

• 基础护理 •  
• 论 著 •

# SD 大鼠导管相关性血栓模型的建立及 血栓动态演变过程研究

韦艳, 应燕萍, 甘晓, 赵慧函, 蒋庆娟, 文萃

**摘要:**目的 建立中心静脉导管相关性血栓模型, 动态观察血栓形成的病理形态演变过程, 为临床研究及实践提供参考。方法 取健康雄性 SD 大鼠 80 只, 随机分为假手术组和模型组, 各 40 只。假手术组暴露颈外静脉后立即缝合切口; 模型组暴露、切开颈外静脉, 置入硅胶导管。两组均于术后 1 d、4 d、7 d、10 d、14 d 各取 8 只大鼠行颈外静脉至上腔静脉段取材, 观察血栓形成情况及病理形态。**结果** 假手术组无血栓形成; 模型组成栓率 85.0%。模型组造模术后 1 d 可见血栓形成; 术后 4 d 血栓体积增大, 但尚未出现机化; 术后 7 d 血栓开始出现机化; 术后 10 d 血栓机化明显; 术后 14 d 血栓完全机化, 血管腔出现再通。**结论** 用 SD 大鼠颈外静脉置管构建导管相关性血栓模型切实可行, 理论上研究导管相关性血栓一种较理想的造模方法。

**关键词:** 中心静脉置管; 导管相关性血栓; 动物模型; 病理学; 大鼠

**中图分类号:** R471 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3870/j.issn.1001-4152.2019.18.048

**Development of catheter-related venous thrombosis in rat model and exploration of evolution process of the thrombus** Wei Yan, Ying Yanping, Gan Xiao, Zhao Huihan, Jiang Qingjuan, Wen Cui. Department of Nursing, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China.

**Abstract: Objective** To develop catheter-related venous thrombosis in Sprague-Dawley rats, to observe pathological morphology and evolution process of the thrombus, thus to provide reference for clinical research and practice. **Methods** Eighty healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham operation group ( $n=40$ ) and a model group ( $n=40$ ). The external jugular vein was exposed and sutured immediately in the sham operation group, while silicone venous catheter was inserted in the external jugular vein after exposure and dissection in the model group. Specimens were taken from the external jugular vein to the superior vena cava of 8 rats in each group at 1 d, 4 d, 7 d, 10 d and 14 d after operation to identify whether or not they developed venous thrombosis and to observe pathological morphology. **Results** The sham operation group had no thrombus at all time points, whereas 85.0% of rats in the model group developed venous thrombosis. Hematoxylin and eosin stains showed presence of thrombus on day 1 after the operation in the model group, increased thrombus volume without organized appearance on day 4, organized thrombus on day 7, obviously organized thrombus on day 10, and completely organized thrombus resulting in vascular recanalization on day 14. **Conclusion** It is feasible and practical to develop catheter-related venous thrombosis by using Sprague-Dawley rats through catheterization in the external jugular vein. Theoretically, it is an ideal modeling method for development of catheter-related thrombosis.

**Key words:** central venous catheter; catheter-related thrombosis; animal model; pathology; rat

中心静脉血管通路装置(Central Venous Access Device, CVAD)已经广泛应用于重症监护病房和慢性疾病人群,尤其是肿瘤患者<sup>[1-2]</sup>。美国每年约有 600 万根中心静脉导管置入,我国仅 PICC 导管的年使用量约 50 万根<sup>[3]</sup>。虽然中心静脉血管通路装置具有较多优点,但也存在一些并发症,其中导管相关性血栓(Catheter-related Thrombosis, CRT)形成是最严重的并发症之一<sup>[4-6]</sup>。张丽等<sup>[7]</sup>研究报道, PICC 导管相关性血栓病例中, 76.79% 为无症状血栓。包逸等<sup>[8]</sup>研究发现,血

栓形成是造成 PICC 非计划性拔管的主要原因之一。出于伦理等因素的考虑,研究者很难直接获得 CRT 患者的血栓进行研究。因此,如何有效建立与临床相近的 CRT 动物模型,是研究 CRT 发病机制、病理生理学变化以及评价治疗方法效果的前提。本研究经 SD 大鼠右颈外静脉置入中心静脉导管,构建 CRT 模型并动态了解 CRT 的演变过程,报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物及分组** 清洁级健康 SD 大鼠 80 只, 雄性, 3 月龄, 体质量 160~210 g, 由广西医科大学实验动物中心提供, 实验动物生产许可证号: SYXK 桂 2014-0002。实验前适应性分笼饲养 1 周, 均给予标准饲料喂养, 自由饮水。采用随机数字表法分为假手术组和模型组, 各 40 只, 每组又分为术后 1 d、4 d、7 d、10 d、14 d 5 个亚组, 每个亚组各 8 只。

作者单位: 广西医科大学第一附属医院护理部(广西南宁, 530021)  
韦艳: 女, 硕士, 护师  
通信作者: 应燕萍, yanpingying0116@126.com  
科研项目: 国家自然科学基金项目(81860032); 广西自然科学基金项目(2018GXNSFAA050081); 广西研究生教育创新计划项目(YCSW2019115)  
收稿: 2019-04-19; 修回: 2019-06-22

**1.2 主要实验材料与设备** 小鼠颈静脉插管 1 # [硅胶材质,思科诺生物科技(北京)有限公司],不锈钢堵头[思科诺生物科技(北京)有限公司],水合氯醛(天津市大茂化学试剂厂),10%中性缓冲福尔马林固定液(广州维格斯生物科技有限公司),HD-310 型生物组织自动包埋机(湖北慧达仪器有限公司),切片机(RM2245,德国 Leica 公司),摊片烤片机(YG-280KX,阳光医疗器械有限公司),正置荧光显微镜(BX53,日本 Olympus 公司),显微血管手术器械(广西医科大学动物实验中心提供)。

**1.3 方法**

**1.3.1 模型制备** 模型组参照 Smith 等<sup>[9]</sup>置管手术方法并适当改良进行 CRT 建模。以 10%水合氯醛(按 0.35 mL/100 g 计算)行大鼠腹腔内注射麻醉。待大鼠麻醉满意(钳夹皮肤疼痛反射消失,夹持尾巴无反应,肌肉松弛)后,将大鼠仰卧位固定于操作台,备皮、消毒,沿颈中线偏右侧 0.5 cm 作一纵行切口,长约 2.0 cm,依层切开皮肤、皮下组织。用显微镊于皮下作钝性分离,显露右颈外静脉,完全游离血管,长约 1.0~1.5 cm。在血管下穿过并摆放 4-0 号线 2 根,1 根结扎右颈外静脉远心端,另 1 根放置于近心端备用。用显微镊提起右颈外静脉血管外膜,眼科剪在静脉管壁上全层剪一个“V”形小口,约占静脉周长的 1/3~1/2。术者右手用 1 mL 注射器针头改装成的“鱼钩样”针头,针头尖端于静脉切口处将血管轻轻向上勾起形成一个开口,左手持血管镊辅助将开口撑大,此时由助手将末端连接有 1 mL 注射器的小鼠颈静脉硅胶导管置入 2.0~2.5 cm,推抽与导管末端连接的注射器,可见有血液回流且推注顺畅。予生理盐水冲管后,导管末端用不锈钢堵头封管。于导管第 1 个小凸起处(距管尖约 2.0 cm),以 4-0 号线结扎固定近心端导管;在导管第 2 个小凸起处(距管尖约 2.5 cm)再次结扎固定导管远心端,松紧适宜并将导管连同附近的少许肌肉缝合固定 2~3 针。将导管远心端(末端)取适宜长度埋于手术切口皮下,缝合切口进行固定。假手术组:不行静脉切开,仅显露右颈外静脉,即刻缝合手术切口。所有实验大鼠术后立即予 0.5%碘伏消毒手术切口,电暖器保暖,保持环境温度在 24℃左右。待麻醉清醒后给予正常分笼饲养。

**1.3.2 组织学观察** 术后 1 d、4 d、7 d、10 d、14 d,每次分别从模型组和假手术组随机取 8 只大鼠进行观察。将大鼠麻醉后,沿原切口依层切开皮肤、皮下组织,分离并显露右颈外静脉,取右颈外静脉至上腔静脉段一长约 2.0 cm 的带导管的血管组织作为标本,用 10%福尔马林液固定 48 h 后将导管取出。血管标本固定后石蜡包埋、切片(厚度为 4 μm),行苏木精-伊红染色,光镜下观察血栓形成情况及其动态演变过程。完成实验取材后,所有大鼠均遵照动物实验

伦理委员会的要求进行安置处理。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS17.0 软件进行  $\chi^2$  检验,检验水准  $\alpha=0.05$ 。

**2 结果**

**2.1 动物术后情况** 术后所有大鼠精神佳、活动情况良好,进食正常。实验观察期间,大鼠存活率 100%。

**2.2 导管留置情况** 模型组大鼠置管成功率 100% (40/40),导管留置期间无导管脱出。

**2.3 血栓形成结果** 假手术组无血栓形成,模型组 34 只发生 CRT,CRT 发生率为 85.0%,模型组与假手术组比较差异有统计学意义( $\chi^2=59.130, P=0.000$ )。模型组术后 1 d、4 d、7 d、10 d、14 d 血栓形成率分别为 50.0%(4/8)、75.0%(6/8)、100.0%(8/8)、100.0%(8/8)、100.0%(8/8)。

**2.4 组织学观察** 苏木精-伊红染色示假手术组血管腔内无血栓形成,血管内膜完整(图 1:A)。模型组:术后 1 d,血管腔内有血栓形成,为混合血栓,可见血小板小梁形成,血栓与血管壁无黏连,血管内膜完整,管腔出现部分堵塞(图 1:B);术后 4 d 观察血管壁结构模糊,周围炎症明显,血管腔内有混合型血栓形成,其内含大量血小板小梁,呈片状,伴有大量中性粒细胞及少量红细胞,血管腔完全堵塞,血栓尚未机化(图 1:C);术后 7 d 观察,血管壁周围炎症细胞浸润进一步明显(以中性粒细胞为主),血栓与血管壁开始形成黏连,其黏连面积较小,黏连处有少量纤维母细胞及新生毛细血管生成,血栓开始出现机化(图 1:D);术后 10 d 观察,血栓与血管壁黏连面积增大,大量炎症细胞浸润,纤维增生明显,毛细血管生成增多,肉芽组织由管壁黏连处向血栓内部生长,血栓机化明显(图 1:E);术后 14 d,血栓完全机化,其内部炎症大部分消退,肉芽组织完全替代血栓,血管腔出现再通(图 1:F)。图中 T 代表血栓,★代表机化。

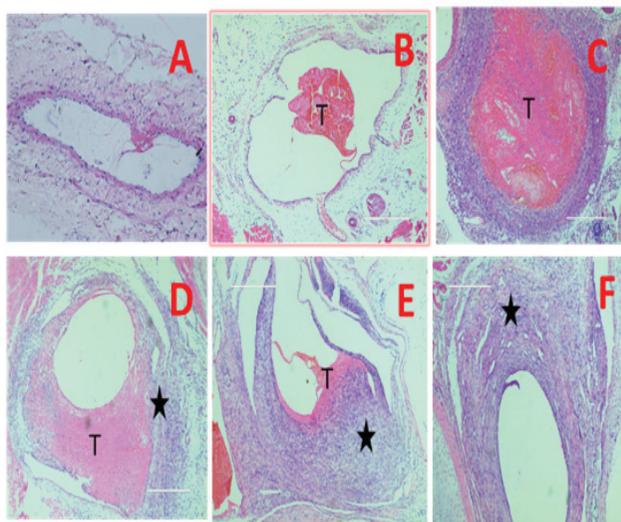


图 1 假手术组及模型组大鼠静脉的组织学形态观察(×10)

### 3 讨论

实验性静脉血栓动物模型的建立方法多种多样,有机械损伤法、静脉结扎法、静脉异物法、光化疗法、血栓诱导药物致栓法等<sup>[10]</sup>。大多数造模方法虽然可以制造出有效的血栓模型,但与临床中心静脉置管引起 CRT 在血栓发病机制上存在较大差别。为了尽可能地模拟临床患者的 CRT 形成机制,本实验使用中心静脉导管置入大鼠右侧颈外静脉直至中心静脉,研究结果显示,假手术组无血栓形成,模型组造模术后血栓形成率为 85.0%,成功构建了 SD 大鼠 CRT 模型。本实验通过不同时间段取材,对大鼠颈外静脉血栓进行动态病理学观察显示,模型组在造模术后 1 d,50.0%的 SD 大鼠右颈外静脉血管腔内有血栓形成,为混合血栓,可见血小板小梁形成,血栓与血管壁无黏连,部分管腔堵塞。姚丽等<sup>[11]</sup>临床研究发现,CRT 可发生在置管后 24 h。Yi 等<sup>[12]</sup>研究报道,无症状静脉血栓最早在导管置入后 2 d 形成。本实验结果与临床 CRT 形成的起始时间基本相符。术后 4 d,75.0%的大鼠颈外静脉血管腔内有血栓形成,血管壁周围炎症明显,血管腔内有混合型血栓形成,血管腔完全堵塞,血栓尚未机化。邓达治等<sup>[13]</sup>研究报道,静脉导管留置 3 d 后,即可用床旁多普勒超声检测出经病理检查证实的导管相关性血栓。术后 7 d,全部大鼠右颈外静脉血管腔内皆有血栓形成,且部分血管壁周围炎症细胞浸润进一步明显(以中性粒细胞为主),血栓开始出现机化。与罗蕾等<sup>[14]</sup>研究,85.48%无症状静脉血栓发生在置管后 1 周内相符。术后 10 d 血栓与血管壁黏连面积增大,大量炎症细胞浸润,血栓机化明显,术后 14 d 血栓完全机化,其内部的炎症大部分消退,肉芽组织完全替代血栓部分,血管腔出现再通。与临床 CRT 机化和再通的病理进程相似。

综上所述,使用静脉导管置入 SD 大鼠颈外静脉构建 CRT 模型的造模方法,简便易行,成栓率高。其血栓形成机制与临床中心静脉置管引起的 CRT 形成机制相似,其血栓形成的时间、病理形态和演变过程也基本与临床中心静脉置管引起的 CRT 相符,理论上是研究 CRT 一种较理想的造模方法。本研究的不足之处在于将 SD 大鼠的颈外静脉导管埋入皮下,虽不易脱出,但不能经静脉导管给药,不利于使用药物对实验进行干预,有待进一步改进。

### 参考文献:

- [1] Gavin N C, Webster J, Chan R J, et al. Frequency of dressing changes for central venous access devices on catheter-related infections[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016(2):CD009213.
- [2] Broadhurst D, Moureau N, Ullman A J. Central venous access devices site care practices: an international survey of 34 countries[J]. *J Vasc Access*, 2016, 17(1): 78-86.
- [3] 李俊英. 外周中心静脉导管技术的临床应用[M]. 北京: 科学出版社, 2013: 5.
- [4] Grant J D, Stevens S M, Woller S C, et al. Diagnosis and management of upper extremity deep-vein thrombosis in adults[J]. *Thromb Haemost*, 2012, 108(6): 1097-1108.
- [5] Cotogni P, Barbero C, Garrino C, et al. Peripherally inserted central catheters in non-hospitalized cancer patients: 5-year results of a prospective study[J]. *Support Care*, 2015, 23(2): 403-409.
- [6] Chopra V, Ratz D, Kuhn L, et al. Peripherally inserted central catheter-related deep vein thrombosis: contemporary patterns and predictors[J]. *J Thromb Haemost*, 2014, 12(6): 847-854.
- [7] 张丽, 陆箴琦, 陆海燕, 等. 肿瘤患者 PICC 导管相关性血栓形成的相关因素分析[J]. *护理学杂志*, 2017, 32(14): 51-55.
- [8] 包逸, 沈莉莉, 陈乐英, 等. 乳腺癌化疗患者 PICC 非计划性拔管原因分析及预防[J]. *护理学杂志*, 2018, 33(12): 15-16, 22.
- [9] Smith M A, Schmidt K T, Iordanou J C, et al. Aerobic exercise decreases the positive-reinforcing effects of cocaine[J]. *Drug Alcohol Depend*, 2008, 98(1-2): 129-135.
- [10] 刘政, 张玥, 侯玉芬. 深静脉血栓形成动物模型的研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2010, 28(1): 57-59.
- [11] 姚丽, 楼晓芳, 谢玉芳, 等. 儿科中心静脉导管相关性血栓的干预与转归[J]. *中国实用护理杂志*, 2017, 33(6): 418-423.
- [12] Yi X L, Chen J, Li J, et al. Risk factors associated with PICC-related upper extremity venous thrombosis in cancer patients[J]. *J Clin Nurs*, 2014, 23(5/6): 837-843.
- [13] 邓达治, 黄向红. 重症患者深静脉穿刺置管术后管腔内血栓的彩色多普勒超声检查监测应用研究[J]. *中国临床新医学*, 2012, 5(8): 725-727.
- [14] 罗蕾, 王国蓉, 秦英. 肿瘤患者 PICC 相关上肢静脉血栓发生率和发生时间的前瞻性研究[J]. *中国实用护理杂志*, 2016, 32(8): 576-579.

(本文编辑 宋春燕)