

关于不同截肢水平对心血管系统影响的动物实验研究



闵磊^{1,2}, 蒋文涛^{1,2}, 李忠友^{1,2}, 李潇^{1,2}, 刁珺杰^{1,2}, 刘任静^{1,2}, 邰天翔^{1,2}, 白逃萍^{1,2}

1. 四川大学 建筑与环境学院 力学科学与工程系 (成都 610065)

2. 四川大学生物力学工程四川省重点实验室 (成都 610065)

【摘要】 下肢截肢中血管的损伤会导致血流的重新分布和血管末端阻力的变化,对心血管系统造成影响,但不同截肢水平造成的影响有何差异,缺乏动物实验的说明。故本文建立膝上截肢(AKA)和膝下截肢(BKA)两种动物模型,通过血液生化检测及组织病理检测,探究不同截肢水平对心血管系统的影响规律。结果表明,截肢会使动物的心血管系统出现内皮损伤、炎症、血管硬化等病理改变,且膝上截肢对心血管系统造成的损伤程度高于膝下截肢。本研究将有助于深入探究截肢影响心血管系统的内在机制,并根据患者截肢水平的不同,在术后进行更全面和更有针对性的监测,并进行必要的干预以预防心血管疾病的发生。

【关键词】 截肢水平; 心血管系统; 动物模型; 生化指标; 病理检测

Animal experimental study on the effects of different levels of amputation on cardiovascular system

MIN Lei^{1,2}, JIANG Wentao^{1,2}, LI Zhongyou^{1,2}, LI Xiao^{1,2}, DIAO Junjie^{1,2}, LIU Renjing^{1,2}, TAI Tianxiang^{1,2}, BAI Taoping^{1,2}

1. Department of Mechanics & Engineering, College of Architecture and Environment, Sichuan University, Chengdu 610065, P.R.China

2. Sichuan Key Laboratory of Biomechanical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, P.R.China

Corresponding author: JIANG Wentao, Email: scubme_jwt@outlook.com

【Abstract】 Vascular injury resulting from lower limb amputation leads to the redistribution of blood flow and changes in vascular terminal resistance, which can affect the cardiovascular system. However, there was no clear understanding of how different amputation levels affect the cardiovascular system in animal experiments. Therefore, this study established two animal models of above-knee amputation (AKA) and below-knee amputation (BKA) to explore the effects of different amputation levels on the cardiovascular system through blood and histopathological examinations. The results showed that amputation caused pathological changes in the cardiovascular system of animals, including endothelial injury, inflammation, and angiosclerosis. The degree of cardiovascular injury was higher in the AKA group than in the BKA group. This study sheds light on the internal mechanisms of amputation's impact on the cardiovascular system. Based on the amputation level of patients, the findings recommend more comprehensive and targeted monitoring after surgery and necessary interventions to prevent cardiovascular diseases.

【Key words】 Amputation levels; Cardiovascular system; Animal model; Biochemical index; Pathological examination

0 引言

截肢是指经关节或骨头将已丧失生理功能或危害患者生命的肢体予以切除的破坏性外科手术。截肢导致的人体血管和肌肉组织丢失,会引起

血流的重新分布和血管末端阻力的变化^[1],进而影响人体的血流动力学分布。而血流动力学的改变,如血流速度、血压、血管壁面剪切应力等,与心血管疾病密切相关^[2-4]。大量研究及调查已经证明下肢截肢患者患心血管疾病的风险远高于正常人^[5-8]。

DOI: 10.7507/1001-5515.202211004

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(11972239, 12102281); 中国博士后面项目(2021M702368)

通信作者: 蒋文涛, Email: scubme_jwt@outlook.com

此外,调查结果还发现,膝上截肢(above-knee amputation, AKA)患者心血管疾病发病率(76.6%)和死亡率(16.5%)高于膝下截肢(below-knee amputation, BKA)患者(63.1%、5.7%)^[9-10],双侧BKA患者的心血管疾病发病率(17.5%)高于单侧BKA患者(11.8%)^[11]。由此可见,心血管疾病的发病率会因患者下肢截肢而大大提高,且与截肢平面存在正相关性。越来越多的研究显示,下肢截肢导致的血流动力学变化是影响心血管疾病发病率的重要原因^[12-14],且不同截肢水平导致的心血管疾病风险有一定差异^[15]。因此,不同水平的下肢截肢术后,是否以及如何对心血管系统造成不同程度的影响,是一个值得深入研究的问题。

除临床调研外,有学者采用数值方法研究了截肢水平对心血管系统的影响规律,发现随截肢水平的提高,下肢截肢者患动脉粥样硬化与腹主动脉瘤破裂的风险将增大^[16],且截肢后动脉瘤峰值壁面剪切应力增加48%,大大增加了动脉瘤破裂的风险^[17];下肢截肢后残端内血流动力学的变化与肌肉萎缩及康复^[18]和动脉粥样硬化斑块的形成^[19]具有密切关系。虽然数值仿真结果从理论上证实了下肢截肢对血流动力学的影响,但血流动力学的改变将使心血管系统发生哪些变化,目前尚未见相关临床和实验研究。

因此,本文基于课题组关于截肢对心血管系统影响的动物模型^[20],采用动物实验研究方法研究了AKA和BKA两种不同截肢水平对动物心血管系统的影响,从动物实验的角度完善了关于截肢对心血管系统影响的研究。

1 材料与方法

选用无特定病原体(specific pathogen free, SPF)新西兰兔([SCXK(川)2019-031],成都达硕实验动物有限公司)共18只,不论雌雄,体重(2.2±0.31)kg,分为正常对照组(A组, $n=6$)、膝上截肢组(B组, $n=6$)、膝下截肢组(C组, $n=6$)。A、B、C组均在动物笼中单笼饲养,均可在笼中自由活动、进食和饮水,室温控制在25℃,12h光照与黑暗循环交替。经过7天的适应喂养期后,B、C组行截肢术。麻醉(耳缘静脉注射3%戊巴比妥钠)后剪毛并依次切开皮肤,分离肌层、浅深筋膜,游离血管、神经并于近心端结扎。AKA组和BKA组分别将兔膝关节以上股骨远端、膝关节以下胫腓骨近端用手术钳夹断,并依次切断肌肉、血管及神经,保留足够的肌肉长度(截断位置向前5cm处),

将肌肉缝合包住断骨。术后将实验兔放于加热板上,待状态稳定后,送回动物笼中,术后饲养三个月共92天。在饲养期中,实验兔可在动物笼中自由活动,并且定期将三组实验兔放出动物笼自由活动。术后观察到,B、C组运动活力较好,保留了绝大部分运动能力,鉴于喂养兔料是未添加胆固醇等的低脂兔料,且有A组作为对照组,故因运动对实验兔脂质水平造成的影响可以忽略不计。

1.1 生化指标检测

人类心血管疾病的初筛一般采用抽血化验,主要预警指标包括总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)^[21],其中TC、LDL-C含量的升高及HDL-C含量的降低被普遍认为是心血管疾病的主要危险因素^[22]。基于兔子与人心血管系统的相似性^[23],这些检测指标同样可以作为实验兔心血管系统发生变化的参照^[24-25]。本研究采用兽用生化分析仪BS-240VET(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)检测上述指标。

另外,本文引入心房钠肽(atrial natriuretic peptide, ANP)和脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)及血管平滑肌肌动蛋白 α (vascular smooth muscle α -actin, α -SMA)作为观测指标,通过酶联免疫吸附测定法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)进行定量检测(ELISA试剂盒购自上海茁彩生物科技有限公司)。ANP主要由心房细胞分泌,由于心房扩张是ANP释放的主要诱因,因此ANP含量与左心房压、肺动脉收缩压有着密切关系,ANP含量的变化表现出心血管系统对人体血压的调控^[26-27]。BNP主要由心室细胞合成及分泌,具有舒张血管平滑肌、扩张血管、抑制心肌纤维化等功能,当心脏压力及负荷增加时,其含量会急剧升高,是反映心室功能较为敏感的指标,在评估心力衰竭程度、指导治疗及评估预后上均具有一定价值^[28]。许多研究表明,BNP在血浆中的含量可以作为慢性心力衰竭的诊断证据^[29-30]。截肢术后,受到损伤的血管在再生修复过程中会分泌大量的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、纤维母细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)^[31-32]。而Messina等^[33]的研究表明,FGF诱导的血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)增殖与迁移,对血管狭窄的发生发展有促进作用,其增殖过程可以通过血液中 α -

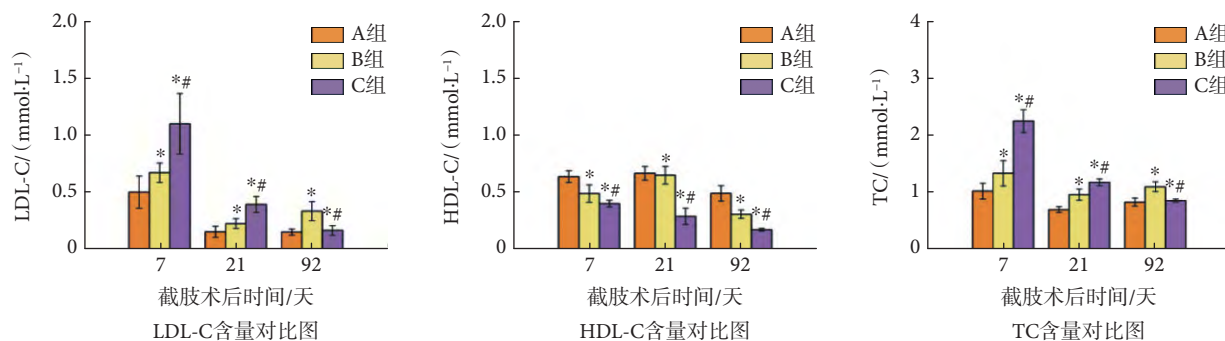


图1 三组 LDL-C、HDL-C、TC 含量比较 **P* < 0.05, 表示 B、C 组分别与 A 组对比; #*P* < 0.05, 表示 B、C 组组间对比

Fig.1 Comparison of LDL-C, HDL-C and TC content among the three groups **P* < 0.05, group B and group C are compared with group A respectively; #*P* < 0.05, comparisons were made between groups B and C

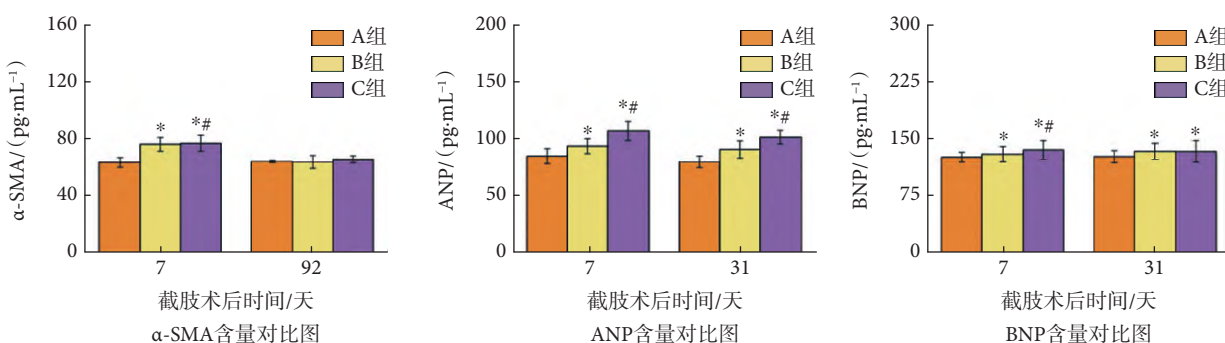


图2 三组 α-SMA、ANP、BNP 含量比较 **P* < 0.05, 表示 B、C 组分别与 A 组对比; #*P* < 0.05, 表示 B、C 组组间对比

Fig.2 Comparison of α-SMA, ANP and BNP content among the three groups **P* < 0.05, group B and group C are compared with group A respectively; #*P* < 0.05, comparisons were made between groups B and C

SMA 的含量来体现^[34]。

各血液指标中,同属于血脂类的 LDL-C、HDL-C、TC 含量在术后 7 天、21 天、92 天测量;同属于激素类的 ANP、BNP 含量在术后 7 天、31 天测量;属于蛋白类的 α-SMA 含量于术后 7 天、92 天测量。

1.2 动脉病理检测

饲养期结束后,开展动物组织病理检测工作。首先取实验动物的心、肝、脾、肺、肾做基础疾病分析,排除实验动物本身疾病的干扰,然后取主动脉弓、胸主动脉、腹主动脉和股动脉按病理检验 SOP 程序作病理切片检查^[35]。使用数字切片扫描仪(Pannoramic 250, 3DHISTECH, 匈牙利)对切片进行观察和图像采集。采用苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色法观察各动脉组织细胞形态变化,染色后,每张切片先于 40 倍下观察全部组织,察看大体病变情况,再选择要观察的区域采集 100 倍和 400 倍镜下图片,观察具体病变。采用范基林(van Gieson, VG)染色法观察动脉弹力纤维成分的变化,染色后,肌纤维呈黄色,胶原纤维呈红色,弹力纤维呈黑色。VG 染色后,每张切片先于 40 倍下观察全部组织,再根据组织大小及表达情

况分别选取 3 个区域于 400 倍镜下采集图像。

1.3 统计分析

所有数据均用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。所有数据表示为平均值±标准差。采用单因素方差分析比较 A、B、C 三组血液中的 LDL-C、HDL-C 及 TC 含量,组间两两比较采用 Bonferroni 事后检验。所有的统计分析中,检验水准均为 0.05。

2 结果

生化仪检测结果如图 1 所示。A、B、C 三组血液中的 LDL-C 含量和 TC 含量的组间差异有统计学意义(*P* < 0.05),均表现为:A 组小于 B、C 组;B、C 两组组间随时间的推迟表现出不同的趋势。A、B、C 三组血液中的 HDL-C 含量的组间差异有统计学意义(*P* < 0.05),含量表现为 A 组 > B 组 > C 组。

术后血液中 α-SMA、ANP、BNP 含量的检测结果如图 2 所示。术后 7 天 A、B、C 三组 α-SMA 含量的组间差异有统计学意义(*P* < 0.05),术后 92 天各组 α-SMA 含量差异无统计学意义。术后一月内各组 ANP 含量的组间差异有统计学意义(*P* < 0.05),表现为:A 组 < B 组 < C 组。术后 7 天各组

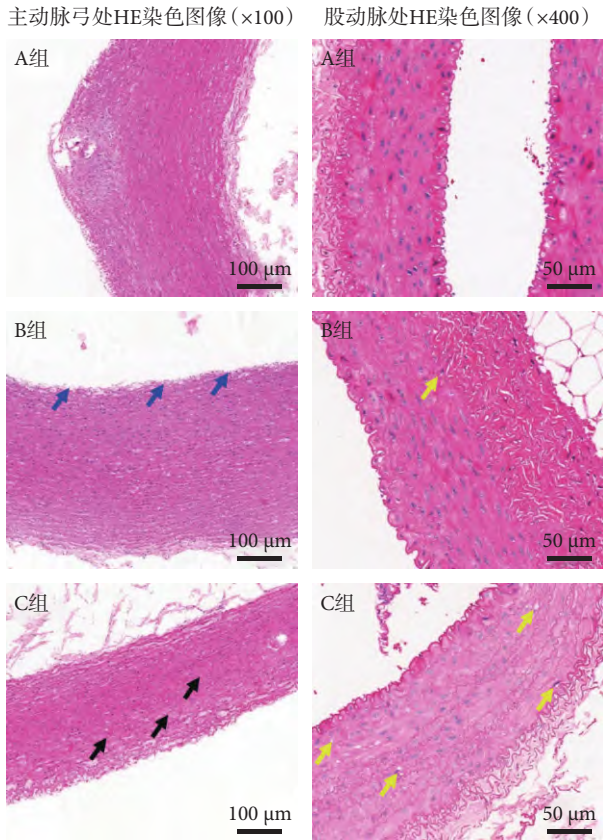


图3 术后92天A、B、C组主动脉弓及股动脉HE染色图像
黑色箭头表示弹性纤维断裂,蓝色箭头表示内皮细胞坏死,黄色箭头表示平滑肌细胞变性坏死

Fig.3 Hematoxylin-eosin stained images of aortic arch and femoral artery 92 days after amputation black arrows indicate breakage of elastic fibers, blue arrows indicate necrosis of endothelial cells, and yellow arrows indicate degeneration and necrosis of smooth muscle cells

BNP含量的组间差异有统计学意义($P < 0.05$),含量表现为:A组 < B组 < C组;术后31天,A组与B组、C组的BNP含量的组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

HE染色发现内脏无明显病理改变;胸主动脉处和腹主动处各组变化无明显差异。病变发生在主动脉弓以及股动脉处(如图3所示):主动脉弓处B组出现中度内皮细胞坏死,C组出现轻度弹性纤维断裂;股动脉处B组出现轻度平滑肌细胞变性坏死,C组出现中度平滑肌细胞变性坏死。

腹主动脉和股动脉处的VG染色结果如图4所示。为衡量动脉弹性变化,采用Image-Pro Plus 6.0图像分析系统测定所采集全部图像的光密度和面积,计算弹性纤维组织表达面积百分比(elastic fiber area expression percentage, EFEP)以分析动脉弹性。计算结果显示,腹主动脉处A、B、C各组EFEP分别为11.32%、7.62%、9.56%,股动脉处A、

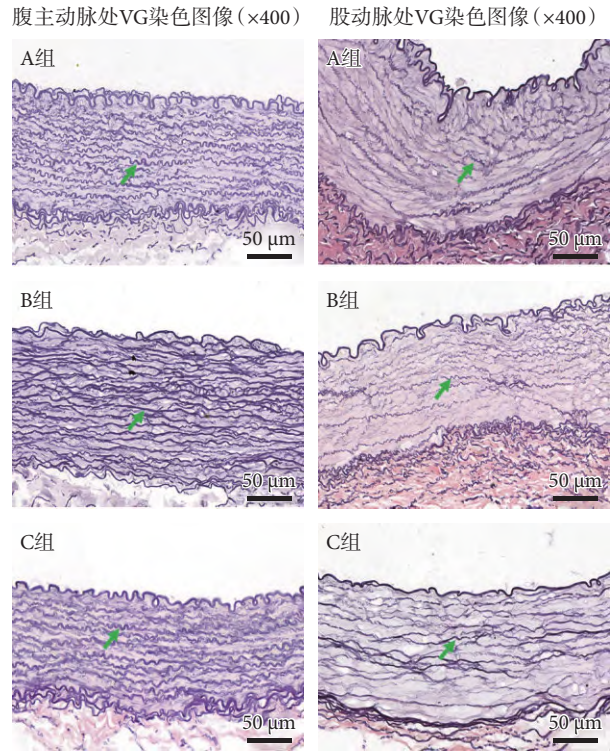


图4 术后92天A、B、C组腹主动脉及股动脉VG染色图像
弹性纤维由绿色箭头标示

Fig.4 Van Gieson stained images of abdominal aorta and femoral artery 92 days after amputation elastic fibers are indicated by green arrows in the figure

B、C各组EFEP分别为3.37%、4.48%、4.76%,组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

本文使用兔建立截肢动物模型,在实验周期设计上参照实验室环境下兔子平均寿命为10年^[36],且成年期人类寿命1年相当于兔子的18.25天^[37]两个标准,设计实验周期为3个月共92天,时间上等同于人类截肢后4~5年的心血管系统变化。

LDL-C含量的升高会引起泡沫细胞的生成及增殖,后者刺激VSMC增殖,将促进动脉粥样硬化斑块的发生与发展^[38-39]。而本文实验结果发现,相比A组实验兔,B组和C组血液中LDL-C含量均明显偏高($P < 0.05$),这表明截肢术后实验兔的心血管系统抵抗动脉粥样硬化的能力变弱了,结合前文血液中LDL-C的含量升高能够说明脂质在血管内部有沉积的现象。同时,B、C两组LDL-C含量差异有统计学意义,说明不同截肢水平对血液中LDL-C含量的影响是不同的,由此产生的心血管疾病的潜在风险是不同的。另一方面,HDL-C具有清洁疏通动脉的功能,含量越高,动物患心血管疾病的风险越小^[40],而血液中HDL-C含量表现为

A组 > B组 > C组。LDL-C和HDL-C是TC的主要成分,占比高达80%~90%^[41],血液中TC含量检测结果为A组 < B组、C组,这与截肢术后体内LDL-C含量的升高与HDL-C含量的减少有直接联系。关于下肢截肢者动脉硬化的研究中提到,下肢截肢者体内TC水平(195.6 vs 183.8,单位:mg/dL, $P=0.006$)及LDL-C水平(136.1 vs 117.2,单位:mg/dL, $P=0.002$)显著高于正常人,而HDL水平则刚好相反(40.0 vs 45.7,单位:mg/dL, $P=0.004$)^[42],动物实验的研究结果也与此相符。

研究表明血压水平可由ANP及BNP调控^[26-30],截肢术后血液中ANP、BNP含量的升高说明动物体内血压升高,动物机体的血压自我调节在这一过程中起到作用,以此达到降压效果。此外,因截肢使血管受到严重损伤,受损血管将再生^[31-33]。术后7天B、C组与A组的 α -SMA组间含量差异有统计学意义($P < 0.05$),这表明截肢后VSMC由收缩型向增殖和活动型的表型转换,是修复受损血管的生理反应。此外,截肢导致的血管内皮损伤和炎症会使得增殖的VSMC通过内膜,吞噬沉积于此的脂质,促进动脉粥样硬化斑块的形成^[32]。

对比不同截肢水平组的生化检测结果,发现B组血液中LDL-C、TC、ANP和BNP的含量低于C组,而HDL-C含量偏高。出现这种反常现象的原因是由于BKA相比于AKA,虽然受创面更小,但恢复速度更慢,即截肢水平高伤口恢复速度反而更快。有研究针对AKA和BKA患者作了长期的随访观察,发现AKA患者的伤愈率和伤愈速度均高于BKA患者(91% vs 81%)^[43-44];同时,AKA患者出现伤口感染的概率小于BKA患者(22.6% vs 29.4%)^[45]。2004年美国机构对下肢截肢的印第安人进行调查,发现AKA患者患糖尿病的概率远低于BKA患者^[46]。另有研究表明,AKA患者的伤愈速度大于BKA患者,但死亡率方面,AKA患者的三年存活率小于BKA患者(55% vs 78%)^[47]。相关研究表明,AKA手术虽然丢失肌肉和血管更多,但由于无需传输血液到心脏远端,负荷减小,故术后恢复速度更快;与AKA患者不同的是,残端的血液供应对BKA患者伤口的愈合非常重要,这与伤愈速度直接相关^[48]。截肢术后伤愈速度的快慢与体内炎症及血管内皮损伤持续的时间有直接联系,这也从另一方面表明为何术后初期BKA患者心血管系统受损的程度大于AKA患者。但AKA手术毕竟会导致大量失血并且是人体形态的巨大改变,手术对身体的影响会随时间的增加而日益加重,造

成数年后死亡率高于BKA组的情况。

HE染色结果表明主动脉弓处B组出现中度内皮细胞坏死,C组出现轻度弹性纤维断裂,说明BKA对主动脉弓的损伤小于AKA;由VG染色结果计算得到的EFEP可知,B组腹主动脉处的血管硬化程度高于C组,结合主动脉弓处的HE染色结果,说明AKA对主干动脉的损伤大于BKA,这可能是AKA致死率更高的一个重要因素^[49-50]。股动脉处HE染色结果表明因截肢处血液循环被阻断,将直接影响血管的血液运输情况,局部血流动力学发生改变导致血管压力骤然增大,故血管极有可能受到机械损伤。而股动脉处的EFEP结果表明,B、C组的血管弹性大于A组,这表明在截肢末端处,因修复损伤血管导致血管生长,使得血管弹性升高^[50-51]。

4 结论

为探究不同截肢水平对心血管系统的影响有何不同,本文基于兔子与人类心血管系统的相似性选择兔子作为研究模型,建立不同截肢水平(AKA、BKA)的动物模型,通过对比各组血液指标参数及各组织的损伤程度、形态学差异,发现截肢水平不同会对动物心血管系统造成不同程度的损伤,且截肢水平越高对心血管系统造成的损伤越大,AKA相较BKA手术会使主干动脉受到更严重的损伤,这是AKA患者术后五年生存率低于BKA患者的主要原因。此外,实验也发现截肢处受损血管会再生,使得截肢处侧肌纤维变小、变少,血管侧支增多。本研究将有助于进一步探究截肢影响心血管系统的内在机制,并根据患者截肢水平的不同,在术后进行更全面且更有针对性的监测,进行必要的干预以预防心血管疾病的发生。

重要声明

利益冲突声明:本文全体作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:蒋文涛主要负责项目主持、实验设计以及论文审阅修订;闵磊主要负责动物实验方案的制定及实施、实验数据分析及论文编写;李忠友主要负责数据分析指导以及论文修订;刘任静、刁璐杰和邵天翔参与结果讨论及论文修订;李潇和白逸萍主要负责实验方案设计指导。

伦理声明:本实验通过了四川大学医学伦理委员会的审批(批文编号:K2022002)。

参考文献

1 John T H, Bruce M K. 奈特人体生理学彩色图谱. 第1版. 北京:

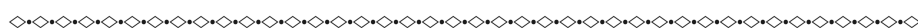
- 人民卫生出版社, 2005: 66-78
- 2 Ochi M, Kohara K, Tabara Y, *et al.* Arterial stiffness is associated with low thigh muscle mass in middle-aged to elderly men. *Atherosclerosis*, 2010, 212(1): 327-332.
 - 3 Pyle A L, Young P P. Atheromas feel the pressure: biomechanical stress and atherosclerosis. *Am J Pathol*, 2010, 177(1): 4-9.
 - 4 Liao F, Garrison D W, Jan Y K. Relationship between nonlinear properties of sacral skin blood flow oscillations and vasodilatory function in people at risk for pressure ulcers. *Microvasc Res*, 2010, 80(1): 44-53.
 - 5 Nallegowda M, Lee E, Brandstater M, *et al.* Amputation and cardiac comorbidity: analysis of severity of cardiac risk. *PM R*, 2012, 4(9): 657-666.
 - 6 Stewart C P U, Jain A S. Cause of death of lower limb amputees. *Prosthet Orthot Int*, 1992, 16(2): 129.
 - 7 Yekutieli M, Brooks M E, Ohry A, *et al.* The prevalence of hypertension, ischaemic heart disease and diabetes in traumatic spinal cord injured patients and amputees. *Spinal Cord*, 1989, 27(1): 58-62.
 - 8 Naschitz J E. Why traumatic leg amputees are at increased risk for cardiovascular diseases. *QJM-INT J Med*, 2008, 101(4): 251-259.
 - 9 Jones W S, Patel M R, Dai D, *et al.* High mortality risks after major lower extremity amputation in Medicare patients with peripheral artery disease. *Am Heart J*, 2013, 165(5): 809-815.
 - 10 Aulivola B, Hile C N, Hamdan A D, *et al.* Major lower extremity amputation: outcome of a modern series. *Arch Surg*, 2004, 139(4): 395.
 - 11 Hrubec Z, Ryder R A. Traumatic limb amputations and subsequent mortality from cardiovascular disease and other causes. *J Chronic Dis*, 1980, 33(4): 239-250.
 - 12 Nerem R M. Hemodynamics and the vascular endothelium. *J Biomech Eng*, 1993, 115(4B): 510-514.
 - 13 Ikeda M, Takei T, Mills I, *et al.* Calcium-independent activation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 by cyclic strain. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 247(2): 462-465.
 - 14 Dua M M, Dalman R L. Hemodynamic influences on abdominal aortic aneurysm disease: application of biomechanics to aneurysm pathophysiology. *Vascul Pharmacol*, 2010, 53(1/2): 11-21.
 - 15 Vollmar J F, Pauschinger P, Paes E, *et al.* Aortic aneurysms as late sequelae of above-knee amputation. *Lancet*, 1989, 334(8667): 834-835.
 - 16 魏君如, 李忠友, 刁珺杰, 等. 下肢截肢水平对主动脉血流动力学影响的数值研究. *生物医学工程学杂志*, 2022, 39(1): 67-74.
 - 17 Doyle B J, Callanan A, Burke P E, *et al.* Vessel asymmetry as an additional diagnostic tool in the assessment of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 2009, 49(2): 443-454.
 - 18 Dong R, Jiang W, Zhang M, *et al.* Hemodynamic studies for lower limb amputation and rehabilitation. *J Mech Med Biol*, 2015, 15(4): 1530005.
 - 19 Samady H, Eshtehardi P, Mcdaniel M C, *et al.* Coronary artery wall shear stress is associated with progression and transformation of atherosclerotic plaque and arterial remodeling in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 2011, 124(7): 779-788.
 - 20 闵磊, 蒋涛涛, 李忠友, 等. 研究截肢对心血管系统影响的动物模型建立. *生物医学工程学杂志*, 2022, 39(5): 991-996.
 - 21 吴兆苏, 姚崇华, 赵冬, 等. 11省市队列人群心血管病发病前瞻性研究. *中华心血管病杂志*, 1999(1): 5-8.
 - 22 Gordon T, Kannel W B, Castelli W P, *et al.* Lipoproteins, cardiovascular disease, and death: the Framingham Study. *Arch Intern Med*, 1981, 141(9): 1128-1131.
 - 23 Marques A, Marques M G, Silveira B C R, *et al.* Lidocaine administered at a continuous rate infusion does not impair left ventricular systolic and diastolic function of healthy rabbits sedated with midazolam. *Vet Anim Sci*, 2020, 10: 100151.
 - 24 Sun J H, Min D, Nam K, *et al.* Effect of dietary fats on blood cholesterol and lipid and the development of atherosclerosis in rabbits. *Nutr Res*, 2005, 25(10): 925-935.
 - 25 Anitschkow N. Über die Veränderungen der Kannichenaorta bei experimentaeller Cholesterinsteatose. *Beitrz Path Anatallg Pathol*, 1913, 56: 379-404.
 - 26 Troughton R W, Frampton C M, Yandle T G, *et al.* Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet*, 2000, 355(9210): 1126-1130.
 - 27 Rück A, Gustafsson T, Norrbom J, *et al.* ANP and BNP but not VEGF are regionally overexpressed in ischemic human myocardium. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 322(1): 287-291.
 - 28 江慧. 超声心动图联合BNP检测在慢性心力衰竭中的诊断价值分析. *基层医学论坛*, 2021, 25(7): 978-979.
 - 29 Maisel A S, Krishnaswamy P, Nowak R M, *et al.* Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *New Engl J Med*, 2002, 347(3): 161-167.
 - 30 Dahlström U. Can natriuretic peptides be used for the diagnosis of diastolic heart failure? *Eur J Heart Fail*, 2014, 6(3): 281-287.
 - 31 Ouma G O, Jonas R A, Usman M, *et al.* Targets and delivery methods for therapeutic angiogenesis in peripheral artery disease. *Vasc Med*, 2012, 17(3): 174-192.
 - 32 Jin H C, Eun H C. Angiogenesis in skin aging and photoaging. *J Dermatol*, 2010, 34(9): 593-600.
 - 33 Messina L M, Brevetti L S, Chang D S, *et al.* Therapeutic angiogenesis for critical limb ischemia: invited commentary. *J Control Release*, 2002, 78(1-3): 285-294.
 - 34 Wang Yongshun, Cao Wei, Cui Jinjin, *et al.* Arterial wall stress induces phenotypic switching of arterial smooth muscle cells in vascular remodeling by activating the YAP/TAZ signaling pathway. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(2): 842-853.
 - 35 Yanni A E. The laboratory rabbit: an animal model of atherosclerosis research. *Lab Anim*, 2004, 38(3): 246-256.
 - 36 Weisbroth S H, Flatt R E, Kraus A L. The biology of the laboratory rabbit. New York: Academic Press, 2013: 155-156.
 - 37 Dutta S, Sengupta P. Rabbits and men: Relating their ages. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2018, 29(5): 427-435.
 - 38 Lafont A. Basic aspects of plaque vulnerability. *Heart*, 2003, 89(10): 1262-1267.
 - 39 Willerson J T, Ridker P M. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation*, 2004, 109(21 Suppl 1): II-2-II-10.
 - 40 Franceschini G. Epidemiologic evidence for high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 2001, 88(12A): 9-13.
 - 41 诸骏仁, 高润霖, 赵水平, 等. 中国成人血脂异常防治指南(2016年修订版). *中国循环杂志*, 2016, 31(10): 937-953.
 - 42 Magalhães P, Capingana D P, Silva A B T, *et al.* Arterial stiffness in lower limb amputees. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med*, 2011, 5: 49-56.
 - 43 Keagy B A, Schwartz J A, Kotb M, *et al.* Lower extremity amputation: The control series. *J Vasc Surg*, 1986, 4(4): 321-326.



- 44 Robinson K P. Long posterior flap amputation in geriatric patients with ischaemic disease. *Ann Roy Coll Surg*, 1976, 58(6): 440-451.
- 45 Lim T S, Finlayson A, Thorpe J M, *et al.* Outcomes of a contemporary amputation series. *ANZ J Surg*, 2006, 76(5): 300-305.
- 46 Resnick H E, Carter E A, Lindsay R, *et al.* Relation of lower-extremity amputation to all-cause and cardiovascular disease mortality in American Indians: The Strong Heart Study. *Diabetes Care*, 2004, 27(6): 1286-1293.
- 47 Nehler M R, Coll J R, Hiatt W R, *et al.* Functional outcome in a contemporary series of major lower extremity amputations. *J Vasc Surg*, 2003, 38(1): 7-14.
- 48 Low C K, Chew W Y C, Howe T S, *et al.* Factors affecting healing of below knee amputation. *Singap Med J*, 1996, 37(4): 392-393.
- 49 Hunter G, Holliday P. Major amputation following vascular reconstructive procedures (including sympathectomy). *Can J Surg*, 1978, 21(5): 456-458.
- 50 Yamaura H, Matsuzawa T. Decrease in capillary growth during aging. *Can J Surg*, 1980, 15(2): 145-150.
- 51 Wietecha M S, Lin C, Ranzer M J, *et al.* Sprouty2 downregulates angiogenesis during mouse skin wound healing. *Am J Physiol-Heart C*, 2011, 300(2): H459-H467.

收稿日期: 2022-11-01 修回日期: 2023-03-20

本文编辑: 李蓓兰



(上接第 514 页; *Continued from Page 514*)

- 23 Roldan E, Reeves N D, Cooper G, *et al.* *In vivo* mechanical behaviour of the anterior cruciate ligament: A study of six daily and high impact activities. *Gait Posture*, 2017, 58: 201-207.
- 24 侯波, 王毅, 沈宇辉. 膝关节动态有限元模型的力学分析. *中国组织工程研究*, 2013, 17(22): 3998-4004.
- 25 Suggs J F, Li G, Park S E, *et al.* Function of the anterior cruciate ligament after unicompartmental knee arthroplasty: an *in vitro* robotic study. *J Arthroplasty*, 2004, 19(2): 224-229.

收稿日期: 2022-09-01 修回日期: 2023-05-08

本文编辑: 李蓓兰