

等长收缩训练促进犬慢性缺血心肌侧支动脉生成的研究*

姜 峰^{1,2} 管骏涛² 耿灿茹² 宋佳成² 严降雨³ 林 松⁴ 陆 晓^{2,5}

摘要

目的:观察等长收缩训练对犬慢性缺血心肌侧支动脉生成的影响。

方法:应用Ameroid缩窄器制备犬慢性冠状动脉狭窄模型,造模成功后,将模型动物随机分为3组:假手术组(SO, n=6),单纯心肌缺血组(OMI, n=6),被动等长收缩训练组(PIE, n=6)。SO组进行开胸手术,不进行慢性心肌缺血造模,也不给予任何缺血刺激和运动训练,安静笼养;OMI组手术进行慢性心肌缺血造模,不进行任何运动训练;PIE组手术进行慢性心肌缺血造模,关胸后休息1周后开始被动等长收缩训练,采用100%最大强度训练1min,休息1min,每日重复20次,每周训练5天,训练时程为6w。实验终点时,所有模型犬采用心脏SPECT成像测定心肌缺血区域血流灌注;微球技术检测缺血心肌冠状动脉侧支循环血流量;免疫组化法测定犬缺血心肌组织单核细胞、内皮细胞及平滑肌细胞数量,小动脉密度。

结果:6周PIE后,OMI组的静息血流灌注心肌节段总评分最高,PIE组的值高于SO组。冠状动脉侧支循环血流量(MBF)在PIE组显著高于OMI组及SO组。PIE组的内皮细胞数量、单核细胞数量、平滑肌细胞数量均显著高于其他各组。通过相关性分析发现,小动脉密度与MBF呈正相关;内皮细胞数量、平滑肌细胞数量、单核细胞数量均与小动脉密度呈正相关。

结论:等长收缩训练可以促进远隔缺血心肌侧支动脉生成,改善侧支循环血流,实现“生物搭桥”。

关键词 等长收缩;心肌缺血;侧支动脉生成;单核细胞;平滑肌细胞

中图分类号:R541.4, R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2017)-01-0015-08

Isometric exercise training stimulates coronary arteriogenesis in canine chronic ischemic myocardium/ JI-ANG Feng, GUAN Juntao, GENG Canru, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2017, 32(1): 15—22

Abstract

Objective: To investigate the effects of active isometric exercise training on coronary arteriogenesis in canine model of chronic ischemic myocardium.

Method: An Ameroid constrictor was placed around the left anterior descending branch of the left coronary artery in healthy adult male canine. The animals were divided into three groups: sham-operated group (SO) (n=6), only myocardial ischaemia group (OMI) (n=6), passive isometric exercise training group (PIE) (n=6). Canine in the PIE group performed passive isometric exercises for 6 weeks, whereas canine in the SO group and OMI group remained sedentary. At the endpoint, SPECT imaging was used to evaluate myocardial perfusion. Myocardial blood flow of ischemic area was measured by colored microspheres. The expression of arteriolar density, the proliferation of mononuclear phagocyte, smooth muscle cells and endothelial cells were measured

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2017.01.005

*基金项目:国家自然科学基金资助项目(81472164)

1 复旦大学附属妇产科医院,上海,200011; 2 南京医科大学第一附属医院; 3 宁波市李惠利医院; 4 南京医科大学附属南京医院; 5 通讯作者

作者简介:姜峰,男,主治医师; 收稿日期:2016-09-20

by immunohistochemical analysis.

Result: Compared with the other two groups, SO group had the lowest summed rest score. The score in the PIE group was lower than that in the OMI group. The MBF in the PIE group was markedly higher than those in the OMI and SO groups. The arteriolar density in the PIE training group was the highest among the three groups. EC number, SMC number and MC number in the PIE group was higher than those in the OMI and SO groups. The collateral blood flow was correlated with the arteriolar density. The arteriolar density was correlated with the EC count, SMC count and MP count.

Conclusion: Active isometric exercise could stimulate coronary arteriogenesis in the canine model of chronic myocardial ischemia, increase the blood perfusion in ischemic myocardium.

Author's address Obstetrics & Gynecology Hospital of Fudan University, Shanghai, 200011

Key word isometric exercise; myocardial ischemia; smooth muscle cell; mononuclear phagocyte; arteriogenesis

冠心病的发病率逐年升高,已成为对人类威胁最大的疾病之一^[1]。目前冠心病治疗的目的在于改善缺血区域心肌的血液供应,经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)和冠状动脉旁路移植术是目前临床上有效的血运重建方式^[2],但是有很大一部分患者由于各种客观条件因素限制不适合做经皮冠状动脉介入治疗和冠脉搭桥手术^[3]。

良好的冠状动脉侧支循环(coronary collateral circulation, CCC),具有保护缺血心肌的作用,改善患者的预后,是心肌缺血重要的代偿机制。成年后的侧支循环生成包括血管新生(angiogenesis)和动脉生成(arteriogenesis)两部分^[4-5],血管新生与动脉生成相比较,新生的血管管径细小,管径迂长,即使在压力差相同的情况下,数目庞大的新生血管网络也没有一根功能性动脉传导的血量多^[6]。因此促进缺血心肌区域侧支动脉生成,即“生物搭桥”以补充缺血区域心肌血供不足有可能成为冠心病患者极具潜力的治疗方法之一^[7]。

国外研究证实,等长收缩运动能够有效地降低心绞痛、心肌缺血等的发生概率^[8-9],本课题前期研究也证实等长收缩运动能够改善缺血心肌血流灌注^[10],但是等长收缩运动能否促进缺血心肌侧支动脉生成,目前仍缺少足够的研究来证实。本实验通过观察等长收缩训练对犬慢性缺血心肌侧支动脉生成的影响,为冠心病临床康复治疗开辟新途径提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康成年雄性比格犬,月龄 10—15 个月,体质

量(10.0±2.0)kg,购自南京医科大学实验动物中心[SCXK(苏)2014-0025]。动物饲养均采用标准饲料、自由饮水;饲养环境为温度、湿度、亮度控制的房间。动物在南京医科大学动物实验中心进行适应性饲养 1 周后进行手术造模及分组训练。实验方案遵循美国 NIH 公布的实验动物使用指南,并经南京医科大学第一附属医院伦理委员会批准。

1.2 慢性心肌缺血模型的建立

该动物模型采用国内外较为成熟的造模技术。实验犬取右侧卧位,经 3%戊巴比妥 1ml/kg(CWE 公司,美国)静脉麻醉;于胸骨左缘第 5 肋间进胸,暴露心脏,使用 2%利多卡因喷洒心脏表面,寻找到冠状动脉左前降支(left anterior descending, LAD),于第一对角支上方,距离心耳边缘约 0.5—1cm 处放置内径 1.5—1.75mm 大小的 Ameroid 缩窄环(美国 Research Instruments, SW 公司),逐层缝合后关闭胸腔,术后进行常规抗感染治疗,肌肉注射青霉素 240 万单位,每日 2 次,共 3d。

1.3 被动等长收缩训练模型的建立

犬麻醉后取右侧卧位,于股四头肌插入针灸针连接点接电疗机的正电极,股骨粗隆下 1cm 左右插入针灸针连接点接电疗机的负电极,取直流电模式,缓慢增加电流强度,刺激实验犬的两侧后肢产生等长收缩运动,100%最大等长收缩强度采用本课题组既往的方案:弹簧秤勾住缚住足踝上方的绷带,与胫骨垂直方向固定弹簧秤,电刺激股四头肌产生等长收缩,强度由小到大,直到伸膝力量达到平台,即认为达到 100%最大等长收缩。此时的电流强度为 0.3mA 左右。采用 100%最大等长收缩训练强度训

练1min,休息1min,每日重复20次,每周训练5d,训练时程为6周。

1.4 实验动物分组

共有20只犬进行慢性心肌缺血造模,其中2只于放置Ameroid缩窄环过程中因血管破裂大出血死亡,成功造模的18只犬在休息1周后,随机分为3组:①假手术组(sham-operated group, SO组)(n=6),该组只进行开胸手术,不进行慢性心肌缺血造模,也不给予任何缺血刺激和运动训练,安静笼养;②单纯心肌缺血组(only myocardial ischaemia group, OMI组)(n=6),该组手术进行慢性心肌缺血造模,不进行任何运动训练;③被动等长收缩训练组(passive isometric exercise, PIE组)(n=6),该组进行慢性心肌缺血造模,关胸后休息1周,后开始被动等长收缩训练。

1.5 SPECT显像

运动训练6周后全部18只模型犬以3%戊巴比妥1ml/kg静脉麻醉后,静脉注射99Tcm-MIBI 20MBq/kg,注射后15min行SPECT显像。SPECT采集图像根据美国心脏学会(American College of Cardiology)公布的心脏轴向定位模式对水平长轴、垂直长轴和短轴分别进行定位。使用滤波反投影法(Butter-worth滤波,截止频率为0.4,陡度因子为5.0)对SPECT显像进行图像重建。放射性原子T99标记甲氧基异丁基乙腈(MIBI),能选择性被功能正常心肌吸收,聚集在正常心肌区域。吸收一定量放射性药物的心肌会在图像中呈现高密度区域。如果心肌有供血减少,MIBI吸收减少就会出现异常的暗区,表明此区域可能处于缺血状态。显像结果采用靶心图表示,靶心图将心脏分为前壁、前间壁、后间壁、下后壁、前侧壁、后侧壁、心尖7个区域,20个节段。节段心肌血流灌注情况采用半定量法节段评分:0分:正常,1分:轻度降低,2分:中度降低,3分:重度降低,4分:完全没有摄入。总的心肌血流灌注情况采用20个节段的评分相加即节段总评分来表示。

1.6 缺血心肌侧支循环血流量检测

采用微球法测定缺血心肌侧支循环血流量(collateral blood flow, CBF)(美国Triton公司)^[11]。冠状动脉左前降支Ameroid缩窄器植入后,心电图

监测下于LAD阻断前和阻断2min引起心肌缺血的最后30s分别于左心房注射黄色和红色微球;实验终点时,各组实验动物在麻醉状态下再次开胸,心电图监测下于LAD阻断前和阻断2min引起心肌缺血的最后30s分别于左心房注射白色和紫色微球。微球注射之前10s开始用恒速泵从左心室抽取参考血样。处死动物后于Ameroid阻断部位远端3mm处取材,分别对心肌组织块及参考血标本进行消化和染料提取。使用分光光度计(上海精科分析仪器厂)分别在黄、红、白、紫、蓝(对照)相对应的448nm、535nm、390nm、594nm、672nm波长下测量吸收光密度,所得吸光度值用计算软件(TPITon5)得出微球粒数(粒/g心肌)。

根据公式 $Q_m = (T_m \times Q_r) / (R_m \times g)^{[12]}$ 计算每一片段心肌的CBF,其中 Q_m 代表单位心肌样本的血流量(ml/min/g), T_m 代表心肌样本的微球粒数, Q_r 代表动脉血抽血速度(ml/min), R_m 代表动脉血样本的微球粒数, g 代表心肌组织的重量。

1.7 免疫组化检测

所有实验犬处死后。于Ameroid阻断部位远端3mm处取心肌置于4%多聚甲醛中备镜检。经常规石蜡包埋,切片,脱蜡,固定等处理后分别加入一抗(分别加入兔抗人 α -平滑肌肌动蛋白多克隆抗体用于测小动脉密度和平滑肌细胞,Sigma公司;抗CD31多克隆抗体用于测内皮细胞,谷歌生物公司;抗CD68多克隆抗体用于测单核/巨噬细胞,谷歌生物公司)及二抗(1% BSA-PBS稀释的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗,Sigma公司)孵育。DAB显色剂显色(DAKO公司)。结果判读:

1.7.1 小动脉密度结果判断:经免疫组化染色的阳性微血管呈棕黄色。200倍光学显微镜(日本Olympus)下,使用image pro plus 6.0图像处理系统(USA Media Cybernetics),在上述指定的视野范围内随机选取5个高倍视野计数血管数目(n/mm²),取均值代表每一样本数。光学显微镜下观察并选取典型视野摄片。

1.7.2 平滑肌细胞增值判断:显微镜下间质细胞胞浆棕黄色为阳性表达,使用高倍镜($\times 200$)视野观察,选取阳性表达区内的5个无重叠的视野进行分析,人工计算每张切片的 α -SMA阳性梭形细胞数

目,每张切片分别取其平均值,使用Graphpad 6.0软件进行统计学分析。

1.7.3 内皮细胞增殖判断:CD31定位于内皮细胞胞浆,以胞浆染成棕黄色或黄褐色确定为阳性目标,显微镜下,采集每张切片($\times 200$ 倍)免疫组化图像,随机选5个不互相重叠的视野,使用Image-proplus 6.0软件测定积分光密度值(integrated optical density, IOD),取其平均值,积分光密度值越大代表表达越强。

1.7.4 单核细胞增殖判断:细胞浆出现棕色或棕黄色颗粒状染色为CD68阳性。每个动物随机取3张切片,每个切片任取10个200倍高倍镜视野,使用Image-proplus 6.0软件测定它的IOD,取平均值,积分光密度值越大代表表达越强。

1.8 统计学分析

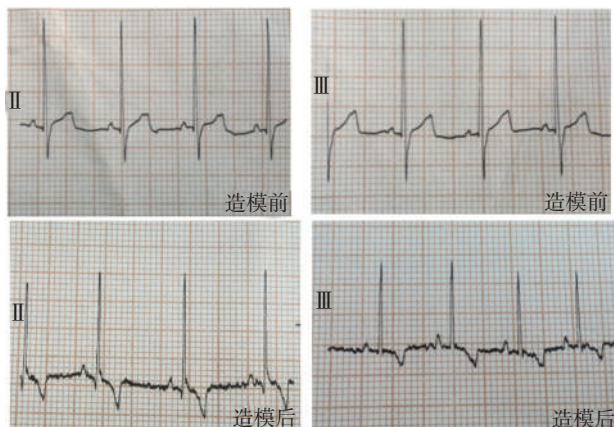
采用SPSS 16.0统计软件对数据进行处理,计量资料数据以均数 $\pm$ 标准差表示;免疫组化结果采用Image-proplus 6.0软件进行量化;组间比较采用单因素方差分析;组内前后值相比较采用配对 t 检验。相关性分析采用Pearson相关分析进行统计。计数数据采用 χ^2 检验。柱形图及散点图均采用软件Graphpad Prism 6进行制作。

2 结果

2.1 模型建立情况

共有20只犬进行慢性心肌缺血造模,2只于放置缩窄环过程中因血管破裂大出血死亡。心电图表

图1 造模前后心电图



现:放置Ameroid缩窄环后即刻和术后6周,行12导联心电图检查。在置入Ameroid缩窄环后1h所有动物心电图均未出现急性心肌梗死图形(包括ST段抬高和非ST段抬高型心肌梗死)。置入Ameroid缩窄环后6周,所有模型犬心电图均有改变,以I、AVL和(或)II、III、AVF和(或)V4—V6导联ST段压低和(或)T波改变为主。见图1。

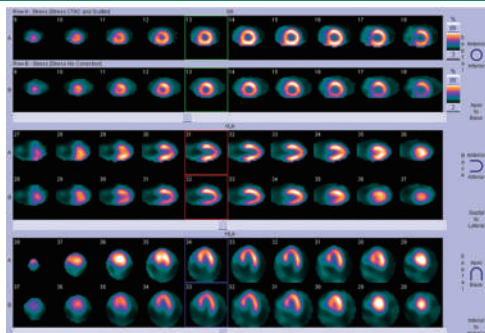
2.2 实验终点各组SPECT显像

3组中SO组的心肌节段总评分(8.00 ± 4.34)最低($P < 0.05$)。PIE组的心肌节段总评分(26.83 ± 5.47)低于OMI组(49.33 ± 8.62 , $P < 0.05$)。见图2—图7。

2.3 实验终点各组心肌血流量

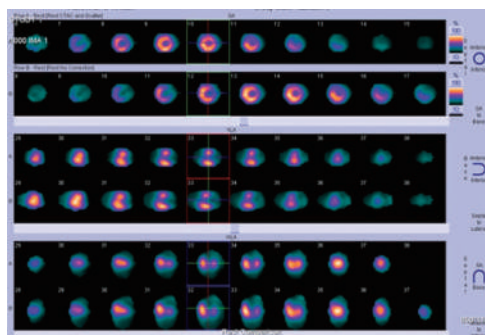
所有模型动物均进行微球检测,并参照公式计算每一片段心肌的血流量(myocardial blood flow, MBF)。训练前造模时,各组MBF的基础值比较,差异无显著性意义($P > 0.05$);训练6周后,PIE组的MBF值明显高于OMI组($P < 0.05$)。OMI组的

图2 假手术组某犬SPECT图像



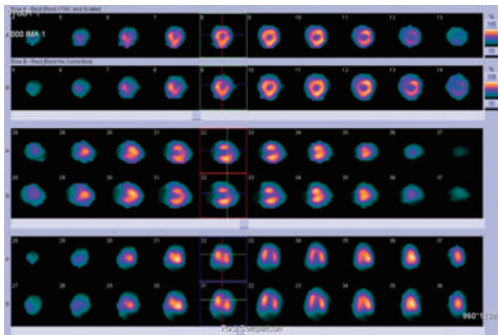
注:上中下三行分别为心脏短轴面、水平长轴、垂直长轴心肌扫描结果,每一行B行心脏切面,橙红色高亮度区域越多,显示存活心肌越多。

图3 单纯心肌缺血组某犬SPECT图像



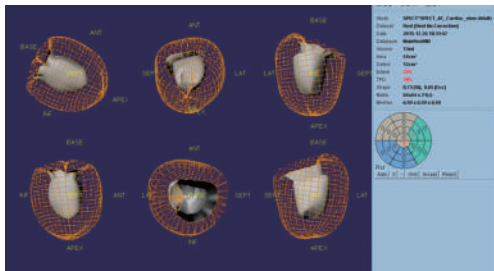
注:上中下三行分别为心脏短轴面、水平长轴、垂直长轴心肌扫描结果,每一行B行心脏切面,橙红色高亮度区域越多,显示存活心肌越多。OMI组犬存活心肌较SO组明显减少。

图4 被动等长收缩训练组某犬SPECT图像



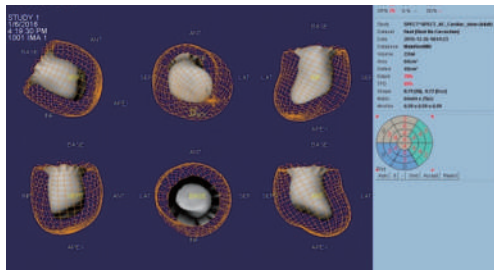
注:上中下三行分别为心脏短轴面、水平长轴、垂直长轴心肌扫描结果,每一行B行心脏切面,橙红色高亮度区域越多,显示存活心肌越多,与OMI组犬相比,PIE组犬存活心肌明显增加。

图5 假手术组某犬靶心图



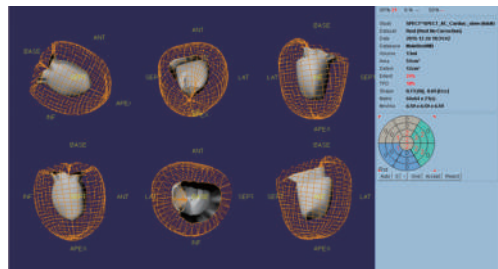
注:右侧为心肌节段总评分:2分

图6 单纯心肌缺血组某犬靶心图



注:右侧为心肌节段总评分:60分

图7 被动等长收缩训练组某犬靶心图



注:右侧为心肌节段总评分:25分

MBF值高于SO组($P < 0.05$)。见表1。

2.4 实验终点各组小动脉密度

等长收缩训练6周后,PIE组犬AD值(50.89 ± 11.96)最高($P < 0.05$),OMI组AD值(38.14 ± 5.76)明显高于SO组(30.60 ± 5.95 , $P < 0.05$)。见图8。

2.5 实验终点各组内皮细胞增殖情况

等长收缩训练6周后,PIE组犬缺血心肌EC的数量(103.85 ± 7.22)最高($P < 0.05$),OMI组的缺血心

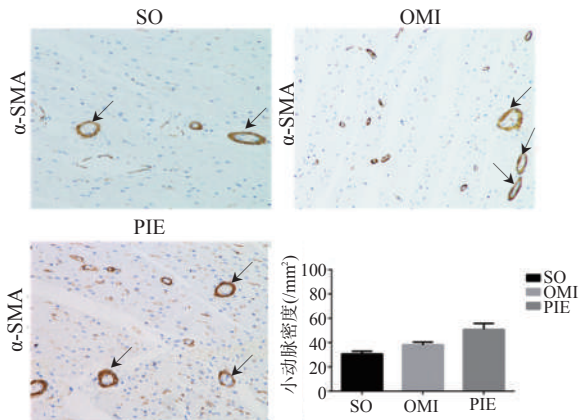
表1 训练前后各组MBF对比 ($\bar{x} \pm s, \text{ml/min/g}$)

组别	例数	训练前	训练后
SO组	6	0.63 ± 0.02	0.72 ± 0.02
OMI组	6	0.65 ± 0.03	0.79 ± 0.05^{①}
PIE组	6	0.65 ± 0.04	0.84 ± 0.02^{②}

与SO组相比:① $P < 0.05$;与OMI组相比:② $P < 0.05$

图8 各组 α -SMA染色图片比较及小动脉密度统计图

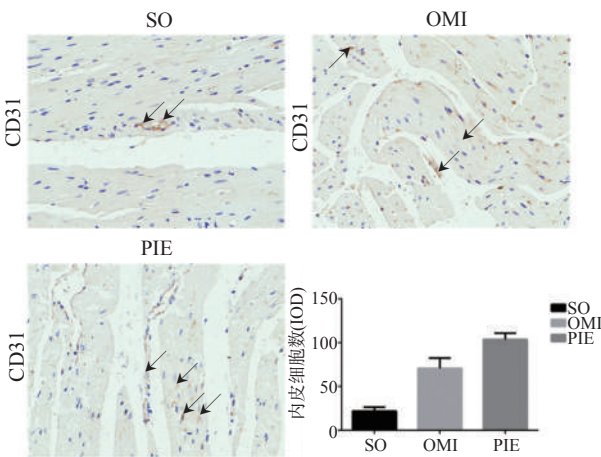
($\times 200$)



注:PIE组的小动脉密度最高,OMI组高于SO组。

图9 各组CD31染色图片比较及内皮细胞数量统计图

($\times 200$)



注:PIE组的EC数量最高,OMI组高于SO组。

肌EC的数量(70.80 ± 11.80)明显高于SO组(21.93 ± 4.65 , $P < 0.05$)。见图9。

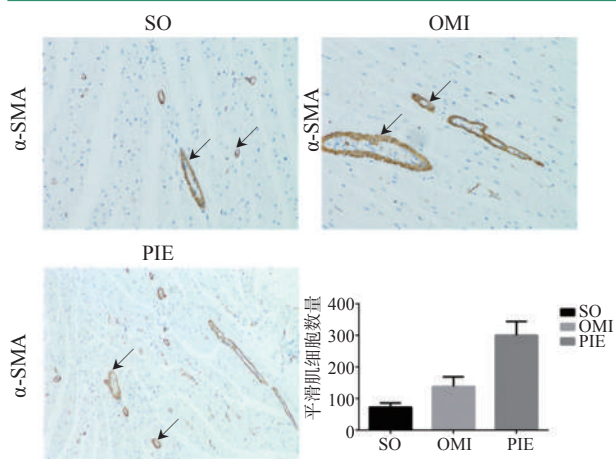
2.6 实验终点各组平滑肌细胞增殖情况

经过6周的等长收缩训练后,PIE组犬缺血心肌SMC的数量(300.33 ± 43.56)最高($P < 0.05$),OMI组的缺血心肌SMC的数量(138.33 ± 30.41)显著高于SO组(72.67 ± 13.25 , $P < 0.05$)。见图10。

2.7 实验终点各组单核细胞增殖情况

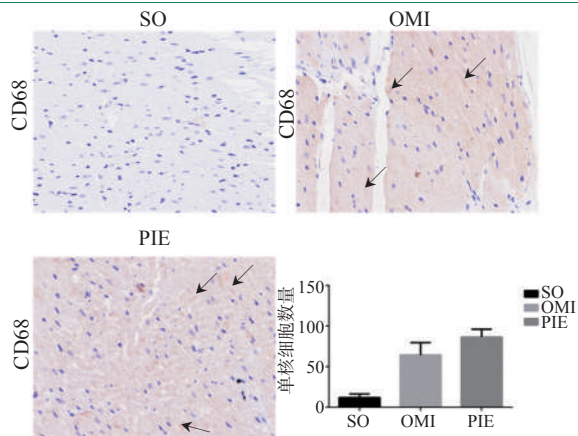
6周的等长收缩训练后,PIE组犬缺血心肌MP的数量(86.53 ± 9.76)最高($P < 0.05$),OMI组的缺血心肌MP的数量(64.46 ± 15.27)明显高于SO组(11.93 ± 4.65 , $P < 0.05$)。见图11。

图10 各组 α -SMA染色图片比较及平滑肌细胞数量统计图($\times 200$)



注:PIE组的SMC数量最高,OMI组高于SO组。

图11 各组CD68染色图片比较及单核细胞数量统计图($\times 200$)

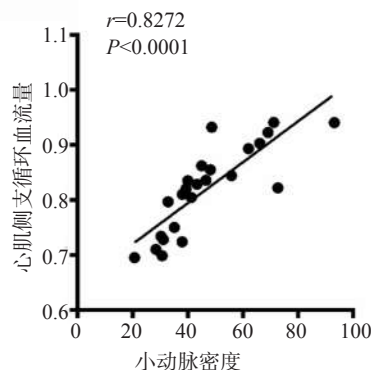


注:PIE组的MP数量最高,OMI组高于SO组。

2.8 相关性分析

2.8.1 缺血心肌局部小动脉密度与心肌侧支循环血流量的相关性分析:通过对缺血心肌局部AD与MBF的相关性分析发现,AD与MBF呈中度正相关($r=0.7109$, $P=0.0009$)。见图12。

图12 实验终点时缺血心肌局部小动脉密度与心肌血流相关性分析

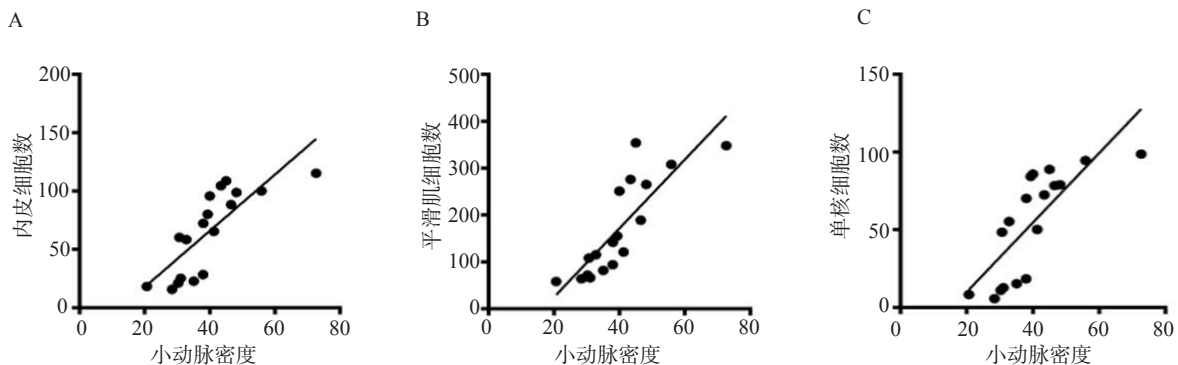


2.8.2 缺血心肌局部小动脉密度与内皮细胞、平滑肌细胞、单核/巨噬细胞的相关性分析:通过对缺血心肌局部AD与EC的相关性分析发现,AD与EC呈中度正相关($r=0.7925$, $P < 0.0001$);通过对缺血心肌局部AD与SMC的相关性分析发现,AD与SMC呈中度正相关($r=0.6952$, $P < 0.0001$);通过对缺血心肌局部AD与MP的相关性分析发现,AD与MP呈中度正相关($r=0.7733$, $P=0.0002$)。见图13。

3 讨论

等长收缩运动作为人类肌肉的基本运动形式,是指肌纤维的长度在肌肉收缩时保持不变,无关节活动,但肌肉内张力增加。既往有观点认为等长收缩运动能够引起血压的增加从而增加心脏后负荷,因此被排除于心脏康复之外。然而有研究证实冠心病患者在做动力性运动的同时进行等长收缩运动,不仅能够延长动力性运动的作用持续时间,还能有效地降低心绞痛、心肌缺血等的发生概率^[8]。等长收缩运动过程中心率、收缩压、舒张压均明显增加,由于冠状动脉主要在舒张期供血,因此人们推测IE运动时舒张压增加能够增加冠状动脉血流灌注,改善心肌供血,缓解心绞痛症状,但并没有真正的实验证据。我课题组既往临床研究让冠心病患者在行经

图13 实验终点时缺血心肌局部AD与内皮细胞、平滑肌细胞、单核细胞相关性分析



A: 实验终点时缺血心肌局部AD与EC相关性分析, $r=0.7925$, $P<0.0001$; B: 实验终点时缺血心肌局部AD与SMC相关性分析, $r=0.8338$, $P<0.0001$; C: 实验终点时缺血心肌局部AD与MP相关性分析, $r=0.7733$, $P=0.0002$

皮冠状动脉介入治疗术中,在球囊阻塞冠脉血管的同时做1min的等长握拳运动,发现与对照组相比,等长收缩训练组侧支循环指数明显增加^[13],意味着单次等长收缩运动可以增加侧支血流募集,但是长期的等长收缩训练是否能够促进缺血心肌局部侧支循环生成,改善血流灌注,目前研究较少。

本研究采用慢性心肌缺血模型,观察等长收缩训练是否能增加缺血心肌侧支动脉的生成,改善侧支循环血流。结果显示等长收缩训练组心肌节段总评分明显高于单纯心肌缺血组($P<0.05$),而采用微球法测定缺血心肌侧支血流量提示等长收缩训练组的侧支血流量较单纯心肌缺血组($P<0.05$)及假手术组明显增高($P<0.05$),即等长收缩训练可以改善缺血区域血流灌注。

成年后的侧支循环生成包括血管新生和动脉生成两部分^[5,7]。血管新生是指从原有的毛细后微血管网上芽生分化出新生的、不具有完整中膜结构的毛细血管网的过程^[5,14],而动脉生成是指原有闭合的侧支循环网开放,然后重塑,管腔增大,侧支交通形成,为闭塞的血管起到搭桥的作用。动脉生成是固有侧支循环生成的重要机制之一^[15-16]。血管新生只能轻微改善缺血区血供,而动脉生成可以产生有功能的大侧支动脉,能够调节冠状动脉的血流,重新分配,从而改善心肌缺血,因此与血管新生相比较,心外膜冠状动脉主要血管发生阻塞后,侧支血管经过动脉生成可更有效恢复血管阻塞后下降的血流,对于缓解心肌缺血可能更为重要。

动脉生成的主要特征是血管平滑肌细胞的去分化,增殖和迁移^[13]。它的过程是由关键性的启动因素血管壁流体剪切力先激活EC,促使EC释放VEGF、NO及MCP-1等因子^[17],MCP-1的释放是MP募集到无功能的动脉血管壁的先决条件。MP募集后可分泌FGF,黏附并穿透内膜,消化内弹力层,随后出现平滑肌细胞的增殖^[18]。因此EC、MP及SMC均在动脉生成的过程中发挥着重要的作用^[19]。本研究发现等长收缩训练6周后,PIE组犬缺血心肌AD值(50.89 ± 11.96)显著高于OMI组(38.14 ± 5.76 , $P<0.05$)及SO组(30.60 ± 5.95 , $P<0.05$)。且本研究通过对缺血心肌局部AD与EC、SMC、MP进行相关性分析发现,随着AD的增加,EC、SMC、MP均随着增加。进一步证实了IE可通过促进侧支动脉生成促进远隔缺血心肌侧支循环改善。

传统的有氧训练尤其是缺血阈强度的有氧训练可以促进缺血心肌侧支生成。但在心肌缺血的病理基础上再次诱发缺血,存在伦理及安全性的顾虑。本研究证实等长收缩训练可以促进缺血心肌侧支动脉生成,形成远隔“生物搭桥”。将有可能调整既往缺血性疾病临床治疗策略,避免直接诱发心肌缺血的弊端,为冠心病患者临床和康复治疗提供一条安全有效经济的新途径。

参考文献

- [1] Moran A E, Roth G A, Narula J, et al. 1990-2010 global cardiovascular disease atlas[J]. Glob Heart, 2014, 9(1): 3-16.

- [2] Francis D P, Cole G D. Coronary artery disease: screen or treat?[J]. BMJ,2016,352:i1395.
- [3] Seiler C, Stoller M, Pitt B, et al. The human coronary collateral circulation: development and clinical importance[J]. Eur Heart J,2013,34(34):2674—2682.
- [4] Heil M, Eitenmuller I, Schmitz-Rixen T, et al. Arteriogenesis versus angiogenesis: similarities and differences[J]. J Cell Mol Med,2006,10(1):45—55.
- [5] Carmeliet P, Jain R K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis[J]. Nature,2011,473(7347):298—307.
- [6] Troidl K, Schaper W. Arteriogenesis versus angiogenesis in peripheral artery disease[J]. Diabetes Metab Res Rev,2012, 28 Suppl 1:27—29.
- [7] Seiler C, Meier P. Historical aspects and relevance of the human coronary collateral circulation[J]. Curr Cardiol Rev, 2014,10(1):2—16.
- [8] Pollock M L, Franklin B A, Balady G J, et al. AHA Science Advisory. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association; Position paper endorsed by the American College of Sports Medicine[J]. Circulation,2000,101(7):828—833.
- [9] Gabay J, Donato M, Pascua A, et al. Effects of isometric exercise on the diastolic function in patients with severe aortic stenosis with or without coronary lesion[J]. Int J Cardiol,2005,104(1):52—58.
- [10] 姜峰,管骏涛,宋佳成,等. 等长收缩训练促进犬慢性缺血心肌血流灌注的研究[J]. 中国康复医学杂志,2016(06):611—616.
- [11] Hoffmann U, Millea R, Enzweiler C, et al. Acute myocardial infarction: contrast-enhanced multi-detector row CT in a porcine model[J]. Radiology,2004,231(3):697—701.
- [12] Kingma J J, Simard D, Rouleau J R. Comparison of neutron activated and radiolabeled microsphere methods for measurement of transmural myocardial blood flow in dogs [J]. J Thromb Thrombolysis,2005,19(3):201—208.
- [13] Meier P, Seiler C. The coronary collateral circulation--past, present and future[J]. Curr Cardiol Rev,2014,10(1):1.
- [14] Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis [J]. Nat Med,2000,6(4):389—395.
- [15] Schaper W. Collateral circulation: past and present[J]. Basic Res Cardiol,2009,104(1):5—21.
- [16] Oh C C, Klein J D, Migrino R Q, et al. Growing collateral arteries on demand[J]. Recent Pat Cardiovasc Drug Discov,2011,6(3):189—198.
- [17] Demicheva E, Hecker M, Korff T. Stretch-induced activation of the transcription factor activator protein-1 controls monocyte chemoattractant protein-1 expression during arteriogenesis[J]. Circ Res,2008,103(5):477—484.
- [18] van Royen N, Piek J J, Schaper W, et al. A critical review of clinical arteriogenesis research[J]. J Am Coll Cardiol,2009,55(1):17—25.
- [19] Cristina C, Perez-Millan M I, Luque G, et al. VEGF and CD31 association in pituitary adenomas[J]. Endocr Pathol, 2010,21(3):154—160.