

生理性缺血训练促进远隔缺血心肌侧支生成中内皮祖细胞的作用*

张庆沙¹ 陆 晓^{1,2} 郑 瑜¹

摘要

目的:研究内皮祖细胞(EPCs)对生理性缺血训练(PIT)促进远隔缺血心肌侧支循环生成的影响。

方法:选择健康新西兰白兔雌雄不拘,体重(2.5±0.5)kg。冠状动脉左室支(LVB)安装特制水囊球,通过充放水制作可控性心肌缺血动物模型。休息1周后将实验动物随机分为6组:假手术组(SO)、单纯肢体缺血组(LIT)、单纯心肌缺血组(MI)、生理性缺血训练组(PIT)、EPCs促进剂组(Pro-EPCs)、EPCs抑制剂组(Inhi-EPCs)。SO组不做任何干预,LIT组进行双下肢缺血训练,MI组进行心肌缺血训练,PIT组生理性缺血训练,即心肌缺血同时进行双下肢缺血训练,Pro-EPCs组在PIT组基础上口服EPCs促进剂,Inhi-EPCs组在PIT组基础上口服EPCs抑制剂。训练4周后,取左室支配区域心肌,采用微球法测定训练前、后缺血区心肌相对侧支循环血流量(RCBF);免疫组化法检测实验终点缺血区毛细血管密度(CD)。

结果:与实验前相比,MI组、PIT组RCBF值分别增加5.11、19.39($P < 0.05$)。实验结束时,MI组、PIT组RCBF显著高于SO组和LIT组($P < 0.05$),PIT组高于MI组($P < 0.05$),SO组与LIT组无显著性差异($P > 0.05$)。与PIT组比较,Pro-EPCs组RCBF明显增高($P < 0.05$),Inhi-EPCs组RCBF显著降低($P < 0.05$)。CD结果与RCBF值类似。

结论:①生理性缺血训练可促进远隔缺血心肌侧支循环生成。②生理性缺血训练同时,正负向调节内皮祖细胞,可相应促进或抑制远隔缺血心肌侧支循环生成。EPCs是生理性缺血训练促进远隔缺血心肌侧支循环形成过程中的重要细胞机制。

关键词 内皮祖细胞;生理性缺血训练;心肌缺血;侧支循环形成;新西兰白兔

中图分类号:R542.2,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2014)-06-0511-06

Effects of endothelial progenitor cells on collateral circulation formation promoted by physiological ischemic training in remote ischemic myocardium/ZHANG Qingsha, LU Xiao, ZHENG Yu//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2014, 29(6): 511—516

Abstract

Objective: To investigate the effect of endothelial progenitor cells (EPCs) on collateral circulation formation promoted by physiological ischemic training in remote ischemic myocardium.

Method: Healthy male or female New Zealand white rabbits weighing (2.5±0.5)kg were selected. Controllable myocardial ischemia was modelled by a water balloon constrictor implanted on the left ventricular branch(LVB) in a rabbit. One week later, the rabbits were randomly divided into six groups: sham operation group(SO), pure limb ischemia group(LIT), pure myocardial ischemia group(MI), physiological ischemic training group(PIT), PIT with EPCs promoter group(Pro-EPCs), PIT with EPCs inhibitor group(Inhi-EPCs). After four weeks of training, the left ventricular myocardium branch dominated region were taken, relative collateral blood flow(RCBF) measured by microspheres and capillary density(CD) by immunohistochemical assay.

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.06.003

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(81070181)

1 南京医科大学第一附属医院康复医学科,南京,210029; 2 通讯作者

作者简介:张庆沙,女,硕士研究生; 收稿日期:2013-11-08

Result: Compared with the pre, the RCBF of MI group and PIT group increased 5.11 and 19.39 respectively ($P < 0.05$). At the endpoint, the RCBF of MI group and PIT group was significantly higher than that of SO group and LIT group ($P < 0.05$). PIT group had a higher result than the MI group ($P < 0.05$). And the effect was accelerated by EPCs promoter ($P < 0.05$) and inhibited by EPCs inhibitor ($P < 0.05$). Capillary density (CD) had a similar result with the RCBF.

Conclusion: ① Physiological ischemic training can promote the formation of collateral circulation in remote myocardium. ② EPCs play a crucial role in this process.

Author's address Department of rehabilitation medicine, First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, 210029

Key word endothelial progenitor cell; physiological ischemic training; myocardial ischemia; collateral circulation formation; New Zealand white rabbits

冠心病治疗主要目的在于改善缺血区心肌血液供应,保护心脏的功能和避免心脏病事件的发生。冠脉侧支循环生成是改善缺血心肌血供的重要方向。研究表明适当的心肌缺血可诱发血管生成因子释放,促进缺血心肌侧支循环生成^[1],在一定程度上增加缺血心肌局部血供,从而改善冠心病患者临床表现及预后^[2]。但在冠心病病理基础上进行心肌再缺血训练,存在伦理及安全性顾虑,临床上难以实施。因此,如何找到一种安全有效的方法既能促进侧支循环生成又不增加风险成为临床需要迫切解决的问题。Gao等^[3]发现肢体进行3次5min缺血/5min再灌注可产生与心肌局部缺血类似的心脏保护作用,但其机制不明。本课题组前期研究发现正常肢体缺血可通过增加远隔缺血组织内血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)生成^[4],促进远隔缺血部位侧支循环生成,从而改善缺血心肌血液供应,减少心肌梗死面积^[5],为此本研究课题组正式提出生理性缺血训练(physiological ischemia training, PIT)概念^[6],即正常骨骼肌反复短暂的生理性缺血,造成训练的远隔作用,促进病理性缺血部位的侧支循环生成,但该过程的细胞学机制尚未阐明。

内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)是一类具有内皮细胞分化功能的干细胞,主要存在于骨髓和外周血中,参与出生后血管新生^[7]。研究发现心肌局部缺血、适量运动等可动员骨髓中EPCs迁移到外周血中^[8],损伤冠脉内注射或缺血心肌局部移植骨髓源性或外周血EPCs,可增加缺血心肌局部毛细血管密度^[9]。但EPCs是否参与生理性缺血训练促进远隔缺血心肌侧支循环生成过程尚未

见报道。本实验在生理性缺血训练基础上,通过药物促进或抑制EPCs,观察其对远隔缺血心肌侧支循环生成的影响,旨在证明EPCs在生理性缺血训练促进远隔缺血心肌侧支循环生成过程的重要作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康成年普通级新西兰兔,体重(2.5 ± 0.5)kg,由南京金陵种兔场提供(许可证号SCXK(苏)2012-0003)。饲养于12h昼/夜循环、无限量供水和食物的环境中。实验方案遵循美国NIH公布的实验动物使用指南^[23],并经江苏省人民医院伦理委员会批准。

1.2 可控性心肌缺血模型制备

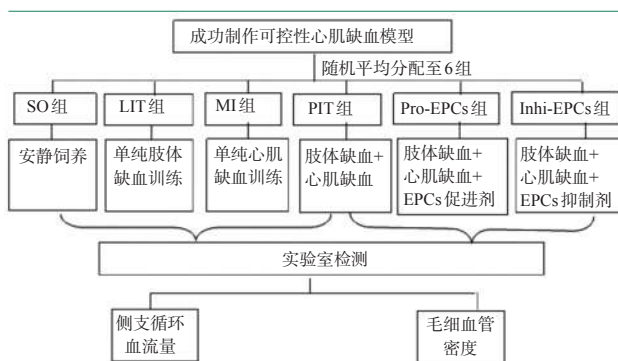
参照王骏等^[10]的方法造模,3%戊巴比妥钠(30mg/kg)耳缘静脉注射麻醉,左侧第5肋间进胸(避免损伤纵隔),心包作长约1cm的纵向切口,寻找冠状动脉左室支(left ventricular branch, LVB)。距左心耳5—10mm处的左室支安置水囊球。5-0带针缝合线固定。水囊充水,肉眼观察水囊压迫部位以下左室支配区心肌发绀,心电图Ⅱ导联显示ST段抬高;抽水后发绀区心肌颜色恢复正常,2min内心电图恢复正常,水囊末端经皮下由颈背部穿出,便于水囊注水心肌缺血训练。

1.3 分组

造模成功后随机分为6组:假手术组(sham operation, SO)、单纯肢体缺血组(limb ischemia training, LIT)、单纯心肌缺血组(myocardial ischemia training, MI)、生理性缺血训练组(physiological ischemic training, PIT)、EPCs促进剂组(EPCs pro-

moter, Pro-EPCs)、EPCs抑制剂组(EPCs inhibitor, Inhi-EPCs)。SO组不做任何干预,LIT组进行双下肢缺血训练,MI组进行心肌缺血训练,PIT组生理性缺血训练,即心肌缺血同时进行双下肢缺血训练,Pro-EPCs组在PIT组基础上口服EPCs促进剂,Inhi-EPCs组在PIT组基础上口服EPCs抑制剂,实验流程见图1。

图1 实验流程



1.3.1 双下肢缺血训练方案:手动气压止血带环扎兔双后肢近端,阻断股动脉血流。每次环扎以环扎以下皮肤变紫,环扎下方摸不到股动脉搏动为准。强度为3min/次,3次/d,间隔5min^[3],5d/周,共4周^[11]。

1.3.2 心肌缺血训练方案:左室支安置的水囊球内充水,心电图Ⅱ导联监测出现ST段抬高,抽水2min内心电图恢复正常,记录打水量,即为缺血训练量。训练强度为2min/次,2次/d,间隔10min,5d/周,共4周^[12-14],模拟稳定型心绞痛。每周检测1次心电图,调整打水量。

1.3.3 干预药物:Pro-EPCs组生理性缺血训练同时饲喂EPCs促进剂阿托伐他汀,剂量为5mg/只/d,5d/周,共4周。Inhi-EPCs组训练同时饲喂EPCs抑制剂雷帕霉素,剂量为0.5mg/只/d,5d/周,共4周。

1.4 实验室检测

1.4.1 缺血心肌相对侧支循环血流量(relative collateral blood flow, RCBF)检测。彩色微球(DYE-TRAK, TPITon公司)注射^[15]:于造模之日水囊充水前、水囊充水心肌缺血2min的最后30s、取材之日水囊充水前、水囊充水心肌缺血2min的最后30s四个时间点,分别由左心耳缓慢注射曙红、黄、紫、白色微球0.15ml。

实验结束时取水囊固定远端左室支配局部心

肌,室温自然腐败2周,经消化、漂洗后萃取微球中的染料。分别在曙红、黄、紫、白、蓝(对照)相对应的535nm、448nm、594nm、390nm、672nm波长下用分光光度计(上海精科分析仪器厂)检测,所得吸光度值用计算软件(TPITon5.xls Dye—Trak File Data Page)得出微球粒数(粒/g心肌)RCBF计算:以同一动物LVB未阻断时(水囊充水前)水囊固定远端心肌内微球数量作为参照,测定公式如下:RCBF=(CCBF/CBF)%。冠状动脉侧支血流量(CCBF):LVB阻断时(水囊充水时)水囊固定远端心肌内微球数量(粒/g)。冠状动脉血流量(CBF):LVB未阻断时(水囊充水前)水囊固定远端心肌内微球数量(粒/g)。

1.4.2 毛细血管密度(capillary density, CD)检测。实验结束时取水囊固定远端左室支配局部心肌,免疫组化法检测^[1]:组织脱蜡至水、微波抗原修复,3% H₂O₂封闭内源性过氧化物酶,滴加1:100稀释的兔抗人Ⅷ因子相关抗原多克隆抗体(DAKO公司)50μl,室温孵育1h。滴加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗50μl,室温孵育30min。DAB显色,苏木素复染,常规脱水、透明、中性树胶封片。高倍显微镜(OLYMPUS BX-40型,400×)下观察视野内Ⅷ因子阳性染色的新生毛细血管。判断标准为:数个棕色内皮细胞围成的窦状、条索状管腔以及无管状结构的数个或单个内皮细胞。每张切片随机选5个视野,取平均数。

1.5 统计学分析

数据均以均数±标准差表示。所有数据均经SPSS 17.0软件检验呈正态性分布且方差齐性。组间采用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA),组间多重比较采用最小显著差法(least significant difference, LSD)。同组训练前后RCBF比较采用配对t检验。

2 结果

2.1 实验动物

成功造模54只,随机平均分配至六组,训练过程中感染死亡1只,水囊注水后心电图不再变化2只,至实验终点各组动物数目:SO组9只、LIT组8只、MI组9只、PIT组8只、Pro-EPCs组8只、Inhi-

EPCs组9只。实验前后各组动物数见表1。

表1 实验前后各组动物数 (只)						
组别	SO组	LIT组	MI组	PIT组	Pro-EPCs组	Inhi-EPCs组
训练前	9	9	9	9	9	9
实验终点	9	8	9	8	8	9

2.2 实验前后各组缺血心肌相对侧支循环血流量
训练前各组间LVB支配区RCBF基础值无显著差异($P>0.05$)。到达实验终点时,与相应基础值比较,MI组、PIT组、Pro-EPCs组RCBF值分别增加5.11, 19.39, 32.14($P<0.05$)。实验终点时MI组、PIT组RCBF显著高于SO组和LIT组($P<0.05$),且PIT组高于MI组($P<0.05$),LIT组与SO组无显著

性差异($P>0.05$)。与PIT组相比,Pro-EPCs组侧支循环血流量明显增高($P<0.05$),Inhi-EPCs组显著降低($P<0.05$)。见表2。

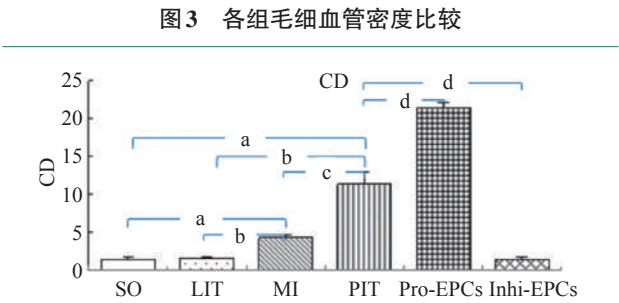
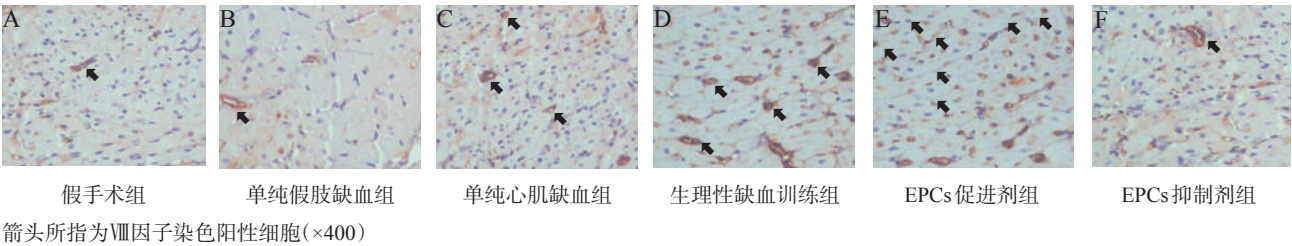
2.3 实验终点各组毛细血管密度

终点时,PIT组的CD为(11.40±2.29)个/视野,显著高于MI组(4.33±1.07) ($P<0.05$)及SO组(1.53±0.73)个/视野($P<0.05$)。MI组毛细血管密度亦显著高于SO组和LIT组,SO组与LIT组毛细血管密度无显著差异。与PIT组比较,Pro-EPCs组CD值为21.51±1.67,明显高于PIT组($P<0.05$),Inhi-EPCs组为1.43±0.82,明显低于PIT组($P<0.05$)。见图2—3。

表2 实验前后各组缺血心肌侧支循环血流量比较 ($\bar{x}\pm s$)						
组别	基础值			终点值		
	CBF(粒/g)	CCBF(粒/g)	RCBF(%)	CBF(粒/g)	CCBF(粒/g)	RCBF(%)
SO组	3046.89±60.41	1320.89±50.16	43.00±1.32	3072.44±64.08	1399.11±72.22	45.11±2.80
LIT组	3042.13±46.80	1404.75±94.73	45.75±3.41	2992.50±202.06	1403.88±53.39	46.63±2.77
MI组	2928.22±92.35	1288.89±51.92	43.44±1.24	2958.44±141.52	1501.89±67.29	50.22±0.97 ^{①②③}
PIT组	2974.38±68.12	1309.00±27.25	43.50±0.76	2954.00±80.07	1921.75±61.11	64.50±0.93 ^{①②③④}
Pro-EPCs组	3040.25±26.02	1351.88±55.24	44.00±1.93	3029.88±43.47	2353.50±40.32	77.25±1.67 ^{①⑤}
Inhi-EPCs组	3031.44±51.35	1288.67±19.18	42.11±0.93	2920.44±206.62	1312.89±63.97	44.67±4.92 ^⑤

注:CBF:冠状动脉血流量(LVB未阻断时(水囊充水前)水囊固定远端心肌内微球数量(粒/g);CCBF:冠状动脉侧支血流量(LVB阻断时(水囊充水时)水囊固定远端心肌内微球数量(粒/g);RCBF:心肌相对侧支循环血流量,RCBF=CCBF/CBF×100。①同组实验前后RCBF比较 $P<0.05$;②与假手术组比较 $P<0.05$;③与单纯肢体缺血组比较 $P<0.05$;④与单纯心肌缺血组比较 $P<0.05$;与生理性缺血训练组比较;⑤ $P<0.05$

图2 实验终点缺血心肌新生毛细血管密度



a与假手术组比较 $P<0.05$;b与单纯肢体缺血组比较 $P<0.05$;c与单纯心肌缺血训练组比较 $P<0.05$;d与生理性缺血训练组比较 $P<0.05$

3 讨论

3.1 生理性缺血训练促进远隔缺血心肌侧支循环生成

研究表明冠脉侧支循环生成可改善缺血性心脏病患者预后^[6],冠脉侧支循环丰富者未来心血管事件发生率下降,因冠心病死亡率、介入治疗或冠脉搭桥手术等比率也相应下降,且冠脉侧支循环的生成可降低心肌梗死发生率。

局部心肌缺血可促进冠脉侧支循环生成。冠状动脉急性缺血90s内即可有固有冠脉侧支开放,冠

状动脉慢性闭塞90d可产生新的侧支循环。前期研究发现缺血阈强度(初始诱发心电图ST-T改变的强度)训练可有效增加可控性心肌缺血猪模型侧支循环生成^[1]。本研究结果显示单纯心肌缺血组与假手术组相比,可明显增加心肌缺血周围冠状动脉侧支循环密度,增加微血管血流量,结果与既往研究结果一致。但无论直接或间接诱发冠心病患者心肌缺血的方式,均存在安全及伦理顾虑,临床上难以实施。

PIT可促进远隔缺血心肌侧支循环生成。研究发现一侧肢体反复生理性缺血训练可增加对侧病理性缺血肢体侧支血管生成^[4]。从而提出生理性缺血训练的概念,即正常骨骼肌反复短暂生理性缺血,促进远隔病理性缺血部位的侧支循环生成,而对正常组织无影响。本系列课题组前期研究发现生理性缺血训练可促进VEGF释放^[11],VEGF是促进血管生成的重要因子,随血液循环进入到远隔病理性缺血部位,从而诱发或加强该部位的侧支循环生成。本研究对可控性心肌缺血兔模型,采用非侵入性止血带环扎兔双下肢近端,阻断股动脉血流实现生理性缺血,参照既往研究最适训练强度,进行为期4周的生理性缺血训练。实验结束时PIT组侧支循环显著高于SO组、LIT组及MI组,说明生理性缺血训练可促进远隔缺血心肌侧支循环生成,且作用优于单纯心肌缺血训练。单纯肢体缺血对正常心肌无促进侧支循环生成作用。

3.2 EPCs在PIT促进远隔缺血心肌侧支循环生成过程中的重要作用

EPCs参与血管形成。EPCs是源于骨髓和外周血的具有内皮细胞分化功能的干细胞。在正常情况下绝大部分的EPCs存在于骨髓中,外周血中EPCs数量只相当于外周血细胞的0.01%。当存在生理性或病理性刺激,如适量运动、局部缺血(包括心肌缺血和外周缺血)时,可动员骨髓中EPCs,向外周血迁移。缺血损伤处高表达的VEGF趋化外周血EPCs归巢至缺血局部,通过EPCs自身的分化增殖而形成新生血管,或EPCs分泌VEGF、母细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)等细胞生长因子,通过旁分泌效应促进局部血管内皮细胞增殖,即增强血管生成效应,促进缺血组织新生血管形成。

局部心肌缺血可增加EPCs数目。不稳定性心

绞痛患者或X综合征患者或稳定型冠心病患者运动训练后等心肌缺血事件均可动员EPCs,增加外周血EPCs数目^[17-18]。动物实验及临床实验表明心梗后外周血EPCs数目逐步增加,第5—7天达高峰,后逐渐下降至基础值。Porto等^[19]通过心肌磁共振显影方法证实了是心肌缺血而非心肌坏死或其他心肌病变对动员EPCs迁移到外周血中具有促进作用。

肢体缺血可增加EPCs数目。动物实验表明肢体缺血可诱发外周EPCs数目增加,Sandri等^[8]的临床研究发现外周动脉阻塞性疾病患者(peripheral arterial occlusive disease, PAOD)及健康志愿者进行急性下肢缺血训练后,外周血EPCs均明显上升,且与VEGF成正比,从而说明肢体缺血亦可增加外周血EPCs数目。

他汀类药物是EPCs促进剂,可通过快速激活Akt信号通道,激活内皮祖细胞活性,诱导EPCs由骨髓向外周血迁移,增加外周血EPCs数目和功能^[20]。雷帕霉素可降低EPCs分泌eNOS,减少EPCs数目、降低其增殖、迁移、黏附及血管生成能力,并破坏端粒酶活性,加速EPCs衰老,促进EPCs凋亡^[21-22],是EPCs抑制剂。本研究Pro-EPCs组、Inhi-EPCs组分别在生理性缺血训练基础上应用EPCs促进剂和抑制剂,结果显示EPCs促进组侧支循环数目及血流量显著高于PIT组;EPCs抑制组侧支循环生成则明显低于PIT组。从而证明了EPCs在生理性缺血训练促进侧支循环生成过程中的重要作用。

3.3 本实验局限性

①未能检测缺血训练双下肢组织是否有炎症坏死等不良现象发生,在每次生理性缺血训练结束后均采用肉眼观察结扎部位以下恢复鲜红,股动脉搏动恢复正常。②因实验条件等原因,本研究只对生理性缺血训练促进冠脉侧支循环生成的细胞机制进行了初探。由于侧支循环生成过程中除EPCs外,还可能存在其他复杂机制,因此在今后的研究中将继续深入探讨。

参考文献

- [1] Lu X, Wu T, Huang P, et al. Effect and mechanism of intermittent myocardial ischemia induced by exercise on coronary collateral formation[J]. Am J Phys Med Rehabil, 2008, 87(10):803—814.

- [2] Ottani, F., et al., Prodromal angina limits infarct size. A role for ischemic preconditioning[J]. Circulation, 1995, 91(2): 291—297.
- [3] Gao J, Kang Y, Lou J. The optimal strategy of noninvasive limb ischemic preconditioning for protecting heart against ischemia-reperfusion injury in rats[J]. J Surg Res, 2012, 174(2):e47—54.
- [4] Shen M, Gao J, Li J, et al. Effect of ischaemic exercise training of a normal limb on angiogenesis of a pathological ischaemic limb in rabbits[J]. Clin Sci (Lond), 2009, 117(5): 201—208.
- [5] 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(2):97—105.
- [6] 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.
- [7] Asahara T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization[J]. Circ Res, 1999, 85(3):221—228.
- [8] Sandri M, Beck EB, Adams V, et al. Maximal exercise, limb ischemia, and endothelial progenitor cells[J]. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2011, 18(1):55—64.
- [9] Li CJ, Gaol RL, Yang YJ, et al. Effect of intracoronary infusion of bone marrow mononuclear cells or peripheral endothelial progenitor cells on myocardial ischemia-reperfusion injury in mini-swine[J]. Chin Med Sci J, 2010, 25(3):176—181.
- [10] 王骏,金挺剑,励建安.兔可控性心肌缺血模型的建立[J].中国康复医学杂志,2005,20(5):327—328.
- [11] 苏娟,励建安,沈梅,等.生理性缺血训练促进心肌缺血模型 VEGF 表达的时间规律[J].中国康复医学杂志,2008,23(9): 774—776.
- [12] 顾劲扬,励建安,王元会,等.心肌缺血周负荷对兔心肌血管内皮生长因子表达的影响[J].中国康复医学杂志,2006,21(2):99—103.
- [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(3):165—168.
- [14] 王红星,励建安,路鹏,等.缺血负荷对家兔冠状动脉固有侧循环开放的影响[J].中国康复医学杂志,2003,18(5):274—277.
- [15] 陆晓,吴涛,黄澎,等.短暂缺血阈强度运动对冠脉侧支循环生成的作用[J].中国康复医学杂志,2008,23(11):967—971.
- [16] Regieli JJ, Jukema JW, Nathoe HM, et al. Coronary collaterals improve prognosis in patients with ischemic heart disease[J]. Int J Cardiol, 2009, 132(2):257—262.
- [17] Shmilovich H, Deutsch V, Roth A, et al. Circulating endothelial progenitor cells in patients with cardiac syndrome X [J]. Heart, 2007, 93(9):1071—1076.
- [18] George J, Goldstein E, Abashidze S, et al. Circulating endothelial progenitor cells in patients with unstable angina: association with systemic inflammation[J]. Eur Heart J, 2004, 25(12):1003—1008.
- [19] Porto I, Leone AM, De Maria GL, et al. Are endothelial progenitor cells mobilized by myocardial ischemia or myocardial necrosis? A cardiac magnetic resonance study[J]. Atherosclerosis, 2011, 216(2):355—358.
- [20] Matsumura M, Fukuda N, Kobayashi N, et al. Effects of atorvastatin on angiogenesis in hindlimb ischemia and endothelial progenitor cell formation in rats[J]. J Atheroscler Thromb, 2009, 16(4):319—326.
- [21] Chen TG, Chen JZ, Wang XX. Effects of rapamycin on number activity and eNOS of endothelial progenitor cells from peripheral blood[J]. Cell Prolif, 2006, 39(2):117—125.
- [22] Imanishi T, Kobayashi K, Kuki S, et al. Sirolimus accelerates senescence of endothelial progenitor cells through telomerase inactivation[J]. Atherosclerosis, 2006, 189(2): 288—296.
- [23] 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.