

## 静脉留置导管相关纤维蛋白鞘模型的建立<sup>①</sup>

唐文帅<sup>1</sup>, 廖海涛<sup>2</sup>, 覃海敏<sup>1</sup>, 覃燕<sup>1</sup>, 韦义萍<sup>2</sup>

(1. 广西医科大学研究生院, 广西 南宁 530021 E-mail:1325937772@qq.com;

2. 广西医科大学护理学院, 广西 南宁 530021)

**摘要:** **目的** 建立静脉留置导管相关纤维蛋白鞘动物模型。**方法** 选用 46 只家兔, 预实验 6 只随机均分为 2 组(留置 6 h、12 h 组); 正式实验 40 只随机均分为 5 组(留置 12 h、1 d、2 d、3 d、4 d 组)。采用留置针置管于兔耳缘静脉, 记录每次滴注造模药物所需时间, 留取不同相时的纤维蛋白鞘标本, 行 HE、Masson 染色以观察其组织形态学变化。**结果** 预实验: 留置 6 h 时, 并无纤维蛋白鞘形成, 而留置 12 h 时, 开始形成纤维蛋白鞘; 正式实验: 不同组组间第一、二、三、四次滴注造模药物所需时间比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 而不同组组内第一、二、三、四次滴注造模药物所需时间比较, 差异均具有统计学意义 ( $P < 0.001$ ); 不同组纤维蛋白鞘面积占静脉管腔面积百分比比较, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ ); 分析 HE、Masson 染色结果, 确定纤维蛋白鞘包含有血栓、红细胞、纤维素、胶原纤维和某些细胞成分。**结论** 此方法建立的模型可靠稳定、成功率较高, 符合导管相关纤维蛋白鞘的生物学特性。

**关键词:** 静脉留置导管; 纤维蛋白鞘; 模型; 动物

**中图分类号:** R363.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-5817(2017)04-0260-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2017.04.003

## Development a rabbit model of venous indwelling catheter related fibrin sheath

Tang Wenshuai<sup>1</sup>, Liao Haitao<sup>2</sup>, Qin Haimin<sup>1</sup>, Qin Yan<sup>1</sup>, Wei Yiping<sup>2</sup>

(1. Guangxi Medical University Graduate School, Nanning 530021, Guangxi, China

E-mail:1325937772@qq.com;

2. Guangxi Medical University School of Nursing, Nanning 530021, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** Aim to establish an animal model of the fibrin sheath in the vein indwelling catheter. **Methods** Forty-six rabbits were chosen, six rabbits involved in pre-experiment were randomly and equally divided into two groups (indwelling 6 h and 12 h groups), forty rabbits involved in formal experiment were randomly and equally divided into five groups (indwelling 12 h, 1 d, 2 d, 3 d, 4 d groups). Models were made by using indwelling needle for placement tube on rabbit ear edge vein, recorded each dripping drug time needed for building models, collected fibrin sheath samples at different phase at the same time, the HE staining and Masson staining were performed to observe the histomorphological changes. **Results** Pre-experiment results: indwelling 6 h, no formation of fibrin sheath was found, indwelling 12 h, fibrin sheath began to develop. Formal experiment results: horizontal comparing the dripping drug time needed for completing models at the first, the second, the third, and the fourth times among different groups showed that there was no statistically significant difference ( $P > 0.05$ ), and the longitudinal intra group comparing the dripping drug time needed for completing models at the first, the second, the third, and the fourth times among different groups showed that there was statistically significant difference ( $P < 0.001$ ). Comparison the ratio of the fibrin sheath area to the venous luminal area among different groups showed statistically significant difference ( $P < 0.001$ ). Analyzing the results of the HE and Masson staining confirmed that the fibrin sheath contained blood clots, red blood

① 基金项目:2017 年广西研究生教育创新计划项目(YCSW20171119)

② 通信作者, E-mail:cnwyp@126.com

cells, cellulose, collagen fibers and certain cell components. **Conclusion** The venous indwelling catheter related fibrin sheath model developed by the mentioned above method is reliable and stable, with high successful rate of modeling, and the model is in accordance with the biological characteristics of catheter-related fibrin sheath.

**Key words:** venous indwelling catheter; fibrin sheath; models, animal

纤维蛋白鞘是静脉留置导管表面常见的膜状物,所有类别的静脉留置导管表面在置管1天后都会形成纤维蛋白鞘。有研究证实它是造成导管失功最常见的原因,还可导致血栓形成、继发感染、肺栓塞等一系列严重并发症<sup>[1-4]</sup>。目前,国内外关于纤维蛋白鞘的形成机制尚无统一论,在动物实验方面,对于导管相关纤维蛋白鞘模型的研究也较罕见,而借助实验动物模型研究纤维蛋白鞘的形成机制被证实是一种行之有效的研究方法。因此建立与人体静脉留置导管相关纤维蛋白鞘近似的动物模型是进一步实验研究的依据和首要解决的课题。本动物实验尝试建立一种简便易行、稳定可靠的实验性导管相关纤维蛋白鞘模型。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物分组及主要器材** 选用SPF级健康成年家兔46只,雌雄不拘,体重(2.5±0.5)kg,由广西医科大学实验动物中心提供,单笼饲养,保持室内温度在20~24℃,湿度控制在42%~60%,适应性喂养一周,饮食活动均正常,健康的家兔方可纳入实验。预实验6只家兔随机分为2个留置时相组(6h、12h),每组3只;正式实验40只家兔用随机数字表进行分组,分5个留置时相组(12h、1d、2d、3d、4d组),每组8只;光学显微镜由广西医科大学护理学院实验中心提供;24G留置针购自美国BD公司;HE染色试剂盒、Masson染色试剂盒购自Solarbio公司。

**1.2 静脉留置导管相关纤维蛋白鞘模型的建立** 实验方法参照文献<sup>[5]</sup>并略加改进以建立静脉留置导管相关纤维蛋白鞘模型。采用兔架固定限制其活动,由实验者统一操作,选择一侧粗直耳缘静脉,充分备皮,严格皮肤消毒后,用24G留置针穿刺置管,外敷莫匹罗星软膏以防感染,再依次用3M敷贴和医用透明胶带固定(如图1)。输液量按照家兔体重(公斤)计算和根据实验动物用药量规定换算:以20%的甘露醇溶液作为造模药物,剂量为2.5ml/kg,以最大速度滴药,1d1次用药,滴药前后予以3ml生理盐水冲管和正压封管<sup>[6]</sup>。最后戴上兔头套防其抓脱留置导管(如图2)。

## 1.3 观察内容

**1.3.1 观察滴注造模药物所需时间的变化** 记录不同留置时相组滴注20%甘露醇溶液所需时间(s),不同留置时相组组间和组内第一次、第二次、第三次、第四次滴注造模药物所需时间比较。



图1 医用透明胶固定留置针

图2 兔头套保护留置针

## 1.3.2 测定纤维蛋白鞘面积占耳缘静脉管腔百分比

处死家兔后,立即用无菌组织剪剪下含留置针的局部兔耳,轻轻投入10%中性甲醛固定液中(体积比约1/20),固定时间24h以上,然后适当套紧兔耳组织,拔出留置针导管,使纤维蛋白鞘标本均匀脱落于血管内,石蜡包埋血管,常规切片后行苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE染色),从导管末端向穿刺处隔3mm连续切片5张,根据医学图像分析系统在20倍视野下观察并计算纤维蛋白鞘面积占耳缘静脉管腔面积百分比<sup>[7]</sup>。

**1.3.3 观察纤维蛋白鞘的成分和分析纤维蛋白鞘的演变过程** HE染色结果分析纤维蛋白鞘一般组织形态学结构。Masson染色将胶原纤维(蛋白)染成蓝色,将肌纤维、胞质、纤维素和红细胞染成红色,将胞核染成蓝褐色<sup>[8]</sup>。

**1.4 统计学方法** 采用SPSS 17.0软件进行统计学分析,实验数据所得计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用 $t$ 检验、多组间比较采用方差分析、重复测量的数据采用重复测量资料的方差分析,病理组织学结果采用多个独立样本等级资料比较的Kruskal-WallisH检验,判断不同组间纤维蛋白鞘形成的差异显著性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同留置时相组每次进药所需时间** 不同留置时相组组间第一次、第二次、第三次滴注造模药物所需时间比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),而不同留置时相组组内第一次、第二次、第三次、第四次滴注造模药物所需时间比较,差异均具有统计学意义( $P < 0.001$ ),见表1。

表 1 不同留置时相组滴注造模药物所需时间的差异 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

进药次数	每次进药所需时间(s)					t	F	P
	12 h 组	1 d 组	2 d 组	3 d 组	4 d 组			
第一次	195.75±8.94	197.75±10.73	195.25±9.18	197.88±7.64	196.13±8.25		0.141	0.967
第二次			221.00±11.22	224.25±8.56	221.38±10.56		0.244	0.786
第三次				242.38±4.48	240.75±6.88	0.562		0.583
第四次					262.13±4.16			
t			50.24					
F				79.210	103.490			
P			<0.001	<0.001	<0.001			

2.2 不同留置时相组纤维蛋白鞘面积占耳缘静脉管腔面积百分比 不同留置时相组纤维蛋白鞘面积占耳缘静脉管腔面积百分比(%)比较,差异具有统计学意义( $F = 1444.58, P < 0.001$ )。留置 12 h 为(19.25±1.67)%,留置 1 d 为(29.50±1.60)%,留置 2 d 为(40.13±1.55)%,留置 3 d 为(50.50±1.85)%,留置 4 d 为(75.25±1.28)%,如图 3。HE 染色结果(如图 4);留置 6 h,无纤维蛋白鞘形成;留置 12 h,开始形成纤维蛋白鞘,且随着留置时间的延长,纤维蛋白鞘面积占耳缘静脉管腔面积百分比明显增大。

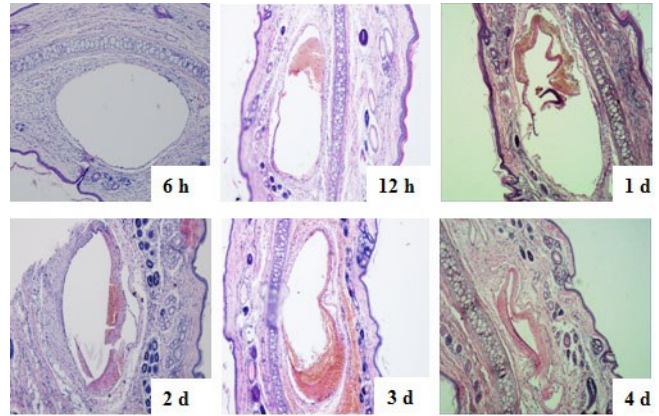


图 4 不同留置时相组纤维蛋白鞘 HE 染色结果( $\times 20$ )  
注:6 h 为预实验结果

未能从纤维蛋白鞘形成的早期阶段着手研究,且用猪作为实验对象,造价昂贵。另外导管留置时间过长、脱管、感染等因素在一定程度上影响实验结果<sup>[10]</sup>,无法准确模拟纤维蛋白鞘形成的过程。

本研究依据 John 教授的研究结论:导管作为异物置入体内能激活血液中的红细胞、血小板、纤维蛋白(原),导致它们黏附于导管表面<sup>[11]</sup>,再结合滴注刺激性药物,来设计实验方案。本动物模型成功建立的标准是:①从生物学特征上观察,不同留置时相组滴注造模药物所需时间横向比较没有统计学差异,而纵向比较有明显统计学差异,同一组内,后一次滴注造模药物所需时间明显多于前一次,这符合纤维蛋白鞘形成的生物学特性。②从组织形态学上观察,HE 染色结果显示纤维蛋白鞘呈鞘索状结构,随着留置时间的延长,纤维蛋白鞘面积占血管腔面积百分比越来越大。由于实验前充分准备和实验过程中严格控制非实验因素的影响,本动物模型的成功率较高。在建立静脉留置导管相关性纤维蛋白鞘模型的过程中,必须要注意几点:①在用留置针穿刺耳缘静脉置管时,必须要牢牢固定家兔以免其挣扎导致置管失败,这是成功置管的关键所在。所以在此过程中,最好是双人协作完成。②在穿刺置管前,必须要充分备皮,严格皮肤消毒,因为在

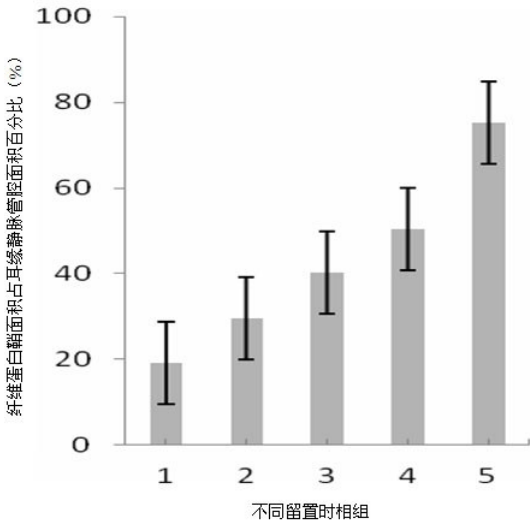


图 3 不同留置时相组纤维蛋白鞘面积占耳缘静脉管腔面积百分比

注:1 为留置 12 h 组;2 为留置 1 d 组;3 为留置 2 d 组;4 为留置 3 d 组;5 为留置 4 d 组

2.3 分析纤维蛋白鞘成分 通过病理专业人员盲审综合分析 HE 染色、Masson 染色结果;纤维蛋白鞘的成分包含有血栓、红细胞、胶原纤维、纤维素和某些细胞成分(如图 5)。

### 3 讨论

此前仅有文献报道建立静脉留置导管相关纤维蛋白鞘动物模型的方法有猪颈外静脉置管<sup>[9]</sup>,但此方法

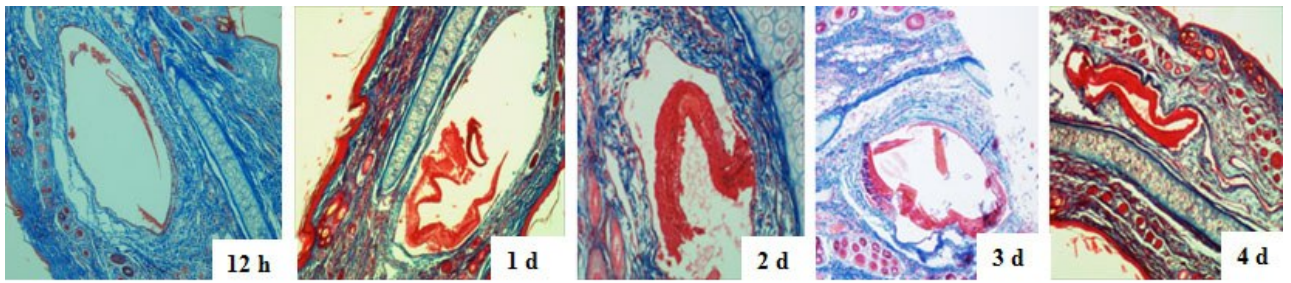


图5 不同留置时相组纤维蛋白鞘 Masson 染色结果( $\times 20$ )

导管留置过程中容易发生感染,这对于模型的成功率至关重要。③在导管留置过程中,由于兔爪的抓挠,极易出现脱管现象,严重影响实验的进度和效果。因此,通过借鉴宠物头套,将其运用到实验中,取得了好的效果,脱管率为零。同时,这对于其他相应的动物实验也具有参考意义。

本研究实验结果表明,导管留置6h时,导管表面并无纤维蛋白鞘形成,当留置12h时,通过HE染色,结果显示开始有纤维蛋白鞘形成(如图4)。这时间段正是针对性预防纤维蛋白鞘形成的关键点。从不同留置时间点的HE染色结果可知,导管相关纤维蛋白鞘的形成是一个动态过程,在形成的早期,纤维蛋白鞘大体部分与血管内壁分离,小部分与血管壁连接,连接处也是导管与血管壁的接触部位,血管壁的某些细胞成分沿着接触部位慢慢爬行蔓延至导管表面。通过HE染色、Masson染色结果综合表明,纤维蛋白鞘包含有血栓、红细胞、纤维素、胶原纤维和某些细胞成分。

综上所述,本研究通过观察纤维蛋白鞘形成的生物学特点、组织形态学结构等方式证实建立的模型可以准确反映人体内导管相关纤维蛋白鞘结构<sup>[12]</sup>,建模成功率较高,可重复性较强,纤维蛋白鞘形成较稳定,可作为建立静脉留置导管相关纤维蛋白鞘动物模型的首选方法。在此基础上,通过HE染色、Masson染色初步分析纤维蛋白鞘内在成分包含有血栓、红细胞、纤维素、胶原纤维及其他细胞成分,为后续深入研究纤维蛋白鞘动态形成过程或形成机制以及早期针对性预防纤维蛋白鞘形成奠定实验基础。

#### 参考文献:

[1] 赵丽萍,王文丽,夏春芳,等. 中心静脉导管相关性纤维蛋

白鞘预防和治疗进展[J]. 中国现代医学杂志,2012,22(18):62-65.

- [2] 曾巧,周瑞玲. 维持性血液透析患者并发感染性心内膜炎1例[J]. 右江民族医学院学报,2014,36(1):89.
- [3] 段青青,张丽红,王保兴. 中心静脉导管纤维蛋白鞘的组织病理学特点及发生机制的研究进展[J]. 中国血液净化,2011,10(9):503-506.
- [4] 杨萍,张云霞,王丽敏,等. 大频率尿酸酶治疗透析导管形成纤维蛋白鞘的护理干预[J]. 护理实践与研究,2012,9(3):28-29.
- [5] 张丽凤,卢孟密,廖海涛,等. 低分子量肝素钙对静脉留置针致血栓形成模型兔血清血管假性血友病因子和D-二聚体的影响[J]. 广西医科大学学报,2016,33(6):942-946.
- [6] 路颜羽,梁红霞,路雪芹. 应用静脉留置针注射甘露醇致兔耳缘静脉血栓形成的探讨[J]. 河南大学学报(医学版),2010,29(2):133-135.
- [7] 付健,唐博,陈以宽,等. 新型大鼠下腔静脉血栓模型的建立及血栓溶解演变过程研究[J]. 解放军医学杂志,2015,40(8):610-615.
- [8] 王兵,秦军,俞渊,等. 慢性肝损伤兔胆石症动物模型的构建[J]. 右江民族医学院学报,2015,37(2):171-174.
- [9] 曾奕. 血液透析中心静脉导管管周纤维鞘动态组织病理学研究[D]. 南昌大学医学院,2013.
- [10] 位娟. 中心静脉置管对局部血管不同时相结构功能的影响[D]. 重庆:重庆医科大学,2011.
- [11] Santilli J. Fibrin Sheaths and Central Venous Catheter Occlusions: Diagnosis and Management [J]. Tech Vasc Interv Rad,2002,5(2):89-94.
- [12] Forauer AR, Theoharis C. Histologic changes in the human vein wall adjacent to indwelling central venous catheters[J]. J Vasc Interv Radiol,2003, 14(9 Pt1):1163-1168.

收稿日期:2017-06-11;修回日期:2017-08-21