

电针“心俞”通过抑制铁死亡途径改善大鼠心肌缺血的研究

迟小稳¹, 董亚琴^{1,2}, 许金森², 郑淑霞², 曹小敏¹, 万 隆²

(¹福建中医药大学针灸推拿学院, 福州 350108; ²福建省中医药科学院、福建省经络感传重点实验室, 福州 350003)

【摘要】目的:探究心肌细胞铁死亡途径在电针“心俞”改善大鼠心肌缺血(MI)中的作用。**方法:**SD大鼠随机分为对照组、模型组和电针组,每组6只。采用异丙肾上腺素(60 mg/kg)皮下注射制备MI大鼠模型。电针组电针双侧“心俞”,每次30 min,每日1次,共3 d。使用多导生理记录仪记录大鼠造模前、造模后、干预后心电图变化;HE染色观察大鼠心肌组织病理变化;透射电镜观察大鼠心肌细胞线粒体超微结构变化;生化法检测心肌组织亚铁离子(Fe^{2+})、丙二醛(MDA)和谷胱甘肽(GSH)的含量及超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)的活性;荧光定量PCR法和Western blot法分别检测心肌组织中铁蛋白重链1(FTH1)、转录因子核因子E2相关因子2(Nrf2)、胱氨酸/谷氨酸逆向转运蛋白(SLC7A11)和谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)、酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(ACSL4)mRNA和蛋白的表达水平。**结果:**与对照组比较,模型组大鼠在造模后心电图ST段抬高、干预后ST段压低($P<0.01$),心肌组织发生缺血性病理改变,线粒体密度增加、嵴减少;心肌组织中 Fe^{2+} 含量升高($P<0.01$),GSH含量和SOD、GSH-PX活性降低($P<0.01$);心肌组织中FTH1、Nrf2、SLC7A11和GPX4 mRNA和蛋白表达量降低($P<0.01$)、ACSL4 mRNA和蛋白表达量升高($P<0.05$)。与模型组相比,电针组大鼠心电图ST段回调($P<0.01$);心肌细胞的病理变化减轻,线粒体密度降低,嵴减少程度减轻;心肌组织中 Fe^{2+} 含量降低($P<0.05$),GSH含量和SOD、GSH-PX活性升高($P<0.01, P<0.05$);心肌组织中FTH1、Nrf2、SLC7A11、GPX4 mRNA和蛋白的表达量升高($P<0.01, P<0.05$),ACSL4 mRNA和蛋白表达降低($P<0.05, P<0.01$)。**结论:**电针“心俞”对缺血心肌的保护作用可能是通过抑制心肌细胞铁死亡途径实现的。

【关键词】 心肌缺血;电针;心俞;铁死亡途径

Electroacupuncture at “Xinshu” (BL15) improves myocardial ischemia by inhibiting the ferroptosis pathway in rats

CHI Xiao-wen¹, DONG Ya-qin^{1,2}, XU Jin-sen², ZHENG Shu-xia², CAO Xiao-min¹, WAN Long² (¹School of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China; ²Key Laboratory of Propagated Sensation Along Meridian of Fujian Province, Fujian Academy of Chinese Medical Sciences, Fuzhou 350003)

【ABSTRACT】 Objective To explore the role of the ferroptosis pathway of myocardial cells in electroacupuncture (EA) at “Xinshu” (BL15)-induced improvement of myocardial ischemia (MI) in rats. **Methods** A total of 18 male SD rats were randomly divided into control, model and EA groups, with 6 rats in each group. The MI model was established by subcutaneous injection of isoproterenol (ISO, 60 mg/kg) for consecutive 2 d. The rats of the control group received the same volume of 0.9% sodium chloride solution for 2 d. EA was applied to bilateral BL15 for 30 min, once a day for 3 d. The electrocardiogram (ECG) of the standard limb lead II was recorded before and after modeling, and after the intervention using a multi-channel physiological recorder. Histopathological changes of the myocardial tissue were observed by hematoxylin-eosin staining (HE staining), and the ultrastructural changes of the myocardial cell

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20250698

引用格式:迟小稳,董亚琴,许金森,等.电针“心俞”通过抑制铁死亡途径改善大鼠心肌缺血的研究[J].针刺研究,2026,51(8):1013-1021.

项目来源:国家自然科学基金青年基金项目(No.81403490);福建省自然科学基金项目(No.2022J01857);福建中医药大学2024年度针灸学科开放课题项目(No.XZJ2024005);福建省中医药重点学科建设项目“针灸工程学”

通信作者:董亚琴, E-mail:16171236@qq.com

mitochondria were observed under a transmission electron microscope (TEM). The contents of divalent iron ions (Fe^{2+}), malondialdehyde (MDA), and glutathione (GSH), as well as the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-PX) in the myocardial tissue were detected using biochemical methods. The expression levels of ferritin heavy chain 1 (FTH1), nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2), cystine/glutamate antiporter (SLC7A11), glutathione peroxidase 4 (GPX4) and acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4) mRNAs and proteins in the myocardial tissue were detected using real-time fluorescence quantitative PCR and Western blot, separately. **Results** Compared with the control group, the model group had a significant increase in the ECG ST segment after modeling and a decrease after interventions, content of Fe^{2+} , and the expression levels of ACSL4 mRNA and protein ($P<0.01$, $P<0.05$), and a considerable decrease in the content of GSH, activity of SOD and GSH-PX, and the expression levels of FTH1, Nrf2, SLC7A11, and GPX4 mRNAs and proteins ($P<0.01$). In contrast to the model group, modeling induced an abnormalities of ECG-ST segment, content of Fe^{2+} , and the expression levels of ACSL4 mRNA and protein and the decrease of the content of GSH, activity of SOD and GSH-PX, and the expression levels of FTH1, Nrf2, SLC7A11, and GPX4 mRNAs and proteins were all reversed by EA ($P<0.01$, $P<0.05$). Histopathological and ultrastructural observations showed a reduction in the number of cardiomyocytes, with loose arrangement, extracellular inflammatory cell infiltration, vacuolated myocardial fibers and increased extracellular space, and a decrease in the mitochondrial volume, with an increase of density and breakage of crista in the model group, which was relatively milder in the injury degree of cardiomyocytes and their mitochondria, etc. in the EA group. **Conclusion** EA at BL15 can alleviate ischemic myocardium injury in rats with MI, which may be achieved by inhibiting the ferroptosis signaling pathway in the myocardial cells.

【KEYWORDS】 Myocardial ischemia; Electroacupuncture; Xinshu (BL15); Ferroptosis pathway

心肌缺血(MI)是由于冠状动脉发生病变,导致输送到心肌的氧和血液不足,进一步引起心肌的功能障碍、代谢失常,循环系统遭到破坏的一类缺血性心脏病^[1]。缺血性心脏病死亡人数占心血管疾病总死亡人数的50%~60%,已经成为严重威胁人类健康的疾病^[2]。目前MI的治疗以手术和药物为主,而如何改善预后、减少并发症和安全隐患是临床治疗需要解决的关键问题^[3]。针灸在防治MI中发挥独特的优势,现代临床应用越来越广泛^[4]。《冠心病稳定型心绞痛中医诊疗指南》^[5]中提出,针灸对缓解心绞痛症状、改善MI疗效确切。有研究^[6]表明,针刺治疗MI的机制主要包括抑制氧化应激、影响心肌细胞基因表达、调节心肌细胞离子浓度、抑制炎症反应等,但其作用机制尚未完全阐明,仍需进一步深入研究。

MI过程可导致多种类型的心脏细胞死亡,包括细胞坏死、凋亡、自噬及铁死亡等^[7]。铁死亡作为一种以铁离子依赖的磷脂过氧化为核心的程序性死亡方式,与一系列心血管疾病密切相关,并最终会导致心脏细胞发生死亡,影响心脏整体功能^[8],因此铁死亡可能是治疗MI的重要靶点。有研究^[9]表明针刺可有效发挥抗MI的作用,但对于如何调控MI诱导的铁死亡,以及是否通过改善铁死亡发挥保护作用则报道较少。《针灸科学研究行动计划》^[10]指出,深入探讨针灸疗法的机制有助于为其临床疗效提

供科学依据。因此,本研究以电针双侧“心俞”为干预方式,观察各组大鼠心肌细胞铁死亡的发生程度和对铁死亡相关基因铁蛋白重链1(FTH1)、核因子E2相关因子2(Nrf2)、胱氨酸/谷氨酸逆向转运蛋白(SLC7A11)、谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)及酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(ACSL4)表达的影响,探讨铁死亡途径在电针“心俞”改善MI中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

18只SPF级雄性SD大鼠购于上海斯莱克实验动物有限公司,生产许可证号:SCXK(沪)2022-0004,体质量(250 ± 20)g,饲养环境:温度(24 ± 2)℃、湿度(60 ± 10)%、自然光、通风良好、自由饮水进食。适应性喂养1周后进行实验,将大鼠随机分为对照组、模型组和电针组,每组6只。本研究已获福建省中医药科学院动物伦理委员会许可(审批号:FJATCM-IAEC 2022035)。

1.2 主要试剂与仪器

异丙肾上腺素(ISO,美国Sigma),丙酮(石家庄国药集团),醋酸铀(SPI)、异氟烷(深圳瑞沃德),亚铁离子(Fe^{2+})含量(亚铁嗉比色法)检测试剂盒(江苏爱迪生),4%多聚甲醛、电镜固定液、苏木精-伊红(HE)染色染液套装、BCA蛋白定量检测试剂

盒、丙二醛(MDA)检测试剂盒、微量还原型谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)测试盒(武汉赛维尔),反转录试剂盒、荧光定量PCR试剂盒、RNA提取试剂盒、引物合成(湖南艾科瑞),RIPA细胞裂解液(上海碧云天),SDS-PAGE凝胶快速配制试剂盒(上海雅酶),预染蛋白 marker(武汉赛维尔),GAPDH 抗体、FTH1 抗体、ACSL4 抗体、二抗(武汉三鹰),Nrf2 抗体(美国 Cell Signaling Technology),SLC7A11 抗体、GPX4 抗体(北京博奥森)。

PowerLab ML 870 多导数据采集分析系统(澳大利亚埃德),小动物麻醉机(深圳瑞沃德),酶标仪(美国 Biotek),0.25 mm×13 mm 针灸针、SDZ-II 型华佗牌电子针疗仪(苏州医疗用品厂),光学显微镜、透射电子显微镜(日本日立),Veriti 96-well 型热循环仪、7500 Fast Real-Time PCR 仪(美国 Applied Biosystems),电泳仪、转膜仪(美国 Bio-Rad),化学发光成像系统(苏州莫纳)。

1.3 造模方法

参考文献[11]的方法,将模型组、电针组大鼠置于密闭诱导盒中,吸入5%异氟烷进入麻醉状态,维持0.2~0.4 L/min的流速,电极连接PowerLab多导生理记录仪,观察分析大鼠肢体Ⅱ导联心电图(ECG),等待ECG稳定5 min后,皮下多点位注射ISO(60 mg/kg),记录注射后5 min ECG。当T波由正向变为负向或呈双相,并伴有ST段偏移,为造模成功。对照组注射等体积0.9%氯化钠溶液,其余操作同上。共注射两次,间隔24 h。

1.4 干预方法

电针组:造模后24 h,选择双侧“心俞”进行电针干预,穴位定位参考文献[12],直刺6 mm^[13]。每侧电针均与粘贴在大鼠同侧尾根部的0.9%氯化钠溶液浸润的棉球形成回路,接通电针。疏密波、频率2 Hz/10 Hz,强度以针体微颤动且大鼠能够耐受为标准,每次30 min,每日1次,连续3 d。对照组和模型组同等抓取束缚,不做任何干预。

1.5 实验观察指标及检测方法

多导生理记录仪观察大鼠ECG变化:各组大鼠在麻醉状态下分别记录造模前、造模后及末次干预后5 min稳定Ⅱ导联ECG,采用LabChart 7软件对各组大鼠3个时间点的ECG进行分析,比较同时间段各组大鼠ST段电位高度变化情况,评价心肌损伤程度。

取材:干预结束后将大鼠用异氟烷麻醉后处死,打开胸腔,用无菌剪刀迅速取出大鼠心脏,置于0.9%氯化钠溶液中清洗3次后,用无菌剪刀将心脏组织切取3份,从心尖开始切取心脏组织,迅速取心尖组织剪成1 mm×1 mm×1 mm大小,用于透射电镜观察;剩余心尖组织用4%多聚甲醛固定,用于HE染色观察;其余心室组织切分后,立即置于-80℃保存,用于生化、PCR和Western blot检测。

HE染色观察大鼠心肌组织病理学变化:每组随机取4只大鼠心尖组织,0.9%氯化钠溶液清洗,置于4%多聚甲醛中固定24 h,浸蜡、包埋、切片(厚度约5 μm)、脱蜡水合,进行HE染色后利用光学显微镜观察心肌组织病理变化。

透射电子显微镜观察大鼠心肌细胞线粒体超微结构:取1 mm×1 mm×1 mm心尖组织,置于电镜固定液中4℃固定,PBS洗涤4次,乙醇、丙酮梯度脱水后,渗透包埋切片(厚度60~80 nm),经醋酸铀、柠檬酸铅染色后,在透射电镜下观察心肌细胞线粒体等超微结构变化。

生化法检测心肌组织中Fe²⁺、MDA、GSH的含量和SOD、GSH-PX的活性:取每组6只大鼠心肌组织,按照1:9的比例加入0.9%氯化钠溶液研磨后离心10 min,取上清液,根据说明书进行操作,用酶标仪于450 nm波长处测定吸光度值,计算心肌组织中Fe²⁺、MDA、GSH含量和SOD、GSH-PX活性。

荧光定量PCR法检测心肌组织FTH1、Nrf2、SLC7A11、GPX4和ACSL4 mRNA表达水平:取每组6只大鼠心肌组织50 mg置于离心管中,按提取、反转录试剂盒等操作要求,提取总RNA,反转录为cDNA,再行实时荧光定量PCR扩增。预变性:95℃30 s,共循环1次;扩增循环:95℃变性5 s,再于60℃退火延伸30 s,共循环40次;熔解:95℃维持15 s、60℃维持60 s、95℃维持30 s,最后60℃保持15 s,共循环1次。引物序列见表1。以GAPDH为内参,用2^{-ΔΔC_t}法计算FTH1、Nrf2、SLC7A11、GPX4和ACSL4 mRNA相对表达量。

Western blot法检测心肌组织中FTH1、Nrf2、SLC7A11、GPX4和ACSL4蛋白的表达水平:取每组6只大鼠100 mg心肌组织加入RIPA裂解液低温裂解,4℃离心10 min取上清液获得总蛋白。按BCA法测定蛋白浓度后稀释至12.5 μg/μL,加入上样缓冲液随后沸水浴加热变性10 min,等量上样5 μL后,进行电泳、转膜(电泳电压为120 V,转膜电流为400 mA)、漂洗、封闭后,将一抗稀释(FTH1为

表1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	引物序列(5'→3')	产物大小/bp
FTH1	上游 TTCATTGAGACGCATTACCTG	117
	下游 AAAGAGATATTCTGCCATGCC	
Nrf2	上游 TTAAGCAGCATACAGCAGGACAT	112
	下游 GGACAGTGGTAGTCTCAGCCT	
SLC7A11	上游 CATGATTCACGTCCACAAGCA	80
	下游 CGGAGAAGAGCATTATCATTGTCA	
GPX4	上游 CACGAGTTCCTGGGCTTGT	102
	下游 GTCGGTTTTGCCTCATTGC	
ACSL4	上游 CGCATACCTGGATTAGGACCA	120
	下游 CAATCACCTTGCTTCCCTTC	
GAPDH	上游 GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG	143
	下游 ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA	

注:FTH1为铁蛋白重链1,Nrf2为核因子E2相关因子2, SLC7A11为胱氨酸/谷氨酸逆向转运蛋白, GPX4为谷胱甘肽过氧化物酶4, ACSL4为酰基辅酶A合成酶长链家族成员4。

1:5 000, Nrf2 为 1:1 000, SLC7A11 为 1:1 000, GPX4 为 1:1 500, ACSL4 为 1:5 000, GAPDH 为 1:5 000)后4℃孵育过夜。漂洗,加入二抗(1:5 000)稀释后室温孵育1h,漂洗后显影,用Image J分析各条带灰度值后统计。以目的蛋白条带灰度值与内参条带灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量。

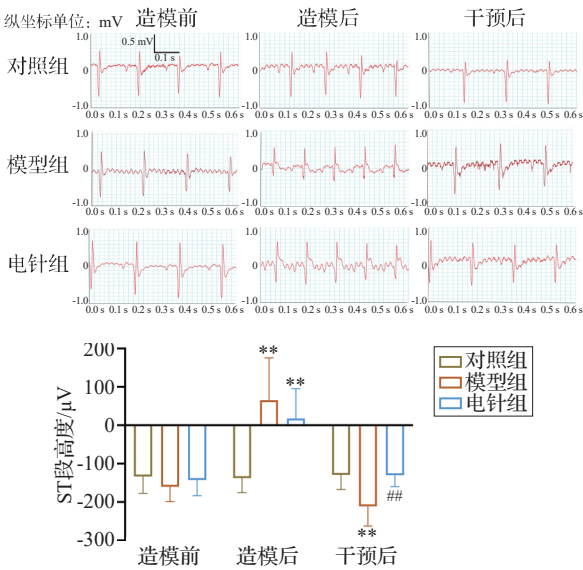
1.6 统计学分析

采用SPSS27.0统计软件进行数据分析,先对各组数据进行正态性检验,满足正态性检验,数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。如方差齐,采用单因素方差分析进行多组间比较,采用LSD法进行两两比较;如方差不齐采用Games-Howell法。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 各组大鼠ST段电位高度变化比较

造模前,3组大鼠ECG ST段电位高度比较,差异无统计学意义;造模后,模型组和电针组ST段较对照组明显抬高($P < 0.01$),表明造模后心肌发生严重缺血;干预后,与对照组比较,模型组ST段压低($P < 0.01$),提示仍有MI,电针组ST段偏移较模型组回调($P < 0.01$),提示电针“心俞”可纠正ST段高度变化,减轻大鼠心肌损伤程度。见图1。



注:与相同时间段对照组比较,** $P < 0.01$;与相同时间段模型组比较,## $P < 0.01$ 。

图1 各组大鼠心电图ST段高度比较($\bar{x} \pm s$,6只鼠/组)

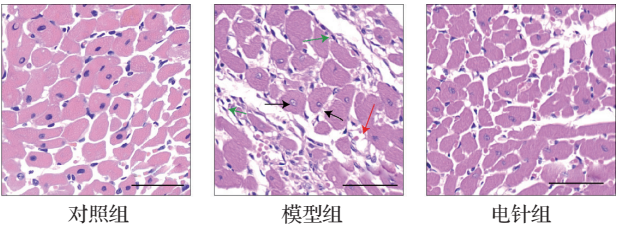
Fig. 1 Comparison of the height of ST segment of electrocardiogram of rats in 3 groups($\bar{x} \pm s$,6 rats/group)

2.2 各组大鼠心肌组织病理结构比较

对照组大鼠心肌细胞无肿胀,细胞结构相对完整,排列较整齐;模型组心肌细胞数量减少,排列疏松,细胞外炎性细胞浸润,心肌纤维空泡化,胞质中可见较小的圆形空泡,细胞外间隙增大;电针组心肌细胞周围结缔组织排列稍疏松,细胞间隙略有增宽。见图2。

2.3 各组大鼠心肌细胞线粒体超微结构比较

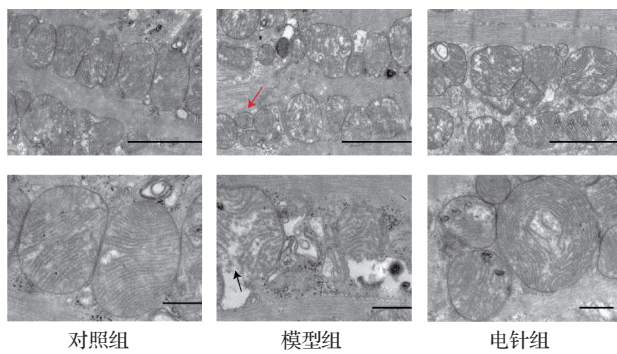
对照组大鼠心肌细胞线粒体排列较整齐,结构较清晰,未见明显肿胀,外膜和线粒体嵴结构相对完整;与对照组比较,模型组大鼠心肌细胞中线粒体出现不同程度的体积缩小,密度增加,嵴断裂;与模型组比较,电针组大鼠心肌细胞中线粒体排列整齐,结构稍清晰,嵴减少程度减轻。见图3。



注:标尺=50 μm。黑色箭头示细胞空泡化,红色箭头示细胞间隙,绿色箭头示炎性细胞浸润。

图2 各组大鼠心肌组织病理变化比较(HE染色)

Fig. 2 Comparison of pathological changes of myocardial tissue of rats in the 3 groups(HE staining)



注:下排图片为上排图片放大图,上排标尺=2 μm,下排标尺=500 nm。黑色箭头示线粒体嵴断裂,红色箭头示线粒体体积缩小。

图3 各组大鼠心肌细胞中线粒体超微结构变化比较 (透射电镜)

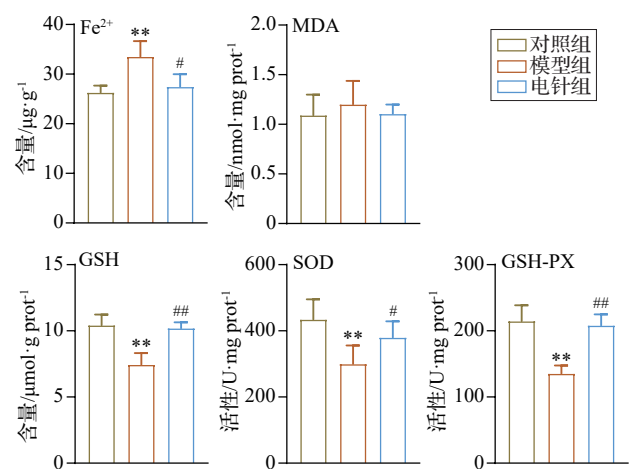
Fig. 3 Comparison of ultrastructural changes of mitochondria in cardiomyocytes of rats in the 3 groups (transmission electron microscope)

2.4 各组大鼠心肌组织中 Fe^{2+} 、MDA、GSH 含量和 SOD、GSH-PX 活性比较

与对照组比较,模型组心肌组织 Fe^{2+} 含量升高 ($P<0.01$), GSH 含量及 SOD、GSH-PX 活性降低 ($P<0.01$); 与模型组比较,电针组 Fe^{2+} 含量降低 ($P<0.05$), GSH 含量及 SOD、GSH-PX 活性升高 ($P<0.01, P<0.05$)。各组 MDA 含量差异无统计学意义。见图4。

2.5 各组大鼠心肌组织 FTH1、Nrf2、SLC7A11、GPX4 和 ACSL4 mRNA 表达比较

与对照组比较,模型组心肌组织 FTH1、Nrf2、SLC7A11、GPX4 mRNA 相对表达量降低 ($P<0.01$), ACSL4 mRNA 相对表达量升高 ($P<0.05$); 与模型组比较,电针组心肌组织 FTH1、Nrf2、



注: Fe^{2+} 为亚铁离子, MDA 为丙二醛, GSH 为谷胱甘肽, SOD 为超氧化物歧化酶, GSH-PX 为谷胱甘肽过氧化物酶。与对照组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

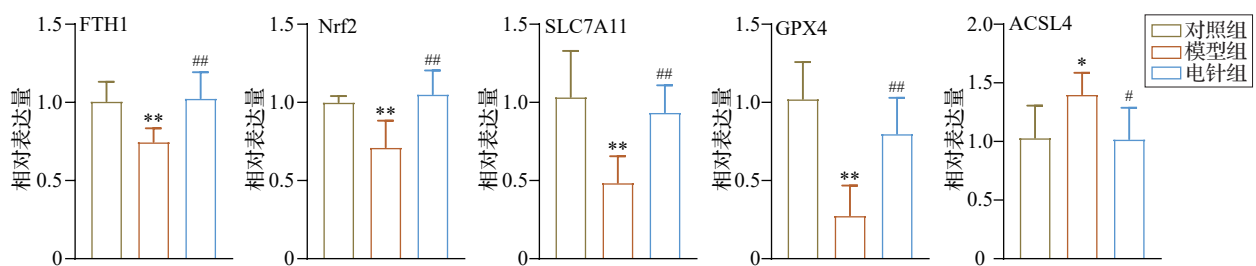
图4 各组大鼠心肌组织中 Fe^{2+} 、MDA、GSH 含量及 SOD、GSH-PX 活性比较 ($\bar{x}\pm s$, 6 只鼠/组)

Fig. 4 Comparison of the contents of Fe^{2+} , MDA, and GSH and the activities of SOD and GSH-PX in the myocardial tissue of rats in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 6 rats/group)

SLC7A11、GPX4 mRNA 相对表达量升高 ($P<0.01$), ACSL4 mRNA 相对表达量降低 ($P<0.05$)。见图5。

2.6 各组大鼠心肌组织 FTH1、Nrf2、SLC7A11、GPX4 和 ACSL4 蛋白表达比较

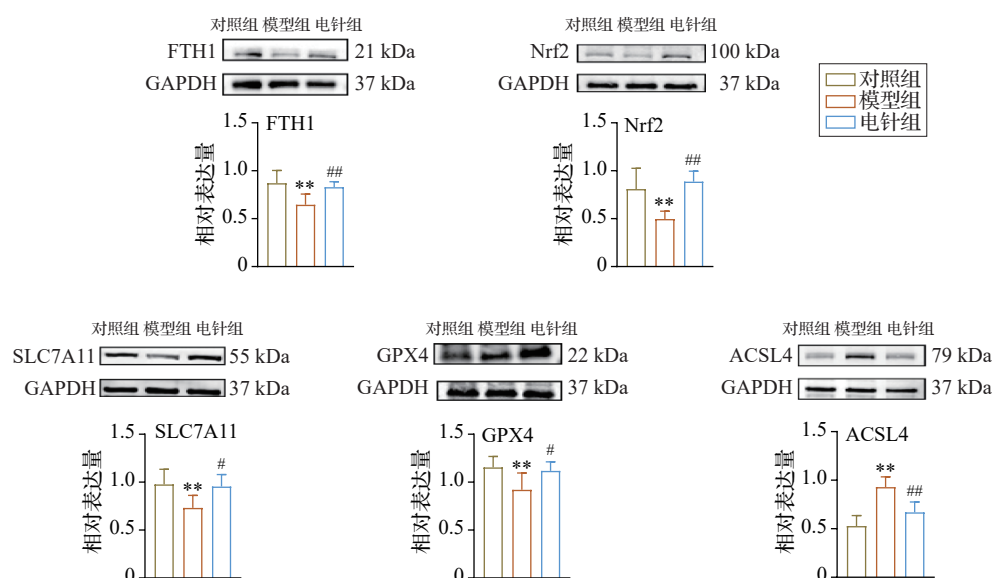
与对照组比较,模型组心肌组织 FTH1、Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白相对表达量降低 ($P<0.01$), ACSL4 蛋白表达量升高 ($P<0.01$); 与模型组比较,电针组心肌组织 FTH1、Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白相对表达量升高 ($P<0.01, P<0.05$), ACSL4 蛋白相对表达量降低 ($P<0.01$)。见图6。



注: FTH1 为铁蛋白重链 1, Nrf2 为核因子 E2 相关因子 2, SLC7A11 为胱氨酸/谷氨酸逆向转运蛋白, GPX4 为谷胱甘肽过氧化物酶 4, ACSL4 为酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4。与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

图5 各组大鼠心肌组织中 FTH1、Nrf2、SLC7A11、GPX4、ACSL4 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$, 6 只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of the relative expression levels of FTH1, Nrf2, SLC7A11, GPX4 and ACSL4 mRNA in the myocardial tissue of rats in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 6 rats/group)



注:FTH1为铁蛋白重链1,Nrf2为核因子E 2相关因子2,SLC7A11为胱氨酸/谷氨酸逆向转运蛋白,GPX4为谷胱甘肽过氧化物酶4,ACSL4为酰基辅酶A合成酶长链家族成员4。与对照组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

图6 各组大鼠心肌组织中FTH1、Nrf2、SLC7A11、GPX4和ACSL4蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$,6只鼠/组)

Fig. 6 Comparison of protein expression levels of FTH1, Nrf2, SLC7A11, GPX4 and ACSL4 in myocardial tissue of rats in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 rats/group)

3 讨论

中医将MI归属于“胸痹”“厥病”的范畴,《金匮要略》中记载“阳微阴弦,即胸痹而痛,所以然者,责其极虚也。今阳虚知在上焦,所以胸痹心痛者,以其阴弦故也”,将MI的病机概括为阳微阴弦^[13]。且古代医家治疗胸痹心痛时心俞往往是最常用的穴位之一^[14]。心俞属足太阳膀胱经,是心之背俞穴^[15]。据报道^[16],对心俞行针灸、穴位注射、穴位敷贴、穴位埋线等刺激,均可达到预防和缓解MI症状的目的。课题组前期研究显示,急性MI时,“心俞”处于敏化状态^[17]。本研究结果显示,造模后大鼠ECG ST段抬高且心肌细胞发生一系列病理损伤,表明ISO可以造成大鼠心肌组织损伤,电针后大鼠ECG中ST段回归正常水平,心肌病理损伤减轻,表明电针“心俞”可以有效地改善心肌细胞缺血,减少心肌细胞损伤。

铁死亡这一概念于2012年被Dixon博士团队^[18]首次提出,其形态学变化主要以线粒体体积缩小、密度增加、嵴减少为特征,线粒体形态被认为是铁死亡重要的病理判定标准之一。生物化学物质变化主要包括细胞内 Fe^{2+} 、MDA积累,GSH、SOD、GSH-GPX等与铁死亡相关的物质发生改变^[19-21]。有研究^[22]表明,铁死亡与MI相关疾病的发生关系密切。还有文献^[23]报道针刺可以通过抑制铁死亡,达到保护心肌、改善MI再灌注损伤的作用。本研究

观察到造模后的大鼠线粒体体积、嵴出现不同程度的减少,心肌细胞中 Fe^{2+} 含量升高,GSH、SOD、谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化物质含量降低,MDA虽有升高,但差异无统计学意义,可能由于MDA易与体内蛋白质、核酸和其他物质形成混合物,影响了基于游离MDA测定的组织中脂质过氧化的评估^[24]。以上结果表明心肌细胞缺血期间可能发生了铁死亡;而电针“心俞”干预后缺血心肌组织中线粒体损伤程度减轻, Fe^{2+} 含量降低、GSH、SOD、GSH-PX等抗氧化物质升高,表明铁死亡程度减轻,说明电针“心俞”可能通过抑制铁死亡改善MI,维持心脏功能。

细胞内铁死亡的发生受多种代谢途径的调控,包括铁代谢、脂质代谢、氧化还原系统等多种代谢途径^[25-26],其中铁代谢和脂质代谢是控制铁死亡的基石。铁离子是机体必需的一种微量元素,铁死亡发生时,细胞内 Fe^{2+} 稳态失衡,大量的 Fe^{2+} 被释放,并通过Fenton反应诱导脂质过氧化,从而导致铁死亡的发生^[27]。FTH1属于储铁蛋白的一种,能够储存铁并转化为 Fe^{3+} ,阻止Fenton反应,进一步抑制过氧化物的产生,在铁死亡的过程中起负反馈作用^[28-29]。据文献^[30]报道,铁蛋白的自噬会增加细胞内 Fe^{2+} 含量,诱导Fenton反应的发生,最终导致铁死亡发生。铁死亡的发生也可以由铁依赖性的脂质过氧化物大量积累引起^[31],ACSL4属于长链脂肪酰

基辅酶A合成酶家族的一员,它可以将细胞膜上的多不饱和脂肪酸(PUFA)形成PUFA酰基辅酶A,最终形成磷脂,磷脂通过一系列酶促、非酶促反应形成脂质过氧化物,最终导致铁死亡的发生^[32-34],因此ACSL4基因表达与铁死亡的发生呈正相关。有研究^[35]表明通过敲除小鼠细胞的ACSL4基因,能够有效降低铁死亡诱导剂诱导的细胞铁死亡的发生率。本研究结果显示,与对照组比较,模型组的心肌组织中FTH1 mRNA与蛋白表达水平均降低,ACSL4 mRNA与蛋白表达水平均升高,表明FTH1的减少导致Fe²⁺向细胞内释放,促使Fenton反应发生,同时ACSL4将细胞膜上的PUFA转化为PUFA酰基辅酶A,上述过程均可能导致心肌细胞铁死亡的发生;而电针组FTH1 mRNA与蛋白的表达水平均升高,ACSL4 mRNA与蛋白表达水平均降低,表明电针“心俞”可能通过改善铁代谢、脂质代谢两个途径减轻心肌细胞铁死亡。

GPX4介导的抗氧化系统是抑制铁死亡发生典型的监测机制之一,GPX4可以通过将脂质过氧化物转化为无毒性的醇,发挥抑制铁死亡的作用^[25,36]。Nrf2是抗铁嗜性基因的关键转录因子,可以控制一系列依赖于抗氧化反应基因的表达,如:溶质载体家族(SLC)成员中的SLC7A11、GPX4^[37]。SLC7A11是胱氨酸/谷氨酸反转运体(System Xc-)的组成部分, System Xc-会影响细胞内GSH合成速度。GPX4以GSH为底物,将脂质过氧化物转化为无毒性的醇,从而发挥抑制铁死亡的所用^[38-39]。有文献^[40]报道,通过建立体外H9C2心肌细胞模型,发现臭氧可以通过激活Nrf2/SLC7A11/GPX4通路抑制铁死亡改善MI再灌注损伤。也有研究^[41]通过ISL处理,可以使Nrf2转位进入细胞核,可以有效地提高HO-1、GPX4、SLC7A11水平,减轻线粒体损伤和铁沉积,最终减少MI再灌注诱导的心肌梗死面积和损伤。以上研究结果表明通过激活GPX4抗氧化系统可以有效抑制铁死亡的发生。为了探究电针“心俞”对缺血心肌发挥保护作用是否也与Nrf2/SLC7A11/GPX4通路有关,本研究对大鼠心肌组织中Nrf2、SLC7A11、GPX4 mRNA与蛋白表达进行检测,结果显示模型组大鼠mRNA与蛋白表达均上升,与模型组比较,电针组大鼠mRNA与蛋白表达均有下降,表明电针“心俞”抑制铁死亡对缺血心肌发挥保护作用,可能也与激活Nrf2/SLC7A11/GPX4抗氧化通路有关。

综上,抑制心肌细胞铁死亡途径在电针“心俞”

改善大鼠MI过程中发挥重要作用,且这一过程涉及多个代谢途径。本实验对电针抑制缺血心肌细胞铁死亡的多个途径的探讨,为临床治疗缺血性疾病提供了部分实验依据,但研究还存在一些局限性,本实验仅干预3 d即进行取材,对于电针“心俞”在大鼠MI慢性期对铁死亡的影响,还有待于进一步探索,未来研究可以针对不同时期MI铁死亡进行深入研究,为临床治疗MI提供进一步实验依据,为防治MI提供新思路和新方法。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。作者许金森为本刊编委,但未参与本文的审理。

参考文献

- [1] PAGLIARO B R, CANNATA F, STEFANINI G G, et al. Myocardial ischemia and coronary disease in heart failure[J]. *Heart Fail Rev*, 2020, 25(1): 53-65.
- [2] 刘明波, 何新叶, 杨晓红, 等.《中国心血管健康与疾病报告2023》概要(心血管疾病流行及介入诊疗状况)[J]. *中国介入心脏病学杂志*, 2024, 32(10): 541-550.
LIU M B, HE X Y, YANG X H, et al. Interpretation of report on cardiovascular health and diseases in China 2023 (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Interventional Cardiology*, 2024, 32(10): 541-550.
- [3] Association of Physicians of India. API expert consensus document on management of ischemic heart disease [J]. *J Assoc Physicians India*, 2006, 54: 469-480.
- [4] 李楠, 刘佳, 李蒙, 等.基于数据挖掘分析2010—2021年针刺治疗慢性冠状动脉综合征组方规律[J]. *北京中医药*, 2022, 41(7): 805-808.
LI N, LIU J, LI M, et al. Law of acupoint selection in the treatment of chronic coronary syndrome based on data mining method in recent ten years (in Chinese)[J]. *Beijing Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2022, 41(7): 805-808.
- [5] 中华中医药学会心血管病分会.冠心病稳定型心绞痛中医诊疗指南[J]. *中医杂志*, 2019, 60(21): 1880-1890.
Cardiovascular Disease Branch of the Chinese Association of Traditional Chinese Medicine. Guidelines for diagnosis and treatment of stable angina pectoris of coronary heart disease in traditional Chinese medicine (in Chinese) [J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2019, 60(21): 1880-1890.
- [6] 谢晴, 冯利民, 李程.针刺治疗急性心肌梗死的机制探讨[J]. *实用中医内科杂志*, 2025, 39(6): 75-79.
XIE Q, FENG L M, LI C. Mechanisms of acupuncture therapy in acute myocardial infarction; a review (in Chinese) [J]. *Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine*, 2025, 39(6): 75-79.
- [7] 李鹏达, 王峰, 郭志坤, 等.铁死亡在心血管疾病中的作用及研究进展[J]. *解剖学杂志*, 2023, 46(6): 530-533.
LI P D, WANG F, GUO Z K, et al. The role and research progress of ferroptosis in cardiovascular diseases (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Anatomy*, 2023, 46(6): 530-533.

- [8] FANG X X, ARDEHALI H, MIN J X, et al. The molecular and metabolic landscape of iron and ferroptosis in cardiovascular disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2023, 20(1): 7-23.
- [9] 于傲天, 李鹏伟, 刘翼天, 等. 针刺治疗急性心肌缺血机制研究进展[J]. *针灸临床杂志*, 2024, 40(11): 107-111.
YU A T, LI P W, LIU Y T, et al. Research progress on mechanism of acupuncture treatment for AMI (in Chinese) [J]. *Journal of Clinical Acupuncture and Moxibustion*, 2024, 40(11): 107-111.
- [10] 针灸科学研究联盟. 针灸科学研究行动计划[J]. *针刺研究*, 2025, 50(1): 1-2.
Acupuncture Research Consortium. A plan for acupuncture-moxibustion scientific research (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2025, 50(1): 1-2.
- [11] 邓雅方, 胡颖, 许金森, 等. 电针对急性心肌缺血大鼠“心俞”穴区伤害性感受器P2X3、TRPV1、SP表达的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2024, 30(8): 1376-1379.
DENG Y F, HU Y, XU J S, et al. Effect of electroacupuncture on the expression of P2X3, TRPV1 and SP in “Xinshu” point of acute myocardial ischemia rats (in Chinese) [J]. *Journal of Basic Chinese Medicine*, 2024, 30(8): 1376-1379.
- [12] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位 第2部分: 大鼠[J]. *针刺研究*, 2021, 46(4): 351-352.
China Association of Acupuncture-Moxibustion. Nomenclature and location of acupoints commonly used in laboratory animals. Part 2: rats (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2021, 46(4): 351-352.
- [13] 王若冲, 于清茜, 王伟航, 等. 冠心病的中医认识及治疗探析[J]. *中医研究*, 2023, 36(10): 1-6.
WANG R C, YU Q Q, WANG W H, et al. Traditional Chinese medicine understandings and treatment of coronary heart disease (in Chinese) [J]. *Traditional Chinese Medicinal Research*, 2023, 36(10): 1-6.
- [14] 吴琼, 谢宗池, 黄河, 等. 按法干预心俞穴对心肌缺血大鼠心肌保护作用的研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2022, 42(10): 1677-1682.
WU Q, XIE Z C, HUANG H, et al. Protective effects of pressing “Xinshu” (B15) on the myocardium in myocardial ischemia rats (in Chinese) [J]. *Journal of Hunan University of Chinese Medicine*, 2022, 42(10): 1677-1682.
- [15] 沈雪勇. 经络腧穴学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 124, 134, 216.
SHEN X Y. Meridian and acupoint science (in Chinese) [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2003: 124, 134, 216.
- [16] 肖少雄, 张婉娟, 别还兵. 心俞穴应用于缺血性心肌病的临床研究进展[J]. *湖北中医杂志*, 2023, 45(8): 64-66.
XIAO S X, ZHANG W J, BIE H B. Clinical research progress of Xinshu point in ischemic cardiomyopathy (in Chinese) [J]. *Hubei Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2023, 45(8): 64-66.
- [17] 董亚琴, 黄倩茹, 万隆, 等. 与急性心肌缺血损伤相关体表敏化穴位的初步分布观察[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(2): 672-674.
DONG Y Q, HUANG Q R, WAN L, et al. Preliminary observation on the distribution of the activated acupoints after acute myocardial ischemia (in Chinese) [J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2018, 33(2): 672-674.
- [18] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [19] MOU Y H, WANG J, WU J C, et al. Ferroptosis, a new form of cell death: opportunities and challenges in cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 34.
- [20] URSINI F, MAIORINO M. Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPx4 [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 152: 175-185.
- [21] 冯婉贞, 马巧琳, 胡斌, 等. 一种针刺干预中枢神经系统疾病的重要机制: 铁死亡调控[J]. *针刺研究*, 2025, 50(7): 844-850.
FENG W Z, MA Q L, HU B, et al. An important mechanism for acupuncture intervention in central nervous system diseases: ferroptosis regulation (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2025, 50(7): 844-850.
- [22] 李小旺, 方飞, 陆建忠, 等. MG53蛋白乳酸化修饰通过介导心肌细胞铁死亡加重小鼠心肌缺血再灌注损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2025, 41(4): 653-660.
LI X W, FANG F, LU J Z, et al. Lactylation of MG53 protein enhances mouse myocardial ischemia/reperfusion injury by mediating cardiomyocyte ferroptosis (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2025, 41(4): 653-660.
- [23] 黄凯裕, 梁爽, 潘琪琦, 等. 铁死亡在心肌缺血-再灌注损伤中的作用及针刺干预研究进展[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2024, 34(8): 781-784.
HUANG K Y, LIANG S, PAN Q Q, et al. Research progress on the role of iron death in myocardial ischemia-reperfusion injury and acupuncture intervention (in Chinese) [J]. *Zhejiang Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2024, 34(8): 781-784.
- [24] DRAPER H H, HADLEY M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation [J]. *Methods Enzymol*, 1990, 186: 421-431.
- [25] LIANG D G, MINIKES A M, JIANG X J. Ferroptosis at the intersection of lipid metabolism and cellular signaling [J]. *Mol Cell*, 2022, 82(12): 2215-2227.
- [26] WU X G, LI Y, ZHANG S C, et al. Ferroptosis as a novel therapeutic target for cardiovascular disease [J]. *Theranostics*, 2021, 11(7): 3052-3059.
- [27] CHEN Y F, LI X T, WANG S Y, et al. Targeting iron metabolism and ferroptosis as novel therapeutic approaches in cardiovascular diseases [J]. *Nutrients*, 2023, 15(3): 591.
- [28] AROSIO P, INGRASSIA R, CAVADINI P. Ferritins: a

- family of molecules for iron storage, antioxidation and more [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1790(7): 589-599.
- [29] ZHANG J, ZHENG Y P, WANG Y, et al. YAP1 alleviates sepsis-induced acute lung injury via inhibiting ferritinophagy-mediated ferroptosis[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 884362.
- [30] HOU W, XIE Y C, SONG X X, et al. Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin[J]. *Autophagy*, 2016, 12(8): 1425-1428.
- [31] POPE L E, DIXON S J. Regulation of ferroptosis by lipid metabolism[J]. *Trends Cell Biol*, 2023, 33(12): 1077-1087.
- [32] YANG Y F, ZHU T, WANG X, et al. ACSL3 and ACSL4, distinct roles in ferroptosis and cancers[J]. *Cancers*, 2022, 14(23): 5896.
- [33] FENG H Z, STOCKWELL B R. Unsolved mysteries: How does lipid peroxidation cause ferroptosis? [J]. *PLoS Biol*, 2018, 16(5): e2006203.
- [34] 赵培培, 周志刚, 杨媛媛, 等. 铁死亡诱导剂 Erastin 下调 ACSL4 抑制肝癌细胞体外增殖[J]. *南方医科大学学报*, 2024, 44(11): 2131-2136.
- ZHAO P P, ZHOU Z G, YANG Y Y, et al. Ferroptosis inducer Erastin inhibits proliferation of liver cancer cells in vitro by down-regulating ACSL4 (in Chinese)[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2024, 44(11): 2131-2136.
- [35] 蒋志明, 张辽, 刘磊, 等. 电针心经激活核因子 E2 相关因子 2/血红素氧合酶信号通路抑制铁死亡改善急性心肌缺血[J]. *针刺研究*, 2023, 48(5): 461-468.
- JIANG Z M, ZHANG L, LIU L, et al. Electroacupuncture improves ischemic myocardial injury by activating Nrf2/HO-1 signaling pathway to inhibit ferroptosis in rats (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2023, 48(5): 461-468.
- [36] 曹亚荣, 马贤德, 樊程程, 等. 基于 System xc (-)-GSH-GPX4 抗氧化功能轴探讨电针改善脑缺血再灌注损伤大鼠神经元铁死亡的作用机制[J]. *针刺研究*, 2024, 49(12): 1239-1247.
- CAO Y R, MA X D, FAN C C, et al. Eye-acupuncture ameliorates ferroptosis of cerebral neuronal cells in CIRI rats by up-regulating System xc (-)-GSH-GPX4 antioxidant functional axis activities (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2024, 49(12): 1239-1247.
- [37] 于宁, 宋囡, 隋国媛, 等. 黄芩苷调节 HIF-1 α /SLC7A11/GPX4 轴抑制 ox-LDL 诱导的巨噬细胞源性泡沫细胞形成[J]. *中国病理生理杂志*, 2025, 41(5): 909-918.
- YU N, SONG N, SUI G Y, et al. Baicalin modulates HIF-1 α /SLC7A11/GPX4 axis to inhibit ox-LDL-induced ferroptosis in macrophage-derived foam cells (in Chinese)[J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2025, 41(5): 909-918.
- [38] 罗豪, 刘延旭, 文聪, 等. SLC7A11 的调控机制及其在心血管病中的作用[J]. *生命的化学*, 2024, 44(1): 73-82.
- LUO H, LIU Y X, WEN C, et al. The regulatory mechanism of SLC7A11 and its roles in cardiovascular diseases (in Chinese)[J]. *Chemistry of Life*, 2024, 44(1): 73-82.
- [39] 赵琪琪, 杜雪芹, 刘松华, 等. SLC7A11 表达与双硫死亡、铁死亡及肿瘤关系的研究进展[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2023, 33(5): 398-403.
- ZHAO Q Q, DU X Q, LIU S H, et al. Research progress on the relationship between SLC7A11 expression and disulfide death, iron death and tumor (in Chinese) [J]. *Journal of Jiangsu University (Medicine Edition)*, 2023, 33(5): 398-403.
- [40] DING S Y, DUANMU X Y, XU L S, et al. Ozone pretreatment alleviates ischemiareperfusion injury-induced myocardial ferroptosis by activating the Nrf2/Slc7a11/Gpx4 axis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165: 115185.
- [41] YAO D S, BAO L X, WANG S C, et al. Isoliquiritigenin alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury by regulating the Nrf2/HO-1/SLC7a11/GPX4 axis in mice[J]. *Free Radic Biol Med*, 2024, 221: 1-12.

收稿日期:2025-06-30 修回日期:2025-09-17