doi:10.11659/jjssx.09E022149

·基础研究·

兔耳缘交替静脉滴注胺碘酮致血管损伤及修复的实验研究

潘 婉,郑 蓉,祝 炜,王 莉 (武汉市第一医院心血管内科,湖北 武汉 430000)

[摘 要] **目的** 探究兔耳缘交替静脉滴注胺碘酮对血管损伤和修复的影响。**方法** 取90只大耳白兔为实验对象,随机分为A组、B组和C组,每组30只。A组在滴注完毕后立即采集标本,B组滴注完毕后72 h收集标本,C组滴注完毕后1周收集样本。再将每组进一步随机分为6个亚组,即1 h组、2 h组、3 h组、4 h组、5 h组、6 h组,每组5只,并分别每1 h、2 h、3 h、4 h、5 h、6 h更换到另一侧耳缘静脉通道给药。肉眼观察兔耳缘静脉炎程度;ELISA检测C反应蛋白(CRP)浓度;HE染色检测炎症程度;TUNEL染色检测血管内皮细胞凋亡水平。**结果** A组中1~4 h组大耳白兔耳缘静脉均无明显肉眼可见的变化,5 h组1只大耳白兔输液部位红肿,6 h组1只大耳白兔出现血管轻微条索样改变。A组中1 h、2 h、3 h组CRP浓度比较差异无统计学意义($P>0.05$);4 h、5 h、6 h组CRP浓度逐渐增加($P<0.05$)。HE染色和TUNEL染色结果显示,A组4 h内血管炎症损伤程度最小,4 h开始炎症损伤逐渐增加,血管内皮细胞凋亡也明显增加;B组经72 h修复后血管炎症程度和细胞凋亡改善;C组经1周修复后血管炎症程度和细胞凋亡进一步改善。**结论** 交替静脉滴注胺碘酮在4 h内对静脉损伤的影响最小,兔耳缘血管内皮细胞的凋亡程度最轻,因此推荐最佳交替时间为4 h内。

[关键词] 交替静脉滴注;胺碘酮;血管内皮细胞凋亡;修复;静脉炎;血管损伤
[中图分类号] R339.16 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-09-29

Experimental study on vascular injury and repair induced by alternate intravenous instillation of amiodarone in rabbits marginal ear vein

PAN Wan, ZHENG Rong, ZHU Wei, WANG Li (Department of Cardiovascular Medicine, Wuhan First Hospital, Wuhan Hubei 430000, China)

Abstract: Objective To explore the effects of alternate intravenous instillation of amiodarone on the Vascular injury and repair of rabbit marrginal ear vein. **Methods** Ninety large-eared white rabbits were selected as experimental subjects and randomly divided into groups A, B and C, with 30 rabbits in each group. The samples of group A were collected immediately after the completion of the infusion, the samples of group B were collected 72 hours after the completion of the infusion, and the samples of group C were collected 1 week after the completion of the infusion. Each group was further randomly divided into 6 subgroups, namely, 1-hour group, 2-hour group, 3-hour group, 4-hour group, 5-hour group and 6-hour group, with 5 rabbits in each group, and amiodarone was instilled into the other side of the margin ear vein every 1 hour, 2 hours, 3 hours, 4 hours, 5 hours and 6 hours. The degree of phlebitis of ear margin was observed. ELISA was used to detected the C-reactive protein (CRP) concentration. HE staining was used to determine the degree of inflammation. TUNEL was used to

[基金项目] 湖北省自然科学基金(2019CFC902)
[通信作者] 王 莉,E-mail:Wangli99@163.com

[30] Watanabe R, Maeda T, Zhang H, et al. MMP (matrix metalloprotease)-9-producing monocytes enable T cells to invade the vessel wall and cause vasculitis[J]. Circ Res, 2018, 123(6): 700-715. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313206.

[31] Jimi E, Takakura N, Hiura F, et al. The role of NF-κB in physiological bone development and inflammatory bone diseases: is NF-κB inhibition "killing two birds with one stone"?[J]. Cells, 2019, 8(12): 1636. doi: 10.3390/cells8121636.

[32] Thoma A, Lightfoot AP. NF-κB and inflammatory cytokine signalling: role in skeletal muscle atrophy[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1088: 267-279. doi: 10.1007/978-981-13-1435-3_12.

[33] Li Y, Yang Y, Guo J, et al. Spinal NF-κB upregulation contributes to hyperalgesia in a rat model of advanced osteoarthritis[J]. Mol Pain, 2020, 16: 1744806920905691. doi: 10.1177/1744806920905691.

[34] Dai X, Thiagarajan D, Fang J, et al. SM22α suppresses cytokine-induced inflammation and the transcription of NF-κB inducing kinase (Nik) by modulating SRF transcriptional activity in vascular smooth muscle cells[J]. PLoS One, 2017, 12(12): e0190191. doi: 10.1371/journal.pone.0190191.

[35] Wen F, Sun X, Sun C, et al. TAGLN is downregulated by TRAF6-mediated proteasomal degradation in prostate cancer cells[J]. Mol Cancer Res, 2021, 19(7): 1113-1122. doi: 10.1158/1541-7786.

[36] 张瑛瑜,徐宏仙,杨林峰,等. 三氯生通过ERK/NF-κB/MMP-2/-9途径促进卵巢癌细胞迁移和侵袭[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(14): 3089-3092. doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2021.14.048.

(编辑:龙小芬)

detect the apoptosis level of vascular endothelial cells. **Results** In group A, there was no visible change in the margin ear vein of rabbit in the 1- to 4-hour groups; the infusion site of 1 large-eared white rabbit in 5-hour group was red and swollen, while the blood vessel of 1 large-eared white rabbit in 6-hour group was slightly stringlike. The was no statistically significant difference in C-reactive protein (CRP) concentration among the 1 h, 2 h, and 3 h groups of group A (P>0.05); and the CRP concentrations gradually increased in the 4-hour, 5-hour, and 6-hour groups (P<0.05). The results of HE staining and TUNEL staining showed that the vascular inflammatory injury was minimal within 4 hours in group A, while the inflammatory injury gradually aggravated from 4 hours onwards, and the endothelial cell apoptosis also significantly increased. In group B, injury inflammatory and cell apoptosis were improved after 72 hours of repair. In group C, the degree of vascular inflammatory injury and cell apoptosis further improved after 1 week of repair. **Conclusion** Alternate intravenous instillation of amiodarone has the least injury to the vein within 4 hours, and the lightest degree of apoptosis of endothelial cells in rabbit margin ear vein; therefore, the best alternate time is recommended to be within 4 hours.

Keywords: alternate intravenous instillation; amiodarone; apoptosis of vascular endothelial cells; repair; phlebitis; vascular injury

外周静脉滴注是临床常用的给药途径之一,而静脉滴注刺激性药物,如葡萄糖酸钙、甘露醇等都可引起局部刺激症状和化学性静脉炎,出现组织红肿、疼痛、血管硬化甚至组织坏死等情况[1]。尽管近年来临床上通过改进输液工具、选用外周静脉等刺激性较小的静脉给药途径、加用局部抗炎药或止痛药等来改善上述情况,但静脉损伤发生率仍居高不下[2]。有临床研究显示,交替静脉滴注甘露醇能够降低静脉炎发生率[3]。然而,目前在交替滴注时间方面仍缺少相关证据和实验数据支持。故本研究选择具有刺激性的胺碘酮进行实验,探讨不同间断时间交替静脉滴注胺碘酮对血管损伤和修复情况的影响,以期为强刺激性药物静脉治疗方案提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

同种新西兰大耳白兔90只购自湖北省实验动物研究中心[生产许可证号:SCXK(鄂)2020-0018],雌雄不限,健康级,体质量2.5~3.0 kg,分笼饲养,在24 ℃条件下适应性喂养7 d,自由饮水摄食。所有大耳白兔均无耳缘静脉畸形、损伤,皮下无瘀点、瘀斑。

1.2 实验用药、试剂和仪器

盐酸胺碘酮注射液(批号:J20180044)购自赛诺菲(杭州)制药有限公司。TM24G密闭式静脉留置针、3M透明敷贴购自美国BD公司;5 mL、50 mL注射器购自苏州林华医疗器械股份公司;70%医用酒精、10%福尔马林中性固定液购自南京化学试剂有限公司;TUNEL试剂盒购自美国Promega公司;BMJ-1型生物组织包埋机购自天津天利航空机电有限公司;光学显微镜、荧光显微镜购自日本OLYMPUS公司。

1.3 实验分组及留置针操作

将90只大耳白兔随机分为A、B、C组,每组30只;再将每组进一步随机分为6个亚组,即1 h组、2 h组、3 h组、4 h组、5 h组、6 h组,每组5只。以兔外耳缘静脉为滴注部位。实验流程见图1。

采用兔架固定大耳白兔以限制其活动,去除各组兔双耳耳缘处兔毛,消毒后将针以15°~30°的角度刺入静脉,拔除针芯同时将导管全部送至静脉,3M透明敷贴固定,标明置管时间。所有大耳白兔均从左耳开始静脉滴注给药,按分组要求每1 h、2 h、3 h、4 h、5 h、6 h更换到另一侧耳缘静脉通道给药。持续滴注24 h后停止滴注并拔除留置针。滴注过程中每小时对输液部位静脉局部情况进行观察,记录静脉炎发生的时间和严重程度。

1.4 给药

参考盐酸胺碘酮注射液临床推荐给药方案,依据人和动物体表面积进行换算并确定最终给药浓度和剂量[4],即:前10 min按照8 mg/kg给药,速率为8 mg/min,溶于5.33 mL/kg的5%葡萄糖溶液中,确保药物浓度为1.5 mg/mL;随后按照20 mg/kg给药,速率为1 mg/min,溶于11.11 mL/kg的5%葡萄糖溶液中,确保药物浓度为1.8 mg/mL。6 h后维持滴注,将滴注速度减至0.5 mg/min。

1.5 标本收集和静脉炎发生情况观察

A组在滴注完毕后立即采集标本,B组滴注完毕后观察72 h收集标本,C组滴注完毕后观察1周,然后收集样本。具体标本采集步骤:肌肉注射麻醉各组大耳白兔,切取双耳3 cm×1 cm大小的活体标本,具体位置以穿刺静脉为中线左右两侧各宽0.5 cm,长度取近心端2.5 cm,远心端0.5 cm。依据美国静脉输液护理学会标准并且结合实验动物特点[5],删去“疼痛”这一评价标准,将静脉炎分为0~4级,见表1。

1.6 ELISA检测血清中C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)浓度

各组大耳白兔于穿刺点取1 mL静脉血至离心管中,离心后,收集上清液,ELISA检测CRP水平,操作严

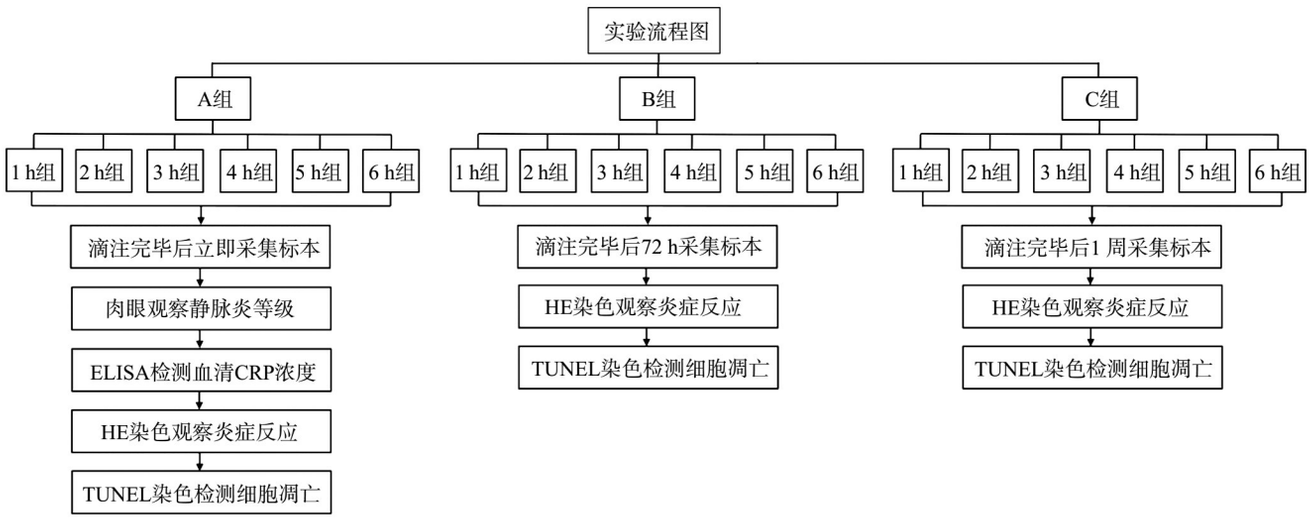


图1 兔耳缘血管交替静脉滴注胺碘酮致血管损伤及修复的实验流程图

表1 静脉炎等级划分

等级	症状
0级	无症状
1级	穿刺部位发红
2级	穿刺部位发红且肿胀
3级	穿刺部位发红,伴条索状物且可触摸到条索静脉
4级	穿刺部位发红,伴条索状物形成,可触摸到条索状静脉且长度大于2.5 cm,有浓液流出

格按照试剂盒说明书进行。

1.7 HE染色观察炎症程度

标本脱水后石蜡包埋,切成厚度为5 μm的切片,烤片后染色,中性树胶封片并在光学显微镜下观察。炎症等级分为4级[6]:血管周围结缔组织可见轻微充血水肿为无炎症反应;血管周围结缔组织存在淋巴细胞和少量浆细胞浸润,血管腔及血管壁无炎症细胞为轻度炎症;血管壁各层及血管周围结缔组织均发现浆细胞和淋巴细胞,少量中性粒细胞浸润为中度炎症;血管壁各层、血管腔以及血管周围结缔组织均可见中性粒细胞和淋巴细胞浸润,血管腔内发现较多坏死细胞碎片和渗出物为重度炎症。

1.8 TUNEL染色检测细胞凋亡情况

将组织切片脱蜡入水后荧光标记,PBS浸洗,甲醛固定,消化后置于平衡液中,烤箱烤片1 h,再次冲洗后中性树胶封片。凋亡细胞经荧光染色后呈亮绿色荧光,荧光显微镜下观察并计算阳性细胞数目。

1.9 统计学方法

统计学分析采用SPSS 19.0软件,计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料以频数表示,组间比较采用χ^2检验;以P<0.05为差异有统计学意义。

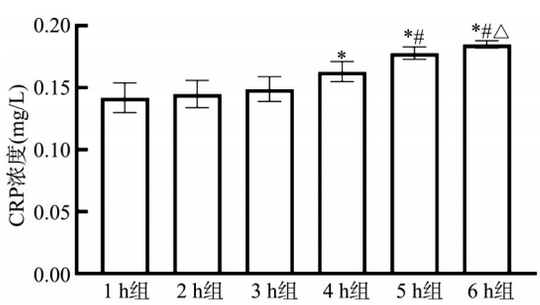
2 结果

2.1 A组中各亚组静脉炎等级比较

1~4 h组大耳白兔的兔耳缘静脉均未出现显著异常,5 h组大耳白兔中1只出现输液部位红肿,6 h组1只出现血管轻微条索样改变。

2.2 A组大耳白兔血清中CRP浓度比较

A组大耳白兔滴注完毕后其血清CRP浓度在1 h、2 h、3 h组间均无统计学差异(P>0.05),4 h、5 h、6 h组CRP浓度随静脉交替滴注时间的延长明显增加(P<0.05),见图2。



*:与1 h、2 h、3 h组比较,P<0.05;#:与4 h组比较,P<0.05;△:与5 h组比较,P<0.05

图2 A组中各亚组CRP浓度比较

2.3 各组大耳白兔耳缘静脉病理学改变

A组大耳白兔在交替滴注4 h内血管的损伤程度最小,4 h后血管排列紊乱,血管周围结构模糊,内皮细胞被严重破坏,静脉滴注完毕后取材,HE染色结果显示有大量炎症细胞浸润到血管内;B组大耳白兔耳缘在滴注完72 h后血管损伤得到明显修复;C组在滴注完1周后大耳白兔耳缘静脉血管无明显损伤,见图3。

2.4 不同时间炎症反应程度

A组在滴注完后4 h内静脉炎程度最轻,主要为无

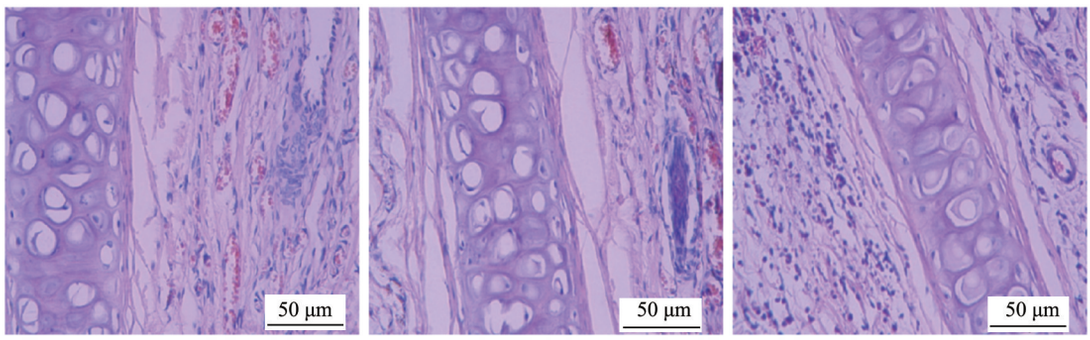


图3　各组大耳白兔耳缘静脉病理学改变

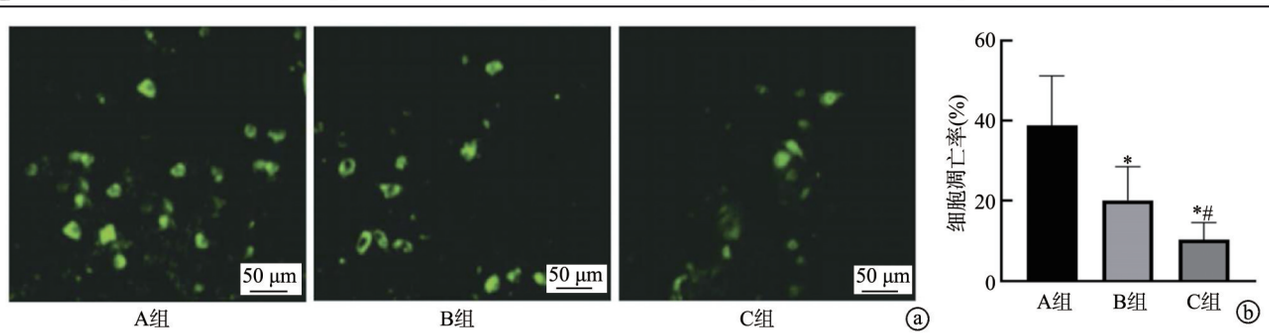
炎症或轻度炎症,4 h后逐渐转为中、重度炎症,A组中各亚组炎症程度比较,差异无统计学意义(χ^2=39.55,P<0.05)。与A组相比,B组在滴注完后72 h炎症程度得到改善,B组炎症程度多为无炎症或轻度炎症,较A组改善(P<0.05),B组内各亚组间无显著差异(P>0.05)。与B组相比,C组在滴注完1周后炎症明显修复,但炎症程度在1~6 h内没有明显差异(P>0.05),见表3。

2.5　各组细胞凋亡情况比较

A组大耳白兔血管内皮细胞在4 h内凋亡数量极少,4 h开始血管内皮细胞大量凋亡,凋亡率(35.2±16.34)%。静脉滴注完毕后立即取材发现A组大耳白兔内皮细胞大量凋亡;与A组相比,B组在静脉滴注72 h后TUNEL染色结果显示血管内皮细胞凋亡减少(P<0.05)。与B组相比,C组细胞凋亡进一步减少(P<0.05),表明血管内皮组织得到明显修复,见图4。

表3　各组不同时间炎症程度比较(只)

组别	1 h				2 h				3 h				4 h				5 h				6 h			
	无	轻	中	重	无	轻	中	重	无	轻	中	重	无	轻	中	重	无	轻	中	重	无	轻	中	重
A组	5	0	0	0	4	1	0	0	2	2	1	0	0	3	2	0	0	2	3	0	0	0	2	3
B组	1	3	1	0	1	3	1	0	1	3	1	0	1	3	1	0	2	2	1	0	2	3	0	0
C组	3	2	0	0	3	2	0	0	3	2	0	0	3	2	0	0	3	2	0	0	3	2	0	0



a:各组大耳白兔血管内皮细胞凋亡情况观察;b:各组细胞凋亡率统计　*:与A组比较,P<0.05;#:与B组比较,P<0.05

图4　各组大耳白兔血管内皮细胞凋亡情况比较

3　讨论

盐酸胺碘酮注射液治疗心律失常疗效明显,临床上常被用于室性和室上性心律失常的治疗[7]。但是胺碘酮容易刺激静脉,尤其是长时间滴注,会严重损伤血管内膜的内皮细胞,使得炎症细胞大量产生,且药物与血管壁接触时间越长,静脉炎发生率越高[8]。覃翠敏[9]发现,中心静脉穿刺能够较好地避免稀释泵入药物,减少静脉滴注药物对血管内皮的刺激,从而减少静脉炎,但是在一般临床工作中,受患者情况紧急、缺少足够时间进行中心静脉穿刺等因素的影响,多选择外周静脉给药。交替静脉滴注法就是2条静脉交替使用,这种方法可以在一定程度上减少药物对血管内膜的作用时间,从而减少药物外渗和对血管内膜的刺激,有助于降低静脉炎、药物外溢甚至组织坏死的发生风险[10]。

2016年美国静脉输液护理学会制定的静脉输液标准认为,输液时长及静脉滴注高渗透压药物等与静脉炎的发生有关[5]。有研究显示,胺碘酮导致的上肢

静脉输液性静脉炎多发生在24 h内[11],且为了避免后续恢复对静脉炎发生的影响,本研究A组大耳白兔持续滴注24 h胺碘酮后立即对静脉炎等级进行了观察,发现在1~4 h组中,大耳白兔的兔耳缘静脉未出现显著异常,表明在4 h内,静脉穿刺和输液操作没有引起明显的局部炎症或血管改变,但是随着交替静脉滴注时间的延长,存在发生输液性静脉炎的风险,并且可能会出现不同程度的局部炎症症状和血管改变。此外,本研究通过交替静脉滴注胺碘酮发现,A组血管周围4 h内轻度炎症逐渐发展为中度炎症,4 h后逐渐加重。Chiu等[12]研究发现,选择上肢静脉并且尽量避开关节和活动频繁部位进行静脉滴注,同时尽量建立2条甚至更多静脉通路,每4~6 h交替使用可有效降低胺碘酮滴注时静脉炎的发生率。本研究中A组在4 h内炎症细胞浸润逐渐加重,细胞凋亡也逐渐增加;B组从滴注4 h开始逐渐修复,细胞凋亡和炎症反应等均有所减轻;C组修复情况明显好于B组,且各亚组炎症程度无统计学差异,可见交替滴注4 h内损伤程度最轻,虽经72 h、1周的时间大耳白兔静脉滴注部位炎症可自行修复,但修复速度缓慢。

CRP是炎症指标,正常情况下其少量存在于血浆,但是当机体感染或组织受损出现炎症时其水平则会大幅增加[13]。CRP过量增加也是导致内皮细胞功能受损的重要因素[14]。闫鲜艳等[15]研究证实,CRP浓度的变化是在静脉持续滴注胺碘酮、乐凡命两类药物3 h开始逐步上升,持续滴注4 h、5 h显著提高,表明胺碘酮和乐凡命等药物能够引起炎症反应,促进CRP含量增加。本研究结果显示,静脉滴注胺碘酮4 h内血清CRP含量较低,4 h开始CRP含量逐渐升高,提示持续滴注4 h后炎症反应增强,揭示了控制静脉滴注交替时间在控制炎症反应中的重要性。

综上所述,兔耳缘交替静脉滴注胺碘酮在4 h内对静脉的损伤最小,兔耳缘血管内皮细胞的凋亡程度最轻,所以推荐最佳的交替时间为4 h以内。本研究为外周静脉滴注强刺激性药物时减少静脉炎提供了实验依据。

[参考文献]

[1] Mailhe M, Aubry C, Brouqui P, et al. Complications of peripheral venous catheters (PVCs): the need to propose alternative route of administration[J]. Int J Antimicrob Agents, 2020, 55(3): 105875. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.105875.

[2] 朱 蓓,马曾庆,马梦圆,等. Ⅰ期药物临床试验中静脉输液常见问题及对策[J]. 中国药业, 2020, 29(12): 35-37. doi: 10.3969/j.issn.1006-4931.2020.12.009.

[3] 尹春红. 交替静脉输注护理干预对甘露醇所致静脉炎发生率的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2014, 18(2): 75-76. doi: 10.7619/jcmp.201402027.

[4] 庄惠人. 酚妥拉明加林可霉素利多卡因凝胶处理胺碘酮输注外渗致静脉炎的动物实验研究[J]. 中华现代护理杂志, 2018, 24(17): 2036-2039. doi:10.3760/cma.j.issn.1674-2907.2018.17.011.

[5] Gorski LA. The 2016 infusion therapy standards of practice[J]. Home Healthc Now, 2017, 35(1): 10-18. doi: 10.1097/NHH.0000000000000481.

[6] 张 岚,周利娟. 大黄复方膏外敷预防留置针静脉治疗所致机械性静脉炎的实验研究[J]. 黑龙江医药, 2019, 32(4): 777-779. doi: 10.14035/j.cnki.hljyy.2019.04.008.

[7] 李 雅,赵文萍,冯惠平,等. 胺碘酮联合厄贝沙坦治疗慢性心力衰竭合并心律失常的临床效果[J]. 中国医药, 2020, 15(1): 26-29. doi:10.3760/j.issn.1673-4777.2020.01.007.

[8] 王 莉,郑 蓉,陈满满,等. 胺碘酮注射液致外周静脉损害的预防性护理方案构建与应用[J]. 广西医学, 2022, 44(18): 2196-2200. doi:10.11675/j.issn.0253-4304.2022.18.28.

[9] 覃翠敏. 胺碘酮不同给药方式对静脉炎症的影响——评《临床检验医学案例分析》[J]. 检验医学, 2020, 35(3): 290. doi: 10.3969/j.issn.1673-8640.2020.03.024.

[10] 孙 杰,廖菊英,谢思敏,等. 神经科患者外周静脉双通道交替使用对防范静脉外渗的效果观察[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(28): 132-133. doi: 10.16282/j.cnki.cn11-9336/r.2020.28.091.

[11] 曹利芸. 穿刺部位及方法对胺碘酮致静脉炎的影响[J]. 西部医学, 2011, 23(2): 380-381. doi: 10.3969/j.issn.1672-3511.2011.02.078.

[12] Chiu PC, Lee YH, Hsu HT, et al. Establish a perioperative check forum for peripheral intravenous access to prevent the occurrence of phlebitis[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2015, 31(4): 215-221. doi: 10.1016/j.kjms.2015.01.007.

[13] 王 英,李福珍,朱海云. 阿奇霉素对支原体肺炎患儿血栓性静脉炎发生的影响及临床护理[J]. 血栓与止血学, 2019, 25(5): 873-875. doi:10.3969/j.issn.1009-6213.2019.05.061.

[14] 杨雪佳,胡 靖,张媛媛,等. 盐酸法舒地尔对PCI术后慢血流冠心病患者内皮细胞损伤的作用及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(13): 31-36. doi: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.13.007.

[15] 闫鲜艳,郭锦丽,赵清丽,等. 经外周输注胺碘酮与乐凡命导致静脉炎极限时间实验研究[J]. 护理研究, 2020, 34(8): 1356-1360. doi:10.12102/j.issn.1009-6493.2020.08.010.

(编辑:杨 颖)