

## • 论著 •

重组人红细胞生成素对脑出血大鼠血肿周围肿瘤坏死因子- $\alpha$ 的影响罗章坤<sup>1</sup> 赵睿<sup>2</sup> 李作孝<sup>3</sup>

1. 宜宾市第一人民医院神经内科, 四川省宜宾市 644000

2. 宜宾市第二人民医院神经内科, 四川省宜宾市 644000

3. 四川医科大学附属第一医院神经内科, 四川省泸州市 646000

**摘要:** 目的 分析重组人红细胞生成素 (rhEPO) 对脑出血 (ICH) 大鼠神经功能障碍评分变化及血肿周围肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 含量的影响, 探讨重组人红细胞生成素对大鼠脑出血后血肿周围脑组织的保护作用。方法 将90只SD雄性大鼠随机分成假手术组、ICH对照组及rhEPO治疗组, 每组30只。对三组大鼠术后各个时间点神经功能障碍进行评分并比较, 采用放射免疫法测定不同时点血肿周围脑组织TNF- $\alpha$ 含量并比较。结果 ICH对照组在12 h、1 d、2 d、3 d、7 d和14 d的神经功能障碍评分显著低于假手术组相应时间点的评分, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); rhEPO治疗组在12 h、1 d、2 d、3 d和7 d的神经功能障碍评分显著低于假手术组相应时间点的评分, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); rhEPO治疗组在2 d、3 d和7 d的神经功能障碍评分显著高于ICH对照组相应时点的评分, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。ICH对照组在12 h、1 d、2 d和3 d的TNF- $\alpha$ 含量显著高于假手术组相应时点的TNF- $\alpha$ 含量, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); rhEPO治疗组在1 d和2 d的TNF- $\alpha$ 含量显著高于假手术组相应时点的TNF- $\alpha$ 含量, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); rhEPO治疗组在1 d、2 d的TNF- $\alpha$ 含量显著低于ICH对照组相应时点的TNF- $\alpha$ 含量, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**结论** rhEPO可减少ICH大鼠血肿周围TNF- $\alpha$ 含量, 改善其神经功能, 对ICH后脑损害具有保护作用。

**关键词:** 重组人红细胞生成素; 脑出血; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 血肿周围组织; 大鼠

## Effect of recombinant human erythropoietin on tumor necrosis factor- $\alpha$ in perihematomal tissues in rats with intracerebral hemorrhage

LUO Zhang-Kun, ZHAO Rui, LI Zuo-Xiao. Department of Neurology, The First People's Hospital of Yibin, Yibin, Sichuan 644000, China  
Corresponding author: LI Zuo-Xiao, E-mail: lzx3235@sina.com

**Abstract:** **Objective** To investigate the effect of recombinant human erythropoietin (rhEPO) on neurological dysfunction score and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in perihematomal tissues in rats with intracerebral hemorrhage (ICH), as well as the protective effect of rhEPO on perihematomal brain tissues after ICH in rats. **Methods** A total of 90 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into sham-operation group, ICH control group, and rhEPO treatment group, with 30 in each group. The neurological dysfunction score at each time point after the surgery was obtained and compared across the three groups, and radioimmunoassay was used to measure the content of TNF- $\alpha$  in perihematomal brain tissues at different time points. **Results** Compared with the sham-operation group, the ICH control group had significantly lower neurological dysfunction scores at 12 hours and on days 1, 2, 3, 7, and 14 ( $P < 0.05$ ). Compared with the sham-operation group, the rhEPO treatment group had significantly lower neurological dysfunction scores at 12 hours and on days 1, 2, 3, and 7 ( $P < 0.05$ ). Compared with the ICH control group, the rhEPO treatment group had significantly higher neurological dysfunction scores on days 2, 3, and 7 ( $P < 0.05$ ). The ICH control group had a significantly higher content of TNF- $\alpha$  at 12 hours and on days 1, 2, and 3 than the sham-operation group ( $P < 0.05$ ). The rhEPO treatment group had a significantly higher content of TNF- $\alpha$  on days 1 and 2 than the sham-operation group ( $P < 0.05$ ). The rhEPO treatment group had a significantly lower content of TNF- $\alpha$  on days 1 and 2 than the ICH control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The rhEPO can reduce the content of TNF- $\alpha$  in perihematomal tissues in rats with ICH, improve their neurological function, and exert a protective effect against brain damage after ICH.

**Key words:** recombinant human erythropoietin; intracerebral hemorrhage; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; perihematomal tissue; rats

收稿日期: 2015-10-12; 修回日期: 2016-01-20

作者简介: 罗章坤(1980-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事脑血管病的研究。

通讯作者: 李作孝(1964-), 男, 硕士, 主任医师, 主要从事神经免疫的研究。

脑出血 (intracerebral hemorrhage, ICH) 是临床常见病,该病病情凶险,除疾病初期血肿直接压迫等损害外,继发性脑损害也是 ICH 致残、致死的主要原因,ICH 后病情恶化涉及到继发的炎症反应、脑水肿、周围组织能量代谢紊乱等。近年来,对脑出血所造成的脑损伤的研究不少<sup>[1-3]</sup>。促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 属于激素类药物,对于机体内的红细胞生成有很大的调节作用。近年来对 EPO 的研究并不少,结果都提示其是一种生长因子,且具有多种活性。过往的一些研究结果显示,EPO 在机体缺血缺氧的时候能够对细胞的生存能力有所提升,对局部炎症反应有所减轻,所以其具有保护血管内皮细胞核神经细胞的功能,可以避免细胞的过度凋亡<sup>[4]</sup>。近年来的研究认为 ICH 后,血肿周围有炎症反应的存在,导致细胞凋亡和兴奋性氨基酸数量明显上升,所以 ICH 后损伤中最为关键的一个环节就是炎症反应<sup>[1]</sup>。而促红细胞生成素对于炎症细胞因子的释放和炎症细胞的浸润都有减轻的作用,促进内源性保护机制抗炎<sup>[5]</sup>。既往研究表明,在缺血性再灌注损伤的大鼠模型中 rhEPO 预处理可明显降低缺血再灌注损伤后的 NF- $\kappa$ B 和 AP-1 的活性,并降低血液中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的水平<sup>[6]</sup>。本研究通过观察 rhEPO 对脑出血大鼠神经功能障碍评分及血肿周围 TNF- $\alpha$  的影响,探讨 rhEPO 对脑出血的治疗作用及机制,为寻求 ICH 新药提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

泸州医学院实验动物中心提供的 SD 健康雄性大鼠,90 只,体质量 170 ~ 250 g,平均 (210 ± 45) g,雌雄对半,2 ~ 18 月龄,培养环境噪音 (40 ± 10) 分贝,温度 (20 ± 3) °C。

### 1.2 试剂

南京建成生物工程研究所提供的肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 试剂盒;深圳新鹏生物工程有限公司提供的重组人红细胞生成素 (rhEPO)。

### 1.3 方法

1.3.1 动物分组 将 90 只 SD 大鼠分为假手术组、ICH 对照组和 rhEPO 治疗组三组,每组 30 只。均经手术操作后于术后 12 h、1 d、2 d、3 d、7 d 和 14 d 进行观察,每个时间点 5 只大鼠。

1.3.2 建立大鼠 ICH 模型 ICH 对照组、rhEPO 治疗组:两组造模方式相同。检测大鼠的体重后,

注射戊巴比妥钠 40 mg/kg 进行腹腔麻醉,取俯卧位固定于立体定向仪上。手术刀将颅部皮肤切开,找到前囟及冠状缝后钻孔,钻孔的位置为在中线右侧旁开 3 mm,前囟前 0.2 mm 附近。钻孔时注意尽量保护脑组织。钻孔成功后在已钻好的孔内迅速注入事先采用微量注射仪量取的 50  $\mu$ l 大鼠自体不凝血,之后向内进针至尾状核部位附近 (约 6 mm),控制好注血速度 (约为 10  $\mu$ l/min),留针 10 min 后缓慢退针,推针时间 30 s 以上。退出针后钻孔采用骨蜡封闭,采用手术线将头皮缝合。假手术组:钻孔的方法与 ICH 对照组、rhEPO 治疗组相同,唯一不同的时不注入自体血。三组进行造模时均需保持无菌操作过程。

1.3.3 模型成功评价 根据 Berderson 等<sup>[7]</sup>的评定方法分为四级:0 级:未有神经缺失症状。1 级:将大鼠尾巴提起,瘫痪侧前肢回收屈曲于腹下,正常侧前肢向地面伸展。2 级:除 1 级体征外,向瘫痪侧推大鼠时阻力较对侧明显降低。3 级:除以上体征外,大鼠有向瘫痪侧旋转的行为。

手术后 2 h 对大鼠神经症状进行评定,神经症状达 1、2、3 级判断为模型成功,否则均剔除实验,即刻进行尸解观察失败原因并另取动物补充。

1.3.4 给药方法 ICH 对照组:大鼠在造模成功后每天采用生理盐水腹腔注射,1 ml/次,1 次/d,直到第 6 个观察时间点处死为止。

rhEPO 治疗组:大鼠于造模成功后腹腔注射 rhEPO,配置浓度为 3000 u/kg/d 的 rhEPO 加入 1 ml 生理盐水中,1 次/d,直到第 6 个观察时间点处死为止。

假手术组:大鼠在造模成功后每天采用生理盐水腹腔注射,1 ml/次,1 次/d,直到第 6 个观察时间点处死为止。

1.3.5 神经功能障碍评分 三组大鼠于术后 12 h、1 d、2 d、3 d、7 d 和 14 d 进行神经功能障碍评分测定,标准参照按 Garcia 等<sup>[8]</sup>的方法 (见表 1),满分 18 分,分数越低,神经功能损伤越严重。

1.3.6 TNF- $\alpha$  含量检测取材 三组大鼠于术后第 14 天腹腔镜麻醉 (注射过量 1% 戊巴比妥钠) 处死,断头后再次开颅取脑组织,将小脑和脑干去除,以针孔为中心,作冠状切开,收集血肿周围 2 mm 左右脑组织,切取后电子天平称重,放入盛有 PBS 的试管中,放置于 -80 °C 冰箱中保存,以用于批量检测 TNF- $\alpha$ 。

表1 大鼠神经功能障碍评分试验

评分(分)	自发活动(在笼中5min)	对称运动(四肢)	前肢对称外展(提尾)	爬铁笼壁	躯干对钝棒触及的反应	触须对钝棒触及的反应
0	不运动	左边不运动	左边不动不外展			
1	轻微运动	左边稍微运动	左边稍微运动外展	爬壁失败	左边无反应	左边无反应
2	运动但接触<3个笼壁	左边缓慢运动	左边运动但较右边外展少	左边爬壁差	左边反应差	左边反应差
3	运动但接触≥3个笼壁以上	两边对称运动	对称外展	正常爬壁	两边对称反应	两边对称反应

1.3.7 TNF- $\alpha$  含量的测定 玻璃匀浆器中放入事先准备好的脑组织,加入适量生理盐水,进行研磨,获得均匀的研磨组织。然后将研磨好的组织中加入适量生理盐水配成3%脑组织匀浆,离心机离心,10 min后取出离心后的匀浆液,采用移液管取上清液,放置于-20℃冰箱中低温保存,统一检测。采用放射免疫法测定TNF- $\alpha$ ,由经过培训的专业实验人员进行操作。

#### 1.4 统计学方法

统计学软件版本为SPSS 15.0,计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示;多组间比较采用方差分析。取双侧 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 三组大鼠术后各时间点神经功能障碍评分比较

假手术组在术后1 d、2 d、3 d、7 d和14 d的神

经功能障碍评分与术后12 h相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。ICH对照组在12 h、1 d、2 d、3 d、7 d和14 d的神经功能障碍评分显著低于假手术组相应时间点的评分,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );在ICH对照组各时间点中,2 d和3 d的神经功能障碍评分低于其他各时间点,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但2 d与3 d之间的神经功能障碍评分相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。rhEPO治疗组在12 h、1 d、2 d、3 d和7 d的神经功能障碍评分显著低于假手术组相应时间点的评分,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );rhEPO治疗组在2 d、3 d和7 d的神经功能障碍评分显著高于ICH对照组相应时点的评分,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );在rhEPO治疗组各时间点中,2 d和3 d的神经功能障碍评分低于其他各时间点,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但2 d与3 d的神经功能障碍评分相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表2。

表2 三组大鼠术后各时点神经功能障碍评分 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间点					
	12 h	1 d	2 d	3 d	7 d	14 d
rhEPO治疗组	8.21 $\pm$ 0.56 <sup>▲</sup>	8.03 $\pm$ 0.67 <sup>▲</sup>	6.32 $\pm$ 0.78 <sup>▲★</sup>	6.79 $\pm$ 1.44 <sup>▲★</sup>	11.45 $\pm$ 0.76 <sup>▲★</sup>	16.46 $\pm$ 0.89
假手术组	16.21 $\pm$ 0.43	16.23 $\pm$ 0.54	7.22 $\pm$ 0.89 <sup>▲●</sup>	17.12 $\pm$ 0.73	16.78 $\pm$ 0.32	17.34 $\pm$ 0.98
ICH对照组	7.59 $\pm$ 0.55 <sup>▲●</sup>	16.78 $\pm$ 0.66	4.12 $\pm$ 0.78 <sup>▲</sup>	4.59 $\pm$ 0.38 <sup>▲</sup>	7.76 $\pm$ 0.78 <sup>▲●</sup>	14.34 $\pm$ 0.51 <sup>▲●</sup>
F	211.121	259.453	352.431	255.965	180.554	31.332
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:★为rhEPO治疗组与ICH对照组比较, $P < 0.05$ ;▲为ICH对照组、rhEPO治疗组与假手术组比较, $P < 0.05$ ;●为在ICH对照组,其它时间点与2 d相比, $P < 0.05$ ; 为在rhEPO治疗组,其它时间点与2 d相比, $P < 0.05$ 。

### 2.2 三组大鼠血肿周围肿瘤TNF- $\alpha$ 含量的变化比较

假手术组在术后1 d、2 d、3 d、7 d和14 d的TNF- $\alpha$ 含量与术后12 h相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。ICH对照组在12 h、1 d、2 d和3 d的TNF- $\alpha$ 含量显著高于假手术组相应时间点的含量,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );ICH对照组在12 h、1 d、2 d和3 d的TNF- $\alpha$ 含量高于其他时间点,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );其中以2 d时最高,但与12 h、1 d和3 d的含量相比,差异无统

计学意义( $P > 0.05$ )。rhEPO治疗组在1 d和2 d的TNF- $\alpha$ 含量显著高于假手术组相应时间点的含量,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );rhEPO治疗组在1 d和2 d的TNF- $\alpha$ 含量显著低于ICH对照组相应时间点的含量,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );rhEPO治疗组12 h、1 d、2 d和3 d时的TNF- $\alpha$ 含量高于其他时点,差异有统计学意义量( $P < 0.05$ );其中以2 d时最高,但与12 h、1 d和3 d时间点的含量相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表3。

表 3 三组大鼠术后各时间点 TNF- $\alpha$  含量 (ng/ml;  $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间点					
	12 h	1 d	2 d	3 d	7 d	14 d
rhEPO 治疗组	1.24 $\pm$ 0.21	1.34 $\pm$ 0.15 <sup>▲★</sup>	1.40 $\pm$ 0.15 <sup>▲★</sup>	1.29 $\pm$ 0.13	1.18 $\pm$ 0.15	1.15 $\pm$ 0.12
假手术组	1.03 $\pm$ 0.12	1.12 $\pm$ 0.34	1.18 $\pm$ 0.11 <sup>●</sup>	1.13 $\pm$ 0.12	1.09 $\pm$ 0.21	1.08 $\pm$ 0.22
ICH 对照组	1.39 $\pm$ 0.12 <sup>▲</sup>	1.55 $\pm$ 0.14 <sup>▲</sup>	1.52 $\pm$ 0.11 <sup>▲</sup>	1.40 $\pm$ 0.12 <sup>▲</sup>	1.29 $\pm$ 0.10 <sup>●</sup>	1.23 $\pm$ 0.15 <sup>●</sup>
<i>F</i>	6.245	14.124	15.563	7.343	5.322	3.151
<i>P</i>	0.009	0.001	0.000	0.008	0.024	0.085

注: ★为 rhEPO 治疗组与 ICH 对照组比较  $P < 0.05$ ; ▲为 ICH 对照组、rhEPO 治疗组与假手术组比较  $P < 0.05$ ; ●为在 ICH 对照组,其它时间点与 2 d 相比  $P < 0.05$ ; 为在 rhEPO 治疗组,其它时间点与 2 d 相比  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

ICH 后脑组织自身存在损伤和修复过程,目前对其损伤机制的研究较多。脑出血后的损伤机制和局部脑血流量下降,脑水肿、炎性细胞浸润、细胞坏死或是凋亡、反应性星型胶质细胞增生等因素有关。尽管目前临床实践和动物实践都可以证实 ICH 后神经功能可以得到缓慢的恢复,但是这种报道还不多见。目前很多的研究报道认为,重组人红细胞生成素对脑出血后脑损伤有保护性作用,秦志华的研究将 Wistar 大鼠脑出血的模型,采用免疫组化方法检测脑出血周围脑组织 NF- $\kappa$ B 和 MMP-9 表达的情况,结果发现与假手术组相比,模型组各时间点出血周围脑组织的 NF- $\kappa$ B 和 MMP-9 表达均明显增加,与模型组相比,rhEPO 组出血周围脑组织 NF- $\kappa$ B 和 MMP-9 明显下降<sup>[14]</sup>。徐峰等<sup>[15]</sup>采用改进的 Feeney 氏法制作脑创伤模型进行研究,结果发现 rhEPO 可以抑制神经细胞凋亡,对大鼠创伤性脑损伤具有保护作用。本研究的目标就是探讨 rhEPO 对大鼠脑出血后血肿周围脑组织的保护作用。实验方法就是采用大鼠进行造模。ICH 实验研究的前提是制备稳定、准确的动物模型。本研究采用自体血注入 ICH 模型。在制作动物模型的过程中利用立体定向仪在固定位置钻孔,直接注入动脉血,模拟了人体 ICH 的病理生理过程,是目前制作 ICH 模型最为常用的方法。通过此种方法制作模型由于取自字体非肝素化自体血,可观察血液凝固过程中释放的活性物质对脑组织及脑循环的影响,而且还能控制注血量做分级实验性,非常适合研究后活性物质在脑损伤中的作用<sup>[9]</sup>。

TNF- $\alpha$  的细胞来源广泛,主要由激活的巨噬细胞或单核细胞分泌的炎性细胞因子,可以促进 T 细胞产生各种炎症因子,进而促进炎症反应的发生,是机体炎症及免疫应答的重要调节因子,还具有抗肿瘤、参与内毒素性休克等病理过程。有研究认为

ICH 后 TNF- $\alpha$  升高可诱导继发性脑损伤,其可能是通过以下途径进行的:①经内皮细胞激活作用促成凝血状态和血管收缩。②TNF- $\alpha$  可激活磷脂酶 A,可引起脂质过氧化物及氧自由基释放并诱导花生四烯酸代谢物的释放并严重损害细胞膜。因此,脑血管病血管源性脑水肿形成的原因可能与 TNF- $\alpha$  的增高有关。③调节 ICAM-1 表达,引发血管的炎症反应。④影响血管舒缩物质的表达,增加脑缺血损害和局部卒中的风险性。⑤TNF- $\alpha$  的升高影响了星形细胞钙离子的稳态,星形细胞清除谷氨酸的能力下降。而促进炎症反应的两个主要的细胞因子就是而 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$ 。TNF- $\alpha$  能可一步诱导刺激 IL-6、IL-8、IL-1 $\beta$  等细胞因子和黏附分子的产生,引发机体内的急性炎症性反应,而且还能促进缺血区被中性粒细胞进入,血脑屏障被破坏,神经干细胞和星形胶质细胞得到增生,神经细胞损伤,引起脑细胞肿胀和变性<sup>[10,11]</sup>。

促红细胞生成素作为第一代的红系造血刺激剂,用来增加贫血患者体内的红细胞数量,用以改善贫血状况。二十世纪八十年代开始,人们开始利用基因工程技术大规模生产重组人促红细胞生成素(recombinant human erythropoietin, rhEPO),重组人促红细胞生成素和内源性促红素类似,具有相同的生理功能,有研究显示,EPO 可以在缺血缺氧情况下,减轻集体炎症反应,保护神经细胞和血管内皮细胞,阻止细胞凋亡。并且能够使得炎症因子释放减少,从而抗炎。Villa 等<sup>[12]</sup>报道 EPO 能显著减少脑梗死区内的致炎因子如干扰素 2 $\gamma$ 、TNF2 $\alpha$ 、IL26 等的释放,减轻炎性细胞如星形细胞及小胶质细胞的浸润。Brines 等<sup>[4]</sup>报道在鼠实验性的自身免疫性脑脊髓炎及鼠钝器脑外伤模型中,EPO 能明显减轻神经炎症反应。Patel 等报道 EPO 预处理能减少肾缺血/再灌注损伤中白细胞的浸润。Fiocchetti 等<sup>[16]</sup>研究肝缺血/再灌注损伤时发现 EPO 预处理能减

少血 TNF $\alpha$ 、IL-2 从而减轻肝脏的组织病理损害。国外有学者的研究显示, rhEPO 阻止脑损伤后白细胞和小胶质细胞进入损伤区域, 减少炎症细胞因子浸润<sup>[12]</sup>。

本实验结果显示, 假手术组在术后各时点神经功能评分未见显著性差异; 但 ICH 对照组在 12 h、1 d、2 d、3 d、7 d、14 d 的神经功能障碍评分显著低于假手术组的各相应时点评分; rhEPO 治疗组术后 12 h、1 d、2 d、3 d、7 d、14 d 的神经功能障碍评分显著低于假手术组各相应时点的评分; rhEPO 治疗组在 2 d、3 d、7 d 的神经功能障碍评分显著高于 ICH 对照组的各相应时点的评分; 进而 ICH 对照组在 2 d 和 3 d 的神经功能障碍评分功能显著下降, 可能机制是因为 ICH 对照组大鼠神经细胞内的尼氏体丢失明显, 脑组织血肿周围的肿瘤坏死因子在脑出血后 6h 开始表达, 随时间延长而增加, 到 2 d 后到达峰值, 蛋白表达变化逐渐显著, 这些参与出血性脑水肿的病理过程, 导致了神经功能障碍评分的降低。

rhEPO 能改善大鼠 ICH 后神经功能缺失症状。假手术组在术后 12 h、1 d、2 d、3 d、7 d 和 14 d 时点 TNF- $\alpha$  含量未见显著性差异; ICH 对照组 TNF- $\alpha$  含量显著高于假手术组各相应时间点的水平。rhEPO 治疗组 TNF- $\alpha$  含量显著高于假手术组各相应时点的水平; rhEPO 治疗组 TNF- $\alpha$  含量显著低于 ICH 对照组各相应时点的水平。提示 ICH 后伴随着 TNF- $\alpha$  含量升高, rhEPO 能降低 ICH 后 TNF- $\alpha$  含量。说明 ICH 后血肿周围脑组织出现比较典型的炎症反应, 而 rhEPO 能够抑制炎症细胞因子的分泌和释放, 减轻脑组织损伤, 降低神经功能障碍的发生。

综上所述, rhEPO 可减少 ICH 大鼠血肿周围 TNF- $\alpha$  含量, 改善其神经功能, 对 ICH 后脑损害具有保护作用。另外新的 EPO 衍生物较 EPO 本身具有更直接的神经保护作用, 且经试验证实无任何造血活动, 这也就是说这种衍生物可保护神经系统而又不产生不良效果<sup>[13]</sup>。因此, 我们推测 EPO 及其衍生物在临床上可用于神经功能的保护。

#### 参 考 文 献

- [1] Cotena S, Piazza O, Tufano R. The use of erythropoietin in cerebral diseases. *Panminerva Med*, 2008, 50: 185-192.
- [2] Xi G, Keep RF, Hoff JT. Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage. *Lancet Neurol*, 2006, 5: 53-63.
- [3] Nagatsuna T, Nomura S, Suehiro E, et al. Systemic administration of argatroban reduces secondary brain damage in a rat model of intracerebral hemorrhage. *Cerebrovasc Dis*, 2005, 19: 192-200.
- [4] Brines M, Cerami A. Discovering erythropoietin's extrahematopoietic functions: biology and clinical promise. *Kidney Int*, 2006, 70(2): 246-250.
- [5] Gorio A, Gokmen N, Erbayraktar S, et al. Recombinant human erythropoietin counteracts secondary injury and markedly enhances neurological recovery from experimental spinal cord trauma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 9450-9455.
- [6] Liu X, Xie W, Liu P, et al. Mechanism of the cardioprotection of rhEPO pretreatment on suppressing the inflammatory response in ischemia-reperfusion. *Life Sci*, 2005, 9: 53.
- [7] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*, 1986, 17(3): 472-476.
- [8] Garcia JH, Wagner S, Liu KF, et al. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats: statistical validation. *Stroke*, 1995, 26(4): 627-635.
- [9] Wagner KR, Xi G, Hua Y, et al. Early metabolic alterations in edematous perihematomal brain regions following experimental intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg*, 1998, 88(6): 1058-1065.
- [10] Farkas G, Marton J, Nagy Z, et al. Experimental acute pancreatitis results in increased blood-brain barrier Permeability in the rat: a potential role for tumor necrosis factor and interleukin 6. *Neurosci Lett*, 1998, 242(3): 147-150.
- [11] Mannel DN, Echtenacher B. TNF in the inflammatory response. *Chem Immunol*, 2000, 74: 141-161.
- [12] Villa P, Bigini P, Mennini T, et al. Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *J Exp Med*, 2003, 198: 971-975.
- [13] Siren AL, Fasshauer T, Bartels C, et al. Therapeutic potential of erythropoietin and its structural or functional variants in the nervous system. *Neurotherapeutics*, 2009, 6(1): 108-127.
- [14] 秦志华. 重组人促细胞生成素对大鼠脑出血后不同时期核因子- $\kappa$ B 及基质金属蛋白酶-9 表达的影响. *中国临床药理学杂志*, 2010, 26(10): 768-771.
- [15] 徐峰, 周永志, 张世明. 重组人促红细胞生成素对大鼠创伤性脑损伤细胞凋亡的影响. *苏州大学学报(医学版)*, 2008, 28(4): 556-558.
- [16] Fiocchetti M, De Marinis E, Ascenzi P, et al. Neuroglobin and Neuronal cell survival. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1834(9): 1744-1749.