

生理性缺血训练研究进展

倪隽^{1,2} 卢红建^{3,5} 励建安⁴

冠心病是人类最常见的疾病之一,严重影响患者的生存质量。尽管近年无论治疗药物、手术,还是心血管介入等治疗手段都在不断改善,但仍存在部分患者无法进行或者无力承担相关药物治疗、介入治疗、手术治疗,仍急需新的治疗方案^[1]。

近年研究证实,治疗性血管生成可作为挽救缺血组织的重要策略。有氧运动促进血管侧支循环形成的作用主要通过诱发心肌缺血产生,但侧支是否形成不仅与运动强度有关,而且生成数量与运动强度成正比^[2]。有氧运动强度较大,达缺血阈强度,才会产生相对较强的促进冠状动脉缺血区域侧支循环的作用。但如果达到缺血阈强度的运动持续时间过长,相应的发生心血管意外的可能性也会增加^[3]。

缺血可以是病理性的,也可以是生理性的。励建安教授^[4-6]课题组创造性地提出了生理性缺血训练(physical ischemic training, PIT)的概念。该系列研究已长达十余年,研究表明生理性远隔缺血训练作为一种内源性心脏保护现象可以增加缺血区域的血管发生,促进远隔缺血部位侧支循环的形成,实现缺血心肌的长久保护,对心肌梗死有保护作用^[7]。它与人们熟知的缺血预适应(ischemic preconditioning, IP)存在本质的不同。

1 生理性缺血训练

1.1 概念

在临床上经常可以见到有些冠心病患者,反复发生心绞痛(反复心肌缺血),一旦发生心肌梗死,致死性或严重心肌梗死比例较小;而无心绞痛发作者,一旦发生心肌梗死,容易发生大面积甚至致死性心肌梗死^[8-9]。上述现象说明冠心病患者心肌缺血区域形成有效侧支循环,也是缺血心肌的自我保护机制,更是重要的治疗机制。

缺血可以是病理现象,也可是血管短暂收缩的生理现象。无论病理性还是生理性缺血,缺血后均会产生局部组织代谢产物积聚,并反馈导致毛细血管扩张和血流量的增加,恢复供需平衡。长此以往,可促进局部侧支循环生成。

课题组正是在此基础上,提出了PIT的概念,即在正常肢体组织采用等长收缩或袖带加压,造成骨骼肌可逆性缺血,促进远隔病理性缺血部位侧支循环的形成,目的在于避免高强度运动过程中心血管事件的发生。

1.2 训练方案

等长收缩是人类的基本运动形式。运动时肌肉张力增高,产生的对肌肉内血管壁的压力也相应增大,可以导致血流阻断。沈梅等^[10]研究则发现,通过长期电刺激后肢缺血兔模型正常侧骨骼肌诱导的等长收缩运动,可以使病理性缺血侧后肢局部血管新生增加。PIT在兔心肌缺血模型上通过电刺激诱导正常骨骼肌反复进行等长收缩,产生可逆性可控缺血而不增加血压和心率^[7,10-13]。课题组前期研究显示缺血性心脏病患者等长收缩时,心血管事件发生率低于动力性运动组,且等长收缩运动其舒张压和较长的灌注时间对心肌缺血有一定的保护作用^[14]。

余滨宾等^[15]在可控性心肌缺血的兔模型的研究中证实,短暂的心肌完全性缺血达2min,可最大程度开放其缺血区域固有侧支;实验证实,采用这种可控性心肌缺血训练的方式,2min/次,2次/d,3—5次/周,持续4—5周,在兔局部缺血心肌可形成侧支循环^[4-6]。

目前临床研究采用的生理性缺血训练方案采用袖带加压或等长收缩。临床研究多采用最大自主等长收缩握拳运动,产生短暂的骨骼肌缺血,从而达到PIT的目的。在训练过程中患者一只手持握力器用主观最大努力持续握拳并计数,每次持续1min,放松1min,重复10次为一组;换另一侧肢体握拳再做1组;每天2次,共4组;每周训练5d,训练3个月。运动中要求保持自然呼吸,避免憋气。

在临床实验中,李咏雪等^[16]采用高强度静力性握拳(握握力器)诱导上肢肌肉最大等长收缩运动,造成短暂的骨骼肌生理性缺血,每次握拳持续1min,放松1min,重复10次为1组,每天4组,每周5d,训练3个月。证实生理性缺血训练可以增加冠心病患者循环内皮祖细胞的数量和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的浓度,

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.03.026

1 南通大学附属医院康复医学科,226001; 2 南京医科大学康复医学系; 3 南通市第二人民医院康复医学科; 4 江苏省人民医院;

5 通讯作者

作者简介:倪隽,女,博士研究生; 收稿日期:2015-03-09

从而促进远隔缺血心肌侧支循环的生成。

1.3 对心血管的保护作用及机制

1.3.1 分子层面: VEGF 1989年首次在牛垂体中发现,已被证实是对血管形成具有特异性的重要生长因子。研究发现 VEGF 出现在很多组织中,如肝脏、骨骼肌、心肌及血液^[17-18]等,可促进血管内皮细胞增殖、血管生成、增加血管通透性、增加心输出量、降低血管外周阻力,还可以刺激单核细胞及成骨细胞的迁移,促进血管内皮细胞的愈合,使内膜内皮化,间接地抗血栓形成等^[19]。

前国家自然科学基金课题(30370687)研究时发现心肌缺血刺激不仅使心肌 VEGF 表达增高,同时也使邻近组织和远隔组织的表达增加;血液与心肌、肝脏 VEGF 水平具有相关性^[6,20]。这些结果提示缺血刺激不仅导致局部组织的 VEGF 增加和血管储备改善,也可导致 VEGF 的远隔表达。

在前国家自然科学基金课题(30570893)研究时发现,正常肢体等长收缩导致的短暂性缺血,即远隔部位的生理性缺血训练可以诱发 VEGF 及其受体 Flt-1 (VEGFR1), Flk-1(VEGFR2)的表达增加^[8], EPCs 数量增加,活性明显增强^[9],对心肌和病理骨骼肌侧支循环的生成起促进作用,对心肌梗死有保护作用^[10]。

1.3.2 蛋白质组学层面: 高晶等^[21]通过阻断冠状动脉和股动脉的兔可控性缺血模型,进行生理性缺血训练研究证实:① 22种鉴定蛋白中,13种蛋白位于线粒体,提示线粒体是远隔效应作用于心肌的主要细胞器。另外,尽管鉴定出的蛋白分属不同功能,而且或上调或下调,但除功能尚不确实的蛋白外,均符合缺血组织功能恢复的蛋白和能量变化规律。② 线粒体和能量代谢相关蛋白:该研究发现生理性缺血训练组线粒体电压依赖性阴离子通道蛋白表达量明显高于单纯缺血组,认为可能是由于生理性缺血训练后,机体通过增高电压依赖性阴离子通道蛋白表达量,对其通道的大量关闭起到代偿作用,从而发挥对缺血心肌的保护作用。③ 细胞骨架蛋白:生理性缺血训练通过远隔效应,致细胞骨架的改变,微丝、微管的减少及解聚,细胞刚性降低,致细胞更易于在组织中穿行,促使心肌组织侧支生成,此过程中细胞移动增加相一致。研究证实远隔缺血训练促进血管新生,使缺血心肌血氧增加,能量代谢增强,因而缺血心肌得到有效恢复。

Jinyang GU 等^[22]在转铁蛋白和蛋白质二硫键异构酶表达的上调和线粒体 ATP 酶 F1 的表达下调,从蛋白表达谱的改变方面证实了生理性缺血训练对血管生成的作用。

1.3.3 细胞层面: 循环内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 是血管内皮细胞的前体细胞,在生理或病理因素刺激下,可从骨髓动员到外周血参与损伤血管的修复,参与出生后的血管新生过程,被认为是心血管危象因子的生物学标记之一^[23-25]。

Chunxiao Wan^[11]等研究发现生理学缺血训练明显增加心肌缺血兔中内皮祖细胞的动员,从而增加缺血心肌处血管新生现象。本研究表明,PIT 可以促进 EPCs 的动员和归巢。数据显示,生理性缺血训练后,动物体内的 EPCs 数量同假手术组和单纯心肌缺血组比较都出现明显增加现象。迁移和黏附实验也表明 PIT 能够增加 EPCs 的迁移能力和黏附能力,有利于 EPCs 的动员和归巢,同时研究结果表明 PIT 对于 EPCs 的细胞周期却无影响。4周实验末,同假手术组比较,PIT 组、单纯心肌缺血组的毛细血管密度都出现增加,并且 PIT 组增加更为明显。相关性分析表明,缺血心肌处的毛细血管密度同外周血中的 EPCs 数量呈正相关。说明 PIT 可以通过增加外周血中 EPCs 来增加缺血心肌处的新生毛细血管。

李咏雪等^[16]研究发现 EPCs 与 VEGF 之间存在正相关,这说明 EPCs 与 VEGF 在促进疾病的恢复方面存在共同的有利作用。

肖明月等^[26]研究探讨了生理性缺血训练促进病理性缺血心肌侧支生成过程中,VEGF-NO 对 EPCs 归巢的调控机制,为这一技术进入临床实用提供理论基础。

即生理性缺血训练可以通过 VEGF-NO 介导的内源性 EPCs 迁移促进远隔的缺血组织侧支循环形成,最终形成生物搭桥。Zheng Y^[27]研究证实生理性缺血训练促进 VEGF 介导的 EPCs 迁移,同时促进血管新生,证实生理性缺血训练有望成为治疗冠心病病人的一种新的治疗策略。

十余年系列研究证实,缺血可以诱导 VEGF 及其受体在全身不同器官表达,促进 EPCs 的动员和归巢,通过 VEGF-NO 介导的内源性 EPCs 迁移促进远隔的缺血组织侧支循环形成,最终形成生物搭桥,并促使缺血部位毛细血管新生、侧支循环形成。但其作用的具体机制仍需要进一步深入研究。

1.3.4 临床研究: 李咏雪等^[16]首次把 PIT 安全地应用于临床冠心病患者,并发现冠心病患者循环 EPCs 数量、VEGF 浓度和 NO 浓度均显著增加,认为可能通过 VEGF 和 NO 介导的 EPCs 归巢机制作用,促进远隔病理性缺血心肌侧支循环的生成。Lin S 等^[28]采用随机对照研究了 PIT 对冠心病急性冠脉闭塞侧支循环形成的影响。该研究共入选 65 例冠状动脉造影存在一支血管病变的冠心病患者,随机分为对照组和生理性缺血训练组。在行经皮冠脉介入术中所有患者的病变血管给予球囊阻塞,持续 1min;在球囊阻塞同时,生理性缺血训练组做等于 50%最大自主收缩力的长握拳收缩 1min,对照组不做任何运动。球囊阻塞前及阻塞终末时,所有患者均测定血流动力学指标和侧支血流指数相关参数值。通过冠状动脉造影研究,生理性缺血训练组和对照组相比,生理性缺血训练组急性冠状动脉阻塞时冠脉侧支流动指数明显高于对照组,证实生理性缺血训练促进冠心病患者急性冠脉闭

塞时缺血心肌侧支循环形成。

2 缺血预适应

缺血预处理(ischemia preconditioning, IP)是1986年Murry等^[29]首次发现。指预先短时间非致死性重复缺血/缺氧后,机体组织细胞获得对随后长时间致死性缺血/缺氧损伤的高耐受性,表现为实质组织细胞死亡明显减少,梗死范围大幅度缩小,器官功能障碍明显减轻等。该现象普遍存在于机体的各器官,是机体的一种内源性保护机制。但IPC的缺点是直接作用于器官,因此不适合用于保护心脏和脑等关键器官。远端缺血预适应(remote ischemic preconditioning, RIPC)^[29-31]指局部器官组织重复缺血缺氧,使该器官缺血缺氧的耐受能力增高的同时,也增强其他远隔的组织或器官对缺血缺氧的耐受能力。这种干预在非重要器官进行,不会造成再次创伤,对重要器官(如脑和心脏)也有一定的保护作用,近年受到许多学者的关注。

3 小结

生理性缺血训练和肢体缺血预适应同样反复在正常肌肉造成暂时缺血,区别主要在于生理性缺血训练训练时程比较长,能促进远隔病理性缺血部位的侧支循环生成,对缺血部位保护作用持久,为长期效应,是一种康复训练手段。无论早期缺血预适应,还是延迟缺血预适应,为缺血耐受,减少缺血再灌注损伤,其保护作用均相对短暂。

PIT和RIPC的基本作用机制存在差异。目前研究认为RIPC主要涉及全身多系统多因素抗炎作用,神经和体液信号通路,并可能相互作用^[32]。PIT通过上调VEGF、VEGF mRNA和其受体Flt-1(VEGFR1),Flk-1(VEGFR2)的表达增加等的表达,诱导参与能量代谢,蛋白质折叠,蛋白质的差异表达,内皮祖细胞数量增加,活性增强,诱导血管新生,促进缺血心肌的血管生成。但无论PIT和RIPC作用机制均非常复杂,尚未完全确定,都需要进一步深入研究。

由于生理性远隔缺血训练的易操作性及无创性,可望给不耐受或者无力承担相关药物治疗、介入治疗、手术治疗和有效运动训练心肌缺血患者增加一个新的治疗途径,并且为临床缺血性心脏病中多见的稳定型心绞痛患者的治疗提供了实验依据和理论基础,有望在药物应用同时,协助延缓获逆转病情向心肌梗死发展的进程,减轻病变,保持心功能,延长寿命,提高生存质量,对既往缺血性心血管病康复治疗策略形成有益补充,其作用还需要大规模、多中心的临床研究进一步证实。

参考文献

[1] 王挹青,何世华,王焱. 80岁以上冠心病患者行冠状动脉介入

治疗术的安全性和疗效观察[J]. 中华老年医学杂志, 2001, 20(2): 108—110.

- [2] Steiner S, Niessner A, Ziegler S, et al. Endurance training increases the number of endothelial progenitor cells in patients with cardiovascular risk and coronary artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2005,181(2):305—310.
- [3] Walther C, Adams V, Bothur I, et al. Increasing physical education in high school students: effects on concentration of circulating endothelial progenitor cells[J]. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 2008,15(4):416—422.
- [4] 金挺剑, 励建安, 王骏, 等. 心肌缺血日负荷对冠状动脉侧支血流量的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2005, 20(6):405—408.
- [5] 王元会, 励建安, 顾劲扬, 等. 心肌周缺血频率对兔冠状动脉侧支循环生成的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2006, 28(1):5—9.
- [6] 刘元标, 励建安, 路鹏, 等. 家兔短暂心肌缺血后VEGF蛋白表达的空间规律[J]. *中国康复医学杂志*, 2004, 19(6):422—425.
- [7] Lin A, Li J, Zhao Y, et al. Effect of physiologic ischemic training on protection of myocardial infarction in rabbits[J]. *Am J Phys Med Rehabil*, 2011,90:97—105.
- [8] White FC, Carroll SM, Magnet A, et al. Coronary collateral development in swine after coronary artery occlusion[J]. *Circ Res*, 1992, 71:1490—1500.
- [9] Ottani F, Galvani M, Ferrini D, et al. Prodromal angina limits infarct size. A role for ischemic preconditioning[J]. *Circulation*, 1995,91: 291—297.
- [10] Shen M, Gao J, Li J, et al. Effect of ischemic exercise training of normal limb on angiogenesis of pathological ischemic limb in rabbit[J]. *Clinical Science*, 2009, 5(117): 201—208.
- [11] Wan C, Li J, Yi L. Enhancement of homing capability of endothelial progenitor cells to ischaemic myocardium through physiological ischaemia training[J]. *J Rehabil Med*, 2011,43(6):550—555.
- [12] 韩良, 励建安, 余滨宾. 等长收缩负荷对家兔股动脉固有侧支循环开放的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2010, 32(1):13—16.
- [13] 王骏, 励建安, 金挺剑, 等. 心肌缺血日负荷对新西兰兔血管内皮生长因子表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2005, 20(003):165—168.
- [14] 励建安. 慢性心衰病人的运动试验和运动训练[J]. *国外医学·物理医学与康复学分册*, 1995, 15(1):14—15.
- [15] 余滨宾, 励建安, 韩良. 缺血负荷对家兔股动脉固有侧支循环开放的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2010,25(1): 4—8.
- [16] 李咏雪, 林松, 陆晓, 等. 生理性缺血训练对冠心病患者循环血管内皮祖细胞的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2012, 27

- (4):293—299.
- [17] Rosmorduc O, Wendum D, Corpechot C, et al. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in experimental biliary cirrhosis[J]. *Am J Pathol*, 1999,155(4):1065—1073.
- [18] Gustafsson T,Knutsson A,Puntschart A,et al.Increased expression of vascular endothelial growth factor in human skeletal muscle in response to short-term one-legged exercise training[J].*Pflugers Arch- Eur J Physiol*, 2002, 444: 752—759.
- [19] Herz J, Reitmeir R, Hagen SI, et al. Intracerebroventricularly delivered VEGF promotes contralesional corticorubral plasticity after focal cerebral ischemia via mechanisms involving anti-inflammatory actions[J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 45(3):1077—1085.
- [20] 路鹏,励建安,刘元标,等. 心肌短暂缺血后血管内皮生长因子表达的时间规律[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2004, 26(10): 577—580.
- [21] Gao J, Shen M,Guo X,et al. Proteomic mechanism of myocardial angiogenesis augmented by remote ischemic training of skeletal muscle in rabbit[J]. *Cardiovasc Ther*, 2011, 29 (3): 199—210.
- [22] Gu J,Wang Y,Li J, et al. Proteomic analysis of left ventricular tissues following intermittent myocardial ischemia during coronary collateralization in rabbits[J]. *International Journal of Cardiology*, 2009, 131:326—335.
- [23] Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al.Circulating endothelial progenitor cells, vascular function and cardiovascular risk[J]. *N Engl J Med*,2003,348(7):593—600.
- [24] Mobius-Winkler S, Höllriegel R, Schuler G,et al. Endothelial progenitor cells: implications for cardiovascular disease[J]. *Cytometry A*, 2009, 75(1): 25—37.
- [25] Schmidt-Lucke C, Rossig L, Fichtlscherer S, et al. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair[J]. *Circulation*,2005,111:2981.
- [26] Xiao M, Lu X, Li J, et al. Physiologic ischaemic training induces endothelial progenitor cell mobilization and myocardial angiogenesis via endothelial nitric oxide synthase related pathway in rabbits[J]. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* , 2014,15(4): 280—287.
- [27] Zheng Y, Lu X, Li J, et al. Impact of remote physiological ischemic training on vascular endothelial growth factor, endothelial progenitor cells and coronary angiogenesis after myocardial ischemia[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 177(3):894—901.
- [28] Lin S, Lu X, Chen S, et al. Human coronary collateral recruitment is facilitated by isometric exercise during acute coronary occlusion[J]. *J Rehabil Med*, 2012, 44(8):691—695.
- [29] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium[J]. *Circulation*, 1986, 74(5): 1124—1136.
- [30] Candilio L, Malik A, Ariti C, et al. Effect of remote ischaemic preconditioning on clinical outcomes in patients undergoing cardiac bypass surgery: a randomised controlled clinical trial[J]. *Heart*, 2015, 101(3):185—192.
- [31] Thielmann M, Kottenberg E, Kleinbongard P, et al. Cardioprotective and prognostic effects of remote ischaemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a single-centre randomised, double-blind, controlled trial[J].*Lancet*, 2013, 382(9892):597—604.
- [32] Gassanov N, Nia AM, Caglayan E, et al. Remote ischemic preconditioning and renoprotection: from myth to a novel therapeutic option?[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25:216—224.