

益心方对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌纤维化的改善作用

杨燕玲, 董莉, 郑钰凡, 陈曼, 戎靖枫*
(上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203)

摘要: 目的 探讨益心方改善大鼠心肌缺血再灌注损伤后心肌纤维化的作用。方法 采用结扎冠状动脉左前降支 30 min 后复流建立大鼠心肌缺血再灌注模型, 将大鼠按随机数字法分为假手术组、模型组和益心方低、中、高剂量组 (6.84、13.68、27.36 g/kg), 药物干预 4 周。观察大鼠一般情况, 计算心脏质量指数与心腔比, 超声检测心功能情况, HE 染色法观察心脏病理损伤情况, Masson 染色法观察心肌纤维化情况, Western blot 和 RT-qPCR 法分别检测心肌组织 Collagen I、Collagen III、TGF- β 1、Smad2、Smad3 蛋白及 mRNA 表达。结果 与假手术组比较, 模型组大鼠体质量降低 ($P < 0.01$), 心脏质量指数与心腔比升高 ($P < 0.01$), LVEF、FS 降低 ($P < 0.01$); 心肌结构受损严重, 细胞肿胀伴有炎性浸润以及纤维化瘢痕形成; 心肌组织 Collagen I、Collagen III、TGF- β 1、Smad2、Smad3 蛋白及 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 益心方中、高剂量组大鼠体质量增加 ($P < 0.01$), 心脏质量指数与心腔比降低 ($P < 0.01$), LVEF、FS 提高 ($P < 0.01$); 心肌病理损伤及纤维化程度减轻; 心肌组织 Collagen I、Collagen III、TGF- β 1、Smad2、Smad3 蛋白及 mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)。结论 益心方可以减轻大鼠心肌缺血再灌注后心肌纤维化程度, 其机制可能与抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路活化相关。

关键词: 益心方; 心肌缺血再灌注损伤; 心肌纤维化; TGF- β 1/Smad 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)06-1992-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.06.034

心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 在全球范围内仍然是导致死亡的主要原因之一^[1-2], 急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 为主要致死原因^[3]。再灌注治疗是减少心肌损伤最有效的措施^[4], 然而血液的再灌注过程中诱发了心律失常、心肌顿抑和心力衰竭等并发症, 称为心肌缺血再灌注损伤 (myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)^[5], 尽管及时有效的再灌注治疗可以挽救 AMI 患者的心梗面积, 但仍有大量患者发展为心力衰竭^[3,6]。心肌缺血和再灌注导致大量的心肌细胞死亡, 这些细胞被纤维化瘢痕取代, 梗死心肌组织的修复需要动员和激活修复性的成纤维细胞和肌成纤维细胞^[7], MIRI 引发的氧化应激损伤和炎症反应能够激活 TGF- β 1/Smad 信号通路, 从而促进心肌成纤维细胞的增殖和分化, 导致心肌纤维化和心室重构^[8]。再灌注损伤和慢性心脏重构是 MIRI 患者预后不良的主要原因, 因此, 探讨 TGF- β 1/Smad 信号通路在 MIRI 中的作用机制, 为预防和逆转 MIRI 引起的心肌纤维化提供有效的治疗策略具有重要意义。

益心方为本课题组经验方, 具有益气活血化瘀之效, 前期基础实验中已验证该方能提高大鼠射血分数, 减少心肌梗死面积, 对 MIRI 具有保护作用^[9-10]。本研究通过建立大鼠 MIRI 模型, 探讨益心方改善心肌纤维化的药效及作用

机制, 以期为其治疗 MIRI 的临床运用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 45 只 SPF 级 Wistar 大鼠, 体质量 220~230 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司上海分公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2021-0006]; 常规饲养于上海中医药大学实验动物中心 [实验动物使用许可证号 SYXK (沪) 2020-0009], 伦理审查号 PZSHUTCM2306260004。

1.2 药物 益心方 (黄芪 15 g、川芎 12 g、丹参 12 g、红景天 10 g、当归 9 g、香附 9 g、桂枝 6 g) 颗粒剂 (7.0 g/袋, 批号 2302306), 由江阴天江药业有限公司提供, 所有颗粒剂均符合 2020 版《中国药典》要求。按照动物与人的体表面积换算, 将益心方颗粒制成 6.84、13.68、27.36 g/kg (低、中、高) 混悬液, 中剂量为临床等效剂量。

1.3 试剂 Collagen I、Collagen III、TGF- β 1、Smad2、Smad3 抗体 (批号 AF7001、AF5457、BF8012、AF6449、AF6362, 美国 Affinity 公司); GADPH 抗体 (批号 6004-1-Ig, 武汉三鹰生物技术有限公司); HRP 标记山羊抗兔 IgG (批号 111-035-003, 美国 Jackson 公司); HRP 标记山羊抗小鼠 IgG (批号 A0216, 上海碧云天生物技术股份有限公司); 苏木素伊红试剂盒、Masson 三色染色试剂盒 (批号 G1120、G1346, 北京索莱宝科技有限公司); ChamQ

收稿日期: 2024-08-24

基金项目: 上海市卫生健康委员会计划项目 (202240225)

作者简介: 杨燕玲 (1993—), 女, 硕士生, 从事中医药治疗心肌缺血再灌注损伤研究。Tel: 15340537397, E-mail: yangya20224@163.com

* 通信作者: 戎靖枫 (1980—), 女, 博士, 主任医师, 从事中医药治疗心血缺血再灌注损伤的研究。Tel: (021) 20256348, E-mail: anastacia@126.com

Universal SYBR qPCR Master Mix、FastPure Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit V2、HiScript III RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) (批号 Q711-02、RC112-01、R323-01, 南京诺唯赞生物科技股份有限公司)。

1.4 仪器 离心机 (美国 Beckman 公司); 电泳及转膜电源仪 (美国 Bio-Rad 公司); 凝胶成像系统 (上海勤翔科学仪器有限公司); 酶标仪 (美国 BioTek 公司); 小动物麻醉机 (上海玉研科学仪器有限公司); 小动物呼吸机 (深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司); 动物心电图机 [英维康医疗器械 (苏州) 有限公司]; 彩色心脏多普勒超声成像仪 (上海玉研科学仪器有限公司); 光学显微镜 (日本尼康公司)。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 Wistar 大鼠适应性喂养 7 d 后, 按随机数字法分为假手术组、模型组和益心方低、中、高剂量组, 采用结扎冠状动脉左前降支 30 min 后再灌注的方法制备大鼠 MIRI 模型。异氟烷麻醉大鼠后气管插管, 连接小动物呼吸机辅助呼吸, 连接标准肢体导联心电图, 记录心电图标准 II 导联。于胸骨左缘纵行切开皮肤, 暴露胸廓, 予三、四肋间开胸, 暴露心脏。结扎冠状动脉左前降支, 心电图可见 ST 段弓背抬高, T 波高耸, 结扎线以下部位心肌组织发白; 再灌注后心电图 ST 段回落 1/2 以上, 心肌组织逐渐变红即为心肌再灌注成功, 造模过程中心电图变化见图 1。假手术组只穿线不结扎, 随后关闭胸腔。假手术组和模型组灌胃给予生理盐水; 益心方低、中、高剂量组大鼠再灌注后立刻经胃-十二指肠灌胃 6.84、13.68、27.36 g/kg 益心方混悬液, 给药体积 10 mL/kg, 干预 4 周。



图 1 造模过程中心电图变化

2.2 大鼠体质量、心脏质量指数以及心腔比检测 每周称量大鼠体质量, 观察大鼠精神状态、摄食饮水情况并记录。再灌注 4 周后, 大鼠称重后麻醉, 取心脏, 预冷 PBS 清洗, 擦干水分后称量心脏质量, 心脏质量指数 (cardiac weight index, CWI) = 心脏质量/体质量。取完整右侧胫骨, 测量胫骨长度, 心腔比 (heart weight/tibia length, HW/TL) = 心脏质量/胫骨长度。

2.3 心功能检测 再灌注 4 周后, 使用彩色心脏多普勒超声仪, 通过 M 型超声 Teichholz 法在心动周期中测量左室舒张末期直径 (LVd) 和左室收缩末期直径 (LVd_s), 计算左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF) 和左室短轴缩短率 (left ventricular fraction shortening, FS)。公式为 LVEF = (LVd³ - LVd_s³) / LVd³ × 100%; FS =

[(LVd_s - LVd) / LVd] × 100%。

2.4 HE 染色法观察心肌组织病理形态 再灌注 4 周后, 取心脏并用冰生理盐水充分洗涤, 放置于 4% 多聚甲醛中固定 24~28 h, 脱水包埋, 制成 4 μm 石蜡切片, 进行常规苏木精、伊红染色, 于光学显微镜下观察心肌组织病理形态。

2.5 Masson 染色法观察心肌组织纤维化情况 取心肌组织石蜡切片, 按照 Masson 染色试剂盒说明书操作, 于光学显微镜下观察心肌纤维分布并拍照。

2.6 Western bolt 法检测心肌组织 Collagen I、Collagen III、TGF-β1、Smad2、Smad3 蛋白表达 再灌注 4 周后, 取心脏并用冰盐水洗涤后, 称取 20 mg 心尖组织, 用含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液研磨匀浆, 离心取上清, BCA 法测蛋白浓度, 95 °C 金属浴加热 5 min 使蛋白变性。等量蛋白样品电泳后, 转至 PVDF 膜, 用快速封闭液封闭 30 min, 加入一抗于 4 °C 摇床孵育过夜, 次日 TBST 洗膜 3 次, 加入二抗室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次, 加入 ECL 化学发光底物显影, 通过 Image J 软件测量各条带灰度值, 计算目的蛋白相对表达量。

2.7 RT-qPCR 法检测心肌组织 Collagen I、Collagen III、TGF-β1、Smad2、Smad3 mRNA 表达 再灌注 4 周后, 取心脏并用冰盐水洗涤, 称取 20 mg 心尖组织, 采用试剂盒提取总 RNA, 逆转录成 cDNA 后进行扩增。以 GAPDH 为内参, 采用 2^{-ΔΔCT} 法计算目的基因相对表达。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'→3')	长度/bp
Collagen I	正向 GAGAGGTGAACAAGGTCCCG	113
	反向 CAAGGTCTCCAGGAACACCC	
Collagen III	正向 AACTGGAGCACCAGGTCTTG	120
	反向 CGTTCCCCATTATGCCACT	
TGF-β1	正向 CGTTACCTTGTAACCGGCT	112
	反向 AGCCCTGTATTCCGTCTCCT	
Smad2	正向 TTCATCTGAATGGCCCCCTG	112
	反向 CCAATGAGCTCCACTGCTGA	
Smad3	正向 CCTTCAGCACCCAGAGAAG	116
	反向 TAGCCAACCTGCCATGACAG	
GAPDH	正向 AGGTCGGTGTGAACGGATTG	123
	反向 TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA	

2.8 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件及 GraphPad Prism 8.0 软件进行处理, 计量资料以 (x̄±s) 表示, 符合正态分布与方差齐性, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较用 LSD 法; 不符合正态分布的, 采用非参数秩和检验。P < 0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 益心方对 MIRI 大鼠一般情况的影响 假手术组大鼠活泼好动, 具有正常的摄食饮水行为, 二便正常; 模型组大鼠精神萎靡, 喜卧, 进食减少, 活动量减少, 再灌注 3 周后状态逐渐好转; 与模型组比较, 益心方低剂量组大鼠活动状态改善不明显, 中、高剂量组再灌注 2 周左右精神状态、食欲明显改善, 进食量与活动量增加。给药期间各

组大鼠体质量均呈不同程度增长,再灌注2周后,益心方中、高剂量组大鼠体质量增长明显。再灌注4周后,与假手术组比较,模型组大鼠体质量降低 ($P<0.01$);与模型

组比较,益心方各剂量组大鼠体质量均增加 ($P<0.01$),见表2。

表2 各组大鼠体质量变化 (g, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	造模前	再灌注1周	再灌注2周	再灌注3周	再灌注4周
假手术组	224.67±5.03	275.33±6.51	314.43±3.79	354.57±3.52	394.35±5.65
模型组	226.66±2.89	242.34±4.04**	275.37±2.51**	304.36±2.08**	336.25±3.51**
益心方低剂量组	229.33±4.04	254.24±3.60	284.23±1.00##	314.20±4.58#	352.37±2.16##
益心方中剂量组	228.13±3.43	262.22±2.65##	308.52±2.65##	342.21±7.00##	379.67±3.50##
益心方高剂量组	226.02±2.00	264.31±5.00##	307.67±2.51##	345.34±4.04##	382.34±6.02##

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3.2 益心方对MIRI大鼠心脏质量指数以及心腔比的影响 与假手术组比较,模型组大鼠CWI与HW/TL均升高 ($P<0.01$);与模型组比较,益心方各剂量组CWI与HW/TL均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),见表3。

表3 各组大鼠心脏质量指数以及心腔比比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	CWI/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	(HW/TL)/($\text{mg}\cdot\text{mm}^{-1}$)
假手术组	2.66±0.11	25.63±1.63
模型组	3.50±0.14**	32.56±1.62**
益心方低剂量组	2.83±0.67##	30.37±0.97#
益心方中剂量组	2.69±0.74##	29.18±0.50##
益心方高剂量组	2.78±0.11##	28.46±1.16##

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3.3 益心方对MIRI大鼠心功能的影响 与假手术组比较,模型组大鼠LVEF、FS降低 ($P<0.01$);与模型组比较,益心方低剂量组LVEF、FS改善不明显 ($P>0.05$),益心方中、高剂量组LVEF、FS增高 ($P<0.01$),见图2、表4。

3.4 益心方对MIRI大鼠心肌组织病理形态的影响 假手术组大鼠心肌形态正常,纤维排列整齐,细胞完整;与假手术组比较,模型组大鼠心肌结构受损严重,结构紊乱,间质水肿,大量中性粒细胞浸润,心肌细胞肥大;与模型组比较,益心方低剂量组仍可见间质水肿,心肌细胞排列

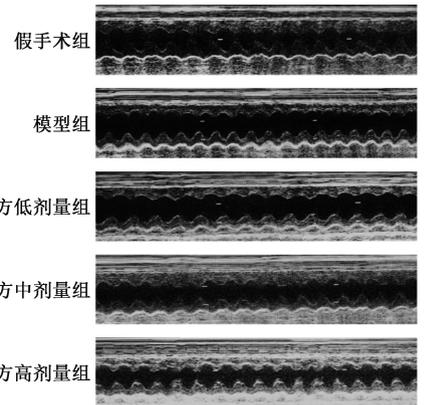


图2 各组大鼠超声心动图

表4 各组大鼠LVEF、FS比较 (% , $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	LVEF	FS
假手术组	95.00±1.00	65.00±2.00
模型组	79.00±1.73**	43.50±1.73**
益心方低剂量组	81.00±3.61	43.67±3.79
益心方中剂量组	88.00±1.01##	53.75±2.06##
益心方高剂量组	87.33±1.52##	55.50±6.20##

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。紊乱,益心方中、高剂量组炎症浸润、间质水肿明显改善,心肌细胞肿胀减轻,见图3。

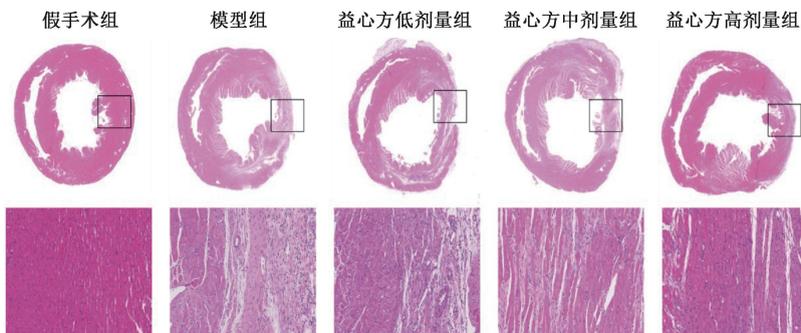


图3 各组大鼠心肌组织病理形态 (HE染色, $\times 200$)

3.5 益心方对MIRI大鼠心肌组织纤维化的影响 假手术组大鼠心肌纤维排列整齐,未见蓝色胶原纤维;与假手术组比较,模型组大鼠可见大量蓝色胶原弥漫性分布于左心室,心肌纤维化明显;与模型组比较,益心方低剂量组大鼠心肌中仍可见大量弥漫性分布的蓝色胶原,益心方中、高剂量蓝色胶原分布面积明显减少,心肌纤维化程度明显

改善,见图4。

3.6 益心方对MIRI大鼠心肌组织Collagen I、Collagen III、TGF- β 1、Smad2、Smad3蛋白表达的影响 与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织Collagen I、Collagen III、TGF- β 1、Smad2、Smad3蛋白表达升高 ($P<0.01$);与模型组比较,益心方中、高剂量组大鼠心肌组织Collagen I、

Collagen III、TGF-β1、Smad2、Smad3 蛋白表达降低 ($P < 0.01$), 益心方低剂量组大鼠心肌组织 Collagen III、TGF-

β1、Smad2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表 5、图 5。

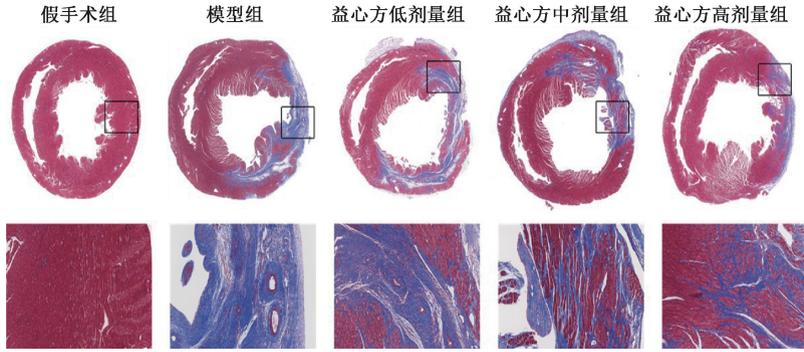
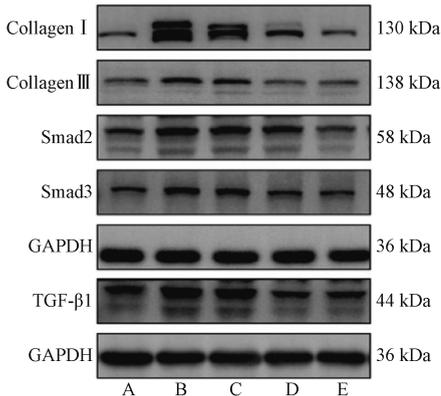


图 4 各组大鼠心肌组织纤维化情况 (Masson 染色, $\times 200$)

表 5 各组大鼠心肌组织 Collagen I、Collagen III、TGF-β1、Smad2、Smad3 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	Collagen I	Collagen III	TGF-β1	Smad2	Smad3
假手术组	1.00±0.25	1.00±0.10	1.00±0.11	1.00±0.80	1.00±0.26
模型组	3.18±0.32**	1.52±0.40**	3.54±0.32**	1.77±0.29**	2.32±0.19**
益心方低剂量组	2.99±0.09	1.29±0.15#	2.94±0.10###	1.46±0.08#	2.04±0.08
益心方中剂量组	1.57±0.24###	1.14±0.17###	2.34±0.14###	1.31±0.07##	1.78±0.12##
益心方高剂量组	1.23±0.17##	1.10±0.11##	1.98±0.91###	1.25±0.04##	1.69±0.07##

注: 与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。



注: A 为假手术组, B 为模型组, C~D 分别为益心方低、中、高剂量组。

图 5 各组大鼠心肌组织 Collagen I、Collagen III、TGF-β1、Smad2、Smad3 蛋白印迹图

表 6 各组大鼠心肌组织 Collagen I、Collagen III、TGF-β1、Smad2、Smad3 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	Collagen I	Collagen III	TGF-β1	Smad2	Smad3
假手术组	1.19±0.91	0.97±0.10	1.01±0.16	1.08±0.50	1.04±0.33
模型组	193.78±58.82**	156.74±21.43**	3.88±0.88**	2.92±0.12**	3.67±0.33**
益心方低剂量组	102.31±3.04##	97.23±8.22##	3.42±0.66#	2.42±0.47#	2.53±0.34##
益心方中剂量组	50.29±13.14###	51.96±7.82###	1.79±0.43###	1.59±0.15##	1.97±0.16##
益心方高剂量组	53.09±3.60###	54.06±13.36##	1.95±0.62###	1.58±0.52##	2.22±0.56##

注: 与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

是心肌内外基质蛋白和 I 和 III 胶原蛋白过度沉积^[13]。心肌再灌注后, 氧化应激损伤、细胞凋亡以及炎症反应等导致损伤的心肌释放大促纤维化因子^[14], 这些因子激活心肌成纤维细胞, 转化为肌成纤维细胞, 并分泌大量的胶原蛋白形成网络状, 沉积与心肌缺血再灌注损伤区域, 促进愈合与瘢痕形成^[13,15]。TGF-β1/Smad 信号通路在心肌纤维化过程中具有核心作用^[16], TGF-β1 作为引发纤维化的关键

3.7 益心方对 MIRI 大鼠心肌组织 Collagen I、Collagen III、TGF-β1、Smad2、Smad3 mRNA 表达的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠心肌组织 Collagen I、Collagen III、TGF-β1、Smad2、Smad3 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 益心方各剂量组大鼠心肌组织 Collagen I、Collagen III、TGF-β1、Smad2、Smad3 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表 6。

4 讨论

MIRI 后的心肌修复是一个复杂且动态的过程, 主要包括炎症期和修复期。在炎症期, 心肌经历无菌性炎症与免疫细胞的浸润^[11]; 随着炎症消退后, 修复期开始, 表现为肌成纤维细胞增殖、瘢痕形成和新生血管生成^[12]。长期持续的炎症反应会导致心脏发生慢性重塑, 梗死组织中出现大面积的疤痕和胶原沉积, 加重心肌纤维化, 室壁僵硬, 收缩功减弱, 最终可能诱发心力衰竭。心肌纤维化的特征

因子, 与 II 型丝氨酸/苏氨酸激酶受体 (TGFBR II) 结合, 进而诱导 I 型丝氨酸/苏氨酸激酶受体 (TGFBR I) 的磷酸化, 并调节 Smad2、Smad3 的募集与激活, 这些 Smad 蛋白与 Smad4 结合形成异三聚体复合物, 从而激活下游效应 α-SMA、Collagen I 等^[17-18]。TGF-β1 在促进成纤维细胞增殖、肌成纤维细胞分化和胶原沉积等方面有着重要作用, 因此, 抑制 TGF-β1 信号被认为是一种有效的抗纤维化的策略。

益心方由黄芪、川芎、丹参、红景天、当归、香附、桂枝组成。黄芪通过抑制氧化应激和炎症反应，促进血管新生，预防内皮细胞功能障碍，广泛运用于心血管疾病的治^[19-21]；丹参的活性成分对保护缺血心肌损伤具有显著作用^[20]，临床实验证明丹参与川芎合用能显著改善冠心病患者血流流变学指标，降低血脂水平^[22-23]；此外黄芪与丹参复合物能减轻糖尿病大鼠心肌氧化应激损伤、细胞凋亡的情况^[24]；红景天苷对血管紧张素 II 诱导的成纤维细胞具有保护作用^[25]；前期实验证实了益心方可以通过调控 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路减轻 I/R 大鼠心肌氧化应激损伤，减少心肌细胞凋亡^[9]，抑制 NLRP3 炎症小体介导的炎症反应^[26]，提高大鼠心脏射血分数，减少心肌梗死面积，发挥抗心肌缺血再灌注损伤的作用。

本研究结果显示，MIRI 大鼠心脏质量指数及心腔比升高，心肌纤维化明显，大量瘢痕形成以及胶原沉积，Collagen I、Collagen III 蛋白及 mRNA 表达升高，TGF-β1/Smad 信号通路蛋白被激活，导致心室大面积瘢痕伴纤维化、心功能下降；益心方干预后，大鼠心脏质量指数与心腔比降低，心肌组织炎症浸润、瘢痕形成以及胶原纤维沉积减轻，Collagen I、Collagen III、TGF-β1、Smad2、Smad3 蛋白表达降低，说明益心方干预后能减轻大鼠 MIRI 后心肌纤维化程度，其作用机制可能与抑制 TGF-β1/Smad 信号通路活化相关。

参考文献:

[1] Greene S J, Fonarow G C, Butler J. Risk profiles in heart failure: baseline, residual, worsening, and advanced heart failure risk[J]. *Circ Heart Fail*, 2020, 13(6): e007132.

[2] 马文君, 马涵萍, 王运红, 等. 《2021 年中国心血管病医疗质量报告》概要[J]. *中国循环杂志*, 2021, 36(11): 1041-1064.

[3] Meijers W C, de Boer R A. Common risk factors for heart failure and cancer[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(5): 844-853.

[4] Bhatt D L, Lopes R D, Harrington R A. Diagnosis and treatment of acute coronary syndromes: a review[J]. *JAMA*, 2022, 327(7): 662-675.

[5] Heusch G. Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(12): 773-789.

[6] Ziaiean B, Fonarow G C. Epidemiology and aetiology of heart failure[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2016, 13(6): 368-378.

[7] Li A H, Liu P P, Villarreal F J, et al. Dynamic changes in myocardial matrix and relevance to disease: translational perspectives[J]. *Circ Res*, 2014, 114(5): 916-927.

[8] Bertaud A, Joshkon A, Heim X, et al. Signaling pathways and potential therapeutic strategies in cardiac fibrosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1756.

[9] 董莉, 杨燕玲, 郑钰凡, 等. 益心方调控 SIRT1/Nrf2/HO-1 信号通路改善大鼠心肌缺血再灌注后损伤[J]. *中国中西医结合杂志*, 2023, 44(3): 316-323.

[10] 董莉, 杨燕玲, 郑钰凡, 等. 益心方调控 SIRT1/PGC-1α 信号通路改善大鼠心肌缺血再灌注损伤的机制研究[J].

上海中医药杂志, 2022, 57(7): 58-65.

[11] Sun K, Li Y Y, Jin J. A double-edged sword of immuno-microenvironment in cardiac homeostasis and injury repair[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 79.

[12] Liu Y, Xu J, Wu M, et al. The effector cells and cellular mediators of immune system involved in cardiac inflammation and fibrosis after myocardial infarction[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(12): 8996-9004.

[13] Prabhu S D, Frangogiannis N G. The biological basis for cardiac repair after myocardial infarction: from inflammation to fibrosis[J]. *Circ Res*, 2016, 119(1): 91-112.

[14] 洪子, 杨巍. 心肌纤维化发病机制及治疗的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2022, 42(1): 220-225.

[15] Venugopal H, Hanna A, Humeres C, et al. Properties and functions of fibroblasts and myofibroblasts in myocardial infarction[J]. *Cells*, 2022, 11(9): 1386.

[16] Weng L, Ye J, Yang F, et al. TGF-β1/SMAD3 regulates programmed cell death 5 that suppresses cardiac fibrosis post-myocardial infarction by inhibiting HDAC3[J]. *Circ Res*, 2023, 133(3): 237-251.

[17] Xie S, Xing Y, Shi W, et al. Cardiac fibroblast heat shock protein 47 aggravates cardiac fibrosis post myocardial ischemia-reperfusion injury by encouraging ubiquitin specific peptidase 10 dependent Smad4 deubiquitination[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(11): 4138-4153.

[18] Flores-Vergara R, Olmedo I, Aránguiz P, et al. Communication between cardiomyocytes and fibroblasts during cardiac ischemia/reperfusion and remodeling: Roles of TGF-β, CTGF, the renin angiotensin axis, and non-coding RNA molecules[J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 716721.

[19] Zhai P, Chen Q, Wang X, et al. The combination of tanshinone II_A and astragaloside IV attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting the STING pathway[J]. *Chin Med*, 2024, 19(1): 34.

[20] 陈学恒, 宋秉春, 张金国. 黄芪甲苷对心血管内皮保护作用的研究进展[J]. *医学综述*, 2022, 28(4): 790-795.

[21] 胡蕊蕊, 付慧, 韩晓燕, 等. 丹参“药对”及制剂对心血管保护的药理作用与临床研究进展[J]. *中医药学报*, 2023, 51(5): 106-110.

[22] 程雷玉. 丹参伍川芎对冠心病患者血液流变学的作用研究[J]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2018, 6(35): 157-158.

[23] 张乐. 丹参川芎嗪药物治疗糖尿病合并冠心病患者的临床疗效[J]. *中国医药指南*, 2020, 18(3): 171-172.

[24] Zhang S, Yuan Z, Wu H, et al. Network pharmacology-Based strategy reveals the effects of *Hedysarum multijugum* Maxim. - *Radix Salviae* compound on oxidative capacity and cardiomyocyte apoptosis in rats with diabetic cardiomyopathy[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 8260703.

[25] 海振, 宁忠平. 红景天苷对血管紧张素 II 诱导心肌成纤维细胞纤维化的保护作用[J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(20): 3137-3142.

[26] 杨燕玲, 董莉, 郑钰凡, 等. 益心方抑制 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤[J]. *世界科学技术 (中医药现代化)*, 2024, 26(9): 2483-2491.