

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2015.05.0226

·论著·

一种更符合临床的深静脉血栓形成大鼠模型

张朝顺,柯常江,冯起校,邱海兵,覃善君

(广东医学院附属中山医院呼吸内科,广东 中山 528415)

【摘要】目的 建立一种新的更符合临床的深静脉血栓形成大鼠模型,并探讨其深静脉血栓形成机制。**方法** 将72只SD大鼠随机分为正常对照组(N组)、假手术组(S组)及模型组(M组),每组24只。M组采用不完全阻滞左股静脉血流+注入10%高渗盐水的方法建立大鼠股静脉血栓模型。于建模后第2、6、10天分别处死各组大鼠8只,比较各组血栓形成情况,行病理学分析,并应用放免法测定各组大鼠各时间点血浆血栓素B₂(TXB₂)、6-酮-前列腺素F_{1α}(6-Keto-PGF_{1α})及内皮素(ET)的含量。**结果** 建模后第2、6、10天,N组和S组均未见血栓形成,M组血栓形成率明显高于N组和S组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。M组病理检查可见血栓不同时期的变化及血管再通现象,且该模型各时间点血浆TXB₂、ET含量均较N、S组升高($P<0.05$),而6-Keto-PGF_{1α}含量较N、S组降低($P<0.05$)。**结论** 通过不完全阻滞股静脉血流+注入10%高渗盐水的方法,可以建立稳定的、更符合临床的深静脉血栓形成大鼠模型,该模型静脉血栓形成可能与血浆血栓素A₂(TXA₂)/前列环素(PGI₂)比例升高及ET含量升高有关。

【关键词】 深静脉血栓形成;模型;大鼠;血栓素B₂;6-酮-前列腺素F_{1α};内皮素**【中图分类号】** R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2015)05-0625-05

A rat model of deep venous thrombosis more consistent with the clinical practice. ZHANG Chao-shun, KE Chang-jiang, FENG Qi-xiao, QIU Hai-bing, QIN Shan-jun. Department of Respiratory Diseases, the Affiliated Zhongshan Hospital of Guangdong Medical College, Zhongshan 528415, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To establish a rat model of deep venous thrombosis which is more consistent with the clinical practice, and to investigate the possible mechanism of deep venous thrombosis. **Methods** Seventy-two Sprague-Dawley rats were randomly and equally divided into 3 groups (N, S, M), with group N defined as control group. The rats in the group S underwent sham operation. In the group M, the left femoral vein of the rats was incompletely ligated in combination with injection of 10% hypertonic saline from the distal end of the incompletely ligated femoral vein. On the 2nd, 6th and 10th day, 8 rats from each group were sacrificed, the femoral vein was collected for observing the formation of the thrombosis and pathological analysis, and the plasma contents of thromboxane B₂ (TXB₂), 6-keto-prostaglandin F_{1α} (6-keto-PGF_{1α}) and endothelin (ET) were measured by radioimmunoassay. **Results** On day 2, 6 and 10, no thrombosis was observed in group N or group S. The rate of thrombosis formation in group M (62.5%, 87.5% and 75% on day 2, 6 and 10) was significantly higher than those in group N and group S ($P<0.05$). The changes of thrombosis at different periods and the vascular recanalization were observed by pathological examination in group M. At each time point, the plasma contents of TXB₂ and ET in group M were significantly higher than those in group N and group S ($P<0.05$), and the plasma content of 6-keto-PGF_{1α} in group M was significantly lower than those in group N and group S ($P<0.05$). **Conclusion** A rat model of deep venous thrombosis which is stable and more consistent with the clinical practice can be established by incomplete ligation of the femoral vein combined with injection of 10% hypertonic saline from the distal end of the incompletely ligated femoral vein. The formation of thrombosis in the model may be associated with the thromboxane A₂ (TXA₂)/Prostacyclin (PGI₂) ratio increased and the content of ET increased in rat plasma.

【Key words】 Deep vein thrombosis; Models; Rat; TXB₂; 6-Keto-PGF_{1α}; Endothelin (ET)

深静脉血栓形成(DVT)指血液在深静脉内不正常地凝结、阻塞管腔,导致静脉回流障碍,多发生于下肢深静脉。西方国家每年因DVT住院人数约65万例,

死亡人数5万~20万例,台湾地区的DVT发生率约为欧美的2/3,大陆尚无对DVT发病情况的统计^[1]。随着人口老龄化,DVT发病率近年来呈明显上升趋

基金项目:广东省医学科研课题(编号:B2011366);中山市科技计划项目(编号:20113A096)

通讯作者:冯起校。E-mail:zhangcs790622@163.com

势。DVT 除可能引致肺栓塞(PTE)外,尚会导致慢性静脉功能不全,引起慢性静脉溃疡、跛行等,影响患者生活质量,加重社会负担^[2]。DVT 病变过程复杂,为明确其发病的机制及转归,建立合适的 DVT 动物模型,模拟其病理生理过程,是研究 DVT 的重要途径。虽然目前已有多种 DVT 动物模型,但能很好的模拟人类 DVT 病理生理过程的动物模型仍较少。如何复制更符合临床的 DVT 动物模型,是今后推进 DVT 防治研究的关键。我们通过不完全阻滞左股静脉血流+注入 10% 高渗盐水的方法,建立了一种简单、稳定且更符合临床的大鼠 DVT 疾病模型,并探讨了其深静脉血栓形成机制,现报道如下:

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性清洁级 SD 大鼠 72 只,月龄 4 个月,体重 300~400 g,平均(350±27) g,购自广东省医学实验动物中心,合格证号:SCXK(粤)2008-0002。SD 大鼠饲养于动物中心实验室动物房,室温 18℃~25℃,房间通风良好,实验动物自由饮水及进食,适应性喂养 1 周后进入实验。

1.2 实验试剂 血栓素 B₂(TXB₂)放射免疫分析药盒(批号:131220),6-酮-前列腺素 F_{1α}(6-Keto-PGF_{1α})放射免疫分析药盒(批号:131220),内皮素(ET)放射免疫分析药盒(批号:140102)购自北京北方生物技术研究所。

1.3 动物分组及模型的建立 72 只 SD 大鼠,按随机原则分为 3 组,每组 24 只。N 组:正常对照组;S 组:假手术组;M 组:模型组。N 组:不作任何操作;S 组:大鼠以 5% 水合氯醛(0.6 ml/100 g)腹腔注射麻醉,沿左腹股沟区中点行 2 cm 纵行切口,分离左股静脉;术毕检查周围组织无出血后缝合切口,外敷消毒纱布;M 组:5% 水合氯醛(0.6 ml/100 g)腹腔注射麻醉,沿左腹股沟区中点行 2 cm 纵行切口,分离左股静脉;在左股静脉近心端处绕以丝线不完全结扎,使血管腔缩小约 1/2,以减慢血流,并自阻滞血管远端缓慢注入 10% 高渗盐水 1 ml 造成局部静脉血管壁损伤。术后动物自由饮水,正常饲料饲养,不用抗凝剂及抗生素。

1.4 标本的获取及处理 建模后第 2、6、10 天作为观察时间点,在各观察时间点每组各随机取 8 只大鼠,对大鼠麻醉(麻醉方法同前),全部大鼠心脏取血制备血浆测定 TXB₂、6-Keto-PGF_{1α}、ET 等各项指标,并经原切口取出病变静脉(正常对照组逐层切开皮肤、皮下,取股静脉),用 10% 甲醛溶液固定,制成石蜡切片,行苏木素-伊红(HE)染色,显微镜下观察组织病理学改变,并计算血栓形成阳性率。

1.5 测定指标

1.5.1 TXB₂、6-Keto-PGF_{1α}检测 心脏取血 2 ml,置于含消炎痛-EDTA·Na₂液 0.2 ml 的塑料试管中,充分混匀,4℃,3 500 r/min,离心 15 min,分离血浆,放-20℃保存。测定时采用放免法按照 TXB₂、6-Keto-PGF_{1α}放免试剂盒说明书严格操作。

1.5.2 ET 检测 心脏取血 1 ml,注入含 7.5% EDTA·Na₂ 15 μl 和抑肽酶 20 μl 的塑料试管中,充分混匀,4℃,3 000 r/min,离心 15 min,分离血浆,放-20℃保存。测定时采用放免法按照 ET 放免试剂盒说明书严格操作。

1.6 统计学方法 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析。各组计量资料数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计量资料组间的比较采用单因素方差分析及 *q* 检验,计数资料组间率的比较采用 χ^2 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物存活情况 72 只受试大鼠中,S 组在建模时因麻醉过量死亡 1 只,其余 71 只大鼠均存活至完成实验。

2.2 各组大鼠股静脉血栓形成率比较 光镜观察各组大鼠左股静脉血栓形成结果见表 1。术后各时间点,N 组和 S 组均未见血栓形成,术后第 2、6、10 天,M 组大鼠股静脉血栓形成率分别为 62.5% (5/8)、87.5% (7/8)、75% (6/8)。M 组血栓形成率明显高于 N 组和 S 组,差异均具有统计学意义 (*P*<0.05)。

建模后天数(d)	N 组(n=24)		S 组(n=23)		M 组(n=24)	
	+	-	+	-	+	-
2	0	8	0	7	5	3
6	0	8	0	8	7	1
10	0	8	0	8	6	2

注: + 为血栓发生, - 为无血栓发生。

2.3 各组大鼠局部股静脉的组织形态学观察 N 组及 S 组大鼠在各时间点均无股静脉血栓形成;光镜观察见整个血管内膜表面平整,内皮细胞大小均匀、排列整齐,管腔内无血栓形成,管壁无炎性细胞浸润(图 1A、B)。M 组术后第 2、6、10 天,光镜下股静脉血栓病理形态见图 1C、D、E。

2.4 各组大鼠血浆 TXB₂、6-Keto-PGF_{1α}、ET 的对比观察 M 组各时间点血浆 TXB₂ 含量均较 N、S 组明显升高,差异有统计学意义 (*P*<0.05);N 组与 S 组各时间点血浆 TXB₂ 含量比较差异无统计学意义 (*P*>0.05)。M 组各时间点血浆 6-Keto-PGF_{1α} 含量均较 N、S 组明显降低,差异有统计学意义 (*P*<0.05);N 组与

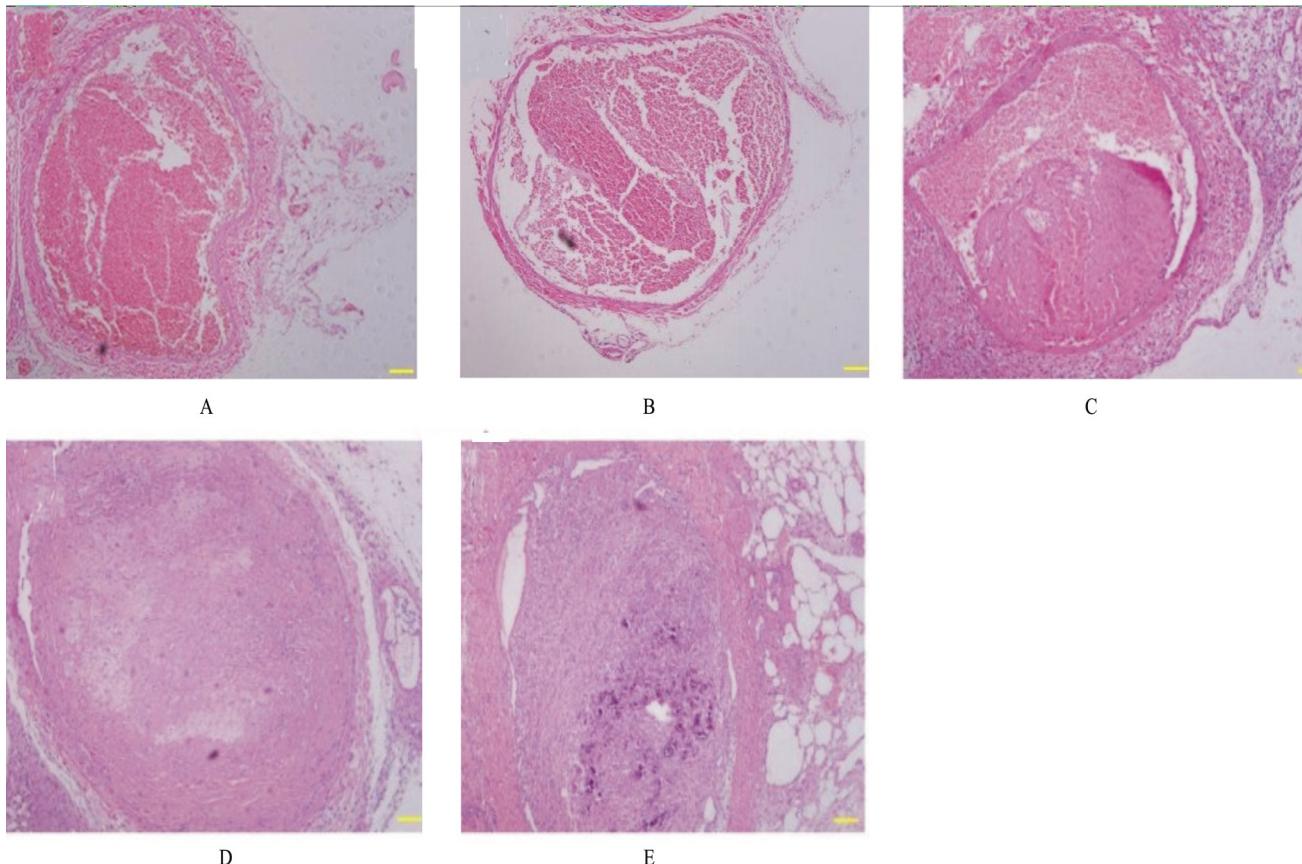


图1 各组大鼠局部股静脉的组织形态学观察(HE×100)

注: A、N组大鼠股静脉管腔通畅,无血栓形成; B、S组大鼠股静脉管腔通畅,无血栓形成; C,术后2 d,M组大鼠股静脉血栓多为不完全性血栓,血栓成分为混合血栓,血栓与管壁少部分粘连,粘连处的血管内皮细胞剥脱,内皮下层裸露,血管壁炎性细胞浸润较为严重; D,术后6 d,M组大鼠股静脉血栓多为完全性血栓,血栓成分为混合血栓,血栓开始有机化现象,血栓与静脉内表面机化粘连,粘连区域已无内皮细胞存在,血管壁炎性细胞浸润存在; E,术后10 d,M组大鼠股静脉血栓进一步机化,机化组织向血栓内部深入,替代了较多的血栓部分,血栓收缩,中央区崩裂,血管部分再通,血管壁炎性细胞浸润较前减轻。

S组各时间点血浆6-Keto-PGF_{1α}含量比较差异无统计学意义($P>0.05$)。M组各时间点血浆ET含量均较N、S组明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);N组与S组各时间点血浆ET含量比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表2、表3和表4。

表2 各组大鼠各时间点血浆TXB₂含量(̄±s, pg/ml)

组别	第2天	第6天	第10天
N组(n=24)	352.78±18.06	350.53±15.80	351.24±19.05
S组(n=23)	362.04±11.84	364.05±16.19	348.98±15.22
M组(n=24)	506.75±31.83 ^{a,b}	578.48±36.41 ^{a,b}	512.92±24.22 ^{a,b}

注:S组第2天为7只大鼠,其他各组各时间点均为8只大鼠;与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与假手术组比较,^b $P<0.05$ 。

表3 各组大鼠各时间点血浆6-Keto-PGF_{1α}含量(̄±s, pg/ml)

组别	第2天	第6天	第10天
N组(n=24)	161.42±16.48	165.04±26.34	163.25±21.33
S组(n=23)	158.48±19.92	162.99±27.91	160.27±19.04
M组(n=24)	108.45±24.58 ^{a,b}	80.19±14.56 ^{a,b}	105.05±22.67 ^{a,b}

注:S组第2天为7只大鼠,其他各组各时间点均为8只大鼠;与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与假手术组比较,^b $P<0.05$ 。

表4 各组大鼠各时间点血浆ET含量(̄±s, pg/ml)

组别	第2天	第6天	第10天
N组(n=24)	89.77±13.51	93.86±19.42	92.37±24.19
S组(n=23)	92.36±14.14	94.53±23.39	90.80±20.05
M组(n=24)	141.41±23.64 ^{a,b}	177.86±33.98 ^{a,b}	144.97±26.07 ^{a,b}

注:S组第2天为7只大鼠,其他各组各时间点均为8只大鼠;与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与假手术组比较,^b $P<0.05$ 。

3 讨 论

DVT尤其是下肢的DVT作为住院患者的一项严重疾病及常见并发症已越来越受到重视,具有很高的致残率及致死率^[3-4]。国外文献报道,DVT是继急性冠脉综合征和中风后的第三大心血管疾病,且其发病率近年来呈明显上升趋势^[5]。许多DVT患者并发PTE和心血管意外从而导致严重后果^[6]。因此,深入研究DVT的发病原因、致病机制以及相关的病理生理,对于改善诊治现状,降低并发症发生及死亡率,具有良好的经济和社会效益。而建立简单、价格低廉、稳定、可靠且符合临床深静脉血栓形成特点的DVT动物模型是研究该问题的基础。虽然目前已有很多种DVT动物

模型,但均与临床实际不尽相符,如:(1)临床DVT绝大部分为亚急性或慢性,而现有造模方法所形成的血栓均为急性;(2)现有造模方法多为完全结扎静脉以阻断静脉回流、造成血液淤滞而诱发血栓形成,这样虽然可以形成稳定的血栓,但是不能保障血栓的近心端通畅,不适合作为对溶栓及抗血栓药物动态研究的模型,也不符合人体静脉血栓的发病特点(临床绝大多数DVT发病初始并不存在静脉回流完全阻断);(3)电流损伤法、机械损伤法等均直接损伤静脉,与临床DVT几乎都未直接损伤深静脉不相符,且创伤性均较大,易引起全身应激状态而对实验模型造成干扰,不符合自然状态下的深静脉血栓形成过程;(4)注入促凝物质法与临床DVT患者多无使用促凝血药史不相符,且部分患者在使用抗凝血药时仍发生DVT。因此,有必要探索新的造模方法以制备出更符合临床的DVT动物模型。

本试验通过不完全阻滞股静脉血流+注入10%高渗盐水的方法建立了一种新的、稳定的、更符合临床深静脉血栓形成特点的大鼠DVT模型。该造模方法的血栓形成率高,形成血栓稳定可靠;与完全结扎的模型相比,此模型更符合人体DVT的病理生理学演变,且形成血栓的血管段近心端保持通畅,可有效地用于观察药物溶栓或抗栓塞作用的效果;与电流损伤法、机械损伤法等直接损伤静脉的造模方法相比,注入高渗盐水对静脉损伤较小,更符合临床DVT的发病特点;且光镜观察见模型组不同时间点形成的血栓与临床实际形成的血栓在性质和成分上相似,能很好的模拟临床DVT的病理生理演变过程。

TXA₂和PGI₂均为花生四烯酸的代谢产物, TXA₂主要在血小板中经TXA₂合成酶的作用下生成,而PGI₂主要在血管内皮细胞中经PGI₂合成酶的作用下生成。TXA₂可以促进血小板激活、聚集,进而促进凝血和血栓形成,收缩血管并刺激平滑肌细胞增殖;PGI₂则相反,具有很强的抑制血小板聚集的作用,它不仅预防血栓的形成,甚至能消除已经存在的血小板聚集,其作用机制是通过细胞内第二信使激活一系列酶使血小板内TXA₂合成减少,从而抑制血小板聚集,PGI₂还有舒张血管和抑制平滑肌细胞增殖的作用^[7]。在生理状态下,循环血液中TXA₂和PGI₂的浓度处于相对平衡状态,两者共同调节血小板聚集和血管舒缩,对维持血流通畅和血管正常张力具有重要意义。当血栓阻塞血管时,血管内皮层损伤部位聚集血小板可释放TXA₂,浓度显著升高,TXA₂/PGI₂比例明显高于平时,提示TXA₂浓度升高和TXA₂/PGI₂的平衡失调,与血管痉挛、血小板聚集或血栓形成有密切的关系。因为二者的半衰期仅数分钟,TXA₂很快被水解为无活性的TXB₂,而PGI₂被迅

速氧化为6-Keto-PGF_{1α}而难以直接测定,所以一般用放免法测定血浆TXA₂和PGI₂的稳定代谢产物TXB₂和6-Keto-PGF_{1α}以代表其含量。本实验结果显示:模型组大鼠血浆TXB₂水平明显升高,而6-Keto-PGF_{1α}水平明显降低,与正常对照组、假手术组比较差异显著。提示该造模方法可引致大鼠机体产生以下一系列病理改变:大鼠股静脉不全结扎,造成局部血流缓慢,当静脉输入10%高渗盐水时,血浆渗透压升高,使血管内皮细胞脱水、低氧、充血、水肿,从而损伤血管内皮,暴露胶原纤维,触发内源性凝血过程^[8];血小板聚集于损伤内皮部位,释放TXA₂,损伤血管内皮,PGI₂生成减少,导致TXA₂/PGI₂比例明显高于平时;而TXA₂浓度升高和TXA₂/PGI₂的平衡失调又进一步加重血管痉挛、血小板激活、聚集和血栓形成。

ET主要由粒细胞、巨核细胞分泌,参与广泛的生理病理过程的调控,对细胞功能、炎症反应等具有重要作用,通过影响内皮细胞等改变血管功能和结构。ET是1988年首先由日本学者Yanagisawa等从培养的猪主动脉内皮细胞的上清液中分离纯化获得的,是一种含有21个氨基酸的血管活性肽,共有4个亚型,即ET-1、ET-2、ET-3和ET-4,是目前已知的作用最强的血管收缩因子^[9]。血管损伤是DVT形成的主要原因之一,而血管内膜的损伤是DVT形成的启动因素。完整的血管内膜具有良好的抗血栓功能,当内皮细胞受损后,ET合成增加,血浆ET含量增加,血管内膜抗凝功能减弱,致使凝血和抗凝功能动态平衡失调,最终导致血栓形成,所以血浆ET含量增加是在DVT形成过程中血管内膜细胞损伤的直接反映和客观指标。本实验结果显示:模型组大鼠血浆ET水平明显升高,提示10%高渗盐水损伤了血管组织,血管各系统反应性的释放ET,导致血液中ET增多,血管张力增大,血管痉挛,血流缓慢,从而促进了血栓形成。

综上所述,通过不完全阻滞股静脉血流+注入10%高渗盐水的方法可以建立稳定的大鼠DVT疾病模型,与完全结扎的模型比较,此模型更符合人体DVT的病理生理学演变,更适用于DVT的基础研究。该模型静脉血栓形成可能与血浆TXA₂/PGI₂比例升高及ET含量升高有关,提示临幊上动态监测血浆TXB₂、6-Keto-PGF_{1α}、ET含量可能有助于DVT的早期诊断。

参 考 文 献

- [1] 王鸿利,王学锋. 血栓病临幊新技术[M]. 北京:人民军医出版社, 2003: 25.
- [2] Delis KT, Bountouroglo D, Mansfield AO. Venous claudication in iliofemoral thrombosis: long-term effects on venous hemodynamics, clinical status, and quality of life [J]. Ann Surg, 2004, 239(1): 118-126.

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2015.05.0227

•论著•

大鼠糖尿病性勃起功能障碍模型的制备

潘卫兵,曹石金,谢礼仁,朱斌,金岩

(深圳市坪山新区人民医院泌尿外科,广东深圳 518118)

【摘要】目的 探讨理想糖尿病性勃起功能障碍(ED)大鼠模型的制备方法。**方法** 90只SD大鼠,随机分为I、II、III三组各30只,每组再分为正常组(CN)和糖尿病组(DM),每组各15只,DM组腹腔注射链脲佐菌素(STZ, 65 mg/kg)诱导糖尿病大鼠模型,CN组腹腔注射等量体积的柠檬酸盐缓冲液。成模8周、12周及16周注射阿朴吗啡(APO, 80 µg/kg)观察大鼠阴茎勃起情况,制备糖尿病性ED大鼠模型。**结果** I、II、III三组中的糖尿病大鼠在8、12、16周注射阿朴吗啡后勃起次数分别为(1.0±0)次、(1.0±0)次、(1.0±0)次,勃起率分别为33.3%、21.4%、14.3%,ED发生率分别为66.7%、78.6%、85.7%。I、II、III三组中的正常大鼠勃起次数分别为(2.2±0.8)次、(2.3±0.8)次、(2.0±0.7)次,勃起率均为100%,ED发生率为0。各组间勃起率比较差异均有显著统计学意义($P<0.01$)。**结论** 采用STZ 65 mg/kg腹腔注射建立糖尿病大鼠模型方法安全有效,颈部皮下注射APO 80 µg/kg筛选糖尿病ED大鼠可行可靠。

【关键词】 糖尿病;勃起功能障碍;链脲佐菌素**【中图分类号】** R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2015)05—0629—03

Establishment of diabetic rat models with erectile dysfunction. PAN Wei-bing, CAO Shi-jin, XIE Li-ren, ZHU Bin, JIN Yan. Department of Urology, Pingshan People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518118, Guangdong, CHINA

[Abstract] **Objective** To investigate the ideal method for establishing diabetic rats model with erectile dysfunction (ED). **Methods** Ninety male SD rats were randomly divided into 3 groups (group I, II, III), each with 30 rats. Each group were further divided into control (CN) subgroup and diabetes mellitus (DM) subgroup equally, with 15 rats in each subgroup. SD rats were injected intraperitoneally with 65 mg/kg streptozotocin (STZ) to make experimental models of DM (DM subgroup), and equal volume of citrate buffer was injected in the CN subgroup. Injected with apomorphine, penile erection of the rat models were observed 8 (group I), 12 (group II), and 16 weeks (group III) after establishment of models. **Results** The times of penis erection in DM subgroups of group I, II, III were (1.0±0), (1.0±0), (1.0±0), respectively, and the rates of penis erection were only 33.3%, 21.4%, 14.3%, with the incidences of ED of 66.7%, 78.6%, 85.7%. The times of penis erection in CN subgroups of group I, II, III were (2.2±0.8), (2.3±0.8), (2.0±0.7), respectively, and the rates of penis erection were all 100%, with the incidences of ED of 0. There was statistically significant differences in the rates of penis erection between the DM subgroup and the CN subgroup ($P<0.01$). **Conclusion** Intraperitoneal injection with STZ (65 mg/kg) is a safe method for establishment of diabetic rat model. Subcutaneous injection with apomorphine (80 µg/kg) is effective to screen diabetic rat model with erectile dysfunction.

【Key words】 Diabetes mellitus; Erectile dysfunction; Streptozotocin

基金项目:深圳市坪山新区医疗卫生发展孵化资助资金项目(编号:201206);深圳市科技创新委员会知识创新计划基础研究
(编号:201404163000117)

通讯作者:潘卫兵。E-mail: szys67@sina.com

-
- [3] Abad Rico JI, Llau Pitarch JV, Rocha E. Overview of venous thromboembolism [J]. Drugs, 2010, 70(Suppl 2): 3-10.
- [4] Torbicki A, Perrier A, Konstantinides S, et al. Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism: the Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. Eur Heart J, 2008, 29: 2276-2315.
- [5] Theodorou SJ, Theodorou DJ, Kakitsubata Y. Sonography and venography of the lower extremities for diagnosing deep vein thrombosis in symptomatic patients [J]. Clin Imaging, 2003, 27: 180-183.
- [6] Nilsson-Helander K, Thurin A, Karlsson J, et al. High incidence of deep venous thrombosis after Achilles tendon rupture: a prospective study [J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2009, 17: 1234-1238.
- [7] 刘泽霖,贺石林,李家增.血栓性疾病的诊断与治疗[M].北京:人民卫生出版社,2000: 126-127.
- [8] 朱妹,黎贵湘,兰霞.高渗性药物致静脉炎的防治进展[J].护理与康复,2012, 11: 135-137.
- [9] 张漓,胡扬.运动对血液内皮素-1的影响及其在血液重新分配中的作用[J].中国运动医学杂志,2011, 30(6): 583-590.

(收稿日期:2014-08-26)