

## • 实验研究 •

## 黄连碱通过抑制 Rho/ROCK 通路改善心力衰竭大鼠心律失常的心肌保护作用机制

井 晶<sup>1</sup>, 蒋友旭<sup>2</sup>, 张卫国<sup>1\*</sup>

1. 郑州大学第二附属医院 心血管内科六病区, 河南 郑州 450014

2. 郑州大学第二附属医院 心血管内科二病区, 河南 郑州 450014

**摘要:** **目的** 探讨黄连碱抑制 Ras 同源基因家族成员 (Rho) / Rho 激酶 (ROCK) 通路对阿霉素诱导的心力衰竭大鼠心律失常及其心肌保护作用机制。 **方法** 将 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、黄连碱 (3、12 mg/kg) 组、美托洛尔组、黄连碱+溶血磷脂酸组。检测大鼠左心室射血分数 (LVEF)、左心室短轴缩短率 (LVFS)、左心室舒张末期内径 (LVEDD)、左心室收缩末期内径 (LVESD)、室性早搏发生率、心率的变化; ELISA 检测血清脑钠肽 (BNP)、可溶性生长刺激表达基因 2 蛋白 (ST2) 水平; Masson 染色检测心肌组织纤维化并评估心肌胶原容积分数 (CVF); 试剂盒检测心肌组织肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 (IL) -6、IL-10 水平及丙二醛 (MDA)、还原型谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽 (GSH/GSSG)、超氧化物歧化酶 (SOD) 水平; Western blotting 检测心肌组织 III 型胶原蛋白 (Collagen III)、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA)、Ras 同源基因家族成员 A (RhoA)、ROCK1、磷酸化肌球蛋白磷酸酶靶向亚基 1 (p-MYPT1)/MYPT1 蛋白水平。 **结果** 与模型组相比, 黄连碱各剂量组 LVEDD、LVESD、室性早搏发生率、心率、血清 BNP、ST2 水平、心肌组织 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MDA 水平及 Collagen III、 $\alpha$ -SMA、RhoA、ROCK1、p-MYPT1/MYPT1 蛋白、CVF 降低, 胶原沉积减少, LVFS、LVEF、心肌组织 IL-10、GSH/GSSG、SOD 水平升高 ( $P < 0.05$ ); 溶血磷脂酸处理逆转了黄连碱对模型大鼠心肌纤维化、炎症反应、氧化应激及心律失常的改善作用。 **结论** 黄连碱能够有效改善阿霉素诱导的心力衰竭大鼠心律失常及心功能, 其作用机制可能与抑制 Rho/ROCK 通路, 进而减轻心肌纤维化、炎症反应和氧化应激密切相关。

**关键词:** 黄连碱; 阿霉素; 心力衰竭; 心律失常; 氧化应激; 纤维化; 炎症

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2025)12-2965-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.12.001

## Myocardial protective mechanism of coptisine in improving arrhythmia in rats with heart failure by inhibiting the Rho/ROCK pathway

JING Jing<sup>1</sup>, JIANG Youxu<sup>2</sup>, ZHANG Weiguo<sup>1</sup>

1. Ward 6 of Cardiovascular Medicine Department, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450014, China

2. Ward 2 of Cardiovascular Medicine Department, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450014, China

**Abstract: Objective** To explore the mechanism of coptisine inhibiting the Rho/ROCK pathway on arrhythmia and myocardial protection in doxorubicin-induced heart failure rats. **Methods** SD Rats were randomly divided into control group, model group, coptisine (3, 12 mg/kg) group, metoprolol group, coptisine + lysophosphatidic acid group. The changes in LVEF, LVFS, LVEDD, LVESD, VPB incidence, and heart rate of rats were measured. ELISA was used to detect the serum levels of BNP and ST2. Masson staining for detecting myocardial tissue fibrosis and evaluating myocardial CVF. Commercial kits were used to determine the levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, MDA, GSH/GSSG, and SOD in myocardial tissue. Western blotting was employed to detect the protein expressions of Collagen III,  $\alpha$ -SMA, RhoA, ROCK1, and p-MYPT1/MYPT1 in myocardial tissue. **Results** Compared with the model group, coptisine (3, 12 mg/kg) group exhibited significantly reduced LVEDD, LVESD, VPB incidence, HR, serum BNP and ST2 levels,

收稿日期: 2025-09-24

基金项目: 河南省科技发展计划 (252300420107)

作者简介: 井 晶, 女, 主治医师, 硕士, 研究方向为心血管疾病的介入治疗。E-mail: J3939920629@163.com

\*通信作者: 张卫国, 男, 主任医师, 硕士, 研究方向为心血管疾病的介入治疗。E-mail: 13140001222@163.com

myocardial TNF- $\alpha$ , IL-6 and MDA levels, and the protein expressions of Collagen III,  $\alpha$ -SMA, RhoA, ROCK1, p-MYPT1/MYPT1, and CVF, with decreased collagen deposition. In contrast, LVFS, LVEF, and myocardial IL-10, GSH/GSSG, and SOD levels were significantly increased ( $P < 0.05$ ). Treatment with lysophosphatidic acid reversed the ameliorating effects of coptisine on myocardial fibrosis, inflammatory response, oxidative stress, and arrhythmia in model rats. **Conclusion** Coptisine can effectively improve arrhythmia and cardiac function in doxorubicin-induced heart failure rats, and its mechanism of action may be closely related to inhibiting the Rho/ROCK pathway, thereby alleviating myocardial fibrosis, inflammatory response and oxidative stress.

**Key words:** coptisine; doxorubicin; heart failure; arrhythmia; oxidative stress; fibrosis; inflammation

心力衰竭是多种心血管疾病发展的终末阶段,在全球范围内发病率持续攀升,且因其高死亡率、高再住院率而构成严峻的公共卫生挑战。该疾病不仅严重损害患者的生存质量,其长期且高昂的医疗开销也为社会带来了沉重的经济负担,已成为一个亟待解决的重要全球性健康问题。在心力衰竭复杂的病理生理进程中,恶性室性心律失常是导致心源性猝死的主要原因,直接决定了心力衰竭患者的预后<sup>[1]</sup>。因此,深入阐明心力衰竭相关心律失常的发生机制,并探寻行之有效的防治策略,是当前心血管研究领域的核心挑战之一。

黄连碱是一种天然存在于黄连根茎中的异喹啉类生物碱,具有抗炎、抗氧化和心肌保护等多种药理活性。研究表明,黄连碱能够减轻心肌缺血再灌注损伤大鼠的心肌损伤程度并改善其心功能<sup>[2]</sup>。近年研究发现,Ras 同源基因家族成员(Rho)/Rho 激酶(ROCK)信号通路的异常活化被证实与心肌肥厚、纤维化、内皮功能障碍及电生理不稳定等多种心血管病理过程密切相关,其可能参与心律失常的发生过程<sup>[3]</sup>。另有报道表明,黄连碱可通过抑制 Rho/ROCK 通路,保护大鼠心脏免受心肌缺血/再灌注损伤<sup>[4]</sup>。本研究旨在探讨黄连碱对心力衰竭大鼠心律失常的影响,并重点分析其是否通过调控 Rho/ROCK 通路发挥作用,以期心力衰竭合并心律失常的治疗提供新的理论依据和实验参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

87 只 6 周龄雄性 SPF 级 SD 大鼠,体质量 200~210 g,购自江苏青龙山生物科技有限公司,许可证号 SCXK(苏)2024-0001。大鼠饲养于郑州大学实验动物中心,温度 20~25 °C,湿度 50%~60%,自由摄食饮水。实验方案获得郑州大学第二附属医院医学伦理委员会批准(KYS2025053)。

### 1.2 试剂及仪器

黄连碱(质量分数>98%,批号 JOT-10186,成都普菲德生物技术有限公司);酒石酸美托洛尔(广

州白云山汉方现代药业有限公司);阿霉素(质量分数>98%,批号 JRX50054,上海杰瑞兴生物医药科技有限公司);Rho 激活剂溶血磷脂酸(批号 HY-175082,美国 MCE 公司);大鼠脑钠肽(BNP)、可溶性生长刺激表达基因 2 蛋白(ST2)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL)-6、IL-10 ELISA 试剂盒(批号 CS10860、CS10739、CS11397、CS10325、CS10826,上海莼试生物技术有限公司);大鼠丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽(GSH/GSSG)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号 S0131S、S0053、S0101S,上海碧云天生物技术有限公司);兔源一抗 III 型胶原蛋白(Collagen III)、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)、Ras 同源基因家族成员 A(RhoA)、ROCK1、GAPDH、羊抗兔二抗(批号 ab184993、ab124964、ab311716、ab97592、ab8245、ab205718,英国 Abcam 公司);兔源一抗肌球蛋白磷酸酶靶向亚基 1(MYPT1)、p-MYPT1(批号 PA5-17164、PA5-40248,赛默飞世尔科技有限公司)。

EPIQ 7C 彩色多普勒超声诊断仪(飞利浦医疗器械有限公司);BL420F 生理仪(上海益联科教设备有限公司);Multiskan Sky 酶标仪(赛默飞世尔科技有限公司);CKX53 光学显微镜(日本奥林巴斯公司);ChemiDoc 成像系统(美国伯乐公司)。

### 1.3 心力衰竭大鼠模型的构建

通过连续 4 周每周 ip 1 次 4 mg/kg 阿霉素的方式构建心力衰竭大鼠模型<sup>[5]</sup>。以大鼠出现体质量下降、活动量减少、呼吸急促且左心室射血分数(LVEF) $\leq 50\%$ 作为造模成功的依据<sup>[5-6]</sup>。

### 1.4 实验分组及处理

将大鼠按照随机数字表法随机分为对照组、模型组、黄连碱(3、12 mg/kg)组、美托洛尔组、黄连碱+溶血磷脂酸组,每组 12 只。建模结束后,各组按设定方案连续干预 4 周,1 次/d,黄连碱(3、12 mg/kg)组分别 ig 相应剂量黄连碱<sup>[7]</sup>;美托洛尔组 ig 酒石酸美托洛尔 10 mg/kg<sup>[8]</sup>;黄连碱+溶血磷

脂酸组 ig 12 mg/kg 黄连碱并 ip 10 mg/kg 溶血磷脂酸<sup>[9]</sup>。对照组与模型组均给予等体积生理盐水。

### 1.5 心功能的检测

使用飞利浦 EPIQ 7C 彩色多普勒超声诊断仪, 配备 S12-4 高频探头 (探头频率 4~2 MHz), 通过 M 型二维超声心动图评估所有大鼠心功能, 检测并计算大鼠 LVEF、左心室短轴缩短率 (LVFS)、左心室舒张末期内径 (LVEDD)、左心室收缩末期内径 (LVESD) 等超声心动图参数。

### 1.6 室性早搏发生率、心率的检测

将大鼠经 ip 45 mg/kg 1%戊巴比妥钠麻醉后固定, 四肢连接至 BL420F 生理仪心电图导联, 连续稳定记录 3 min 的心电图信号。室性早搏的判定标准为: 出现宽大畸形的 QRS 波群 (时限 > 50 ms), 其前无相关 P 波, 并伴有完全性代偿间歇。通过人工计数的方法, 统计 3 min 内室性早搏发生的总次数, 并计算其发生率 (次/3 min), 同时记录心率变化。

### 1.7 血清 BNP、ST2 水平的检测

采集所有大鼠腹主动脉血液样本, 静置 30 min 后, 以 3 000 r/min 转速离心 15 min, 分离得到血清。严格按照对应 ELISA 试剂盒说明书进行操作, 使用酶标仪在相应波长下测定吸光度值, 通过标准曲线计算各组大鼠血清中 BNP、ST2 水平。

### 1.8 心肌组织纤维化的检测

各组随机取 6 只大鼠, 经 ip 45 mg/kg 1%戊巴比妥钠麻醉后处死大鼠, 收集心肌组织, 将心肌组织样本置于 4%多聚甲醛中固定, 随后用流水冲洗 24 h, 再通过浓度递增的乙醇系列进行脱水处理。脱水完成后, 用二甲苯对样本进行透明化处理, 接着将其包埋于石蜡中。按照 4  $\mu$ m 的厚度制作组织切片, 随后依据试剂盒说明书, 使用 Masson 三色染液对切片进行染色。染色后的切片采用光学显微镜进行观察分析。为评估心肌纤维化程度, 对 Masson 染色切片进行了半定量分析。采用 Image-Pro Plus 6.0 软件, 在每张切片随机捕获 5 个不重叠视野, 计算蓝色胶原纤维面积与总心肌面积的比值, 定义为心肌胶原容积分数 (CVF)。

### 1.9 心肌组织 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 水平及 MDA、GSH/GSSG、SOD 水平的检测

各组取剩余的 6 只大鼠, 经 ip 45 mg/kg 1%戊巴比妥钠麻醉后处死大鼠, 迅速剖胸取出心脏, 于冰 PBS 中洗净血液, 分离左心室心肌组织并精确称取约 100 mg。将组织样本置于预冷的生理盐水中手

动匀浆, 随后以 4  $^{\circ}$ C、3 000 $\times$ g 离心 15 min, 吸取上清液, 所有检测指标均严格按照相应商品化试剂盒的操作说明书进行, 并使用酶标仪读取吸光度值并计算浓度。

### 1.10 心肌组织 Collagen III、 $\alpha$ -SMA、RhoA、ROCK1、p-MYPT1/MYPT1 蛋白的检测

采用 RIPA 缓冲液提取心肌组织匀浆总蛋白。通过 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。取 25  $\mu$ g 蛋白样本上样至 10% SDS-PAGE 中进行电泳分离, 随后将蛋白转移至聚偏氟乙烯膜上。在室温条件下, 用 5%牛血清白蛋白溶液封闭膜 1 h, 之后加入以下一抗孵育: Collagen III (1:4 000)、 $\alpha$ -SMA (1:4 000)、RhoA (1:4 000)、GAPDH (1:4 000)、ROCK1 (1:4 000)、p-MYPT1 (1:4 000)、MYPT1 (1:4 000)。所有一抗均在 4  $^{\circ}$ C 条件下与封闭液共同孵育过夜。加入二抗 (1:3 000) 在室温下孵育 60 min。采用增强化学发光底物检测免疫反应信号, 并用 ChemiDoc 成像系统采集图像。

### 1.11 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件统计分析。符合正态分布且方差齐性的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较使用 SNK-*q* 检验。

## 2 结果

### 2.1 黄连碱对大鼠心功能、室性早搏发生率、心率的影响

与模型组相比, 黄连碱各剂量组 LVEDD、LVESD、室性早搏发生率、心率显著降低, LVFS、LVEF 显著升高 ( $P < 0.05$ ), 且呈剂量相关性; 与黄连碱 12 mg/kg 组相比, 黄连碱+溶血磷脂酸组 LVEDD、LVESD、室性早搏发生率、心率升高, LVFS、LVEF 降低 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

### 2.2 黄连碱对大鼠血清 BNP、ST2 水平的影响

与模型组相比, 黄连碱各剂量组血清 BNP、ST2 水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), 且呈剂量相关性; 与黄连碱 12 mg/kg 组相比, 黄连碱+溶血磷脂酸组血清 BNP、ST2 水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

### 2.3 黄连碱对大鼠心肌组织纤维化的影响

对照组大鼠心肌组织仅见极少量胶原沉积; 模型组大鼠胶原沉积较对照组增加; 黄连碱各剂量组及美托洛尔组大鼠心肌组织胶原沉积较模型组均有不同程度减少; 而黄连碱+溶血磷脂酸组胶原沉积较黄连碱 12 mg/kg 组增加, 见图 1。半定量结果显示, 与模型组相比, 黄连碱各剂量组的 CVF 显著

表 1 各组大鼠 LVFS、LVEDD、LVEF、LVESD、室性早搏发生率、心率比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 12$ )

Table 1 Comparison of LVFS, LVEDD, LVEF, LVESD, ventricular premature beat incidence, and heart rate among rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 12$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	LVFS/%	LVEDD/mm	LVEF/%	LVESD/mm	室性早搏发生率/%	心率/(次·min <sup>-1</sup> )
对照	—	64.18±3.21	4.32±0.23	87.86±4.09	2.61±0.11	0.00	331.68±18.85
模型	—	32.22±1.69 <sup>*</sup>	6.45±0.33 <sup>*</sup>	47.01±2.91 <sup>*</sup>	4.78±0.19 <sup>*</sup>	83.33 <sup>*</sup>	456.79±24.01 <sup>*</sup>
黄连碱	3	37.78±1.93 <sup>#</sup>	5.92±0.32 <sup>#</sup>	64.56±3.32 <sup>#</sup>	4.30±0.15 <sup>#</sup>	75.00 <sup>#</sup>	400.13±21.18 <sup>#</sup>
	12	55.78±2.86 <sup>#&amp;</sup>	4.79±0.26 <sup>#&amp;</sup>	78.98±4.05 <sup>#&amp;</sup>	3.13±0.14 <sup>#&amp;</sup>	25.00 <sup>#&amp;</sup>	358.79±19.95 <sup>#&amp;</sup>
美托洛尔	10	56.17±2.89 <sup>#&amp;</sup>	4.71±0.27 <sup>#&amp;</sup>	79.36±4.12 <sup>#&amp;</sup>	3.18±0.16 <sup>#&amp;</sup>	16.67 <sup>#&amp;</sup>	353.33±19.68 <sup>#&amp;</sup>
黄连碱+溶血磷脂酸	12+10	46.58±2.53 <sup>@</sup>	5.43±0.29 <sup>@</sup>	70.66±3.75 <sup>@</sup>	3.85±0.20 <sup>@</sup>	33.33 <sup>@</sup>	381.16±20.15 <sup>@</sup>

与对照组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 3 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 12 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>@</sup> $P < 0.05$ 。

<sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group; <sup>&</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 3 mg·kg<sup>-1</sup> group; <sup>@</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 12 mg·kg<sup>-1</sup> group.

表 2 各组大鼠血清 BNP、ST2 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 12$ )

Table 2 Comparison of serum BNP and ST2 levels in each groups of rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 12$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	BNP/(pg·mL <sup>-1</sup> )	ST2/(pg·mL <sup>-1</sup> )
对照	—	60.19±3.56	45.88±2.37
模型	—	201.26±11.47 <sup>*</sup>	86.09±4.73 <sup>*</sup>
黄连碱	3	165.32±10.03 <sup>#</sup>	72.34±3.75 <sup>#</sup>
	12	90.78±4.84 <sup>#&amp;</sup>	54.96±3.01 <sup>#&amp;</sup>
美托洛尔	10	88.19±4.86 <sup>#&amp;</sup>	53.88±3.10 <sup>#&amp;</sup>
黄连碱+溶血磷脂酸	12+10	123.59±7.15 <sup>@</sup>	61.67±3.23 <sup>@</sup>

与对照组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 3 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 12 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>@</sup> $P < 0.05$ 。

<sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group; <sup>&</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 3 mg·kg<sup>-1</sup> group; <sup>@</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 12 mg·kg<sup>-1</sup> group.

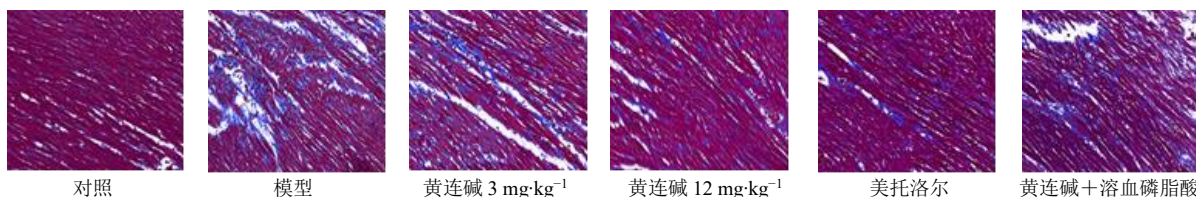


图 1 心肌组织 Masson 染色检测结果 (×200)

Fig. 1 Results of Masson staining for myocardial tissue (×200)

表 3 各组大鼠心肌 CVF 比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Table 3 Comparison of myocardial CVF among rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	CVF/%
对照	—	1.15±0.14
模型	—	13.69±0.78 <sup>*</sup>
黄连碱	3	10.51±0.63 <sup>#</sup>
	12	3.63±0.20 <sup>#&amp;</sup>
美托洛尔	10	3.67±0.22 <sup>#&amp;</sup>
黄连碱+溶血磷脂酸	12+10	6.78±0.40 <sup>@</sup>

与对照组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 3 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 12 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>@</sup> $P < 0.05$ 。

<sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group; <sup>&</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 3 mg·kg<sup>-1</sup> group; <sup>@</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 12 mg·kg<sup>-1</sup> group.

降低 ( $P < 0.05$ ), 且呈剂量相关性; 与黄连碱 12 mg/kg 组相比, 黄连碱+溶血磷脂酸组 CVF 显著升高 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

## 2.4 黄连碱对大鼠心肌组织炎症反应的影响

与模型组比较, 黄连碱各剂量组大鼠心肌组织 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量均显著降低, IL-10 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ), 且呈剂量相关性; 与黄连碱 12 mg/kg 组相比, 黄连碱+溶血磷脂酸组大鼠心肌组织 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量显著升高, IL-10 含量显著降低 ( $P < 0.05$ ), 见表 4。

## 2.5 黄连碱对大鼠氧化应激水平的影响

与模型组相比, 黄连碱各剂量组 MDA 含量显著降低, GSH/GSSG、SOD 显著升高 ( $P < 0.05$ ),

且呈剂量相关性; 与黄连碱 12 mg/kg 组相比, 黄连碱+溶血磷脂酸组 MDA 含量升高, GSH/GSSG、SOD 含量显著降低 ( $P < 0.05$ ), 见表 5。

## 2.6 黄连碱对大鼠心肌组织 Collagen III、 $\alpha$ -SMA 蛋白及 Rho/ROCK 通路蛋白的影响

与模型组相比, 黄连碱各剂量组大鼠心肌组织 Collagen III、 $\alpha$ -SMA、RhoA、ROCK1、p-MYPT1/MYPT1 蛋白表达量均显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与黄连碱 12 mg/kg 组相比, 黄连碱+溶血磷脂酸组大鼠心肌组织 Collagen III、 $\alpha$ -SMA、RhoA、ROCK1、p-MYPT1/MYPT1 蛋白表达量显著升高 ( $P < 0.05$ ), 见图 2、表 6。

表 4 各组心肌组织 TNF- $\alpha$ 、IL-10、IL-6 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )  
Table 4 Comparison of TNF- $\alpha$ , IL-10, and IL-6 levels in myocardial tissues of each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	TNF- $\alpha$ /(pg·mg <sup>-1</sup> )	IL-10/(pg·mg <sup>-1</sup> )	IL-6/(pg·mg <sup>-1</sup> )
对照	—	90.18 ± 5.53	100.67 ± 6.15	29.81 ± 1.68
模型	—	208.85 ± 11.76*	31.78 ± 1.79*	87.88 ± 5.23*
黄连碱	3	171.34 ± 10.08 <sup>#</sup>	45.56 ± 2.78 <sup>#</sup>	69.23 ± 3.78 <sup>#</sup>
	12	113.75 ± 6.83 <sup>#&amp;</sup>	82.86 ± 5.01 <sup>#&amp;</sup>	39.78 ± 2.43 <sup>#&amp;</sup>
美托洛尔	10	111.46 ± 6.75 <sup>#&amp;</sup>	83.95 ± 5.12 <sup>#&amp;</sup>	38.89 ± 2.32 <sup>#&amp;</sup>
黄连碱+溶血磷脂酸	12+10	145.58 ± 8.18 <sup>@</sup>	60.88 ± 3.45 <sup>@</sup>	50.68 ± 2.78 <sup>@</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 3 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 12 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>@</sup> $P < 0.05$ 。  
\* $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group; <sup>&</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 3 mg·kg<sup>-1</sup> group; <sup>@</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 12 mg·kg<sup>-1</sup> group.

表 5 各组心肌组织 MDA、GSH/GSSG、SOD 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )  
Table 5 Comparison of MDA, GSH/GSSG, and SOD levels in myocardial tissues of each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	MDA/(nmol·mg <sup>-1</sup> )	GSH/GSSG	SOD/(U·mg <sup>-1</sup> )
对照	—	1.78 ± 0.16	13.68 ± 0.71	112.83 ± 7.35
模型	—	6.23 ± 0.29*	5.19 ± 0.26*	47.83 ± 2.96*
黄连碱	3	5.01 ± 0.28 <sup>#</sup>	6.75 ± 0.41 <sup>#</sup>	60.44 ± 3.08 <sup>#</sup>
	12	2.89 ± 0.17 <sup>#&amp;</sup>	11.73 ± 0.63 <sup>#&amp;</sup>	101.73 ± 6.19 <sup>#&amp;</sup>
美托洛尔	10	2.76 ± 0.15 <sup>#&amp;</sup>	12.05 ± 0.71 <sup>#&amp;</sup>	103.44 ± 6.21 <sup>#&amp;</sup>
黄连碱+溶血磷脂酸	12+10	4.14 ± 0.23 <sup>@</sup>	9.45 ± 0.51 <sup>@</sup>	95.67 ± 4.76 <sup>@</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 3 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 12 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>@</sup> $P < 0.05$ 。  
\* $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group; <sup>&</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 3 mg·kg<sup>-1</sup> group; <sup>@</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 12 mg·kg<sup>-1</sup> group.

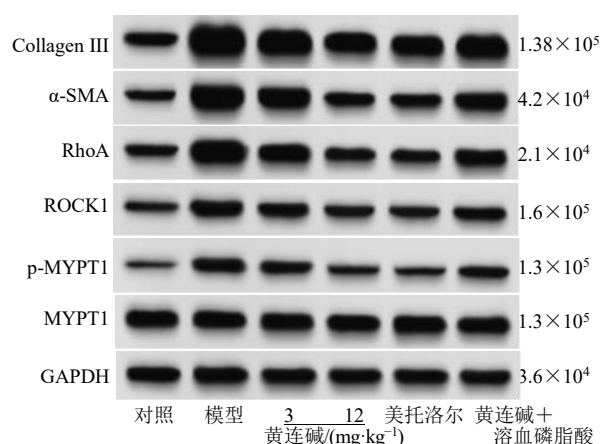


图 2 Western blotting 检测心肌组织 Collagen III、 $\alpha$ -SMA、RhoA、ROCK1、p-MYPT1/MYPT1 蛋白表达  
Fig. 2 Western blotting analysis of collagen III,  $\alpha$ -SMA, RhoA, ROCK1, and p-MYPT1/MYPT1 protein expressions in myocardial tissue

### 3 讨论

心力衰竭是一种严重的心血管疾病,显著降低患者生活质量和生存率。阿霉素所诱导的心力衰竭模型表现出明显氧化应激、炎症反应和心肌纤维

化,并伴有较高的心律失常发生率,因而是研究抗心律失常药物的理想实验模型<sup>[10-11]</sup>。LVEDD、LVESD 增大、LVFS 和 LVEF 降低是心力衰竭心脏收缩与舒张功能受损的重要标志,而室性早搏可作为恶性心律失常的触发因素<sup>[12-13]</sup>。本研究采用阿霉素诱导心力衰竭大鼠模型,与对照组相比,模型组 LVEDD、LVESD、室性早搏发生率、心率及血清 HF 标志物 BNP 和 ST2 水平均升高,LVFS 与 LVEF 降低,提示心力衰竭大鼠出现心律失常。研究显示,心肌纤维化是心律失常发生的重要结构基础<sup>[14]</sup>。Collagen III 作为心肌间质中重要的纤维性胶原,其过度沉积与分布异常是心肌纤维化的核心病理改变,可导致心脏僵硬增加、功能异常和电传导不稳定<sup>[15]</sup>。 $\alpha$ -SMA 作为活化肌成纤维细胞的关键标志物,其表达上调推动心肌纤维化进程,直接促进细胞外基质过度沉积与心脏重构<sup>[16]</sup>。心力衰竭本质上是一种慢性炎症状态<sup>[17]</sup>。氧化应激是阿霉素心脏毒性的主要起始机制,通过活性氧引起脂质、蛋白质和 DNA 损伤<sup>[18]</sup>。上述结果表明,抑制心肌纤维化、炎症反应和氧化应激可能成为改善心力衰竭相关

表 6 各组心肌组织 Collagen III、 $\alpha$ -SMA、RhoA、ROCK1、p-MYPT1/MYPT1 蛋白表达量 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Table 6 Protein levels of Collagen III,  $\alpha$ -SMA, RhoA, ROCK1, and p-MYPT1/MYPT1 in myocardial tissues of each group ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	Collagen III/GAPDH	$\alpha$ -SMA/GAPDH	RhoA/GAPDH	ROCK1/GAPDH	p-MYPT1/MYPT1
对照	—	0.73±0.08	0.46±0.05	0.59±0.06	0.36±0.04	0.12±0.02
模型	—	2.89±0.26*	2.01±0.23*	1.63±0.18*	0.91±0.10*	0.75±0.08*
黄连碱	3	2.35±0.21 <sup>#</sup>	1.56±0.18 <sup>#</sup>	1.27±0.15 <sup>#</sup>	0.73±0.08 <sup>#</sup>	0.59±0.06 <sup>#</sup>
	12	1.46±0.19 <sup>#&amp;</sup>	0.89±0.09 <sup>#&amp;</sup>	0.81±0.09 <sup>#&amp;</sup>	0.52±0.06 <sup>#&amp;</sup>	0.28±0.03 <sup>#&amp;</sup>
美托洛尔	10	1.44±0.20 <sup>#&amp;</sup>	0.86±0.10 <sup>#&amp;</sup>	0.79±0.08 <sup>#&amp;</sup>	0.49±0.05 <sup>#&amp;</sup>	0.26±0.03 <sup>#&amp;</sup>
黄连碱+溶血磷脂酸	12+10	2.03±0.18 <sup>@</sup>	1.23±0.14 <sup>@</sup>	1.02±0.11 <sup>@</sup>	0.64±0.07 <sup>@</sup>	0.41±0.05 <sup>@</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 3 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; 与黄连碱 12 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>@</sup> $P < 0.05$ 。

\* $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group; <sup>&</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 3 mg·kg<sup>-1</sup> group; <sup>@</sup> $P < 0.05$  vs coptisine 12 mg·kg<sup>-1</sup> group.

心律失常的有效策略。

黄连碱是从黄连等中药材中提取的一种生物碱,近年来在心血管疾病研究领域日益受到关注。已有研究报道,黄连碱能够减轻脓毒症小鼠的心肌氧化应激损伤<sup>[19]</sup>。在本研究中,与模型组相比,黄连碱组 LVEDD、LVESD、室性早搏发生率、心率及血 BNP 和 ST2 水平均显著降低,LVFS 与 LVEF 显著升高 ( $P < 0.05$ );黄连碱组胶原沉积减少,CVF、心肌组织 Collagen III 和  $\alpha$ -SMA 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05$ );黄连碱组心肌组织中促炎因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平显著降低,抗炎因子 IL-10 水平显著升高 ( $P < 0.05$ );黄连碱组大鼠心肌 MDA 含量显著降低,GSH/GSSG 比值和 SOD 活性显著升高 ( $P < 0.05$ )。表明黄连碱可能成为治疗心力衰竭相关心律失常的一种潜在有效药物。

Rho/ROCK 通路在组织纤维化和炎症反应等生物过程中起关键调控作用。该通路中,RhoA 激活后可结合并激活 ROCK1,进而磷酸化 MYPT1,MYPT1 的磷酸化会解除对肌球蛋白轻链磷酸酶的抑制,增强肌球蛋白轻链磷酸化,从而促进肌成纤维细胞收缩与分化,加速细胞外基质合成与沉积,最终导致组织纤维化<sup>[20]</sup>。已有研究表明,抑制 Rho/ROCK 通路可减轻过氧化氢诱导的 H9C2 心肌细胞氧化应激损伤,并可改善心肌缺血再灌注大鼠模型的心肌炎症反应<sup>[21-22]</sup>。本研究中,黄连碱各剂量组均能抑制心力衰竭大鼠心肌组织中 RhoA、ROCK1 及 p-MYPT1/MYPT1 蛋白表达,且黄连碱 12 mg/kg 组抑制效果更为显著,提示黄连碱可能通过抑制该通路改善心力衰竭大鼠心律失常。本研究采用 RhoA 激活剂溶血磷脂酸进行回复实验。结果显示,溶血磷脂酸处理逆转了黄连碱 12 mg/kg 组对心力

衰竭大鼠心肌纤维化、炎症反应、氧化应激及心律失常的改善作用,证实黄连碱的确主要通过抑制 Rho/ROCK 通路发挥心脏保护效应。

综上所述,本研究结果表明,黄连碱能显著改善阿霉素诱导的心力衰竭大鼠模型的心律失常表型。其心脏保护机制与抑制 Rho/ROCK 信号通路的过度激活密切相关,并由此介导了对心肌纤维化、炎症反应及氧化应激等多重关键病理环节的有效遏制。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Savarese G, Becher P M, Lund L H, *et al.* Global burden of heart failure: a comprehensive and updated review of epidemiology [J]. *Cardiovasc Res*, 2023, 118(17): 3272-3287.
- [2] 赵志成,郭天龙. 黄连碱预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠 JNK/p38MAPK 信号通路的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2024, 22(17): 3122-3127.
- [3] 余意,杨波. Rho/ROCK 通路与心律失常的研究进展 [J]. *心血管病学进展*, 2024, 45(7): 577-580.
- [4] Guo J, Wang S B, Yuan T Y, *et al.* Coptisine protects rat heart against myocardial ischemia/reperfusion injury by suppressing myocardial apoptosis and inflammation [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 231(2): 384-391.
- [5] Han Q C, Shi J L, Yu Y D, *et al.* Calycosin alleviates ferroptosis and attenuates doxorubicin-induced myocardial injury via the Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1497733.
- [6] 刘燕飞,费爱科,郑学斌. 达格列净通过 Akt/AMPK-mTOR 通路激活保护性自噬对心力衰竭大鼠心功能及心室重构的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2025, 45(9): 2168-2172.



- [7] Sun S M, Wang P F. Coptisine alleviates ischemia/reperfusion-induced myocardial damage by regulating apoptosis-related proteins [J]. *Tissue Cell*, 2020, 66: 101392.
- [8] 王智, 王娟, 徐雷, 等. 黄芩苷对心力衰竭大鼠心律失常及心肌细胞内质网应激-肌电稳定性的影响 [J]. *天津医药*, 2021, 49(7): 706-712.
- [9] 张涛, 毛治尉, 豆倩云, 等. 基于 RhoA/ROCK 通路探讨赤芍总苷对心肌梗死大鼠心肌凋亡的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(5): 1138-1142.
- [10] Choksey A, Carter R D, Thackray B D, *et al.* AICAR confers prophylactic cardioprotection in doxorubicin-induced heart failure in rats [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2024, 191: 12-22.
- [11] Zeng X H, Zhang H, Xu T Y, *et al.* Vericiguat attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity through the PRKG1/PINK1/STING axis [J]. *Transl Res*, 2024, 273: 90-103.
- [12] Chen H Y, Lin Q B, Zeng Y L, *et al.* Xinyin tablets affect mitophagy and cardiomyocyte apoptosis to alleviate chronic heart failure by regulating histone deacetylase 3(HDAC3)-mediated PTEN induced putative kinase 1(PINK1)/Parkin signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 346: 119666.
- [13] Zhang Y H, Zhang Z Y, Qu Z L. Curvature-mediated source and sink effects on the genesis of premature ventricular complexes in long QT syndrome [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2024, 326(6): H1350-H1365.
- [14] Mesquita T, Miguel-Dos-Santos R, Liu W X, *et al.* Upregulated FoxO1 promotes arrhythmogenesis in mice with heart failure and preserved ejection fraction [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 1184.
- [15] Zhu X, Hai Z, Ning Z P. Salidroside impedes Ang II-infused myocardial fibrosis by activating the SIRT1-Nrf2 pathway [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2025, 28(6): 815-824.
- [16] Feng R L, Liu H L, Chen Y Q. Baricitinib represses the myocardial fibrosis via blocking JAK/STAT and TGF- $\beta$ 1 pathways *in vivo* and *in vitro* [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2025, 25(1): 65.
- [17] Zhang P, Mo D G, Lin F H, *et al.* Relationship between novel inflammatory markers derived from high-sensitivity C-reactive protein and heart failure: A cross-sectional study [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2025, 25(1): 111.
- [18] Zhang Z L, Yu X L, Li J, *et al.* Irisin mitigates doxorubicin-induced cardiotoxicity by reducing oxidative stress and inflammation via modulation of the PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4 pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2025, 19: 1067-1081.
- [19] 周游, 韩晓曼, 雷一鸣, 等. 黄连碱减轻脓毒症小鼠心肌损伤的机制 [J]. *中国急救医学*, 2025, 45(4): 341-348.
- [20] Cui K, Luan Y, Wang T, *et al.* Reduced corporal fibrosis to protect erectile function by inhibiting the Rho-kinase/LIM-kinase/cofilin pathway in the aged transgenic rat harboring human tissue kallikrein 1 [J]. *Asian J Androl*, 2017, 19(1): 67-72.
- [21] Zhang Y, Liu S X, Li X C, *et al.* Protective effect of fasudil on hydrogen peroxide-induced oxidative stress injury of H9C2 cardiomyocytes [J]. *Dis Markers*, 2021, 2021: 8177705.
- [22] 谢骏, 王媛媛, 李聚鑫, 等. 茯苓多糖调控 Rho-ROCK 信号通路对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞凋亡的影响和机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(23): 6434-6441.

[责任编辑 高源]