

重组人促红细胞生成素对心肌梗死后大鼠心功能及梗死面积的影响

陈晓光, 张新金, 李建美, 李先花

(昆明医科大学第四附属医院心内科, 云南 昆明 650021)

[摘要] **目的** 应用大鼠在体心肌梗死后心室重构模型, 探讨不同时间段重组人促红细胞生成素 (recombinant human erythropoietin, rHu-EPO) 对心肌梗死大鼠血流动力学、心功能及左室梗死面积的影响. 探讨 EPO 抑制心肌梗死后心脏重构的给药时机和方案, 为临床应用提供实验依据. **方法** 选取健康 SD 大鼠 60 只, 随机分为假手术组、单纯心肌梗死后心脏重构组、不同药物干预组 (rHu-EPO 干预组、SB203580 组、rHu-EPO+SB203580 组) 各 5 只. 在冠状动脉前降支的上 1/3 点以上处穿线结扎, 制作心肌梗死模型, 喂养 4 周. 不同药物干预组在缺血开始前皮下注射药物, 以后每周 2 次. 分别于术后 24 h、2 周、4 周测定血流动力学参数, 记录左室收缩压 (LVSP)、左室舒张末压 (LVEDP)、左室内压最大上升速率 (+dp/dt) 和左室内压最大下降速率 (-dp/dt), 并记录同步心率 (HR). 4 周后处死动物收集心脏标本, 根据左右心室实际重量 (LVW、RVW), 计算左右心室相对重量 (LV/BW、RV/BW). TTC 及伊文氏蓝染色检测左室梗死面积、病理检测大体和镜下形态学改变. **结果** 术后 24 h: 与假手术组相比, 单纯心肌梗死后心脏重构组左室收缩压 (LVSP)、左室舒张末期压 (LVEDP) 和左室内压最大上升和下降速率 ($\pm dp/dt$) 明显异常, LVSP、 $\pm dp/dt$ 均显著降低, LVEDP 显著升高 ($P < 0.05$); 与单纯心肌梗死后心脏重构组相比, 不同药物干预组 (rHu-EPO 干预组、SB203580 组、rHu-EPO+SB203580 组) $\pm dp/dt$ 有明显改善 ($P < 0.05$). 术后 2 周: 与假手术组相比, 单纯心肌梗死后心脏重构组 LVSP、LVEDP 和 $\pm dp/dt$ 显著恶化 ($P < 0.05$); 与单纯心肌梗死后心脏重构组相比, 不同药物干预组 (rHu-EPO 干预组、SB203580 组、rHu-EPO+SB203580 组) $\pm dp/dt$ 有显著改善 ($P < 0.05$). 术后 4 周: 与假手术组相比, 单纯心肌梗死后心脏重构组 LVSP、LVEDP 和 $\pm dp/dt$ 显著恶化 ($P < 0.05$); 与单纯心肌梗死后心脏重构组相比, 不同药物干预组 (rHu-EPO 干预组、SB203580 组、rHu-EPO+SB203580 组) $\pm dp/dt$ 有显著改善 ($P < 0.05$). 与假手术组比较, 单纯心肌梗死后心脏重构组 LV/BW 均上升, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$). 与单纯心肌梗死后心脏重构组相比, 不同药物干预组 (rHu-EPO 干预组、SB203580 组、rHu-EPO+SB203580 组) LV/BW 均有所下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$). 与单纯心肌梗死后心脏重构组相比, 不同药物干预组 (rHu-EPO 干预组、SB203580 组、rHu-EPO+SB203580 组) 心脏梗死面积显著缩小 ($P < 0.05$). **结论** rH-EPO 可通过改善 AMI 后大鼠的左室收缩及舒张功能, 保护心功能. rH-EPO 可通过降低 AMI 后大鼠心室相对重量、缩小梗死面积、促进梗死交界区毛细血管新生, 达到抑制心室重构.

[关键词] 重组人促红细胞生成素; 心肌梗死; 血流动力学; 心室重量

[中图分类号] R542.2*2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2013) 08-0005-08

Effects of Recombinant Human Erythropoietin on the Cardiac Function and Infarct Size after Myocardial Infarction in Rats

CHEN Xiao-guang, ZHANG Xin-jin, LI Jian-mei, LI Xian-hua

(Dept. of Cardiology, The Fourth Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650021, China)

[Abstract] **Objective** Ventricular remodeling mode after myocardial infarction in rats was used to investigate the effects of recombinant human erythropoietin (rHu-EPO) on hemodynamic, ventricular function and infarct size of left ventricle in rats with myocardial infarction, so as to find out the optimum time and protocol of EPO treatment for ventricular remodeling after myocardial infarction and provide evidence for clinical application of EPO. **Methods** Sixty healthy male Sprague Dawley rats were divided randomly and equally into 5 groups: sham group, simple cardiac

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30960138)

[作者简介] 陈晓光 (1985~), 男, 傣族, 云南德宏州人, 硕士研究生, 住院医师, 主要从事心内科临床工作.

[通讯作者] 张新金. E-mail:zxjry2004@sina.com

remodeling after myocardial infarction group, the intervention groups of different drugs (rHu-EPO in the intervention group and SB203580 group, rHu-EPO + SB203580, group). Ligation was set at more than 1/3 points on the anterior descending coronary artery to make model of myocardial infarction in rats, and the rats were feeded for four weeks. Different drugs in the intervention groups were subcutaneously injected once before ischemia and twice a week after ischemia. Respectively, 24 hours, 2 weeks, and 4 weeks after ischemia, we detected the hemodynamic parameters, recorded the left ventricular systolic pressure (LVSP), left ventricular end diastolic pressure (LVEDP), maximal rate of left ventricular pressure (+ dp/dt) and left ventricular pressure decline rate (-dp/dt), and recorded the synchronization of heart rate (HR). The animals were sacrificed 4 weeks after ischemia, and the heart specimens were collected. The relative weight of left and right ventricle (LV/BW in the RV/BW) was calculated according to the left and right ventricular weight (LVW, RVW). TTC and Evans blue staining was used to detect left ventricular infarct size, and pathological examination was used to observe the gross and microscopic morphological change. **Results** 24 hours after operation: Compared with the sham group, in simply cardiac remodeling after myocardial infarction group, rats' left ventricular systolic pressure (LVSP), left ventricular end diastolic pressure (LVEDP) and left ventricular pressure maximum rise and fall rate (\pm dp/dt) was significantly abnormal, LVSP and \pm dp/dt were significantly reduced, the LVEDP was significantly increased ($P < 0.05$); compared with simply cardiac remodeling after myocardial infarction group, in the intervention groups (rHu-EPO in the intervention group, SB203580 group, rHu-the EPO + SB203580 group) rats' \pm the dp / dt improved significantly ($P < 0.05$). After 2 weeks: compared with the sham group, in simple cardiac remodeling after myocardial infarction group rats' LVSP and LVEDP and \pm dp/dt significant deterioration ($P < 0.05$); compared with simply cardiac remodeling after myocardial infarction group, in the intervention group (rHu-EPO in the intervention group, SB203580 group, rHu-the EPO + SB203580 group) rats' \pm the dp / dt was significantly improved ($P < 0.05$). After 4 weeks: compared with the sham group, in simple cardiac remodeling after myocardial infarction group rats' LVSP and LVEDP and \pm dp/dt significant deterioration ($P < 0.05$); compared with simply cardiac remodeling after myocardial infarction group, in the intervention groups (rHu-EPO in the intervention group, SB203580 group, rHu-the EPO + SB203580 group) rats' \pm the dp/dt was significantly improved ($P < 0.05$). Compared with the sham group, in simply cardiac remodeling after myocardial infarction group rats' LV/BW increased, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Compared with simply cardiac remodeling after myocardial infarction group, in the intervention group (rHu-EPO in the intervention group and SB203580 group, rHu-the EPO + SB203580 group) rats' LV / BW decreased, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Compared with simply after myocardial infarction cardiac remodeling group, in the intervention groups (rHu-EPO in the intervention group and SB203580 group, rHu-EPO + SB203580 group) rats' cardiac infarct size was significantly reduced ($P < 0.05$). **Conclusions** rH-EPO can protect the heart function through improving the left ventricular systolic and diastolic function after AMI in rats. RH-EPO can suppress ventricular remodeling, through reducing ventricular relative weight and infarct size and promoting the renewal of capillary in infarction area after AMI in rats.

[**Key words**] Recombinant human erythropoietin; Myocardial infarction; Hemodynamics; Ventricular weight; Infarct size

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是心内科常见的急危重症。临床上多采用静脉溶栓、经皮冠状动脉介入治疗 (percutaneous coronary intervention, PCI) 及冠状动脉搭桥术 (coronary artery bypass graft, CABG) 开通梗死相关血管, 挽救濒死心肌, 缩小心肌梗死面积, 降低其早期病死率。而 AMI 后发生心肌纤维化、心室重构, 使心室大小、形态、组织结构及功能的改变是心肌梗死发展为心衰的重要病理生理过程^[1], 并贯穿于整个病程的始终, 成为影响 AMI 患者远期预后的主要因素。AMI 后数小时内, 机体为了维持正常的心脏生理功能及维持其他脏器的供血、供氧等需求, 即开始启动代偿机制, 同时也开启了左心室重构的过程^[2]。而 AMI 左心室重构的突出表现是左心室进行性扩张和变形 (球形变), 伴心

功能进行性降低, 最终导致心力衰竭的发生、进展、恶化和失代偿, 直至死亡。因此, AMI 后如何保护正常心肌细胞不被破坏, 抑制心肌细胞纤维化, 抑制心室重构, 维持正常心肌的收缩及舒张功能, 改善心功能显得至关重要。研究发现, 促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 在心脏^[3,4]、脑^[5,6]、肝脏^[7]、肾小管^[8,9]等多种器官与组织中发挥着重要的细胞保护作用。在缺血性心脏病的研究中, EPO 抑制心肌细胞凋亡、抗炎、抗氧化、缩小心肌梗死面积、改善心功能的作用在多种急性心肌缺血和 / 或再灌注动物模型中得到证实^[10], 重组人促红细胞生成素 (recombinant human erythropoietin, rHu-EPO) 的理化性质和生物学活性与内源性促红细胞生成素相同, 但使用 rHu-EPO 的剂量尚不一致, 其具体机制也不清楚。本实验

通过利用大鼠心肌梗死模型, 不同时间段给予 rHu-EPO 干预, 探讨对心肌梗死后大鼠心肌梗死面积、血流动力学的影响, 观察不同时间段的心功能变化, 探讨 EPO 抑制心肌梗死后心脏重构的给药时机和方案, 为临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康清洁级 SD 大鼠 60 只, 周龄 10~12 周, 体重 250~320 g, 由昆明医科大学实验动物中心提供。

1.2 主要试剂

重组人促红细胞生成素 (CHO) 注射液 (北京四环生物制药股份有限公司); 2,3,5- 氯化三苯基四氮唑 (TTC) 染色剂 (武汉博士德生物工程有限公司); 伊文氏蓝 (Evansblue) 染色剂 (武汉博士德生物工程有限公司); arris 苏木精染液 (上海碧云天生物技术公司); 伊红染液 (上海碧云天生物技术公司); 戊巴比妥钠 (美国 Sigma 公司); SB203580 试剂 (上海碧云天生物技术公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 大鼠心肌梗死模型的制备 硫酸阿托品注射液 (0.1 mg/kg) 联合戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉, 取仰卧位将大鼠固定于在手术板上。采用透射光插管法对大鼠进行气管插管, 连接小动物呼吸机。常规备皮、消毒皮肤, 开胸, 使用开胸器 (自制) 将胸骨撑开, 暴露心脏, 在冠状动脉前降支的上 1/3 点以上处以 5-0 滑线结扎左冠状动脉前降支 (LAD)。结扎成功后逐层关胸。伤口处用百多邦涂抹, 预防感染。大鼠自主呼吸恢复并平稳后, 撤掉呼吸机。统一给予标准饲料及饮水, 术后注意保暖并单笼喂养。

1.3.2 实验分组及给药方法 将实验的 60 只 SD 大鼠随机分为 5 组: (1) 假手术组 (Sham 组 12 只, $n = 12$), 在左前降支下穿线, 但不结扎; (2) 心肌梗死后不给药对照组 (AMI 组 12 只, $n = 12$); (3) rHu-EPO 干预组 (EPO 组 12 只, $n = 12$): rHu-EPO 1 500 U/kg, 皮下注射; (4) SB203580 组 (SB203580 组 12 只, $n = 12$): 0.2 mg/kg, 皮下注射; (5) SB203580+EPO 组 (SB+EPO 组 12 只, $n = 12$): 0.2 mg/kg+rHu-EPO 1 500 U/kg, 皮下注射。

不同药物干预组 (rHu-EPO 干预组、SB203580 组、rHu-EPO+SB203580 组) 于术前半

小时开始给予相关药物皮下注射, 以后每周给药 2 次, 共计给药 4 周。各组术后连续 3 d 肌肉注射青霉素 40 万 U。

1.3.3 血流动力学测定 分别于术后 24 h、2 周、4 周进行大鼠血流动力学测定。按前述方法麻醉动物, 分离右侧颈内动脉, 行右侧颈动脉插管, 采用多导生理记录仪记录心率 (HR)、颈动脉收缩压 (SAP)、颈动脉舒张压 (DAP)、左室收缩压 (LVSP)、左室舒张末期压 (LVEDP)、左室内压最大上升和下降速率 ($\pm dp/dt_{max}$)。

1.4 心脏大体病理检查及组织学检查

伊文氏蓝溶液注入下腔静脉, 液随血液循环进入心脏。处死大鼠, 开胸取出心脏, 进行心脏大体病理观察。分割左、右心室, 用电子天平分别称取左、右心室实际重量 (LVW、RVW), 并分别与大鼠体重相除, 计算左、右心室相对重量 (LV/BW、RV/BW)。TTC 染色检测梗死面积^[1]。HE 染色法进行组织学检查。

1.5 主要观察指标

各组分别于术后 24 h、2 周、4 周检测相关血流动力学指标, 包括心率 (HR)、颈动脉收缩压 (SAP)、颈动脉舒张压 (DAP)、左室收缩压 (LVSP)、左室舒张末期压 (LVEDP)、左室内压最大上升和下降速率 ($\pm dp/dt_{max}$)。4 周后处死大鼠, 取出大鼠心脏, 从心脏大体病理及组织学两方面进行梗死面积的评估。

1.6 统计学分析

采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间比较采用方差分析和 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠急性心肌梗死模型构建

戊巴比妥钠加阿托品麻醉效果好, 术中呼吸道分泌物少且无麻醉意外发生。设定呼吸频率 60 次/min, 吸与呼之比为 1:1.5, 呼吸机性能稳定。本实验使用动物 60 只, 动物成活数量为 40 只, 成活率为 67%。

2.2 血流动力学检测结果

2.2.1 心肌梗死后 24 h 各实验组血流动力学检测结果 与 Sham 组相比, AMI 组、EPO 组、SB203580 组及 EPO+SB203580 组的左室收缩与舒张功能指标显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 AMI 组相比, EPO 组、SB203580 组及

EPO+SB203580 组的 $+dp/dt_{max}$ 和 $-dp/dt_{max}$ 有显著改善, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 SB203580 组相比, EPO 组 $+dp/dt_{max}$ 和 $-dp/dt_{max}$ 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 各组 SAP、DAP、HR 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1.

2.2.2 心肌梗死后 2 周各实验组血流动力学检测结果 与 Sham 组相比, AMI 组、EPO 组、SB203580 组及 EPO+SB203580 组的左室收缩与舒张功能指标显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 AMI 组相比, EPO 组、SB203580 组及 EPO+SB203580 组的 $+dp/dt_{max}$ 和 $-dp/dt_{max}$ 有显著改善, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 SB203580 组相比, EPO 组 $+dp/dt_{max}$ 和 $-dp/dt_{max}$ 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 各组 SAP、DAP、HR 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2.

2.2.3 心肌梗死后 4 周各实验组血流动力学检测结果 与 Sham 组相比, AMI 组、EPO 组、SB203580 组及 EPO+SB203580 组的左室收缩与舒张功能指标显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 AMI 组相比, EPO 组、SB203580 组及 EPO+SB203580 组的 $+dp/dt_{max}$ 和 $-dp/dt_{max}$ 有显著改善, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 SB203580 组相比, EPO 组 $+dp/dt_{max}$ 和 $-dp/dt_{max}$ 无显著差异 ($P > 0.05$); 各组 SAP、DAP、HR 无显著差异 ($P > 0.05$), 见表 3.

2.3 对心室相对重量的影响

与 Sham 组相比, AMI 组 LV/BW 上升明显, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); EPO 组、SB203580 组及 EPO+SB203580 组 LV/BW 均有所上升, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 AMI 组比较, EPO 组、SB203580 组及 EPO+SB203580 组 LV/BW 均有所下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$). 与 SB203580 组比较, EPO 组的 LV/BW 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4、图 1.

2.4 心肌梗死面积检测结果

与 AMI 组相比较, EPO 组梗死面积显著缩小 (27.37 ± 5.62) % vs (35.79 ± 5.69 %), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); SB203580 组梗死面积显著缩小 (26.36 ± 5.17) % vs (35.79 ± 5.69 %), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); EPO+SB203580 组梗死面积显著缩小 (23.58 ± 5.34) % vs (35.79 ± 5.69 %), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); EPO 组、SB203580 组及 EPO+SB203580 组之间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 2. 与 Moon 等^[13]、Lipsic 等^[14]在兔的动物模型中的研究结果一致. 相似的结果在大鼠的动物模型中也得到证实^[15]. 而齐帅等^[16]在观察血 EPO 在 AMI 患者血清中的变化发现: 内源性 EPO 水平高者 AMI 面积减少, 且两者呈负相关. EPO 可通过活化 Akt/P13 激酶, 抑制心肌细胞凋亡, 从而缩小心梗后梗死面积^[17,18]. Bullard 等进一步研究大鼠在体和离体心脏缺血再灌注模型, 也得到相似的结果^[19].

2.5 心肌切片 HE 染色观察结果

Sham 组心脏结构清晰, 心肌纤维排列整齐. AMI 组梗死灶心肌纤维排列紊乱、疏松, 细胞核固缩、碎裂, 梗死区所在心室壁变薄. EPO 组梗死灶内肌纤维排列紊乱、疏松, 部分有新生毛细血管及少量炎症细胞增生. SB203580 组肌纤维排列紊乱、疏松, 部分有新生毛细血管及炎症细胞增生. EPO+SB203580 组梗死灶内肌纤维排列紊乱、疏松, 部分有新生毛细血管及少量炎症细胞增生. AMI 组、EPO 组、SB203580 组及 EPO+SB203580 组与 Sham 组比较有大量纤维组织增生和炎细胞浸润 (图 3~7). EPO 具有新生血管的作用已在大鼠模型和鸡绒毛膜尿囊膜实验中证实^[20,22]. 国外研究也显示体外培养的心内膜内皮细胞在添加了 rhEPO 组加速了毛细血管的自然生长^[23].

表 1 术后 24 h 各实验组血流动力学指标比较 ($\bar{x} \pm s$) (1)

Tab. 1 Comparison of hemodynamic indicators at 24h postoperation between the experiment groups ($\bar{x} \pm s$)

组 别	HR (bpm)	SAP(mmHg)	DAP(mmHg)	LVSP(mmHg)
Sham 组	398.24 ± 24.13	123.45 ± 21.34	87.46 ± 18.15	140.79 ± 14.58
AMI 组	386.34 ± 29.18	108.78 ± 13.20	79.28 ± 20.20	120.56 ± 12.74*
SB203580 组	389.50 ± 26.73	113.32 ± 10.13	78.37 ± 19.36	125.83 ± 11.52*
SB203580 组	377.35 ± 30.12	116.67 ± 16.35	76.65 ± 17.79	127.46 ± 10.98*
EPO+SB203580 组	382.34 ± 27.14	119.80 ± 19.23	81.46 ± 20.44	126.91 ± 12.85*

与 Sham 组相比, * $P < 0.05$.

表 1 术后 24 h 各实验组血流动力学指标比较 ($\bar{x} \pm s$) (2)Tab. 1 Comparison of hemodynamic indicators at 24h postoperation between the experiment groups ($\bar{x} \pm s$)

组 别	LVEDP(mmHg)	+dp/dtmax(mmHg/s)	-dp/dtmax(mmHg/s)
Sham 组	4.62 ± 2.54	7 396.57 ± 787.30	-5 369.35 ± 674.75
AMI 组	14.76 ± 4.32*	4 758.80 ± 739.46*	-3 340.89 ± 563.45*
SB203580 组	8.93 ± 3.86*	5 889.34 ± 576.23*#	-4 276.55 ± 523.64*#
SB203580 组	8.45 ± 4.05*	5 923.89 ± 656.74*#	-4 209.47 ± 579.78*#
EPO+SB203580 组	8.06 ± 3.65*	6 030.52 ± 689.23*#	-4 108.23 ± 584.92*#

与 Sham 组相比, * $P < 0.05$; 与 AMI 组相比, # $P < 0.05$.

表 2 术后 2 周各实验组血流动力学指标比较 ($\bar{x} \pm s$) (1)Tab. 2 Comparison of hemodynamic indicators 2 weeks postoperation between the experiment groups ($\bar{x} \pm s$)

组 别	HR (bpm)	SAP(mmHg)	DAP(mmHg)	LVSP(mmHg)
Sham 组	406.23 ± 26.15	119.58 ± 19.86	89.57 ± 19.52	138.84 ± 14.22
AMI 组	396.54 ± 28.44	106.53 ± 13.49	78.94 ± 21.34	122.59 ± 13.51*
EPO 组	385.43 ± 25.84	114.41 ± 10.89	80.67 ± 19.78	124.96 ± 11.78*
SB203580 组	383.56 ± 29.43	116.47 ± 16.79	79.43 ± 18.63	127.97 ± 11.34*
EPO+SB203580 组	379.35 ± 25.69	118.87 ± 18.74	83.59 ± 20.76	126.68 ± 12.45*

与 Sham 组相比, * $P < 0.05$.

表 2 术后 2 周各实验组血流动力学指标比较 ($\bar{x} \pm s$) (2)Tab. 2 Comparison of hemodynamic indicators 2 weeks postoperation between the experiment groups ($\bar{x} \pm s$)

组 别	LVEDP(mmHg)	+dp/dtmax(mmHg/s)	-dp/dtmax(mmHg/s)
Sham 组	4.69 ± 2.78	7 409.43 ± 765.54	-5 384.36 ± 646.63
AMI 组	20.76 ± 5.67*	3 867.27 ± 696.46*	-2 987.48 ± 576.58*
EPO 组	11.34 ± 4.45*	6 409.54 ± 586.03*#	-3 976.32 ± 546.67*#
SB203580 组	11.09 ± 4.79*	6 432.76 ± 596.65*#	-3 943.65 ± 558.84*#
EPO+SB203580 组	11.67 ± 3.95*	6 457.43 ± 667.46*#	-4 089.47 ± 589.83*#

与 Sham 组相比, * $P < 0.05$; 与 AMI 组相比, # $P < 0.05$.

表 3 术后 4 周各实验组血流动力学指标比较 ($\bar{x} \pm s$) (1)Tab. 3 Comparison of hemodynamic indicators 4 weeks postoperation between the experiment groups ($\bar{x} \pm s$)

组 别	HR (bpm)	SAP(mmHg)	DAP(mmHg)	LVSP(mmHg)
Sham 组	397.23 ± 22.34	116.43 ± 17.84	88.64 ± 19.34	139.65 ± 15.37
AMI 组	386.45 ± 23.24	104.67 ± 14.31	80.58 ± 19.63	124.53 ± 14.43*
EPO 组	379.78 ± 23.87	112.26 ± 11.68	83.78 ± 20.56	126.32 ± 12.83*
SB203580 组	389.45 ± 27.37	109.74 ± 15.58	82.39 ± 19.42	127.86 ± 11.89*
EPO+SB203580 组	383.62 ± 26.65	117.74 ± 16.67	84.64 ± 20.88	128.46 ± 13.64*

与 Sham 组相比, * $P < 0.05$.

表 3 术后 4 周各实验组血流动力学指标比较 ($\bar{x} \pm s$) (2)

Tab. 3 Comparison of hemodynamic indicators 4 weeks postoperation between the experiment groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	LVEDP(mmHg)	+dp/dtmax(mmHg/s)	-dp/dtmax(mmHg/s)
Sham 组	4.83 ± 2.74	7 403.64 ± 753.58	-5 397.45 ± 649.56
AMI 组	18.86 ± 5.86*	4 043.86 ± 692.67*	-3 034.57 ± 583.57*
EPO 组	8.69 ± 4.37*	6 569.47 ± 594.32*#	-3 994.32 ± 564.76*#
SB203580 组	8.37 ± 5.03*	6 589.84 ± 603.42*#	-4 012.64 ± 583.68*#
EPO+SB203580 组	8.23 ± 4.14*	6 596.49 ± 678.56*#	-4 132.08 ± 596.47*#

与 Sham 组相比, * $P < 0.05$; 与 AMI 组相比, # $P < 0.05$.

表 4 术后 4 周各实验组间心室相对重量指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of the indicators of the relative weight of cardiac ventricle 4 weeks postoperation between the experiment groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	LV/BW ($\times 10^{-3}$)	RV/BW ($\times 10^{-3}$)
Sham 组	2.03 ± 0.36	0.56 ± 0.17
AMI 组	2.36 ± 0.42*	0.59 ± 0.20
EPO 组	2.09 ± 0.38 Δ	0.57 ± 0.18
SB203580 组	2.07 ± 0.35 Δ	0.57 ± 0.19
EPO+SB203580 组	2.06 ± 0.37 Δ	0.56 ± 0.18

与 Sham 组比较, * $P < 0.05$; 与 AMI 组比较, $\Delta P < 0.05$.

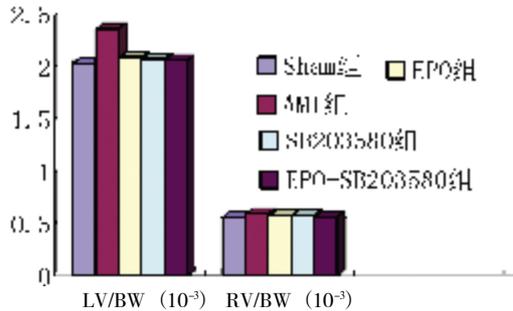


图 1 各组间梗死面积比较

Fig. 1 Comparison of the indicators of the relative weight of cardiac ventricle 4 weeks postoperation between the experiment groups

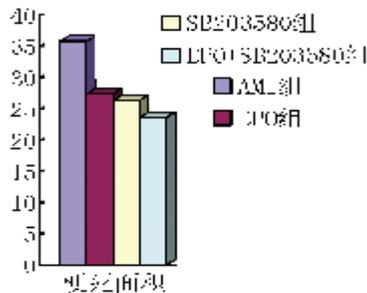


图 2 各组间梗死面积比较

Fig. 2 Comparison of the infarct size of myocardium between the experiment groups

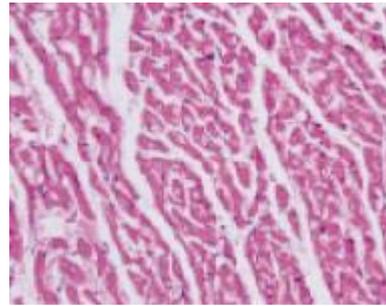


图 3 Sham 组 HE 染色结果 ($\times 400$)

Fig. 3 The HE staining of myocardium in Sham group ($\times 400$)

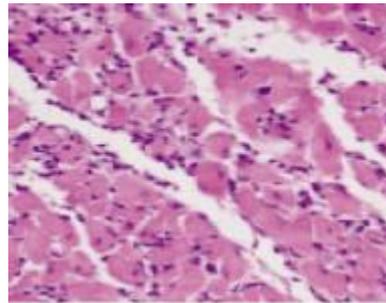


图 4 AMI 组 HE 染色结果 ($\times 400$)

Fig. 4 The HE staining of myocardium in AMI group ($\times 400$)

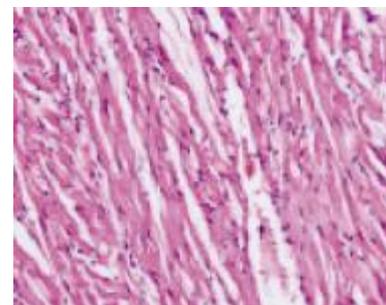


图 5 EPO 组 HE 染色结果 ($\times 400$)

Fig. 5 The HE staining of myocardium in EPO group ($\times 400$)

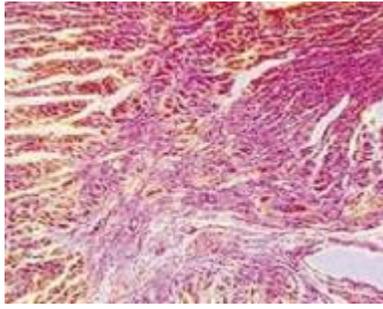


图 6 SB203580 组 HE 染色 ($\times 400$)

Fig. 6 The HE staining of myocardium in SB203580 group ($\times 400$)

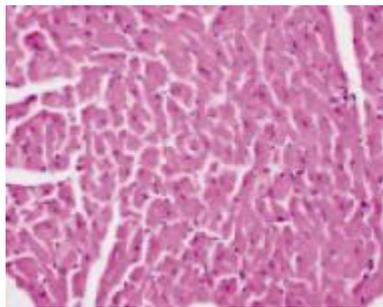


图 7 EPO+SB203580 组 HE 染色 ($\times 400$)

Fig. 7 The HE staining of myocardium in EPO + SB203580 group ($\times 400$)

3 讨论

EPO 是一种唾液蛋白激素, 通过与靶细胞上的促红细胞生成素受体 (erythropoietin receptor, EPOR) 结合发挥生物学效应. 研究发现: EPO 是一种重要的细胞保护因子, 其生理学作用也由单纯的促进红细胞生成、增加红细胞容量扩展到了它可以对缺血缺氧性损伤的大脑、肾脏和心脏等多种组织器官的保护作用^[24,25]. EPO 和 EPOR 结合以后, 通过改变上游信号转导分子 JAK2、PI3K 和蛋白激酶 B 等调节下游信号分子的活性, 如 STAT5、FOXO-3a、GSK-3 β 、Bad 和 NF- κ B, 从而减少细胞色素 c 的释放, 减少凋亡蛋白酶激活因子的表达, 抑制 Caspase 级联通路的激活^[26]. 因此, EPO 在缺血缺氧应激时可增强细胞的生存能力, 降低局部的炎症反应, 从而保护血管内皮细胞、神经细胞及心肌细胞的功能, 避免细胞的过度凋亡. 而 rHu-EPO 的理化性质和生物学活性与内源性促红细胞生成素相同.

SB203580 试剂, 其化学结构为吡啶咪唑, 为目前已知的 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 抑制剂之一, 但鉴于该抑制剂的毒性较大, 目前仍只用于

相关实验研究中, 未应用于临床. P38MAPK 蛋白激酶通路, 是 MAPK 介导信号通路的重要分支, 在炎症、细胞凋亡、氧化应激、心肌肥大、心肌细胞纤维化、心室重构等方面, p38MAPK 都具有重要作用. 心肌细胞的缺血/再灌注损伤是激活 P38MAPK 蛋白激酶的一个重要因素. P38MAPK 蛋白激酶的激活, 加速了心肌细胞纤维化、心室重构的病理生理过程. 抑制 P38MAPK 蛋白激酶的激活, 对抑制心肌细胞纤维化、心室重构有重要意义.

本实验研究, 通过构建大鼠在体心肌梗死模型, EPO 给药干预, 并用 SB203580 作为对照, 采用了皮下注射, 每周 2 次, 5 000 IU/kg, 共计 4 周的给药方式. 4 周内, EPO 组及 EPO+SB203580 组大鼠均未发现死亡情况, 说明 5 000 IU/kg 的计量对于大鼠是安全的. 结果显示, rH-EPO 可通过改善 AMI 后大鼠的左室收缩及舒张功能, 保护心功能. rH-EPO 可通过降低 AMI 后大鼠心室相对重量、缩小梗死面积、促进梗死交界区毛细血管新生, 达到抑制心室重构.

[参考文献]

- [1] 陈灏珠译. 心脏病学[M]. 第5版. 北京:人民卫生出版社,2001:1 084 - 1 085.
- [2] 罗继健,麦家志,王凤. 急性心肌梗死后心室重构的发生机理和治疗研究进展[J]. 广西医学,1999,21(2): 253.
- [3] MOCINI D, LEONE T, TUBARO M, et al. Structure, production and function of erythropoietin: implications for therapeutical use in cardiovascular disease [J]. Curr Med Chem, 2007, 14(21): 2 278 - 2 287.
- [4] OHORI K, MIURA T, TANNO M, et al. Ser9 phosphorylation of mitochondrial GSK-3 β is a primary mechanism of cardiomyocyte protection by erythropoietin against oxidant-induced apoptosis [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 295(5): 2 079 - 2 086.
- [5] PRUNIER F, PFISTER O, HADRI L, et al. Delayed erythropoietin therapy reduces post-MI cardiac remodeling only at a dose that mobilizes endothelial progenitor cells [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 292 (1): 522 - 529.
- [6] KELLERT B A, MCPHERSON R J, JUUL S E, et al. A comparison of high-dose recombinant erythropoietin treatment regimens in brain-injured neonatal rats [J]. Pediatr Res, 2007, 61(4): 451 - 455.
- [7] SCHMEDING M, NEUMANN UP, BOAS-KNOOP S, et al. Erythropoietin reduces ischemia reperfusion injury in the

- rat liver[J]. *Eur Surg Res*, 2007, 39(3):189 – 197.
- [8] SHARPLES E J, PATEL N S, BROWN P, et al. Erythropoietin protects the kidney against the injury and dysfunction caused by ischemia reperfusion [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(8): 2 115 – 2 124.
- [9] MOJIMINIYI O A, ABDELLA N A, ZAKI M Y, et al. Prevalence and associations of low plasma erythropoietin in patients with Type 2 diabetes mellitus [J]. *Diabet Med*, 2006, 23(8):839 – 844.
- [10] MOON C, KRAWCZYK M, PAIK D, et al. Cardioprotection by recombinant human erythropoietin following acute experimental myocardial infarction: dose response and therapeutic window [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2005, 19(4): 243 – 250.
- [11] PARSA C J, KIM J, RIEL R U, et al. Cardioprotective effects of erythropoietin in the reperfused ischemic heart: a potential role for cardiac fibroblasts [J]. *J Biol Chem*. 2004, 279(20): 20 655 – 20 662.
- [12] 王砚青, 江时森, 乐美兆. 促红细胞生成素对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保作用 [J]. *医学研究生学报*, 2005, 37(5):668 – 671.
- [13] MOON C, KRAWCZYK M, PAIK D, et al. Cardioprotection by recombinant human erythropoietin following acute experimental myocardial infarction: dose response and therapeutic window [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2005, 19(4): 243 – 250.
- [14] LIPSIC E, VAN DERMEER E, HENNING R H, et al. Timing of erythropoietin treatment for cardioprotection in ischemia reperfusion [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2004, 44(4):473 – 479.
- [15] WRIGHT G L, HANLON P, AMIN K, et al. Erythropoietin receptor expression in adult rat cardiomyocytes is associated with all acute cardioprotective effect for recombinant erythropoietin during ischemia-reperfusion injury [J]. *FASEB J*, 2004, 18: 1 031 – 1 033.
- [16] 齐帅, 宋鹏飞. 血清促红细胞生成素与急性心肌梗死的关系研究 [J]. *西部医学*, 2010, 22 (12):2 327 – 2 328.
- [17] JUNK A K, MAMMIS A, SAVITZ S I, et al. Erythropoietin administration protects retinal neurons from acute ischemia-reperfusion injury [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99:10 659 – 10 664.
- [18] GRIMM C, WENZEL A, GROSZER M, et al. HIF-1-induced erythropoietin in the hypoxic retina protects against light-induced retinal degeneration [J]. *Nat Med*, 2002, 8: 718 – 724.
- [19] BULLARD, A.J., P. GOVEWALLA, D.M. YELLON. Erythropoietin protects the myocardium against reperfusion injury in vitro and in vivo [J]. *Basic Res Cardiol*, 2005, 100 (5): 397 – 403.
- [20] PALOJOKI E, SARASTE A, ERIKSSON A, et al. Cardiomyocyte apoptosis and ventricular remodeling after myocardial infarction in rats [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280:2 726 – 2 731.
- [21] CARLINI RG REYES A A, ROTHSTEIN M. Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis in vitro [J]. *Kidney Int*, 1995, 47: 740 – 745.
- [22] RIBATTI D, PRESTA M, VACCA A, et al. Human erythropoietin induces a pro-angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo [J]. *Blood*, 1999, 93:2 627 – 2 636.
- [23] JAQUET, K, KRAUSE, K, TAWAKOL-KHODAI, M, et al. Erythropoietin and VEGF exhibit equal angiogenic potential [J]. *Microvasc Res*, 2002, 64:326 – 333.
- [24] FERRARIO M, MASSA M, ROSTI V, et al. Early haemoglobin-independent increase of plasma erythropoietin levels in patients with acute myocardial infarction [J]. *Eur Heart J*, 2007, 28(15): 1 805 – 1 813.
- [25] BRINES M L, GHEZZI E, KEENAN S, et al. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(19): 10 526 – 10 531.
- [26] BRINES, M, A. CERAMI. Erythropoietin-mediated tissue protection: reducing collateral damage from the primary injury response [J]. *J Intern Med*, 2008, 264(5): 405 – 432. (2013 – 05 – 14 收稿)