

等长收缩诱导的生理性缺血训练促进远隔缺血心肌侧支生成的研究*

林松¹ 李咏雪² 励建安² 陆晓^{2,3}

摘要

目的:观察冠心病患者外周肢体等长收缩诱导的生理性缺血训练是否可以促进远隔缺血心肌侧支循环形成,并探索其机制。

方法:冠脉慢性完全闭塞患者21例随机分为对照组及等长握拳训练组。训练组患者进行3个月等长握拳诱导的生理性缺血训练,对照组不做任何训练活动。训练前后ELISA法测定血管内皮生长因子(VEGF)浓度、荧光激活流式细胞分离术测定内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)数量、心肌核素显像(single-photon emission computed tomography, SPECT)测定心肌缺血区血流灌注。

结果:运动前,两组患者核素心肌显像静息节段总评分、外周血EPCs数量、VEGF浓度均无显著差异($P>0.05$)。经3个月等长握拳训练后,训练组EPCs数量、VEGF浓度均显著增加($P<0.01$);训练组SPECT观察缺血区域节段总评分有明显减少($P<0.05$)。而对照组训练前后无显著差异($P>0.05$)。两组患者训练后EPCs增量与VEGF增量,VEGF增量与静息节段总评分改善均呈中度相关($r=0.56$, $r=-0.60$)。

结论:冠心病患者等长握拳诱导的生理性缺血训练可通过VEGF及EPCs释放促进远隔缺血心肌侧支循环形成。

关键词 等长收缩;生理性缺血;心肌侧支循环;血管内皮生长因子;内皮祖细胞

中图分类号:R541.4, R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2017)-04-0377-07

Physical ischemia induced by isometric exercise facilitates collateral formation in the remote ischemic myocardium of humans/LIN Song, LI Yongxue, LI Jian'an, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2017, 32(4): 377—383

Abstract

Objective: To investigate the effects and mechanism of isometric handgrip induced physical ischemia training on remote coronary growth.

Method: 21 CAD patients were randomly divided into isometric handgrip training or non-training groups. Patients in the training group performed three months of isometric handgrip training, while patients in the control group remained sedentary. Single-photon emission computed tomography(SPECT) was used to evaluate myocardial perfusion. Circulation endothelial progenitor cells(EPCs) were measured by flow cytometry at baseline and after training. Plasma concentrations of vascular endothelial growth factor(VEGF) were determined by ELISA.

Result: Myocardial perfusion and ejection fraction were significantly improved in training group ($P<0.05$, $P<0.01$) while it remained no significant change in control group($P>0.05$). EPCs increased significantly in training group, with the number of $(0.044\pm0.016)\%$ after training ($P=0.015$). VEGF levels in training patients also increased significantly after three months ($P<0.01$). But there were no significant change in control group. The number of EPCs was positively correlated with the level of VEGF ($r=0.56$) and the level of VEGF was correlated

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2017.04.001

*基金项目:国家自然科学基金资助项目(30570893);南京市卫计委重点项目(ZKX16049)

1 南京医科大学附属南京医院心脏科,210006; 2 南京医科大学第一附属医院康复医学科; 3 通讯作者

作者简介:林松,男,主任医师; 收稿日期:2016-05-30

ed with the segment score of SPECT($r=0.60$).

Conclusion: Isometric handgrip exercise-induced physical ischemia training may promote remote collateral growth in CAD patients through EPCs and VEGF release.

Author's address Department of Cardiology, Nanjing Medical University Affiliated Nanjing First Hospital, 210006, China

Key word isometric exercise; physical ischemia; collateral circulation; vascular endothelial growth factor; endothelial progenitor cells

冠状动脉侧支循环生成有助于增加缺血区域血供,减轻患者症状,减少冠心病患者死亡发生率。因此如何增加缺血区域冠状动脉侧支循环形成,是目前研究热点^[1]。

近期多个研究表明,适当心肌缺血可促进缺血区域冠状动脉侧支循环生成^[2-4]。但对于冠心病患者而言,无论何种直接诱发心肌缺血的活动都具有诱发过分缺血的危险。Schmidt等^[5]的研究证实心梗后立即在正常肢体给予4次每次5min的缺血可以有效减少心梗损害。我们的研究中证实正常肢体骨骼肌缺血可通过远隔作用诱导缺血心肌侧支循环生成^[6-7],减少心肌梗死面积^[8]。有研究证实等长收缩运动在40%—50%最大自主收缩(maximal voluntary contraction, MVC)强度时几乎可以完全阻断血流^[9]。因此,这一运动形式可以作为外周可控性缺血的生理模型。

血管内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)属于干细胞群体,参与出生后的血管新生过程。成人EPCs主要存在于骨髓,在缺血状态下,EPCs可释放入血,推测可通过归巢机制迁移至靶器官,产生促血管新生的作用^[10]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是最重要的促血管生长因子,在运动、缺血、缺氧及血管损伤时能促进EPCs的增殖、迁移及诱导血管生成^[11]。因此,我们推想冠心病患者通过正常肢体等长握拳诱导的生理性缺血训练促使内源性EPCs释放入血,通过归巢机制促进缺血心肌侧支生成。为冠心病患者临床和康复治疗探索一条安全有效经济的新途径。

1 资料与方法

1.1 一般资料

入选标准:①患者均经冠状动脉造影证实有一支或多支血管完全闭塞(100%狭窄);②闭塞时间>3

个月;③近3个月未发生急性心肌梗死;④心功能分级<4级;⑤患者或家属签署知情同意书。整个研究计划获得南京医科大学附属南京第一医院伦理委员会的批准。

排除标准:①先天性心脏病、室壁瘤、心脏瓣膜病;②室性心动过速、严重心律失常、不稳定性心绞痛、心功能衰竭;③未控制的高血压或高血压危象;④上肢运动功能障碍患者

选取2010年8月1日—2011年12月30日在本院就诊且符合上述标准的冠心病患者21例。按随机数字表法分为等长握拳训练组和对照组,其中训练组11例,对照组10例,训练组有1例因失去联系而失访。因此,最后纳入统计的训练组10例(66.5±5.1岁),对照组10例(67.2±13.8岁)。在基线水平,两组患者在年龄、左室射血分数、心血管疾病危险因素和用药情况等方面均无显著性差异($P>0.05$),见表1。

表1 两组患者一般资料 (n=10)			
项目	训练组	对照组	P值
年龄(岁)	66.5±5.1	67.2±13.8	0.884
性别(男/女)	8/2	9/1	0.531
BMI	22.8±1.7	22.5±1.9	0.776
收缩压(mmHg)	135.5±12.8	132.5±17.4	0.665
舒张压(mmHg)	81.5±10.0	79.0±13.1	0.637
LVEF(%)	48.7±14.3	46.2±12.7	0.685
NYHA 分级(1/2/3/4)	2/6/2/0	1/6/3/0	0.766
病史[例(%)]			
高血压	7(70%)	8(80%)	0.606
糖尿病	3(30%)	4(40%)	0.639
高血脂	4(40%)	3(30%)	0.639
吸烟	2(20%)	4(40%)	0.329
用药情况[例(%)]			
阿司匹林	10(100%)	10(100%)	0.0
氯比格雷	10(100%)	10(100%)	0.0
ACEI/ARB	7(70%)	8(80%)	0.606
钙离子拮抗剂	3(30%)	4(40%)	0.639
β-受体阻滞剂	5(50%)	4(40%)	0.653

注:LVEF:左心室射血分数;NYHA 分级:纽约心脏病协会功能分级;ACEI:血管紧张素转换酶抑制剂;ARB:血管紧张素受体拮抗剂。

1.2 方法

训练组患者进行3个月等长握拳诱导的生理性缺血训练,对照组不作任何训练活动。两组患者3个月训练前后均行核素心肌灌注显像检查(single photon emission computed tomography, SPECT),观察缺血心肌灌注情况(静息节段总评分)及心功能。同时抽取患者外周血,进行EPCs及VEGF检测。

采用最大自主等长握拳运动,产生骨骼肌生理性缺血。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时,每次持续1min,放松1min,重复10次为1组;换另一侧肢体握拳再做1组;每天上下午2次共4组;每周训练5d,训练3个月。

1.3 核素心肌显像

本研究中SPECT检测通过注射放射性原子T99标记甲氧基异丁基乙腈(MIBI)。结果采用靶心图表示,靶心图把心脏分为20个节段。各节段心肌血流灌注情况采用半定量法: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静息节段总评分。

1.4 外周血EPCs及VEGF检测

外周血标本中加入CD45抗体(BD公司,美国)用于设门,FITC标记的鼠抗人单克隆CD34抗体(BD公司,美国)和PE标记的KDR/VEGFR-2鼠抗人单克隆抗体(BD公司,美国),用FACSCalibur流式细胞仪(BD公司,美国)检测分析CD34⁺/KDR⁺双标记阳性细胞(即EPCs)的百分比,以EPCs占外周

血有核细胞的百分比代表外周血EPCs的数量。VEGF检测采用ELISA试剂盒(R&D公司,德国)。于酶标仪(CliniBio,澳大利亚)上用450nm波长测量各孔的OD值,然后计算血清VEGF的浓度。

1.5 统计学分析

采用SPSS10.0统计软件进行分析,计量资料以均数±标准差表示。3个月前后两组EPCs数量、VEGF浓度及心肌血流灌注评分均采用配对 t 检验或 t 检验(包括组内及组间的比较);心肌血流灌注评分、EPCs数量、VEGF浓度的相关性用Pearson相关分析;3个月前、后训练组PIT各时间点心率、血压的变化采用方差分析;3个月前后训练组PIT心率、血压增量的变化采用 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 核素心肌显像

训练前,两组静息节段总评分无显著性差异($P>0.05$)。PIT组训练前后节段总评分下降相对于对照组有显著性差异($P<0.01$)。心脏射血分数(EF)%值,在训练前两组无显著性差异($P>0.05$)。训练组EF值较训练前增加 9.70 ± 9.53 与对照组(2.10 ± 3.57)相比有显著性差异($P<0.05$)。训练前左室收缩末期容积(ESV)两组无显著性差异($P>0.05$)。训练组3个月前后ESV、EDV差值与对照组相比,无显著性差异($P>0.05$),见表2,图1—4。

表2 两组患者训练前后心肌核素显像结果

($\bar{x}\pm s$)

项目	训练组			对照组		
	训练前	训练后	训练前后差值	训练前	训练后	训练前后差值
静息节段总评分	15.0±6.34	9.10±4.93 ^①	-5.90±3.38 ^④	14.70±9.32	14.80±11.33	0.10±3.09
心脏射血分数(EF%)	37.80±9.15	47.50±3.83 ^②	9.70±9.53 ^③	39.60±13.63	41.70±12.61	2.10±3.57
左室收缩末期容积(ESV)	97.10±53.84	60.40±19.60	-30.10±40.19	84.7±38.93	73.13±35.13	-9.30±11.19
左室舒张末期容积(EDV)	135.70±46.88	105.6±16.10	-36.70±50.94	132.60±37.88	123.3±38.59	-11.40±10.94

注:各组训练前后比较:① $P<0.05$,② $P<0.01$,训练组3个月训练前后差值与对照组相应差值比较:③ $P<0.05$,④ $P<0.01$

2.2 血中EPCs及VEGF浓度变化

训练前两外周血EPCs数量、VEGF浓度差异无显著性意义($P>0.05$)。3个月后,训练组患者EPCs数量及VEGF浓度显著增加($P<0.05$)。对照组EPCs数量、VEGF浓度均无显著改变($P>0.05$)。3个月后,对照组EPCs数量低于训练组($P=0.030$);同样的,对照组VEGF浓度低于训练组($P=0.000$),见表3。

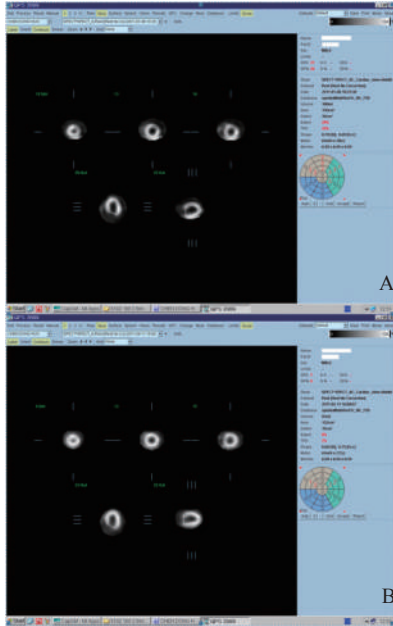
2.3 静息节段总评分与VEGF数量相关性

3个月训练前后静息节段总评分下降程度(训练后静息节段总评分-训练前静息节段总评分)与VEGF增加量(训练后VEGF量-训练前VEGF量)呈中等程度负相关($r=-0.60$, $P=0.005$)(图5)。

2.4 EPCs增量与VEGF增量的相关性

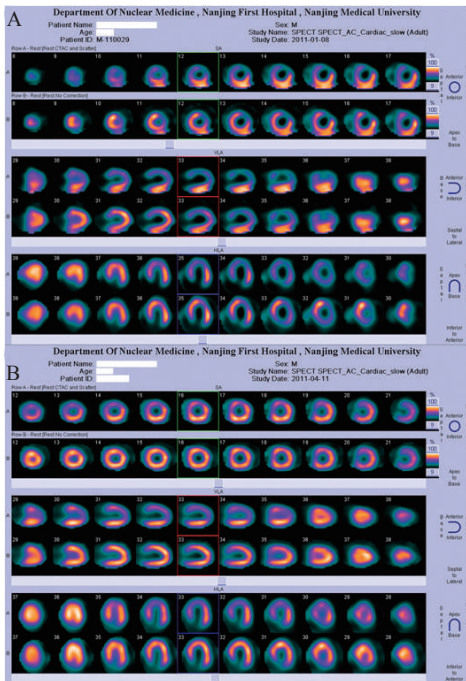
相关性分析显示(图6),3个月后EPCs增加量

图1 训练组患者训练前后的靶心图



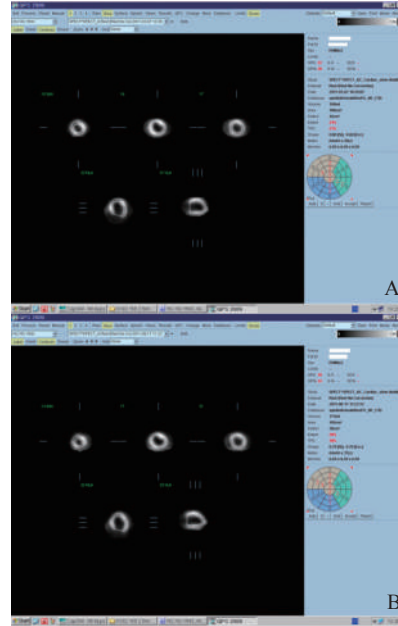
A:训练组患者2号,训练前靶心图,右侧为心肌20节段评分:21分
B:训练组患者2号,训练3个月后靶心图,右侧为心肌20节段评分:7分

图2 训练组患者训练前后的SPECT图像



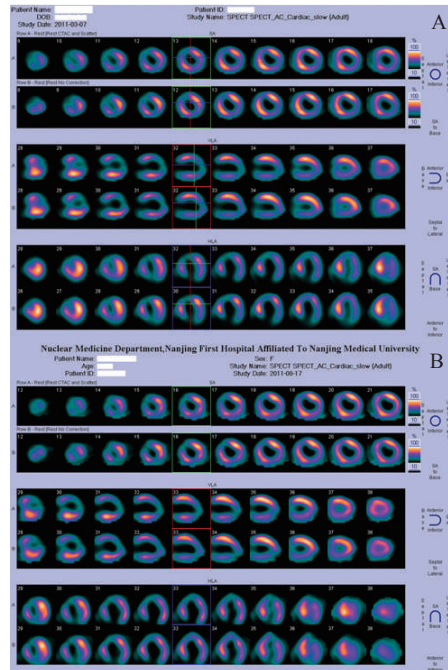
A:训练组患者2号,训练前SPECT图像;B:训练组患者2号训练后SPECT图像,上中下三行分别为心脏短轴面、水平长轴、垂直长轴心肌扫描结果,橙红色高亮度区域越多,显示存活心肌越多。B训练后的图像中橙红色高亮度区域比训练前A明显增加。

图3 对照组患者3个月前后的靶心图



A:对照组患者8号基线靶心图,右侧为心肌20节段评分:22分
B:对照组患者8号3个月后靶心图,右侧为心肌20节段评分:19分

图4 对照组患者3个月前后患者的SPECT图像



A:对照组患者8号3月前SPECT图像, B:对照组患者8号3个月后SPECT图像: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,橙红色高亮度区域越多,显示存活心肌越多。A与B相比,存活心肌增加不明显。

(训练后EPCs量-训练前EPCs量)与VEGF增加量(训练后VEGF量-训练前VEGF量)呈中等程度相关($r=0.57, P=0.009$)。

2.5 等长收缩运动的安全性

训练组患者在等长握拳时舒张压和心率有显著上升($P<0.01, P<0.05$);收缩压有上升趋势,但无显著差异。停止后10min恢复到安静水平(表4)。训练组患者在三个月训练前后心率、血压增量有下降趋势,但差异无显著性(表5)。训练组患者在三个月的PIT训练过程中均无心肌缺血的心电图和临床表现。

表3 训练前、后两组EPCs数量和VEGF浓度的变化($\bar{x}\pm s$)

	训练前	训练后	P值
EPCs(%)			
训练组	0.028±0.009	0.044±0.016 ^①	0.015
对照组	0.027±0.008	0.030±0.010	0.515
VEGF(pg/ml)			
训练组	65.3±15.1	98.5±17.4 ^②	0.000
对照组	61.6±13.9	66.5±13.9	0.438

注:与对照组3个月后EPCs的比较,① $P=0.030$,② $P=0.001$

表4 训练组患者等长握拳前后心率、血压的变化($\bar{x}\pm s$)

	等长握拳前	等长握拳时	等长握拳后	P值
心率(次/分)	72.4±5.4	82.2±4.7 ^①	73.0±5.2 ^②	0.000
收缩压(mmHg)	135.5±12.8	142.6±11.8	137.3±12.3	0.420
舒张压(mmHg)	81.5±10.0	92.2±8.3 ^①	83.0±9.8 ^②	0.035

注:P值为每个指标在各时间点的比较;安静与等长握拳时比较,① $P<0.05$;等长握拳时与等长握拳后的比较,② $P<0.05$ 。

表5 训练组训练前后等长握拳心率、血压增量的变化($\bar{x}\pm s$)

	训练前	训练后	P值
△心率(次/分)	9.8±3.8	8.9±3.4	0.586
△收缩压(mmHg)	7.1±2.4	6.6±3.1	0.688
△舒张压(mmHg)	10.7±4.2	9.2±2.7	0.358

注:增量=等长握拳时数值-安静时数值;均数比较均采用 t 检验;P值为各指标三个月前、后增量的比较。

图5 核素心肌显象静息节段总评分增量与VEGF增量的相关性

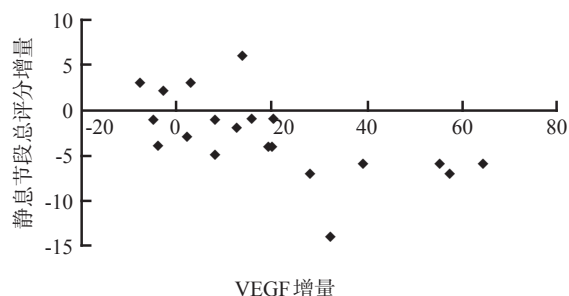
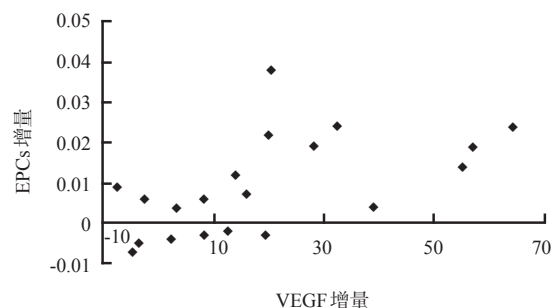


图6 EPCs增量与VEGF增量的相关性



3 讨论

目前冠心病患者正常肢体缺血诱导的远隔缺血心肌侧支生成尚未见报道,本研究采用核素心肌显像定量评价冠心病患者等长握拳诱导的生理性缺血训练前后缺血心肌血流灌注变化,外周血VEGF及EPCs变化。冠心病患者等长握拳诱导的生理性缺血训练可通过VEGF及EPCs释放促进远隔缺血心肌侧支循环形成。

3.1 等长收缩诱导的生理性缺血训练概念的提出

多个动物研究证实短暂心肌缺血可促进缺血区域侧支循环生成^[2-4, 12]。而临床研究也发现有心绞痛病史者发生初次心肌梗死的住院死亡率低于无心绞痛病史者^[13-14]。尽管缺血有助于促进缺血区域局部侧支生成,但是在缺血的病理基础上继续施加缺血存在一定的风险。

本课题组前期国基金课题(编号:30370687)研究中发现,心肌缺血刺激使心肌VEGF表达增高,同时也使邻近组织和远隔组织的表达增加^[15-16]。既然VEGF可以远隔表达,就可能造成远隔部位侧支循环的形成。有研究证实采用袖带加压法使猪的正常肢体产生4次每次5min的缺血可以减少心梗面积^[17-18]。我们在另一国基金(编号:30570893)研究中证实正常肢体骨骼肌缺血可通过远隔作用诱导缺血心肌侧支生成,减少梗死面积^[19-20]。为此,我们正式提出将这种致力于促进远隔侧支循环形成的反复性生理性缺血称之为生理性缺血训练。然而上述研究均为动物研究,在冠心病患者,正常肢体间断缺血是否能促进远隔缺血心肌侧支生成增加,目前研究尚未见报导。等长收缩运动是人类基本运动形式。研究显示在等长收缩力量达到40%—50%MVC时,血流几乎

可被完全阻断^[9]。基于上述研究结果,我们让冠心病患者做最大自主等长握拳运动(完全阻断血流)1min以诱导产生肢体生理性缺血。

3.2 等长收缩诱导的生理性缺血训练对冠脉侧支生成的促进作用

3.2.1 等长收缩运动在冠心病患者康复训练中的安全性:长期以来,由于等长收缩运动可诱发更高的血压及心率反应增加心脏后负荷,因此IE被长期排除于心脏康复方案之外。最近的研究表明,低强度的IE(40%—60% MVC)活动只引起中等度血压升高,且升高幅度与中等度耐力训练相似;单独的握拳、负重运动与动力性运动相比产生较少的ST段下移及心率失常^[21—22]。因此认为,IE对心血管患者而言是安全的。本课题组让冠心病患者进行主观最大等长握拳,结果提示等长握拳过程中血压和心率上升在合理范围,并且在训练后10min恢复到安静水平;患者在3个月训练过程中均无心肌缺血。

3.2.2 等长收缩诱导的生理性缺血对冠脉侧支生成的促进作用:我们在前期小动物研究中发现电刺激产生等长收缩运动诱导的生理性骨骼肌缺血训练可以促进促进远隔缺血心肌侧支循环形成,减少心肌梗面积^[19—20]。但这一结果来源于小动物,而小动物的冠脉结构与人类相差甚远,其次电刺激诱导的等长收缩与生理性等长收缩有差距,不能排除电刺激对结果的干扰。因此,本次研究观察了冠心病患者3个月等长握拳训练对冠状动脉侧支循环生成的作用。与对照组相比,等长收缩训练组核素心肌显像心肌节段评分有明显改善,提示存活心肌明显增加。因为患者相关供血区域供血血管已完全闭塞,所以存活心肌的明显增加,只有通过侧支循环来改善,同时存活心肌增加也使患者心功能有明显提高。

3.2.3 等长收缩诱导的生理性缺血训练促进冠脉侧支生成的机制:缺血心肌侧支生成中相关细胞集聚及相应诱导趋化因子增加是缺血心肌局部侧支生成必不可少的两大要件。①远隔缺血心肌侧支生成的细胞学基础—内皮祖细胞归巢:EPCs属于干细胞群体,参与出生后血管新生过程^[23]。成人EPCs主要存在于骨髓,在缺血状态下,EPCs可释放入血,推测可通过归巢机制迁移至靶器官,产生促血管新生作用^[24]。前期研究在兔心肌缺血模型上进行外周正常

肢体骨骼肌生理性缺血训练发现生理性缺血训练可促进循环EPCs增加,缺血心肌侧支循环增加。MRI示踪可观察到EPCs归巢到缺血心肌^[25]。因此,认为等长收缩诱导的生理性缺血训练可促使EPCs释放入血,通过归巢机制促进远隔缺血心肌侧支生成。但这仅仅是动物研究,相关临床研究未见报导。本研究让冠心病患者进行三个月等长握拳训练,与对照组相比,训练组循环EPCs数量显著增加。进一步在冠心病患者身上证实等长收缩诱发的反复生理性缺血可以刺激EPCs释放入血,通过归巢效应到达病理性缺血心肌促进侧支生成。②远隔缺血心肌侧支生成的基础—趋化因子VEGF的调控作用:侧支生受多种血管生长因子调控,VEGF是目前研究多且特异性强的因子,在运动、缺血、低氧及血管损伤时能促进血管内皮细胞增殖、迁移,诱导血管生成^[11]。VEGF不仅在小动脉生成及血管新生过程中起重要作用,还可能是主要促内皮祖细胞释放因子^[6]。本研究观察等长握拳训练前后冠心病患者血中VEGF变化,结果发现训练组血中VEGF的浓度显著上升,三个月后两组患者外周血EPCs增量与VEGF浓度的增量呈中等度相关,且VEGF增量与核素心肌显像静息节段总评分改善存在中等度相关。故生理性缺血训练诱发VEGF增加不仅可直接促进缺血心肌侧支生成,且有可能通过促进EPCs释放入血并诱导其归巢到远隔缺血心肌,从而促进缺血心肌侧支生成。

3.3 研究的局限性

本实验在前期动物研究的基础上,对冠心病患者等长收缩诱导的生理性缺血训练是否能促进缺血心肌侧支生成进行了初探。但本研究观察样本量还偏小,仅观察了心肌核素显像、血中EPCs及VEGF浓度变化等生理及结构性变化的指标,需要在后期的研究中进一步加入心肺运动试验、6min步行、生活质量量表等进一步观察心脏功能及储备功能的变化及对患者生活质量的影响,并进一步探索最佳训练方案。

参考文献

- [1] Emet S, Elitok A, Onur I, et al. Endocan: a novel biomarker associated with well-developed coronary collateral circulation in patients with stable angina and chronic total occlu-

- sion[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2016, Sep 16. [Epub ahead of print]
- [2] Lu X, Wu T, Huang P, et al. Effect and mechanism of intermittent myocardial ischemia induced by exercise on collateral formation[J]. *Amer J Phys Med & Rehabil*, 2008, 87(10):803—814.
 - [3] Toyota E, Warltier DC, Brock T, et al. Vascular endothelial growth factor is required for coronary collateral growth in the rat. *Circulation*, 2005, 112(14):2108—2113.
 - [4] Gu J, Wang Y, Li J, et al. Proteomic analysis of left ventricular tissues following intermittent myocardial ischemia during coronary collateralization in rabbits[J]. *Int J Cardiol*, 2009, 131(3):326—335.
 - [5] Schmidt MR, Smerup M, Konstantinov IE, et al. Intermittent peripheral tissue ischemia during coronary ischemia reduces myocardial infarction through a KATP-dependent mechanism: first demonstration of remote ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(4):H1883—890.
 - [6] 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]. *International Journal of Cardiology*, 2014, 177(3): 894—901.
 - [7] 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.
 - [8] Lin A, Li J, Zhao Y, et al. Effect of Physiologic Ischemic Training on Protection of Myocardial Infarction in Rabbits [J]. *Amer J Phys Med & Rehabil*, 2011, 90(2):97—105.
 - [9] Brown SP, Miller WC, Eason JM. Exercise physiology: basis of human movement in health and disease[M]. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 187—188.
 - [10] Poay Sian Sabrina Lee, Kian Keong Poh. Endothelial progenitor cells in cardiovascular disease[J]. *World J Stem Cells*, 2014, 6(3):355—366.
 - [11] Amoah V, Wrigley B, Holroyd E, et al. Vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor-1 α gene polymorphisms and coronary collateral formation in patients with coronary chronic total occlusions[J]. *SAGE Open Med*, 2016 Jun 24. [Epub ahead of print]
 - [12] Mohri M, Tomoike H, Noma M, et al. Duration of ischemia is vital for collateral development: repeated brief coronary artery occlusions in conscious dogs[J]. *Circ Res*, 1989, 64(2):287—296.
 - [13] Ottani F, Galvani M, Ferrini D, et al. Prodromal angina limits infarct size. A role for ischemic preconditioning[J]. *Circulation*, 1995, 91: 291—297.
 - [14] Scalone G, Aurigemma C, Tomai F, et al. Effect of pre-infarction angina on platelet reactivity in acute myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 167(1): 51—56.
 - [15] 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.
 - [16] 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.
 - [17] Andreka G, Vertesaljai M, Szantho G. Remote ischaemic postconditioning protects the heart during acute myocardial infarction in pigs[J]. *Heart*, 2007, 93(6):749—752.
 - [18] Schmidt MR, Smerup M, Konstantinov IE, et al. Intermittent peripheral tissue ischemia during coronary ischemia reduces myocardial infarction through a KATP-dependent mechanism: first demonstration of remote ischemic preconditioning[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292: 1883—1890.
 - [19] 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.
 - [20] Lin A, Li J, Zhao Y, et al. Effect of Physiologic Ischemic Training on Protection of Myocardial Infarction in Rabbits [J]. *Amer J Phys Med & Rehabil*, 2011, 90(2):97—105.
 - [21] Bjarnason-Wehrens B, Mayer-Berger W, Meister ER, et al. Recommendations for resistance exercise in cardiac rehabilitation. Recommendations of the German Federation for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation[J]. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 2004, 11:352—361.
 - [22] RR Olher, DS Bocalini, RF Bacurau, et al. Isometric handgrip does not elicit cardiovascular overload or post-exercise hypotension in hypertensive older women[J]. *Clin Interv Aging*, 2013, 8: 649—655.
 - [23] Sukmawati D, Tanaka R. Introduction to next generation of endothelial progenitor cell therapy: a promise in vascular medicine[J]. *Am J Transl Res*, 2015, 15(7):411—421.
 - [24] Möbius-Winkler S, Höllriegel R, Schuler G, et al. Endothelial progenitor cells: implications for cardiovascular disease [J]. *Cytometry A*, 2009, 75(1):25—37.
 - [25] Wan C, Li J, Yi L, et al. Enhancement of homing capability of endothelial progenitor cells to ischaemic myocardium through physiological ischaemia training[J]. *J Rehabil Med*, 2011, 43(6): 550—555.