

韦艳,应燕萍,凌瑛,等. SD 大鼠血清 TF、TM、vWF 的含量与 CRT 形成的关系 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(10): 8-13.
Wei Y, Ying YP, Ling Y, et al. Correlation between serum TF, TM, and vWF contents and CRT formation in SD rats [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(10): 8-13.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020. 10. 002

SD 大鼠血清 TF、TM、vWF 的含量与 CRT 形成的关系

韦 艳,应燕萍*,凌 瑛,赵慧函,蒋庆娟,甘 晓,文 萃

(广西医科大学第一附属医院,南宁 530021)

【摘要】 目的 通过建立大鼠颈外静脉导管相关性血栓(CRT)模型,观察大鼠 CRT 的形成情况,同时检测大鼠血清中组织因子(TF)、血栓调节蛋白(TM)及血管性假血友病因子(vWF)的含量,研究其与 CRT 形成的关系。**方法** 取雄性 SD 大鼠 120 只,随机分为空白对照组($n=40$)、假手术组($n=40$)、模型组($n=40$),各组分别于术后 1 d、4 d、7 d、10 d、14 d 随机取大鼠 8 只,病理切片观察大鼠血栓形成情况,以 ELISA 法检测血清 TF、TM、vWF 含量。**结果** 空白对照组及假手术组均无血栓形成,模型组有 34 只发生 CRT,CRT 发生率为 85%。模型组发生 CRT 大鼠的 TM 含量较未发生 CRT 大鼠明显升高($P<0.01$),模型组未发生 CRT 大鼠的 TM 含量较假手术组显著升高($P<0.01$),模型组未发生 CRT 大鼠的 TM、vWF 含量较空白对照组明显升高($P<0.01$)。术后各个时间点,模型组 TF、TM 含量均较空白对照组及假手术组明显升高($P<0.01$)。术后 4 d、7 d、10 d、14 d,模型组 vWF 含量较空白对照组及假手术组显著升高($P<0.01$)。模型组术后随着观察时间的延长,大鼠血清 TF、TM、vWF 含量随时间逐渐增加,其中 TF、vWF 含量在术后 1~4 d 急剧上升,术后 10 d 达到峰值,随后急剧下降;TM 含量在术后 4~7 d 增幅最大,术后 7 d 达到峰值,随后开始下降。**结论** 大鼠 CRT 形成与血清中 TF、TM 及 vWF 的异常表达密切相关。

【关键词】 导管相关性血栓;组织因子;血栓调节蛋白;血管性假血友病因子;大鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 10-0008-06

Correlation between serum TF, TM, and vWF contents and CRT formation in SD rats

WEI Yan, YING Yanping*, LING Ying, ZHAO Huihan, JIANG Qingjuan, GAN Xiao, WEN Cui
(the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

【Abstract】 Objective To establish a rat model of external jugular vein catheter-related thrombosis (CRT), observe the formation of CRT in rats, detect the levels of tissue factor (TF), thrombomodulin (TM), and von Willebrand factor (vWF) in the serum of rats, and study their relationship with CRT formation. **Methods** A total of 120 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into blank control ($n=40$), sham operation ($n=40$), and model ($n=40$) groups. Eight rats were randomly selected at 1, 4, 7, 10, and 14 days and pathological sections were used to observe the thrombosis in the rats and serum TF, TM, and vWF levels were measured by enzyme linked immunosorbent assay. **Results** There was no thrombosis in blank control or sham operation groups. There were 34 CRTs in the model group, and the CRT incidence rate was 85%. The TM level in the model group with CRT rats was significantly higher than that without CRT rats

【基金项目】 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)。

【作者简介】 韦艳(1990—),女,硕士,研究方向:深静脉导管相关性血栓的预防。E-mail: 1548356013@qq.com

【通信作者】 应燕萍(1964—),女,教授,研究方向:血管通路并发症。E-mail: yanpingying0116@126.com

($P < 0.01$). The TM level in the model group without CRT rats was significantly higher than that in the sham operation group ($P < 0.01$). TM and vWF levels in rats without CRT were significantly higher than those in the blank control group ($P < 0.01$). At each time point after surgery, TF and TM levels of the model group were significantly higher than those of blank control and sham operation groups ($P < 0.01$). At 4, 7, 10, and 14 days after the operation, the vWF level of the model group was significantly higher than that in blank control and sham operation groups ($P < 0.01$). Over a prolonged observation time in the model group, TF, TM, and vWF levels increased gradually, and the levels of TF and vWF increased sharply from 1 to 4 days after operation, which peaked at 10 days after the operation and then decreased rapidly. TM levels increased the most at 4–7 days after the operation, which peaked at 7 days after the operation and then began to decrease. **Conclusions** The formation of rat CRT is closely related to abnormal levels of TF, TM, and vWF in serum.

【Keywords】 catheter-related thrombosis; tissue factor; thrombomodulin; von Willebrand factor; rats

导管相关性血栓 (catheter-related thrombosis, CRT) 是指导管留置期间或是移除后 7 d 内, 在留置导管的静脉或邻近静脉内以及导管外壁出现血凝块, 附壁血栓可自导管向血管腔内延伸扩展^[1-2]。有研究报道, CRT 发生率为 10.30% ~ 30.77%^[3-4], 它可导致导管功能丧失, 增加患者的医疗风险和住院费用^[5]。早在 19 世纪, Virchow 提出血栓形成条件包括血管内皮损伤、血流状态改变和血液高凝状态^[6], 该理论同样适用于 CRT 的形成。无论是经典理论, 还是近来的研究发现, 血管内皮损伤始终参与众多血栓性疾病的形成。本研究通过颈外静脉置管构建大鼠 CRT 模型, 检测并分析组织因子 (TF)、血栓调节蛋白 (TM) 及血管性假血友病因子 (vWF) 3 种血管内皮损伤标志物在大鼠血液中的含量变化, 探讨其与 CRT 形成的关系, 为 CRT 的预防、诊断和治疗提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠 120 只, 12 周龄, 体重 160 ~ 210 g, 均购自并饲养于广西医科大学实验动物中心 [SCXK (桂) 2020-0004], 实验前适应性饲养 1 周, 均给标准饲料喂养, 自由饮水, 湿度为 50% ~ 60%, 室温为 20℃ ~ 25℃, 光线和通风情况均良好。无菌手术在广西医科大学实验动物中心屏障动物实验设施进行 [SYXK (桂) 2020-0003], 所有实验操作均获得广西医科大学动物实验伦理委员会的批准 (201808009), 在研究过程中, 实验者严格遵循国际实验动物福利伦理“3R”原则, 给予大鼠应有的人道关怀。

1.2 主要仪器与试剂

酶标仪 (Thermo 公司); 离心机 (TD5A-WS, 湖南湘仪); 切片机 (RM2245, 德国 Leica 公司); 生物

组织自动包埋机 (HD-310, 湖北慧达仪器有限公司); 紫外可见分光光度计 (UV-5200PC, 上海元析); 正置荧光显微镜 (BX53, 日本 Olympus 公司); 大鼠组织因子 (TF) 酶联免疫试剂盒 (96T, 武汉华美生物工程有限公司, 批号: CSB-E07914r); 大鼠血栓调节蛋白 (TM) 酶联免疫试剂盒 (96T, 武汉华美生物工程有限公司, 批号: CSB-E07939r); 大鼠血管性假血友病因子 (vWF) 酶联免疫试剂盒 (96T, 武汉华美生物工程有限公司, 批号: CSB-E08438r); 1% 戊巴比妥钠及 1# (硅胶) 小鼠颈静脉插管 (思科诺生物科技 (北京) 有限公司); 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)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组及造模

采用 sjwz 动物随机分组软件, 将 120 只 SD 大鼠分为空白对照组 ($n = 40$ 只)、假手术组 ($n = 40$ 只)、模型组 ($n = 40$ 只), 各组又分为术后 1 d、4 d、7 d、10 d、14 d 5 个亚组, 每个亚组各 8 只。模型组: 参照课题组前期实验手术方式^[7], 行大鼠腹腔内麻醉 (1% 戊巴比妥钠, 按 40 mg/kg 计算), 待麻醉满意后, 大鼠予仰卧位固定, 完成备皮和消毒后, 沿颈中线偏右侧 (约 0.5 cm) 作一纵行切口, 钝性分离皮下组织, 暴露并完全游离右颈外静脉 (长约 1 ~ 1.5 cm), 在静脉管壁上全层剪一“V”形小口, 约占其周长的 1/3 ~ 1/2, 将末端连接有 1 mL 注射器的小鼠颈静脉硅胶导管经由“V”形小口处置入 2 ~ 2.5 cm, 推抽注射器, 见有血液回流且推注顺畅, 予 0.9% 氯化钠注射液冲管后, 导管末端用不锈钢堵头封管。以 4-0 号线结扎固定近、远心端导管, 并将导管连同附近的少许肌肉缝合 2 ~ 3 针进行固定。导管远心端取长约 1 ~ 1.5 cm 埋于手术切口皮下, 最后缝合切口。假手术组: 暴露右颈外静脉后, 不行静脉切开, 立即缝合手术切口。空白对照组: 不做任何手术处

理,予正常饲养。术毕,均以 0.5% 碘伏消毒手术切口,保温(室温约 24℃),大鼠麻醉复苏后予正常分笼饲养。

1.3.2 大鼠样本取材、处理

于术后 1 d、4 d、7 d、10 d、14 d,分别从三组中随机取大鼠 8 只,待大鼠麻醉满意后,于腹部作一长约 3 cm 纵行切口,暴露腹主动脉后,行腹主动脉采血,每只抽取全血 5 mL,采血完成后逐层缝合腹壁切口。将血标本用离心机以 4000 r/min 速度离心 5 min 制备血清,放入 -80℃ 深低温冷冻冰箱保存备测。大鼠采血后实行安乐死,假手术组与模型组,沿原手术切口切开皮肤,钝性分离皮下组织,暴露右颈外静脉后,截取右颈外静脉至上腔静脉段(长约 2 cm)的血管组织作为标本。空白对照组取与假手术组、置管组相同部位、相同长度的血管组织作为标本,用 10% 福尔马林液固定 48 h,脱水后石蜡包埋、切片,并行 HE 染色,显微镜下观察血栓的病理情况。取材术后,严格遵照动物实验伦理委员会的要求安置处理所有实验大鼠。

1.3.3 大鼠血清 TF、TM、vWF 浓度检测

血清 TF、TM、vWF 含量采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法测定,严格按照试剂盒说明书标准进行实验操作,最后通过专业 Curve Expert 软件绘制标准曲线,根据标准曲线换算出待测样品的血清 TF、TM、vWF 含量。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件分析数据,计量资料以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组均数间比较采用单因素方差分析和两两比较的 LSD 或 Tamhane

检验。 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物一般情况及病理学结果

术后所有大鼠精神佳、正常进食、活动良好,实验期间,大鼠均存活。实验中,成功建立大鼠右颈外静脉导管留置模型 40 例,置管成功率为 100%,并有 34 只发生 CRT,CRT 发生率为 85%。模型组术后 1 d、4 d,血栓形成率分别为 50.0%(4/8)、75.0%(6/8);术后 7 d、10 d、14 d 血栓形成率均为 100.0%(8/8)。笔者前期研究的病理结果示^[8]:空白对照组及假手术组,血管内膜完整,管腔内均无血栓形成。模型组术后 1~4 d 是 CRT 的形成阶段,均为混合血栓,镜下可见血小板小梁及梁间有红细胞分布;术后 7~14 d 为 CRT 机化的发展阶段,随着时间的推移,镜下可见血栓与血管壁黏连面积增大、纤维增生及毛细血管生成增多,且血管壁炎症浸润程度加重;术后 14 d,镜下见血栓被肉芽组织完全替代,血管腔出现再通。

2.2 同组不同留置时间 TF、TM、vWF 含量变化

空白对照组及假手术组 TF、TM、vWF 的含量在不同时间点的差异无统计学意义($P > 0.05$)。模型组术后不同时间点 TF、TM、vWF 比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。术后,模型组大鼠血清 TF、TM、vWF 含量随时间逐渐增加,其中 TF、vWF 含量在术后 1~4 d 急剧上升,术后 10 d 达到峰值,随后迅速下降;TM 含量在术后 4~7 d 骤升,术后 7 d 达到峰值,随后开始下降并逐渐稳定,但仍高于术后 4 d 水平。

表 1 模型组不同时间点 TF、TM、vWF 浓度比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of TF, TM and vWF concentrations at different time points in the model group

组别 Groups	只数 Number	组织因子(pg/mL) Tissue factor	血栓调节蛋白(ng/mL) Thrombomodulin	血管性假血友病因子(ng/mL) Von Willebrand factor
术后 1 d 1 d after operation	8	33.802±6.390	13.265±2.845	540.450±101.738
术后 4 d 4 d after operation	8	46.259±6.953 ^{*\$}	25.107±2.787	755.475±106.433 ^{\$}
术后 7 d 7 d after operation	8	56.836±11.352 ^{*△}	51.352±4.223 [#]	770.325±108.022 ^{\$}
术后 10 d 10 d after operation	8	60.447±8.523 ^{*△}	38.408±4.526 ^{#**}	773.775±110.897 ^{\$}
术后 14 d 14 d after operation	8	36.865±4.703	40.510±4.439 ^{#**}	664.275±117.066 ^{\$}
F	/	17.738	117.951	6.772
P	/	0.000	0.000	0.000

注:与术后 1、14 d 比较,^{*} $P < 0.05$;与术后 4 d 比较,[△] $P < 0.05$;与术后 1、4 d 比较,[#] $P < 0.05$;与术后 7 d 比较,^{**} $P < 0.05$;与术后 1 d 比较,^{\$} $P < 0.05$ 。
Note. Compared with 1 and 14 days after surgery, ^{*} $P < 0.05$. Compared with 4 days after surgery, [△] $P < 0.05$. Compared with 1 and 4 days after surgery, [#] $P < 0.05$. Compared with 7 days after surgery, ^{**} $P < 0.05$. Compared with 1 day after operation, ^{\$} $P < 0.05$.

2.3 相同留置时间,不同组 TF、TM、vWF 含量变化

模型组发生 CRT 大鼠的 TF、TM、vWF 含量均较空白对照组和假手术组显著升高 ($P<0.01$), 模型组发生 CRT 大鼠的 TM 含量较未发生 CRT 大鼠明显升高 ($P<0.01$), 模型组未发生 CRT 大鼠的 TM 含量较假手术组显著升高 ($P<0.01$), 模型组未发生 CRT

大鼠的 TM、vWF 含量较空白对照组明显升高 ($P<0.01$), 见表 2。术后各个时间点, 模型组 TF、TM 含量均较空白对照组及假手术组明显升高 ($P<0.01$), 见表 3、表 4。术后 1 d, 模型组 vWF 含量较空白对照组明显升高 ($P<0.01$); 术后 4 d、7 d、10 d、14 d, 模型组 vWF 含量较空白对照组及假手术组显著升高 ($P<0.01$), 见表 5。

表 2 TF、TM、vWF 的浓度在不同组间比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of TF, TM and vWF concentrations among different groups

组别 Groups	只数 Number	组织因子 (pg/mL) Tissue factor	血栓调节蛋白 (ng/mL) Thrombomodulin	血管性假血友病因子 (ng/mL) Von Willebrand factor
模型组未发生 CRT No CRT occurred in the model group	6	38.074±10.742	18.260±7.357 *	588.433±102.081 [△]
模型组发生 CRT CRT occurs in the model group	34	48.389±12.921 *	36.458±12.945 *	720.700±134.354 *
假手术组 Sham operation group	40	31.383±4.184	1.961±0.561	518.345±73.752
空白对照组 Blank control group	40	27.561±3.210	1.269±0.342	294.770±49.358
<i>F</i>	/	31.018	101.353	156.292
<i>P</i>	/	0.000	0.000	0.000

注:与空白对照组及假手术组比较, * $P<0.05$;与空白对照组比较, [△] $P<0.05$ 。

Note. Compared with the blank control group and sham operation group, * $P<0.05$. Compared with the blank control group, [△] $P<0.05$.

表 3 术后不同时间点三组大鼠血清中 TF 浓度的比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)
Table 3 Comparison of serum TF concentration in three groups of rats at different time points after operation

组别 Groups	只数 Number	术后 1 d 1 d after operation	术后 4 d 4 d after operation	术后 7 d 7 d after operation	术后 10 d 10 d after operation	术后 14 d 14 d after operation
空白对照组 Blank control group	40	26.918±2.079	27.372±2.543	27.434±3.060	27.250±5.331	28.829±2.524
假手术组 Sham operation group	40	28.196±2.532	30.958±3.603	34.018±5.743	31.471±2.920	32.270±3.998
模型组 Model group	40	33.802±6.390 *	46.259±6.593 *	56.836±11.352 *	60.447±8.523 *	36.865±4.703 *
<i>F</i>	/	6.240	25.107	33.371	44.752	8.772
<i>P</i>	/	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白对照组及假手术组比较, * $P<0.05$ 。

Note. Compared with the blank control group and sham operation group, * $P<0.05$.

表 4 术后不同时间点三组大鼠血清中 TM 浓度的比较 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)
Table 4 Comparison of serum TM concentration in three groups of rats at different time points after operation

组别 Groups	只数 Number	术后 1 d 1 d after operation	术后 4 d 4 d after operation	术后 7 d 7 d after operation	术后 10 d 10 d after operation	术后 14 d 14 d after operation
空白对照组 Blank control group	40	1.481±0.281	1.190±0.272	1.160±0.332	1.205±0.390	1.311±0.399
假手术组 Sham operation group	40	1.704±0.255	1.877±0.544	2.110±0.715	2.067±0.568	2.049±0.656
模型组 Model group	40	13.265±2.845 *	25.107±2.787 *	51.352±4.223 *	38.408±4.526 *	40.510±4.440 *
<i>F</i>	/	64.804	277.464	531.973	256.837	293.851
<i>P</i>	/	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白对照组及假手术组比较, * $P<0.05$ 。

Note. Compared with the blank control group and sham operation group, * $P<0.05$.

表 5 术后不同时间点三组大鼠血清中 vWF 浓度的比较 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of serum vWF concentration in three groups of rats at different time points after operation

组别 Groups	只数 Number	术后 1 d 1 d after operation	术后 4 d 4 d after operation	术后 7 d 7 d after operation	术后 10 d 10 d after operation	术后 14 d 14 d after operation
空白对照组 Blank control group	40	291.975±67.355	300.600±44.561	296.750±43.494	299.400±53.498	285.125±45.979
假手术组 Sham operation group	40	507.950±42.688	499.250±63.158	531.975±63.284	565.950±114.309	486.600±54.117
模型组 Model group	40	540.450±101.738 [△]	755.475±106.433 [*]	770.325±108.022 [*]	773.775±110.897 [*]	664.275±117.066 [*]
<i>F</i>	/	26.199	70.548	76.609	48.078	46.069
<i>P</i>	/	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白对照组及假手术组比较, * $P < 0.05$; 与空白对照组比较, [△] $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the blank control group and sham operation group, * $P < 0.05$. Compared with the blank control group, [△] $P < 0.05$.

3 讨论

血管内皮细胞 (vascular endothelial cell, VEC), 可以把血液中的血小板、凝血因子和有高度促凝作用的内皮下细胞成分隔开, 发挥物理屏障作用, 而且可分泌多种生物活性物质, 维持血管内稳态, 抑制血栓形成。经过一个多世纪, Virchow 的血栓形成机制虽已得到不断的丰富和发展, 但 Virchow 机制中哪个因素对 CRT 形成起主导作用, 仍有待考究。随着分子生物学技术的发展, 着手从分子和蛋白水平探讨内皮损伤与 CRT 的关系, 对深入研究 CRT 的形成机制尤为重要。

本研究发现, 内皮损伤程度与导管留置时间成正比, 内皮损伤越重, CRT 发生率越高。导管从穿刺到留置, 都存在血管内皮损伤的危险因素, 最终导致 CRT 的形成。本研究在建立导管留置模型时, 因大鼠无意识、体积小及颈外静脉解剖位置的特殊性, 使体表盲穿置管无法进行。因此置管手术只能在大鼠麻醉状态下, 通过依层切开皮肤、皮下组织, 暴露右颈外静脉后, 在血管壁上剪一“V”形小口进行置管, 这是血管内皮损伤的直接原因。内皮损伤后, 其物理屏障功能遭到破坏, 血小板与内膜的接触机会增加, 血小板和凝血因子 XII 被激活; 而且损伤的 VEC 会释放促凝因子, 激活凝血因子 VII, 随着内、外源性凝血过程的启动, 促使 CRT 的形成。其次, 导管作为异物, 留置过程中对血管壁存在机械刺激, 易致内膜损伤; 导管留置使局部血流速度变缓, 被激活的凝血因子易在局部达到凝血需要的浓度, 而血液瘀滞可引起血管内膜局部缺血缺氧, 血管内皮细胞变性, 暴露内皮下胶原, 从而引发凝血过程^[6], 加速 CRT 的形成。

有研究表明, 留置针置管可改变血液凝血物质的水平^[9]。组织因子 (tissue factor, TF) 是凝血级联反应的主要启动因子, 血管壁遭到破坏时, VEC 释

放的 TF 暴露于血液中, 与凝血因子 VII/VIIa 结合发挥凝血作用, 进而激活凝血因子 IX、X, 可致凝血酶生成^[10-11], 外源性凝血途径被启动, 促使血栓形成。临床研究发现, 行全膝关节置换术患者血浆 TF 水平与术后 DVT 的发生呈正相关 ($r = 0.673$, $P < 0.05$), TF 的表达在血栓患者中上调^[12]。本研究结果表明, 模型组 TF 含量较空白对照组及假手术组明显升高 ($P < 0.01$)。随着血栓的演变, 模型组 TF 含量逐渐升高, 术后 1~4 d 增幅最大, 术后 10 d 含量达到峰值, 随后骤降至术后 1 d 水平。血栓调节蛋白 (thrombomodulin, TM), 在 VEC 破坏时会大量释放, 其通过凝血酶发挥其生物学效应, 还能增加蛋白 C 的活化效率来发挥其抗凝作用。在大鼠深静脉血栓 (deep venous thrombosis, DVT) 模型实验中发现, 血栓自然演变过程中, 模型组各时间点血浆中 sTM 浓度均显著高于对照组^[13]。有学者认为, TM 是 DVT 形成的重要标志物^[14]。不少临床研究也报道, 骨外伤、骨折及关节置换术后患者, 血栓组 TM 水平显著高于非血栓组^[15-18]。本研究结果显示: 模型组未发生 CRT 大鼠的 TM 含量较假手术组和空白对照组显著升高 ($P < 0.01$); 模型组 TM 含量较空白对照组及假手术组明显升高 ($P < 0.01$); 模型组 TM 含量进行性升高, 术后 4 d 含量急速上升且在术后 7 d 达到最高值, 随后逐渐下降并保持着高于术后 4 d 的稳定水平。血管性假血友病因子 (von Willebrand factor, vWF), 在凝血过程中通过发挥桥梁作用来介导血小板与内皮下胶原之间发生黏附, 其也是凝血因子 VIII 在血液中的载体。VEC 损伤时 vWF 释放入血, 促使血小板与管壁相互作用, 引发血小板不断地黏集使血液处于高凝状态, 最终导致血栓形成。动物研究发现, 兔子耳缘静脉置入留置针后, 血浆中 vWF 浓度与血栓发生率成正比^[9,19]。Liu 等^[20]的临床研究报道, 血浆中 vWF 的浓度与血栓形成正相关。本研究也发现, 模型组未发生 CRT

大鼠的 vWF 含量较空白对照组明显升高 ($P < 0.01$); 术后 4 d、7 d、10 d、14 d, 模型组 vWF 含量较空白对照组及假手术组显著升高 ($P < 0.01$); vWF 含量随时间逐渐升高, 术后 1~4 d 含量骤升, 术后 10 d 含量达到峰值, 术后 14 d 含量急剧下降。

本研究中, 置管手术和导管留置直接导致模型组大鼠血管内皮损伤, 诱发各种促血栓分子大量释放, 这是模型组未发生 CRT 大鼠 TM、vWF 含量较假手术组或空白对照组升高的原因。这部分大鼠镜下虽未见 CRT, 但并不排除血栓形成的可能, 因早期的新鲜血栓, 体积较小, 很有可能已被软化、溶解。另外, 手术创伤介导的 VEC 损伤, 引起凝血系统激活及血小板活化迅速启动, 可能是模型组术后 1~4 d, TF、vWF 含量骤升的主要原因。VEC 自身具有抗凝特性, 其合成、分泌的 TM 与血液中的凝血酶结合, 并激活蛋白 C, 灭活凝血因子, 发挥抗凝作用。因此术后早期 TM 含量并没有大幅增加。术后 4 d 凝血系统激活最为迅速, 凝血酶生成增多刺激性引起 VEC 释放 TM。随着导管留置时间延长, 血栓体积增大及不断机化, 血液流速渐缓, 内膜缺血缺氧加重, VEC 损伤进行性加重, 此时促凝因子合成释放增加、凝血系统激活及血小板黏附、黏集反应增强, 因此术后 1~10 d, TF、TM、vWF 含量总体上呈现时间依赖性上升。术后 14 d, 血栓已完全机化, 毛细血管生成增多, 新生内皮细胞逐渐增殖, 内皮功能逐渐恢复, 凝血系统激活与血小板活化等过程减弱, VEC 释放 TF、TM、vWF 也随之下降。

4 小结

在血管内皮损伤为始发因素的前提下, 以 VEC 损伤介导的凝血系统激活、血小板活化及血液流变学改变等多种因素可能共同参与了 CRT 形成, 可见 CRT 形成的调控网络是一个极其复杂多变的动态过程。本研究发现, TF、TM、vWF 的高表达, 与血管内皮损伤程度平行, 在 CRT 形成过程中, 可能起到关键作用。为进一步在分子、细胞层面研究 CRT 形成机制奠定了基础。

参考文献:

[1] Debourdeau P, Kassab Chahmi D, Le Gal G, et al. 2008 SOR guidelines for the prevention and treatment of thrombosis associated with central venous catheters in patients with cancer: report from the working group [J]. Ann Oncol, 2009, 20(9): 1459-1471.

[2] Lee AY, Kamphuisen PW. Epidemiology and prevention of catheter-related thrombosis in patients with cancer [J]. J Thrombo Haemost, 2012, 10(8): 1491-1499.

[3] Son JT, Min SY, Kim JI, et al. Thrombolytic therapy using urokinase for management of central venous catheter thrombosis [J]. Vasc Specialist Int, 2014, 30(4): 144-150.

[4] Liu KY, Zhou Y, Xie W, et al. Handgrip exercise reduces peripherally-inserted central catheter-related venous thrombosis in patients with solid cancers: A randomized controlled trial [J]. Int J Nurs Stud, 2018, 86: 99-106.

[5] Evans RS, Sharp JH, Linford LH, et al. Reduction of peripherally inserted central catheter-associated DVT [J]. Chest, 2013, 143(3): 627-633.

[6] 申培红. 临床病理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014.

[7] 韦艳, 应燕萍, 凌瑛, 等. 导管留置大鼠局部血栓形成及一氧化氮和组织因子血清水平变化 [J]. 微循环学杂志, 2020, 30(3): 1-4, 10.

[8] 韦艳, 应燕萍, 甘晓, 等. 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 [J]. 护理学杂志, 2019, 34(18): 48-50.

[9] 莫选荣, 李翠平, 罗心静, 等. 静脉留置针对兔耳缘静脉血栓形成及血浆组织因子与血管性假血友病因子水平的影响 [J]. 微循环学杂志, 2014, 24(1): 19-20, 22.

[10] Konoeda H, Yamaki T, Hamahata A, et al. Incidence of deep vein thrombosis in patients undergoing breast reconstruction with autologous tissue transfer [J]. Phlebology, 2017, 32(4): 282-288.

[11] Jeraq M, Cote DJ, Smith TR. Venous thromboembolism in brain tumor patients [J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 906: 215-228.

[12] 吴延平, 贾广红, 焦兆德, 等. 组织因子测定对全膝关节置换术后下肢深静脉血栓形成的意义 [J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(10): 2590-2592.

[13] 成曦, 孙宝兰, 苏张瑶, 等. 血栓调节蛋白在大鼠深静脉血栓模型中的表达及其意义 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(2): 193-199.

[14] Ahmad A, Sundquist K, Zöller B, et al. Identification of genetic aberrations in thrombomodulin gene in patients with recurrent venous thromboembolism [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2017, 23(4): 319-328.

[15] 郑雅宾, 王承波, 王海娟. TM、PIC、D-二聚体联合诊断骨外术后静脉血栓的价值分析 [J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(6): 827-830.

[16] 王秀袖. 多指标联合检测诊断下肢骨折患者术后深静脉血栓形成的价值 [J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(6): 698-702.

[17] 孟英, 刘宁, 薛冰蓉, 等. 应用凝血标志物诊断创伤骨科术后静脉血栓形成的病例对照研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(10): 751-755.

[18] 黄声淳, 张劲丰, 蔡惠兴, 等. 应用抗凝-纤溶标志物联合检测对髋关节置换术后静脉血栓进行诊断及疗效评估研究 [J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(2): 294-298.

[19] 卢孟密, 张丽凤, 廖海涛, 等. 静脉留置针致血栓形成与 vWF、DD 浓度关系的动物实验研究 [J]. 中国实用护理杂志, 2014, 30(31): 18-21.

[20] Liu L, Ling J, Ma Z, et al. Changes in von Willebrand factor and ADAMTS-13 in patients following arthroplasty [J]. Mol Med Rep, 2015, 11(4): 3015-3020.