·神经专栏·

基于CGAS-STING通路研究缺血性脑卒中后铁死亡对心脏损伤的影响

盖寒冰[1],常 青[2],李梦媛[3],康超群[4],孙欣敏[3],张 辉[1*]
(1.河北北方学院基础医学院人体解剖学教研室,河北 张家口 075000;2.河北北方学院第一附属医院神经内科,河北 张家口 075000;3.河北北方学院药学院细胞生物学平台,河北 张家口 075000;4.河北北方学院中医学院细胞生物学平台,河北 张家口 075000)

[摘要] **目的** 探讨缺血性脑卒中后铁死亡是否通过环鸟苷酸—腺苷酸合成酶(cyclic GMP-AMP synthase,cGAS)—干扰素基因刺激因子(stimulator of interferongenes,STING)通路介导心脏损伤。**方法** 将6~8周雄性C57BL/6小鼠随机分为假手术组、大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion,MCAO)模型组、铁死亡诱导剂(RAS-selective lethal 3,RSL3)干预组,采用改良线栓法制备MCAO模型。造模72 h后通过Zea-Longa评分评估神经功能缺损,氯化三苯基四氮唑(Triphenyl tetrazolium chloride,TTC)染色检测心脑梗死体积,心电图监测心脏电生理变化,蛋白印迹法(Western blot)和免疫组织化学检测蛋白表达。**结果** 与假手术组相比,模型组小鼠神经功能缺损评分升高($P<0.05$)、脑梗死体积增大($P<0.05$)、生存率降低($P<0.05$),RSL3干预进一步加剧上述改变。心电图显示模型组出现心动过缓及ST段抬高,RSL3组ST段加重($P<0.05$),但心脏TTC染色未见组间梗死体积差异。分子水平上,RSL3显著抑制脑及心脏组织谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase4,GPX4)和铁蛋白重链(ferritin heavy chain 1,FTH)表达($P<0.05$),同时上调cGAS/STING/干扰素调节因子3(interferon regulatory factor 3,IRF3)表达($P<0.05$)。免疫组织化学证实GPX4下调与cGAS通路活化呈负相关。**结论** 铁死亡通过抑制GPX4激活cGAS-STING通路,该通路激活可能导致缺血性脑卒中后非梗死性心脏电生理紊乱。本研究为临床避免使用促GPX4耗竭药物提供理论依据,并为缺血性脑卒中后多器官损伤管理提供新思路。

[关键词] 缺血性卒中;铁死亡;环状GMP-AMP合成酶 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2026.09.009
[中图分类号] R743.3 [文献标志码] A [文章编号] 1007-3205(2026)09-1056-11

Study on the effect of ferroptosis on myocardiac injury after ischemic stroke based on the CGAS-STING pathway

GAI Han-bing[1], CHANG Qing[2], LI Meng-yuan[3], KANG Chao-qun[4], SUN Xin-min[3], ZHANG Hui[1*]
(1.*Department of Human Anatomy, School of Basic Medical Sciences, Hebei North University, Zhangjiakou* 075000, *China*; 2.*Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou* 075000, *China*; 3.*Cell Biology Platform of the School of Pharmacy, Hebei North University, Zhangjiakou* 075000, *China*; 4.*Cell Biology Platform, School of Traditional Chinese Medicine, Hebei North University, Zhangjiakou* 075000, *China*)

[**Abstract**] **Objective** To investigate whether ferroptosis after ischemic stroke mediates myocardiac injury via the cyclic GMP-AMP synthase (cGAS)-stimulator of interferon genes (STING) pathway. **Methods** Male C57BL/6 mice aged 6-8 weeks were randomly divided into a sham surgery group, a middle cerebral artery occlusion (MCAO) model group, and an RAS-selective lethal 3 (RSL3) intervention group. The MCAO model was prepared using a modified wire embolization method. At 72 h after model establishment, neurological deficits were assessed using Zea-Longa scores, with Triphenyl tetrazolium chloride (TTC) staining to detect cardial and cerebral infarct volume, electrocardiogram (ECG) to monitor cardiac electrophysiological changes, and Western blot and

[收稿日期]2026-04-27
[基金项目]张家口市市级科技计划项目(2022GJJ337)
[作者简介]盖寒冰(1999-),男,山东德州人,河北北方学院医学硕士研究生,从事神经损伤研究。
*通信作者。E-mail:zhanghui6312@126.com

immunohistochemistry to detect immunoprotein expression. **Results** Compared with the sham surgery group, the model group showed increased neurological deficit scores ($P<0.05$), increased cerebral infarct volume ($P<0.05$), and decreased survival rates ($P<0.05$). The RSL3 intervention further exacerbated these changes. ECG showed bradycardia and ST-segment elevation in the model group, with aggravated ST-segment elevation in the RSL3 group ($P<0.01$), but no difference in infarct volume was observed between groups in cardiac TTC staining. At the molecular level, RSL3 significantly inhibited the expression of glutathione peroxidase 4 (GPX4) and ferritin heavy chain 1 (FTH1) in brain and cardiac tissues ($P<0.05$), while upregulating cGAS/STING/interferon regulatory factor 3 (IRF3) expression ($P<0.05$). Immunohistochemistry confirmed that GPX4 downregulation was negatively correlated with activation of the cGAS pathway. **Conclusion** Ferrosis activates the cGAS-STING pathway by inhibiting GPX4, which may lead to non-infarct cardiac electrophysiological disorders after ischemic stroke. This study provides a theoretical basis for clinical avoidance of GPX4-promoting depletion drugs and offers new ideas for managing multiple organ injuries after ischemic stroke.

[**Key words**] ischemic stroke; ferroptosis; cyclic GMP-AMP synthase

脑卒中是一种致死率和致残率较高的神经系统疾病，主要分为缺血性脑卒中（ischemic stroke，IS）和出血性脑卒中（hemorrhagic stroke，HS）。其中，IS占所有卒中病例的87%[1]。近年来，IS发病率持续上升，其复杂病理机制导致的高复发率和高病死率，对患者家庭及社会公共卫生体系造成沉重负担，且该疾病负担存在显著的地区性差异[2-4]。IS的核心病理在于“氧—葡萄糖剥夺”所致的能量代谢紊乱，进而诱发组织内铁离子代谢异常并触发铁死亡。在此过程中，谷胱甘肽过氧化物酶4（glutathione peroxidase4，GPX4）表达下调及谷胱甘肽（glutathione，GSH）功能减退，显著降低清除脂质过氧化物的能力，进而加重脑组织损伤[5]。同时，损伤细胞释放的异常双链DNA激活环鸟苷酸—腺苷酸合成酶（cyclic GMP-AMP synthase，cGAS）—干扰素基因刺激因子（stimulator of interferongenes，STING）通路，进一步加重炎症反应和神经损伤[6-7]。临床研究[8-9]显示，IS不仅累及大脑，在发病24 h内可诱发心脏损伤，尤其可加重原有心脏基础疾病，恶化预后并降低生存率，且显著升高的心血管并发症与患者5年预后不良密切相关。鉴于证明脑损伤与心功能障碍因果关系的证据日益增多，深入探讨IS后铁死亡对心脏损伤的具体影响，对理解IS整体病理过程、不良预后原因，及开发改善患者预后和生存率提出针对性防治措施。

1 材料与方法

1.1 实验准备

1.1.1 实验动物 采用60只6～8周龄、体重（25±2）g雄性C57BL/6小鼠，由斯贝福（北京）生物技术有限公司提供，实验动物生产许可证号：SCXK（京）2019-0010。所有小鼠均饲养于无特定病原体级动物房，环境温度控制在（22±2）℃，湿度（40±5）%，采用12 h光照/12 h黑暗昼夜节律循环，自由进食饮水。动物饲养于河北北方学院微循环实验室动物中心。

本研究所涉及的所有动物实验操作均符合动物福利伦理要求，并已获得动物伦理委员会批准（批准文号：YJS20241222045）。

1.1.2 实验设备 主要仪器：电生理监测PowerLab（ADLNSTRUMENTS），电热恒温干燥箱（上海精宏实验设备有限公司），恒温水浴箱（JULABO）电泳仪；聚丙烯酰胺凝胶凝胶成像分析系统（美国GE公司）。

1.1.3 实验试剂 主要试剂：大脑中动脉闭塞（middle cerebral artery occlusion，MCAO）线栓（北京西浓，货号：A2-162020），2，3，5-三苯基氯化四氮唑（飞净生物，批号：PH1206；PH1792W），SP鼠/兔通用免疫组织化学显色试剂盒（河北瑞帕特生物科技有限公司，货号：RP-RK9000），3，3′-二氨基联苯胺显色液（中杉金桥，货号：ZL-9018-3ML），GPX4（华安生物，货号：ET1706-45），cGAS（ABclonal，货号：A8335），铁蛋白重链（Ferritin heavy chain 1，FTH）（ABclonal，货号：A1144），酰基辅酶A合成酶长链家族成员4（acy1-CoA synthetase long-chain family member 4，ACSL4）（ABclonal，货号：A20414），STING/TMEM173（ABclonal，货号：A21051），干扰素调节因子3（interferon regulatory factor 3，IRF3）（ABclonal，货号：A11118），铁死亡诱导剂（RAS-selective lethal 3，RSL3）（TargetMOL，货号：1219810-16-8），山羊抗兔HRP二抗（河北瑞帕特，货号：S1002-

100），β-actin（ABclonal，货号：AC026）。

1.2　小鼠IS模型建立及分组　小鼠随机分为3组，每组20只：假手术组、模型组、RSL3合并模型组。采用改良线栓法建立MCAO模型[10]，小鼠术前禁食12 h，异氟烷麻醉后固定小鼠，沿颈正中线切开皮肤，钝性分离肌及筋膜组织，充分暴露右侧颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉，结扎颈总动脉及颈外动脉，在颈总动脉近心端用眼科剪剪一小切口，将线栓经切口处送入颈内动脉，当线栓上黑色标记点位于颈总动脉分叉口时固定线栓，清除血迹后消毒手术区域，缝合皮肤切口[11]。给药方案：参考相关RSL3研究文献[12-13]以及依据5 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg、25 mg/kg梯度实验结果判断，确定RSL3的给药浓度为15 mg/kg。RSL3＋模型组小鼠于造模术后24 h、48 h接受该浓度的RSL3溶液腹腔注射[14]。假手术组和模型组小鼠在同等条件下腹腔注射等体积的0.9%生理盐水作为对照。术后将小鼠放回饲养环境常规喂养，于72 h后进行后续实验。

1.3　神经功能评分及生存率　MCAO手术后72 h进行神经功能缺损评估。采用改良Zea-Longa五级评分法[15]，具体标准如下：0分，无神经功能缺损；1分，对侧前爪无法完全伸展；2分，前肢向对侧旋转；3分，向对侧倾倒；4分，意识丧失，无法自主行走。评分越高，提示神经功能缺损越严重。评分1～3分的小鼠表示MCAO模型建立成功。术后72 h统计各组内存活小鼠的数量。采用对数秩（Mantel-Cox）检验比较各组小鼠的生存率，采用非参数检验及Dunn检验计算神经学功能评分。公式如下：生存率（%）=（术后存活小鼠数/实验开始时该组小鼠总数）×100%。

1.4　心电图检测　实验前，分别对假手术组、模型组、RSL3＋模型组小鼠进行心电图基线记录。所有小鼠均采用低浓度异氟烷麻醉，以尽量降低麻醉深度差异对心电图结果的潜在影响[16]。造模成功后，采用相同参数（5 mV，2∶1）复测心电图。将麻醉后小鼠置于温度、湿度和环境噪音控制一致条件下，连续记录心电图信号。比较各组小鼠心电图中ST段的形态变化和幅度变化。

1.5　TTC染色　各组小鼠均于MCAO模型建立72 h后处死，采用TTC染色法检测脑组织和心脏组织梗死体积，并分别计算梗死体积百分比[17]。取小鼠脑及心脏组织，置于-20 ℃冰箱中20 min。将冷冻的脑、心脏组织切成厚度相近的5个切片。在37 ℃避光条件下，以2%TTC溶液染色20 min。正常组织染色后呈红色，梗死区域为白色。随后于4%多聚甲醛固定24 h后拍照，采用image J软件扫描图像并进行梗死体积分析。计算公式如下：梗死体积百分比=（梗死体积/总体积）×100%。

1.6　苏木精—伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色法　将脑、心切片依次置于二甲苯和梯度乙醇中脱蜡水化，以超纯水冲洗，再浸泡至苏木素染液中，以流水冲洗，采用1%盐酸酒精分化、予以返蓝，滴加伊红染液复染，水洗后依次经梯度乙醇进行脱水，二甲苯透明，中性树胶封片，于显微镜下观察拍照。

1.7　免疫组织化学染色　将脑、心脏组织切片置于二甲苯和梯度乙醇中脱蜡水化处理。加热到95 ℃进行修复抗原，冷却后流水冲洗。滴加内源性过氧化物酶阻断剂，磷酸盐缓冲液（phosphate buffered saline，PBS）冲洗，滴加一抗GPX4（1∶100）、FTH（1∶100）、ACSL4（1∶100）、cGAS（1∶200）、STING（1∶200）、IRF3（1∶200），于湿盒内4 ℃孵育过夜；复温后PBS缓冲液冲洗，滴加酶标羊抗小鼠/兔IgG聚合物，再次4 ℃孵育过夜；复温后PBS缓冲液冲洗，滴加显色液显色，苏木素复染，盐酸乙醇分化液分化后流水冲洗，逆梯度乙醇脱水透明后封片。每组免疫组织化学结果选取6个高倍视野（×400）分别采集图像，采用image J软件计算并统计分析阳性区域面积百分比。

1.8　蛋白免疫印迹　从-80 ℃冰箱取出小鼠梗死侧脑组织和心脏组织剪碎。加入蛋白裂解液，间歇匀浆后，4 ℃，12 000 r/min离心30 min收集上清液，使用二喹啉甲酸法测总蛋白浓度。将蛋白与上样缓冲液混合后煮沸变性。进行十二烷基硫酸钠—聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜、封闭后加入一抗溶质载体家族7成员11（solutecarrier family 7 member 11，SLC7A1）（1∶1 000）、GPX4（1∶10 000）、FTH（1∶2 000）、cGAS（1∶1 000）、IRF3（1∶5 000）、β-actin（1∶500 000），4 ℃震荡孵育过夜；次日PBS清洗3次，滴加二抗（1∶10 000）室温孵育1.5 h，PBS清洗后增强化学发光显色后曝光。Image J软件分析条带灰度值计算蛋白表达水平。

1.9　样本量说明　本研究中不同检测指标对应的样本量存在差异（n=6或n=8）。在实验设计阶段，将60只小鼠随机分为3组，并分配至不同检测终点。其中，TTC染色和免疫组织化学染色采用6只小鼠，预实验结果显示上述指标组内变异较小，

6只动物即可满足统计学要求。蛋白免疫印迹（Western blot）检测采用8只小鼠，因为蛋白表达个体差异相对较大，增加样本量可提高检测结果的稳定性和统计效能。所有动物均按随机原则分配至各检测项目，样本量差异不影响组间比较的科学性和可靠性。

1.10　统计学方法　应用GraphPad prism 10.0软件分析数据。正态分布的计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，比较采用单因素方差分析、SNK-q检验、Welch方差分析；生存率采用Log-rank检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　RSL3对IS小鼠神经功能损伤影响　与假手术组相比，单纯模型组小鼠评分显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$），与单纯模型组比较，RSL3＋模型组小鼠评分进一步升高，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表1。

表1　神经学功能评分

Table 1　Neurological functional score

（n=6，$\bar{x}\pm s$，分）

组别	神经学功能评分
假手术组	0.00±0.00
模型组	2.00±0.78*
RSL3＋模型组	2.72±0.61#
F值	42.730
P值	<0.001

*P值<0.05与假手术组比较　#P值<0.05与模型组比较（SNK-q检验）

2.2　心电图检测　假手术组维持正常窦性心律。与假手术组相比，单纯模型组小鼠呈现显著心动过缓及ST段轻度抬高，提示脑缺血模型可诱发心肌损伤；RSL3＋模型组ST段抬高程度较单纯模型组显著加剧，证实RSL3可加重脑缺血所致的心脏损伤。见图1。

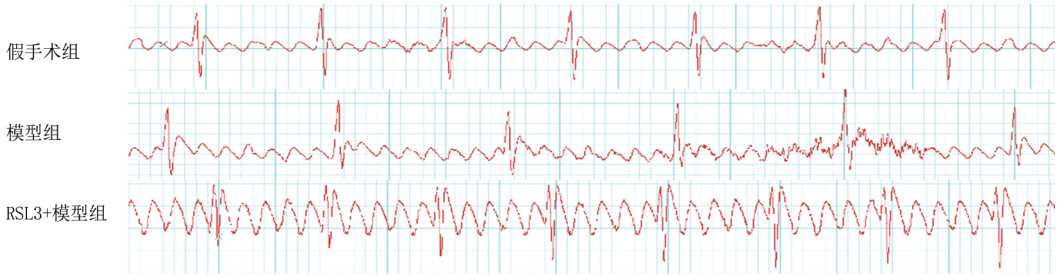


图1　各组小鼠心电图

Figure 1　ECGs of mice in each group

2.3　RSL3后IS小鼠存活率　RSL3＋模型组小鼠在脑缺血后第1、2天的存活率显著低于单纯模型组，差异有统计学意义（HR=2.755，$P<0.001$），该结果证实RSL3干预可增加脑缺血小鼠的早期死亡风险，提示其可通过加重脑心损伤而降低生存率。见图2。

2.4　RSL3对IS小鼠脑和心脏梗死体积影响　脑组织和心脏组织正常部分呈红色，梗死区域呈白色，见图3，4。模型组脑梗死体积占比较假手术组显著增加；RSL3＋模型组则进一步扩大，差异有统计学意义（$P<0.05$）。3组心脏梗死体积差异无统计学意义（$P>0.05$），见表2。

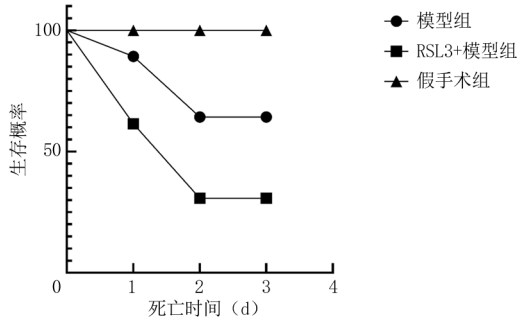


图2　3组小鼠3 d存活率

Figure 2　3-day Survival rates of mice in the three groups

表2　脑组织和心脏组织梗死体积

Table 2　Infarction volume of brain and cardiac tissues

（n=6，$\bar{x}\pm s$，%）

组别	脑部梗死体积	心脏梗死体积
假手术组	0.07±0.02	18.90±1.32
模型组	0.17±0.02*	15.50±2.97
RSL3＋模型组	0.26±0.02#	17.03±3.95
F值	89.370	0.996
P值	<0.001	0.423

*P值<0.05与假手术组比较　#P值<0.05与模型组比较（SNK-q检验）

2.5　RSL3对IS小鼠脑组织和心脏组织的作用　HE染色评估RSL3对MCAO模型小鼠脑组织和心脏组织的病理损伤影响，结果显示：在脑组织

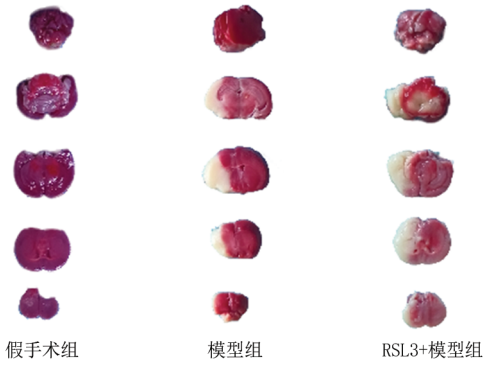


图3　脑部TTC梗死体积及分析结果

Figure 3　Cerebral infarct volume assessed by TTC staining and the corresponding analysis results

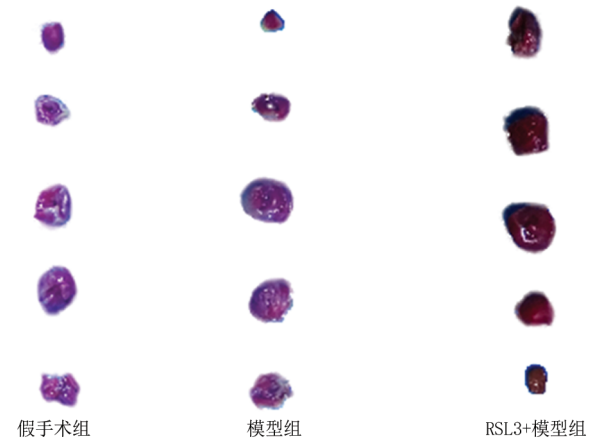


图4　心脏TTC梗死体积及分析结果

Figure 4　Cardiac infarct volume assessed by TTC staining and the corresponding analysis results

中，假手术组神经元结构正常，排列紧密，胞质均匀，核仁清晰；模型组出现神经元间隙增宽、空泡形成及少量神经元变性固缩；RSL3＋模型组病变显著加重，表现为大量神经元变性、核固缩及广泛空泡化。在心脏组织中，模型组同步出现心肌细胞萎缩、间隙增宽及核固缩；RSL3＋模型组心肌损伤进一步加剧，表现为细胞萎缩加重、核碎裂及充血水肿。见图5。

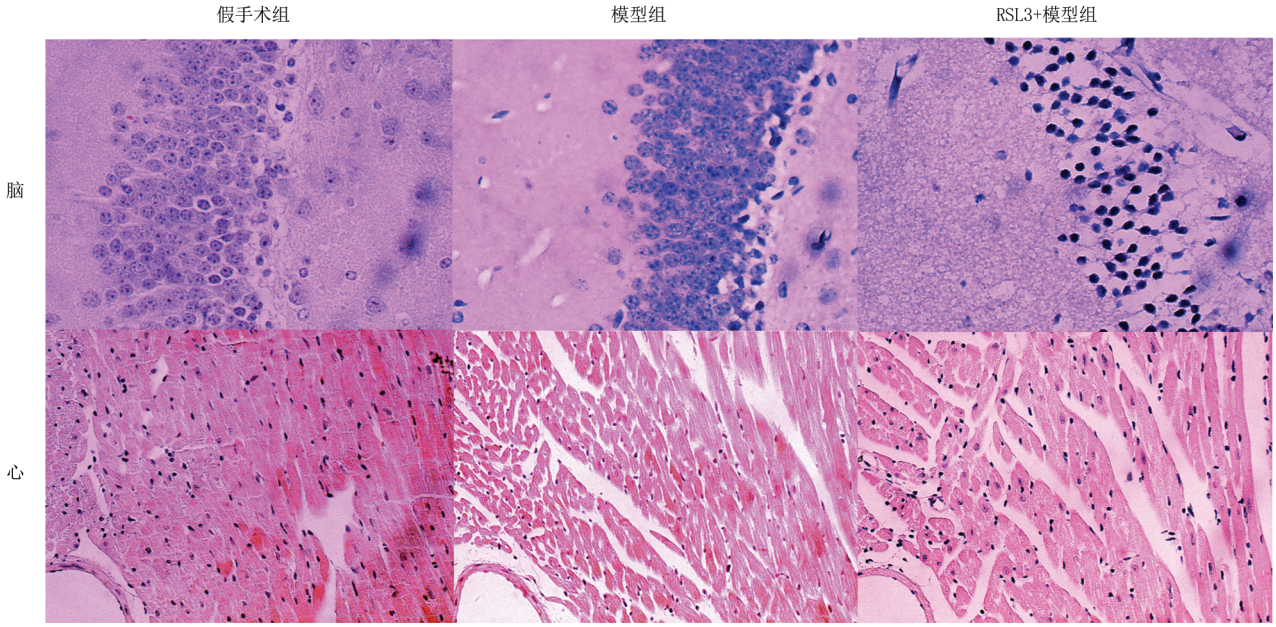


图5　各组小鼠脑部和心脏的病理形态变化（HE染色 ×200）

Figure 5　Pathological morphological changes in the brain and heart of mice in each group（HE staining ×200）

2.6　RSL3对IS小鼠脑组织蛋白的影响　与脑组织假手术组比较，单纯模型组GPX4、FTH表达降低，而cGAS、STING、IRF3、ACSL4表达升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。RSL3干预后，GPX4、FTH的表达进一步显著降低，cGAS、STING、IRF3、ACSL4表达进一步显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表3、图6、图7。

2.7　铁死亡诱导剂RSL3对IS小鼠心脏组织蛋白的影响　RSL3干预后，GPX4进一步显著降低，FTH、cGAS、STING显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表4、图8、图9。

2.8　铁死亡诱导剂RSL3干预后蛋白表达结果　Western blot检测结果，相较于假手术组，脑模型组SLC7A11、GPX4、FTH表达显著下调；RSL3干预后，其表达水平进一步下降，差异有统计学意义（$P<0.05$）。小鼠心脏组织蛋白实验结果显示，与假手术组相比，模型组cGAS、IRF3表达水平升高，SLC7A11、GPX4表达水平降低，与模型组相比，RSL3＋模型组cGAS、IRF3表达

表3　小鼠脑组织铁死亡蛋白及炎症通路蛋白的表达比较

Table 3　Comparison of the expression of ferroptosis-related proteins and inflammatory pathway proteins in mouse brain tissues

（n=6，$\bar{x}\pm s$）

组别	GPX4	FTH	ACSL4	cGAS	STING	IRF3
假手术组	0.13±0.01	6.90±1.30	1.48±0.39	2.11±0.51	1.33±0.38	2.34±0.05
模型组	0.08±0.01*	3.55±0.52*	3.59±0.64*	3.30±0.30*	4.36±0.75*	3.69±0.52△
RSL3+模型组	0.04±0.002#	1.96±0.34#	5.73±1.35#	5.59±0.53#	8.09±1.39#	4.94±0.34*
F值	77.680	43.530	28.920	48.830	39.030	51.250
P值	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001

*P值＜0.05与假手术组比较　#P值＜0.05与模型组比较（SNK-q检验）

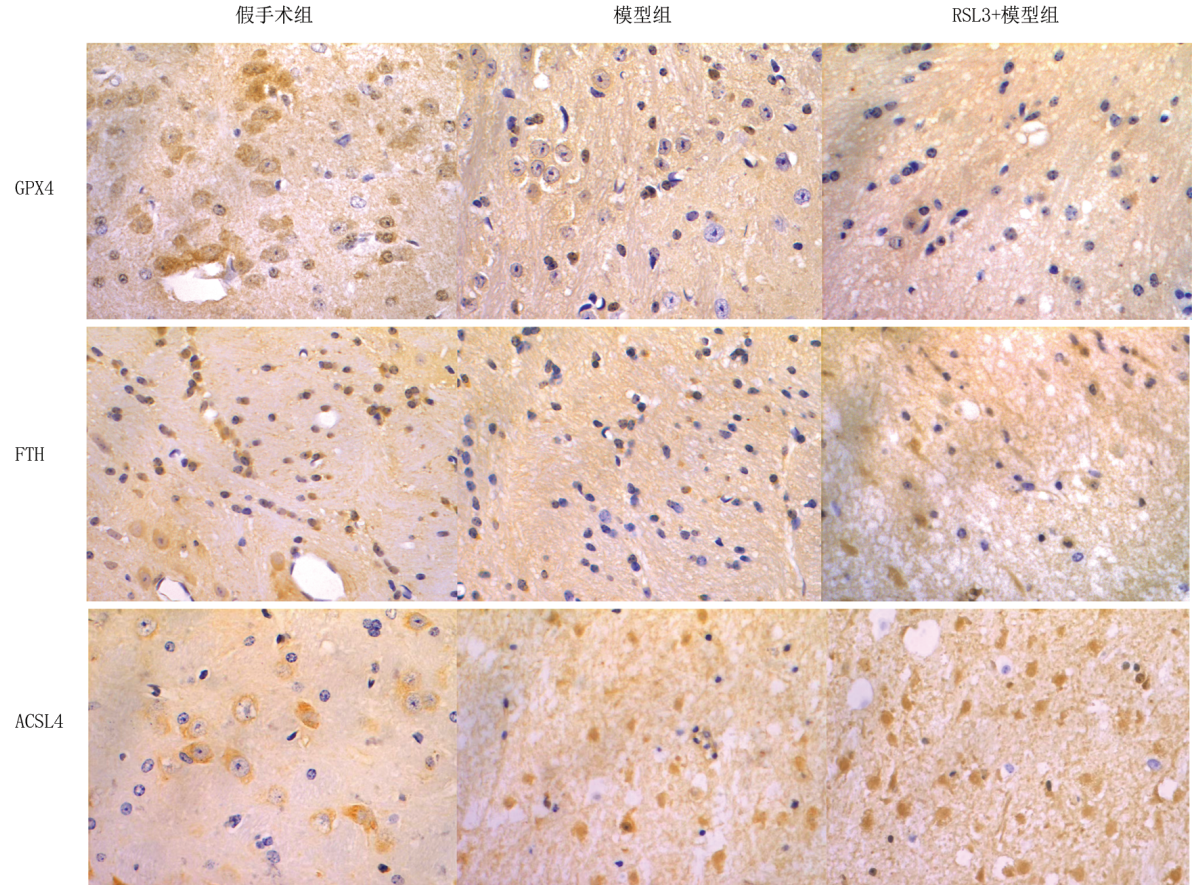


图6　各组小鼠脑组织GPX4、FTH、ACSL4表达变化（免疫组织化学 ×400）

Figure 6　Changes in the expression of GPX4, FTH and ACSL4 in mouse brain tissues in each group (Immunohistochemistry ×400)

进一步升高，差异有统计学意义（P＜0.05）。见表5、表6、图10、图11。

3　讨　论

脑卒中是全球范围内致死率和致残率最高的神经系统疾病之一，根据病理特征可分为出血性脑卒中和缺血性脑卒中两类，其中IS占所有脑卒中病例的87%[1]。最新全球疾病负担研究显示：截至2021年，新发脑卒中病例增加70%，死亡病例增加44%[18]。尽管医疗技术的进步在一定程度上改善IS防治效果，但由于其发病机制复杂性及个体治疗反应的显著差异，该疾病仍呈现高发病率与高致残率的严峻态势。

卒中—心脏综合征（stroke-heart syndrome，SHS）是继发于IS的心脏损伤，属于脑—心交互障碍的一种亚型[19]。临床证据[20-21]表明，IS急性期可诱发多种心血管并发症，包括心功能障碍、电生理紊乱及心脏骤停等，这些并发症显著增加患者病死率与致残率。其核心病理机制涉及神经内分泌轴激活和炎症—氧化应激级联反应诱导心

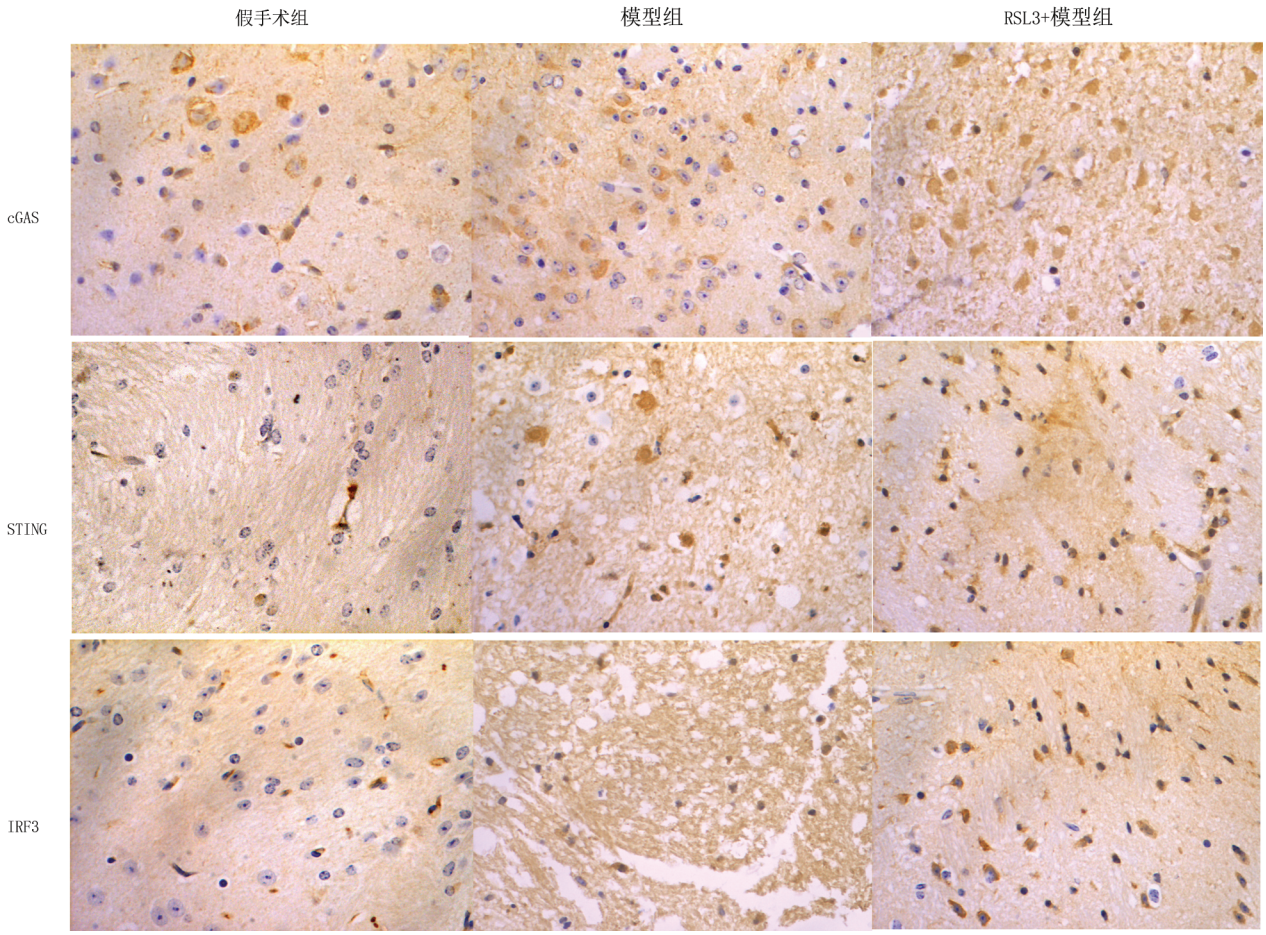


图7　各组小鼠脑组织cGAS、STING、IRF3表达变化（免疫组织化学 ×400）

Figure 7　Changes in the expression of cGAS, STING, and IRF3 in mouse brain tissues in each group (Immunohistochemistry ×400)

表4　各组小鼠心脏组织GPX4、FTH、cGAS、STING表达变化比较

Table 4　Comparison of changes in the expression of GPX4, FTH, cGAS and STING in mouse cardiac tissues in each group

（n=6，$\bar{x}\pm s$）

组别	GPX4	FTH	cGAS	STING
假手术组	2.84±0.77	0.69±0.19	1.10±0.27	0.91±0.25
模型组	1.74±0.50*	1.68±0.41*	1.51±0.34*	2.53±0.58*
RSL3+模型组	0.65±0.18#	2.38±0.61#	2.59±0.74#	4.16±0.75#
F值	37.560	56.590	31.440	57.540
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

*P值<0.05与假手术组比较　#P值<0.05与模型组比较（SNK-q检验）

脏损伤[22-23]。氧化应激是诱导铁死亡的关键因素。铁死亡是一种程序性细胞死亡形式，其病理特征和分子机制显著区别于坏死、凋亡及自噬，核心机制涉及铁依赖性脂质过氧化与抗氧化防御系统失衡[24-25]。IS后神经元细胞可发生明显铁死亡，但目前尚未明确铁死亡与SHS发生的直接因果关联。因此本研究旨在探究IS所引发的铁死亡是否影响心脏损伤。

本研究通过建立小鼠MCAO模型，探讨IS后铁死亡是否通过炎症通路介导心脏损伤。实验结果显示，RSL3干预后显著降低了MCAO模型小鼠72 h生存率（P<0.05），同时提高神经功能缺损评分并增加脑梗死体积变化，证实铁死亡可加重IS脑损伤程度并提高病死率。在心脏损伤方面，TTC染色显示单纯模型组与RSL3+模型组梗死体积差异无统计学意义（P>0.05），提示未发生明显心肌弥漫性心肌梗死。心电图结果显示，2组均存在特征性改变：单纯模型组表现为心率过缓和ST段轻度抬高，而RSL3+模型组则出现更显著的ST段抬高和QRS波降低，提示IS可诱发以电

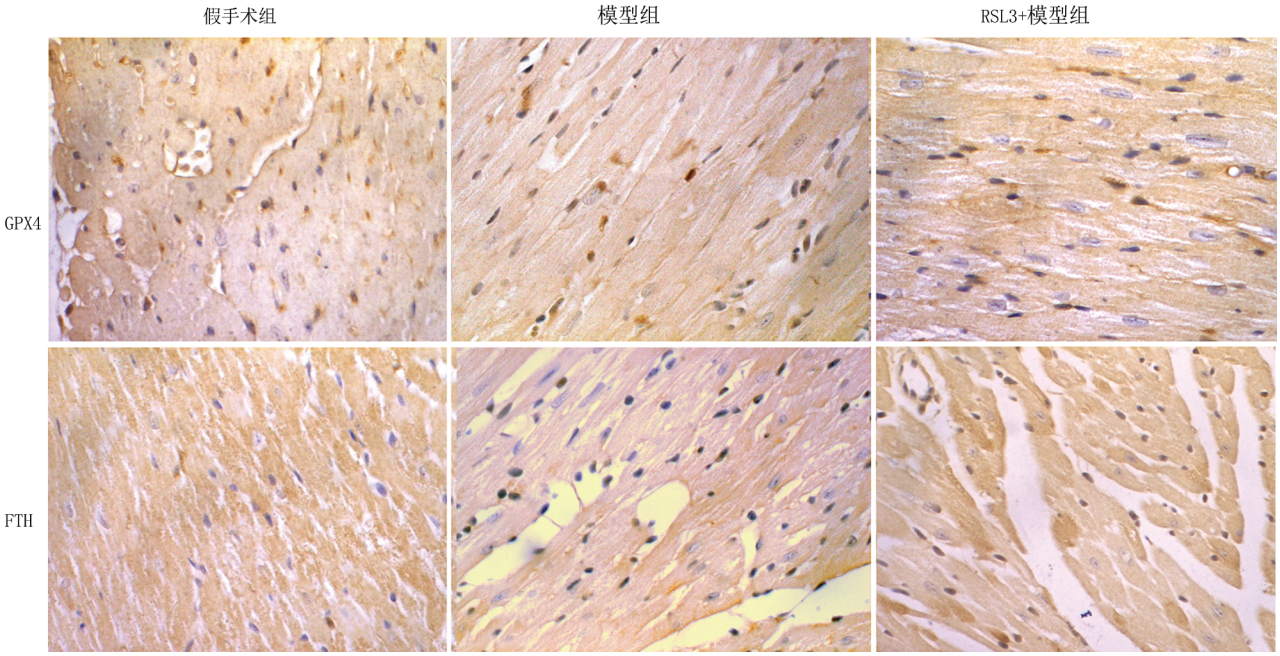


图8　各组小鼠心脏组织GPX4、FTH表达变化（免疫组织化学 ×400）

Figure 8　Changes in the expression of GPX4 and FTH in mouse cardiac tissues in each group (Immunohistochemistry ×400)

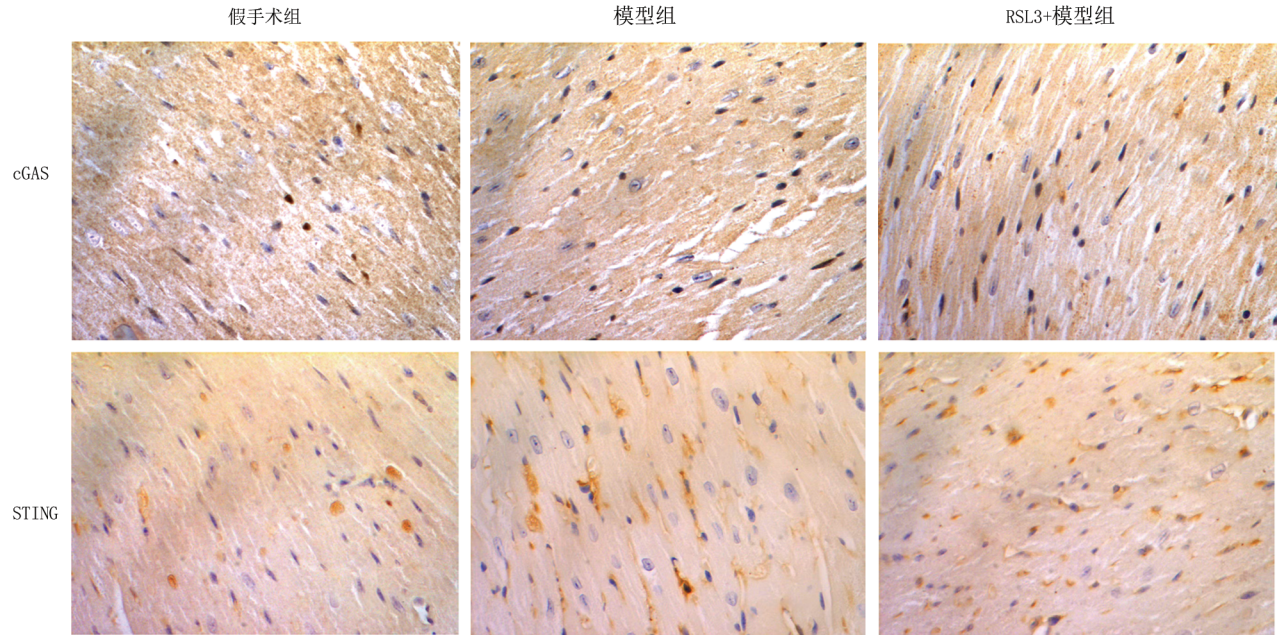


图9　各组小鼠心脏组织cGAS、STING表达变化（免疫组织化学 ×400）

Figure 9　Changes in the expression of cGAS and STING in mouse cardiac tissues in each group (Immunohistochemistry ×400)

生理紊乱为特征的心脏损伤，且RSL3干预后进一步加重该功能障碍。综合心电图与TTC结果提示，IS所致心脏损伤不以弥漫性心肌梗死为主要表现形式[26]。上述结果与既往关于IS所致心脏损伤的研究[27-28]报道一致。HE染色结果显示，RSL3+模型组小鼠缺血侧脑神经元及心肌细胞均呈现更严重的核异常与结构破坏，这种脑—心同步损伤的加重提示铁死亡可能通过炎症反应协同加剧脑损伤及继发性心脏损伤。尽管TTC染色未发现心脏梗死体积差异（$P>0.05$），但MCAO及RSL3组心电图表明存在电生理与结构损伤。然而仍需排除微梗死和弥漫性心肌损伤的可能性。后续应补充血清心肌酶谱学检测以量化心功能损害程度。综合存活率、心电图检测、神经功能评估和TTC

表5　小鼠脑组织SLC7A11、GPX4、FTH蛋白表达变化

Table 5　Changes in the protein expression of SLC7A11, GPX4, and FTH in mouse brain tissues in each group

(n=8, $\bar{x}\pm s$)

组别	SLC7A11	GPX4	FTH
假手术组	57 584±7 174	25 777±1 703	52 231±5 623
模型组	26 477±2 571*	19 100±1 815*	36 213±8 530*
RSL3+模型组	15 575±4 869#	12 373±3 392#	14 389±2 469#
F值	63.700	24.740	38.860
P值	<0.001	<0.001	<0.001

*P值<0.05与假手术组比较　#P值<0.05与模型组比较（SNK-q检验）

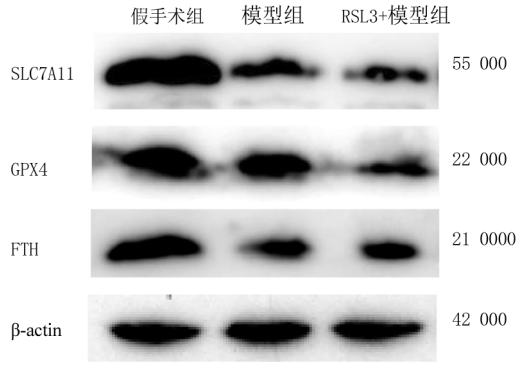


图10　各组小鼠脑组织SLC7A11、GPX4、FTH蛋白表达

Figure 10　Protein expression of SLC7A11, GPX4, and FTH in mouse brain tissues in each group

结果，初步表明：IS本身可导致以电生理异常为主的心脏损伤，而铁死亡可通过促进神经炎症等途径，加重脑组织结构和心脏功能损害。

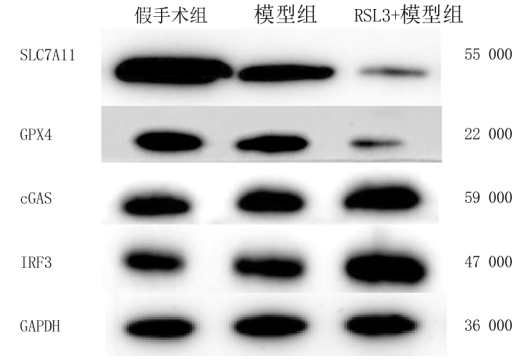


图11　各组小鼠心脏组织SLC7A11、GPX4、cGAS、IRF3蛋白表达

Figure 11　Protein expression of SLC7A11, GPX4, cGAS, and IRF3 in mouse cardiac tissues in each group

GPX4是铁死亡的核心调控分子，其表达水平直接反映组织氧化应激程度与铁死亡样事件进程[29]。FTH动态调控细胞内铁池水平，其表达变化可直观反映体内铁代谢状态：在疾病代偿期，FTH表达呈上升趋势，代偿性抑制氧化应激[30-31]。本研究结果显示，与脑假手术组相比，脑模型组小鼠GPX4及FTH表达均显著下降，提示IS可导致铁代谢紊乱加剧及脂质过氧化物积累，从而激活脑组织铁死亡；在RSL3干预的脑模型组小鼠中，GPX4及FTH的表达较单纯模型组进一步降低，表明RSL3通过抑制GPX4加速铁死亡进程并加重脑损伤[32]。而心脏FTH表达上调可能反映早期代偿性铁螯合增强，但GPX4持续抑制，致使代偿机制不足以抵抗铁死亡进程，最终导致损伤加剧[33]。

cGAS/STING/IRF3通路通过级联信号转导介导炎症反应：细胞损伤释放的双链DNA被胞质cGAS识别，催化合成第二信使环磷酸鸟苷—腺苷酸；后者结合并激活内质网STING，最终激活IRF3并促使其核转位，进而启动Ⅰ型干扰素、干扰素刺激基因、促炎因子及凋亡相关基因的转录，触发炎症级联反应[34-35]。GPX4抑制不仅诱导铁死亡样事件，还可激活cGAS/STING/IRF3通路促进炎症级联反应，进一步加剧组织损伤[36-37]。提

表6　小鼠心脏组织SLC7A11、GPX4、cGAS、IRF3蛋白表达变化

Table 6　Changes in the protein experssion of SLC7A11, GPX4, cGAS, and IRF3 in mouse cardiac tissues in each group

(n=8, $\bar{x}\pm s$)

组别	SLC7A11	GPX4	cGAS	IRF3
假手术组	31 007±4 084	37 352±8 590	10 392±1 658	11 867±527
模型组	20 247±808*	24 299±6 337*	15 972±2 674*	19 029±2 926*
RSL3+模型组	6 059±1 580#	9 773±1 027#	22 369±1 771#	30 006±3 204#
F值	81.540	20.710	24.790	37.580
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

*P值<0.05与假手术组比较　#P值<0.05模型组比较（SNK-q检验）

示IS后GPX4表达降低可能通过激活STING通路放大炎症反应。免疫组织化学染色及Western blot的检测结果显示，脑模型组cGAS及IRF3表达显著升高，而RSL3干预后进一步上调（$P<0.01$），表明GPX4受抑制后cGAS/STING轴的活性显著增强。上述结果显示，RSL3抑制GPX4表达可能激活cGAS/STING/IRF3炎症通路，不仅加剧了IS小鼠的神经功能障碍，还放大心脏的继发性损伤效应。因此，本研究提出潜在的机制假说：缺血性脑卒中触发GPX4抑制→脂质过氧化积累→线粒体损伤及线粒体DNA释放→激活cGAS-STING通路→IRF3核转位→炎症反应→心肌电生理紊乱。该假说仍需后续干预实验验证关键节点。

本研究揭示，缺血性脑卒中不仅可诱导脑组织铁死亡，还可引发非弥漫性梗死性心脏损伤。通过铁死亡诱导剂RSL3的干预实验进一步证实，IS引发的铁死亡可通过激活cGAS/STING炎症通路介导心脏非弥漫性梗死损伤，GPX4是该过程核心调控因子。这一结果为深入理解IS对心脑血管系统的系统性影响及其潜在临床风险提供了重要依据。然而，本研究存在一定局限性：仅通过蛋白表达水平验证铁死亡的发生，后续研究需采用透射电镜观察线粒体结构、检测丙二醛水平进一步确证。且本实验未使用通路特异性抑制剂，无法排除其他通路影响。因此后续实验应增加通路蛋白抑制组，并开展电镜观察完善相应实验证据链。

[参考文献]

[1] Wang Q, Liu CJ, Chen MR, et al. Mastoparan M promotes functional recovery in stroke mice by activating autophagy and inhibiting ferroptosis [J]. Biomed Pharmacother, 2024, 174(5):116560.

[2] Venketasubramanian N. Stroke epidemiology in asia [J]. Cerebrovasc Dis Extra, 2025, 15(1):81-92.

[3] Hata J, Ninomiya T. Epidemiology of stroke in a general japanese population: The hisayama study [J]. J Atheroscler Thromb, 2023, 30(7):710-719.

[4] Gonzalez-aquines A, Cordero-perez AC, Mohammadnezhad M, et al. Effectiveness and safety of mechanical thrombectomy for acute ischaemic stroke in Latin American countries: A systematic review[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2023, 32(4): 106972.

[5] Jiang YL, Hui DC, Pan ZY, et al. Curcumin promotes ferroptosis in hepatocellular carcinoma via upregulation of ACSL4[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2024, 150(9):429.

[6] 杜小正，丁少云，刘倩茹，等.cGAS-STING信号通路在缺血性脑卒中作用机制的研究进展[J].神经解剖学杂志，2024，40(4):520-524.

[7] Chen S, Li J, Yan L, et al. Electroacupuncture alleviates the symptom of depression in mice by regulating the cGAS-STING-NLRP3 signaling [J]. Aging, 2024, 16(8): 6731-6744.

[8] Sposato LA, Lam M, Allen B, et al. First-ever ischemic stroke and incident major adverse cardiovascular events in 93 627 older women and men[J]. Stroke, 2020, 51(2):387-394.

[9] Buckley BJR, Harrison SL, Hill A, et al. Stroke-heart syndrome: Incidence and clinical outcomes of cardiac complications following stroke[J]. Stroke, 2022, 53(5):1759-1763.

[10] 何鑫，王媛，刘佳，等.针刺联合康复训练对缺血性脑卒中小鼠脑血流量及AMPK/GFAT-1/VEGF信号通路的影响[J].中南医学科学杂志，2025，53(2):201-204，240.

[11] 冯艺博，常青，盖寒冰，等.基于VEGF/PI3K/AKT信号通路探讨贝伐珠单抗对缺血性脑卒中小鼠的影响及作用机制[J/OL].海南医学院学报，1-18[2026-06-03].

[12] Sun XF, Zhang Q, Lin XH, et al. Imatinib induces ferroptosis in gastrointestinal stromal tumors by promoting STUB1-mediated GPX4 ubiquitination [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(12):839.

[13] 包伟伟，罗文君，张小强，等.电头针调控PPARγ/NF-κB信号通路诱导小胶质细胞极化减轻缺血性脑卒中大鼠炎性损伤[J].针刺研究，2025，50(10):1152-1160.

[14] Liu CD, Peng Q, Wang SY, et al. Circ_0008146 exacerbates ferroptosis via regulating the miR-342-5p/ACSL4 axis after cerebral ischemic/reperfusion [J]. J Inflamm Res, 2024, 17(1):4957-4973.

[15] 朱新华，何孟豪，曾阳，等.基于RIPK1/RIPK3/MLKL信号通路探讨黄芪虫藤饮抑制坏死性凋亡改善小鼠大脑中动脉闭塞/再灌注模型无复流现象的机制[J/OL].中国实验方剂学杂志，1-16[2026-06-03].

[16] Calvet C, Seebeck P. What to consider for ECG in mice-with special emphasis on telemetry [J]. Mamm Genome, 2023, 34(2):166-179.

[17] Feigin VL, Brainin M, Norrving B, et al. World stroke organization: Global stroke fact sheet 2025[J]. Int J Stroke, 2025, 20(2):132-144.

[18] Fan XH, Cao JY, Li MX, et al. Stroke related brain-heart crosstalk: Pathophysiology, clinical implications, and underlying mechanisms[J]. Adv Sci, 2024, 11(14):e2307698.

[19] Wang L, Ma L, Ren C, et al. Stroke-heart syndrome: Current progress and future outlook [J]. J Neurol, 2024, 271(8):4813-4825.

[20] Hu JR, Abdullah A, Nanna MG, et al. The brain-heart axis: Neuroinflammatory interactions in cardiovascular disease [J]. Curr Cardiol Rep, 2023, 25(12):1745-1758.

[21] Battaglini D, Robba C, Lopes da silva A, et al. Brain-heart interaction after acute ischemic stroke [J]. Crit Care, 2020, 24(1):163.

[22] Chen Z, Venkat P, Seyfried D, et al. Brain-heart interaction: Cardiac complications after stroke[J]. Circ Res, 2017, 121(4):

451-468.

[23] Lv S, Fan L, Chen X, et al. Jian-Pi-Gu-Shen-Hua-Yu decoction alleviated diabetic nephropathy in mice through reducing ferroptosis [J]. J Diabetes Res, 2024, 2024(1): 9990304.

[24] Wu XQ, Wang Y, Han W, et al. Effect of electroacupuncture pretreatment on ferroptosis in neurons of rats with cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Zhen Ci Yan Jiu, 2023, 48(8): 754-763.

[25] Dixon SJ, Olzmann JA. The cell biology of ferroptosis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024, 25(6): 424-442.

[26] Shah S, Dahal K, Subedi P, et al. Cardiac complications (arrhythmias and heart failure) in patients with ischemic stroke: A meta-analysis [J]. Mol Med (Baltim), 2024, 103(25): e38619.

[27] 张晓璐,尚津锋,文胤琏,等.基于HIF-1α/VEGF通路脑心通胶囊治疗多发性脑梗死模型大鼠并发心肌损伤的作用机制研究[J].中国中药杂志,2025,50(7):1889-1899.

[28] 姚明江,李珺媛,刘悦,等.急性脑梗死瘀毒互结证大鼠模型并发脑心综合征的比较探讨[J].中国实验方剂学杂志,2024,30(1):112-119.

[29] Zhang Q, Yang J, Yang CH, et al. Eucommia ulmoides oliver-tribulus terrestris l. drug pair regulates ferroptosis by mediating the neurovascular-related ligand-receptor interaction pathway-A potential drug pair for treatment of hypertension and prevention of ischemic stroke [J]. Front Neurobiol, 2022, 13(5): 833922.

[30] Gao GF, You LH, Zhang JH, et al. Brain iron metabolism, redox balance and neurological diseases [J]. Antioxidants, 2023, 12(6): 1289.

[31] Ding H, Yan CZ, Shi HL, et al. Hepcidin is involved in iron regulation in the ischemic brain[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e25324.

[32] Li M, Meng ZL, Yu SC, et al. Baicalein ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis via regulating GPX4/ACSL4/ACSL3 axis [J]. Chem Biol Interact, 2022, 366(19): 110137.

[33] Zhang Q, Luo Y, Peng L, et al. Ferroptosis in cardiovascular diseases: Role and mechanism [J]. Cell Biosci, 2023, 13(1): 226.

[34] Ma FY, Ye YH, Han QQ, et al. Effects of geniposide on cerebral ischemia/reperfusion-induced neuron damage by inhibiting autophagy via cGAS-STING [J]. Neuropharmacology, 2025, 280(23): 110677.

[35] Li QY, Yang LF, Wang KX, et al. Oxidized mitochondrial DNA activates the cGAS-STING pathway in the neuronal intrinsic immune system after brain ischemia-reperfusion injury [J]. Neurotherapeutics, 2024, 21(4): e00368.

[36] Liu PW, Chen WH, Kang Y, et al. Silibinin ameliorates STING-mediated neuroinflammation via downregulation of ferroptotic damage in a sporadic Alzheimer's disease model[J]. Arch Biochem Biophys, 2023, 744(1): 109691.

[37] Dai EY, Han L, Liu J, et al. Ferroptotic damage promotes pancreatic tumorigenesis through a TMEM173/STING-dependent DNA sensor pathway [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 6339.

(本文编辑:何祯)