

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.005

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.005

PAK1-nNOS-NO 信号通路在有氧运动减轻压力负荷小鼠心肌肥厚中的作用及其机制

冯品, 楚轶, 曾迪, 张薇

(第四军医大学唐都医院心内科, 西安 710038)

[摘要] 目的: 有氧运动减轻压力负荷小鼠心肌肥厚中PAK1-nNOS-NO发挥的作用及机制。方法: 将C57BL/6小鼠通过主动脉缩窄术(transverse aortic constriction, TAC)建立小鼠压力负荷模型, 通过游泳对其进行有氧运动干预。将小鼠随机分为5组: 假手术(SHAM), SHAM+有氧运动(SHAM+E), TAC, TAC+有氧运动(TAC+E)和TAC+有氧运动+IPA-3(TAC+E+I)组。通过小鼠心脏重量指数(heart weight to body weight ratio, HW/BW)变化和心脏结构变化评价心脏肥大程度, 心肌组织麦胚凝集素染色评价心肌细胞肥大程度; ELISA试剂盒检测心肌组织NO水平, MDA含量和SOD活性。Western印迹检测p-PAK1, eNOS, p-eNOS Ser114, nNOS和p-nNOS Ser1412蛋白表达水平。结果: 随着术后时间的延长, 与SHAM组相比, TAC组HW/BW、左室质量(left ventricular mass, LVM)、左室后壁厚度(left ventricular posterior wall thickness, LVPWS)以及室间隔厚度(interventricular septal thickness, IVSS)显著增加, 心肌细胞肥大, MDA含量增高, SOD活性降低, 但p-PAK1蛋白含量和NO水平却显著降低。有氧运动后, TAC+E组与TAC组相比HW/BW和LVM降低, 心肌细胞肥大程度减轻, 组织MDA含量减少, SOD活性升高, p-PAK1表达增加, NO水平升高。而给予PAK1抑制剂IPA-3后, 与TAC+E组相比, 运动训练对心肌肥厚的作用减弱。TAC小鼠eNOS和nNOS表达增高, p-nNOS Ser1412和p-eNOS Ser114表达降低。运动训练可上调nNOS, p-nNOS Ser1412和p-eNOS Ser114表达; 而注射IPA-3后, TAC+E+I小鼠与TAC+E小鼠相比, nNOS和p-nNOS Ser1412表达降低, eNOS和p-eNOS Ser114蛋白表达水平无明显改变。结论: PAK1-nNOS-NO信号可能是介导有氧运动减轻压力负荷小鼠心肌肥厚作用的关键信号通路。

[关键词] 心肌肥厚; 有氧运动; 一氧化氮; PAK1

Aerobic exercise attenuates pressure overload-induced cardiac hypertrophy through regulating PAK1-nNOS-NO signalling in mice

FENG Pin, CHU Yi, ZENG Di, ZHANG Wei

(Department of Cardiology, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China)

收稿日期 (Date of reception): 2017-07-27

通信作者 (Corresponding author): 楚轶, Email: chuyi5702@163.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81470537, 31400832)。This work was supported by National Natural Science Foundation of China (81470537, 31400832).

Abstract **Objective:** To clarify the role of PAK1 involved in the cardioprotective effect of aerobic exercise and the precise mechanism. **Methods:** TAC was used to induce cardiac hypertrophy via pressure overload. Aerobic exercise was carried out in the form of swimming. C57BL6/J mice were arbitrarily divided into the following groups: a sham-operated control group (SHAM), a sham-operated control + Exercise training group (SHAM+E), a TAC group (TAC), a TAC + Exercise training group (TAC+E), and a TAC + Exercise training group + IPA-3 group (TAC+E+I). Heart weight to body weight ratio and the changes of cardiac geometry were performed to reveal the extent of cardiac hypertrophy. wheat germ agglutinin staining was performed to reveal the extent of myocyte hypertrophy; cardiac NO production, MDA levels and SOD activity were determined using ELASA kit. Western blotting was performed to investigate p-PAK1, eNOS, p-eNOS Ser114, nNOS, p-nNOS Ser1412 protein expression. **Results:** With time after the surgery, the HW/BW, LVM, LVPW, IVSS, the myocyte cross-sectional area and MDA were increased, the levels of SOD, p-PAK1 expression and the NO metabolite concentration were decreased in the TAC group compared with the SHAM group. Exercise training reduced HW/BW and LVM after TAC, augmented the SOD level and decreased the MDA level, and augmented p-PAK1 and NO production. IPA-3, a PAK1 inhibitor, partly abolished the effect of exercise training. More, Western blot analysis showed eNOS and nNOS protein was improved, p-nNOS Ser1412 and p-eNOS Ser114 were decreased in the TAC group compared with the SHAM group. Meanwhile, exercise training significantly increased total nNOS, p-nNOS Ser1412 and p-eNOS Ser114 expression in the TAC + E group compared with the TAC group. In addition, IPA-3 decreased the expression of both total nNOS, p-nNOS Ser1412, while the levels of eNOS and p-eNOS Ser114 was not changed in the TAC+E+I group compared with the TAC+E group. **Conclusion:** Aerobic exercise attenuates pressure overload-induced cardiac hypertrophy through regulating PAK1-nNOS-NO signalling in mice.

Keywords cardiac hypertrophy; aerobic exercise; NO; PAK1

心肌肥大是心肌间质和纤维细胞对压力负荷等多种病理刺激的应答和代偿反应, 是高血压、心脏瓣膜病、急性心肌梗死和先天性心脏病等多种心血管疾病发生发展的共有病理变化^[1-3]。探讨心肌肥大的发生发展机制, 寻找有效的防治措施, 对于治疗许多心血管疾病具有重要的临床意义和科研价值。

有氧运动是一种非常健康的生活方式, 规律的有氧运动对心血管系统的健康非常有益。有氧运动能够降低多种心血管疾病的发病率, 改善心血管系统功能, 病情稳定的心力衰竭患者能够通过运动训练减轻心力衰竭症状, 改善心肌细胞的肥大, 进而提高生活质量^[4-5]。之前的研究显示一氧化氮合成酶(NOS)及NO在有氧运动的心脏保护作用, 特别是有氧运动减轻心肌肥厚中发挥了重要作用, 但具体相关机制尚未阐明^[6-9]。PAK(p21-activated kinase)是Rho家族三磷酸鸟苷的重要效应物, 是一类丝氨酸、苏氨酸激酶, 参与许多生理病理过程的调节^[10-11]。PAK1作为Rac1下游重要的效应激酶, 绝大多数情况下是通过磷酸化特异底物从而参与调节细胞生理过程^[12]。研究^[13-14]表明: 心力衰竭时小鼠心脏中PAK1表达减低, 而激活PAK1却能改善心力衰竭小

鼠心肌肥厚, 改善心脏功能。但对于其是否参与有氧运动对压力负荷心力衰竭小鼠发挥心脏保护作用却不清楚。因此, 我们在这提出科学假设: 压力负荷造成小鼠心肌肥厚, 而有氧运动能够通过PAK1-nNOS-NO途径实现减轻压力负荷造成小鼠心肌肥厚和功能恶化, 发挥心脏保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂

C57BL/6小鼠60只, 雄性, 鼠龄7~9周(第四军医大学动物实验中心)。p-PAK1, nNOS Ser1412, nNOS Ser847, GAPDH购自美国Abcam公司; 辣根过氧化物酶标记(horseradish peroxidase, HRP)的羊抗兔二抗购自西安壮志生物科技有限公司; DP71倒置显微镜购自日本奥林巴斯公司; 小动物呼吸机购自美国自然基因有限公司; SpectraMax190吸收酶标仪购自美国Molecular Devices公司, RM-6280型多通道智能生理记录及分析处理系统购自成都仪器厂。VeVo 770高分辨率小动物超声系统购自加拿大Visual Sonics公司; PowerPacTM蛋白电泳仪、Trans-Blot Turbo蛋白电

转仪系统、ChemiDocXRS 凝胶成像系统购自美国Bio-Rad公司, IPA-3(PAK1抑制剂)购自美国Selleck公司。NO检测试剂盒、SOD试剂盒及MDA检测试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.2 方法

1.2.1 实验分组

小鼠进行主动脉缩窄术(transverse aortic constriction, TAC)和假手术(SHAM), 然后按照实验目的随机将动物分为5组, 每组12只, 分别为SHAM, SHAM+有氧运动(SHAM+E), TAC, TAC+有氧运动(TAC+E), TAC+有氧运动+IPA-3(TAC+E+I)组。小鼠观察10周后处死。

1.2.2 建立小鼠心脏压力负荷及运动模型

通过TAC手术建立压力负荷心力衰竭模型, 术前12 h将小鼠胸部皮肤脱毛并禁食。给予小鼠腹腔注射戊巴比妥钠80 $\mu\text{g/g}$ (小鼠体重), 麻醉后进行TAC手术, 具体操作参考文献[9]。SHAM组分离小鼠主动脉弓但不结扎, 其余步骤相同。术后连续3 d皮下注射抗生素预防伤口感染。将小鼠放置于200 cm $\times$ 100 cm, 水深30 cm, 水温(35 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$ 的水池中, 通过游泳的方式对SHAM+E组, TAC+E组, TAC+E+I组小鼠进行有氧运动训练。游泳训练从小鼠术后1周开始, 每周5次, 每次30 min, 共进行8周。

1.2.3 心脏重量指数测定

小鼠称重后给予戊巴比妥钠80 $\mu\text{g/g}$ (小鼠体重), 待小鼠麻醉后仰卧固定, 打开胸腔, 摘除心脏, 放入预冷1 $\times$ PBS中冲洗数次, 滤纸吸干称重。计算心脏重量与体重比值, 以此评价心脏肥大程度。心脏重量指数(heart weight index %, HW/BW)=心脏重量/体重 $\times$ 100%。

1.2.4 超声检测小鼠心脏结构变化

分别于手术前, 手术后1, 2, 4及8周经胸壁心脏超声检测各组小鼠心脏结构。测定计算左室质量(left ventricular mass, LVM)、左室后壁厚度(left ventricular posterior wall thickness, LVPWS)以及室间隔厚度(interventricular septal thickness, IVSS)。

1.2.5 Western 印迹

提取心肌组织总蛋白, 测定蛋白含量。每孔加入50 μg 蛋白进行SDS-PAGE电泳并将蛋白质转移到PVDF膜上。50 g/L脱脂奶粉室温封闭2 h, 分别加入1:1 000的p-PAK1, nNOS Ser1412, nNOS Ser847和GAPDH, 4 $^{\circ}\text{C}$ 振荡孵育过夜。TBS洗膜, 二抗(1:6 000), 室温下孵育90 min, TBS洗膜, ECL发光, 采用Image-Pro Plus 6.0软件进行数据分析。

1.2.6 心肌组织麦胚凝集素染色及心肌细胞横截面积测量

组织块固定, 石蜡包埋切片, 二甲苯脱蜡3次 $\times$ 20 min; 无水乙醇2次 $\times$ 5 min, 95%乙醇5 min, 90%乙醇5 min, 80%乙醇5 min; ddH₂O水洗5 min, PBS洗涤3次 $\times$ 2 min; 20 $\mu\text{g/mL}$ 蛋白酶K孵育30 min, PBS洗涤3次 $\times$ 2 min; 20 $\mu\text{g/mL}$ 麦胚凝集素37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育60 min。PBS洗涤, Image J软件计算心肌细胞横截面积(μm^2)。

1.2.7 硝酸还原酶法检测心肌组织 NO 含量

使用NO检测试剂盒对组织中的NO水平进行检测, 具体方法见试剂手册。

1.2.8 硫代巴比妥酸法检测心肌组织 MDA 含量

MDA通常用来反映机体内脂质过氧化的程度, 间接地反映出细胞损伤的程度。本部分使用MDA检测试剂盒, 通过硫代巴比妥酸法对心肌组织MDA水平进行检测, 具体方法见试剂手册。

1.2.9 黄嘌呤氧化酶法(羟胺法)检测心肌组织 SOD 活力

组织中SOD活力检测使用SOD试剂盒进行检测, 具体方法见试剂手册。

1.3 统计学处理

所有实验数据应用SPSS 17.0统计学软件进行分析, 结果使用均数 $\pm$ 标准误(mean $\pm$ SEM)表示, 数据组间比较采用重复测量方差分析(ANOVA), 若组间差异显著, 再以SNK-q检验分析两组间的显著性差别。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HW/BW 与心脏结构检测

在第8周时, 各组间小鼠体重差异无统计学意义(8周); 但压力负荷小鼠HW/BW较SHAM组小鼠显著增高(8周), 运动训练却能够降低压力负荷小鼠HW/BW(8周), 而给予Pak1抑制剂IPA-3后小鼠HW/BW增高(8周), 差异均有统计学意义($P<0.05$, 图1)。小鼠TAC手术后2周后, LVM, LVPWS以及IVSS均较SHAM组显著增加, 而运动训练能够降低压力负荷LVM, 在给予Pak1抑制剂IPA-3后LVM升高, 但对于LVPWS及IVSS的作用却无统计学差异。Western印迹检测p-PAK1蛋白表达, 结果显示: 压力负荷小鼠p-PAK1蛋白表达显著抑制, 而运动训练增强SHAM组和TAC组p-PAK1蛋白表达水平。给予Pak1抑制剂IPA-3后小鼠心肌组织p-PAK1蛋白表达水平降低, 差异均有统计学意义($P<0.05$, 图1)。

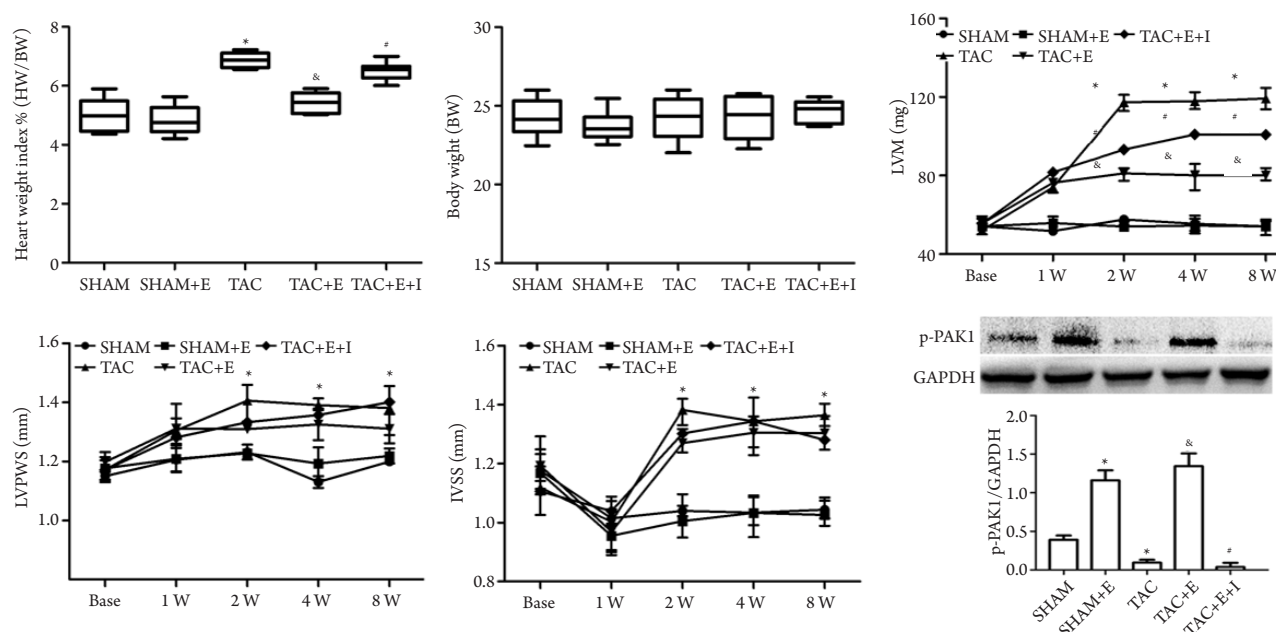


图1 心脏重量指数与心脏结构测定

Figure 1 Detection of HW/BW, LVM and LVPWS

与SHAM组比较, $*P<0.05$; 与TAC组比较, $^{\&}P<0.05$; 与TAC+E组比较, $^{\#}P<0.05$ 。

Compared with the SHAM group, $*P<0.05$; compared with the TAC group, $^{\&}P<0.05$; compared with the TAC+E group, $^{\#}P<0.05$.

2.2 心肌组织麦胚凝集素染色检测小鼠心肌细胞肥大程度

心肌组织麦胚凝集素染色结果也显示小鼠TAC手术后, TAC组小鼠心肌细胞横截面积较SHAM组显著增高; 在小鼠运动训练后, TAC+E组小鼠心肌细胞相比TAC组显著减小; 给予Pak1抑制剂IPA-3后, 心肌细胞横截面积却又明显增加, 差异均有统计学意义($P<0.05$, 图2)。

2.3 心肌组织中 NO 水平检测

与SHAM组相比, TAC组心肌组织NO水平降低; 而运动训练能够显著增加TAC组心肌组织中NO水平。而与TAC+E相比, 给予Pak1抑制剂IPA-3后小鼠心肌组织中NO水平显著降低, 差异均有统计学意义($P<0.05$, 图3)。

2.4 小鼠心肌组织中 MDA 与 SOD 活性测定

TAC组小鼠心肌组织MDA水平显著增高; 运动训练能显著降低TAC组小鼠心肌组织中MDA水

平; 给予Pak1抑制剂IPA-3, 运动训练对TAC+E组MDA水平的影响消除, 差异均有统计学意义($P<0.05$, 图4)。与MDA表达水平变化趋势正好相反, TAC组小鼠心肌组织中SOD活性显著降低, 但运动训练能够部分恢复TAC组小鼠心肌组织中SOD活性, 给予Pak1抑制剂IPA-3可使运动训练干预下TAC+E组增高的SOD活性显著降低, 差异均有统计学意义($P<0.05$, 图4)。

2.5 小鼠心肌组织 nNOS 和 eNOS 检测

与SHAM组相比, TAC组小鼠心肌组织中eNOS与nNOS表达增高, 但p-eNOS Ser114, p-nNOS Ser1412磷酸化水平却被抑制, 差异有统计学意义($P<0.05$, 图5)。与TAC组相比, TAC+E组nNOS, p-eNOS Ser114和p-nNOS Ser1412表达增加, eNOS表达却与无明显差异。而在给予Pak1抑制剂IPA-3后, TAC+E+I组nNOS, p-nNOS Ser1412表达减低, 但eNOS和p-eNOS Ser114表达却无明显变化, 差异均有统计学意义($P<0.05$, 图5)。

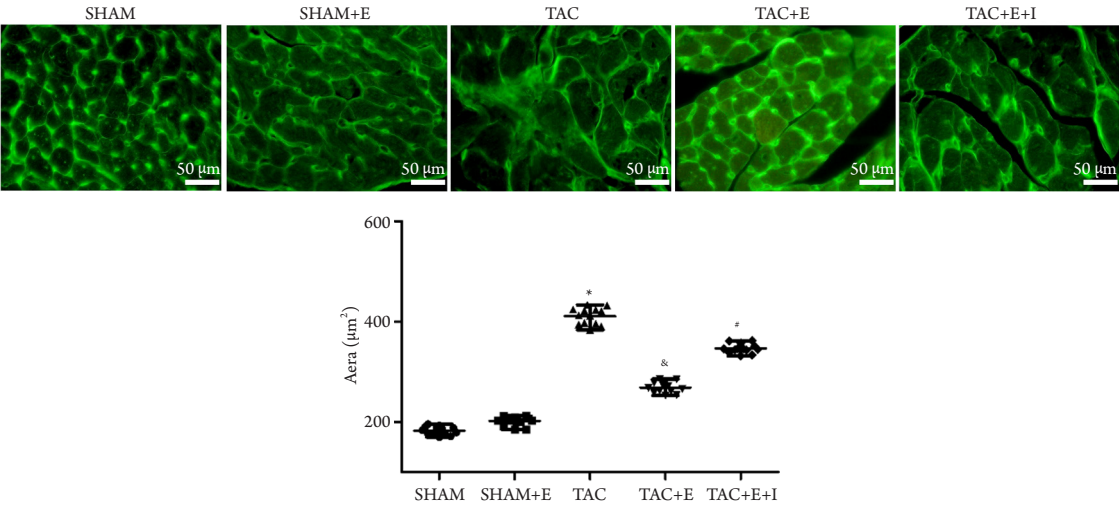


图2 心肌组织麦胚凝集素染色检测小鼠心肌细胞肥大程度

Figure 2 Wheat germ agglutinin staining showing the level of myocyte hypertrophy

与SHAM组比较, * $P<0.05$; 与TAC组比较, & $P<0.05$; 与TAC+E组比较, # $P<0.05$ 。

Compared with the SHAM group, * $P<0.05$; compared with the TAC group, & $P<0.05$; compared with the TAC+E group, # $P<0.05$.

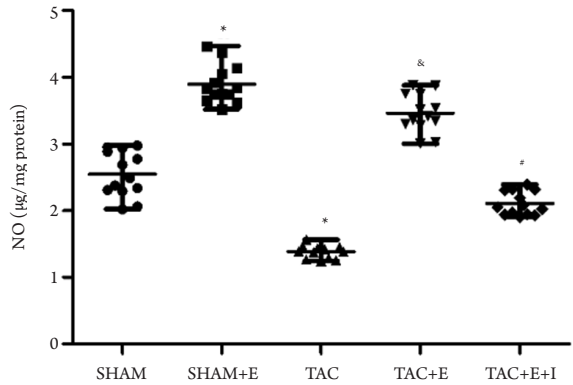


图3 心肌组织中NO水平检测

Figure 3 Detection of the NO metabolite concentration

与SHAM组比较, * $P<0.05$; 与TAC组比较, & $P<0.05$; 与TAC+E组比较, # $P<0.05$ 。

Compared with the SHAM group, * $P<0.05$; compared with the TAC group, & $P<0.05$; compared with the TAC+E group, # $P<0.05$.

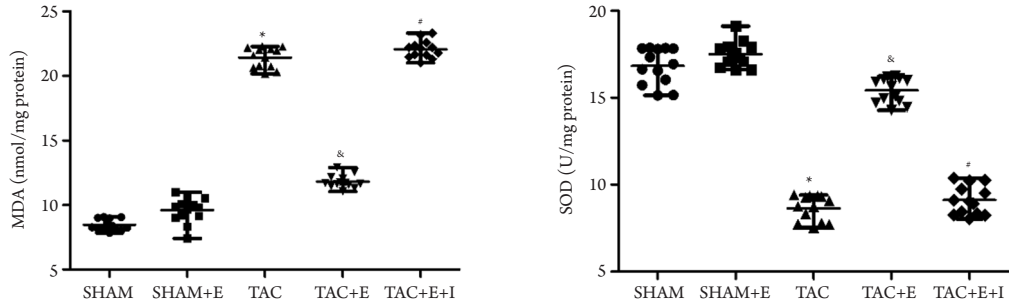


图4 小鼠心肌组织中MDA与SOD活性测定

Figure 4 Detection of MDA levels and SOD activity

与SHAM组比较, * $P<0.05$; 与TAC组比较, & $P<0.05$; 与TAC+E组比较, # $P<0.05$ 。

Compared with the SHAM group, * $P<0.05$; compared with the TAC group, & $P<0.05$; compared with the TAC+E group, # $P<0.05$.

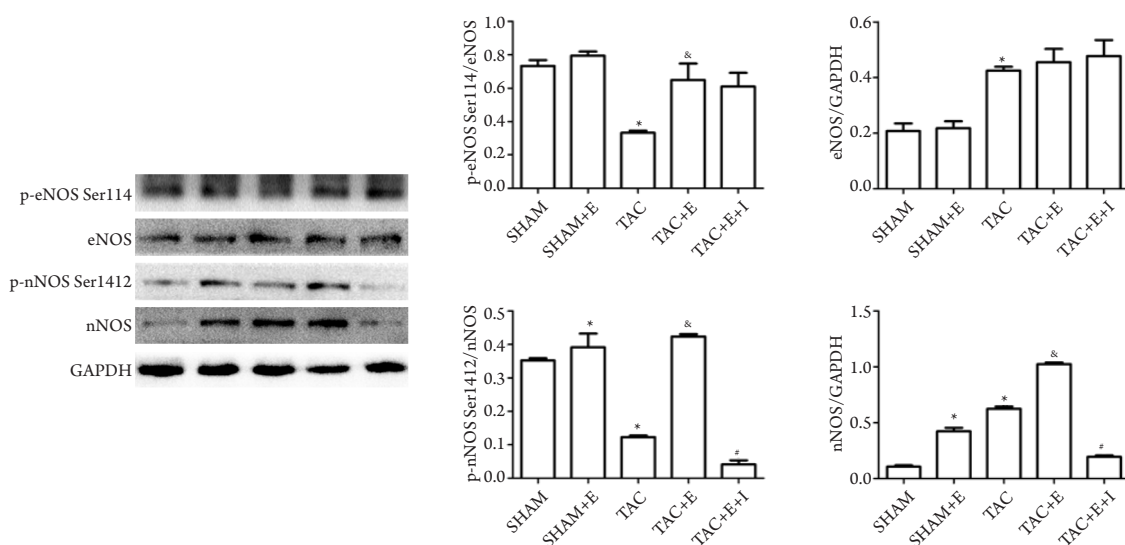


图5 小鼠心肌组织p-eNOS Ser114, p-nNOS Ser1412, eNOS和nNOS检测

Figure 5 the protein expression of p-eNOS Ser114, p-nNOS Ser1412, eNOS and nNOS

与SHAM组比较, * $P<0.05$; 与TAC组比较, & $P<0.05$; 与TAC+E组比较, # $P<0.05$ 。

Compared with the SHAM group, * $P<0.05$; compared with the TAC group, & $P<0.05$; compared with the TAC+E group, # $P<0.05$ 。

3 讨论

流行病学资料^[15-17]显示:目前全球约有2 000余万心力衰竭患者,心力衰竭已成为造成人类死亡的主要原因之一,尽管对于心力衰竭的诊断和治疗水平在不断提高,目前心力衰竭的5年死亡率仍高达45%~60%。因此找到一种能够有效改善心力衰竭患者心血管功能的方法变得至关重要。研究^[18]发现:有氧运动能够降低多种心血管疾病的发病率,改善心脏功能,对心血管系统发挥保护作用。其中有研究^[9]认为:运动产生的心脏保护作用与NOS及其产生的NO有关。在对人和啮齿类动物的研究^[19-20]中发现:运动训练能使升高血浆中NO代谢物水平,而在NO缺乏的高血压模型中,运动能够提高心脏NOS的表达。然而运动导致NOS/NO兴奋的机制尚未明确。

本实验采用TAC建立压力负荷小鼠心力衰竭模型,并通过游泳运动的方式给予有氧运动训练干预。本实验证实有氧运动训练能够改善压力负荷心力衰竭小鼠心脏结构及心肌组织氧化应激状态。同时本实验还发现压力负荷小鼠运动训练后心肌组织中p-PAK1表达显著减低,NO水平增高。为验证有氧运动训练中PAK1的作用,本研究通过给予PAK1抑制剂IPA-3,观察其对有氧运动心脏保护作用的改变,结果发现有氧运动训练产生的心脏保护作用消失,心肌细胞肥大;证实PAK1可能是介导有氧

运动心脏保护作用的关键通路。

目前有研究^[21]认为eNOS/NO参与运动介导的心脏保护作用。而另一些研究^[22]则发现在心力衰竭状态下nNOS是调节NO信号的主要NOS亚型。还有研究^[18-19]发现在心肌梗死后的心脏保护作用与eNOS和nNOS有关。但PAK1的心脏保护作用是否与NOS/NO相关,在有氧运动中PAK1又是通过哪种NOS亚型发挥作用未有进一步研究。本实验进一步证实压力负荷能使小鼠心肌组织中eNOS与nNOS表达增高,但p-eNOS Ser114和p-nNOS Ser1412活化抑制。有氧运动训练能进一步增强nNOS表达,增加p-nNOS Ser1412和p-eNOS Ser114活化,而对eNOS表达无显著作用。给予Pak1抑制剂IPA-3后nNOS, p-nNOS Ser1412表达减低,而eNOS和p-eNOS Ser114表达却无明显变化,这些结果表明:PAK1可能是通过nNOS介导有氧运动保护心脏的。

总之,本实验结果进一步证实了PAK1-nNOS-NO 信号可能是介导有氧运动减轻压力负荷小鼠心肌肥厚作用的关键信号通路。

参考文献

1. Adebisi AO, Adebisi OO, Owira PM. Naringin mitigates cardiac hypertrophy by reducing oxidative stress and inactivating c-Jun nuclear

- kinase-1 protein in type I diabetes[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2016, 67(2): 136-144.
2. Facundo H, Brainard RE, Caldas FR, et al. Mitochondria and cardiac hypertrophy[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 982: 203-226.
3. 黄丹, 毛建文, 李春梅. 肾上腺素能受体与心肌肥大的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2015, 35(7): 1403-1407.
HUANG Dan, MAO Jianwen, LI Chunmei. Recent progress of adrenergic receptors on cardiac hypertrophy[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2015, 35(7): 1403-1407
4. Novoa U, Arauna D, Moran M, et al. High-intensity exercise reduces cardiac fibrosis and hypertrophy but does not restore the nitroso-redox imbalance in diabetic cardiomyopathy[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 7921363.
5. Pescatello LS, Franklin BA, Fagard R, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2004, 36(3): 533-553.
6. 吴扬, 胡亚娥. NOS和PTEN在血管紧张素 II 诱导心肌细胞肥大中的作用[J]. *中国应用生理学杂志*, 2005, 21(1): 41-45.
WU Yang, HU Yae. Effect of NOS and PTEN on cardiomyocyte hypertrophy induced by angiotensin II[J]. *Chinese Journal of Applied Physiology*, 2005, 21(1): 41-45.
7. Ahmed AM. Inhibition of inducible nitric oxide synthase (iNOS) by simvastatin attenuates cardiac hypertrophy in rats[J]. *Folia Morphologica*, 2017, 76(1): 15-27.
8. Devlin AM, Brosnan MJ, Graham D, et al. Vascular smooth muscle cell polyploidy and cardiomyocyte hypertrophy due to chronic NOS inhibition in vivo[J]. *Am J Physiol*, 1998, 274(1 Pt 2): H52-H59.
9. Wang B, Xu M, Li W, et al. Aerobic exercise protects against pressure overload-induced cardiac dysfunction and hypertrophy via beta3-AR-nNOS-NO activation[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179648.
10. Ohtakara K, Inada H, Goto H, et al. p21-activated kinase PAK phosphorylates desmin at sites different from those for Rho-associated kinase[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 272(3): 712-716.
11. Frost JA, Xu S, Hutchison MR, et al. Actions of Rho family small G proteins and p21-activated protein kinases on mitogen-activated protein kinase family members[J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(7): 3707-3713.
12. Parrini MC, Lei M, Harrison SC, et al. Pak1 kinase homodimers are autoinhibited in trans and dissociated upon activation by Cdc42 and Rac1[J]. *Mol Cell*, 2002, 9(1): 73-83.
13. Taglieri DM, Monasky MM, Knezevic I, et al. Ablation of p21-activated kinase-1 in mice promotes isoproterenol-induced cardiac hypertrophy in association with activation of Erk1/2 and inhibition of protein phosphatase 2A[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 51(6): 988-996.
14. Wang R, Wang Y, Lin WK, et al. Inhibition of angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and associated ventricular arrhythmias by a p21 activated kinase 1 bioactive peptide[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e101974.
15. Orso F, Fabbri G, Maggioni AP. Epidemiology of heart failure[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2017, 243: 15-33.
16. Ziaiean B, Fonarow GC. Epidemiology and aetiology of heart failure[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2016, 13(6): 368-378.
17. Dunlay SM, Roger VL. Understanding the epidemic of heart failure: past, present, and future[J]. *Curr Heart Fail Rep*, 2014, 11(4): 404-415.
18. Bacurau AV, Cunha TF, Souza RW, et al. Aerobic exercise and pharmacological therapies for skeletal myopathy in heart failure: similarities and differences[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 4374671.
19. Carnicer R, Crabtree MJ, Sivakumaran V, et al. Nitric oxide synthases in heart failure[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18(9): 1078-1099.
20. Zhang YH. Nitric oxide signalling and neuronal nitric oxide synthase in the heart under stress[J]. *F1000Res*, 2017, 6: 742.
21. Varghese P, Harrison RW, Lofthouse RA, et al. beta(3)-adrenoceptor deficiency blocks nitric oxide-dependent inhibition of myocardial contractility[J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(5): 697-703.
22. Niu X, Watts VL, Cingolani OH, et al. Cardioprotective effect of beta-3 adrenergic receptor agonism: role of neuronal nitric oxide synthase[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59(22): 1979-1987.

本文引用: 冯品, 楚轶, 曾迪, 张薇. PAK1-nNOS-NO 信号通路在有氧运动减轻压力负荷小鼠心肌肥厚中的作用及其机制[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(11): 2310-2316. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.005

Cite this article as: FENG Pin, CHU Yi, ZENG Di, ZHANG Wei. Aerobic exercise attenuates pressure overload-induced cardiac hypertrophy through regulating PAK1-nNOS-NO signalling in mice[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(11): 2310-2316. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.11.005