

山茱萸总苷及山茱萸多糖对急性心肌梗死大鼠心肌保护作用的影响

陈 丹¹ 李建军² 张丽婷¹ 匡 薇² 陈克芳² 侯祥平² 麦华超² 陈 珂²

摘要 目的 观察山茱萸总苷及山茱萸多糖对急性心肌梗死(acute coronary infarction, AMI)心肌线粒体保护作用及对糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)表达的影响。**方法** 采用结扎冠状动脉左前降支制备 AMI 大鼠模型,按照随机数字表法分为假手术组、模型组、山茱萸总苷预防给药组(总苷预防组)、山茱萸多糖治疗组(多糖治疗组)和山茱萸总苷治疗组(总苷治疗组),每组 12 只,除正常组和模型组给予生理盐水灌胃外,其余各给药组分别灌胃给予对应的药物治疗。进行超声心动图及血流动力学检测评价心功能;Masson 三色染色法进行心肌梗死面积测定;荧光实时定量 PCR 法检测心肌组织线粒体发生相关基因过氧化物酶体增殖活化受体 γ 辅助活化因子 1 α (α subunit of peroxisome proliferators-activated receptor- γ coactivator-1, PGC-1 α)、PGC-1 β 、心肌细胞核呼吸因子(nuclear respiratory factor-1, NRF-1)和 GSK-3 β mRNA 表达。**结果** 与假手术组比较,模型组心肌梗死面积增大,心功能下降,PGC-1 α 、PGC-1 β 和 NRF-1 mRNA 表达降低,GSK-3 β mRNA 表达升高(均 $P < 0.05$)。与模型组比较,总苷预防组、总苷治疗组和多糖治疗组心肌梗死面积缩小,心功能改善,NRF-1 mRNA 表达升高,总苷预防组和多糖治疗组 PGC-1 α 和 PGC-1 β mRNA 表达升高,多糖治疗组 GSK-3 β mRNA 表达降低(均 $P < 0.05$)。与总苷预防组比较,总苷治疗组短轴缩短率(fractional shortening, FS)、主动脉收缩压(aortic systolic blood pressure, SBP)升高,多糖治疗组射血分数(ejection fraction, EF)降低,总苷治疗组和多糖治疗组 PGC-1 α 、PGC-1 β 及 NRF-1 mRNA 表达下降,多糖治疗组 GSK-3 β mRNA 表达下降(均 $P < 0.05$)。与总苷治疗组比较,多糖治疗组 FS、EF、左室收缩末压(left ventricular end systolic pressure, LVESP)、SBP、GSK-3 β mRNA 降低($P < 0.05$)。**结论** 山茱萸总苷及山茱萸多糖具有改善 AMI 大鼠心功能、缩小心肌梗死面积、促进心肌线粒体生物合成的作用;山茱萸总苷及多糖对 AMI 大鼠心肌细胞线粒体保护作用可能是通过 GSK-3 β 信号通路实现。

关键词 山茱萸总苷;山茱萸多糖;急性心肌梗死;过氧化物酶体增殖活化受体 γ 辅助活化因子 1 α ;过氧化物酶体增殖活化受体 γ 辅助活化因子 1 β ;核呼吸因子;糖原合成酶激酶-3 β

Protective Effects of *Cornus Officinalis* Total Glycosides and *Cornus* Polysaccharides on Myocardial Mitochondria of Acute Myocardial Infarction Rats: an Experimental Study CHEN Dan¹, LI Jian-jun², ZHANG Li-ting¹, KUANG Wei², CHEN Ke-fang², HOU Xiang-ping², MAI Hua-chao², and CHEN Ke² 1 Department of Electrocardiogram, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan (250021); 2 Department of Traditional Chinese Medicine, Sun Yat-sen Memorial Hospital Affiliated to Sun Yat-sen University, Guangzhou (510120)

ABSTRACT Objective To observe the effect of *Cornus Officinalis* total glycosides (COTG) and *Cornus* polysaccharides (CP) on myocardial mitochondria and expression levels of glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) of acute myocardial infarction (AMI) rats. **Methods** The AMI rat model was established by ligating the left anterior descending branch of coronary artery. Rats were divided into 5 groups according to random digit table, i.e., the sham-operation group, the model group, the COTG prevention

基金项目:广东省中医药管理局课题基金资助项目(No. 20111165)

作者单位:1.山东大学附属省立医院心电图室(济南 250021);2.中山大学附属孙逸仙纪念医院中医科(广州 510120)

通讯作者:李建军, Tel: 020-81332463, E-mail: Ljj1965wuan@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2015.09.1090

group, the CP treatment group, the COTG treatment group, 12 in each group. Normal saline was administered to rats in the normal control group and the model group by gastrogavage. Corresponding medication was respectively administered to rats in the rest 3 groups by gastrogavage. The cardiac function was detected by echocardiography and hemodynamics. The infarct size was determined by Masson trichrome staining. The expression of mitochondrial biogenesis genes such as α subunit of peroxisome proliferators-activated receptor- γ coactivator-1 (PGC-1 α), PGC-1 β , nuclear respiratory factor-1 (NRF-1), and GSK-3 β mRNA were detected by Real-time PCR. Results Compared with the sham-operation group, the myocardial infarction size increased, cardiac function decreased, the expression of PGC-1 α , PGC-1 β , and NRF-1 mRNA decreased, and the expression of GSK-3 β mRNA increased (all $P < 0.05$). Compared with the model group, myocardial infarction sizes were reduced, cardiac function was improved, the expression of NRF-1 mRNA was elevated in the COTG prevention group, the CP treatment group, the COTG treatment group; the expression of the PGC-1 α and PGC-1 β mRNA was elevated in the COTG prevention group and the CP treatment group; the expression of GSK-3 β mRNA was reduced in the CP treatment group (all $P < 0.05$). Compared with the CP prevention group, fractional shortening (FS) and aortic systolic blood pressure (SBP) increased in the CP treatment group; ejection fraction (EF) decreased in the CP treatment group; the expression of PGC-1 α , PGC-1 β , NRF-1 mRNA were reduced in the the CP treatment group and the COTG treatment group; the expression of GSK-3 β mRNA decreased in the CP treatment group (all $P < 0.05$). Compared with the COTG treatment group, FS, EF, left ventricular end systolic pressure (LVESP), SBP, and the expression of GSK-3 β mRNA were reduced in the CP treatment group ($P < 0.05$). Conclusions COTG and CP could improve cardiac function, reduce the myocardial infarction area, and promote biogenesis of myocardial mitochondria. Their protective effects on the mitochondria of cardiocytes might be achieved by GSK-3 β signaling pathway.

KEYWORDS Cornus Officinalis total glycosides; Cornus polysaccharides; acute myocardial infarction; PPAR- γ coactivator-1 α ; PGC-1 β ; nuclear respiratory factor 1; glycogen synthase kinase 3 β

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 目前仍是临床有待解决的问题。现有研究表明, 传统中药山茱萸有抗炎、抗氧化损伤、抑制心肌肥厚的作用, 对急性缺血再灌注损伤^[1]、肾血管性高血压所致心肌肥厚^[2]、糖尿病性心肌病大鼠心血管^[3]等有保护作用, 但是其对 AMI 大鼠心肌线粒体保护作用及机制阐述较少。糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 是一种多功能的丝/苏氨酸蛋白激酶。近年来的研究提示 GSK-3 β 与心肌缺血再灌注损伤^[4]、心肌肥厚^[5]、心肌细胞凋亡^[6]、动脉硬化的发生与进展^[7]、心肌梗死后炎症反应^[8]、心力衰竭^[9]等心血管疾病关系密切。山茱萸总皂苷及山茱萸多糖对心肌梗死大鼠心肌线粒体是否有保护作用及保护作用是否通过 GSK-3 β 信号通路尚不清楚。本研究初步探讨了山茱萸总皂苷及山茱萸多糖对 AMI 大鼠心肌线粒体保护作用及其对 GSK-3 β 表达的影响。

材料与方法

1 动物 96 只雄性 SD 大鼠, SPF 级, 体重

200 ~ 250 g, 由南方医科大学实验动物中心提供, 许可证号为 SCXK 粤 2006 - 0015。

2 药物 山茱萸生药由广东一方制药有限公司提供, 山茱萸总苷及山茱萸多糖由广东省中医研究所孙冬梅教授提取并测定含量^[10, 11]。

3 试剂及仪器 主要试剂: Trizol (Invitrogen 公司, 批号: 1373341); SuperScript III Reverse Transcriptase SYBR^R RT-PCR 试剂盒, (Invitrogen 公司, 批号: 18064014); 定量 PCR 试剂盒 (TaKaRa, 批号: BK8803); BCA-100 蛋白质定量检测试剂盒 (上海申能博彩生物科技有限公司, 批号: K3000); Tris-base (广州康龙生物科技有限公司, 批号: 2008616); 30% 丙烯酰胺/0.8% N'-N-亚甲丙烯酰胺 (申能博彩生物科技有限公司, 批号: 091001); SDS 加样缓冲液, TaKaRa, 批号: D606; Tween-20 (广州威佳生物科技有限公司, 批号: 20090510); 过硫酸铵 (APS, 广州威佳生物科技有限公司, 批号: 20100420); N, N, N', N', -四甲基乙二胺 (TEMED, Sigma, 批号: T8133); GSK-3 β 单克隆抗体 (ABCam, 批号: ab32391); β -actin (博士德生物, 批号: ba637); 二抗 (Invitrogen

公司,批号:SC465);化学发光底物液试剂盒(In-vitrogen 公司,批号:20090813);显影定影液试剂盒(碧云天生物技术研究,批号:080310);甲醇(汕头市西陇化工厂,批号:080814);氯仿(广州威佳生物科技有限公司,批号:090504),异丙醇(广州威佳生物科技有限公司,批号:091012);75%乙醇(DEPC H₂O 配制,广州威佳生物科技有限公司,批号:080918);甘氨酸(广州康龙生物,批号:081107);10%水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,批号:090310);4%多聚甲醛(广州威佳科技有限公司,批号:20090922)、磷酸盐缓冲液(PBS)干粉(加拿大 BioBasic Inc 公司,批号:0910P06);中性树胶(广州威佳生物科技有限公司,批号:081024);二甲苯(广州化学试剂厂,批号:20090418)。

主要仪器:BL-410 型生物机能实验系统,成都泰盟科技有限公司;ALC-V8B 型动物呼吸机,上海奥尔科特生物科技有限公司;XP-500 压力换能器,上海仕元科学器材有限公司;LG16-W 低温高速离心机,北京医用离心机厂;LDZ5-2 型普通离心机,北京医用离心机厂;6010 紫外分光光度计,安捷伦上海分析仪器厂;DR-HW-1 电热恒温水温箱,北京西城区医疗器械厂;YKH-II 型液体快速混合器,江西医疗器械厂;低温超速离心机, Eppendorf Centrifuge 5415R 型;DT5-2 型普通离心机,北京医用离心机厂;紫外-可见光分光光度计, Beckman Coulter DU-800;流式细胞仪, BD FACSEALIBUR;荧光实时定量 PCR 仪, BIO-BAD 四通道实时定量 PCR 仪 TL988-IV 型,光学倒置显微镜, Nikon TS100, 超声心动图仪, Acuson Sequonia 521 型;电泳和电转系统, BIO-RAD BE6085;电动匀浆器,德国 IKAT 10 basic 分散机。

4 动物模型的制备与分组 根据 AMI 大鼠造模死亡率^[12],将 96 只大鼠随机分为两部分。参照文献^[13],将 60 只 SD 大鼠通过结扎冠状动脉左前降支制备 AMI 大鼠模型。术中肉眼观察,结扎冠脉左前降支后,其血液供应区心脏表面颜色由红润转变为青紫、灰白。手术前后均记录心电图,以术后 ST 段弓背向上抬高 0.2 mV 以上为结扎成功的标志。术后 24 h 存活 36 只按随机数字表法分为模型组、山茱萸总苷治疗组(总苷治疗组)和山茱萸多糖治疗组(多糖治疗组),每组 12 只。另 36 只随机分为假手术组(12 只)和山茱萸总苷预防组(总苷预防组,24 只),假手术组在冠状动脉左前降支只穿线不结扎;总苷预防组结扎冠状动脉左前降支,经造模后存活 15 只,灌胃给药过程死亡 3 只,即山茱萸总苷预

防组 12 只。

5 给药方法 参考文献^[14],按照 12 g/kg 山茱萸生药灌胃给药,相当于临床成人用量 20 倍。根据山茱萸生药提取率确定给予山茱萸总苷及山茱萸多糖的剂量。本研究山茱萸多糖提取率 16%,即用量为 $12 \times 16\% = 1.92 \text{ g/kg}$;山茱萸总苷提取率 4.9%,即用量为 $12 \times 4.9\% = 0.588 \text{ g/kg}$ 。根据大鼠的实际体重计算给予山茱萸总苷和山茱萸多糖的剂量。如 200 g 大鼠山茱萸多糖给药量 $1.92 \text{ g/kg} \times 0.2 \text{ kg} = 0.384 \text{ g}$,山茱萸总苷给药量 $0.588 \text{ g/kg} \times 0.2 \text{ kg} = 0.1176 \text{ g}$ 。大鼠灌胃量为 $10 \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})^{[12]}$,根据体重将各组所需药量及所需生理盐水量配制成溶液灌胃。假手术组和模型组术前、术后 7 天均生理盐水灌胃;总苷预防组术前 7 天山茱萸总苷灌胃,术后 7 天生理盐水灌胃;山茱萸总苷治疗组和多糖治疗组术前 7 天生理盐水灌胃,术后 7 天分别山茱萸总苷和山茱萸多糖灌胃。

6 检测指标及方法

6.1 超声心动图检查 于实验第 15 天时,每组取 6 只大鼠腹腔注射麻醉后进行超声心动图检查。探头频率为 15 MHz,取取胸骨旁左室长轴和乳头肌水平短轴切面。检测指标包括:室间隔收缩末厚度(interventricular septum systolic thickness, IVSs)、室间隔舒张末厚度(interventricular septal diastolic thickness, IVSd)、左室后壁收缩末厚度(left ventricular posterior wall systolic thickness, PWs)、左室后壁舒张末厚度(posterior wall of left ventricular end diastolic thickness, PWd)、左室收缩内径(systolic left ventricular diameter, LVDs)、左室舒张内径(left ventricular diastolic diameter, LVDd)、左室收缩末容积(left ventricular end systolic volume, LVESV)、左室舒张末容积(left ventricular end diastolic volume, LVEDV)、短轴缩短率(fractional shortening, FS)及射血分数(ejection fraction, EF)。

6.2 血流动力学检测 每组取另外 6 只大鼠,以 10%水合氯醛 35 mL/kg 腹腔注射麻醉大鼠,固定于鼠板上,右侧胸锁乳突肌附近找到颈动脉,行颈动脉插管;用压力定标器定标后,将三通管及微型导管与压力传感器及记录仪连接;多导生理记录仪先记录升主动脉压力曲线,稳定 10 min,将导管进入左心室记录左室压力曲线,并同步记录心率(heart rate, HR);应用多导生理记录仪专用软件测量心功能参数:主动脉收缩压(aortic systolic pressure, SBP),主动脉舒

张压(aortic diastolic pressure,DBP),左室收缩末压(left ventricular end systolic pressure,LVESP)、左室舒张末压(left ventricular end diastolic pressure,LVEDP)、左室内压最大上升速率(maximal rate of rise of left ventricular pressure,+dp/dt max)和下降速率(maximal rate of decrease of left ventricular pressure,-dp/dt-max),以反映左室收缩与舒张功能。

6.3 心肌组织 HE 染色 将血流动力学检测后大鼠(6 只)处死,开胸取出心脏,沿左室横径最大的部位切取 1~2 片,固定于 4%多聚甲醛溶液中 24 h,常规脱水、透明、浸蜡、包埋,沿心脏冠状面连续切片,厚约 5 μm 作 HE 染色。

6.4 心肌梗死面积 将超声心动图检查后的大鼠(6 只)采用 Masson 三色染色检测法检测心肌梗死面积。左室心肌组织石蜡切片厚 3~5 μm,脱蜡蒸馏水洗后进行 Masson 染色。每张切片选 5 个视野,采用 Image-Pro-Plus 6.0 显微镜微机图像分析系统(Olympus 公司)分析心梗面积。按以下公式计算心肌梗死面积:心肌梗死面积(Infarct size,IS)(%)=左室(心外膜瘢痕长度/心外膜总长度+心内瘢痕长度/心内膜总长度)×1/2×100%。

6.5 心肌细胞线粒体发生相关基因 PGC-1α、PGC-1β 和细胞核呼吸因子-1(NRF-1)基因表达 采用荧光实时定量 PCR 法检测法。(1)RNA 提取(Trizol 法):取 100 mg 组织,Trizol 法提取心肌总 RNA。紫外-可见光分光光度计测定A₂₆₀及A₂₈₀的吸光值,以两者的比值(A₂₆₀/A₂₈₀)确定提取 RNA 的浓度,所有的试验样品要求比值在 1.4~1.6 之间。(2)逆转录:1 μL Random Primer、2.5 μg RNA 和 1 μL 10 mmol/L dNTP mix,并用水补足至 13 μL;65 ℃孵育 5 min,然后冰浴至少 1 min;上述反应产物加入 4 μL 5×Frist-strand Buffer、1 μL 0.1 MDTT、1 μL RNase out™ Recombinate RNase Inhibitor,离心至 5 000 g,即停止以混匀反应体系;退火,25 ℃,5 min,延伸 50 ℃,30~60 min,逆转录酶失活 70 ℃,15 min。cDNA 反转完毕。(3)荧光定量 PCR:荧光定量 PCR 反应体系(共 20 μL):10 μL SYBY、0.4 μL 引物 mix、2 μL 模板、7.6 μL DEPC H₂O。按照表 1 所示反应条件进行扩增,同时每次试验每个样本均同时检测 beta-actin mRNA 表达作为内参照;每次实验均独立重复 3~5 次。反应条件如下:预变性 95 ℃ 20 s,变性 95 ℃ 10 s,退火 60 ℃ 20~60 s

(按照扩增引物长度确定),孵育 70 ℃ 1 s×38~45 个循环(视扩增基因的表达式决定),65~95 ℃ 做熔解曲线,每 0.5 ℃ 读 1 次板,时间为 1 s。最后结果为达到预设的 Ct 值所经历的拷贝数,Ct 值随模板浓度增大而减小,故荧光实时定量 PCR 结果显示的 Ct 值与 mRNA 表达水平成反比。统计结果:ΔCt = Ct_{样本待测基因} - Ct_{样本β-action}。

表 1 目的基因引物序列表

基因	引物序列	产物长度 (bp)
PGC-1α	上游:5'-ATG CAC TGA CAG ATG GAG ACG TGAC -3'	220
	下游:5'-GTT CCT ATA CCA TAG TCA TGC ATTG -3'	
PGC-1β	上游:5'-ACTA TGA TCC CAC GTC TGA AGA GTC -3'	152
	下游:5'-CCT TGT CTG AGG TAT TGA GGT ATTC -3	
NRF-1	上游:5'-TTA CTC TGC TGT GGC TGA TGG -3'	92
	下游:5'-CCT CTG ATG CTT GCG TCG TCT- 3'	
GSK-3β	上游:5'-CCT TAA CCT GGT GCT GGA CT -3'	300
	下游:5'-AGC TCT GGT GCC CTG TAG TA -3'	

6.6 大鼠心肌组织 GSK-3β 基因表达 采用荧光实时定量 PCR 法检测。引物序列见表 1。

7 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间的比较采用单因素方差分析,组间比较 LSD-t 检验,不符合方差分析的采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠超声心动图结果比较(表 2) 与假手术组比较,模型组 EF、FS 降低($P < 0.05$),LVDs、LVDd、LVESV、LVEDV 升高($P < 0.05$);与模型组比较,总苷预防组、总苷治疗组及多糖治疗组 LVDs、LVDd 及 LVEDV 降低,EF、FS 升高,总苷预防组 LVESV 降低(均 $P < 0.05$);与总苷预防组比较,总苷治疗组 FS 升高,多糖治疗组 EF 降低(均 $P < 0.05$);与总苷治疗组比较,多糖治疗组 EF、FS 均降低($P < 0.05$)。

2 各组大鼠血流动力学比较(表 3) 与假手术组比较,模型组 HR、LVESP、SBP、+dp/dt max 及 -dp/dt max 降低($P < 0.05$),LVEDP 和 DBP 升高(均 $P < 0.05$);与模型组比较,总苷预防组、总苷治疗组和多糖治疗组 LVESP、SBP 及-dp/dt max 升高($P < 0.05$),LVEDP 和 DBP 下降($P < 0.05$);与总苷预防组比较,总苷治疗组 SBP 升高($P < 0.05$);与总苷治疗组比较,山茱萸多糖治疗组 LVESP 和 SBP 下降($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠超声心动图结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IVSs (mm)	IVSd (mm)	PWs (mm)	PWd (mm)	LVDs (mm)
假手术	6	2.56 ± 0.38	1.48 ± 0.15	2.73 ± 0.25	1.42 ± 0.15	3.02 ± 0.27
模型	6	2.83 ± 0.20	1.45 ± 0.12	2.76 ± 0.12	1.40 ± 0.15	5.66 ± 0.27*
总苷预防	6	2.52 ± 0.26	1.45 ± 0.07	2.72 ± 0.19	1.39 ± 0.10	4.74 ± 0.30 [△]
总苷治疗	6	2.77 ± 0.17	1.50 ± 0.09	2.69 ± 0.16	1.46 ± 0.11	5.00 ± 0.17 [△]
多糖治疗	6	2.64 ± 0.26	1.39 ± 0.12	2.70 ± 0.18	1.40 ± 0.09	4.94 ± 0.16 [△]

组别	n	LVDd (mm)	LVESV (mm)	LVEDV (mm)	FS (%)	EF (%)
假手术	6	5.55 ± 0.17	0.05 ± 0.17	0.30 ± 0.04	58.80 ± 1.41	91.88 ± 1.02
模型	6	6.74 ± 0.20*	0.19 ± 0.03*	0.60 ± 0.04*	21.33 ± 1.93*	63.42 ± 4.40*
总苷预防	6	5.97 ± 0.11 [△]	0.14 ± 0.03 [△]	0.46 ± 0.05 [△]	41.48 ± 1.40 [△]	84.75 ± 4.78 [△]
总苷治疗	6	5.91 ± 0.18 [△]	0.16 ± 0.03	0.48 ± 0.05 [△]	52.72 ± 3.08 ^{△▲}	82.23 ± 3.86 [△]
多糖治疗	6	6.04 ± 0.14 [△]	0.17 ± 0.05	0.45 ± 0.03 [△]	42.68 ± 3.30 ^{△○}	73.97 ± 3.45 ^{△▲○}

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$;与总苷预防组比较,[▲] $P < 0.05$;与总苷治疗组比较,[○] $P < 0.05$

表 3 各组大鼠血流动力学比较 ($\bar{x} \pm s$)

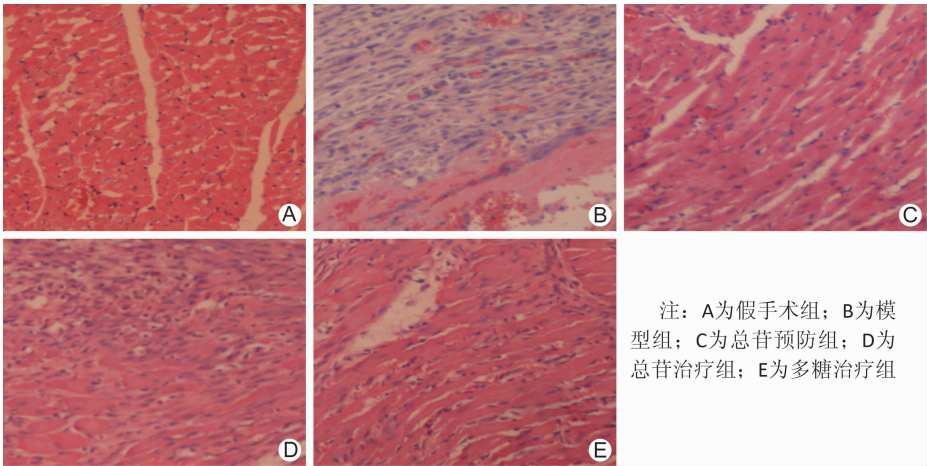
组别	n	HR (bpm)	LVESP	LVEDP	SBP	DBP	+ dp/dt max	- dp/dt max
			(mmHg)				(mmHg/ms)	
假手术	6	524.00 ± 16.00	124.51 ± 4.66	2.98 ± 0.48	113.73 ± 3.56	67.89 ± 5.20	6.39 ± 1.06	7.26 ± 0.27
模型	6	481.00 ± 22.00*	80.94 ± 6.51*	23.50 ± 3.29*	79.68 ± 5.28*	93.19 ± 3.62*	4.53 ± 0.33*	4.59 ± 0.22*
总苷预防	6	467.00 ± 30.00	97.10 ± 5.35 [△]	14.95 ± 1.83 [△]	92.75 ± 3.35 [△]	70.92 ± 3.77 [△]	4.39 ± 0.20	5.58 ± 0.50 [△]
总苷治疗	6	456.00 ± 19.00	99.47 ± 3.59 [△]	15.63 ± 1.76 [△]	98.01 ± 3.47 ^{△▲}	70.34 ± 2.95 [△]	4.77 ± 0.25	5.30 ± 0.17 [△]
多糖治疗	6	461.00 ± 16.00	92.85 ± 1.56 ^{△○}	16.03 ± 2.08 [△]	89.83 ± 1.63 ^{△○}	68.22 ± 2.22 [△]	4.32 ± 0.26	5.45 ± 0.16 [△]

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$;与总苷预防组比较,[▲] $P < 0.05$;与总苷治疗组比较,[○] $P < 0.05$

3 各组大鼠心肌组织病理结果比较(图 1) 正常心肌组织细胞核呈蓝色,正心肌肌束饱满、细胞浆呈鲜红色,结缔组织、红细胞和嗜伊红颗粒呈不同程度的红色,钙盐和各种微生物呈蓝色或紫蓝色。模型组梗死区心肌组织着色淡,心肌细胞数减少,心肌纤维肌浆溶解、横纹消失,成纤维细胞增殖,胶原蛋白沉积,细胞核固缩或碎裂,梗死灶内及周围有大量白细胞浸润。总苷预防组、总苷治疗组和多糖治疗组损伤程度减轻,心肌细胞数目增加,心肌组织成纤维细胞轻度增生、白

细胞减少。

4 各组大鼠心肌梗死面积比较(表 4) 与假手术组比较,模型组全心重量、全心比体重、左室重量和梗死面积升高($P < 0.05$);与模型组比较,总苷预防组、总苷治疗组和多糖治疗组左室重量、梗死面积下降,总苷治疗组和多糖治疗组全心重量下降,多糖治疗组全心体重比下降(均 $P < 0.05$);与总苷预防组比较,总苷治疗组和多糖治疗组全心重量均下降($P < 0.05$)。



注: A为假手术组; B为模型组; C为总苷预防组; D为总苷治疗组; E为多糖治疗组

图 1 各组大鼠心肌组织病理图 (HE, ×10)

表 4 各组大鼠心肌梗死面积比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	术前体重(g)	术后体重(g)	全心重量(mg)	全心体重比	左室重量(mg)	梗死面积(%)
假手术	207.50 ± 7.23(12)	234.17 ± 5.57(12)	678.00 ± 12.12(12)	2.90 ± 0.03(12)	537.17 ± 9.89(12)	1.20 ± 1.02(6)
模型	204.50 ± 7.62(12)	232.00 ± 7.15(12)	703.20 ± 11.60(12) *	3.03 ± 0.07(12) *	600.30 ± 19.67(12) *	34.50 ± 5.06(6) *
总苷预防	205.42 ± 7.82(12)	232.92 ± 6.56(12)	696.67 ± 7.68(12)	2.99 ± 0.06(12)	565.67 ± 10.23(12) Δ	28.72 ± 2.36(6) Δ
总苷治疗	203.75 ± 7.42(12)	230.00 ± 6.74(12)	686.42 ± 3.90(12) Δ▲	2.99 ± 0.07(12)	565.00 ± 9.40(12) Δ	26.58 ± 1.78(6) Δ
多糖治疗	204.17 ± 7.64(12)	231.67 ± 7.78(12)	688.14 ± 6.43(12) Δ▲	2.97 ± 0.07(12) Δ	572.75 ± 8.09(12) Δ	26.18 ± 1.38(6) Δ

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,Δ $P < 0.05$;与总苷预防组比较,▲ $P < 0.05$;()内数据为动物数

5 各组大鼠心肌细胞线粒体 NRF-1、PGC-1α 及 PGC-1β Ct 值比较(表 5) 与假手术组比较,模型组 PGC-1α、PGC-1β 及 NRF-1 Ct 值均升高($P < 0.05$)。与模型组比较,总苷预防组、总苷治疗组和多糖治疗组 NRF-1 Ct 值下降($P < 0.05$),总苷预防组和多糖治疗组 PGC-1α、PGC-1β Ct 值下降($P < 0.05$);与总苷预防组比较,总苷治疗组和多糖治疗组 PGC-1α、PGC-1β 及 NRF-1 Ct 值升高($P < 0.05$)。

表 5 各组大鼠心肌细胞线粒体 NRF-1、PGC-1α 及 PGC-1β Ct 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NRF-1	PGC-1α	PGC-1β
假手术	12	8.04 ± 0.47	6.45 ± 1.14	5.30 ± 0.99
模型	12	9.08 ± 0.67 *	9.15 ± 0.91 *	7.06 ± 0.61 *
总苷预防	12	6.13 ± 0.88 Δ	5.95 ± 0.91 Δ	4.26 ± 0.64 Δ
总苷治疗	12	7.31 ± 0.48 Δ▲	8.46 ± 1.09 ▲	6.67 ± 0.80 ▲
多糖治疗	12	7.56 ± 0.44 Δ▲	7.74 ± 1.17 Δ▲	6.19 ± 0.61 Δ▲

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,Δ $P < 0.05$;与总苷预防组比较,▲ $P < 0.05$

6 各组大鼠心肌组织 GSK-3β Ct 值比较(表 6) 与假手术组比较,模型组 GSK-3β Ct 值降低($P < 0.05$);与模型组比较,多糖治疗组 GSK-3β Ct 值升高($P < 0.05$),多糖治疗组 GSK-3β Ct 值高于总苷预防组和总苷治疗组($P < 0.05$)。

表 6 各组大鼠心肌组织 GSK-3β Ct 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	GSK-3β
假手术	12	6.90 ± 0.83
模型	12	4.69 ± 0.72 *
总苷预防	12	4.46 ± 0.88
总苷治疗	12	5.08 ± 0.72
多糖治疗	12	5.98 ± 0.42 Δ▲○

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,Δ $P < 0.05$;与总苷预防组比较,▲ $P < 0.05$;与总苷治疗组比较,○ $P < 0.05$

讨 论

山茱萸(*Cornus Officinalis* Sieb. et Zucc.)始载于《神农本草经》,具有补益肝肾、收敛固涩的作用,为传统强阴益精、秘精固气药。张锡纯擅用山茱萸救脱止汗,其急证用山茱萸最具特色。历来医家均不以之

救脱,独张氏称:“救脱之药,当以萸肉为第一”。今人李可老中医亦师其法,善用大剂山萸肉温肝肾救虚脱,创下了不少急证验案。

现代药理学研究逐渐证实,山茱萸的化学成分主要包括挥发性成分、苷类(山茱萸苷、马前苷、莫诺苷、狼牙菜苷等)、多糖类、鞣质类(没食子酸鞣质、鞣花鞣质等)、小分子化合物和有机酸类(熊果酸、没食子酸、齐墩果酸、酒石酸、苹果酸等)及其他化学成分(如维生素、氨基酸及矿物元素等)^[15,16]。近年来实验表明山茱萸提取成分具有抗肿瘤^[17,18]、降血糖^[19]、调脂^[20]、预防和治疗神经退行性病变^[21]、治疗骨质疏松^[22]、抗衰老^[23]、改善性功能^[24]等作用。山萸多糖具有抗氧化性、清除自由基^[25-28]、对免疫低下小鼠的非特异性免疫、体液免疫以及细胞免疫功能均有明显促进作用^[25,29,30],而山茱萸苷类则具有较好的抗炎作用^[1,31,32]。在心血管疾病中,山茱萸的有效成分具有减轻心肌缺血再灌注损伤^[1]、降低血压、逆转心肌肥厚、改善心功能^[2]、保护心脏和大血管、调节血管功能、稳定血管内环境^[3]。本研究表明山茱萸总苷和山茱萸多糖可以改善大鼠心功能、改善心肌重构、预防心肌肥厚、降低心肌梗死面积。

在心肌细胞中线粒体的质量占心肌总质量的 1/3。线粒体在组织内的含量并不是一成不变的,在一定的条件下,它可以被合成,以适应机体的需要,理想状态下,线粒体的生物发生可以通过提供足够数量的正常功能的线粒体代替受损的线粒体,满足心肌能量需要^[33]。线粒体的生物发生能够使心脏针对生物力学和氧化应激的变化产生适应性重构,以此保护心肌细胞能量代谢^[34]。辅助转录因子 PGC-1 家族,尤其是 PGC-1α 与 PGC-1β,是线粒体生物合成以及能量代谢的重要调节因子^[35-38]。NRF-1 能调节线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFA) 基因并对线粒体的功能至关重要。NRF-1 能够开启线粒体线粒体 TFA 基因,mtTFA 基因又能活化产生线粒体的基因。这 3 个基因都在心肌细胞线粒体的生物发生中起关键作用^[36-38]。

线粒体的生物发生异常会导致心脏功能障碍, Sun L 等^[39]研究表明乙酰胆碱激活 PGC-1 α 及其下游目标包括核呼吸因子和线粒体转录因子 a 的转录和蛋白表达。乙酰胆碱能够抑制缺血再灌注损伤引起的 H9c2 心肌细胞线粒体功能异常和促进线粒体生物发生, 乙酰胆碱激活 PGC-1 α 及其下游目标包括核呼吸因子和线粒体转录因子 a 的转录和蛋白表达, 有心肌保护作用。Christopher J 等^[40]研究表明, 线粒体的生物发生能够使心脏更能忍受缺血带来的损伤。其原理是线粒体的生物发生能够改善心肌细胞能量代谢以及稳定活性氧抑制心肌细胞凋亡。Liu J 等^[41]研究表明心肌细胞线粒体发生减弱、氧化应激增强会导致高脂低碳水化合物饮食大鼠心肌缺血损伤加重、再灌注后功能恢复障碍。Yan W 等^[42]研究表明低脂联素水平使 AMPK-PGC-1 α 信号通路受损, 导致线粒体发生功能失调, 这可能是糖尿病患者的的心脏更容易遭受心肌梗死损伤的原因。另外, 心力衰竭可能与线粒体发生障碍有关, 促进线粒体的生物发生被认为是对心力衰竭治疗有益的^[43,44]。因此线粒体发生异常会加重心肌梗死的损伤并最终导致心力衰竭。有研究表明 GSK-3 β 与心肌保护关系密切, GSK-3 β 可能与抑制细胞凋亡^[4,6,8], 保护心肌细胞线粒体有关, 对线粒体发生的影响研究较少。

进一步而言, 线粒体的生物发生是否成为提高心肌耐缺氧的治疗靶点; 山茱萸总苷和山茱萸多糖治疗是否通过促进线粒体生物发生而改善心肌缺血的损伤; 预防治疗如何减少心肌梗死后心肌损伤的问题, 目前此类的直接研究还非常少。本课题前期的研究^[45-48]已经证实, 山茱萸有效成分对于 AMI 模型的大鼠的心肌具有保护作用, 能够改善大鼠的心功能, 缩小心肌梗死面积, 有可能是通过抗氧化损伤、抗炎、抗凋亡的作用来实现的, 在此研究的基础上, 基于线粒体在细胞中的重要作用, 本研究从线粒体保护的角度来探讨山茱萸有效成分心肌保护作用的机制, 研究发现, AMI 大鼠心肌线粒体发生相关基因 PGC-1 α 、PGC-1 β 、NFR-1 mRNA 表达减少, 提示心肌缺血损害线粒体发生, 导致心肌能量代谢障碍, 这更进一步加重了缺血的损伤。山茱萸总苷、山茱萸多糖的预防和治疗给药都可以促进线粒体生物发生相关基因 PGC-1 α 、PGC-1 β 和 NFR-1 mRNA 表达, 山茱萸总苷预防组比山茱萸总苷和多糖治疗组有更明显的促进线粒体发生相关基因表达的作用。说明给予山茱萸总苷和多糖治疗后, 心肌细胞发生了有益的变化, 表现为线粒体数量增多以改善心肌细胞的能量代

谢, 适应心肌梗死后的缺血及血流动力学变化, 为中医预防给药治疗机制提供新思路。但是本研究也表明仅预防给药能减少急性心肌损伤但不能完全逆转。同时, 本研究表明山茱萸总苷和多糖治疗可以降低 GSK-3 β mRNA 表达, 减少心肌损伤。山茱萸的线粒体保护作用有可能是通过 GSK-3 β 信号通路实现的, 这在以往的研究中还未被发现。

(致谢: 感谢广州中医药大学附属第一医院王海斌教授和广州中医药大学中药研究所孙冬梅教授为本研究提供的帮助)

参 考 文 献

- [1] Jiang WL, Zhang SM, Tang XX, et al. Protective roles of cornuside in acute myocardial ischemia and reperfusion injury in rats[J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(4): 266-271.
- [2] Fang WJ, Feng JF, Lu XM, et al. Effect of *Cornus Officinalis* fruit core extract on the cardiac hypertrophy induced by two kidney two clip[J]. *J Chin Med Mater*, 2012, 35(12): 1985-1989.
- [3] 吴佳蕾, 许慧琴, 沈存思, 等. 山茱萸配伍组分对糖尿病大鼠心血管病变的保护作用[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(3): 382-386.
- [4] Song ZF. Poly (ADP-ribose) polymerase contributes myocardial ischemia-reperfusion of rats by regulating Akt signaling pathway[J]. *Chin J Cardiol*, 2013, 41(2): 156-160.
- [5] Xu Z, Lee S, Han J. Dual role of cyclic GMP in cardiac cell survival[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(8): 1577-1584.
- [6] Dong M, Hu N, Hua Y, et al. Chronic Akt activation attenuated lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction via Akt/GSK3 β -dependent inhibition of apoptosis and ER stress[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(6): 848-863.
- [7] Choi SE, Jang HJ, Kang Y, et al. Atherosclerosis induced by a high-fat diet is alleviated by lithium chloride via reduction of VCAM expression in ApoE-deficient mice [J]. *Vascul Pharmacol*, 2010, 53(5-6): 264-272.
- [8] van den Akker F, Deddens JC. Cardiac stem cell therapy to modulate inflammation upon myocardial infarction [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(2): 2449-2458.
- [9] Wu Y, Yin X, Wijaya C, et al. Acute myocardial infarction in rats[J]. *J Vis Exp*, 2011, 48: 2464.
- [10] 吴红, 梁恒, 刘永红, 等. 山茱萸总皂苷的提取分离与含量测定[J]. *第四军医大学学报*, 2003, 24(5): 430-431.
- [11] 张彩莹, 张良, 惠丰立. 山茱萸多糖的提取分离与含量

- 测定[J]. 时珍国医药, 2007, 18(2): 313-314.
- [12] 王小庆, 胡承恒, 伍贵富, 等. 降低大鼠心肌梗死模型死亡率的方法[J]. 岭南心血管病杂志, 2007, 13(2): 141-144.
- [13] 雷娟, 伍卫, 薛卢能, 等. 大鼠急性心肌梗死动物模型的建立和评估[J]. 中国实用医药, 2009, 4(2): 1-3.
- [14] 李仪奎主编. 中药药理实验方法学[M]. 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 38-39, 51.
- [15] 张月娥, 刘鄂湖, 李会军, 等. 山茱萸的化学成分[J]. 中国天然药物, 2009, 5(7-5): 365-367.
- [16] 杨学东, 丁小军. 山茱萸属植物化学成分和药理活性研究进展[J]. 时珍国医药, 2007, 18(9): 2284-2286.
- [17] Liao CL, Lin JH, Lien JC, et al. The crude extract of *Fructus Corni* inhibits the migration and invasion of U-2 OS human osteosarcoma cells through the inhibition of matrix metalloproteinase-2/9 by MAPK signaling [J]. Environ Toxicol, 2015, 30(1): 53-63.
- [18] Liao CL, Hsu SC, Yu CC, et al. The crude extract of *Fructus Corni* induces apoptotic cell death through reactive oxygen species-modulated pathways in U-2 OS human osteosarcoma cells [J]. Environ Toxicol, 2014, 29(9): 1020-1031.
- [19] Park CH, Noh JS, Tanaka T, et al. The effects of *Fructus Corni* extract and its fractions against α -glucosidase inhibitory activities *in vitro* and sucrose tolerance in normal rats [J]. Am J Chin Med, 2011, 39(2): 367-380.
- [20] Hwang JH, Kim JD. Inhibitory effects of *Fructus Corni* extract on angiogenesis and adipogenesis [J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2011, 15(1): 43-51.
- [21] Hong SY, Jeong WS, Jun M. Protective effects of the key compounds isolated from *Fructus Corni* against β -amyloid-induced neurotoxicity in PC12 cells [J]. Molecules, 2012, 17(9): 10831-10845.
- [22] Sun H, Li L, Zhang A, et al. Protective effects of sweroside on human MG-63 cells and rat osteoblasts [J]. Fitoterapia, 2013, 84: 174-179.
- [23] 周少丞, 韩晓明, 王力冬, 等. D-半乳糖致衰老模型大鼠脑组织 Ach 活性 NGF 表达变化及山茱萸多糖的干预作用[J]. 中国老年学杂志, 2011(24): 4841-4842.
- [24] 李育, 江沛, 江励华, 等. 山茱萸多糖对自然衰老雌性小鼠卵巢功能的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2012, 8(1): 57-60.
- [25] Wu YF, Wang XS, Shen B, et al. Extraction, structure and bioactivities of the polysaccharides from *Fructus Corni* [J]. Recent Pat Food Nutr Agric, 2013, 5(1): 57-61.
- [26] Celep E, Aydın A, Kırmızıbekmez H, et al. Appraisal of *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity potential of cornelian cherry leaves [J]. Food Chem Toxicol, 2013, 62: 448-455.
- [27] 史娟. 山茱萸多糖的提取及清除自由基作用[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(12): 289-291.
- [28] Jiang ZQ, Li Y, Jiang LH. Hepatoprotective effects of extracts from processed *Fructus Corni* against D-galactose-induced liver injury in mice [J]. Chin J Med Mater, 2013, 36(1): 85-89.
- [29] 杜伟锋, 王明艳, 蔡宝昌. 山茱萸炮制前后多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 中药材, 2008, 31(5): 715-717.
- [30] 邹品文, 赵春景, 李攀, 等. 山茱萸多糖的抗肿瘤作用及其免疫机制[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(1): 20-22.
- [31] Yamabe N, Noh JS, Park CH, et al. Evaluation of loganin, iridoid glycoside from *Fructus Corni*, on hepatic and renal glucolipotoxicity and inflammation in type 2 diabetic db/db mice [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 648(1-3): 179-187.
- [32] Yokozawa T, Kang KS, Park CH, et al. Bioactive constituents of *Fructus Corni*: The therapeutic use of morroniside, loganin, and 7-O-galloyl-D-sedoheptulose as renoprotective agents in type 2 diabetes [J]. Drug Discov Ther, 2010, 4(4): 223-234.
- [33] Carreira RS, Lee P, Gottlieb RA. Mitochondrial therapeutics for cardioprotection [J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(20): 2017-2035.
- [34] Xiao J, Chen L, Wang X, et al. eNOS correlates with mitochondrial biogenesis in hearts of congenital heart disease with cyanosis [J]. Arq Bras Cardiol, 2012, 99(3): 780-788.
- [35] Leone TC, Kelly DP. Transcriptional control of cardiac fuel metabolism and mitochondrial function [J]. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 2011, 76: 175-182.
- [36] Scarpulla RC. Metabolic control of mitochondrial biogenesis through the PGC-1 family regulatory network [J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1813(7): 1269-1278.
- [37] Scarpulla RC. Nuclear control of respiratory chain expression by nuclear respiratory factors and PGC-1-related coactivator [J]. Ann N Y Acad Sci, 2008, 1147: 321-334.
- [38] Gaziev AI, Shaikhaev GO. Lesions of the mitochondrial genome and ways of its preservation [J]. Genetika, 2008, 44(4): 437-455.

- [39] Sun L, Zhao M, Yu XJ, et al. Cardioprotection by acetylcholine: a novel mechanism via mitochondrial biogenesis and function involving the PGC-1 α pathway [J]. J Cell Physiol, 2013, 228 (6): 1238 – 1248.
- [40] Christopher J, McLeod, Pagel I, et al. The mitochondria biogenesis regulatory program in cardiac adaptation to ischemia – a putative target for therapeutic intervention [J]. Trends Cardiovasc Med, 2005, 15(3): 118 – 123.
- [41] Liu J, Lloyd SG. High-fat, low-carbohydrate diet alters myocardial oxidative stress and impairs recovery of cardiac function after ischemia and reperfusion in obese rats [J]. Nutr Res, 2013, 33 (4): 311 – 321.
- [42] Yan W, Zhang H, Liu P, et al. Impaired mitochondrial biogenesis due to dysfunctional adiponectin-AMPK-PGC-1 α signaling contributing to increased vulnerability in diabetic heart [J]. Basic Res Cardiol, 2013, 108(3): 329.
- [43] Bayeva M, Gheorghiade M, Ardehali H. Mitochondria as a therapeutic target in heart failure [J]. J Am Coll Cardiol, 2013, 61(6): 599 – 610.
- [44] Jirkovsky E, Popelová O, Kriváková-Stanková P, et al. Chronic anthracycline cardiotoxicity: molecular and functional analysis with focus on nuclear factor erythroid 2-related factor 2 and mitochondrial biogenesis pathways [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2012, 343(2): 468 – 478.
- [45] 匡微. 山茱萸总苷及山茱萸多糖对实验性心肌梗死大鼠的保护作用及机制探析 [D]. 广州: 中山大学附属孙逸仙纪念医院, 2009.
- [46] 陈克芳, 李建军, 潘爱珍, 等. 山茱萸总苷干预急性缺氧乳鼠心肌细胞凋亡的研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2012, 10(12): 1488 – 1489.
- [47] 侯祥平, 李建军, 潘爱珍, 等. 山茱萸总苷对缺氧/复氧损伤乳鼠心肌细胞钙超载的影响 [J]. 中国中医药科技, 2014, 21(6): 644 – 646.
- [48] 陈克芳, 潘爱珍, 侯祥平. 山茱萸总苷对急性缺氧乳鼠心肌细胞凋亡通路的影响 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(6): 54 – 56.

(收稿: 2013 – 10 – 31 修回: 2014 – 12 – 24)

第二次全国中西医结合检验医学学术会议在济南召开

2015 年 7 月 2—4 日, 第二次全国中西医结合检验医学学术会议在泉城济南召开。中国中医科学院首席研究员、中国工程院院士李连达教授, 中国中西医结合学会秘书长吕文良教授, 中国协和医科大学内科学系主任、中国医师协会风湿病分会会长张奉春教授, 复旦大学附属中山医院检验科主任、中华医学会检验分会主任委员潘柏申教授等到会祝贺。本次大会共设 5 个分会场, 举办 10 场专题活动(肿瘤、血液、肝病、中西医结合、免疫、感染、心血管、内分泌及代谢疾病、新技术、质量控制专题)。共邀请 40 余位专家和 1 000 余人代表参加会议。

本次大会共有 10 位专家在大会上作学术报告。李连达院士以“微观诊断与宏观辨证”、潘柏申教授以“高敏感方法检测心肌钙蛋白临床应用中国专家共识”、张奉春教授以“检验诊断技术对于风湿病学发展的重要性”、来自加州大学圣地亚哥分校的冯根生教授以“癌症研究领域的困惑与方向”、府伟灵教授以“第六次技术革命给检验医学带来的机遇与挑战”等分别作了主题报告。最后, 陈凯先院士以“中西结合在当代的地位和作用”为题, 阐述了中西医结合的必要性、必然性。指出大会的任务是: 大力推动中、西医学的独立发展; 努力推动中西医学的融合和汇聚。同时在本次会议征文活动中获得前三等奖的论文于大会进行了优秀论文汇报。本次会议学术气氛十分浓厚, 代表们既交流了经验, 又增进了友谊, 达到了预期效果。

会议期间, 召开了全国中西医结合学会检验专业委员会增补委员及青年委员会议, 增补委员 19 人, 常委 7 人; 增补青年委员 16 人, 青年副主任委员 1 人。同时召开了全国中西医结合学会检验专业委员会学术委员会成立大会, 检验专委会共成立了 11 个学术委员会。

(中国中西医结合学会检验医学专业委员会秘书组供稿)