

促红细胞生成素保护糖尿病大鼠心功能的机制研究

陆 静,陈 兵,朱月红,傅 聪,冯 毅,姚玉宇*

(东南大学附属中大医院心内科,江苏 南京 210009)

[摘要] **目的:**探讨促红细胞生成素(erythropoietin,EPO)保护糖尿病大鼠心功能的相关机制。**方法:**雄性 SD 大鼠 40 只,随机分为正常对照组、正常+EPO 干预组、糖尿病组、糖尿病+EPO 干预组,每组 10 只。采用链脲佐菌素腹腔注射建立糖尿病动物模型,建模成功后,给予正常+EPO 干预组和糖尿病+EPO 干预组大鼠皮下注射 EPO 1 000 IU/Kg,正常对照组和糖尿病组皮下注射等量生理盐水,每周 1 次,共 12 周。建模前及末次给药后 7 d,尾静脉采血,检测血糖、血脂和血常规,超声心动图检测心功能,RT-PCR 法分析内质网应激蛋白葡萄糖调节蛋白 78(glucose regulated protein78,GRP78)、肌浆网 Ca²⁺-ATP 酶(SERCA2a)和 EPO 受体(EPOR) mRNA 表达水平,Western blot 技术检测 GRP78,SERCA2a 和 EPOR 蛋白表达。**结果:**正常对照组和正常+EPO 干预组之间,心功能、血糖、血脂、血常规、GRP78,SERCA2a 和 EPOR 蛋白表达水平均无明显差别($P > 0.05$)。与正常对照组和正常+EPO 干预组相比,糖尿病组大鼠射血分数及左心室短轴缩短率明显下降($P < 0.01$),血糖和血脂明显升高($P < 0.01$),左心室心肌组织 GRP78 mRNA 及蛋白表达明显增加($P < 0.01$),SERCA2a 和 EPOR mRNA 及蛋白表达明显减少($P < 0.01$)。与糖尿病组相比,糖尿病+EPO 干预组大鼠射血分数及左心室短轴缩短率明显增加($P < 0.01$),左心室舒张末期内径明显减小($P < 0.05$),左心室收缩末期内径明显减小($P < 0.01$),左心室组织 GRP78 mRNA 及蛋白表达明显下降($P < 0.01$),SERCA2a 和 EPOR mRNA 及蛋白表达明显增加($P < 0.01$)。**结论:**EPO 具有保护糖尿病大鼠心功能的作用,其机制可能是减轻心肌内质网应激,增加糖尿病大鼠心肌 SERCA2a 和 EPOR 蛋白表达。

[关键词] 糖尿病;促红细胞生成素;内质网应激;GRP78;SERCA2a;心肌

[中图分类号] R587.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)03-307-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20160311

Mechanisms of erythropoietin in protecting cardiac function in diabetic rats

Lu Jing, Chen Bing, Zhu Yuehong, Fu Cong, Feng Yi, Yao Yuyu*

(Department of Cardiology, Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To study the mechanisms of erythropoietin in protecting cardiac function in diabetic rats. **Methods:** Forty male SD rats were randomly divided into the control group, the control-EPO group, the diabetic group and the diabetic-EPO group ($n = 10$ for each). The diabetic model was induced by streptozotocin (STZ). In the control-EPO and the diabetic-EPO group, rats were treated with 1 000 IU/kg EPO by subcutaneous injection once per week for twelve weeks. At the seventh day after the last administration, echocardiography was conducted. Blood samples from tail vein were collected for blood glucose and red blood cell numbers measurements. After rats were sacrificed, myocardial tissues were collected, quantitative real-time PCR (RT-PCR) was used to detect the mRNA level of GRP78, SERCA2a and EPOR, and Western blot was used to detect the protein expression of GRP78, SERCA2a and EPOR. **Results:** Compared with the control and control-EPO group, in the diabetic group, ejection fraction (EF) and LV fractional shortening (LVFS) were decreased significantly ($P < 0.01$), blood glucose was increased significantly ($P < 0.01$), the mRNA level and the protein expression of GRP78 were increased significantly ($P < 0.01$), the mRNA level and the protein expression of SERCA2a and EPOR were decreased significantly ($P < 0.01$). EF and LVFS were increased significantly in EPO-treated diabetic rats ($P < 0.01$). Diabetic rats receiving EPO administration showed a significantly decrease in the mRNA level and the protein expression of GRP78 compared with the diabetic group ($P < 0.01$). EPO treatment significantly increased the mRNA level and the protein expression level of SERCA2a and EPOR ($P < 0.01$). **Conclusion:** EPO treatment can improve the cardiac function, which might be related to the inhibition of endoplasmic reticulum stress, up-regulating of the SERCA2a and EPOR expression.

[Key words] diabetes mellitus; erythropoietin; endoplasmic reticulum stress; GRP78; SERCA2a; myocardium

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(03):307-312]

[基金项目] 国家自然科学基金(81300249)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: yaoyuyunj@hotmail.com

糖尿病心肌病是一类独立于冠心病、高血压和其他心脏疾病以外的特异性心肌病,主要表现为心肌的舒张和收缩功能障碍,是糖尿病常见的慢性并发症之一^[1-2]。糖尿病心肌病病因复杂,国内外研究表明可能与心肌内质网应激、钙离子转运障碍、心肌间质纤维化等机制有关^[3]。

研究发现,糖尿病大鼠心肌内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)蛋白葡萄糖调节蛋白78(glucose regulated protein 78,GRP78)表达增加,糖尿病大鼠内质网存在应激,引起心肌细胞钙离子转运障碍、氧化应激增加、心肌细胞坏死与凋亡等一系列反应^[4-6]。大量动物实验表明,在心力衰竭细胞中由于肌浆网Ca²⁺-ATP酶(SERCA2a)蛋白下调,导致收缩期钙释放减少,心肌收缩功能障碍。ERS导致的SERCA2a蛋白表达下调在糖尿病心肌病的病理生理机制中起了重要作用^[7]。促红细胞生成素(erythropoietin,EPO)是一种主要由肾脏分泌的相对分子质量为30.4×10³的糖蛋白,EPO与EPO受体(EPOR)结合后激活某些信号通路,发挥抗炎、抗氧化、抗凋亡等多种与造血无关的组织和细胞保护作用^[8]。本课题组既往研究发现EPO有改善糖尿病大鼠心脏舒张收缩的功能^[9],但EPO改善糖尿病心肌病心功能的机制尚不清楚。

本研究通过糖尿病大鼠模型,利用EPO皮下注射,观察EPO对心肌ERS的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

健康成年雄性SD大鼠40只,体重(235.7±15.0)g,由扬州大学实验动物中心提供。

重组人EPO(沈阳三生制药有限公司),链脲佐菌素(STZ,Sigma公司,美国)。兔抗大鼠EPOR、兔抗大鼠GRP78、兔抗大鼠SERCA2a单克隆抗体(Santa Cruz公司,美国),羊抗兔IgG(南京凯基生物科技发展有限公司);Trizol试剂盒(Invitrogen公司,公司),RevertAid First Strand cDNA synthesis Kit(Fermentas公司,美国)。

visual Sonics Vevo 770 高分辨率小动物超声系统(VisualSonics公司,加拿大),血细胞分析仪BC-5800(深圳迈瑞公司),One TouchII 血糖仪(ROCHE公司,美国),PCR仪(MJ Mini opticon Real-Time PCR System,Bio-Rad公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 糖尿病大鼠模型的建立和分组

雄性SD大鼠40只,体重(235.7±15.0)g。随机分为正常对照组、正常+EPO干预组、糖尿病组、糖尿病+EPO干预组,每组10只。大鼠禁食12h后,单次腹腔注射1%STZ 65 mg/Kg,72h后尾静脉采血测血糖,以血糖≥16.7 mmol/L的大鼠作为糖尿病模型。造模成功后,正常+EPO干预组和糖尿病+EPO干预组大鼠皮下注射EPO 1 000 IU/Kg,正常对照组和糖尿病组皮下注射等容积的生理盐水,每周1次,共12周。

1.2.2 心功能检测

末次给药后7d,大鼠空腹称重后,超声心动图检测左心室舒张末期内径(left ventricular diastolic dimension,LVDd)、左心室收缩末期内径(left ventricular end-systolic dimension,LVDs)、射血分数(ejection fraction,EF)和左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening,LVFS)。

1.2.3 血糖、血脂和血常规测定

药物干预前(建模成功后)及末次给药后7d(心功能测定前)尾静脉采血,测定血糖、血脂和血常规。

1.2.4 大鼠心肌组织标本制备

大鼠处死后取出心脏,剪除大血管,用PBS冲洗干净,心脏称重后,剪取左心室心尖部组织,分成2份,1份液氮保存,1份福尔马林保存。

1.2.5 RT-PCR检测左心室心肌组织GRP78、SERCA2a和EPOR mRNA表达

Trizol法提取总RNA,逆转录合成cDNA,PCR扩增GRP78、SERCA2a和EPOR基因片段。PCR引物由南京金斯瑞科技有限公司合成,引物的核苷酸序列和扩增产物大小为:GRP78,5'-GTGCAGCAGGACATCAAGTT-3'和5'-ACAGTCACAACCTGCATGGGT-3',194 bp;SERCA2a,5'-CAGCTCACTGTGTGATGTGG-3'和5'-AGACTTGGCTGATGGCTTCT-3',188 bp;EPOR,5'-CAGCTCGAAGGTGAATCAAG-3'和5'-CGTCCAGGAGCACTACTTCA-3',196 bp;GAPDH,5'-TGTTGCCATCAACGACCCCTT-3'和5'-CTCCACGACATACTCAGCA-3',202 bp。实验结果由荧光定量PCR分析软件Bio-Rad CFX Manager进行统计和计算,以目的基因GRP78、SERCA2a或EPOR与GAPDH条带吸光度的比值来表示目的基因表达水平。

1.2.6 Western blot检测左心室组织GRP78、SERCA2a和EPOR蛋白表达

采用Bradford法测定蛋白含量。蛋白经10%SDS-PAGE垂直凝胶电泳后,电转移至PVDF膜上。

脱脂奶粉封闭后,加入 1:400 稀释的兔抗大鼠 GRP78、SERCA2a 和 EPOR 单克隆抗体,4℃过夜,洗膜后再加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG 孵育,洗膜,最后加入免疫印迹发光剂,在暗室中将贴膜在 X 线下曝光进行放射性自显影,结果在 Imagetool 图像分析系统中进行吸光度分析,各条带与 β-actin(内参照)条带的吸光度之比为蛋白的相对含量。

1.2.7 免疫组织化学检测左心室组织 EPOR 蛋白分布和表达

采取免疫组织化学二步法检 EPOR(1:100)在各组心肌组织的分布和表达,PBS 液做阴性对照。主要步骤有切片脱蜡,常规脱水、透明、3%过氧化氢处理,微波修复抗原,分别滴加稀释的兔抗大鼠 EPOR 抗体(一抗),37℃过夜,滴加 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体(二抗),37℃ 30 min,DAB 显色,苏木素复染,中性树脂封片。在 Image Pro Plus 6.0 图像分析系统上,每张片按顺序选取 10 个视野,测定其平均光密度值 Mean Density (IOD SUM)/Area 作为蛋白相对表达量。

1.3 统计学方法

采用 SPSS17.0 统计软件,各参数均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间参数比较采用方差分析。计量资料组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Turkey post-hoc 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 EPO 对糖尿病大鼠心功能的影响

建模成功后至 EPO 干预 12 周后,正常对照组、正常+EPO 干预组、糖尿病组、糖尿病+EPO 干预组存活大鼠分别为 10、10、8 和 9 只。与正常对照组和正常+EPO 干预组相比,糖尿病组大鼠 EF 值和 LVFS 值明显下降($P < 0.01$),心体比明显增加($P < 0.01$)。与糖尿病组大鼠相比,糖尿病+EPO 干预组大鼠 EF 值和 LVFS 值明显增加($P < 0.01$),LVDd 明显减小($P < 0.05$),LVDs 明显减小($P < 0.01$),心体比明显减小($P < 0.01$,表 1,图 1)。

2.2 EPO 对糖尿病大鼠模型生理参数的影响

EPO 干预前,4 组大鼠之间体重无明显差异($P > 0.05$);EPO 干预 12 周后,糖尿病+EPO 干预组大鼠体重较糖尿病组明显增加($P < 0.01$)。建模后,糖尿病组、糖尿病+EPO 干预组大鼠血糖和血脂浓度较正常对照组、正常+EPO 干预组明显升高($P < 0.01$);EPO 干预 12 周后,糖尿病组和糖尿病+EPO 干预组大鼠血糖和血脂与 EPO 干预前无明显变化($P > 0.05$),与正常对照组和正常+EPO 干预组间存在明显差异($P < 0.01$)。EPO 干预前,4 组大鼠红细胞均无明显差异($P > 0.05$);EPO 干预 12 周后,4 组大鼠之间红细胞计数仍无明显差异($P > 0.05$,表 2)。

2.3 EPO 对糖尿病大鼠左心室心肌组织 GRP78、SERCA2a 和 EPOR mRNA 表达的影响

EPO 干预 12 周后,与正常对照组和正常+EPO 干预组相比,糖尿病组大鼠 GRP78 mRNA 表达明显升高($P < 0.01$),SERCA2a 和 EPOR mRNA 表达明

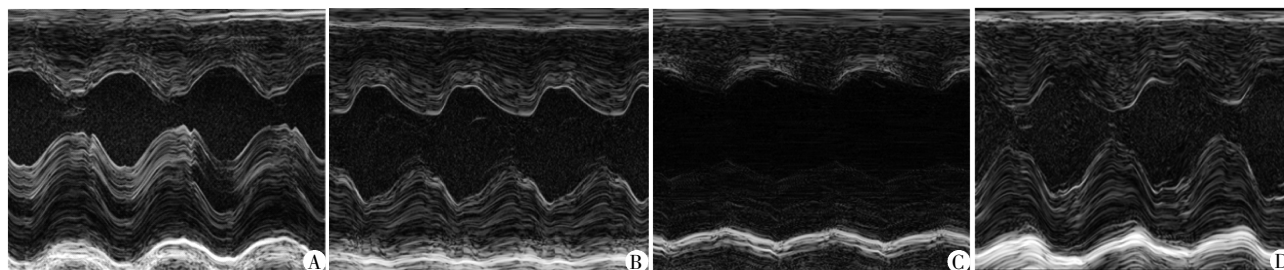
表 1 EPO 干预 12 周后心脏功能检测

Table 1 The detection of cardiac function after 12 weeks of EPO treatment

($\bar{x} \pm s$)

参数	正常对照组(n=10)	正常+EPO 干预组(n=10)	糖尿病组(n=8)	糖尿病+EPO 干预组(n=9)
LVDs(mm)	4.49 ± 0.32	4.56 ± 0.24	4.57 ± 0.73	3.72 ± 0.34 ^{▲▲}
LVDd(mm)	8.45 ± 0.43	8.43 ± 0.37	7.28 ± 0.78	6.39 ± 0.41 [▲]
EF(%)	76.24 ± 2.54	75.54 ± 1.76	63.71 ± 4.39 ^{##}	72.23 ± 2.74 ^{▲▲}
LVFS(%)	45.75 ± 1.54	46.05 ± 1.61	33.31 ± 5.08 ^{##}	42.36 ± 2.43 ^{▲▲}
心/体重(mg/g)	3.15 ± 0.17	3.19 ± 0.17	4.14 ± 0.14 ^{##}	3.46 ± 0.24 ^{▲▲}

与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与正常+EPO 干预组比较,## $P < 0.01$;与糖尿病组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。



A: 正常对照组;B: 正常+EPO 干预组;C: 糖尿病组;D: 糖尿病+EPO 干预组。

图 1 EPO 干预 12 周后各组大鼠超声心动图图像

Figure 1 The images of echocardiography in different groups after 12 weeks of EPO treatment

表 2 各组大鼠动物模型生理参数

Table 2 General characteristics of the animal model in different groups

($\bar{x} \pm s$)

参数	正常对照组(n=10)	正常+EPO 干预组(n=10)	糖尿病组(n=8)	糖尿病+EPO 干预组(n=9)
体重(g)	518.83 ± 21.39	515.25 ± 26.71	198.50 ± 18.24**	230.00 ± 15.34 [▲]
起始血糖(mmol/L)	4.58 ± 0.26	4.56 ± 38	4.70 ± 0.32	4.73 ± 0.29
终末血糖(mmol/L)	4.73 ± 0.22	4.65 ± 0.2	25.64 ± 2.44**	24.29 ± 1.13**
起始 RBC(10 ¹² /L)	8.18 ± 0.71	8.05 ± 0.45	8.32 ± 1.25	8.37 ± 0.99
终末 RBC(10 ¹² /L)	7.87 ± 0.87	7.95 ± 0.53	7.90 ± 0.95	7.98 ± 0.89
TG(mmol/L)	0.68 ± 0.10	0.60 ± 0.08	1.37 ± 0.27**	1.39 ± 0.30**
TC(mmol/L)	1.74 ± 0.10	1.78 ± 0.20	2.45 ± 0.26**	2.44 ± 0.30**
HDL-C(mmol/L)	1.23 ± 0.16	1.30 ± 0.23	0.8 ± 0.16**	0.74 ± 0.11**
LDL-C(mmol/L)	0.76 ± 0.11	0.74 ± 0.09	1.02 ± 0.13**	0.93 ± 0.09**

与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与正常+EPO 干预组比较,** $P < 0.01$;与糖尿病组比较,[▲] $P < 0.01$ 。

显下降($P < 0.01$)。与糖尿病组大鼠相比,糖尿病+EPO 干预组 GRP78 mRNA 表达明显减少 ($P < 0.01$),SERCA2a 和 EPOR mRNA 表达明显升高 ($P < 0.01$),且较正常对照组和正常+EPO 干预组高($P < 0.01$,图 2)。

2.4 EPO 对糖尿病大鼠左心室心肌组织 GRP78、SERCA2a 和 EPOR 蛋白表达的影响

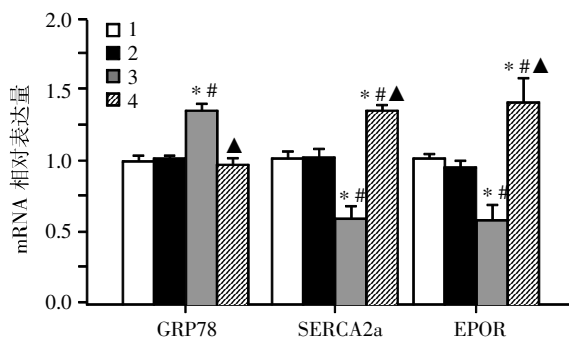
EPO 干预 12 周后,Western blot 检测,糖尿病组大鼠心肌组织 GRP78 蛋白表达较正常对照组和正常+EPO 干预组明显升高 ($P < 0.01$),SERCA2a 和 EPOR 蛋白表达较正常对照组和正常+EPO 干预组明显减少($P < 0.01$)。与糖尿病组相比,糖尿病+EPO 干预组 GRP78 表达明显下降 ($P < 0.01$),SERCA2a 和 EPOR 蛋白表达明显升高($P < 0.01$),且较正常组对照组和正常+EPO 干预组高($P < 0.01$,图 3)。免疫组化检测,EPOR 主要表达于心肌细胞膜。糖尿病组大鼠心肌组织 EPOR 表达较正常对照组和正常+EPO 干预组明显减少($P < 0.01$),与糖尿病组相比,糖尿病+EPO 干预组 EPOR 表达明显升高($P < 0.01$),与正常对

照组和正常+EPO 干预组比较,无没明显差异(图 4)。

3 讨论

糖尿病心肌病是糖尿病患者的主要心脏并发症之一,糖尿病心肌病是原发性的,而非继发于冠状动脉的供血障碍,容易发生充血性心力衰竭。本研究在 STZ 诱导的糖尿病大鼠模型中发现在持续高血糖和高血脂 12 周后,心脏超声结果显示糖尿病大鼠心脏 EF 明显下降、心室扩大,心体比增加,心功能明显下降。

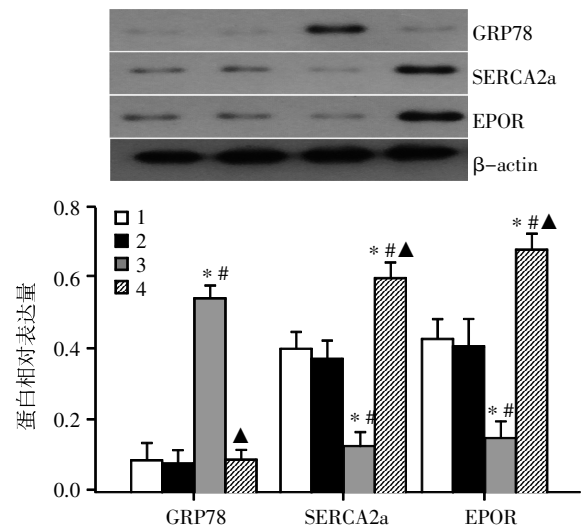
内质网是蛋白质加工成熟的主要场所,当内质网功能紊乱时,未折叠或错误折叠的蛋白质在内质网内堆积时便引起 ERS^[10]。GRP78 被视为 ERS 标记



1:正常对照组;2:正常+EPO 干预组;3:糖尿病组;4:糖尿病+EPO 干预组。与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与正常+EPO 干预组比较,** $P < 0.01$;与糖尿病组比较,[▲] $P < 0.01$ 。

图 2 EPO 对糖尿病大鼠左心室心肌组织 GRP78、SERCA2a 和 EPOR mRNA 表达的影响

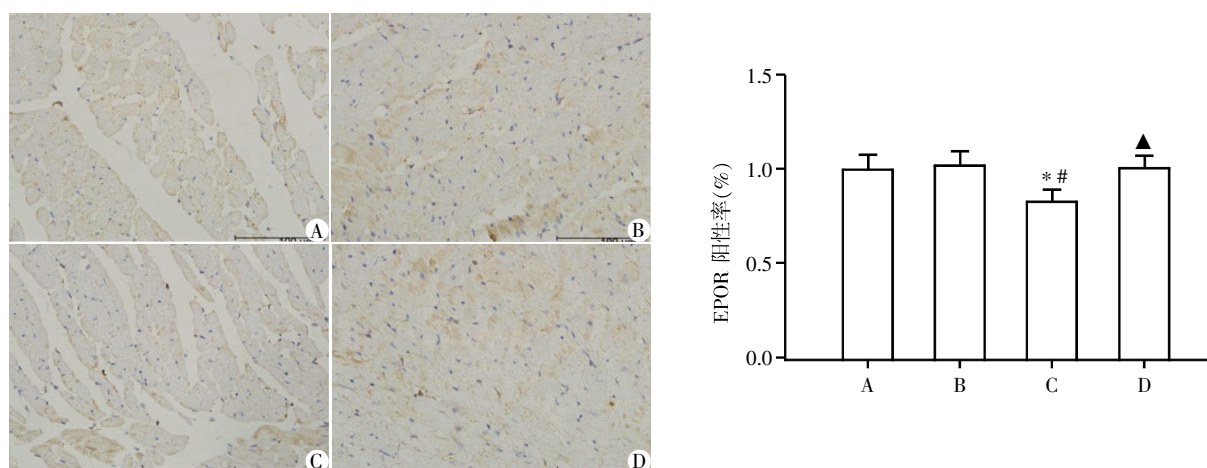
Figure 2 Effect of EPO on mRNA Level of GRP78, SERCA2a and EPOR in diabetic myocardial tissues



1:正常对照组;2:正常+EPO 干预组;3:糖尿病组;4:糖尿病+EPO 干预组。与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与正常+EPO 干预组比较,** $P < 0.01$;与糖尿病组比较,[▲] $P < 0.01$ 。

图 3 EPO 对糖尿病大鼠左心室心肌组织 GRP78、SERCA2a 和 EPOR 蛋白表达的影响

Figure 3 Effect of EPO on protein expression of GRP78, SERCA2a and EPOR in diabetic myocardial tissues



A: 正常对照组; B: 正常+EPO 干预组; C: 糖尿病组; D: 糖尿病+EPO 干预组。与正常组比较, * $P < 0.01$; 与正常+EPO 组比较, ^ $P < 0.01$; 与糖尿病组比较, # $P < 0.01$ 。

图 4 EPO 对糖尿病大鼠左心室心肌组织 EPOR 蛋白表达的影响 (免疫组化, $\times 400$)

Figure 4 Effect of EPO on protein expression of EPOR in diabetic myocardial tissues (Immunohistochemistry, $\times 400$)

物之一^[11]。本研究结果显示,糖尿病大鼠心肌组织 GRP78 mRNA 和蛋白表达显著增加,提示 ERS 参与了糖尿病心肌病的病理过程,可能是导致糖尿病心肌病功能障碍的原因之一。国外研究表明高血糖导致的 ERS 在糖尿病心肌病的发生和发展过程中起重要作用^[5]。

SERCA2a 是一类主要表达于心肌细胞肌浆网的跨膜蛋白,主要作用是在心脏舒张期将细胞浆中的 Ca^{2+} 泵入肌浆网内^[12]。本研究证明,糖尿病大鼠心肌 SERCA2a 表达明显下降,国外研究发现糖尿病大鼠 SERCA2a 蛋白表达下降可能与蛋白糖基化和泛素化有关^[13-14],SERCA2a 表达下调是导致糖尿病心肌病的重要原因。而 Craig 等^[15]发现 Exendin-4 可以通过减轻高糖环境下心肌细胞 ERS,增加 SERCA2a 表达,改善心肌细胞的收缩舒张功能。

以往认为,EPOR 仅存在于早期红系细胞,而近年来研究发现,在很多非造血组织和细胞中,如心血管系统、神经系统、肾脏等也有 EPOR 表达^[16]。EPOR 在非造血组织和细胞中的功能和作用机制研究已成为热点。Weng 等^[17]在心肌梗死大鼠模型中发现,EPOR 可以通过减轻 ERS,从而减少钙超负荷,减少心肌细胞凋亡,达到心脏保护作用。Kong 等^[18]研究表明,在肾脏组织,EPOR 可以减轻 ERS 诱导的凋亡,可能通过 PI3K/Akt 途径减少药物引起的急性肾损伤。还有学者发现,EPOR 通过减轻 ERS,对脊髓损伤的大鼠、Gaucher 病患者神经系统起到保护作用^[19]。本研究首次揭示了 EPOR 在不影响血糖的情况下,可显著减少糖尿病大鼠左心室心肌组织 GRP78 mRNA 和蛋白表达,减轻 ERS,保护心脏功

能。关于 EPOR 是否对血糖产生影响,目前存在一定争议,Choi 等^[20]在 STZ 诱导的 C57BL/6 小鼠糖尿病模型中发现 EPOR 可以通过促进胰岛 β 细胞增殖和抑制凋亡增强胰岛 β 细胞功能,从而达到降低血糖的作用;在 db/db 小鼠模型中,EPOR 可以抑制胰岛 β 细胞凋亡达到降低血糖的作用。而 Gu^[21]在 STZ 诱导的 SD 大鼠糖尿病视网膜病变中没有发现 EPOR 具有降低血糖的作用,本课题组前期研究亦没有发现 EPOR 具有降低糖尿病大鼠血糖的作用^[9],推测不同研究结果的产生可能与动物模型的品种、EPOR 剂量不同有关,这一点将在以后的实验中进一步论证。本研究结果还显示,EPOR 干预后,糖尿病大鼠心肌组织中 EPOR 表达增加,且主要表达于心肌细胞膜,由此推断在糖尿病大鼠心肌模型中,EPOR 通过促进 EPOR 表达上调,激活 EPOR-EPOR 信号通路,减轻糖尿病大鼠心肌 ERS,增加 SERCA2a 表达,发挥保护糖尿病大鼠心功能的作用。

本实验不足之处是没有使用 EPOR 阻断剂,不能观察 EPOR 阻断剂能否逆转 EPOR 减轻 ERS 的作用。而且 EPOR 减弱糖尿病大鼠 ERS 的机制也有待进一步探索。

[参考文献]

- [1] Wang LJ, Li J, Li DJ. Losartan reduces myocardial interstitial fibrosis in diabetic cardiomyopathy rats by inhibiting JAK/STAT signaling pathway[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(1):466-473
- [2] Liu X, Liu C, Zhang X, et al. Urocortin ameliorates diabetic cardiomyopathy in rats via the Akt/GSK-3 β signaling pathway[J]. Expe Ther Med, 2015, 9(3):667-674

- [3] Miki T, Yuda S, Kouzu H, et al. Diabetic cardiomyopathy: pathophysiology and clinical features[J]. *Heart Fail Rev*, 2013, 18(2): 149-166
- [4] Liu X, Xu Q, Wang X, et al. Irbesartan ameliorates diabetic cardiomyopathy by regulating protein kinase D and ER stress activation in a type 2 diabetes rat model[J]. *Pharmacol Res*, 2015, 93(1): 43-51
- [5] Liu J, Liu Y, Chen L, et al. Glucagon-like peptide-1 analog liraglutide protects against diabetic cardiomyopathy by the inhibition of the endoplasmic reticulum stress pathway[J]. *J Diabetes Res*, 2013, 2013: 630537
- [6] Lu Y, Liu Y, Li H, et al. Effect and mechanisms of zinc supplementation in protecting against diabetic cardiomyopathy in a rat model of type 2 diabetes[J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2015, 15(1): 14-20
- [7] Cnop M, Foufelle F, Velloso LA. Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes[J]. *Trends Mole Medicine*, 2012, 18(1): 59-68
- [8] Yu N, Liu J, Yi G, et al. DNA methylation is necessary for erythropoietin to improve spatial learning and memory in SAMP8 mice[J]. *Exp Gerontology*, 2015, 69: 111-115
- [9] Lu J, Yao YY, Dai QM, et al. Erythropoietin attenuates cardiac dysfunction by increasing myocardial angiogenesis and inhibiting interstitial fibrosis in diabetic rats[J]. *Cardiovas Diabetol*, 2012, 11: 105
- [10] Hetz C. The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond[J]. *Nat Rev Mol Cell Biology*, 2012, 13(2): 89-102
- [11] Kooptiwut S, Mahawong P, Hanchang W, et al. Estrogen reduces endoplasmic reticulum stress to protect against glucotoxicity induced-pancreatic beta-cell death [J]. *J Steroid Biochemis Mole Biol*, 2014, 139(1): 25-32
- [12] Arioglu-Inan E, Ozakca I, Kayki-Mutlu G, et al. The role of insulin-thyroid hormone interaction on beta-adrenoceptor-mediated cardiac responses[J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 718(1-3): 533-543
- [13] Kranstuber AL, Del Rio C, Biesiadecki BJ, et al. Advanced glycation end product cross-link breaker attenuates diabetes-induced cardiac dysfunction by improving sarcoplasmic reticulum calcium handling[J]. *Front Physiol*, 2012, 3: 292
- [14] Takada A, Miki T, Kuno A, et al. Role of ER stress in ventricular contractile dysfunction in type 2 diabetes[J]. *PloS one*, 2012, 7(6): e39893
- [15] Younce CW, Burmeister MA, Ayala JE. Exendin-4 attenuates high glucose-induced cardiomyocyte apoptosis via inhibition of endoplasmic reticulum stress and activation of SERCA2a[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 304(6): C508-C518
- [16] Sargin D, Friedrichs H, El-Kordi A, et al. Erythropoietin as neuroprotective and neuroregenerative treatment strategy: comprehensive overview of 12 years of preclinical and clinical research [J]. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2010, 24(4): 573-594
- [17] Weng S, Zhu X, Jin Y, et al. Protective effect of erythropoietin on myocardial infarction in rats by inhibition of caspase-12 expression [J]. *Exp Ther Med*, 2011, 2(5): 833-836
- [18] Kong D, Zhuo L, Gao C, et al. Erythropoietin protects against cisplatin-induced nephrotoxicity by attenuating endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis [J]. *J Nephrol*, 2013, 26(1): 219-227
- [19] Hong Z, Hong H, Chen H, et al. Protective effects of erythropoietin in experimental spinal cord injury by reducing the C/EBP-homologous protein expression [J]. *Neurol Res*, 2012, 34(1): 85-90
- [20] Choi D, Schroer SA, Lu SY, et al. Erythropoietin protects against diabetes through direct effects on pancreatic beta cells [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(13): 2831-2842
- [21] Gu L, Xu H, Wang F, et al. Erythropoietin exerts a neuroprotective function against glutamate neurotoxicity in experimental diabetic retina [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(12): 8208-8222

[收稿日期] 2015-10-22