



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.06.008  
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2023.06.008  
China Journal of General Surgery, 2023, 32(6):867-877.

· 基础研究 ·

## 抗阻运动对小鼠深静脉血栓血管生成的影响

吴彩娇<sup>1</sup>, 李小荣<sup>2</sup>, 徐佳澳<sup>1</sup>, 黎小艳<sup>1</sup>, 韦佳妮<sup>1</sup>, 赵慧函<sup>3</sup>, 应燕萍<sup>1</sup>

(广西医科大学第一附属医院 1. 护理部 2. 重症医学科 3. 血液内科二区, 广西 南宁 530021)

### 摘要

**背景与目的:** 目前有证据支持急性深静脉血栓形成 (DVT) 患者在充分抗凝基础上早期活动, 并不增加肺栓塞的风险, 反而可以改善患者症状, 但抗阻运动对 DVT 血管生成的影响鲜有研究。本研究旨在探讨抗阻运动能否促进 DVT 的血管生成, 从而促进静脉血栓再通。

**方法:** 将 72 只成年雄性 C57BL/6J 小鼠通过狭窄下腔静脉方法构建 DVT 模型, 并随机分为模型组和抗阻运动组, 抗阻运动组小鼠通过尾部负重法进行抗阻运动干预, 模型组小鼠不做任何干预。两组分别于造模后 7、14、28 d 处死部分小鼠取材, 取材前通过超声观察静脉血栓情况。HE 染色法观察小鼠静脉血栓及肺组织病理情况; 计算血栓再通率; ELISA 法检测各组小鼠血清中血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达水平; 免疫组化染色检测小鼠静脉血栓的血管内皮生长因子 A (VEGF-A), 血管内皮生长因子受体 2 (VEGFR-2) 和血小板内皮黏附分子 (CD31) 的表达情况, 并计算 CD31 阳性血管数; qRT-PCR 法检测含有血栓的静脉组织 VEGF 和 VEGFR-2 mRNA 表达情况。

**结果:** 超声发现两组小鼠术后血栓大小逐渐减小; 与模型组比较, 术后 28 d 抗阻运动组小鼠血栓大小和管腔直径明显减小; 两组术后不同时间点肺组织结构均基本正常。术后 7 d, 两组间血栓再通率、血清 VEGF 浓度、血栓的 VEGF-A 和 VEGFR-2 表达量、CD31 阳性血管数及含有血栓血管组织 VEGF 和 VEGFR-2 mRNA 表达水平差异均无统计学意义 (均  $P>0.05$ ); 术后 14、28 d, 抗阻运动组血栓再通率、血清 VEGF 浓度、血栓 VEGF-A 和 VEGFR-2 表达量、CD31 阳性血管数及含有血栓的血管组织 VEGF 和 VEGFR-2 mRNA 表达均较模型组明显升高 (均  $P<0.05$ )。

**结论:** 抗阻运动可增加 DVT 小鼠的 VEGF 和 VEGFR-2 表达, 从而促进 DVT 的血管生成与静脉血栓再通。

### 关键词

静脉血栓形成; 运动; 新生血管化; 再通

中图分类号: R654.3

## Effect of resistance exercise on deep vein thrombotic angiogenesis in mice

WU Caijiao<sup>1</sup>, LI Xiaorong<sup>2</sup>, XU Jiaao<sup>1</sup>, LI Xiaoyan<sup>1</sup>, WEI Jiani<sup>1</sup>, ZHAO Huihan<sup>3</sup>, YING Yanping<sup>1</sup>

(1. Department of Nursing 2. Department of Critical Care Medicine 3. the Second Division of Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

### Abstract

**Background and Aims:** Evidence supports the early mobilization of patients with acute deep vein

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (81860032); 广西医科大学第一附属医院护理临床研究攀登计划项目基金资助项目 (YYZS2020025)。

**收稿日期:** 2022-08-10; **修订日期:** 2022-11-10。

**作者简介:** 吴彩娇, 广西医科大学第一附属医院护师, 主要从事血管通路并发症方面的研究。

**通信作者:** 应燕萍, Email: yanpingying0116@126.com

thrombosis (DVT) on adequate anticoagulation, which does not increase the risk of pulmonary embolism and can improve patient symptoms. However, there is limited research on the effects of resistance exercise on DVT angiogenesis. This study explores whether resistance exercise can promote angiogenesis in DVT and facilitate venous thrombus recanalization.

**Methods:** Seventy-two adult male C57BL/6J mice were used to construct a DVT model through inferior vena cava stenosis. They were randomly divided into a model group and a resistance exercise group. The resistance exercise group underwent resistance exercise intervention using tail loading, while no intervention was performed on the model group. Partial mice from both groups were sacrificed at 7, 14, and 28 d after modeling, and the venous thrombus was observed using ultrasound before sacrificing. HE staining was used to observe the mice's venous thrombus and lung tissue pathology. The thrombus recanalization rate was calculated. ELISA was used to measure the expression levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the serum of mice in each group. Immunohistochemical staining was performed to detect the expression of vascular endothelial growth factor A (VEGF-A), vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2), and platelet endothelial cell adhesion molecule (CD31) in the venous thrombus of mice, and the number of CD31-positive blood vessels was calculated. qRT-PCR was used to detect the mRNA expression of VEGF and VEGFR-2 in the venous tissue containing the thrombus.

**Results:** Ultrasound revealed a gradual reduction in thrombus size in both groups of mice after surgery. Compared to the model group, the resistance exercise group exhibited significantly smaller thrombus size and lumen diameter in mice at 28 d after surgery. The lung tissue structure was generally normal at different time points after surgery in both groups. At 7 d after surgery, there were no significant differences between the two groups in terms of thrombus recanalization rate, serum VEGF concentration, expression levels of VEGF-A and VEGFR-2 in the thrombus, number of CD31-positive blood vessels, and mRNA expression of VEGF and VEGFR-2 in the venous tissue containing the thrombus (all  $P > 0.05$ ). However, at 14 and 28 d after surgery, the resistance exercise group showed significantly higher thrombus recanalization rate, serum VEGF concentration, expression levels of VEGF-A and VEGFR-2 in the thrombus, number of CD31-positive blood vessels, and mRNA expression of VEGF and VEGFR-2 in the venous tissue containing the thrombus compared to the model group (all  $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Resistance exercise can increase the expressions of VEGF and VEGFR-2 in mice with DVT, thereby promoting angiogenesis and venous thrombus recanalization in DVT.

#### Key words

Venous Thrombosis; Exercise; Neovascularization; Recanalization

CLC number: R654.3

深静脉血栓形成 (deep venous thrombosis, DVT) 是血液在深静脉内异常凝结引起的血管外科疾病。DVT 的年发病率约为 0.1%~0.2%，而外科术后 DVT 的发病率高达约 26%<sup>[1]</sup>。尽管近年来 DVT 治疗取得了一定进展，但后期仍有 20%~50% 的患者发展为血栓后综合征 (postthrombotic syndrome, PTS)<sup>[2]</sup>。这些患者会出现肢体肿胀、静脉扩张、行走困难及静脉溃疡等临床症状，影响其生活质量，给患者及家属带来沉重经济负担<sup>[3]</sup>。研究<sup>[4-5]</sup>表明增加血管生成，有助于促进静脉血栓再通，

防止 PTS 发生，因此寻找一种安全有效的治疗方法促进 DVT 血管生成成为当前研究热点。

运动作为心脑血管疾病的有效治疗的手段<sup>[6]</sup>。在糖尿病后肢体缺血<sup>[7]</sup>、外周动脉疾病<sup>[8-9]</sup>、心肌梗死<sup>[10]</sup>、脑梗<sup>[11-12]</sup>等疾病的研究表明，运动可以促进新生血管生成，恢复血流重建，改善器官功能，但运动在 DVT 中促血管生成尚缺乏相关的研究报告。目前临床主要运动方式包括有氧运动和抗阻运动。抗阻运动也称为阻力运动或力量训练，通常是指增加力量，克服阻力如器械或自身重力等

的情况下运动<sup>[13]</sup>。由于DVT多见于大手术或严重创伤后需长期卧床、肢体制动、肿瘤患者等<sup>[14]</sup>。受健康状况及运动耐力限制,很难进行充分的有氧运动,从而影响运动获力效果,因此抗阻运动则成为一种理想的替代运动方式。本研究旨在探讨抗阻运动是否能通过促血管生成作用从而促进血栓再通,为DVT的治疗提供新的辅助策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

72只SPF级9周龄雄性C57BL/6J小鼠,体质量23~25g,购自北京斯贝福生物技术有限公司[许可证号:SCXK(京)2019-0010],饲养于广西医科大学动物实验中心SPF级动物实验室。本实验相关操作符合实验动物福利和伦理指南的3R原则,并经广西医科大学实验动物伦理委员会审查通过(审批号:202003003)。

### 1.2 主要试剂及仪器

兔血管内皮生长因子A(VEGF-A)单克隆抗体(ab52917, Abcam公司,英国),兔血管内皮生长因子受体2(VEGFR-2)多克隆抗体(ab2349, Abcam公司,英国),血小板内皮黏附分子(CD31)抗体(GB11063-2,赛维尔生物有限公司,中国),通用二步法试剂盒(SP-9000,中杉金桥生物技术有限公司,中国),VEGF及VEGFR-2 RNA

引物(酶联生物科技有限公司,中国),小鼠VEGF试剂盒(KJ-2864B,科晶生物有限公司,中国),HE染色试剂盒(G1120,索莱宝科技有限公司,中国),便携超声仪(m7,迈瑞公司,中国),多功能酶标仪(Varioskan LUX,赛默飞公司,美国),正置荧光显微镜(BX53F, Olympus公司,日本),切片机(RM2235, Leica公司,德国),实时荧光定量PCR仪(7500, Applied biosystems公司,美国),30G注射器金属针(索莱宝科技有限公司,中国)。

### 1.3 小鼠DVT模型建立

采取狭窄下腔静脉方法诱导DVT形成<sup>[15-16]</sup>:术前12h禁食,不限饮水,2%异氟烷气体和氧气(100%)混合物吸入麻醉小鼠后,沿腹白线行约2cm纵切口,暴露下腔静脉,在左肾静脉交界下方方的三角形区域位置钝性分离下腔静脉,将0.30mm的30G注射器金属针头与下腔静脉主干并排,4号缝合线结扎下腔静脉及针头,随后轻轻拔出金属针,逐层关腹,消毒皮肤。术后小鼠皮下注射生理盐水(0.2mL/10g)进行补液。术后自由饮水,正常饲养。建模后24h内采用L12-4s探头,探头频率10MHz,进行超声检查,以下超声表现可证实小鼠下腔静脉血栓模型的成功建立<sup>[16]</sup>:血管管腔增大,静脉管腔内出现回声不等的实性团块、彩色多普勒未探及或探及少许血流信号,频谱多普勒未探及血流频谱(图1)。

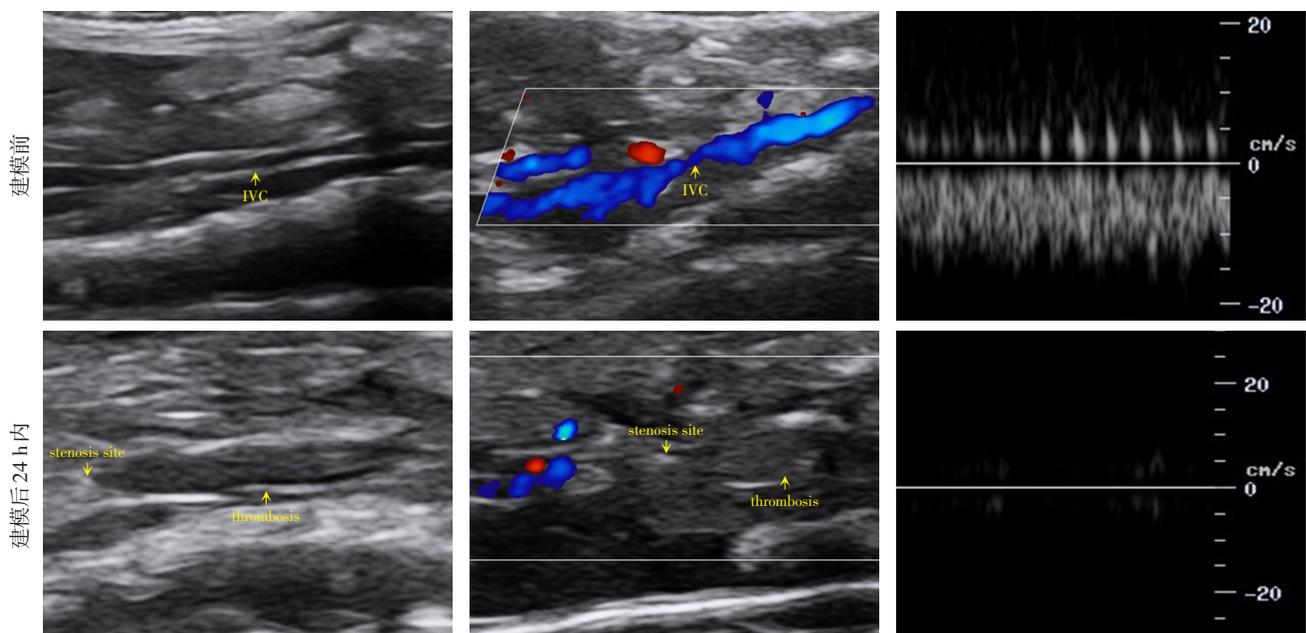


图1 造模前后超声检查

Figure 1 Ultrasound examination before and after modeling

## 1.4 分组和干预

采用动物随机分组软件将小鼠随机分为模型组与抗阻运动组，随后再随机分为7、14、28 d亚组，每亚组12只。小鼠术前均适应性抗阻运动训练，维持3 d期限。所有小鼠均进行狭窄IVC构建DVT模型，建模后24 h内进行彩色多普勒超声检查确认血栓形成，去除未形成血栓的小鼠。模型组不作任何干预；抗阻运动组小鼠于术后1 d开始进行抗阻运动干预。抗阻运动方案如下<sup>[17]</sup>：爬梯高度1.0 m，坡度85°，阶梯间隔1.0 cm，每天安排2组运动训练，每组3次，每次持续2 min，每次间隔20 s，每周一至周六运动训练6 d。具体运动方案见表1。

表1 抗阻运动方案

Table 1 Resistance exercise scheme

周数	负重(%BW)	每天组次×组数	坡度(°)	运动天数
1	10	3×2	85	6
2	30	3×2	85	6
3	50	3×2	85	6
4	70	3×2	85	6

## 1.5 标本采集

取材前通过超声检查观察下腔静脉血栓及管腔情况。具体取材方法如下：分别于术后第7、14、28天过量麻醉法处死小鼠，采集血液，并离心获得血清。逐层切开腹部，收集含有血栓的下腔静脉，用滤纸除去过多的血液。暴露胸腔，收集右下肺组织。

## 1.6 检测指标

**1.6.1 组织学分析** 下腔静脉血栓和肺组织利用4%多聚甲醛固定过夜，经脱水、石蜡包埋，从结扎点下依次向远端间隔4 mm连续切取4张切片，HE染色后，光镜下观察血栓病理改变，采用Image Pro Plus图像分析软件测定静脉管腔面积和血栓面积，使用以下公式计算血栓再通率：血栓再通率=（静脉管腔面积-血栓面积）/静脉管腔面积×100%<sup>[18]</sup>。肺组织HE染色后，光镜下观察有无肺栓塞情况。免疫组化染色步骤：组织切片经抗原修复后，加入一抗、二抗，DAB显色、苏木素复染，光镜下观察相关蛋白表达情况，Image Pro Plus图像分析软件计算VEGF-A和VEGFR-2的平均光密度（average optical density, AOD），并计算血栓CD31-阳性血管数目<sup>[19]</sup>。

**1.6.2 ELISA检测血清VEGF浓度** 应用ELISA法检

测小鼠血清VEGF含量，严格按照试剂盒说明书进行操作，并在450 nm测定OD值，绘制标准曲线，计算VEGF浓度。

**1.6.3 qRT-PCR检测VEGF与VEGF-2 mRNA表达** TRIzol试剂提取含有血栓的下腔静脉标本的总RNA，检测总RNA浓度及纯度，逆转录试剂盒逆转录成cDNA，SYBR Green法进行PCR扩增，以 $\beta$ -actin作为内参， $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算VEGF及VEGFR-2 mRNA的相对表达量。VEGF上游引物：5'-GCA GAC TAT TCA GCG GAC TCA-3'，下游引物：5'-CCG TTG GCA CGA TTT AAG AGG-3'；VEGFR2上游引物：上游引物：5'-GTC CAC ATG GGC GAA TCA CT-3'，下游引物：5'-GTG CCA GCC TAC TAC AAC ACT-3'； $\beta$ -actin引物：上游引物：5'-CAT TGC TGA CAG GAT GCA GAA GG-3'，下游引物：5'-TGC TGG AAG GTG GAC AGT GAG G-3'。

## 1.7 统计学处理

运用SPSS 22.0软件进行数据处理。计量资料符合正态分布，用均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，两组间指标比较使用独立样本t检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 模型建立情况

术后所有小鼠均存活，共有63只小鼠形成血栓，其中模型组7、14、28 d分别有11、10、11只，抗阻运动组7、14、28 d分别有10、10、11只。并于建模后7、14、28 d行超声检查动态观察两组血栓和管腔变化情况：血栓大小随着时间变化逐渐变小，残余血栓出现高回声，回声不均匀。术后28 d抗阻运动组管腔直径、血栓大小明显小于模型组（图2）。

### 2.2 组织学染色分析

**2.2.1 HE染色结果** HE染色可见下腔静脉管腔充满血栓，术后7 d可见血栓开始收缩，血栓与血管壁之间出现裂隙，血栓外周出现炎症细胞、内皮细胞浸润，随着时间推移，血栓进一步脱水收缩，裂隙继续扩大，血栓体部见大量炎症细胞浸润和血管管腔样结构，血栓机化明显，血机化再通更加广泛。术后7 d，两组血栓再通率无明显差异（ $P > 0.05$ ），而术后14、28 d，抗阻运动组血栓再通率明显高于模型组（均 $P < 0.05$ ）（图3A-B）。肺部组织HE染色结果发现，两组不同时间点肺组织结

构均基本正常,未见肺动脉有血栓形成,肺泡间隔内大量炎症细胞浸润,肺间质水肿并可见大量

红细胞渗出,肺组织出血坏死等病理改变<sup>[20]</sup>(图3C)。

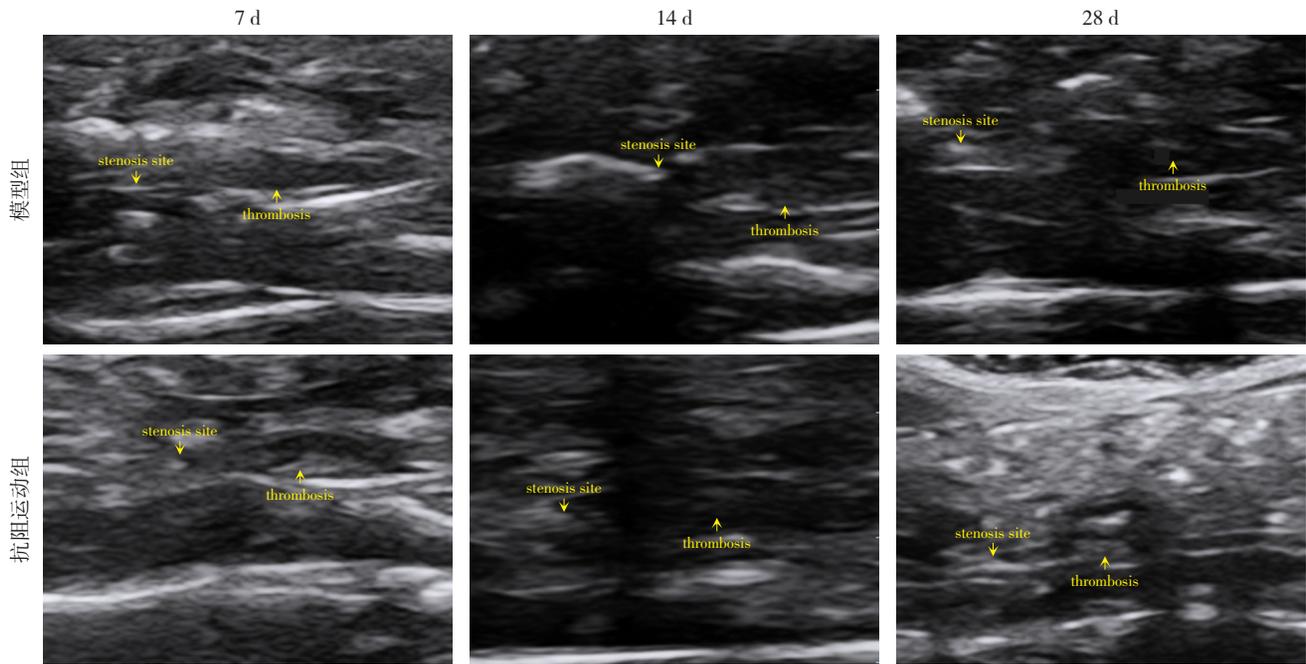


图2 造模后不同时间点超声检查情况

Figure 2 Ultrasound examination at different time points after modeling

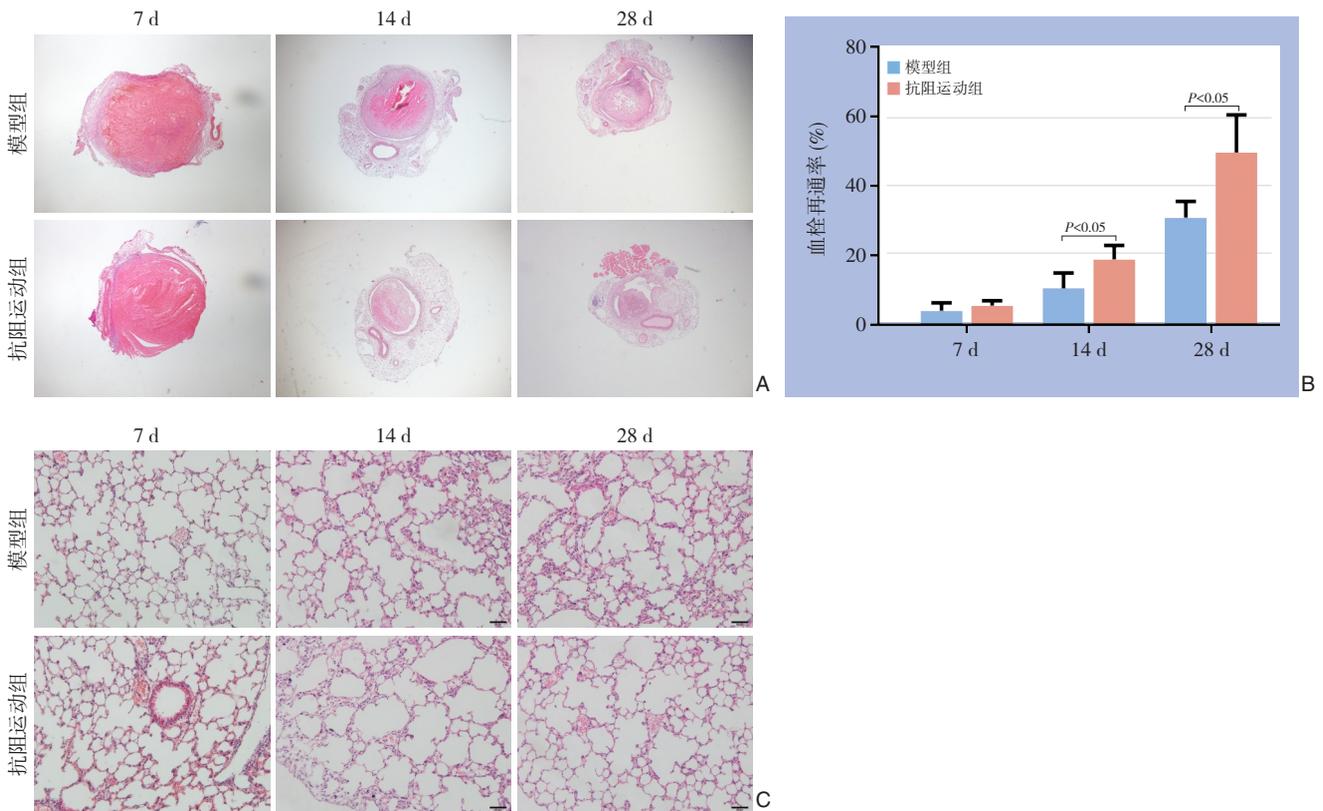
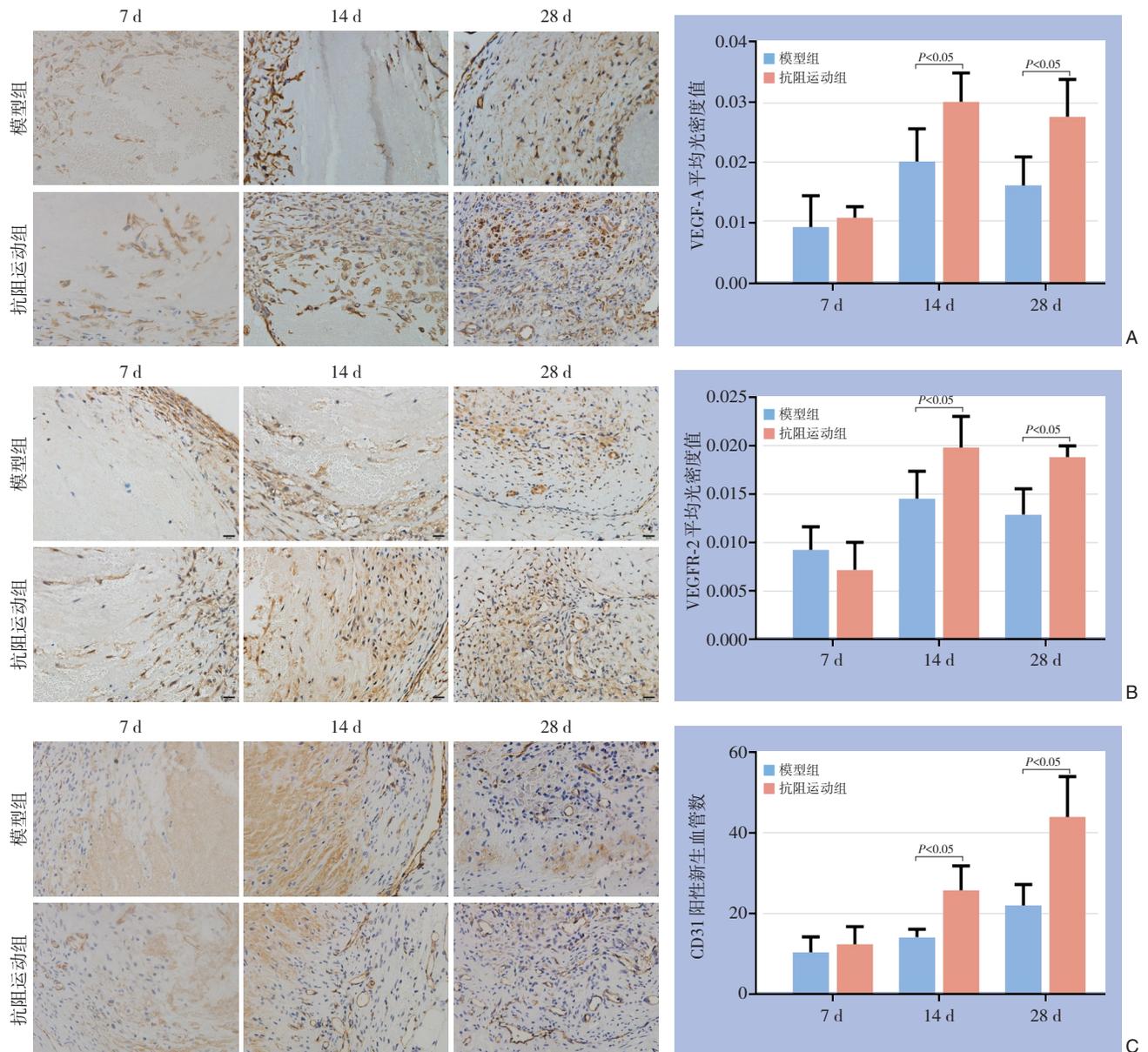


图3 组织学观察 A: 不同时间点小鼠血管内血栓HE染色(×40); B: 两组不同时间点小鼠血栓再通率比较; C: 不同时间点小鼠肺部组织HE染色(×400)

Figure 3 Histological observations A: HE staining of intravascular thrombus in mice at different time points (×40); B: Comparison of thrombus recanalization rates at different time points between the two groups; C: HE staining of lung tissue in mice at different time points (×400)

**2.2.2 免疫组化染色结果** VEGF-A免疫组化染色结果显示, VEGF-A阳性细胞质呈棕黄色, 阳性细胞类型多见于内皮细胞。术后7 d抗阻运动组小鼠血栓 VEGF-A蛋白表达高于模型组, 但差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 术后14、28 d, 抗阻运动组 VEGF-A蛋白表达明显高于模型组 (均  $P<0.05$ ) (图4A)。VEGFR-2免疫组化染色结果显示, 术后7 d抗阻运动组小鼠血栓 VEGFR-2蛋白表达高于模型组, 但

差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 术后14、28 d, 抗阻运动组 VEGFR-2表达明显高于模型组 (均  $P<0.05$ ) (图4B)。CD31免疫组化染色结果显示, CD31阳性细胞细胞质呈棕黄, 多见于内皮细胞。术后7 d, 两组小鼠血栓 CD31阳性血管数差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 术后14、28 d抗阻运动组小鼠血栓 CD31阳性血管数明显高于模型组 (均  $P<0.05$ ) (图4C)。



**图4 免疫组化检测鼠血栓 VEGF-A 和 VEGFR-2 表达水平以及血管生成 ( $\times 400$ )** A: 血栓组织中 VEGF-A 表达检测; B: 血栓组织中 VEGFR-2 表达检测; C: 血栓组织中 CD3 表达检测

**Figure 4 Immunohistochemical detection of VEGF-A and VEGFR-2 expression levels and angiogenesis in mouse thrombus ( $\times 400$ )** A: Detection of VEGF-A expression in thrombus tissue; B: Detection of VEGFR-2 expression in thrombus tissue; C: Detection of CD3 expression in thrombus tissue

### 2.3 各组血清 VEGF 浓度和血管组织 VEGF 和 VEGFR-2 mRNA 表达水

ELISA 检测结果显示, 术后 7 d, 抗阻运动组血清 VEGF 浓度高于模型组, 但差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 术后 14、28 d, 抗阻运动组的 VEGF 浓度明显高于模型组 (均  $P<0.05$ ) (图 5A)。qRT-PCR

检测结果显示, 术后 7 d, 抗阻运动组 VEGF mRNA 与 VEGFR-2 mRNA 相对表达量高于模型组, 但差异无统计学意义 (均  $P>0.05$ ); 术后 14、28 d, 抗阻运动组的 VEGF mRNA 与 VEGFR-2 mRNA 相对表达量均明显高于模型组 (均  $P<0.05$ ) (图 5B-C)

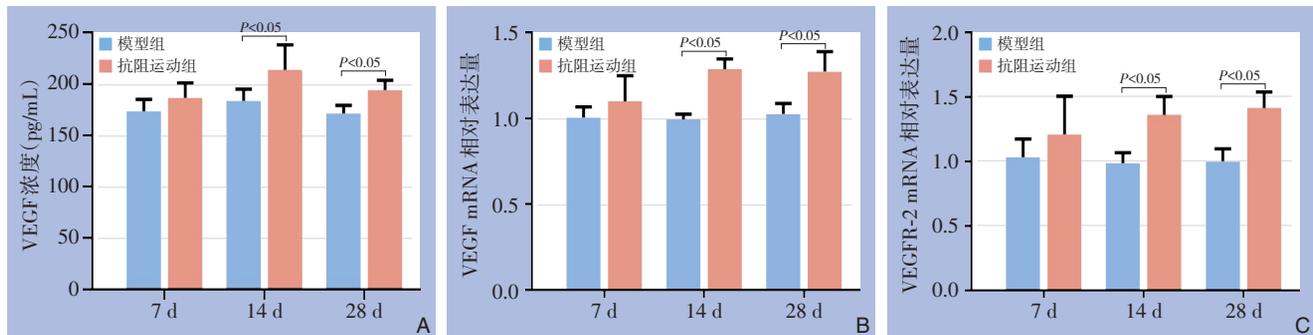


图5 小鼠血清 VEGF 浓度和血管组织 VEGF 和 VEGFR-2 mRNA 表达检测 A: 两组不同时间点小鼠血清 VEGF 浓度比较; B: 两组不同时间点血管组织 VEGF mRNA 表达水平比较; C: 两组不同时间点对小鼠血管组织 VEGFR-2 mRNA 表达水平比较

Figure 5 Measurement of mouse serum VEGF concentration and vascular tissue VEGF and VEGFR-2 mRNA expression

A: Comparison of serum VEGF concentrations at different time points between the two groups; B: Comparison of VEGF mRNA expression levels in vascular tissue at different time points between the two groups; C: Comparison of VEGFR-2 mRNA expression levels in vascular tissue at different time points between the two groups

## 3 讨论

DVT 是临床上常见、多发的静脉疾病, 给社会及经济造成了沉重负担<sup>[21]</sup>。目前 DVT 主要的非手术治疗方法包括抗凝及溶栓治疗<sup>[22]</sup>。但抗凝治疗只能阻止现有急性 DVT 的进一步发展, 并不能加速血栓溶解再通<sup>[23]</sup>。溶栓治疗可以减少血栓和恢复部分血流, 但它只能用于特定的患者, 并且增加出血的风险<sup>[24]</sup>。可见这些治疗均存在不同程度的局限性, 使得机体内静脉血栓仍需依赖自身缓慢溶解再通。而血栓溶解再通的延迟会引起静脉阻塞和深静脉瓣膜功能受损, 进而阻碍静脉血液回流, 最终导致患肢长期静脉高压, 从而出现 PTS 一系列的临床症状, 如皮肤肿胀疼痛、皮肤色素沉着、浅静脉曲张、静脉性溃疡等, 严重影响患者的生活质量<sup>[3,25]</sup>。

血栓形成后的演变类似于伤口创伤愈合, 在血栓机化初期, 血栓收缩导致血栓体和静脉壁内膜之间出现囊袋和裂隙, 同时自血栓外周向中心出现炎症细胞和新生血管浸润; 随着血栓成熟, 裂隙进一步扩大, 血栓体内也出现大量新生血管

和大量炎症细胞, 这些新生血管通道相互融合扩大, 逐渐使闭塞的静脉管腔恢复血流<sup>[4]</sup>。血栓的溶解再通涉及纤维蛋白溶解, 血管生成, 炎症反应等<sup>[26]</sup>, 其中新生血管形成是血栓形成后血栓溶解再通和恢复血流的关键因素。Sun 等<sup>[27]</sup>研究发现, 通过动员骨髓中的内皮祖细胞归巢至血栓局部, 改变血栓的微环境, 促进血栓内新生血管的形成, 结果发现血栓血管管腔结构明显增多, 血栓大小和重量也明显下降。而李炯等<sup>[28]</sup>也表明, 利用重组血小板衍生生长因子诱导新生血管的形成和成熟, 可以促进大鼠的 DVT 的溶解、机化和再通, 从而促进血运重建。相反, 通过使用阿西替尼 (2-甲氧基雌二醇或 VEGFR 酪氨酸激酶抑制剂) 阻断血管的生成可抑制血栓的溶解再通<sup>[29-30]</sup>。另外 Alias 等<sup>[5]</sup>研究发现 VEGFR-2 基因 (KDR) 敲除小鼠建立 DVT 模型, 结果显示 KDR 敲除小鼠 DVT 内的微血管数量显著减少, 其血栓的溶解再通速度也明显延缓。以上研究均表明新生血管形成对血栓溶解再通有着显著的影响。

运动是预防 DVT 形成的重要手段<sup>[6]</sup>, 但在 DVT 形成后是否可以运动尚存在争议。既往观点认为

运动会引起栓子松动、脱落，增加肺栓塞的发生<sup>[31]</sup>。但近年大量研究<sup>[32-36]</sup>表明早期运动并不会增加DVT患者肺栓塞的发生风险，最新的一项系统评价<sup>[37]</sup>也表明早期运动干预并不增加肺栓塞发生，反而可以阻止血栓进一步发展，降低血栓后综合征的发生率。因此也有相关指南<sup>[38]</sup>作出“DVT患者应在充分抗凝基础上尽早活动”的推荐。本研究中小鼠肺脏病理结果提示抗阻运动组小鼠肺栓塞发生相对于模型组未见增加，也同样支持运动并不增加肺栓塞这一观点。相反，抗阻运动组小鼠血栓再通率显著高于模型组，提示运动具有促进血栓再通的作用。

运动对缺血性疾病的治疗作用已得到广泛的认可，其作用包括调控炎症、促进新生血管生成、改善器官血运重建等<sup>[39-41]</sup>。研究<sup>[42-43]</sup>发现对心肌梗死的动物模型进行运动干预，心肌组织的新生血管标志物VEGF，VEGFR-2，CD31等的表达明显增加，可促进缺血边缘区的血管生成，改善心肌缺血。对大脑中动脉闭塞模型的研究<sup>[44]</sup>也发现，运动干预后脑组织VEGF的表达及血管生成数目均明显增加。Rokutanda等<sup>[7]</sup>研究也报道，运动刺激也可通过激活eNOS信号通路和上调缺血骨骼肌促血管生成生长因子，增加骨骼肌的毛细血管密度，恢复后肢缺血模型的血运重建和组织修复。抗阻运动是临床常用的运动方式之一。最近多项研究<sup>[45-47]</sup>表明，抗阻运动可增加局部新生血管生成，从而对心血管疾病起保护作用。CD31作为新生血管标志物<sup>[48]</sup>，本研究中，抗阻运动组血栓内的CD31阳性新生血管数目明显增加，表明运动也可促进DVT的新生血管形成，影响血栓再通。运动可能通过多种途径共同协调血管的生成，首先，运动可增加多种促血管生成因子的表达，包括转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ )、血小板衍生内皮细胞生长因子(PD-ECGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、VEGF等<sup>[49]</sup>，其中VEGF是最重要，功能最强的促血管生成因子，包括VEGF-A、B、C、D、E、F等亚型<sup>[50]</sup>。VEGF主要与其受体VEGFR-2结合后，介导一系列细胞内信号传导，引起内皮细胞的增殖、分化、迁移，促进血管生成<sup>[51-52]</sup>。其次，运动可通过增加血流切应力，引起血管内源性一氧化氮系统eNOS/NO信号通路的激活，促进血管生成<sup>[7]</sup>。另外，运动还可能通过促进内皮祖细胞(EPCs)动员、归巢，并分化为成熟的内皮细

胞，参与血管生成<sup>[53]</sup>。以上通路之间存在相互影响，相互调节，共同参与血管生成。本研究结果发现运动可增加DVT小鼠的VEGF和VEGFR-2表达，表明运动促进血管生成可能与调控VEGF/VEGFR-2通路相关。

本研究通过狭窄下腔静脉构建DVT模型，这更加符合Virchow提出血流瘀滞，血液高凝，内皮细胞损伤三大因素，并且具有维持内皮细胞和出凝血平衡不变的潜在优势。另外本研究采用超声和病理组织染色联合动态观察血栓发生发展，使结果更加可靠。但本研究也存在不足之处：首先，为了研究目的，本研究未使用抗凝治疗等常规临床治疗，与指南不一致。其次，本研究未对运动对DVT血管生成具体机制进行研究，运动应用于DVT的治疗还需进一步研究证实其疗效。

综上所述，抗阻运动可增加DVT的新生血管生成，从而促进DVT再通。运动治疗可能作为DVT的一个具有前景的治疗方法。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：吴彩娇、应燕萍参与实验设计；吴彩娇、徐佳澳、黎小艳实施研究；李小荣、韦佳妮提供实验技术指导；李小荣、吴彩娇参与数据分析；吴彩娇完成论文初稿撰写；应燕萍、赵慧函负责论文审阅与修订；应燕萍提供研究经费。所有作者都同意对论文各个方面负责。

## 参考文献

- [1] 罗丹, 张力, 秦晓慧, 等. 深静脉血栓形成动物模型的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(12):1515-1520. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2020.12.014.
- [2] Luo D, Zhang L, Qin XH, et al. Advances in animal models of deep vein thrombosis[J]. China Journal of General Surgery, 2020, 29(12): 1515-1520. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2020.12.014.
- [3] Farrell JJ, Sutter C, Tavri S, et al. Incidence and interventions for post-thrombotic syndrome[J]. Cardiovasc Diagn Ther, 2016, 6(6): 623-631. doi: 10.21037/cdt.2016.11.22.
- [4] Makedonov I, Kahn S, Galanaud JP. Prevention and management of the post-thrombotic syndrome[J]. J Clin Med, 2020, 9(4):923. doi: 10.3390/jcm9040923.
- [5] Modarai B, Burnand KG, Humphries J, et al. The role of neovascularisation in the resolution of venous thrombus[J]. Thromb Haemost, 2005, 93(5):801-809. doi: 10.1160/TH04-09-0596.

- [5] Alias S, Redwan B, Panzenboeck A, et al. Defective angiogenesis delays thrombus resolution: a potential pathogenetic mechanism underlying chronic thromboembolic pulmonary hypertension[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(4):810-819. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302991.
- [6] Hansen D, Dendale P, Coninx K, et al. The European Association of Preventive Cardiology Exercise Prescription in Everyday Practice and Rehabilitative Training (EXPERT) tool: a digital training and decision support system for optimized exercise prescription in cardiovascular disease. Concept, definitions and construction methodology[J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2017, 24(10):1017-1031. doi: 10.1177/2047487317702042.
- [7] Rokutanda T, Izumiya Y, Miura M, et al. Passive exercise using whole-body periodic acceleration enhances blood supply to ischemic hindlimb[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(12):2872-2880. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.229773.
- [8] Gorski T, De Bock K. Metabolic regulation of exercise-induced angiogenesis[J]. *Vasc Biol*, 2019, 1(1):H1-8. doi: 10.1530/vb-19-0008.
- [9] Dopheide JF, Geissler P, Rubrech J, et al. Influence of exercise training on proangiogenic TIE-2 monocytes and circulating angiogenic cells in patients with peripheral arterial disease[J]. *Clin Res Cardiol*, 2016, 105(8):666-676. doi: 10.1007/s00392-016-0966-0.
- [10] Shen M, Yu M, Qiu CX, et al. Myocardial angiogenesis induced by exercise training involves a regulatory mechanism mediated by kinin receptors[J]. *Clin Exp Hypertens*, 2021, 43(5):408-415. doi: 10.1080/10641963.2021.1896725.
- [11] Hu XQ, Zheng HQ, Yan TB, et al. Physical exercise induces expression of CD31 and facilitates neural function recovery in rats with focal cerebral infarction[J]. *Neurol Res*, 2010, 32(4):397-402. doi: 10.1179/016164110X12670144526309.
- [12] Zhang PY, Yu HX, Zhou NY, et al. Early exercise improves cerebral blood flow through increased angiogenesis in experimental stroke rat model[J]. *J Neuroeng Rehabil*, 2013, 10:43. doi: 10.1186/1743-0003-10-43.
- [13] Wen C, Ying YP, Yu F, et al. Research progress of oxidative stress and microRNAs in the prevention of catheter-related Thrombus under resistance exercise[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2020, 26:1076029620931931. doi: 10.1177/1076029620931931.
- [14] 李金勇, 刘建龙, 刘笑, 等. Aspirex 机械清栓治疗创伤后急性下肢深静脉血栓形成的临床疗效[J]. *中国普通外科杂志*, 2022, 31(6):735-743. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.06.005.
- Li JY, Liu JL, Liu X, et al. Clinical efficacy of the Aspirex mechanical thrombectomy in treatment of iliofemoral deep vein thrombosis after trauma[J]. *China Journal of General Surgery*, 2022, 31(6):735-743. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.06.005.
- [15] 赵冲宇, 王兵, 娄振凯, 等. 深静脉血栓形成模型小鼠沉默信息调节因子1和氧化应激损伤标志物的表达[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(28):4518-4524. doi: 10.3969/j.issn.2095-4344.0301.
- Zhao CY, Wang B, Lou ZK, et al. Expression levels of SIRT1 and oxidative stress injury markers in a mouse model of deep venous thrombosis[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2018, 22(28):4518-4524. doi: 10.3969/j.issn.2095-4344.0301.
- [16] Rys RN, Blostein MD, Lemarié CA. Deep vein thrombosis induced by stasis in mice monitored by high frequency ultrasonography[J]. *J Vis Exp*, 2018, (134):57392. doi: 10.3791/57392.
- [17] Wen C, Ying YP, Zhao HH, et al. Resistance exercise affects catheter-related thrombosis in rats through miR-92a-3p, oxidative stress and the MAPK/NF- $\kappa$ B pathway[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2021, 21(1):440. doi: 10.1186/s12872-021-02233-w.
- [18] Modarai B, Humphries J, Burnand KG, et al. Adenovirus-mediated VEGF gene therapy enhances venous thrombus recanalization and resolution[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(10):1753-1759. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.170571.
- [19] Zheng XW, Shan CS, Xu QQ, et al. Buyang Huanwu Decoction targets SIRT1/VEGF pathway to promote angiogenesis after cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Front Neurosci*, 2018, 12:911. doi: 10.3389/fnins.2018.00911.
- [20] Gültekin A, Çayır MÇ, Uğur A, et al. Detection of pulmonary embolism with Gallium-68 macroaggregated albumin perfusion PET/CT: an experimental study in rabbits[J]. *Contrast Media Mol Imaging*, 2020, 2020:5607951. doi: 10.1155/2020/5607951.
- [21] 蒋鹏, 刘建龙, 贾伟, 等. 《欧洲血管外科学会(ESVS)2021年静脉血栓管理临床实践指南》临床热点解读[J]. *中国普通外科杂志*, 2022, 31(6):717-727. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.06.003.
- Jiang P, Liu JL, Jia W, et al. Interpretation of European Society for Vascular Surgery(ESVS) 2021 Clinical Practice Guidelines on the Management of Venous Thrombosis focusing on hot clinical issues[J]. *China Journal of General Surgery*, 2022, 31(6):717-727. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.06.003.
- [22] Lyman GH, Carrier M, Ay C, et al. American Society of Hematology 2021 guidelines for management of venous thromboembolism: prevention and treatment in patients with cancer. *Blood Adv*. 2021;5(4):927-974[J]. *Blood Adv*, 2021, 5(7):1953. doi: 10.1182/bloodadvances.2021004734.
- [23] Midulla M, Chevallier O, Comby PO, et al. Endovascular management of the deep venous thrombosis: a new challenging role for the endovascular specialist in 2020[J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2021, 98(4):748-755. doi: 10.1002/ccd.29375.
- [24] Robertson L, McBride O, Burdess A. Pharmacomechanical thrombectomy for iliofemoral deep vein thrombosis[J]. *Cochrane*

- Database Syst Rev, 2016, 11(11): CD011536. doi: [10.1002/14651858.CD011536](https://doi.org/10.1002/14651858.CD011536).
- [25] 孙立伶. 深静脉血栓后综合征研究进展[J]. 中华普通外科学文献: 电子版, 2019, 13(1): 76-80. doi: [10.3877/cma.j.issn.1674-0793.2019.01.017](https://doi.org/10.3877/cma.j.issn.1674-0793.2019.01.017).
- Sun LL. Treatment and progress of post thrombotic syndrome[J]. Chinese Archives of General Surgery: Electronic Edition, 2019, 13(1):76-80. doi: [10.3877/cma.j.issn.1674-0793.2019.01.017](https://doi.org/10.3877/cma.j.issn.1674-0793.2019.01.017).
- [26] Poredoš P, Poredoš P, Jezovnik MK. Factors influencing recanalization of thrombotic venous occlusions[J]. Vasa, 2020, 49(1):17-22. doi: [10.1024/0301-1526/a000800](https://doi.org/10.1024/0301-1526/a000800).
- [27] Sun LL, Xiao L, Du XL, et al. miR-205 promotes endothelial progenitor cell angiogenesis and deep vein thrombosis recanalization and resolution by targeting PTEN to regulate Akt/autophagy pathway and MMP2 expression[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(12):8493-8504. doi: [10.1111/jcmm.14739](https://doi.org/10.1111/jcmm.14739).
- [28] 李炯, 杨檬, 罗文军, 等. 重组血小板衍生生长因子CC促静脉血栓溶解、机化、再通的实验研究[J]. 重庆医学, 2013, 42(24):2877-2880. doi: [10.3969/j.issn.1671-8348.2013.24.022](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-8348.2013.24.022).
- Li J, Yang M, Luo WJ, et al. Effects of recombinant platelet-derived growth factor CC on resolution, organization and recanalization of venous thrombus[J]. Chongqing Medicine, 2013, 42(24):2877-2880. doi: [10.3969/j.issn.1671-8348.2013.24.022](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-8348.2013.24.022).
- [29] Evans CE, Grover SP, Humphries J, et al. Antiangiogenic therapy inhibits venous thrombus resolution[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(3):565-570. doi: [10.1161/ATVBAHA.113.302998](https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.113.302998).
- [30] Evans CE, Grover SP, Saha P, et al. Suppression of angiogenic response in local vein wall is associated with reduced thrombus resolution[J]. Thromb Res, 2014, 134(3):682-685. doi: [10.1016/j.thromres.2014.06.028](https://doi.org/10.1016/j.thromres.2014.06.028).
- [31] Schellong SM, Schwarz T, Kropp J, et al. Bed rest in deep vein thrombosis and the incidence of scintigraphic pulmonary embolism[J]. Thromb Haemost, 1999, 82(Suppl 1):127-129.
- [32] Jünger M, Diehm C, Störko H, et al. Mobilization versus immobilization in the treatment of acute proximal deep venous thrombosis: a prospective, randomized, open, multicentre trial[J]. Curr Med Res Opin, 2006, 22(3): 593-602. doi: [10.1185/030079906X89838](https://doi.org/10.1185/030079906X89838).
- [33] Partsch H, et al. Compression and walking versus bed rest in the treatment of proximal deep venous thrombosis with low molecular weight heparin[J]. J Vasc Surg, 2000, 32(5):861-869. doi: [10.1067/mva.2000.110352](https://doi.org/10.1067/mva.2000.110352).
- [34] Isma N, Johansson E, Björk A, et al. Does supervised exercise after deep venous thrombosis improve recanalization of occluded vein segments? A randomized study[J]. J Thromb Thrombolysis, 2007, 23(1):25-30. doi: [10.1007/s11239-006-9010-y](https://doi.org/10.1007/s11239-006-9010-y).
- [35] Blumenstein MS. Early ambulation after acute deep vein thrombosis: is it safe?[J] J Pediatr Oncol Nurs, 2007, 24(6):309-313. doi: [10.1177/1043454207308896](https://doi.org/10.1177/1043454207308896).
- [36] 齐浩山, 张福先, 刘勇, 等. 兔下肢深静脉血栓形成后不同时期活动影响肺栓塞形成的实验研究[J]. 中华外科杂志, 2014, 52(7): 529-532. doi: [10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2014.07.011](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2014.07.011).
- Qi HS, Zhang FX, Liu Y, et al. Exercise versus immobilization in the treatment of acute deep vein thrombosis during different clot-organized stage: an animal experiment[J]. Chinese Journal of Surgery, 2014, 52(7): 529-532. doi: [10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2014.07.011](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2014.07.011).
- [37] Xu L, Fu CY, Zhang Q, et al. The effectiveness of exercise training in treating venous thromboembolism: a systematic review[J]. Phys Sportsmed, 2021, 49(1): 1-11. doi: [10.1080/00913847.2020.1786746](https://doi.org/10.1080/00913847.2020.1786746).
- [38] Kearon C, Akl EA, Comerota AJ, et al. Antithrombotic therapy for VTE disease: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines[J]. Chest, 2012, 141(2 Suppl): e419S-e496S. doi: [10.1378/chest.11-2301](https://doi.org/10.1378/chest.11-2301).
- [39] Puhl SL, Müller A, Wagner M, et al. Exercise attenuates inflammation and limits scar thinning after myocardial infarction in mice[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2015, 309(2):H345-359. doi: [10.1152/ajpheart.00683.2014](https://doi.org/10.1152/ajpheart.00683.2014).
- [40] Pellegrin M, Bouzourène K, Mazzolai L. Exercise prior to lower extremity peripheral artery disease improves endurance capacity and hindlimb blood flow by inhibiting muscle inflammation[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 706491. doi: [10.3389/fcvm.2021.706491](https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.706491).
- [41] Liao ZF, Li D, Chen YL, et al. Early moderate exercise benefits myocardial infarction healing via improvement of inflammation and ventricular remodelling in rats[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(12):8328-8342. doi: [10.1111/jcmm.14710](https://doi.org/10.1111/jcmm.14710).
- [42] Wu GF, Rana JS, Wykrzykowska J, et al. Exercise-induced expression of VEGF and salvation of myocardium in the early stage of myocardial infarction[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009, 296(2):H389-395. doi: [10.1152/ajpheart.01393.2007](https://doi.org/10.1152/ajpheart.01393.2007).
- [43] 吕志伟, 田振军. 8周间歇运动和G-CSF动员对心肌梗死心肌组织VEGF/VEGFR-2的影响[J]. 北京体育大学学报, 2015, 38(9): 58-63. doi: [10.19582/j.cnki.11-3785/g8.2015.09.009](https://doi.org/10.19582/j.cnki.11-3785/g8.2015.09.009).
- Lu ZW, Tian ZJ. Effects of eight weeks interval exercise and G-CSF mobilization on VEGF/VEGFR-2 of myocardial tissue in rats with myocardial infarction[J]. Journal of Beijing Sport University, 2015, 38(9):58-63. doi: [10.19582/j.cnki.11-3785/g8.2015.09.009](https://doi.org/10.19582/j.cnki.11-3785/g8.2015.09.009).
- [44] Chen ZZ, Hu Q, Xie QF, et al. Effects of treadmill exercise on motor and cognitive function recovery of MCAO mice through the

- caveolin-1/VEGF signaling pathway in ischemic penumbra[J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(4):930-946. doi: 10.1007/s11064-019-02728-1.
- [45] 韦佳妮, 赵慧函, 蒋庆娟, 等. 抗阻运动促进大鼠导管相关性血栓溶解再通的研究[J]. *中国运动医学杂志*, 2022, 41(5):375-382. doi: 10.16038/j.1000-6710.2022.05.006.
- Wei JN, Zhao HH, Jiang QJ, et al. Study on resistance exercise promoting catheter-related thrombolysis and recanalization in rats[J]. *Chinese Journal of Sports Medicine*, 2022, 41(5):375-382. doi: 10.16038/j.1000-6710.2022.05.006.
- [46] Yeo HS, Lim JY. Effects of different types of exercise training on angiogenic responses in the left ventricular muscle of aged rats[J]. *Exp Gerontol*, 2022, 158:111650. doi: 10.1016/j.exger.2021.111650.
- [47] Xi Y, Hao ML, Liang QQ, et al. Dynamic resistance exercise increases skeletal muscle-derived FSTL1 inducing cardiac angiogenesis via DIP2A-Smad2/3 in rats following myocardial infarction[J]. *J Sport Health Sci*, 2021, 10(5): 594-603. doi: 10.1016/j.jshs.2020.11.010.
- [48] Caligiuri G. Mechanotransduction, immunoregulation, and metabolic functions of CD31 in cardiovascular pathophysiology[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(9):1425-1434. doi: 10.1093/cvr/cvz132.
- [49] Bloor CM. Angiogenesis during exercise and training[J]. *Angiogenesis*, 2005, 8(3): 263-271. doi: 10.1007/s10456-005-9013-x.
- [50] 蔡源源, 李光早. 血管内皮生长因子的调控及其作用研究进展[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2011, 7(1):51-54. doi: 10.3969/j.issn.1673-0364.2011.01.015.
- Cai YY, Li GZ. Advances in the regulation and role of VEGF[J]. *Journal of Tissue Engineering and Reconstructive Surgery*, 2011, 7(1): 51-54. doi: 10.3969/j.issn.1673-0364.2011.01.015.
- [51] Peach CJ, Mignone VW, Arruda MA, et al. Molecular pharmacology of VEGF-A isoforms: binding and signalling at VEGFR2[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): 1264. doi: 10.3390/ijms19041264.
- [52] Melincovici CS, Boşca AB, Şuşman S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis[J]. *Revue Roumaine De Morphol Embryol*, 2018, 59(2):455-467.
- [53] 肖乾凤, 郭媛, 谭茗月, 等. 运动锻炼促进冠心病血管生成的机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(9):959-964.
- Xiao QF, Guo Y, Tan MY, et al. Mechanism of exercise training promoting angiogenesis in coronary heart disease[J]. *Chinese Journal of Arteriosclerosis*, 2015, 23(9):959-964.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 吴彩娇, 李小荣, 徐佳澳, 等. 抗阻运动对小鼠深静脉血栓血管生成的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2023, 32(6):867-877. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.06.008

Cite this article as: Wu CJ, Li XR, Xu JA, et al. Effect of resistance exercise on deep vein thrombotic angiogenesis in mice[J]. *Chin J Gen Surg*, 2023, 32(6): 867-877. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.06.008

## 关于一稿两投和一稿两用问题处理的声明

本刊编辑部发现仍有个别作者一稿两投和一稿两用, 为了维护本刊的声誉和广大读者的利益, 本刊就一稿两投和一稿两用问题的处理声明如下。

1. 一稿两投和一稿两用的认定: 凡属原始研究的报告, 同语种一式两份投寄不同的杂志, 或主要数据和图表相同、只是文字表述可能存在某些不同之处的两篇文稿, 分别投寄不同的杂志, 属一稿两投; 一经为两杂志刊用, 则为一稿两用。会议纪要、疾病的诊断标准和防治指南、有关组织达成的共识性文件、新闻报道类文稿分别投寄不同的杂志, 以及在一种杂志发表过摘要而将全文投向另一杂志, 不属一稿两投。但作者若要重复投稿, 应向有关杂志编辑部作出说明。

2. 作者在接到收稿回执后满3个月未接到退稿通知, 表明稿件仍在处理中, 若欲投他刊, 应先与本刊编辑部联系。

3. 编辑部认为文稿有一稿两投或两用嫌疑时, 应认真收集有关资料并仔细核对后再通知作者, 在作出处理决定前请作者就此问题作出解释。编辑部与作者双方意见发生分歧时, 由上级主管部门或有关权威机构进行最后仲裁。

4. 一稿两投一经证实, 则立即退稿, 对该作者作为第一作者所撰写的论文, 2年内将拒绝在本刊发表; 一稿两用一经证实, 将择期在杂志中刊出作者姓名、单位以及该论文系重复发表的通告, 对该作者作为第一作者所撰写的论文, 2年内拒绝在本刊杂志发表。本刊将就此事向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。

中国普通外科杂志编辑部