

脑源性神经营养因子对运动诱导的心梗后大鼠心肌血管生成的介导作用

王碧蕾^{1,2}, 金虹³, 韩熙琼², 夏扬¹, 刘乃丰^{2,3*}

¹东南大学附属中大医院康复医学科, 江苏 南京 210009; ²东南大学医学院心血管病研究所, 江苏 南京 210009; ³东南大学附属中大医院心内科, 江苏 南京 210009

[摘要] 目的: 研究脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)对运动诱发的心梗后心肌血管生成的介导作用。方法: 12周龄雄性SD大鼠48只, 选取12只为假手术对照组(Sham), 只开胸穿线不结扎; 余下大鼠永久性结扎左冠状动脉前降支后, 随机分为心梗安静组(MIC)、心梗+运动组(MIE)、心梗+运动+BDNF特异性高亲和力受体原肌球蛋白激酶受体B(tyrosine kinase receptor B, TrkB)阻滞剂K252a腹腔注射组(MIEK), 每组12只。术后1周尾静脉采血、心彩超检查后进行为期8周的有氧运动训练, 训练结束行心彩超检查后腹腔麻醉取材, ELISA检测血清BDNF水平, 免疫组化检测心肌梗死周围区BDNF表达及心肌血管密度, PCR和Western blot分别检测心肌BDNF mRNA和蛋白水平, Western blot检测心肌TrkB蛋白表达及磷酸化水平。结果: 运动促进梗死周围区BDNF mRNA($P < 0.01$)和蛋白($P < 0.01$)表达, 同时诱导TrkB磷酸化($P < 0.01$), 用K252a阻断BDNF受体可抑制TrkB激活($P < 0.01$), 同时逆转运动诱发的心肌血管生成($P < 0.01$)和心功能改善($P < 0.05$); 大鼠血清BDNF水平与心肌血管密度($r=0.501, P=0.007$)、心脏EF值($r=0.611, P=0.002$)呈正相关, 血清BDNF运动前后变化幅度与其EF值变化呈正相关($r=0.498, P=0.015$)。结论: BDNF在心梗后运动诱发的心肌血管生成效应中发挥重要介导作用。

[关键词] 有氧运动; 心肌梗死; 脑源性神经营养因子; 原肌球蛋白激酶受体B

[中图分类号] R542.22

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)06-758-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20180608

Involvement of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in exercise-induced angiogenesis in post-myocardial infarction rat hearts

Wang Bilei^{1,2}, Jin Hong³, Han Xiqiong², Xia Yang¹, Liu Naifeng^{2*}

¹Department of Rehabilitation, Zhongda Hospital, Medical School of Southeast University, Nanjing 210009; ²Institute of Cardiology, Zhongda Hospital, Medical School of Southeast University, Nanjing 210009; ³Department of Cardiology, Zhongda Hospital, Medical School of Southeast University, Nanjing 210009, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the contribution of BDNF to exercise-induced angiogenesis in post-myocardial infarction rat hearts. **Methods:** Forty eight male SD rats (12 weeks old) were randomly divided into the following experimental groups: a sham infarction (Sham) group, a sedentary MI (MIC) group, a MI + exercise (MIE) group, a MI + exercise + K252a (MIEK) group. The MI model was established by ligation of the left anterior descending coronary artery, and exercised rats received 8 weeks of treadmill running. At the end of the exercise protocol, BDNF mRNA and protein expression (Western blot, RT-PCR and immunostaining) were measured, tropomyosin-related kinase B (TrkB) protein expression and phosphorylation levels were measured by Western blot, the angiogenic response was investigated by immunostaining, and cardiac function was analyzed by echocardiography. **Results:** Exercise training upregulated BDNF mRNA ($P < 0.01$) and protein ($P < 0.01$) expression, as well as phosphorylated TrkB levels ($P < 0.01$) in post-MI rat hearts. Exercise training induced elevation of serum BDNF in post-MI rats, which were related to angiogenesis ($r=0.501, P=0.007$) and cardiac function ($r=0.611, P=0.002$). The exercise-related angiogenic response ($P < 0.01$) and functional improvement ($P < 0.05$) was attenuated by inhibition of BDNF receptor. **Conclusion:** Exercise convey its pro-angiogenic effects in ischemic myocardial tissue through BDNF.

[Key words] aerobic exercise; myocardial infarction; brain-derived neurotrophic factor; tropomyosin-related kinase B

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(06): 758-764]

[基金项目] 江苏省科技厅科研基金(BE2011793)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: liunf@seu.edu.cn

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)导致心肌细胞坏死或凋亡,随着纤维化和瘢痕形成,逐渐发展为慢性心功能不全,使这类人群的致残率和病死率明显增加。近年来,促进存活心肌血管生成、血供改善为冠心病的治疗提供了新的思路和方向,随之而来冠心病运动康复的中心效应也成了心脏康复新的研究热点。基础和临床研究均发现心梗后进行中等或高强度的有氧运动可促进心肌血管新生、提高血管密度、改善心脏功能^[1-2],但具体分子机制仍未完全阐明。

脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)属于神经营养因子家族,广泛分布于哺乳动物的中枢和外周神经系统,对神经元生长、分化、存活和突触可塑性发挥重要调节作用。近年来,BDNF的心血管效应引起广泛关注,BDNF与其特异性高亲和力受体原肌球蛋白激酶受体B(tyrosine kinase receptor B, TrkB)结合激活下游一系列信号通路,发挥重要的心血管保护作用,BDNF合成和功能障碍参与多种心血管疾病如心肌梗死、动脉粥样硬化、心律失常、高血压等的发生发展进程^[3]。

有氧运动能提高抑郁症、卒中患者血清BDNF水平从而促进神经缺损功能的恢复^[4-5],但运动是否能有效改善冠心病患者外周循环中的BDNF水平,尚无文献报道。目前在心肌缺血中尚未见涉及有氧运动的促血管生成机制与BDNF有关的研究。因此,本文观察有氧运动对心梗大鼠血清BDNF水平以及缺血心肌BDNF蛋白表达的影响,明确其与运动后心肌血管生成、心功能改善的关联,为心梗后运动康复的促血管生成效应提供理论依据,并初步探讨BDNF作为潜在生物学指标评估心梗后运动康复疗效的可行性。

1 材料和方法

1.1 材料

12周龄健康雄性SD大鼠(中国科学院上海实验动物研究中心)48只,体重220~250 g,TrkB抑制剂K252a(Sigma-Aldrich公司,美国),羊抗BDNF多克隆抗体、兔抗Trkb多克隆抗体、兔抗TrkB(phospho Y515)多克隆抗体(Abcam公司,美国),兔抗CD34多克隆抗体(ABNOVA公司,美国),即用型免疫组化试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司),DAB显色试剂盒(北京中衫金桥生物技术有限公司),TRIzol Reagent、逆转录试剂盒、SYBR Green Premix(TaKaRa公司,日本),BDNF检测试剂盒

(R&D Systems公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组和心梗模型制备

大鼠随机分为4组,每组12只:假手术组(Sham)、心肌梗死组(MI)、心肌梗死+运动组(MIE)、心肌梗死+运动+TrkB阻断组(MIEK)。MIEK组大鼠腹腔注射K252a, K252a溶于25% DMSO,终浓度10 $\mu\text{g}/\text{mL}$,从第7周开始注射至运动周期结束,每日剂量100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。最后一次运动训练完成后3 h,每组取6只大鼠进行标本采集,用于检测运动后心肌组织TrkB磷酸化水平;剩余大鼠在最后一次运动训练完成后48 h进行各指标检测。

心梗模型制备:使用戊巴比妥钠(0.2 mL/10 g)腹腔注射麻醉,建立呼吸支持,行冠状动脉左前降支结扎术,结扎成功后,左心室前壁会变苍白并且运动异常,逐层关胸。假手术组只开胸穿线,不结扎冠状动脉,手术时间与其他组匹配。

1.2.2 运动方案实施

参照文献^[6]的方法,采用跑台的方式进行有氧运动训练。心梗手术后1周开始跑台适应训练,训练时长从10 min/d开始,逐日增加,至第5天达到60 min/d,并长期维持至训练结束。训练速度从5 m/min开始,逐渐增加到20 m/min,并长期维持至训练结束。跑步机坡度从0度开始,逐渐增加到25度。每周训练5 d、休息2 d,共训练8周。

1.2.3 心功能检测

心梗手术后1周、运动方案实施前以及最后一次运动训练完成后48 h,每组分别取8只大鼠,异氟烷吸入麻醉下进行经胸超声心动图检测,用来评估心功能。选取频率为12 MHz的超声探头进行心脏大小和功能参数的采集,用高分辨率超声Vevo770系统进行数据分析。探头放置于大鼠左前胸,在心脏乳头肌水平进行M型超声检测,测量舒张末期左室内径(LVIDd)、收缩末期左室内径(LVIDs)。系统自动算出射血分数(EF)、短轴缩短率(LVFS)。所有检测指标均取3个心动周期的平均值为结果,超声测量依据美国超声心动图学会制定的标准。

1.2.4 免疫组化检测心肌BDNF蛋白表达

心彩超检测结束后迅速摘取大鼠心脏,沿心梗结扎线以下取部分左心组织经4%多聚甲醛固定,石蜡包埋后切片,常规脱蜡至水,经抗原修复后,用3% H_2O_2 消除内源性过氧化物酶活性,抗原修复,滴加一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,PBS冲洗3次,加入二抗37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育60 min,PBS冲洗3次,用DAB显色,再经苏木素复

染,最后脱水、透明、封片。镜下观察棕色颗粒为阳性表达,染色结果采用半定量分析方法:以染色强度结合阳性细胞数百分比进行评分。每张玻片随机计数10个视野,免疫组化结果通过软件Image-Pro plus 5.1半定量分析。

1.2.5 免疫组化检测心肌血管密度

操作过程同1.2.4,显微镜下观察,CD34主要表达在血管内皮细胞中,呈黄色至褐色。每张免疫组化切片随机选择10个视野,计数阳性血管总数。毛细血管判断标准:以黄染的血管内皮细胞为标准,数个血管内皮细胞围成管腔,直径小于10 μm 或单细胞管腔均作为1个毛细血管计数。

1.2.6 Western blot 检测心肌 BDNF、TrkB 蛋白水平及 TrkB 蛋白磷酸化水平

心彩超检测结束后迅速摘取大鼠心脏,沿心梗结扎线以下取部分左心组织,常规研磨后抽提蛋白,采用BCA试剂盒定量、SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜,封闭,孵育BDNF一抗(稀释浓度为1:200),4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,TBST清洗3次(15 min/次),加入二抗(稀释浓度1:800)室温摇床孵育60 min,TBST清洗3次(15 min/次),ECL检测、显影,内参为 β -actin。

最后一次运动方案结束后3 h迅速摘取心脏,沿心梗结扎线以下取部分左心组织,常规研磨后抽提蛋白,采用BCA试剂盒定量、SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜,封闭,孵育TrkB、TrkB(phospho Y515)一抗(稀释浓度均为1:50),4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,TBST清洗3次(15 min/次),加入二抗(稀释浓度1:800)室温摇床孵育60 min,TBST清洗3次(15 min/次),ECL检测、显影,内参为 β -actin。

1.2.7 实时荧光定量PCR

心彩超检测结束后迅速摘取大鼠心脏,沿心梗结扎线以下取部分左心组织,用TRIzol试剂提取心肌组织总RNA,逆转录成DNA后,加入SYBR Green Premix进行实时定量PCR(ABI 7500型PCR系统)。18S作为看家基因,每个cDNA重复3次,以Sham组为参照,计算各组样本相对mRNA的表达。BDNF引物序列如下:forward:5'-AACATAAGGACGCGA-CTT-3',reverse:5'-TGCAGTCTTTTTATCTGCCG-3'。

1.2.8 血清 BDNF 检测

取自大鼠尾静脉或腹腔静脉的血液样本,与乙二胺四乙酸钠(15 mg/mL)轻轻混合后离心(1 000 g, 4 $^{\circ}\text{C}$, 15 min),取血清20倍稀释,按照试剂盒操作说明测定BDNF水平,每次测量2次取平均值,单位用pg/mL表示。

1.3 统计学方法

采用SPSS13.0软件进行统计学分析。以上结果均采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用SNK检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 运动改善心梗大鼠心功能,TrkB抑制剂阻断该效应

如表1结果所示:与Sham组比较,MIC、MIE、MIEK组LVEF、LVFS值均下降($P < 0.01$),LVID-d、LVID-s值均有增高($P < 0.01$);与MIC组比较,LVEF、LVFS值在MIE组($P < 0.01$ 、 $P < 0.01$)、MIEK组($P=0.03$ 、 $P=0.006$)均增高,LVID-s值在MIE组($P < 0.01$)、MIEK组($P < 0.01$)显著降低;MIE组LVID-d值较MIC组降低($P < 0.01$),但MIEK组LVID-d与MIC组无显著差异($P=0.548$)。和MIE组比较,MIEK组LVEF、LVFS均下降($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$),而LVID-d、LVID-s均增高($P=0.05$)。

2.2 运动促进大鼠心梗周围区心肌BDNF蛋白表达

如图1显示:各组大鼠心肌组织中均可见BDNF表达。与Sham组比较,MIC组BDNF蛋白表达水平明显降低($P < 0.001$);BDNF蛋白表达水平在MIE组和MIEK组显著高于MIC组($P < 0.001$);MIE组和MIEK组间BDNF蛋白表达水平无显著差异($P=0.053$)。

2.3 运动提高大鼠心梗周围区心肌BDNF水平

如图2A Western blot分析显示:与Sham组比较,MIC组BDNF蛋白水平显著降低($P < 0.001$);MIE组和MIEK组BDNF蛋白水平显著高于MIC组($P < 0.01$);MIE组和MIEK组BDNF蛋白表达水平无显著差异($P=0.118$)。

如图2B实时荧光定量PCR分析显示:与Sham组比较,MIC组BDNF mRNA水平降低($P < 0.01$),MIE组BDNF mRNA水平较MIC组显著增高($P < 0.01$);MIE组和MIEK组BDNF mRNA水平无显著差异($P=0.752$)。

2.4 运动提高大鼠心梗周围区心肌TrkB蛋白表达及磷酸化水平

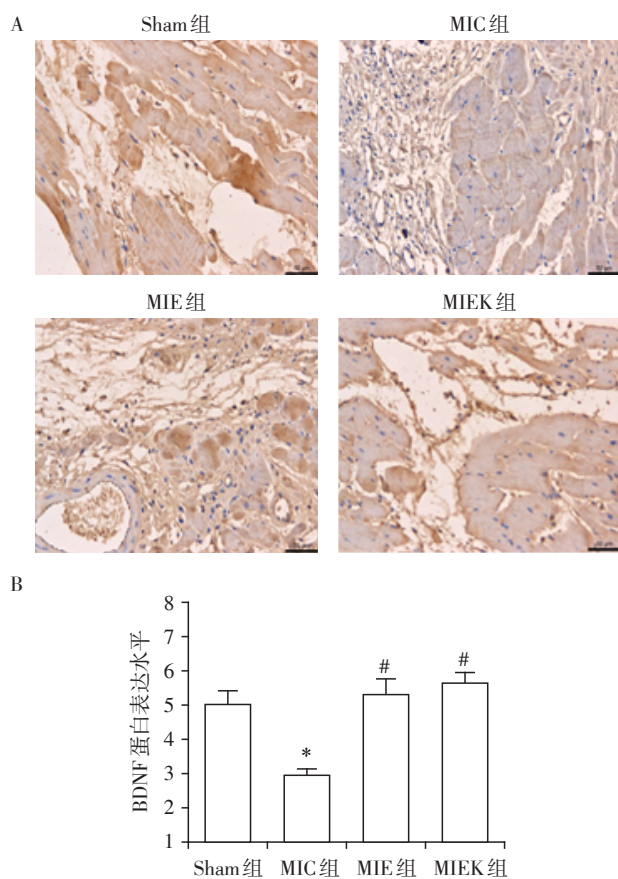
如图3 Western blot分析显示:与Sham组比较,MIC组TrkB蛋白表达水平降低($P < 0.05$)、磷酸化水平亦降低($P < 0.05$);MIE组TrkB蛋白表达较MIC组显著增高($P < 0.05$),磷酸化水平亦增高($P < 0.05$);MIEK组TrkB蛋白表达较MIE组降低($P < 0.05$),

表1 各组大鼠超声心动图检测结果

Table 1 Echocardiographic data for the Sham-operated and MI rats after 8 weeks of enrolment in the sedentary or exercise protocols

超声心动图检测指标	Sham组	MIC组	MIE组	MIEK组
LVEF(%)	71.45 ± 4.63	32.96 ± 6.05*	51.89 ± 8.21**	41.4 ± 5.54** ^Δ
LVID(mm)				
舒张期(LVID-d)	7.08 ± 0.19	11.16 ± 0.53*	8.99 ± 0.28**	11.02 ± 0.51* ^Δ
收缩期(LVID-s)	3.77 ± 0.23	9.65 ± 0.56*	6.14 ± 0.37**	8.18 ± 0.33** ^Δ
LVFS(%)	41.25 ± 4.06	14.08 ± 2.17*	27.11 ± 2.52**	19.23 ± 1.93** ^Δ

与Sham组比较,* $P < 0.01$;与MIC组比较,** $P < 0.01$;与MIE组比较,^Δ $P < 0.05$ ($n=6$)。



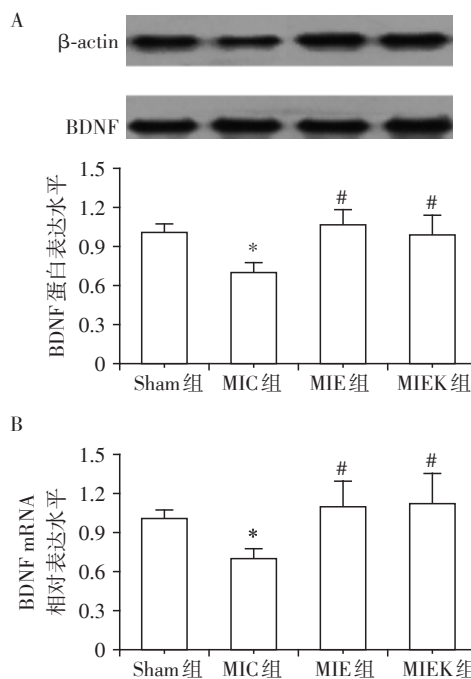
A: 心肌组织BDNF染色结果($\times 200$); B: 心肌组织BDNF蛋白表达水平比较。与Sham组相比,* $P < 0.01$;与MIC组相比,** $P < 0.01$ ($n=6$)。

图1 运动对大鼠心肌梗死周围区BDNF蛋白表达的影响
Figure 1 Effects of exercise on BDNF protein expression in the peri-infarct areas

TrkB蛋白磷酸化水平较MIE组显著下降($P < 0.05$); MIE组磷酸化与非磷酸化TrkB蛋白比值显著高于其他各组($P < 0.05$), MIEK组磷酸化与非磷酸化TrkB蛋白比值较其他各组显著降低(< 0.05)。

2.5 TrkB阻断剂抑制运动诱发的心肌血管生成

图4A为各组心肌组织免疫组化CD34染色切片代表照片,黄染部位为毛细血管。如图4B所示,MIC



A: Western blot 检测梗死周围区BDNF蛋白水平; B: PCR检测梗死周围区BDNF mRNA水平。与Sham组相比,* $P < 0.01$;与MIC组相比,** $P < 0.01$ ($n=6$)。

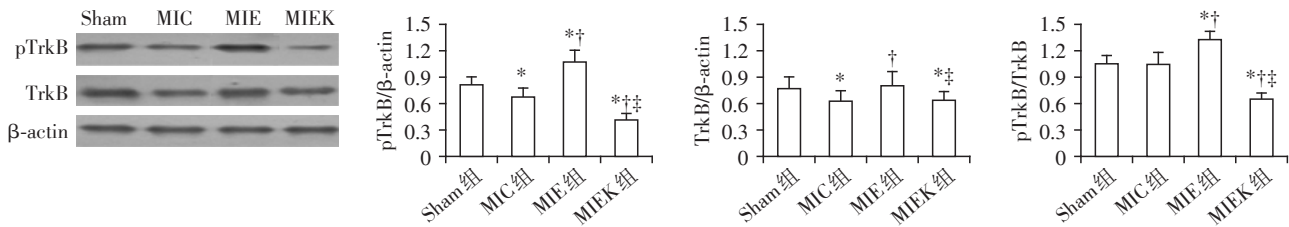
图2 运动对大鼠心肌梗死周围区BDNF蛋白及mRNA水平的影响

Figure 2 Effects of exercise on BDNF protein and mRNA levels in the peri-infarct areas

组心肌毛细血管密度显著低于Sham组($P < 0.01$)。MIE组心肌毛细血管密度显著高于MIC和MIEK组($P < 0.01$),和Sham组无显著差异($P > 0.05$)。

2.6 运动提高心梗大鼠血清BDNF水平,且与心肌血管密度、心功能水平相关

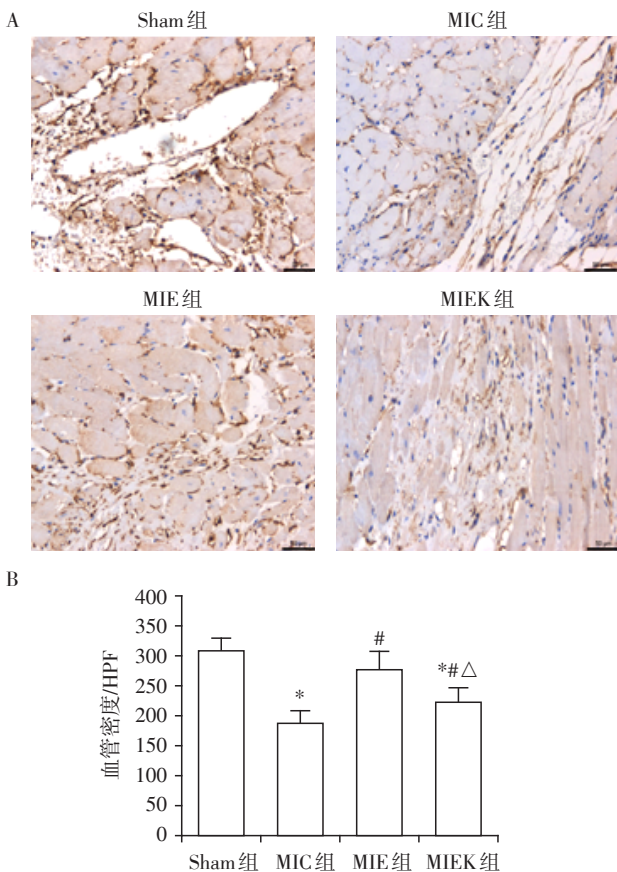
如图5A所示,心梗后1、3 d血清BDNF水平较心梗手术前0 d增高($P < 0.05$),至第5、7天回落至手术前0 d水平,Sham组大鼠各时间点血清BDNF水平无显著差异。如图5B所示,心梗术后7 d,运动方案实施前,Sham、MIC、MIE组大鼠血清BDNF水



与Sham组相比, * $P < 0.05$; 与MIC组相比, † $P < 0.05$; 与MIE组相比, ‡ $P < 0.05$ ($n=6$)。

图3 运动及K252a对大鼠心肌梗死周围区TrkB蛋白表达及磷酸化水平的影响

Figure 3 Effects of exercise on TrkB protein expression and phosphorylation levels in the peri-infarct areas



A: 大鼠心肌梗死周围区毛细血管密度($\times 200$); B: 各组大鼠梗死周围区毛细血管密度比较。与Sham组比较, * $P < 0.01$; 与MIC组比较, † $P < 0.01$; 与MIE组比较, ‡ $P < 0.05$ ($n=6$)。

图4 运动对心肌血管生成的影响及TrkB阻断的抑制效应
Figure 4 Angiogenic responses to exercise and inhibiting effects of k252a in the peri-infarct areas

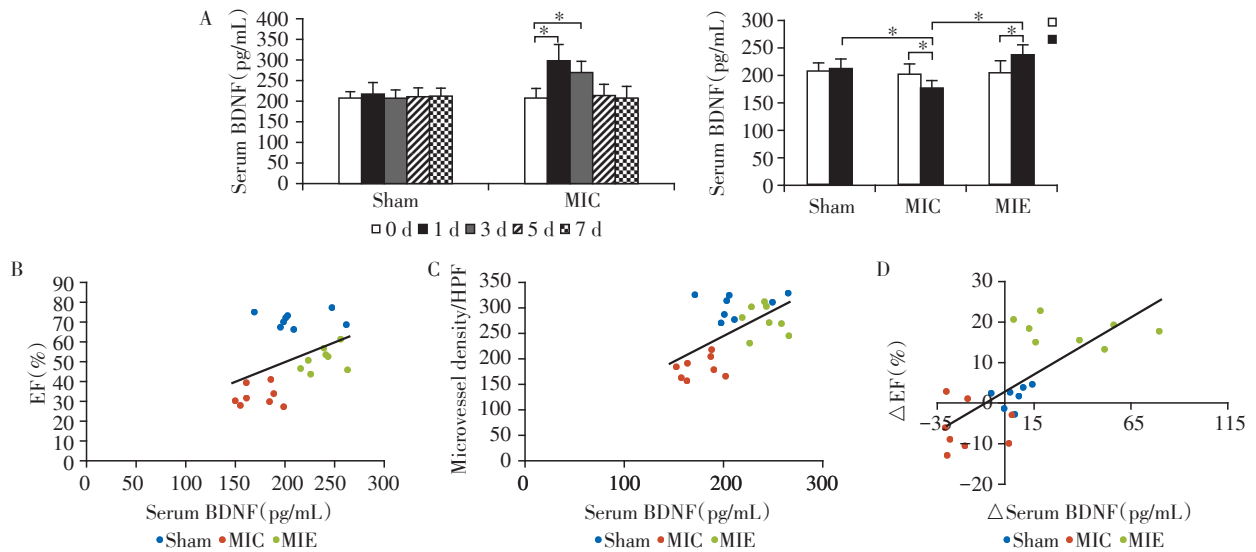
平无显著差异, 8周的运动方案结束后, MIC组大鼠血清BDNF水平较Sham组降低($P < 0.05$), 而MIE组BDNF水平较MIC组显著增高($P < 0.05$)。Sham、MIC和MIE组大鼠血清BDNF水平与心肌毛细血管密度($r=0.501, P=0.007$, 图5C)、心脏EF值($r=0.611, P=0.002$, 图5D)呈正相关; Sham、MIC和MIE组大鼠血清BDNF前后变化幅度与其EF值变化幅度呈正相关($r=0.498, P=0.015$, 图5E)。

3 讨论

BDNF是神经营养因子家族中重要的成员之一,是神经系统的一种重要保护性因子,TrkB是其高亲和力特异性受体。当TrkB被BDNF激活后可使其胞内两个酪氨酸残基发生自动磷酸化,并激活下游信号通路,发挥生物活性作用。BDNF/TrkB通路的促神经生长、发育及再生效应已得到广泛深入的研究,但这一通路在心血管系统的发育中同样发挥重要作用^[6]。BDNF基因缺失可导致内皮细胞凋亡、心肌血管密度减少、微血管渗漏、心室壁出血、房间隔缺损、心室变薄、心脏收缩力下降,以及小鼠产后早期死亡^[7]。体外和体内动物模型的研究都提示在应激状态下,BDNF可激活一系列生存信号通路,包括血管内皮生长因子(VEGF)^[6]、蛋白激酶B(Akt)^[7]、TRPC3/6通道^[8]和活化巨噬细胞^[9]等,从而发挥对缺血心肌的保护作用。

已有大量研究证实,运动可促进大鼠脑部BDNF表达,提高认知功能和改善情绪状态^[10]。但是有关运动对心血管系统BDNF表达影响的报道尚不多见。Prigent-Tessier等^[11]发现运动训练能增加正常和自发性高血压大鼠心内膜、冠状动脉、和主动脉的BDNF水平,但运动对心肌梗死后心肌组织中BDNF的影响尚不明确。本研究发现梗死心肌周围缺血区心肌细胞和间质血管BDNF表达均显著下降,考虑与该处血供不佳导致心肌长期缺血、缺氧,细胞活性下降有关。而免疫组化显示运动可促进该区域血管及心肌组织BDNF蛋白表达,Western blot也进一步证实运动后心肌组织BDNF蛋白水平显著增高,同时伴有其特异性受体TrkB激活。

为了进一步明确BDNF是否在运动诱发的心肌血管生成中发挥介导作用,使用K252a阻断BDNF受体TrkB,观察其对运动后心肌血管密度和心功能的影响。TrkB是BDNF蛋白的高亲和力特异性受体,属于酪氨酸激酶受体Trk家族,也是心血管系统



A:运动方案实施前后各组大鼠血清BDNF水平,两组比较,* $P < 0.05$;B:血清BDNF水平与心肌血管密度呈正相关;C:血清BDNF水平与EF值呈正相关;D:运动方案实施前后血清BDNF变化幅度与EF值变化幅度呈正相关($n=6$)。

图5 运动对血清BDNF水平的影响及其与心肌血管密度、EF值的关联

Figure 5 Effects of exercise on serum BDNF levels and the association with myocardium angiogenesis and LV function

中主要表达的BDNF受体。BDNF与TrkB结合后方能激活其下游信号通路,发挥生物活性作用。K252a是在培养诺卡土壤菌群培养基中发现的一种糖基化的生物碱,是一种特异性强的酪氨酸激酶抑制剂,通过与ATP竞争TrkB胞内区酪氨酸激酶结构上的结合位点而抑制TrkB活化。用K252a阻断BDNF诱导的TrkB磷酸化,可抑制BDNF在大鼠心血管系统的生物作用。既往大多数研究都是利用K252a进行脑室注射在体外观察其对中枢神经系统的影响,也用于体外培养细胞干预。也有研究证实腹腔注射同样可发挥生物学效应。Bavis等^[12]使用K252a进行腹腔注射观察到其对乳鼠颈动脉体发育及呼吸功能的作用;另一项研究使用成年大鼠的模型,将K252a进行腹腔注射观察到其对氟西汀药效的阻断作用^[13],Jimenez-Maldonado等^[14]通过对成年大鼠进行腹腔注射K252a观察到其对运动诱发的胰岛体积增加及胰岛素促敏效应的阻断作用。故而在该实验中主要参考Jimenez-Maldonado等^[14]的方法并观察到TrkB阻断的大鼠心肌TrkB磷酸化水平显著降低,同时伴有心肌血管密度及心功能明显下降,进一步证实BDNF参与了在运动的促血管生成效应、发挥心脏保护作用。但是,阻断TrkB虽然很大程度上抑制了运动诱发的血管生成和心功能改善,但并未完全阻断,说明BDNF之外仍有部分抗心肌缺血的因素发挥作用。

血浆BDNF水平可作为冠心病发生和全因死亡率的4年独立预测因子,表明低血浆BDNF水平可能

与未来的冠状动脉事件和这些患者的死亡有关^[15]。本课题组之前的研究发现稳定性冠心病患者血清BDNF水平增高,并且与血管性血友病因子(vWF)水平呈负相关,两者可联合预测冠心病进展^[16]。这些研究均提示冠心病患者外周血BDNF水平是一个非常非常重要的生物标记物。但是目前有关AMI后外周循环中的BDNF水平的研究很少,缺乏急性期多个时间点动态水平的观察研究。有研究发现,急性冠脉综合征患者血液中BDNF显著降低^[15,17]。但Kuribara等^[18]得出相反结论,即BDNF在急性冠脉综合征患者中显著升高,并且认为高表达的BDNF能有效阻止细胞内的钙超载现象,减轻细胞坏死数量。这些研究样本量都很小,血样采取时间不同,研究人群的诊断及是否并发代谢疾病存在一定异质性,对照组的设立也不一致,所以很难直接将其结果进行比较。本研究发现,心梗手术后第1天,血清BDNF水平心梗手术前显著增高,后逐渐下降,至第5天已恢复至术前水平,与Sham组无显著差异,而2个月后,未参与运动的心肌梗死大鼠血清BDNF水平下降,故而考虑心梗急性期外周循环BDNF水平显著增加,是作为机体一种代偿机制保护残存心肌,而慢性期则可能随着心功能的长期恶化而下降并低于正常健康群体。

研究表明,有氧运动能提高脑卒中、精神疾病以及糖尿病患者的BDNF水平,与增强学习记忆能力、缓解不良情绪、改善胰岛素抵抗相关^[4-5,19]。尽管目前还没有证据表明规律的体力活动能有效改善冠心病

患者外周循环中的BDNF水平,但新近研究发现冠心病患者外周血BDNF水平与心肺适应能力(即最大耗氧量)呈正相关联系^[20]。事实上,良好的心肺适应能力常常与规律的体力活动以及内皮功能的改善紧密相关。本研究显示为期八周的中等强度运动可升高心梗后大鼠血清BDNF水平。Sham、MIC和MIE组大鼠血清BDNF水平及其在运动方案实施前后的变化幅度,与其心肌血管密度、心功能水平和射血分数改善幅度呈正相关。以上结果进一步提示BDNF在运动诱发的心梗后心肌血管生成及心功能改善中发挥重要的介导作用,BDNF可作为潜在的检测指标来评估运动对机体心血管功能的影响,为进一步临床验证提供了理论和试验依据。

[参考文献]

- [1] Froehlich G, Crake T, Meier P. Exercise training for refractory angina: Improving the coronary collateral circulation[J]. *Cardiology*, 2012, 123(2): 78-79
- [2] Mobius-Winkler S, Uhlemann M, Adams V, et al. Coronary collateral growth induced by physical exercise: Results of the impact of intensive exercise training on coronary collateral circulation in patients with stable coronary artery disease (excite) trial [J]. *Circulation*, 2016, 133(15): 1438-1448
- [3] Pius-Sadowska E, Machalinski B. Bdnf - a key player in cardiovascular system[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, 110(1): 54-60
- [4] Kerling A, Kuck M, Teglbür U, et al. Exercise increases serum brain-derived neurotrophic factor in patients with major depressive disorder[J]. *J Affect Disord*, 2017, 215(7): 152-155
- [5] Morais VAC, Tourino M, Almeida ACS, et al. A single session of moderate intensity walking increases brain-derived neurotrophic factor (bdnf) in the chronic post-stroke patients[J]. *Topics in Stroke Rehabilitation*, 2018, 25(1): 1-5
- [6] Halade GV, Ma Y, Ramirez TA, et al. Reduced bdnf attenuates inflammation and angiogenesis to improve survival and cardiac function following myocardial infarction in mice [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2013, 305(12): H1830-1842
- [7] Katare RG, Kakinuma Y, Arikawa M, et al. Chronic intermittent fasting improves the survival following large myocardial ischemia by activation of BDNF/VEGF/PI3K signaling pathway[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 46(3): 405-412
- [8] Hang P, Zhao J, Cai B, et al. Brain-derived neurotrophic factor regulates trpc3/6 channels and protects against myocardial infarction in rodents [J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(5): 536-545
- [9] Hong JH, Park HM, Byun KH, et al. BDNF expression of macrophages and angiogenesis after myocardial infarction [J]. *Int J Cardiol*, 2014, 176(3): 1405-1408
- [10] Liu HL, Zhao G, Cai K, et al. Treadmill exercise prevents decline in spatial learning and memory in app/ps1 transgenic mice through improvement of hippocampal long-term potentiation [J]. *Behav Brain Res*, 2011, 218(2): 308-314
- [11] Prigent-Tessier A, Quirie A, Maguin-Gate K, et al. Physical training and hypertension have opposite effects on endothelial brain-derived neurotrophic factor expression [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 100(3): 374-382
- [12] Bavis RW, Blegen HJ, Logan S, et al. Role of trkb during the postnatal development of the rat carotid body [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2015, 219(1): 18-24
- [13] Jiang B, Huang C, Zhu Q, et al. Wy14643 produces antidepressant-like effects in mice via the bdnf signaling pathway [J]. *Psychopharmacology*, 2015, 232(9): 1629-1642
- [14] Jimenez-Maldonado A, de Alvarez-Buylla ER, Montero S, et al. Chronic exercise increases plasma brain-derived neurotrophic factor levels, pancreatic islet size, and insulin tolerance in a trkb-dependent manner [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e115177
- [15] Tasci I, Kabul HK, Aydogdu A. Brain derived neurotrophic factor (bdnf) in cardiometabolic physiology and diseases [J]. *Anadolu Kardiyol Derg*, 2012, 12(8): 684-688
- [16] Jin H, Chen Y, Wang B, et al. Association between brain-derived neurotrophic factor and von willebrand factor levels in patients with stable coronary artery disease [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2018, 18(1): 23
- [17] Manni L, Nikolova V, Vyagova D, et al. Reduced plasma levels of ngf and bdnf in patients with acute coronary syndromes [J]. *Int J Cardiol*, 2005, 102(1): 169-171
- [18] Kuribara M, Eijsink VD, Roubos EW, et al. Bdnf stimulates ca^{2+} oscillation frequency in melanotrope cells of *xenopus laevis*: Contribution of ip3-receptor-mediated release of intracellular ca^{2+} to gene expression [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2010, 169(2): 123-129
- [19] Brinkmann C, Schafer L, Masoud M, et al. Effects of cycling and exergaming on neurotrophic factors in elderly type 2 diabetic men - a preliminary investigation [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2017, 125(7): 436-440
- [20] Swardfager W, Herrmann N, Marzolini S, et al. Brain-derived neurotrophic factor, cardiopulmonary fitness and cognition in patients with coronary artery disease [J]. *Brain Behav Immun*, 2011, 25(6): 1264-1271

[收稿日期] 2018-04-13