型中,小檗碱明显抑制了细胞凋亡,并降低了 ROS 的产生。此外,小檗碱通过提高 GPX4 和 SLC7A11 的表达,增强了细胞的抗氧化能力,从而减轻脂质过氧化损伤。这些结果表明,小檗碱可能通过调节细胞内的氧化还原平衡,抑制氧化应激、铁死亡的发展进程,发挥保护心肌细胞的作用。

在体内实验中,小檗碱明显改善了心梗后心衰小鼠的心功能,减少了心肌细胞损伤和心肌纤维化。这一作用可能与小檗碱对 FOXO1/GPX4 信号通路的调节有关。FOXO1 是 FOXO 家族的一员,是调控细胞凋亡和抗氧化反应的关键转录因子,与细胞死亡和氧化损伤通路相关^[27],Ding 等^[28]发现下调 FOXO1 表达可抑制胰腺 β 细胞的铁死亡。GPX4 是铁死亡的关键调节因子,小檗碱通过抑制 FOXO1 的表达,减少其对 GPX4 的负向调控,从而促进 GPX4 的表达,增强细胞的抗氧化能力。

综上所述,本研究通过体内外实验证实,小檗碱能够明显改善心梗后心衰小鼠的心功能,减轻缺氧引起的心肌细胞损伤,其保护作用可能与调控 FOXO1/GPX4 信号通路和抑制铁死亡密切相关。本研究丰富了小檗碱保护心梗后心衰的作用机制,也为其在临床中的运用提供了科学依据。

作者贡献度说明:

张凌霄:完成实验与指标检测、撰写论文;杨成昊:数据分析;栾玉玲:检索文献;丁新月、钱俊峰:论文修改;刘宗军:设计实验、论文修改、最后校审。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- 1 Ma S, Liao Y. Noncoding RNAs in exercise-induced cardio-protection for chronic heart failure[J]. EBioMedicine, 2019, 46: 532-540.
- 2 邹阳春, 刘彤, 刘中民, 等. 内外兼济谋健康——中国心力衰竭研究成就回顾[J]. 中国心血管病研究, 2021, 19(12): 1057-1061.
Zou YC, Liu T, Liu ZM, et al. Integrating internal and external efforts for health: A review of achievements in Chinese heart failure research [J]. Chin J Cardiovasc Res, 2021, 19(12):1057-1061.
- 3 Lv Z, Wang F, Zhang X, et al. Etomidate attenuates the ferroptosis in myocardial ischemia/reperfusion rat model *via* Nrf2/HO-1 pathway [J]. Shock, 2021, 56(3):440-449.
- 4 Ye J, Lyv T, Li L, et al. Ginsenoside Re attenuates myocardial ischemia/reperfusion induced ferroptosis *via* miR-144-3p/SLC7A11 [J]. Phytomedicine, 2023, 113: 154681.
- 5 Fang X, Wang H, Han D, et al. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116(7):2672-2680.
- 6 庄泽锴, 陈宋璋, 庄雪音. 黄连素治疗慢性心力衰竭及其临床疗效评估[J]. 数理医药学杂志, 2021, 34(7): 1025-1027.
Zhuang ZK, Chen SZ, Zhuang XY. Clinical efficacy of berberine in the treatment of chronic heart failure [J]. J Math Med, 2021, 34(7):1025-1027.
- 7 Wang X, Ji Y, Qi J, et al. Mitochondrial carrier 1 (MTCH1) governs ferroptosis by triggering the FoxO1-GPX4 axis-mediated retrograde signaling in cervical cancer cells [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(8):508.
- 8 Chen G, Xu H, Xu T, et al. Calycosin reduces myocardial fibrosis and improves cardiac function in post-myocardial infarction mice by suppressing TGFBR1 signaling pathways [J]. Phytomedicine, 2022, 104: 154277.
- 9 Qin Z, Shi D, Li W, et al. Berberine ameliorates depression-like behaviors in mice *via* inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated neuroinflammation and preventing neuroplasticity disruption [J]. J Neuroinflammation, 2023, 20(1): 54.
- 10 Viranis S, Alonso A, Benjamin EJ, et al. Heart disease and stroke statistics-2020 update: A report from the

- American heart association [J]. *Circulation*, 2020, 141(9): e139-e596.
- 11 Chen Y, Li K, Zhao H, et al. Integrated lipidomics and network pharmacology analysis to reveal the mechanisms of berberine in the treatment of hyperlipidemia [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 412.
 - 12 Lu Q, Fu Y, Li H. Berberine and its derivatives represent as the promising therapeutic agents for inflammatory disorders[J]. *Pharmacol Rep*, 2022, 74(2): 297-309.
 - 13 Liu D, Chen S, Sun J, et al. Berberine protects against ischemia-reperfusion injury: A review of evidence from animal models and clinical studies [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 148:104385.
 - 14 Haftcheshmeh SM, Abedi M, Mashayekhi K, et al. Berberine as a natural modulator of inflammatory signaling pathways in the immune system: Focus on NF- κ B, JAK/STAT, and MAPK signaling pathways[J]. *Phytother Res*, 2022,36(3): 1216-1230.
 - 15 Abudureyimu M, Yu W, Cao R, et al. Berberine promotes cardiac function by upregulating PINK1/Parkin-mediated mitophagy in heart failure [J]. *Front Physiol*, 2020,11:565751.
 - 16 Abudureyimu M, Yang M, Wang X, et al. Berberine alleviates myocardial diastolic dysfunction by modulating Drp1-mediated mitochondrial fission and Ca²⁺ homeostasis in a murine model of HFpEF [J]. *Front Med*, 2023, 17(6): 1219-1235.
 - 17 Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012,149(5): 1060-1072.
 - 18 Stockwell BR, Friedmann JP, Bayir H, et al. Ferroptosis: A regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285.
 - 19 Feng Y, Madungwe NB, Imam AD, et al. Lipox-
statin-1 protects the mouse myocardium against ischemia/reperfusion injury by decreasing VDAC1 levels and restoring GPX4 levels [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019,520(3): 606-611.
 - 20 Baba Y, Higa JK, Shimada BK, et al. Protective effects of the mechanistic target of rapamycin against excess iron and ferroptosis in cardiomyocytes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018,314(3): H659-H668.
 - 21 Liu B, Zhao C, Li H, et al. Puerarin protects against heart failure induced by pressure overload through mitigation of ferroptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018,497(1): 233-240.
 - 22 Yang WS, Kim KJ, Gaschler MM, et al. Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016,113(34): E4966-E4975.
 - 23 Yang WS, Sriramaratnam R, Welsch ME, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. *Cell*, 2014,156(1-2): 317-331.
 - 24 Wang B, Ang Y, Zhang J, et al. ROS-induced lipid peroxidation modulates cell death outcome: Mechanisms behind apoptosis, autophagy, and ferroptosis [J]. *Arch Toxicol*, 2023,97(6): 1439-1451.
 - 25 Cao J, Dixon SJ. Mechanisms of ferroptosis [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016,73(11-12): 2195-2209.
 - 26 Yang K, Chao T, Wang I, et al. Berberine protects cardiac cells against ferroptosis [J]. *Tzu Chi Med J*, 2022, 34(3): 310-317.
 - 27 Ponugoti B, Dong G, Graves DT. Role of forkhead transcription factors in diabetes-induced oxidative stress [J]. *Exp Diabetes Res*, 2012, 2012:939751.
 - 28 Ding Y, Wu Q. 1, 25D/VDR inhibits pancreatic β cell ferroptosis by downregulating FOXO1 expression in diabetes mellitus [J]. *Cell Signal*, 2023,105:110564.

[本文编辑] 朱金月