



Avaliação microestrutural por microscopia confocal e eletrônica em trombos desenvolvidos em cateteres venosos centrais

Microstructural evaluation by confocal and electron microscopy in thrombi developed in central venous catheters

Evaluación microestructural por microscopia confocal y electrónica en trombos desarrollados en catéteres venosos centrales

Thabata Coaglio Lucas¹, Eliata Ester da Silva¹, Danilo Olzon Dionysio Souza², Amanda Rodrigues dos Santos¹, Maristela Oliveira Lara¹

Como citar este artigo:

Lucas TC, Silva EE, Souza DOD, Santos AR, Lara MO. Microstructural evaluation by confocal and electron microscopy in thrombi developed in central venous catheters. Rev Esc Enferm USP. 2017;51:e03247. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1980-220X2016038103247>

¹ Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Departamento de Enfermagem, Diamantina, MG, Brasil.

² Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Departamento do Instituto de Ciência e Tecnologia, Diamantina, MG, Brasil.

ABSTRACT

Objective: Evaluating thrombi microstructure developed in central venous catheters using confocal and electron microscopy. **Method:** An experimental, descriptive study carrying out a microstructural evaluation of venous thrombi developed in central venous catheters using Scanning Electron Microscopy and Confocal Laser Scanning Microscopy. **Results:** A total of 78 venous catheters were collected over a period of three months. Different fibrin structures were distinguished: fibrin plates, fibrin network, and fibrin fibers. It was observed that the thrombus had thick fibrin plates adhered to the catheter wall openings in both a catheter with three days of permanence as well as in a catheter with 20 days of insertion in the patient. However, a greater amount of erythrocytes and fibrin fibers were found in the central region of the thrombus. **Conclusion:** This study contributes to improving health care and can have a positive impact on clinical practice, as easy adherence of platelets and fibrins to the catheter wall demonstrated in this study makes it possible to adopt thrombus prevention strategies such as therapy discontinuation for an extended period, blood reflux by a catheter, slow infusion rate and hypercoagulo pathyclinical conditions.

DESCRIPTORS

Catheters; Central Venous Catheters; Microscopy; Fibrin; Nursing Care.

Autor correspondente:

Thabata Coaglio Lucas
Rua Valmira Pires, 140, Apto. 204 – Bairro Fátima
CEP 39100-000 – Diamantina, MG, Brasil
thabata.coaglio@ufvjm.edu.br

Recebido: 05/10/2016
Aprovado: 11/04/2017

INTRODUÇÃO

A inserção do cateter venoso central (CVC) é frequente nas Unidades de Terapia Intensiva com finalidades de monitorização hemodinâmica, manutenção de uma via de infusão de soluções, medicações, nutrição parenteral, hemodiálise, coleta de amostras sanguíneas, dentre outras. Os cateteres venosos centrais (CVCs) são radiopacos, feitos de silicone, poliuretano ou teflon, podem ter de um a três lumens, dispostos em paralelo na extremidade proximal, e geralmente apresentam orifícios laterais em sua extremidade distal⁽¹⁻³⁾. Os orifícios podem induzir à formação de fibrina e posterior desenvolvimento do trombo. A bainha de fibrina é composta por fibrinogênio, albumina, lipoproteínas e fatores de coagulação que iniciam dentro de 24 horas após a inserção do cateter⁽¹⁻⁴⁾. A fibrina é a primeira proteína estrutural que se forma na composição do trombo e pode acarretar oclusão do cateter, extravasamento de líquido infundido, troca de cateter e perda de acesso secundário à trombose⁽⁵⁾. O mau funcionamento do cateter ocorre com frequência devido à formação de trombos, e tem sido a principal indicação para a sua remoção⁽⁵⁻⁷⁾. A formação inicial e a maturação dos diferentes componentes do tecido trombótico podem propiciar a oclusão dos orifícios laterais dos CVCs, sobretudo devido a diferentes conformações da fibrina no interior do orifício e à sua adsorção aos materiais poliméricos. A deposição de fibrina no cateter faz com que a superfície se encapsule, formando um invólucro na ponta distal do cateter⁽⁴⁻⁵⁾. O processo de adsorção de proteínas ao polímero pode se tornar irreversível e, mesmo com a introdução de agentes fibrinolíticos, a dissolução do tecido torna-se ineficaz, devido às ligações covalentes fortes entre as proteínas plasmáticas e a parede do cateter⁽²⁻³⁾. A ativação da cascata de coagulação aumenta a tendência à formação de trombos, uma importante causa de complicações em pacientes que fazem uso do cateter venoso central, levando não somente à trombose no local próximo ao acesso vascular, mas também à formação de êmbolos, a trombose venosa profunda e ao possível desenvolvimento de isquemia cardíaca⁽⁸⁻¹⁴⁾. A análise em Microscopia Confocal de Varredura a Laser é uma técnica óptica baseada na indução de fluorescência por um fóton de absorção, o que mostra uma alta potencialidade em caracterizar amostras biológicas em estado hidratado sem a necessidade de seccioná-las⁽¹⁴⁾. Recentemente tem sido aplicada em estudos de formação de trombo *in vivo* e auxiliado no tratamento trombolítico em ratos canulados⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Considerando-se a arquitetura microscópica tridimensional do trombo, a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é uma das técnicas eletivas de caracterização morfológica⁽¹³⁾. Entretanto, apesar do alto potencial, a MEV fornece apenas informação de camadas superficiais do trombo e de sua análise estrutural⁽²⁻³⁾. A integração da MEV e da Microscopia Confocal de Varredura a Laser são promissoras na investigação de trombos em amostras humanas. Na prática clínica possibilita melhores condutas no cuidado e na manutenção dos CVCs, pois serão práticas baseadas em evidências que respondem a questões que lhes surgem diariamente. É imprescindível repensar a prática, e saber que é possível reduzir complicações para o paciente.

A presente pesquisa vislumbra contribuir para a definição de novos métodos de pesquisa e protocolos de avaliação dos CVCs. Contribui ainda para a implementação de estratégias de intervenção que visem à melhoria na qualidade da assistência nos serviços de saúde. Ainda como justificativa deste estudo, aponta-se que, apesar da existência de vários fatores que contribuem para a formação de trombos, ainda não é totalmente esclarecida na literatura a estrutura desse tecido no interior do CVC. Estudos pilotos que visam um melhor entendimento de sua morfologia são importantes na identificação de novos fatores de risco, para investigação futura em estudos populacionais. Assim, o presente estudo pode fornecer indicadores para a redução de potenciais eventos adversos que poderiam ocorrer no paciente em uso de CVCs, o que ainda é um desafio para os serviços de saúde. O objetivo deste estudo foi avaliar a microestrutura por microscopia confocal e eletrônica em trombos desenvolvidos em cateteres venosos centrais.

MÉTODO

Estudo experimental descritivo em que foi comparada a microestrutura de trombos desenvolvidos em pacientes após a inserção de CVCs. Os cateteres foram recolhidos do Centro de Terapia Intensiva de um hospital filantrópico no interior de Minas Gerais no período de 1º de junho a 31 de agosto de 2016. Os critérios de inclusão foram: pacientes com idade igual ou superior a 18 anos; que receberam indicação para cateter venoso central; em uso de CVC, independentemente da doença crônica de base e terapêutica utilizada; e que aceitaram participar do estudo. Foram analisados, os trombos localizados nos cateteres inseridos na veia jugular interna direita e esquerda e subclávia direita e esquerda. Aqueles que estavam na veia femoral foram excluídos do estudo. Excluiu-se a veia femoral como sítio anatômico de inserção do cateter pela densidade da microbiota residente da pele ser um fator de risco para infecção.

A pesquisa foi realizada no Centro Integrado de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). Para a coleta dos CVCs preencheu-se um formulário contendo as seguintes informações: utilização de anticoagulante em caso de mau funcionamento devido a problema de fluxo; se o cateter era tunelizado ou não tunelizado, sítio de inserção, local e data de inserção do CVC, data e causa da remoção do cateter. No que se refere à causa da remoção, estabeleceram-se os seguintes critérios no formulário: problema de fluxo, mal posicionamento, infecção relacionada ao CVC, ruptura do cateter e retirado conforme preconizado pela instituição, isto é, sem complicações.

O presente estudo respeitou os aspectos éticos da Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFVJM sob o número de parecer 1.581.856. Um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi entregue a cada paciente, para conhecimento e autorização de uso do tecido trombótico após a retirada do CVC. Todos os CVCs foram lavados com solução fisiológica 0,9% e fixados com formaldeído tamponado a 4% imediatamente

após a retirada do paciente. Uma documentação fotográfica foi realizada em 10 cm secção distal do cateter com um bisturi depois de no mínimo 48 horas de fixação. Segmentos de aproximadamente 5 mm de extensão cada foram isolados e seccionados do cateter por um bisturi, como mostra a Figura 1. Para a MEV, utilizou-se do Microscópio Eletrônico de Varredura (XL 30 ESEM FEG, FEI-Philips, Nederland).

As amostras foram colocadas num suporte metálico e então feita a cobertura de ouro (Sputter Coater K500X, Emitech.) com 15 mA num tempo de 2,5 minutos. Micrografias de alta definição foram obtidas com uma magnificação de 500 a 4000x. A Figura 1 apresenta a documentação fotográfica feita do trombo rico em fibrinas no interior dos orifícios dos CVCs após um tempo de permanência de 5,15 e 20 dias.

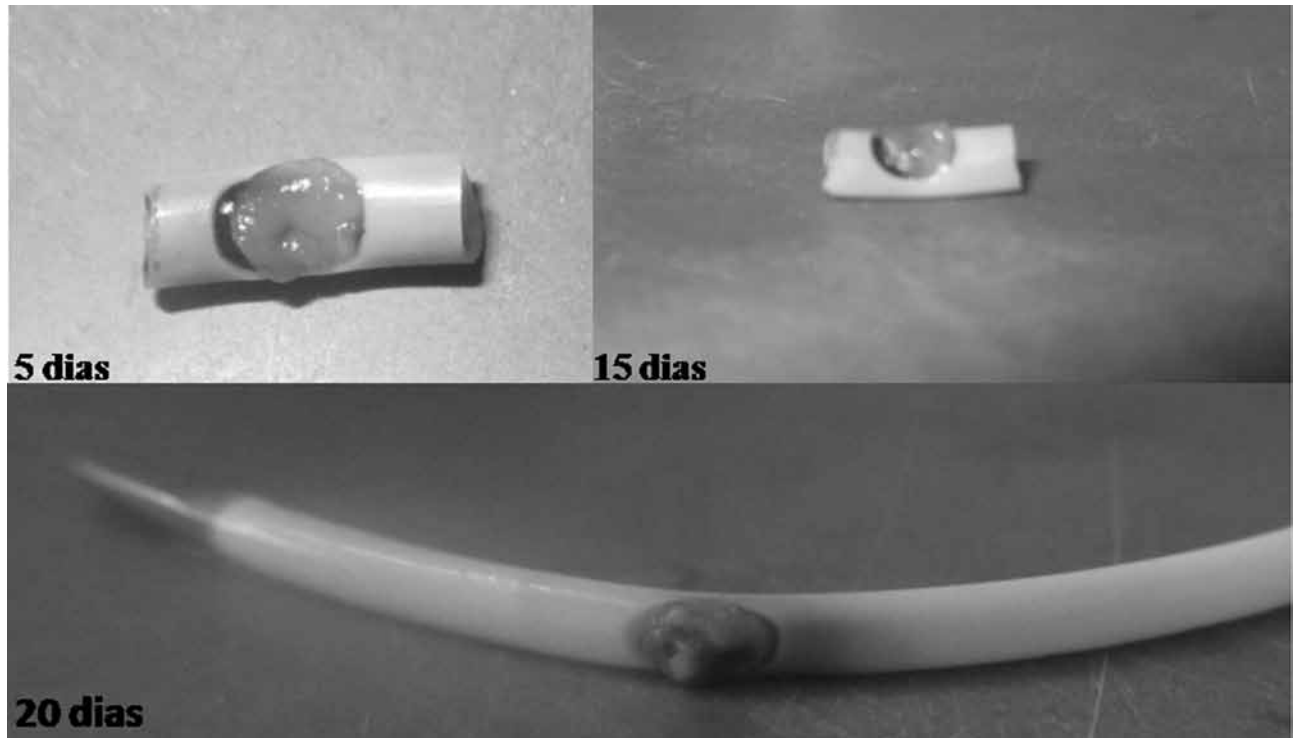


Figura 1 – Documentação fotográfica do trombo rico em fibrinas no interior dos orifícios dos CVCs. Fonte: Elaborada pelos autores.

No que se refere aos cateteres que foram observados no Microscópio Confocal de Varredura a Laser (LSM 700; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany), as amostras foram cortadas em duas metades através de duas secções transversais no centro do segmento por meio de um bisturi. Tal secção foi feita para melhor análise ao microscópio da amostra hidratada. O comprimento de onda de excitação foi de 488 nm. As amostras foram lavadas por imersão por 2 minutos em água deionizada, fixada com corante fluorescente por imersão em 1 mM de solução de Rodamina 6G (Sigma-Aldrich n° 83697, St. Louis, MO, USA) em água deionizada por 20 minutos em ambiente escuro. As imagens foram processadas no programa Image J® (NIH, USA), convertidas em TIFF para padronizar as imagens em cores falsas e avaliar qualitativamente a presença de fibrina, eritrócitos, leucócitos e plaquetas.

RESULTADOS

Foram coletados 78 CVCs num período de 3 meses na Unidade de Terapia Intensiva do hospital de estudo. Todos os cateteres tiveram, no decorrer da internação, mau funcionamento de fluxo, solucionado com a administração de anticoagulante no interior do lúmen do cateter. Ressalta-se

que os cateteres coletados eram lavados de forma rotineira com solução fisiológica a 0,9%, administrada em *flushing* para prevenir a formação de coágulos e trombos. Todos os 78 cateteres recolhidos foram não tunelizados; 38 (48,72%) foram inseridos na jugular interna direita, seis (7,69%) na jugular interna esquerda e 34 (43,59%) na subclávia direita. Dos cateteres avaliados, 67 (85,80%) apresentaram trombo venoso no interior dos orifícios, conforme mostra a Figura 1. A causa da remoção em 54 (80,60%) dos CVCs que apresentaram trombo foi devido a problemas de fluxo. Os demais foram retirados conforme preconizado no hospital, isto é, não foram retirados por infecção decorrente do CVC, problemas de fluxo, quebra de cateter ou mau posicionamento. No que se refere à microestrutura do trombo, identificaram-se as seguintes composições: a) Placa de fibrina: rede de fibrinas densa e espessa; b) Rede de fibrina: malha de fibrinas com fibras grossas e finas dispostas entrelaçadas como um emaranhado; c) Fibras de fibrina: rede de fibras de fibrina com fios de fibra única; d) Plaquetas: células em forma de discoide irregular com cerca de 2 μ m de diâmetro aparecendo como agregado ou aderida às fibras de fibrina; e) Eritrócitos: células em forma de disco bicôncavo com cerca de 7 μ m de diâmetro; f) Leucócitos: estruturas

esféricas com superfície irregular com cerca de 6 a 8 μm de diâmetro. A Figura 2 (a) apresenta um trombo venoso rico em eritrócitos. A seta aponta um eritrócito. A Figura 2 (b) apresenta uma rede de fibrinas que recobre uma placa de

fibrina. A seta aponta os fios de fibrina que formam a rede. A Figura 2 (c) apresenta uma fibra de fibrina e a Figura 2 (d) apresenta a placa de fibrina e as plaquetas aderidas a ela. A seta aponta para a plaqueta.

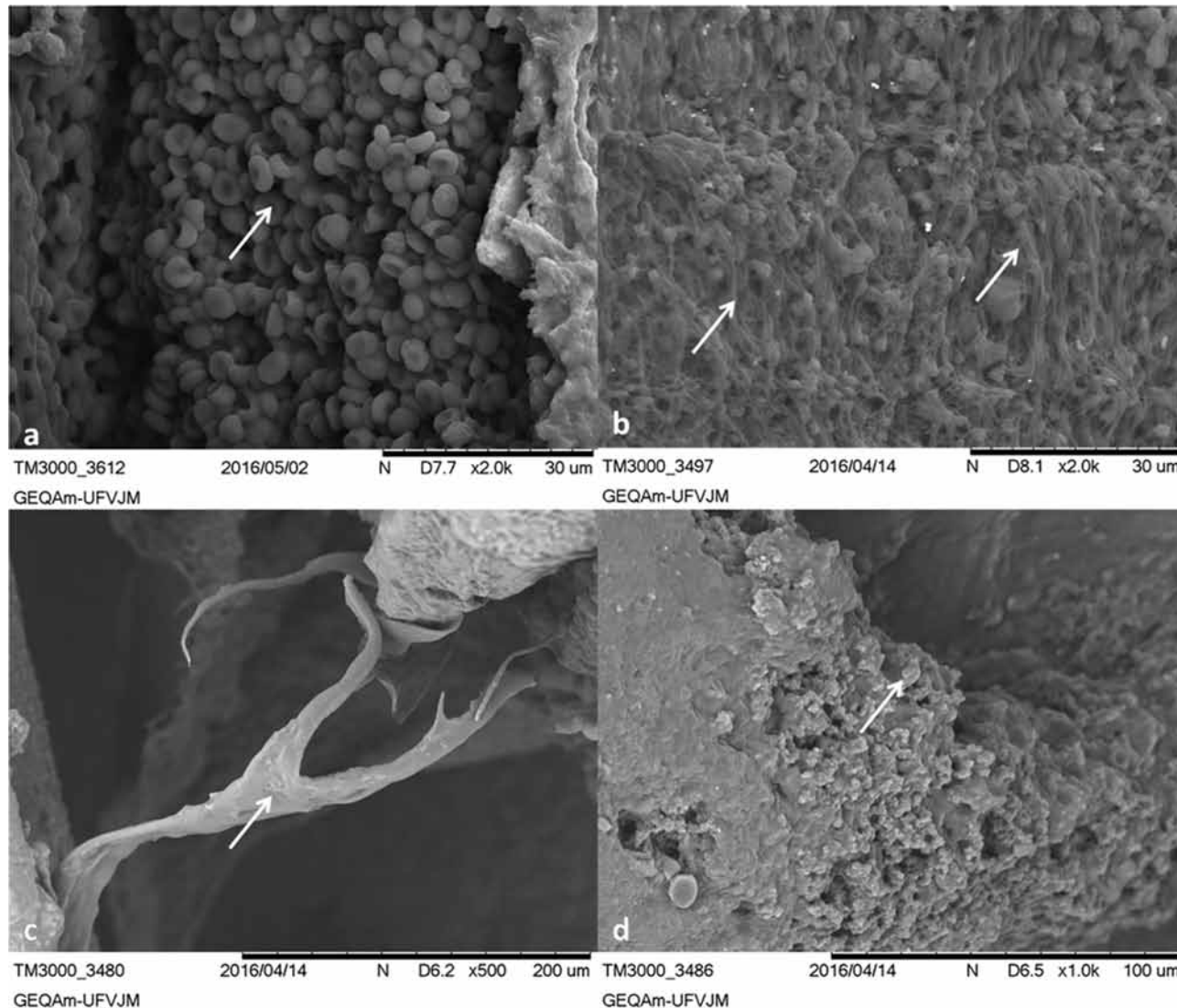


Figura 2 – Distribuição das microestruturas dos trombos venosos identificados na MEV. Ampliação original: 500x, 1000x e 2000x. Fonte: Elaborada pelos autores

Ressalta-se que, dos 67 cateteres que continham trombo em seu interior, 13 (19,41%) permaneceram 3 dias inseridos no paciente, 19 (28,35%) permaneceram 5 dias, 15 (22,38%) permaneceram 8 dias, 10 (14,92%) permaneceram 10 dias, 7 (10,44%) permaneceram 15 dias e 3 (4,41%) cateteres permaneceram 20 dias. Sendo assim, o tempo médio de permanência dos cateteres analisados foi de 7 dias. A Figura 3 (a) apresenta o orifício do cateter com um pequeno tecido aderido à parede. A Figura 3 (c) é uma ampliação do local selecionado no trombo. Observam-se leucócitos nesta região. A Figura 3 (b) apresenta uma placa de fibrina. E a Figura 3 (d) apresenta eritrócitos aderidos a fibras de fibrina. As setas apontam a fibra e o eritrócito.

A Figura 4 apresenta trombos no interior dos CVCs que permaneceram no paciente por 3, 10 e 15 dias. Observa-se a ampliação da placa de fibrina no trombo que estava no interior do cateter que permaneceu 15 dias.

Observou-se na Figura 4 que, independentemente do tempo de permanência, os cateteres apresentaram grande quantidade de placa de fibrina. Não houve uma evolução do trombo no decorrer do tempo de permanência do cateter no paciente.

A Figura 5 mostra uma documentação fotográfica do trombo no interior do orifício do CVC e imagens em Microscopia Confocal de Varredura a Laser. A região central do trombo apresentou grande quantidade de eritrócitos e as placas de fibrina estavam aderidas à parede lateral do orifício do CVC.

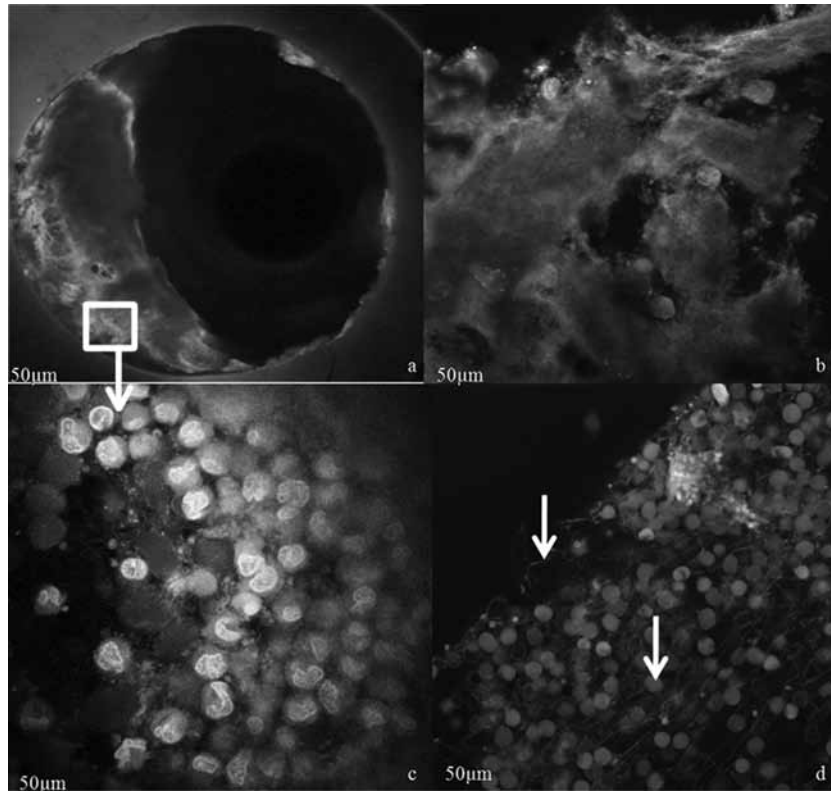


Figura 3 – Distribuição das imagens do trombo obtidas em Microscopia Confocal de Varredura a Laser. Fonte: Elaborada pelos autores.

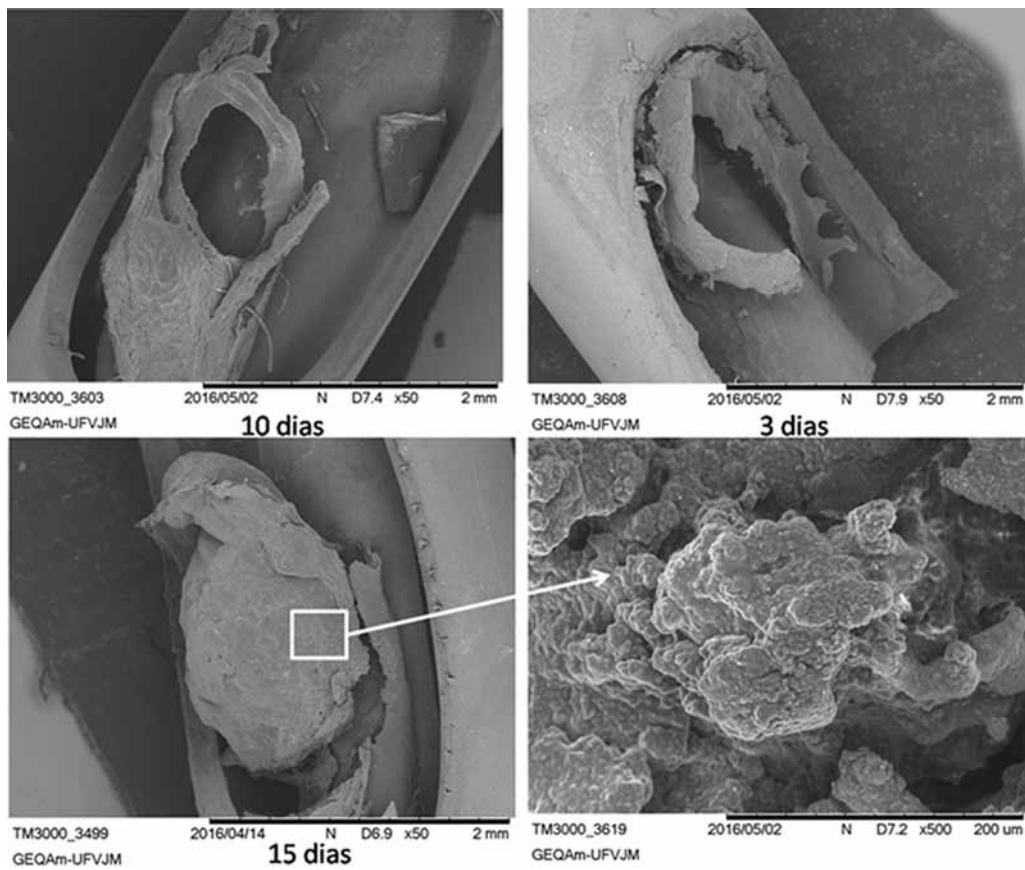


Figura 4 – Distribuição das microestruturas dos trombos venosos no interior dos orifícios dos CVCs em MEV. Ampliação original: 500x, 1000x e 2000x. Fonte: Elaborada pelos autores

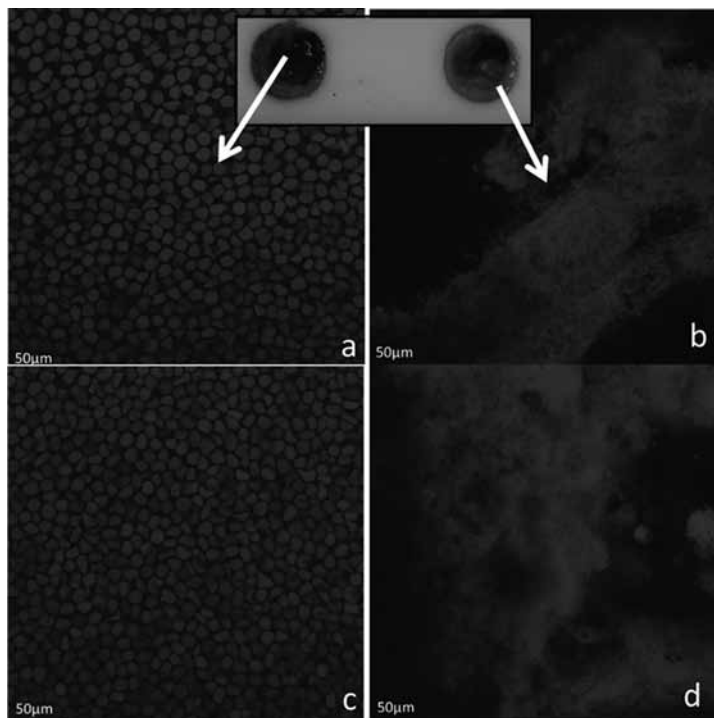


Figura 5 – Documentação fotográfica do trombo no interior do orifício do CVC e imagens em Microscopia Confocal de Varredura a Laser correspondente ao conteúdo do tecido trombótico. Fonte: Elaborada pelos autores.

DISCUSSÃO

Diferentemente dos trombos de estrutura homogênea, compostos predominantemente por eritrócitos e esparsas regiões de fibrina e plaquetas, descritos de estudos *in vitro* ou de animais de laboratório^(4,15-16), o trombo avaliado no presente estudo apresentou-se como uma estrutura heterogênea. Observou-se grande quantidade de camadas de fibrina e plaquetas próximas à parede do vaso, e camadas de fibrina com eritrócitos em maior quantidade no centro do trombo (Figuras 4 e 5). O impacto na prática clínica assistencial, é que, na ocorrência de uma obstrução, a irrigação do lúmen com anticoagulante, por exemplo, poderá ocorrer a dissolução apenas dos eritrócitos. A dissolução da placa de fibrina espessa aderida à parede do vaso pode não ocorrer, uma vez que as fibras de colágeno e elastina formam ligações covalentes fortes com a parede do cateter⁽¹⁵⁻¹⁶⁾. Isso contribui para uma rápida evolução do trombo em poucos dias, pois não se retirou todo o tecido trombótico. Além disso, os diferentes tipos de polímeros influenciam a resposta biológica à superfície, incluindo adsorção de proteínas e atividade do fibrinogênio adsorvido^(4-5,8). A interação entre as proteínas e o polímero vai depender do tipo de material, dos grupos funcionais e dos domínios hidrofílicos e hidrofóbicos com apropriados tamanhos que correspondam à superfície das proteínas^(5,8,17). Sabe-se que superfícies hidrofóbicas, como a maior parte dos polímeros, mantêm ligações fortes com as proteínas adsorvidas^(4-5,12,15). O cateter estimula a fibrinogênese e causa a construção de inúmeras cadeias de fibrina espessa que podem resultar numa cápsula fibrosa ao redor de toda a região distal do cateter^(1,4). Tal disposição das fibras espessas pode levar a eventos adversos nos pacientes, como

o embolismo pulmonar, a síndrome pós-trombótica e o persistente comprometimento do vaso^(11,14). No presente estudo, avaliou-se um trombo de característica venosa, e não arterial. O trombo arterial possui alta concentração de plaquetas e baixa concentração de glóbulos vermelhos, sendo referido como trombo branco⁽¹⁰⁻¹²⁾. O trombo venoso, geralmente, é composto principalmente de fibrinas e glóbulos vermelhos com variável quantidade de plaquetas e glóbulos brancos. O trombo venoso é rico em fibrinas e coberto por glóbulos vermelhos e é, portanto, referido como trombo vermelho⁽¹⁰⁻¹²⁾. Um estudo de caso que observou em MEV um trombo proveniente de trombose venosa profunda, retirado de uma paciente⁽⁴⁾, concluiu que, devido à alta velocidade do fluxo pulmonar, os trombos em artérias pulmonares apresentaram uma maior quantidade de fibrina e um menor número de eritrócitos em comparação aos leucócitos. O alto número de glóbulos brancos pode ter ocorrido por causa de uma atividade recente de modulação ou degradação *in vivo* do trombo. Diferentemente desse estudo, os eritrócitos no interior do trombo venoso encontraram-se predominantes em todas as amostras quando comparados aos leucócitos.

As imagens feitas pela Microscopia Confocal de Varredura a Laser mostraram que quanto maior a profundidade do tecido trombótico avaliado, menor a concentração de fibrina e maior quantidade de hemácias não interligadas à rede de fibrina. Tais resultados também foram encontrados num estudo em que se avaliou o trombo presente em cateteres venosos centrais em Microscopia de Varredura a Laser de Dois Fótons⁽²⁾. Esse tipo de microscopia alcança uma maior profundidade do tecido quando comparado à Microscopia Confocal de Varredura a Laser, e, quanto maior a profundidade do tecido avaliado, maior será a concentração de hemácias e glóbulos

brancos e menores serão a quantidade de fibrina interligada às células⁽²⁾. Em outro estudo, observou-se em Microscopia de Varredura a Laser de Dois Fótons um trombo venoso em que a placa de fibrina era circundada por glóbulos brancos próximo à parede interna do orifício do cateter⁽³⁾. Tal observação também foi encontrada no presente estudo, ao avaliar um trombo, após 5 dias de permanência do cateter no paciente, na Microscopia Confocal de Varredura a Laser (Figuras 3a e 3c). Os glóbulos brancos que circundavam a superfície da placa de fibrina podem estar associados à biocompatibilidade do material, principalmente em regiões de estagnação e recirculação do fluxo sanguíneo, isto é, regiões em que o sangue circula próximo ao cateter e que gera reações inflamatórias nos vasos^(10,12). Nessas regiões, o processo inflamatório que o cateter desencadeia na corrente sanguínea é mais acelerado, pois os monócitos e neutrófilos ficam retidos nas regiões de baixa velocidade de fluxo e, ao passarem ao longo do cateter, aderem à parede polimérica desencadeando um estímulo inicial para o desenvolvimento do trombo^(4,12).

O contato do cateter com o sangue e a subsequente adsorção de proteínas plasmáticas na superfície desse material conduz, em menos de 24 horas, a uma rede constituída de agregados de fibrina e de plaquetas envolvendo o interior de toda a parede do cateter⁽⁸⁻⁹⁾. A fibrina aderida à superfície polimérica ativa a agregação de plaquetas, a coagulação (extrínseca e intrínseca), a polimerização dos monômeros de fibrina a partir do fibrinogênio (fator de coagulação presente no plasma) e as ligações cruzadas das fibras para formar a rede densa de fibrina⁽⁸⁻⁹⁾. Encontrou-se no presente estudo que a quantidade de fibrina total foi o principal componente do trombo, e que o restante de sua composição na superfície era constituído principalmente por glóbulos vermelhos aprisionados em redes de fibrina. Esses resultados estão de acordo com um estudo morfológico realizado com trombo intracoronário obtido por tromboaspiração após infarto do miocárdio⁽¹³⁾. Nesse estudo, a fibrina foi o principal componente do trombo, representando mais que 60% da composição do tecido após 6 horas de obstrução do vaso⁽¹³⁾. Em acordo ainda com um estudo morfológico de trombos, que também encontrou a fibrina em maior quantidade na constituição do tecido ao se avaliar trombos presentes em cateteres venosos centrais de hemodiálise⁽⁴⁾. Segundo outro estudo, um trombo venoso retirado de um paciente, observado em MEV, apresentou redes de fibrinas esparsas e constitucionalmente afiladas, características de trombo recente^(5,7,17). No presente estudo, no entanto, o pequeno trombo que se desenvolveu no orifício do lúmen do cateter se tornou maduro em um curto espaço de tempo (em 3 dias apresentava placas espessas de fibrina), o que aumenta o risco de descolamento e embolia pulmonar. A morfologia e a composição do trombo passam por modificações desde a fase inicial até a completa obstrução do cateter⁽¹⁷⁾. A análise de MEV permitiu distinguir diferenças entre as estruturas da fibrina. As fibrinas contidas no trombo venoso foram classificadas como: *placa de fibrinas*, *rede de fibrinas* e *fibras de fibrinas* (Figura 2). Interessante comentar que as fibras de fibrina não foram encontradas em todos os trombos contidos no interior dos orifícios dos cateteres. O trombo com as fibras de fibrina distribuídas

de forma esparsa desenvolve-se rapidamente para formar a rede de fibrina. As fibras se tornam densas e agregadas com plaquetas na fase inicial do trombo, favorecendo a ativação da coagulação e a formação contínua de rede de fibrina.

O trombo resultante é composto de eritrócitos, plaquetas e células inflamatórias cobertas por rede de fibrina (Figura 3d). No processo de coagulação, a trombina converte o fibrinogênio à fibrina pela clivagem de fibrinopeptídeos e formação de uma estrutura denominada protofibril⁽¹⁶⁻¹⁷⁾. Quando o filópode cresce, forma uma estrutura longa que se agrega lateralmente para formar fibras de fibrina (Figura 4b). Entretanto, algumas vezes ele diverge, produzindo ramos separados de fibras⁽¹⁶⁻¹⁷⁾. E, de acordo com as condições químicas e físicas, a agregação lateral tende a produzir trombos feitos de fibras espessas, com poucos ramos finos de fibras (Figura 4b). Diferentemente, se a agregação lateral é inibida, o trombo passa a conter finas fibras, não densas, e muitos ramos de fibras de fibrina. Esse processo pode ser comparado ao presente estudo, em que a agregação lateral ocorre com o acúmulo de placa de fibrina na borda do cateter e rede de fibrina e fibras na região central do trombo (Figura 5). A placa de fibrina representou a estrutura mais comum no trombo e era densamente estruturada mesmo com 3 dias de permanência de um cateter venoso central no interior da veia do paciente (Figura 4). Isso confirma que o trombo completamente estruturado pode se desenvolver no orifício e no lúmen do cateter num período de tempo curto após a inserção do cateter. Um trombo que se forma no interior do orifício do cateter e continua crescendo poderá alcançar sua completa obstrução^(6,9,16). A fibrina normalmente se desenvolve no contato entre a ponta do cateter e a parede do vaso dentro de 24 horas após a inserção do cateter^(5,15-17), e pode eventualmente obstruir completamente o cateter num período de 3 a 5 dias, como se observa na Figura 4. O trombo que inicialmente se forma no interior do orifício do cateter pode crescer, causar obstrução da veia, resultar em perda do órgão e com potencial risco de vida. Um estudo de prevalência realizado com pacientes em uso de cateteres venosos centrais verificou que, dos 37 dos pacientes avaliados, 23 (62%) desenvolveram trombose⁽⁶⁾. A literatura relata ainda uma incidência da síndrome pós-trombótica de até 80% dos casos⁽⁶⁾. Importante ressaltar que a combinação de MEV e Microscopia Confocal de Varredura a Laser foi útil para evidenciar algumas considerações importantes a respeito da preparação da amostra. Embora a fixação preserve e integridade das membranas das células e da estrutura da fibrina, a desidratação e o processo de secagem requerido pela MEV podem induzir a um significativo encolhimento do trombo que alcança de 10% a 40% do volume total. As imagens de baixa ampliação foram, portanto, comparadas com a documentação fotográfica adquirida no estado hidratado para identificar corretamente a superfície do trombo original exposta à corrente sanguínea no interior da veia. Ao se comparar amostras pareadas na MEV e na Microscopia Confocal de Varredura a Laser, notou-se que as arquiteturas microestruturais da fibrina e das células foram preservadas. Neste estudo, este fato sugeriu um novo modo de entender a estabilidade da fibrina, a arquitetura e os mecanismos de interação entre fibrina, plaquetas, glóbulos vermelhos e

brancos no interior do trombo. Isso poderá ajudar a entender a formação do trombo no decorrer do tempo e a disposição da fibrina no interior do trombo em camadas mais profundas do orifício do cateter, o que seria um avanço para a melhoria da assistência em saúde e da prática de enfermagem.

Apesar do aumento do uso de cateteres venosos centrais, a falta de entendimento permanece no que se refere ao risco de desenvolvimento do trombo no interior dos CVCs. Um estudo experimental observou que a contagem de plaquetas do sangue em pacientes internados em uma Unidade de Terapia Intensiva aumentou com o tempo de permanência de cateteres venosos centrais⁽²⁾. Tal achado contribuiu para que enfermeiros e toda a equipe multiprofissional estejam atentos aos problemas de mal funcionamento dos CVCs decorrente de problemas de fluxo. A avaliação da microestrutura e da conformação da fibrina feita neste estudo pode ser utilizada ainda para verificar a eficácia da solução de *lock-terapia*, e a efetividade do tratamento para restaurar o fluxo sanguíneo nos CVCs obstruídos. Muitos questionamentos sobre a efetividade da solução *lock-terapia* para pacientes com trombos relacionados a cateteres ainda estão em aberto⁽¹²⁻¹⁴⁾. A influência da solução *lock-terapia* na quantidade e na estrutura da fibrina formada no interior do cateter poderia ser avaliada por meio da aplicação de técnicas relatadas neste estudo, incluindo estudos prospectivos.

CONCLUSÃO

Diante dos principais resultados encontrados neste trabalho, concluiu-se que: a) no trombo encontrado no interior dos cateteres venoso centrais há uma maior composição de fibrinas, seguida de eritrócitos e com variável quantidade de plaquetas e glóbulos brancos. Para uma melhor análise da conformação e da arquitetura da fibrina discriminou-se em *placa de fibrina*, *rede de fibrina* e *fibras de fibrina* no interior do trombo venoso encontrado no CVC; b) independentemente do tempo de permanência do cateter, as fibrinas se aderem às paredes laterais dos orifícios contidos nos cateteres. O processo de adsorção é permanente e, sendo

assim, agentes fibrinolíticos e anticoagulantes irão provavelmente dissolver somente a região central de trombo rico em hemácias. A região rica em placas de fibrina aderida à parede do cateter provavelmente não será destruída. Sugerem-se estudos futuros de hemocompatibilidade do material polimérico para uma menor adesão das proteínas sanguíneas e menor agregação plaquetária aos polímeros. Sugerem-se estratégias de prevenção e tratamento da oclusão do cateter por meio do desenvolvimento de novos agentes anticoagulantes, trombolíticos e fibrinolíticos que impeçam a formação de fibrina. O interessante seria que o tratamento impedisse que a fibrina formasse ligações covalentes com a parede do cateter e que não permanesse aderida. Assim, a destruição do trombo seria completa e seria um modo de dificultar o desenvolvimento de um novo trombo no mesmo local. Futuras pesquisas poderiam focar em estratégias de prevenção, diagnóstico e tratamento da oclusão do cateter.

As técnicas metodológicas reportadas neste trabalho fornecem à equipe multiprofissional informações atualizadas sobre a formação de trombo em CVCs. Tais informações possibilitam reconhecer os riscos e as complicações decorrentes do uso do dispositivo, e, como consequência, melhorar as intervenções dos profissionais de saúde em como tratá-las. Avaliações de tecido em MEV e em Microscópio Confocal de Varredura a Laser podem ser adotadas nas instituições de saúde ou por meio de criação de parcerias com instituições de ensino e, apesar do custo operacional, seriam economicamente viáveis devido à diminuição de custos institucionais com a ocorrência de eventos adversos.

O trabalho contribuiu para uma melhoria da assistência à saúde e pode gerar um impacto positivo na prática clínica, uma vez que a facilidade de aderência de plaquetas e fibrinas à parede do cateter demonstrada neste estudo possibilita a adoção de estratégias de prevenção do trombo, tais como a interrupção de terapia por tempo prolongado, o refluxo de sangue pelo cateter, a velocidade lenta de infusão e os estados clínicos de hipercoagulopatia.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a microestrutura por microscopia confocal e eletrônica em trombos desenvolvidos em cateteres venosos centrais. **Método:** Pesquisa experimental, descritiva, em que foi feita uma avaliação microestrutural de trombos venosos desenvolvidos em cateteres venosos centrais por Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia Confocal de Varredura a Laser. **Resultados:** Foram coletados 78 cateteres venosos centrais num período de três meses. Distinguiram-se diferentes estruturas de fibrina: a placa de fibrina, a rede de fibrina e as fibras de fibrina. Observou-se que tanto em um cateter com três dias de permanência quanto em um cateter com 20 dias inserido no paciente o trombo apresentou placas de fibrina espessas aderidas às paredes dos orifícios dos cateteres. Na região central do trombo, no entanto, observou-se maior quantidade de eritrócitos e fibras de fibrina. **Conclusão:** O trabalho contribuiu para uma melhoria da assistência à saúde e pode gerar um impacto positivo na prática clínica, uma vez que a facilidade de aderência de plaquetas e fibrinas à parede do cateter demonstrada neste estudo possibilita a adoção de estratégias de prevenção do trombo, tais como a interrupção de terapia por tempo prolongado, o refluxo de sangue pelo cateter, a velocidade lenta de infusão e os estados clínicos de hipercoagulopatia.

DESCRITORES

Cateteres; Cateteres Venosos Centrais; Microscopia; Fibrina; Cuidados de Enfermagem.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la microestructura por microscopia confocal y electrónica en trombos desarrollados en catéteres venosos centrales. **Método:** Investigación experimental, descriptiva en que se hizo una evaluación microestructural de trombos venosos desarrollados en catéteres venosos centrales por Microscopia Electrónica de Barrido y Microscopia Confocal de Barrido con Láser. **Resultados:** Fueron recolectados 78 catéteres venosos centrales en un período de tres meses. Se distinguieron distintas estructuras de fibrina: la placa de fibrina, la red de fibrina y las fibras de fibrina. Se observó que, tanto en un catéter con tres días de permanencia como en un catéter con

20 días insertado en el paciente, el trombo presentó placas de fibrina espesas adheridas a las paredes de los orificios de los catéteres. En la región central del trombo, no obstante, se observó mayor cantidad de eritrocitos y fibras de fibrina. **Conclusión:** El trabajo contribuyó para una mejoría de la asistencia sanitaria y puede generar un impacto positivo en la práctica clínica, toda vez que la facilidad de adherencia de plaquetas y fibrinas a la pared del catéter demostrada en este estudio posibilita la adopción de estrategias de prevención del trombo, tales como la interrupción de terapia por tiempo prolongado, el reflujo de sangre por el catéter, la velocidad lenta de infusión y los estados clínicos de hipercoagulopatía.

DESCRIPTORES

Catéteres; Catéteres Venosos Centrales; Microscopía; Fibrina; Atención de Enfermería.

REFERÊNCIAS

1. Hechler B, Gachet C. Comparison of two murine models of thrombosis induced by atherosclerotic plaque injury. *Thromb Haemost.* 2011;105 Suppl1:S3-12.
2. Lucas TC, Tessarolo F, Veniero P, D'Amato E, Caola I, Nollo G, et al. Quantification of fibrin in blood thrombi formed in hemodialysis central venous catheters: a pilot study on 43 CVCs. *J Vasc Access.* 2014;15(8):278-85.
3. Lucas TC, Tessarolo F, Jakitsch V, Caola I, Brunori G, Nollo G, et al. Blood flow in hemodialysis catheters: a numerical simulation and microscopic analysis of in vivo-formed fibrin. *Artif Organs.* 2014;38(7):556-65.
4. Mazur P, Sobczyk R, Ząbczyk M, Babiarczyk P, Sadowski J, Undas A. Architecture of fibrin network inside thrombotic material obtained from the right atrium and pulmonary arteries: flow and location matter. *J Thromb Thrombolysis.* 2013;35(1):127-9.
5. May RM, Magin CM, Mann EE, Drinker MC, Fraser JC, Siedlecki CA, et al. An engineered micropattern to reduce bacterial colonization, platelet adhesion and fibrin sheath formation for improved biocompatibility of central venous catheters. *ClinTransl Med.* 2015;4:9.
6. Cacciapuoti F. Some considerations about the hypercoagulable states and their treatments. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2011;22(3):155-9.
7. Bruzi LM, Mendes DC. The importance of nursing care in managing complications related to fully-implantable catheters. *Rev Esc Enferm USP.* 2011;45(2):510-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0080-62342011000200031>
8. Wohner N, Kovács A, Machovich R, Kolev K. Modulation of the von Willebrand factor-dependent platelet adhesion through alternative proteolytic pathways. *Thromb Res.* 2012;129(4):41-6.
9. Willicombe MK, Vernon K, Davenport A. Embolic complications from central venous hemodialysis catheters used with hypertonic citrate locking solution. *Am J Kidney Dis.* 2010;55(2):348-52.
10. Yuan H, Deng N, Zhang S, Cao Y, Wang Q, Liu X, et al. The unfolded von Willebrand factor response in bloodstream: the self-association perspective. *J Hematol Oncol.* 2012;5:65.
11. Zhang Y, Fan S, Yao Y, Ding J, Wang Y, Zhao Z, et al. In vivo near-infrared imaging of fibrin deposition in thromboembolic stroke in mice. *PLoS One.* 2012;7(1):e30262.
12. Von Brühl ML, Stark K, Steinhart A, Chandraratne S, Konrad I, Lorenz M, et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med.* 2012;209(4):819-35.
13. Silvain J, Collet JP, Nagaswami C, Beygui F, Edmondson KE, Bellemain-Appaix A, et al. Composition of coronary thrombus in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(12):1359-67.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Boletim informativo sobre a segurança do paciente e qualidade em serviços de saúde [Internet]. Brasília; 2011 [citado 2016 set]. Disponível em
15. Liebeskind DS, Sanossian N, Yong WH, Starkman S, Tsang MP, Moya AL, et al. CT and MRI early vessel signs reflect clot composition in acute stroke. *Stroke.* 2011;42(5):1237-43.
16. Uchida Y, Uchida Y, Sakurai T, Kanai M, Shirai S, Morita T. Characterization of coronary fibrin thrombus in patients with acute coronary syndrome using dye-staining angiography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(6):1452-60.
17. Donati G, Coli L, Cianciolo G, La Manna G, Cuna V, Montanari M, et al. Thrombosis of tunneled-cuffed hemodialysis catheters: treatment high-dose urokinase lock therapy. *Artif Organs.* 2012;36(1):21-8.

Apoio financeiro:

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais.



Este é um artigo em acesso aberto, distribuído sob os termos da Licença Creative Commons.