

基于 SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 信号通路探讨人参-丹参药对对心肌缺血再灌注损伤大鼠的保护作用

冉清智^{1,2}, 陈恒文^{1,2*}

(1. 中国中医科学院 广安门医院, 北京 100053; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 基于沉默信息调节因子 2 相关酶类 3 (SIRT3)/过氧化物酶体增殖物激活受体 γ -辅激活因子-1 α (PGC-1 α)/电压依赖性阴离子通道 1 (VDAC1) 信号通路探讨人参-丹参 (RSDS) 调节心肌缺血再灌注损伤 (MIRI) 的机制及作用靶点。该研究通过构建大鼠 MIRI 模型, 随机分为对照组、模型组、福辛普利组、人参-丹参低、中、高剂量组。通过心脏超声检查、细胞凋亡 (TUNEL) 染色、苏木素-伊红 (HE) 与马松 (Masson) 染色等方法评估心脏功能、细胞凋亡、心肌纤维化等指标。此外, 采用 ELISA、Western blot 及 RT-qPCR 技术分析血清因子及心肌组织中 SIRT3、PGC-1 α 、VDAC1 等关键蛋白和基因的变化, 并基于 SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 信号通路研究其作用机制。实验结果表明, 与模型组相比, 人参-丹参显著改善了心脏功能, 尤其是人参-丹参高剂量表现出最强的心脏保护作用, 显著升高左心室射血分数 (LVEF), 显著减小左心室舒张末期径 (LVESD), 显著提高左心室短轴缩短率 (LVFS)。TUNEL 染色显示, 人参-丹参能够减少心肌细胞的凋亡。Masson 染色结果表明, 人参-丹参能够显著减轻心肌纤维化。血清中的白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、C 反应蛋白 (CRP)、肌酸激酶同工酶 MB (CK-MB) 因子显著下降, 而超氧化物歧化酶 (SOD) 水平显著提高, 提示人参-丹参具有较强的抗炎和抗氧化作用。Western blot 和 RT-qPCR 结果表明, 人参-丹参通过调节 SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 信号通路, 显著改善线粒体功能, 抑制氧化应激, 保护心肌细胞。该研究表明, 人参-丹参通过调节 SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 信号通路, 在多方面显著改善 MIRI 引起的心脏功能衰竭, 减轻心肌细胞凋亡、心肌纤维化及炎症反应。

[关键词] 人参-丹参; 心肌缺血再灌注损伤 (MIRI); SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 信号通路; 心脏保护作用; 抗炎抗氧化

Protective effect of Renshen-Danshen on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats based on SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 signaling pathway

RAN Qing-zhi^{1,2}, CHEN Heng-wen^{1,2*}

(1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] This study investigates the mechanisms and target sites of Renshen (Ginseng Radix et Rhizoma)-Danshen (Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma) (RSDS) in regulating myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) via the silent information regulator 3 (SIRT3)/peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha (PGC-1 α)/voltage-dependent anion-selective channel 1 (VDAC1) signaling pathway. A rat MIRI model was established and randomly divided into control, model, fasinopril, and low-, medium-, and high-dose RSDS groups. Cardiac function, cell apoptosis, and myocardial fibrosis were assessed using cardiac ultrasound, TUNEL staining, hematoxylin-eosin (HE) staining, and Masson staining. Serum factors and the expression

[收稿日期] 2025-05-27

[基金项目] 中央高水平中医医院临床科研业务费项目 (HLCMHPP2023077); 国家自然科学基金项目 (82074396); 北京市自然科学基金项目 (7252257); 中国中医科学院科技创新工程创新团队项目 (CI2021B017-05)

[通信作者] * 陈恒文, 研究员, 主要从事中西医结合治疗心脑血管病, E-mail: chenhengwen@163.com

[作者简介] 冉清智, 硕士研究生, E-mail: rqz20010203@126.com

of key proteins and genes, such as SIRT3, PGC-1 α , and VDAC1 in myocardial tissue, were analyzed using ELISA, Western blot, and RT-qPCR to investigate the underlying mechanisms through the SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 signaling pathway. The experimental results showed that, compared with the model group, RSDS significantly improved cardiac function, with the high-dose group exhibiting the most pronounced cardioprotective effect, including increased left ventricular ejection fraction (LVEF), decreased left ventricular end-systolic diameter (LVESD), and increased left ventricular fractional shortening (LVFS). TUNEL staining demonstrated that RSDS reduced myocardial cell apoptosis, and Masson staining indicated that RSDS significantly alleviated myocardial fibrosis. Serum levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), C-reactive protein (CRP), and creatine kinase-MB (CK-MB) were significantly decreased, while superoxide dismutase (SOD) levels were significantly increased, suggesting strong anti-inflammatory and antioxidant effects. Western blot and RT-qPCR analyses demonstrated that RSDS improved mitochondrial function, inhibited oxidative stress, and protected myocardial cells by regulating the SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 signaling pathway. In conclusion, RSDS significantly ameliorates cardiac dysfunction induced by MIRI through regulation of the SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 signaling pathway, reducing myocardial apoptosis, fibrosis, and inflammation.

[Key words] Renshen (Ginseng Radix et Rhizoma)-Danshen (Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma); myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI); SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 signaling pathway; cardioprotective effect; anti-inflammatory and antioxidant

DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20250728.301

急性心肌梗死(AMI)是全球范围内导致死亡和致残的主要疾病之一,其发病率和病死率预计将持续攀升并延续到2030年^[1]。临床上,血运重建术虽被视为挽救AMI患者生命最有效且不可或缺的治疗手段,但由此引发的心肌缺血再灌注损伤(MIRI)仍不可避免,往往会加剧心肌细胞损害^[2]。尤其在血流突然恢复时,氧化应激、炎症反应以及过度自噬等环节的共同作用,导致AMI后心力衰竭发生率升高并推高治疗费用^[3]。然而,目前尚缺乏在临床上得到广泛认可和充分验证的干预策略来有效减轻MIRI,亟需开发更为安全有效的新疗法。

值得关注的是,中医药因其多成分、多靶点的整体干预优势,近年来在MIRI临床防治中表现出良好潜力,为寻找更优化的治疗手段提供了重要思路。中医理论中AMI属于“胸痹”或“真心痛”范畴,其核心病机可概括为“气虚”“血瘀”^[4]。因此,在中医临床中常采用益气活血等复方策略来治疗AMI及其相关病症。近年来,中医药在心血管疾病(尤其是冠心病与AMI)的防治中已显示出良好前景,特别是通过“多靶点、多通路”协同干预,对改善预后和生活质量起到重要作用^[5]。

人参-丹参药对在临床上防治心血管疾病中取得了一定成果,但目前对其作用机制、途径及靶点的研究仍需要不断创新深入。在课题组前期大量研究中发现,人参-丹参能够有效地减轻心肌细胞微循环障碍,一定程度上缓解心血管功能^[6-9],人参-丹参中的单体化合物(如人参皂苷Rb₁、人参皂苷Rg₁、丹

参酮II_A和丹酚酸B等)具有抗氧化、抑制NLRP3炎症小体和抑制线粒体凋亡等作用,从而对心肌起到保护作用^[10-11]。目前关于人参-丹参药对抗MIRI的研究以及相关报道较少。为此,本研究通过建立MIRI大鼠模型,同时给予适量人参-丹参药对干预,通过评估心肌组织的多层次表征及基因蛋白变化水平,并基于沉默信息调节因子2相关酶类3(SIRT3)/过氧化物酶体增殖物激活受体 γ -辅激活因子-1 α (PGC-1 α)/电压依赖性阴离子通道1(VDAC1)信号通路研究其作用机制及关键靶点,为人参-丹参药对抗MIRI的中医药治疗提供科学依据。

1 材料

1.1 动物

SD成年雄性大鼠(8周龄)购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SYXK(京)2021-0017。所有大鼠均饲养在中国中医科学院中医基础理论研究所实验室,动物许可证号110011241110851313。饲养环境:18~23℃;湿度40%~60%;12h光照/12h黑暗,模拟自然昼夜节律;每小时换气10~15次,确保新鲜空气供应并减少有害气体积聚;HEPA过滤系统减少病原体传播。笼舍要求:在空间标准中,根据美国国立卫生研究院(NIH)和欧盟(EU Directive 2010/63/EU)的要求,提供了丰富环境(玩具和巢穴材料),减少动物的焦虑和压力,符合动物福利。饮食与营养:标准饲料使用ISO 9001认证的实验动物饲料,避免污染。水源

提供无菌过滤水(0.2 μm 过滤),每日更换,防止污染。疾病监测:每周检查动物的体质量、活动度和毛发状况等;压力管理:避免实验人员频繁接触和不必要的刺激,减少动物应激反应。动物研究严格遵守 3R 原则,并按照 Guide for the Care and Use of Laboratory Animals(NRC 2011)及 Directive 2010/63/EU 原则开展相关动物实验。经中国中医科学院广安门医院伦理委员会批准(IACUC-GAMH-1023-050)。

1.2 药物和试剂

人参配方颗粒(批号 2406107101,每袋 3 g)、丹参配方颗粒(批号 2401193101,每袋 3 g)均购自江阴天江药业有限责任公司;普利钠片(中美上海施贵宝制药有限公司,批号 19980197,规格每片 10 mg);TRIzol(美国 Invitrogen 公司,货号 596-018);qPCR 试剂盒(美国 KAPA Biosystems 公司,货号 KK4601);马松(Masson)三色染色液(珠海贝索生物科技有限公司,批号 BA4079B);伊红染液(珠海贝索生物技术有限公司,货号 814111);苏木素染液(珠海贝索生物技术有限公司,货号 20220302);TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(显色法)(上海碧云天生物技术有限公司,货号 090222230317);蛋白质裂解缓冲液[优科卓业生物医学技术(北京)有限公司,货号为 P001];丙烯酰胺、*N,N'*-亚甲基双丙烯酰胺、过硫酸铵、四甲基乙二胺、聚山梨酯 20、溴酚蓝、二硫苏糖醇(美国 Amresco 公司,批号分别为 0341、0172、0486、0761、0777、0449、0281);Glycine、SDS、Trizma base(美国 Sigma 公司,批号分别为 G8898、L4390、T1503);ECL 化学发光试剂盒(美国 Millipore 公司,货号 BKLS0500);无水甲醇、生理盐水(中国医药集团有限公司,批号分别为 10014118、10019392);goat anti rabbit IgG(H+L)、HRP(武汉艾美捷科技有限公司,批号 111-035-003);二甲苯、100%乙醇、95%乙醇、75%乙醇(国药集团化学试剂有限公司,批号分别为 20201020、20201113、20210304、20200323);分化液(哈尔滨格林标本生物技术开发有限公司,批号 130705);IL-6、TNF- α 、CRP、CK-MB 和超氧化物歧化酶(SOD)(上海碧云天生物技术股份有限公司,货号分别为 PI326、PT512、PC186、S0287S、S0101S)。

1.3 仪器

Matrx VMR 型小动物麻醉机(美国 Midmark 公

司);X7 VET 型小动物超声仪[慧朗百奥(北京)生物科技有限公司];55-7040 型小动物呼吸机(美国 Harvard Apparatus 公司);Vevo 3100 小动物超声系统(加拿大 FUJIFILM VisualSonics 公司);AU5800 型全自动生化分析仪(美国 Beckman Coulter 公司);MULTISKAN MK3 型全自动多功能酶标仪(美国 ThermoFisher Scientific 公司);UV2000 型分光光度计(上海精华稳压器制造有限公司);HITACHI 7800 型透射电子显微镜[日立科学仪器(北京)有限公司];JY300C 型电泳、JY300C 型电泳槽(北京君意东方电泳设备有限公司);ChampGel 5000 型凝胶成像仪(北京赛智创业科技有限公司);SMA-1000 型分光光度计[美林恒通(北京)仪器有限公司];StepOne Plus 型 PCR 仪(美国 ABI 公司);Image-pro plus 6.0(美国 Media Cybernetics, Inc. 公司);StepOne Plus 型实时定量 PCR 仪(美国 ABI 公司);MH-1 型微型振荡器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);DH4000A 型电热恒温培养箱(天津泰斯特仪器有限公司);TGL-16M 型台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);ST5020、CV5030 型多功能自动染色封片一体机(德国徕卡公司);2998 型超高效液相色谱仪和 Xevo G2-S Q-TOF 型高分辨飞行时间质谱仪(美国 Waters 公司)。

2 方法

2.1 分组与给药

采用随机数表法将术后存活大鼠分为对照组、模型组、福辛普利组、人参-丹参低、中、高剂量组,每组 15 只,共 6 组,90 只大鼠。人参-丹参(9:15)是中国中医科学院广安门医院临床治疗缺血性心脏病的经验药对,临床疗效确切。根据《中药动物实验方法学》^[12]按体表面积折算,福辛普利组给药剂量为 70 kg 成人每日的等效剂量,即 3.60 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;人参-丹参中剂量组为 0.54 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;人参-丹参低剂量组为成人等效剂量的 1/2 倍,即 0.27 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;人参-丹参高剂量组按照成人等效剂量的 2 倍计算,即 1.08 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。福辛普利钠片组以及人参-丹参低、中、高剂量组用相应药物与 0.5%羧甲基纤维素钠水溶液配成的混悬液灌胃给药,对照组及模型组用等量 0.5%羧甲基纤维素钠水溶液灌胃处理,给药量 10 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。为评价人参-丹参对心肌 I/R 损伤大鼠的影响,分别在心肌 I/R 损伤前 7 d 口服不同剂量的人参-丹参配方颗

粒($0.27, 0.54, 1.08 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。对照组和模型组给予等量生理盐水处理。

2.2 大鼠 MIRI 模型建立

实验动物经 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后,通过夹尾反射评估麻醉深度,必要时以 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量追加麻醉。完成气管插管后连接小动物呼吸机,设置潮气量 0.5 mL 、呼吸频率每分钟 120 次维持通气。术区经剃毛、碘伏消毒 3 次及酒精脱碘后,于左侧第 3~4 肋间作 2 cm 切口,钝性分离胸肌组织,小心剪开肋间隙暴露心脏。在左心耳远端 $2 \sim 3 \text{ mm}$ 处识别左冠状动脉前降支(LAD),使用 6-0 无创缝合线进行结扎。结扎 30 min 期间密切观察心肌颜色由红变苍白的缺血表现及心电图 ST 段抬高的特征性改变,随后解除结扎实现 15 min 再灌注。手术完成后,依次用 5-0 可吸收缝合线间断缝合肌层、4-0 尼龙线连续缝合皮肤,术后动物置于 37°C 恒温垫保温恢复。MIRI 术后立即开始测定超声心动图,随后处死大鼠进行血清采集和心脏采集/染色。对照组不进行任何操作,仅记录心电图变化。术前 24 h 停止正常饲料供给。严密监测大鼠毛色、精神状态、活动情况、液体摄入量、食物摄入量、体质量、粪便等情况。

2.3 心脏超声心动图检测

MIRI 模型造模后 15 min 后开始测定超声心动图,采用 Vevo 3100 小动物超声系统对各组大鼠进行心脏超声评估。使用剃毛器和脱毛膏对大鼠胸部进行清理。大鼠在诱导箱内用异氟烷麻醉 $2 \sim 3 \text{ min}$,麻醉气体流量控制在 $2 \sim 3 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。待大鼠失去体动反应后,固定于操作台上,维持持续吸入麻醉,并根据大鼠状况实时调整异氟烷流量。胸部涂抹耦合剂后,将大鼠心率稳定控制在 $330 \sim 380$ 次/分钟,调整超声探头位置。在 M 模式和 B 模式下采集心脏二维图像,获得心脏长轴及短轴视图,每只大鼠保存连续 3 个心动周期的图像。随后利用 VeroS-train 软件对图像数据进行分析,提取包括左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)、左心室收缩末期内径(LVESD)等指标。LVEF 明显降低,提示心脏收缩功能受损。LVESD 增加,提示收缩期心室腔扩大。LVFS 是评估心脏收缩功能的重要指标,反映了左心室在心脏收缩期的形态变化。通过测量左心室在舒张末期和收缩末期的短轴直径, LVFS 可以量化左心室收缩期的变形程度。

2.4 TUNEL 染色观察心肌组织细胞凋亡

取血后,取出全心心脏组织,生理盐水清洗,修剪多余组织,称重。固定心肌组织,石蜡包埋后切片,脱蜡至水,按照 TUNEL 试剂盒说明书步骤操作,于光学显微镜下观察并分析各组大鼠心肌细胞凋亡情况。对于 TUNEL 染色,随机选取 $5 \sim 10$ 个非重叠视野($\times 200$)。计数 TUNEL 阳性细胞(核呈棕色/绿色)及总细胞数(DAPI/HE 复染)。计算凋亡指数:凋亡指数 = (TUNEL⁺细胞数/总细胞数) $\times 100\%$,使用 ImageJ 半定量分析标准化流程分析。

2.5 HE 与 Masson 染色观察心肌组织

随机选取各组 3 只大鼠,迅速摘取心脏,反复冲洗后置于 4% 多聚甲醛固定。心脏组织经石蜡包埋并切片,按照 HE 染色试剂盒说明,先在二甲苯中脱蜡,依次用无水乙醇、95%乙醇和 75%乙醇水化。用水洗净后,染苏木素,洗去多余染液,分化去除过量染色,再次冲洗。加入返蓝液使细胞核显蓝,水洗后用伊红染液染色,适量冲洗后梯度脱水,二甲苯透明,封片后观察并拍照记录组织形态。取材及 HE 染色步骤相同,采用 Masson 三色染色试剂盒操作。心脏组织用 Bouin 氏液固定,流水冲洗后脱水、包埋、切片。切片依次进行苏木素染色、盐酸酒精分化、丽春红染色,期间均用水轻轻冲洗。随后用磷钼酸溶液分化去除多余染液,再用苯胺蓝染液复染,清洗至无蓝色染液流出。经过 95%乙醇和无水乙醇脱水,二甲苯透明后用中性树胶封片。镜下观察心肌纤维化,拍照记录。染色结果:胶原纤维、黏液及软骨染蓝,肌纤维、纤维素和红细胞染红,细胞核呈蓝黑色。心肌组织经石蜡包埋后切片,取心肌梗死组织进行 HE 及 Masson 染色,观察其心肌组织纤维化及病理形态改变。通过 HE 染色观察心肌细胞形态变化,Masson 染色观察心肌细胞纤维化程度。对于 Masson 染色,选取 $3 \sim 5$ 个代表性视野($\times 200$)。采用 ImageJ 软件,通过颜色去卷积分离蓝色胶原成分,并计算胶原容积分数(CVF),即蓝色区域面积与总组织面积的百分比,以进行半定量分析。

2.6 检测血清中 IL-6、TNF- α 、CRP、CK-MB 含量和 SOD 活性水平变化

腹腔注射 2% 戊巴比妥钠溶液($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)麻醉,待麻醉达标(无角膜反射及痛觉反应)后,仰卧位固定于手术板。沿腹中线剪开腹腔,暴露腹主动

脉,使用肝素钠预处理的 5 mL 注射器穿刺腹主动脉,缓慢抽取 3~4 mL 全血(避免溶血),血液立即转移至促凝管中,室温倾斜 30°静置 30 min 促进凝血,4 ℃ $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ (离心半径 10 cm)离心 15 min,吸取上层血清分装至 0.5 mL EP 管(每管 200 μL),按照试剂盒说明书步骤分别检测大鼠血清 IL-6、TNF- α 、CRP、CK-MB 含量和 SOD 活性水平变化。

2.7 Western blot 检测

提取心肌组织总蛋白,BCA 法测定含量,配制 10%分离胶,目的蛋白样品上样,电泳,PVDF 膜转膜,封闭,一抗(1:1 000)孵育,4 ℃冰箱过夜,二抗(1:1 000)孵育,加入显影剂到膜蛋白面,启动曝光,显影 2 min,扫描图片并保存。利用 ImageJ 软件分析图片,以 β -actin 为内参蛋白,检测 VDAC1、SIRT3、PGC-1 α 灰度值。

2.8 RT-qPCR 检测

采用 TRIzol 法提取 RNA,NAS-99 测定浓度,以总 mRNA 为模板,逆转录 cDNA,逆转录条件:42 ℃ 50 min;85 ℃ 5 min。SYBR Green 聚合酶链式反应试剂盒进行 qPCR 反应(预变性 95 ℃ 3 min;两步法循环:95 ℃ 10 s;60 ℃ 30 s,40 个循环)。GAPDH 为内参,通过目的基因片段扩增曲线,以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行定量分析。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列(5'-3')	长度/bp
SIRT3	F: AGGCCCATATCCCTCTCTGT	274
	R: AGGGCTTGGGCTTGTGAAAA	
PGC-1 α	F: TTCAGGAGCTGGATGGCTTG	284
	R: GTGAGGACCGCTAGCAAGTT	
VDAC1	F: TTCCAGCTTCATACTAATGTGAATG	180
	R: CTAAGCCAATTAGACTGGAGTTGTT	
MAP2K1	F: GAAGCAGCTCATGTTACATGC	145
	R: GCTTCCCAAAGGCTCAGATG	
Rn18s	F: TGCAATTATCCCCATGAACG	123
	R: GCCTCACTAAACCATCCAATCG	

2.9 靶点多模块富集分析

通过 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org/>)对 IL-6、TNF- α 、CRP、CK-MB、SOD、SIRT3、PGC-1 α 、VDAC1、MAP2K1 进行多模块富集比较,使

用 Metascape(<http://metascape.org/>)平台进行功能富集分析。通过将关键靶点上传至 Metascape 平台,进行基因本体论(GO)分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,获得生物过程、细胞成分、分子功能以及信号通路的相关富集结果。根据靶点的生理和药理学重要性,从 GO 和 KEGG 分析中筛选排名靠前的结果。为了便于展示和理解相关的生物学过程及其潜在影响,使用 OmicShare 工具(<http://www.omicshare.com/tools/index>)对上述分析结果进行可视化展示。

2.10 统计学分析

采用统计软件 SPSS 24.0 进行数据分析,图表绘制使用 GraphPad Prism 10.0。对一般资料进行描述性统计,分类变量进行赋值处理。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,符合正态分布者采用方差分析(F 检验)进行组间比较;不符合正态分布者以中位数(四分位数间距)描述,组间比较采用秩和检验, $P<0.05$ 视为差异具有统计学意义。

3 结果

为探究人参-丹参对 MIRI 心脏功能的调控作用,实验首先构建了 MIRI 模型。术中麻醉深度过大及术后发生室性心律失常,导致 14 只大鼠死亡。造模前,各组大鼠在摄食量、精神状态及活动能力方面表现一致,排泄功能正常。

3.1 大鼠心脏超声变化

MIRI 模型造模后 15 min 进行超声心动图检测,各组心脏超声检测结果见表 2,超声图像及指标见中国知网本文增强出版附加材料。与对照组相比,模型组大鼠心脏功能显著受损,表现为 LVEF 显著降低($P<0.01$)、LVESD 明显增大($P<0.01$)和 LVFS 显著下降($P<0.01$)。

与模型组相比,人参-丹参低剂量组的 LVEF 显著提高($P<0.01$),且 LVESD 明显减小($P<0.01$)。与模型组相比,人参-丹参高剂量组的 LVEF 显著升高($P<0.01$),LVESD 恢复至接近对照组水平($P<0.01$),且 LVFS 显著升高($P<0.01$)。

结果表明人参-丹参能剂量依赖性地改善 MIRI 大鼠心功能,人参-丹参高剂量效果最佳。

3.2 大鼠心脏 TUNEL 染色

TUNEL 染色结果见图 1,MIRI 大鼠可引起心肌细胞缺血发生细胞凋亡,表现为 TUNEL 阳性细胞(棕黄色)数量明显增加。对照组几乎未见 TUNEL 阳性

表 2 大鼠心脏超声检查($\bar{x} \pm s$ $n=3$)

Table 2 Ultrasonographic findings of the rat heart($\bar{x} \pm s$ $n=3$)

组别	剂量	LVEF / %	LVESD / mm	LVFS / %
对照	—	83.15±6.56	3.78±0.21	54.69±3.75
模型	—	40.82±2.11 ²⁾	6.99±0.69 ²⁾	20.01±1.98 ²⁾
福辛普利	3.60 mg·kg ⁻¹	64.09±4.04 ^{2 4)}	5.56±0.28 ^{2 3)}	41.75±2.08 ^{1 4)}
RSDS-L	0.27 g·kg ⁻¹	61.68±7.59 ^{2 4)}	6.01±0.32 ^{2 3)}	22.86±3.36 ¹⁾
RSDS-M	0.54 g·kg ⁻¹	70.66±5.53 ^{1 3)}	3.78±0.21 ^{1 4)}	42.09±3.55 ^{1 4)}
RSDS-H	1.08 g·kg ⁻¹	73.82±7.89 ^{1 3)}	3.78±0.21 ^{1 3)}	48.74±5.09 ^{1 4)}

注: RSDS. 人参-丹参; L. 低剂量组; M. 中剂量组; H. 高剂量组(图 1~3、表 3~6 同)。与对照组比较¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与模型组相比³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ (表 3~6 同)。

细胞; 模型组阳性细胞最多, 人参-丹参各剂量组和福辛普利组的 TUNEL 阳性细胞数量均有不同程度的减少, 其中人参-丹参高剂量组作用最为明显, TUNEL 染

色半定量分析结果见表 3。与对照组相比, 模型组的细胞凋亡指数显著升高($P<0.01$)。与模型组相比, 人参-丹参高剂量组的凋亡指数显著降低($P<0.01$)。

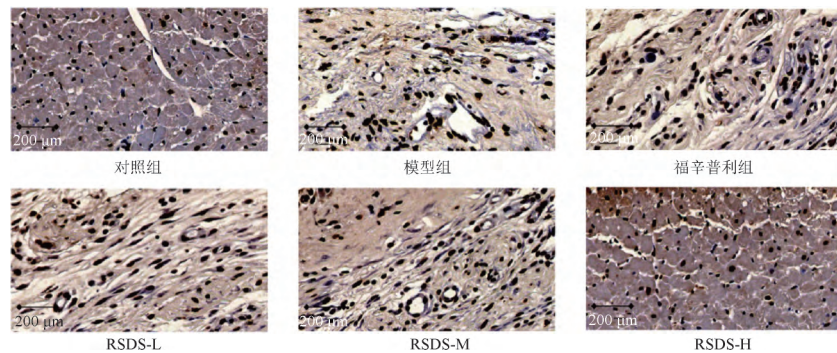


图 1 人参-丹参对 MIRI 大鼠心肌细胞凋亡情况的影响(TUNEL 染色 $\times 200$)

Fig.1 Effect of Renshen-Danshen on cardiomyocyte apoptosis in MIRI rats (TUNEL staining , $\times 200$)

表 3 TUNEL 与 Masson 染色半定量分析($\bar{x} \pm s$ $n=3$)

Table 3 Semi-quantitative analysis of TUNEL and Masson staining($\bar{x} \pm s$ $n=3$)

组别	剂量	凋亡指数 / %	
		TUNEL	Masson
对照	—	2.1±0.5	3.2±0.8
模型	—	36.7±4.2 ²⁾	24.5±3.6 ²⁾
福辛普利	3.60 mg·kg ⁻¹	18.3±2.1 ^{2 3)}	14.1±2.3 ^{2 3)}
RSDS-L	0.27 g·kg ⁻¹	28.5±3.5 ^{2 3)}	19.8±2.7 ^{2 3)}
RSDS-M	0.54 g·kg ⁻¹	15.6±1.9 ^{2 4)}	11.3±1.5 ^{2 4)}
RSDS-H	1.08 g·kg ⁻¹	12.4±1.7 ^{2 4)}	8.9±1.2 ^{2 4)}

3.3 大鼠心脏 HE、Masson 染色

各组大鼠 HE 染色结果见图 2, 对照组心肌组织排列规则、结构完整, 边界清晰; 模型组心肌纤维排列紊乱, 出现断裂, 细胞染色不均, 伴有肥大、坏死,

大量纤维蛋白沉积, 纤维化严重, 炎性细胞浸润明显; 各给药组较模型组纤维化程度显著减轻。人参-丹参低剂量组心肌细胞间隙较大但排列较整齐; 人参-丹参高剂量组心肌细胞排列规整、染色均匀, 细胞形态结构明显改善, 炎症细胞浸润明显减少。

各组大鼠 Masson 染色结果见图 2。对照组心肌组织中仅见少量均匀分布、排列整齐的蓝色胶原纤维; 相比之下, 模型组梗死边缘区域大量蓝染胶原纤维增生, 排列紊乱, 纤维断裂明显, 纤维化程度显著加重; 各药物干预组心肌蓝染胶原纤维明显减少, 纤维化程度较模型组得到显著改善, 细胞排列趋于规整, 间质增生及纤维断裂现象明显减轻, Masson 染色半定量分析结果见表 3。与对照组相比, 模型组的胶原沉积显著升高($P<0.01$)。与模型组相比,

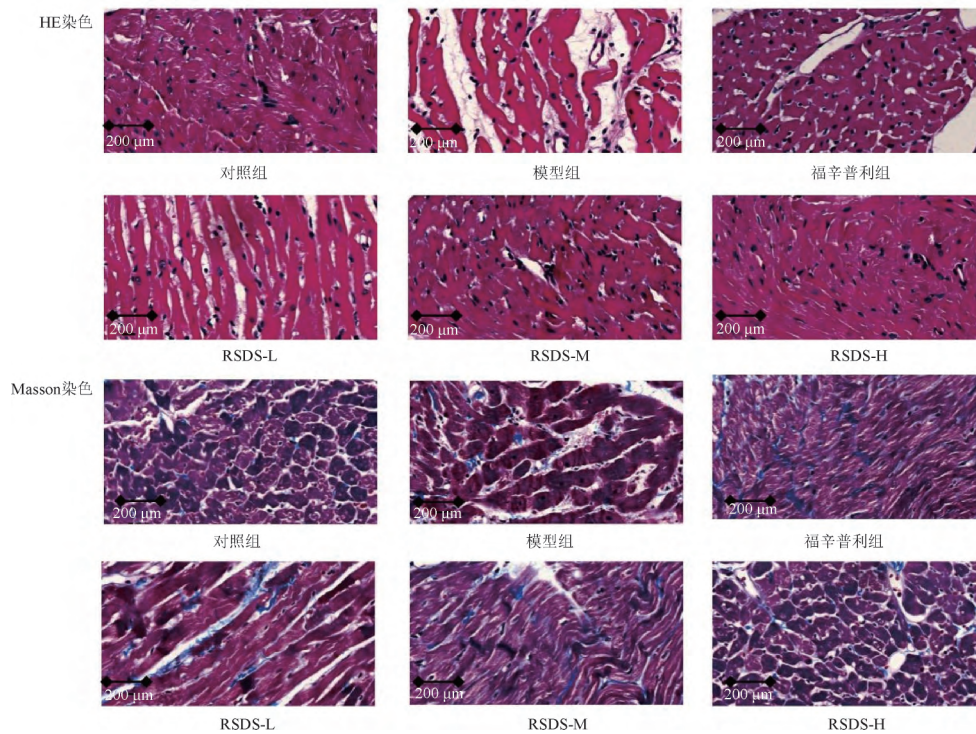


图 2 人参-丹参对 MIRI 大鼠心脏组织病理水平的影响(×200)
Fig.2 Effect of Renshen-Danshen on the level of cardiac histopathology in MIRI rats (×200)

人参-丹参中剂量组、高剂量组的胶原容积分数 (CVF) 显著降低 ($P<0.01$)。

3.4 大鼠血清中 IL-6、TNF- α 、CRP、CK-MB 和 SOD 因子水平变化

人参-丹参对 MIRI 大鼠血清炎症因子和氧化应激指标具有显著调节作用,见表 4。与对照组相比,模型组大鼠血清 IL-6、TNF- α 、CRP 和 CK-MB 含量显著升高($P<0.01$),SOD 活性显著降低($P<$

0.01),表明 MIRI 引发了明显的炎症反应和氧化应激损伤。与模型组相比,人参-丹参高剂量组 IL-6、TNF- α 、CRP 和 CK-MB 含量显著降低 ($P<0.01$),SOD 活性显著提高 ($P<0.01$),且各指标恢复至接近对照组水平。中、低剂量组虽有一定改善作用,但效果弱于高剂量组。结果表明人参-丹参能剂量依赖性地减轻 MIRI 引起的炎症反应和氧化应激损伤。

表 4 人参-丹参对 MIRI 大鼠血清 IL-6、TNF- α 、CRP、CK-MB 和 SOD 的影响($\bar{x}\pm s$ $n=3$)
Table 4 Effect of Renshen-Danshen on serum IL-6 , TNF- α , CRP , CK-MB and SOD in MIRI rats ($\bar{x}\pm s$ $n=3$)

组别	剂量	IL-6/ $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$	TNF- α / $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$	CRP/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	CK-MB/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$
对照	-	20.08 $\pm$ 3.78	15.45 $\pm$ 2.88	5.47 $\pm$ 0.88	6.21 $\pm$ 0.09	421.85 $\pm$ 21.09
模型	-	400.78 $\pm$ 15.87 ²⁾	200.32 $\pm$ 10.01 ²⁾	110.82 $\pm$ 8.44 ²⁾	231.62 $\pm$ 15.13 ²⁾	41.61 $\pm$ 3.85 ²⁾
福辛普利	3.60 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	158.82 $\pm$ 7.91 ^{2 3)}	150.45 $\pm$ 11.37 ^{2 3)}	70.45 $\pm$ 3.91 ^{2 4)}	122.51 $\pm$ 8.93 ^{2 4)}	105.48 $\pm$ 9.73 ^{2 4)}
RSDS-L	0.27 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	389.62 $\pm$ 11.04	189.31 $\pm$ 9.79 ^{2 3)}	100.73 $\pm$ 6.86 ²⁾	150.36 $\pm$ 9.15 ^{2 3)}	63.91 $\pm$ 5.34 ^{2 3)}
RSDS-M	0.54 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	188.50 $\pm$ 9.45 ^{2 4)}	141.77 $\pm$ 12.54 ^{2 4)}	85.25 $\pm$ 4.98 ^{2 4)}	98.74 $\pm$ 7.85 ^{2 4)}	101.66 $\pm$ 8.44 ²⁾
RSDS-H	1.08 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	140.01 $\pm$ 10.01 ^{2 4)}	101.68 $\pm$ 8.81 ^{2 4)}	45.39 $\pm$ 2.98 ^{1 3)}	83.38 $\pm$ 8.46 ^{2 3)}	149.99 $\pm$ 14.83 ^{1 3)}

3.5 大鼠心肌组织中 SIRT3、PGC-1 α 、VDAC1、MAP2K1 蛋白的表达

人参-丹参对 MIRI 大鼠心肌细胞中 SIRT3、

PGC-1 α 、VDAC1 和 MAP2K1 蛋白表达具有显著调节作用,见图 3、表 5。与对照组相比,模型组各蛋白表达均显著升高($P<0.01$),表明 MIRI 显

著影响了这些蛋白的表达水平。与模型组相比,人参-丹参低剂量组中 SIRT3、VDAC1、MAP2K1 表达降低 ($P<0.05$), PGC-1 α 表达增加 ($P<0.05$)。与模型组相比,人参-丹参高剂量组中 SIRT3、VDAC1、MAP2K1 表达显著降低 ($P<0.01$), PGC-1 α 表达增加 ($P<0.05$)。说明人参-丹参低剂量组的改善作用相对有限。结果表明人参-丹参能剂量依赖性地调控 MIRI 大鼠心肌细胞中关键蛋白的表达,其中对 SIRT3 和 PGC-1 α 的调节作用尤为显著。

3.6 心肌组织中 SIRT3、PGC-1 α 、VDAC1、MAP2K1 mRNA 的表达

人参-丹参对 MIRI 大鼠心肌细胞中 SIRT3、

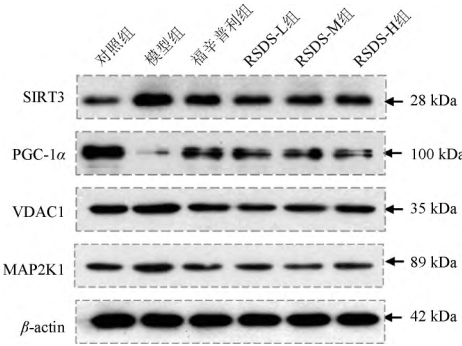


图 3 人参-丹参对大鼠心肌细胞中 SIRT3、PGC-1 α 、VDAC1 和 MAP2K1 蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of SIRT3 , PGC-1 α , VDAC1 and MAP2K1 protein expression in rat cardiomyocytes by Renshen-Danshen

表 5 人参-丹参对 MIRI 大鼠心肌细胞中 SIRT3、PGC-1 α 、VDAC1 和 MAP2K1 蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s$ $n=3$)

Table 5 Effect of Renshen-Danshen on SIRT3 , PGC-1 α , VDAC1 , and MAP2K1 protein expression in cardiomyocytes of MIRI rats ($\bar{x}\pm s$ $n=3$)

组别	剂量	SIRT3	PGC-1 α	VDAC1	MAP2K1
对照	-	0.61 $\pm$ 0.05	1.02 $\pm$ 0.08	0.72 $\pm$ 0.24	0.73 $\pm$ 0.12
模型	-	1.61 $\pm$ 0.21 ²⁾	0.14 $\pm$ 0.01 ²⁾	1.22 $\pm$ 0.22 ²⁾	1.31 $\pm$ 0.24 ²⁾
福辛普利	3.60 mg $\cdot$ kg ⁻¹	1.24 $\pm$ 0.31 ^{2,3)}	0.64 $\pm$ 0.05 ^{2,3)}	0.75 $\pm$ 0.18 ³⁾	0.88 $\pm$ 0.21 ^{2,3)}
RSDS-L	0.27 g $\cdot$ kg ⁻¹	1.32 $\pm$ 0.15 ^{2,3)}	0.75 $\pm$ 0.21 ^{1,3)}	0.84 $\pm$ 0.21 ^{1,3)}	0.94 $\pm$ 0.14 ^{1,3)}
RSDS-M	0.54 g $\cdot$ kg ⁻¹	1.08 $\pm$ 0.26 ^{2,4)}	0.80 $\pm$ 0.11 ^{2,4)}	0.89 $\pm$ 0.23 ^{1,3)}	0.87 $\pm$ 0.16 ^{1,4)}
RSDS-H	1.08 g $\cdot$ kg ⁻¹	0.97 $\pm$ 0.03 ^{2,4)}	0.99 $\pm$ 0.07 ^{1,3)}	0.75 $\pm$ 0.12 ⁴⁾	0.75 $\pm$ 0.04 ⁴⁾

PGC-1 α 、VDAC1 和 MAP2K1 mRNA 表达具有显著调控作用 见表 6。与对照组相比 模型组中 SIRT3、VDAC1、MAP2K1 表达均显著升高 ($P<0.01$) PGC-1 α 显著降低 ($P<0.01$) 表明 MIRI 导致了明显的基因表达紊乱。人参-丹参各剂量均能改善这些基因的表达异常 其中人

参-丹参高剂量效果最为显著 与模型组相比,人参-丹参高剂量对 SIRT3、VDAC1 和 MAP2K1 mRNA 表达显著降低 ($P<0.01$) PGC-1 α 显著增加 ($P<0.01$)。结果表明人参-丹参能剂量依赖性地调控 MIRI 大鼠心肌细胞中关键基因的表达。

表 6 人参-丹参对 MIRI 大鼠心肌细胞中 SIRT3、PGC-1 α 、VDAC1、MAP2K1 mRNA 表达的影响($\bar{x}\pm s$ $n=3$)

Table 6 Effect of Renshen-Danshen on the expression of SIRT3 , PGC-1 α , VDAC1 , and MAP2K1 mRNA in cardiomyocytes of rats with MIRI ($\bar{x}\pm s$ $n=3$)

组别	剂量	SIRT3	PGC-1 α	VDAC1	MAP2K1
对照	-	0.60 $\pm$ 0.11	1.45 $\pm$ 0.41	0.81 $\pm$ 0.18	0.73 $\pm$ 0.12
模型	-	1.73 $\pm$ 0.09 ²⁾	0.09 $\pm$ 0.01 ²⁾	1.34 $\pm$ 0.20 ²⁾	1.39 $\pm$ 0.31 ²⁾
福辛普利	3.60 mg $\cdot$ kg ⁻¹	1.33 $\pm$ 0.11 ^{2,3)}	0.88 $\pm$ 0.17 ^{2,4)}	0.98 $\pm$ 0.19 ³⁾	0.98 $\pm$ 0.09 ^{1,3)}
RSDS-L	0.27 g $\cdot$ kg ⁻¹	1.01 $\pm$ 0.28 ^{2,4)}	0.89 $\pm$ 0.31 ^{2,4)}	1.04 $\pm$ 0.15 ²⁾	0.94 $\pm$ 0.14 ^{1,3)}
RSDS-M	0.54 g $\cdot$ kg ⁻¹	0.99 $\pm$ 0.26 ^{2,4)}	0.78 $\pm$ 0.21 ^{2,4)}	0.71 $\pm$ 0.13 ^{1,4)}	0.79 $\pm$ 0.11 ⁴⁾
RSDS-H	1.08 g $\cdot$ kg ⁻¹	0.89 $\pm$ 0.10 ^{1,4)}	1.01 $\pm$ 0.07 ^{1,4)}	0.68 $\pm$ 0.02 ^{1,4)}	0.71 $\pm$ 0.09 ⁴⁾

3.7 靶点多模块富集分析

为了阐明 9 个关键靶点(IL-6、TNF- α 、CRP、CK-

MB、SOD、SIRT3、PGC-1 α 、VDAC1、MAP2K1) 的潜在功能 通过 STRING 平台进行了系统的基因注释和

功能富集分析。分析结果显示,这些靶点之间存在显著的功能相关性,主要涉及 HIF-1 和 TNF 信号通路,与 MIRI 的病理过程密切相关。组织表达分析表明这些靶点主要富集于心血管系统相关组织,包括静脉血、血管内膜和心肌组织。功能注释结果显示,这些靶点与急性期反应、铁蛋白复合物、纤维蛋白原复合物等功能模块密切相关。通路分析进一步揭示这些靶点参与了 IL-6 信号通路、维生素 B₁₂ 代谢、叶酸代谢、硒微量营养素网络、活性氧生成等生物学过程,提示其在心肌细胞能量代谢和氧化应激调控中的重要作用。这些分析结果为理解人参-丹参治疗 MIRI 的潜在分子机制提供了重要线索,见中国知网本文增强出版附加材料。

4 讨论

AMI 是全球范围内导致死亡和致残的主要疾病之一,其发病率和病死率在未来预计将持续攀升,并成为公共卫生领域的重要挑战^[13]。血运重建术,如冠状动脉介入治疗,虽然在 AMI 的治疗中发挥了重要作用,但随之而来的再灌注损伤仍然是不可忽视的并发症。MIRI 通过氧化应激、炎症反应、细胞凋亡以及线粒体功能失调等多重机制,加剧心肌细胞的损伤,进一步推动心力衰竭的发生。

目前,尽管临床上已有一定的药物和治疗方法用于缓解 MIRI,但大多数方案效果有限,且难以获得持久的疗效。中医药作为传统的治疗手段,其在调节多靶点、多通路方面具有显著优势,逐渐引起了国际学术界的关注。《灵枢·邪客》“五谷入于胃也,其糟粕、津液、宗气,分为三隧”^[14]。首次提出宗气来源于五谷,是化生全身各种气的本源之气。其位置是“宗气积于胸中”,功能是“故宗气积于胸中,出于喉咙,以贯心脉,而行呼吸焉”^[15]。中医理论中的“气”包含了经肺吸入的氧气、经胃肠吸收的营养成分,以及生成的 ATP,而线粒体被认为是“气”和 ATP 的物质基础^[16]。

生理条件下,线粒体是产生 ATP 的主要核心细胞器,心肌细胞中线粒体约 32%,为心脏正常功能运行提供 95% 的能量^[17-18]。当血管阻塞造成心肌缺血后,线粒体 ATP 代谢减弱、线粒体内环境缺氧、营养成分缺少的状态属于中医“气虚”的范畴,血栓阻塞血管后血管收缩,或动脉硬化阻塞血管后下游的血管和周围组织生成 ATP 的氧气和营养成分减少、ATP 合成酶相关蛋白低表达,导致线粒体 ATP

含量的降低^[19-20]。ATP 含量降低能促进细胞骨架的降解、细胞功能的减弱,还可以降低心肌收缩功能和增加血管内皮通透性等;而心肌收缩功能降低导致血行速度减慢,属于中医“血瘀”的范畴,进而引起微循环障碍导致冠心病的发生,日久则导致心力衰竭^[21-22]。

然而,目前关于人参-丹参抗 MIRI 的研究仍较为有限,尤其是其分子机制尚不完全明确。本研究通过构建 MIRI 模型,并采用人参-丹参进行干预,评估其对心肌功能、组织损伤、细胞凋亡及关键信号通路的调节作用。实验结果表明,人参-丹参在多方面显著改善了 MIRI 大鼠的心脏功能、减少了细胞凋亡,并有效减轻了心肌纤维化和炎症反应,具有较强的心脏保护作用^[23-24]。

首先,心脏超声检查结果显示,MIRI 大鼠心脏功能显著下降,LVEF 显著低于对照组,LVESD 增大,LVFS 显著降低。这些变化表明 MIRI 严重影响了心脏的收缩和舒张功能。与模型组相比,人参-丹参各治疗组特别是人参-丹参高剂量组(1.08 g·kg⁻¹)显示出显著的改善。LVEF 显著升高,LVESD 恢复至接近对照组水平,LVFS 显著提高,表明人参-丹参能够有效恢复 MIRI 引起的心脏功能障碍。该结果与之前的研究一致,表明人参-丹参能够通过多途径减轻心肌梗死后的心脏功能衰竭,并有助于恢复心脏功能^[25-26]。其次,TUNEL 染色结果揭示了人参-丹参在减少心肌细胞凋亡方面的作用。MIRI 导致了心肌细胞的大量凋亡,而人参-丹参各治疗组,尤其是高剂量组,显著减少了 TUNEL 阳性细胞的数量。这表明,人参-丹参可能通过抑制凋亡信号通路,保护心肌细胞免受损伤,进一步改善心肌功能。Masson 染色结果也验证了人参-丹参对心肌纤维化的抑制作用,人参-丹参显著减少了心肌胶原纤维的积累,并改善了心肌的组织结构,这为其抗纤维化作用提供了进一步证据。在分子机制方面,SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 通路在 MIRI 中的作用愈发被重视。SIRT3 作为线粒体中的去乙酰化酶,能够通过调节 PGC-1 α 、抑制氧化应激和促进线粒体自噬,保护心肌细胞免受 MIRI^[27-28]。本研究结果表明,人参-丹参能够通过显著上调 SIRT3 和 PGC-1 α 的表达,恢复 VDAC1 的正常水平,增强线粒体抗氧化能力,抑制细胞凋亡。模型组中 SIRT3 和 PGC-1 α 的表达显著下调,而 VDAC1 和 MAP2K1 则显著升高,



提示 MIRI 通过改变这一信号通路影响心肌细胞的存活和功能。人参-丹参干预后, SIRT3、PGC-1 α 的表达得到有效恢复, VDAC1 和 MAP2K1 的表达显著下降, 显示出人参-丹参通过调节这一信号通路来减轻心肌损伤, 促进心肌功能的恢复。

值得注意的是, 虽然人参-丹参能够显著改善 MIRI 大鼠的心脏功能、抑制细胞凋亡和纤维化, 但其效果呈剂量依赖性, 人参-丹参高剂量组表现出最显著的疗效, 而低剂量组的效果相对较弱。这提示在临床应用中, 应根据患者的具体情况和疾病的严重程度, 合理选择人参-丹参的剂量, 以达到最佳的治疗效果。本研究聚焦抗氧化酶活性与炎症指标联动机制, 故未检测 MDA。未来将补充脂质过氧化终产物分析以完善氧化应激评估。总之, 本研究系统评估了人参-丹参在 MIRI 中的心脏保护作用及其分子机制, 结果表明, 人参-丹参通过调节 SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 信号通路, 显著改善心脏功能、抑制细胞凋亡、减轻心肌纤维化, 并通过抗炎、抗氧化作用发挥心脏保护作用。然而, 本研究也存在一些局限性, 如缺乏长期跟踪研究及更大样本量的验证, 未参考针灸等中国传统医学方法联合人参-丹参对 MIRI 的影响等探索^[29-30], 未来应进一步探讨其临床转化潜力, 并评估其与现有治疗方法联合使用的效果, 以期对心血管疾病的治疗提供更全面的解决方案。

5 结论

本研究证实, 人参-丹参药对可通过调控 SIRT3/PGC-1 α /VDAC1 通路, 改善线粒体功能、抑制氧化应激和细胞凋亡, 从而显著减轻 MIRI 导致的心功能损伤、心肌纤维化和炎症反应, 且呈剂量依赖性。该发现为其作为多靶点治疗策略提供了实验依据, 未来需进一步探索其临床转化及联合用药潜力。

【参考文献】

- [1] CHEN W, BIAN W, ZHOU Y, et al. Cardiac fibroblasts and myocardial regeneration[J]. Front Bioeng Biotechnol, 2021, 9: 599928.
- [2] MURPHY S P, KAKKAR R, MCCARTHY C P, et al. Inflammation in heart failure: JACC state-of-the art review[J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 75(11): 1324.
- [3] DUTKA M, BOBINSKI R, ULMAN-WŁODARZ I, et al. Various aspects of inflammation in heart failure[J]. Heart Fail Rev, 2020, 25(3): 537.
- [4] 陈可冀. 现代活血化瘀学派的传承创新发展轨迹[J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(12): 1413.
- [5] 中国中西医结合学会活血化瘀专业委员会, 陈可冀, 徐浩, 等. 实用血瘀证诊断标准[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(10): 1163.
- [6] 马静卓, 姚博, 陈恒文, 等. 养心达瓦依米西克蜜膏通过调节 VDAC1/NLRP3/Bax/Bcl-2 通路改善大鼠心功能[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(8): 115.
- [7] 姚博, 陈恒文, 贡济宇, 等. 血府逐瘀胶囊通过调控 Sirt3/EPAC1 信号通路对动脉粥样硬化小鼠的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(21): 31.
- [8] 冉清智, 何汶洋, 李傲霜, 等. 基于网络药理学、分子对接和动物实验探究黄芪桂枝五物汤预防运动性疲劳的作用[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(6): 18.
- [9] 胡骏, 陈恒文, 廖江铨, 等. 基于网络药理学探讨丹参通络方治疗冠心病血瘀证的机制[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2020, 22(11): 3853.
- [10] 王阶, 李建生, 姚魁武, 等. 血瘀证量化诊断及病证结合研究[J]. 中西医结合学报, 2003, 1(1): 21.
- [11] 李千会, 葛卓望, 田丁, 等. 人参皂苷 Rg₁ 对心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用及其机制研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(6): 1460.
- [12] 谭雨晴, 李军, 陈恒文. 基于网络药理学研究瓜蒌薤白半夏汤治疗冠心病的作用机制[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2020, 22(11): 3861.
- [13] RAN Q, LI A, TAN Y, et al. Action and therapeutic targets of myosin light chain kinase, an important cardiovascular signaling mechanism[J]. Pharmacol Res, 2024, 206: 107276.
- [14] 宋鉴书, 曹策, 李浩然, 等. 心肌缺血再灌注损伤氧化应激机制及中药的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(13): 3452.
- [15] 田静文, 孙波, 张晓晓, 等. 针刺治疗脑出血继发性脑损伤机制的研究进展[J]. 世界针灸杂志, 2024, 34(4): 277.
- [16] 谭雨晴, 李军, 陈恒文. 基于“阳化气, 阴成形”论扶阳活血法在冠心病的运用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(6): 986.
- [17] 林飞, 陈恒文, 石卓林, 等. 基于 microRNA 和 mtDNA 的相关性阐述活血化瘀中药防御心肌缺血再灌注损伤的分子机制[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(5): 1005.
- [18] 李俊平, 郭丽丽, 陈中, 等. 丹参片对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1): 95.
- [19] 魏本君, 陈恒文, 高嘉良, 等. 对冠心病辨病与辨证的几点探讨[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(1): 70.
- [20] 陈芬燕, 郭韧, 张毕奎. 丹参酮 II_A 的心血管药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(9): 1649.
- [21] 李淑娟, 唐于平, 沈娟, 等. 药对研究(Ⅷ): 丹参-红花药对[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(24): 4227.
- [22] 刘剑刚, 张大武, 李婕, 等. 丹参、红花水溶性组分及配伍对大鼠心肌缺血/再灌注损伤作用的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(2): 189.
- [23] 王岚, 吕冬梅, 梁日欣, 等. 丹参毛状根对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(14): 1848.

- [24] 冯金红,史强,王毅,等.参麦方对缺血心肌组织蛋白 S-亚硝基化的影响[J].中国中药杂志,2008,33(15):1894.
- [25] 任小巧,李建生.中医药防治缺血性卒中动物实验研究若干问题的思考[J].北京中医药大学学报,2003(3):44.
- [26] 李长健,马贤鹏,聂红.基于网络药理学和分子对接探究参芎葡萄糖注射液抗心肌缺血再灌注损伤的作用机制[J].中国中药杂志,2022,47(10):2759.
- [27] SAITO T, NAH J, OKA S I, et al. An alternative mitophagy pathway mediated by Rab9 protects the heart against ischemia [J]. J Clin Invest, 2019, 129(2): 802.
- [28] BRISTON T, SELWOOD D L, SZABADKAI G, et al. Mitochondrial permeability transition: a molecular lesion with multiple drug targets [J]. Trends Pharmacol Sci, 2019, 40(1): 50.
- [29] 汪红娟,唐红,江姗姗,等.基于铁稳态的失衡探讨针刺对脑缺血再灌注损伤大鼠海马区铁代谢的影响[J].世界针灸杂志,2024,34(4):292.
- [30] 金观源,金雷,何洁,等.从干针崛起看古典针灸传承与创新的必要性(英文)[J].世界针灸杂志,2024,34(1):1.

[责任编辑 孔晶晶]