基础研究 文章编号:0253-3626(2011)07-0822-04

重组人促红细胞生成素对缺血后处理大鼠心脏保护作用及对 PI3K/Akt 信号通路的影响

朱建峰[1],秦 俭[1],赵 倩[2],赵 林[3]

(1. 重庆医科大学附属第一医院心内科,重庆 400016;2. 重庆重钢总医院心肾科,重庆 400014;
3. 重庆医科大学附属第一医院急诊科,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究重组人促红细胞生成素(Erythropoietin,rhEPO)对大鼠心肌再灌注损伤心脏功能的影响及对 PI3K/Akt 信号通路影响。方法:将 42 只 SD 雄性大鼠随机分为 7 组:①假手术组(Sham 组);②缺血/再灌注组(I/R 组);③缺血后处理组 I-PostC 组;④渥曼青霉素+缺血后处理组(Wort+I-PostC)组;⑤rhEPO 组;⑥Wort+rhEPO 组;⑦rhEPO+I-PostC 组。术中监测心电变化,于再灌注结束后采用"伊文氏蓝-TTC"法测定心肌梗塞面积,逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)和免疫组织化学法检测各组心肌组织中Akt mRNA、p70s6k mRNA水平,Akt、p70s6k蛋白表达水平。结果:(1)心肌梗塞面积:I-PostC 组、rhEPO组和rhEPO+I-PostC 组心肌梗塞面积较 I/R 组明显减少 ($P<0.05$),组间无统计差别;I-PostC +Wort 组和 rhEPO+Wort 组较 I-PostC 组和 rhEPO 组心肌梗塞面积显著增大($P<0.05$)。(2)心肌组织中 Akt mRNA、p70s6k mRNA、Akt、p70s6k 蛋白表达:各组大鼠心肌组织均有 Akt mRNA、p70s6k mRNA,Akt、p70s6k 蛋白的表达,以 Sham 组表达最低。I-PostC 组、rhEPO 组、rhEPO + I-PostC 组较 I/R 组显著增高($P<0.05$);I-PostC+Wort 组、rhEPO+Wort 组较 I-PostC 组、rhEPO 组明显降低($P<0.05$);而 I-PostC 组、rhEPO 组、I-PostC +rhEPO 组组间、I/R 组、I-PostC+Wort 组、rhEPO+Wort 组组间差异均无统计学意义。结论:rhEPO 能明显改善缺血再灌注所致的心肌组织损伤,发挥与I-PostC相似的心脏保护作用。保护作用与激活PI3K-Akt信号通路及其下游的靶点p70s6k有关。

【关键词】缺血再灌注;缺血后处理;PI3K 信号转导通路;重组促红细胞生成素
【中国图书分类法分类号】R363 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-11-04

Preffects of intervention of rhEPO on myocardial function in rats with myocardial ischemic postconditioning and PI3k/Akt pathway

ZHU Jian-feng[1], QIN Jian[1], ZHAO Qian[2], ZHAO Lin[3]

(1. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;
2. Department of Cardiology, the Affiliated Hospital, Chongqing Ironsteel Group;
3. Department of Emergency, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To investigate the influence of rhEPO on myocardial function in rats with myocardial ischemia/Reperfusion and PI3K/Akt pathway. *Methods*: 42 rats were randomly divided into①Sham operation group(Sham grou), ②Ischemia/Reperfusion group (I/R group), ③Ischemia-Postconditioning group(I-postC group), ④I-postC+Wortmannin group(I-postC+Wort group), ⑤rhErythropoietin group(rhEPO group), ⑥rhEPO+Wort group, ⑦rhEPO+I-postC group.ECG changes were monitored during the procedure. Ischemic and infarct areas were measured by Evans blue and TTC staining respectively. The mRNA and protein expression of Akt and p70S6K in myocardium were tested by RT-PCR and immunohistochemistry. *Results*: (1)Areas of myocardial infarction: I-PostC group, rhEPO group and rhEPO+I-PostC group had smaller areas of myocardial infarction compared with I/R group($P<0.05$), while I-PostC+Wort group and rhEPO+Wort group had bigger areas of myocardial infarction than I-PostC group and rhEPO group ($P<0.05$).There were no significant differences among I-PostC group, rhEPO group and rhEPO+I-Post group. (2)The expressions of Akt mRNA, p70s6k mRNA, Akt, p70s6k protein in myocardium: Akt mRNA, p70s6k mRNA and Akt, p70s6k protein expressed in myocardium in each group, with the lowest expression in Sham group. I-PostC group, rhEPO group and rhEPO + I-PostC group had higher expression than I/R group($P<0.05$); the expressions in I-PostC+Wort group and rhEPO+Wort ground were lower than rhEPO group the expressions in rhEPO group, I-PostC group and rhEPO+I-PostC group($P<0.05$). There were no significant differences among I-PostC group, rhEPO group and rhEPO+I-Post group. *Conclusion*: rhEPO can significantly protect the myocardial tissues, and exert similar protective effects on myocardial tissues to I-Post.the protective effects of rhEPO on myocardial tissues may be related to the activation of PI3-Akt signaling pathways and its downstream target p70s6k.

【Key words】ischemia/reperfusion; ischemia -postconditioning; PI3K/Akt pathway; erythropoietin

作者介绍:朱建峰(1985-)男,硕士,
研究方向:心脏缺血后处理方面研究。
通信作者:秦 俭,女,副教授,Emial:hjqj2001@yahoo.com.cn。

有人在狗缺血再灌注(Ischemia reperfusion,I/R)研究中发现,在心肌较长时间缺血后开始再灌注前对心脏进行短周期的再灌、停灌处理,可以产生心脏保护作用,并称之为缺血后处理(Ischemia-postconditioning,I-postC)[1]。其机理可能与激活再灌注损伤补救激酶途径的激活[2]有关。已有研究提示重组促红细胞生成素(Erythropoietin,rhEPO)可以改善缺血心肌预后,具有类似 I-PostC 效应[3]。本课题通过制作 SD 大鼠心肌 I/R 模型,应用 PI3K 阻滞剂渥曼青霉素(Wortmannin,Wort),给予 rhEPO 干预后,探讨 rhEPO 对心肌 I/R 引起的心肌损伤的改善以及 PI3K/Akt 信号通路在其中的作用,并设缺血后处理组对照,了解 2 种处理之间和 2 种处理联合应用有无差异。为临床应用 I-post C、rhEPO 防治缺血再灌注引起的心脏功能损伤提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

重组人红细胞生成素注射液(益比奥)(批号:20090207V,沈阳三生制药有限公司);渥漫青霉素(批号:126k4029,美国 Sigma 公司);戊巴比妥钠(批号:F20030816,中国医药(集团)上海化学试剂公司)。兔抗鼠 p70s6k 抗体,兔抗鼠 Akt 抗体(美国 Sigma 公司);Akt、p70s6k、B-actin cDNA 引物(上海生工生物技术公司);免疫组化试剂盒(北京中山生物有限公司);TTC,伊文氏蓝(美国 Amresco 公司);Trizol RNA 提取试剂盒(北京天根科技有限公司);RT-PCR 试剂盒(日本 Toyobo 公司);TAE 液,Goldview 核酸染料(北京赛百盛基因技术有限公司);琼脂糖,DNAmarker(宝生物工程有限公司)。

1.2 动物及缺血再灌注模型制作

成年 SD 大鼠 42 只,雄性,体重 200~300 g,重庆医科大学实验动物中心提供(合格证号:SCXK 渝 20020003)。

取 SD 大鼠 42 只,腹腔注射 3%戊巴比妥钠 25 mg/kg 麻醉,以针状电极插入右前肢和左后肢皮下,连续监测标准Ⅱ导联心电图;气管插管,连接动物呼吸机行人工通气(潮气量 8~10 ml,频率 60~70 次/min);分离颈外静脉并插入导管以备给药。沿胸骨左缘旁 0.5 cm 切开皮肤,剪断第 3、4、5 根肋骨,进入胸腔,暴露心脏,在左心耳根部下缘 2 mm 处进针,用 6/0 无损伤缝合针穿过左冠状动脉前降支(Left anterior descending branch,LAD)下方的心肌表层,待心电图恢复稳定 10 min 后记录正常参数,然后在缝线两端穿过一塑料管形成血管松合器,结扎时用一细小硅胶垫于血管与结扎线之间,以造成左心室前壁缺血 30 min,然后松开活结,恢复左冠状动脉血液灌注 180 min[2]。

大鼠随机分为 7 组,每组 6 只,假手术组(Sham 组)只穿线而不结扎冠状动脉,观察 210 min,其余各组均于冠脉结扎后停灌 30 min 和复灌 180 min(缺血/再灌注,I/R);I/R 组只给予 I/R 处理;缺血后处理组(I-PostC 组)在复灌 180 min 前给予 3 次 10 s 的再灌注/缺血(R/I)循环;缺血后处理+Wortmannin 组(I-PostC+W 组)在 3 次 10 s 的 R/I 循环前 5 min经颈外静脉注射 Wortmannin(15 μg/kg)[3];rhEPO 组在复灌 180 min前经腹腔注射 rhEPO(5 000 U/kg)[3];rhEPO +Wortmannin 组(rhEPO+W 组)在复灌 180 min 前先后给予 Wortmannin(15 μg/kg)和 rhEPO(5 000 U/kg);rhEPO+缺血后处理组在复灌 180 min 前给予 3 次 10 s R/I 循环,并腹腔注射 rhEPO(5 000 U/kg)。

1.3 心肌缺血范围和梗死范围测定

每组随机选取 6 只 SD 大鼠。于取血后,原位结扎冠状动脉,经右侧颈动脉插管注入 1~2 ml 伊文氏蓝染色心肌,剪去左心室外心脏的其余部分,将左心室先用滤纸吸干、称重,后用剪刀分为非缺血心肌(染成蓝色)和缺血区心肌(不被染色),将左心室缺血心肌用滤纸吸干、称重后按垂直于左心室长轴方向进行切片(厚 1~2 mm),将切片置入 1%TTC 磷酸缓冲液(pH 7.4)中,37℃孵育 20 min,此时梗死区呈灰白色,非梗死区呈砖红色,用滤纸吸干、称重,缺血面积以缺血区重量与左心室重量之比表示,梗死面积以梗死区重量与缺血区重量之比,单位为%。

1.4 心肌组织 Akt、p70s6k 蛋白免疫组化检测

经过取材、固定液固定 24 h、乙醇脱水、石蜡包埋制成样品表面积小于 0.5 mm × 0.5 mm 的石蜡块,再经过切片、35℃水浴中展切、捞片后在 30℃恒温干燥箱中干燥 48 h,干燥后的切片再经过常规脱蜡、灭活内源性酶后,分别滴加滴加兔抗鼠 Akt 或 p70s6k 抗体生物素标记的山羊抗兔抗体，经显色、复染、再脱水再透明,中性树脂封片。

观察拍照。Akt、p70s6k 均定位于心肌细胞的胞浆,其阳性染色均呈棕黄色。用生物医学图像分析系统进行图像分析,标准灰度值校正后,每张图片随机选取 5 个视野,测定阳性细胞的胞浆中 Akt、p70s6k 的平均光密度(OD)值与阳性细胞的百分比,计算阳性蛋白表达指数(PEI)。

PEI(%)=OD 值 × (阳性细胞数/总心肌细胞数)×100%。

1.5 心肌组织中 AktmRNA、p70s6kmRNA 的表达

引物:AKT 上游引物 5'-GAGGAGCGGGAAGAGTG-3',下游引物:5'-GAGACAGGTGGAAGAAGAGC-3'扩增产物 672 bp;p70s6k 上游引物:5'-ATGCTGCTTCTCGTCTTG-3'下游引物:5'- GTCCTATTCCACTTGTTTCC-3'扩增产物 400 bp;β-actin 上游引物:5'-CTTTTGTGCCTTGATAGTTC-3'下游引物 5'-GAGTCCTTCTGACCCATAC-3'扩增产物 265 bp 所有引物均由上海生物工程公司合成。

取 50~100 mg 标本匀浆后,Trizol 试剂提取总 RNA,琼脂糖凝胶电泳鉴定 RNA 完整性,紫外分光光度计检测法测定 RNA 含量。取等量 RNA 逆转录合成 cDNA 以 β-actin 为内参照扩增。AKT 基因扩增条件为:95℃变性 5 min,然后94℃ 1 min,55℃30 s,72℃1 min,35 个循环,最后 72℃延伸 5 min;p70s6k 基因扩增条件为:94℃变性 3 min,然后 94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 1 min,35 个循环,最后 72℃延伸 5 min。用 TAE 溶解琼脂糖配制成 20 ml,微波炉完全溶解后,加入 1 μl Goldenview 染料,加入 TAE 电泳缓冲液。取 PCR 产物 5 μl 上样。在 80 V 恒压中电泳 30 min。凝胶成像分析系统扫描的电泳结果,用 Quantity One 分析软件进行产物的灰度值分析。以扩增目的片段与 β-actin 的灰度比值表示所扩增的目的基因片段的相对表达水平。

1.6 统计学处理

应用 SPSS 11.0 统计软件包进行统计分析，数据采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，组间比较用单因素方差分析，以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 心肌梗死面积的影响

实验结果表明，除 Sham 组无心肌梗死和心肌缺血外，其余各组均有不同程度的心肌缺血和心肌梗死，差异具有统计学意义。与 I/R 组比较，I-PostC 组、rhEPO 组和 rhEPO+I-PostC 组心肌梗死面积明显减小（$P<0.05$）；与 I-PostC 组相比，I-PostC+Wort 组和 rhEPO+Wort 组心肌梗死面积显著增大（$P<0.05$）。与 rhEPO 组相比，rhEPO+Wort 组心肌梗死面积显著增大（$P<0.05$）。I-PostC 组与 rhEPO 组相比心肌梗死面积差异无统计学意义。

I-PostC+Wort 组和 rhEPO+Wort 组相比心肌梗死面积差异亦无统计学意义（P 均>0.05）。与 I-PostC 组和 rhEPO 组相比，rhEPO+I-PostC 组心肌梗死面积无显著性减少（$P>0.05$）。详见表 1。

表 1 心肌梗塞面积和缺血面积的变化（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	梗死面积（%）	缺血面积（%）
Sham	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
I/R	55.24 ± 8.97●	42.91 ± 2.61
I-PostC	37.21 ± 3.73●※	44.04 ± 2.68
I-PostC+Wort	54.38 ± 7.22●▲	43.56 ± 3.75
rhEPO	37.73 ± 5.61●※◆	43.61 ± 2.06
rhEPO+Wort	54.93 ± 8.41●▲★	44.21 ± 3.23
rhEPO+I-PostC	32.74 ± 3.17●※◆■	44.05 ± 2.36

注：●，与假手术组比较，$P<0.05$；※，与 I/R 组比较，$P<0.05$；▲，与 I-PostC 组比较，$P<0.05$；◆，与 I-PostC+Wort 组比较，$P<0.05$；★，与 rhEPO 组比较，$P<0.05$；■，与 rhEPO+Wort 组比较，$P<0.05$

2.2 心肌组织中 Akt、p70s6k 蛋白表达的变化

实验结果表明，各组大鼠心肌组织中均有 Akt、p70s6k 免疫组化阳性表达，Sham 组心肌组织表达 Akt、p70s6k 蛋白最低。与 I/R 组比较，I-PostC 组、rhEPO 组和 rhEPO+I-PostC 组心肌组织 Akt、p70s6k 蛋白表达显著增加（$P<0.05$）3 组间差异无统计学意义（$P>0.05$）；I-PostC+Wort 组和 rhEPO+Wort 组较 I-PostC 组、rhEPO 组和 rhEPO+I-PostC 组心肌组织 Akt、p70s6k 蛋白表达显著减少（$P<0.05$）。I-PostC+Wort 组和 rhEPO+Wort 组相比心肌组织 Akt、p70s6k 蛋白表达亦差异无统计学意义（P 均>0.05）。与 I-PostC 组和 rhEPO 组相比，rhEPO+I-PostC 组心肌组织 Akt、p70s6k 蛋白表达无显著性增多（$P>0.05$）。见表 2，图 1、2。

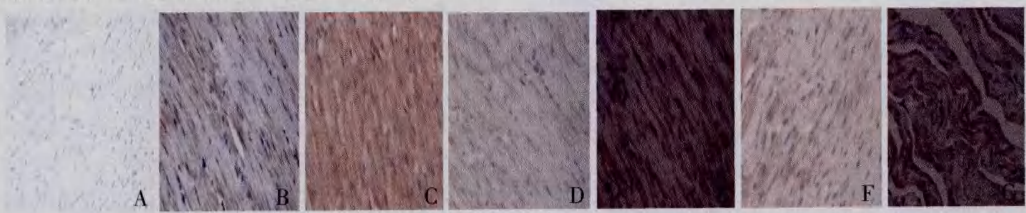
表 2 各组心肌组织 Akt、p70s6k PEI 的比较（%）（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	PEI of Akt	PEI of P70s6k
Sham	1.03 ± 0.23	1.01 ± 0.31
I/R	11.79 ± 1.02●	12.49 ± 1.15●
I-PostC	24.72 ± 1.05●※	25.47 ± 1.24●※
I-PostC+Wort	12.55 ± 1.23●▲	13.70 ± 1.05●▲
rhEPO	25.99 ± 1.21●※◆	25.01 ± 1.09●※◆
rhEPO+Wort	13.20 ± 0.99●▲★	12.22 ± 1.12●▲★
rhEPO+I-PostC	26.13 ± 1.31●※◆■	26.11 ± 1.19●※◆■

注：●，与假手术组比较，$P<0.05$；※，与 I/R 组比较，$P<0.05$；▲，与 I-PostC 组比较，$P<0.05$；◆，与 I-PostC+Wort 组比较，$P<0.05$；★，与 rhEPO 组比较，$P<0.05$；■，与 rhEPO+Wort 组比较，$P<0.05$

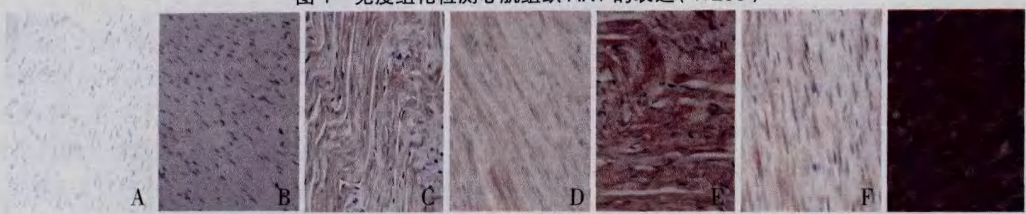
2.3 心肌组织中 Akt、p70s6k mRNA 表达的变化

扩增产物经 1%的琼脂糖电泳，在 265 bp 左右处可见明显的 β-actin mRNA 条带，在 672 bp 左右处可见 Akt mRNA 条带，在 400~500 bp 左右可见 p70s6k mRNA 条带。实验结果表明，各组大鼠心肌组织中均有 Akt、p70s6k mRNA 表达，Sham 组心肌组织表达 Akt、p70s6k mRNA 最低。与 I/R 组比较，I-PostC 组、rhEPO 组和 rhEPO+I-Post 组心肌组织 Akt、p70s6k mRNA 表达显著增加（$P<0.05$），3 组间 Akt、p70s6k mRNA 表达差异无统计学意义（P 均>0.05）；与 I-PostC 组和 rhEPO 相比，I-PostC+Wort 组和 rhEPO+Wort 组心肌组织 Akt、p70s6k mRNA 表达显著减少（$P<0.05$），前两组组间 Akt、p70s6k mRNA 表达差异无统计学意义，后两组组间 Akt、p70s6k mRNA 表达差异无统计学意义（P 均>0.05）。详见表 3、图 3。



A. 假手术组；B. I/R 组；C. I-PostC 组；D. I-PostC+Wort 组；E. rhEPO 组；F. rhEPO+Wort 组；G. rhEPO+I-PostC 组

图 1 免疫组化检测心肌组织 AKT 的表达（×200）



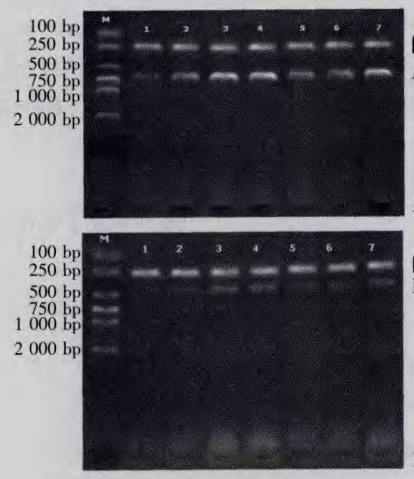
A. 假手术组；B. I/R 组；C. I-PostC 组；D. I-PostC+Wort 组；E. rhEPO 组；F. rhEPO+Wort 组；G. rhEPO+I-PostC 组

图 2 免疫组化检测心肌组织 p70s6k 的表达（×200）

表 3 各组心肌组织 Akt mRNA，p70s6k mRNA 表达水平的比较（$\bar{x} \pm s$，$n=6$）

组别	Akt mRNA 表达（Akt mRNA：β-actin mRNA）	p70s6k mRNA 表达（p70s6k mRNA：β-actin mRNA）
Sham	0.16 ± 0.03	
I/R	0.76 ± 0.02●	0.24 ± 0.01●
I-PostC	1.47 ± 0.03●※	0.44 ± 0.02●※
I-PostC+Wort	0.69 ± 0.01●▲	0.26 ± 0.03●▲
rhEPO	1.42 ± 0.01●※◆	0.47 ± 0.01●※◆
rhEPO+Wort	0.73 ± 0.01●▲★	0.27 ± 0.02●▲★
rhEPO+I-PostC	1.54 ± 0.01●※◆■	0.49 ± 0.02●※◆■

注：●，与假手术组比较，$P<0.05$；※，与 I/R 组比较，$P<0.05$；▲，与 I-PostC 组比较，$P<0.05$；◆，与 I-PostC+Wort 组比较，$P<0.05$；★，与 rhEPO 组比较，$P<0.05$；■，与 rhEPO+Wort 组比较，$P<0.05$



A. 各组 Akt mRNA 表达。注：1. 正常对照组；2. I/R 组；3. I-PostC 组；4. rhEPO 组；5. I-PostC+Wort 组；6. rhEPO+Wort 组；7. rhEPO+I-PostC 组；B. 各组 p70s6kmRNA 表达。注：1. 正常对照组；2. I/R 组；3. I-PostC 组；4. rhEPO 组；5. I-PostC+Wort 组；6. rhEPO+Wort 组；7. rhEPO+I-PostC 组

图 3 各组 Akt、p70s6kmRNA 表达

3 讨 论

作为一种强有力的内源性保护现象，I-post C 为 I/R 损伤的防治提供了新方法。但该方法可能存在血管壁损伤、斑块脱落等问题。为了使该保护机制具有更强的临床适用性，此后不同的学者通过多种方式诱导出类似于 I-PostC 的心脏保护作用。心肌缺血后长时间的再灌注前给予药物干预可起到心脏保护的作用，称为药物后处理[4]。发现一种临床安全性强而同时具有缺血后处理保护效应的的药物成为目前研究热点。

rhEPO 作为一种造血因子已广泛应用于临床。近年大量基础与临床研究提示，rhEPO 除经典的造血效应外还有诸多非造血效应，如对包括心脑在内的多种组织器官具有保护作用[5]。rhEPO 介导的心肌保护作用可能涉及多条信号通路，如 Jak2-STAT5 途径[6]、PI3K（磷脂酰肌醇 3 激酶）-蛋白激酶 B（Akt）途径[7]，但无一得到最终肯定。

本实验结果显示，在再灌注前 5 min 经腹腔注射 rhEPO，与 I/R 组相比，rhEPO 组心肌梗死面积显著减小，心肌组织中 Akt mRNA、p70s6k mRNA 的表达及其蛋白表达水平显著增高，表明 rhEPO 能够减轻心肌损伤，激活了 PI3K/Akt 信号转导通路及其下游产物 p70s6k 的表达，起到与 I-PostC 类似的效应。

本研究结果还显示，与 rhEPO 组相比，rhEPO+Wort 组在心肌梗死面积，心肌组织中 Akt mRNA、p70s6kmRNA 的表达及其蛋白表达水平与 I/R 组相当，rhEPO 的心功能保护作用明显削弱，rhEPO 的 PI3K/Akt 信号转导通路的激活力明显下降，提示 Wortmannin 亦能削弱 rhEPO 通过 PI3K/Akt 信号转导通路诱导的缺血后处理的心脏功能保护效应，因此 PI3K/Akt 通路的激活可能也是 rhEPO 发挥心脏功能保护作用的机制之一。

而 rhEPO+I-PostC 组心肌梗死面积和心肌组织中 Akt mRNA、p70s6kmRNA 的表达及其蛋白表达水平较 I-PostC 组和 rhEPO 组并无进一步改善，差异无统计学意义，提示两者联合应用并不能进一步发挥心脏功能保护作用。可能原因为这 2 种处理方式共用了相同的 I3K/Akt 信号转导通路途径发挥心脏保护作用。

进一步积极开展药物后处理的基础及临床研究、确定具体实施时间、操作方法、作用机制、临床安全性及有效性，对于防治缺血心肌的再灌注损伤具有十分重要的理论意义和临床应用价值。

参 考 文 献

[1] Zhao J L, Yang Y J, You S J, et al. Different effects of postconditioning on myocardial no-reflow in the normal and hypercholesterolemic mini-swines[J]. Microvasc Res, 2007, 73(2): 137-142.

[2] Chen Z, Li T, Zhang B, et al. Morphine postconditioning protects against reperfusion injury in the isolated rat hearts[J]. J Surg Res, 2008, 145(2): 287-294.

[3] Bullard A J, Govewalla P. Erythropoietin protects the myocardium against reperfusion injury in vitro and in vivo[J]. Basic Res Cardiol, 2005, 100(5): 397-403.

[4] 赵华云. 参七汤抑制再灌注心肌细胞凋亡模型小鼠的实验研究[J]. 中国药房, 2005, 16(13): 975-978.

[5] Bogoyevitch M A. An update on the cardiac effects of erythropoietin cardioprotection by erythropoietin and the lessons learnt from studies in neuroprotection[J]. Cardiovase Res, 2004, 63(2): 208-216.

[6] Silva M, Grillot D, Benito A, et al. Erythropoietin can promote erythroid progenitor survival by repressing apoptosis through Bcl-xL and Bcl-2[J]. Blood, 1996, 88(5): 1576-1582.

[7] Tramontano A F, Muniyappa R, Black A D, et al. Erythropoietin protects cardiacmyocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 308(4): 990-994.

（责任编辑：冉明会）