

血管内皮生长因子对老年骨折病人围手术期下肢深静脉血栓的影响

张辉

作者单位:芜湖市中医医院骨科,安徽 芜湖 241000

摘要:目的 探讨老年骨折病人围手术期下肢深静脉血栓形成过程中血管内皮生长因子(VEGF)和血栓弹力图的变化趋势和临床价值。方法 选取2013年1月至2015年12月芜湖市中医医院老年骨折病人68例,均行手术治疗,根据在围手术期是否发生下肢深静脉血栓分为血栓组29例和非血栓组39例。分别于手术前、手术成功后1、5、10 d等时间点通过ELISA技术进行VEGF、D-二聚体、纤维蛋白原检测,并对全部病人在手术前后行血栓弹力图检测。结果 血栓组和非血栓组在术后血清VEGF测量值血栓组T1、T2、T3、T4值分别为(345.5±44.7)、(499.3±77.5)、(588.2±97.6)、(395.8±66.7) pg/mL,非血栓组分别为(363.1±51.3)、(441.6±83.2)、(493.5±84.3)、(364.3±59.3) pg/mL,均先升高后降低,术后各时间点血清VEGF测量值比较,血栓组均高于非血栓组($P<0.05$),血栓组病人术后血清VEGF含量上升更为显著,且峰值显著高于非血栓组。同时血栓组在不同时间点的VEGF测量值与相应的D-二聚体和血清纤维蛋白原含量呈强相关的关系($P<0.05$);非血栓组在不同时间点的VEGF测量值与相应的D-二聚体和血清纤维蛋白原含量呈弱相关的关系($P<0.05$)。结论 老年骨折病人下肢深静脉血栓的形成过程中VEGF与血清D-二聚体、纤维蛋白原随着时间呈现一定变化规律,这些变化能够反映深部静脉血栓形成过程中血液凝聚状态和纤维蛋白溶解过程的变化,VEGF表达的升高对下肢深部静脉血栓的诊疗过程及其预后转归有一定的指导作用。

关键词:血管内皮生长因子类; D-二聚体; 深静脉血栓; 纤维蛋白原; 骨折

The change trend and clinical value of vascular endothelial growth factor and thrombus map in patients with deep venous thrombosis in the perioperative period of fracture patients

ZHANG Hui

Author Affiliation: Department of Orthopaedics, Wuhu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhu, Anhui 241000, China

Abstract: Objective To explore the change trend and clinical value of vascular endothelial growth factor (VEGF) and thrombus map of patients with deep venous thrombosis (DVT) in the perioperative period. **Methods** 68 cases of elderly patients with fracture, were divided into 2 groups (DVT group, non-DVT group) According to whether had DVT perioperatively he serum VEGF, D-dimer and fibrinogen tested at pre and postsurgery. **Results** The level of VEGF was first risen and then decreased within DVT group (345.5±44.7), (499.3±77.5), (588.2±97.6), (395.8±66.7) pg/mL and non-DVT group (363.1±51.3), (441.6±83.2), (493.5±84.3), (364.3±59.3) pg/mL from T2 to T4 time point ($P<0.05$). There was a strong positive correlation in DVT group between the level of VEGF and D-dimer /fibrinogen from T2 to T4 time point ($P<0.05$). There was a weakly positive correlation in non-DVT group between the level of VEGF and D-dimer /fibrinogen from T2 to T4 time point ($P<0.05$). **Conclusion** The changes of serum VEGF, D-dimer and fibrinogen in perioperative elderly fracture patients affected with DVT was dynamic correlated with each other the expression of VEGF may be more predictive and having prognostic value for acute deep venous thrombosis.

Key words: Vascular endothelial growth factor; D-dimer; Deep venous thrombosis; Fibrinogen; Fractures, bone

老年骨折病人的病因主要包括:静脉血流迟缓、血液高凝状态和静脉壁的损伤^[1-2]。其中纤维蛋白原是自身合成的重要凝血因子之一,它在凝血和血栓形成过程中发挥重要的作用。D-二聚体是在人体的纤溶系统激活以后所产生的纤溶酶进行水解生成的特异性产物,能很好地反映静脉血

栓形成的进展过程^[3]。研究显示血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与血管内皮系统密切相关,在深静脉血栓形成中发挥了重要作用,在血栓机化过程中,VEGF表达上调,促进了血栓的机化和再通,也有研究指出,在血栓形成的前期,VEGF表达下调,通过调控一氧化氮(NO)的合

成与释放,影响血栓形成^[4-5]。本研究旨在通过比较老年骨折病人围手术期中血清 VEGF 与 D-二聚体、纤维蛋白原和血栓弹力图结果的关系,探讨 VEGF 对老年骨折病人围手术期下肢深静脉血栓的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 1 月至 2015 年 12 月在芜湖市中医医院骨科住院治疗的老年骨折病人(>65 岁)68 例,男性 41 例,女性 27 例,年龄范围为 65~84 岁,年龄(72.03 ± 4.36)岁。股骨颈骨折 18 例,骨盆骨折 16 例,股骨干骨折 12 例,胫骨平台骨折 12 例,踝关节骨折 10 例。全部病人均行手术治疗,在围手术期发生下肢深静脉血栓 29 例。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。病人或近亲属对研究方案签署知情同意书。

1.2 病人分组及检测方法 根据 B 超结果将病人分为血栓组 29 例和非血栓组 39 例。分别于手术前(T1)、手术成功后 1 d(T2)、5 d(T3)、10 d(T4),一共 4 个时间点晨起空腹经肘静脉抽取上肢静脉血 5 mL,通过 ELISA 技术进行 VEGF、D-二聚体、纤维蛋白原检测,并对全部病人在手术前后行血栓弹力图检测。注:测量时间点之所以选择这 4 个时间点是因为术后 1 周左右的时间是血栓最容易发生的时间段,故观察时间段选择在术后 10 d 内,为了更好地观察其变化趋势,故将 10 d 的中间点进行检测,而术前有必要测量基础值,故检测时间确定为手术前、手术成功后 1、5、10 d。

1.3 统计学方法 采用 SPSS21.0 统计软件(IBM 公司)进行数据分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较主要采用成组 t 检验。计数资料组间比较为 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般情况比较 两组性别和年龄差异无统计学意义($P > 0.05$),两组体质量和体质量指数差异有统计学意义($P < 0.05$),提示高体质量病人较低体质量者更易发生下肢深静脉血栓。见表 1。

表 1 老年骨折病人 68 例血栓组和非血栓组一般情况比较

组别	例数	性别/例		年龄/ (岁, $\bar{x} \pm s$)	体质量/ (kg, $\bar{x} \pm s$)	体质量指数/ (kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)
		男	女			
血栓组	29	16	13	73.12 $\pm$ 4.62	79.48 $\pm$ 8.76	25.59 $\pm$ 2.28
非血栓组	39	25	14	71.65 $\pm$ 4.14	75.32 $\pm$ 7.43	24.24 $\pm$ 2.19
$t(\chi^2)$ 值		(0.554 0)		1.378 1	2.115 1	2.470 4
P 值		0.456 7		0.172 8	0.038 2	0.016 1

2.2 两组血清 VEGF 含量变化 两组手术前血清 VEGF 测量值比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);两组在手术后血清 VEGF 测量值均先升高后降低,

提示手术可造成血清 VEGF 含量升高。两组手术后各时间点血清 VEGF 测量值比较,血栓组均高于非血栓组($P < 0.05$),血栓组病人术后血清 VEGF 含量上升更为显著,且峰值显著高于非血栓组,提示 VEGF 含量上升与病人血栓形成密切相关。见表 2。

表 2 老年骨折病人 68 例血栓组和非血栓组
外周静脉血清 VEGF 含量变化/(pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	T1	T2	T3	T4
血栓组	29	345.5 $\pm$ 44.7	499.3 $\pm$ 77.5	588.2 $\pm$ 97.6	395.8 $\pm$ 66.7
非血栓组	39	363.1 $\pm$ 51.3	441.6 $\pm$ 83.2	493.5 $\pm$ 84.3	364.3 $\pm$ 59.3
t 值		1.476 6	2.911 2	4.282 6	2.053 9
P 值		0.144 5	0.004 9	0.000 1	0.043 9

注:T1 为手术前,T2 为手术成功后 1 d,T3 为手术成功后 5 d,T4 为手术成功后 10 d

2.3 两组血清 D-二聚体含量变化 两组手术前血清 D-二聚体测量值比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);两组在手术后血清 D-二聚体测量值均先升高后降低,提示手术可造成血清 D-二聚体含量升高。两组手术后各时间点血清 D-二聚体测量值比较,血栓组均高于非血栓组($P < 0.05$),血栓组术后血清 D-二聚体含量上升更为显著,且峰值显著高于非血栓组,提示 D-二聚体含量上升与病人血栓形成密切相关。见表 3。

表 3 老年骨折病人 68 例血栓组和非血栓组
外周静脉血清 D-二聚体含量变化/(ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	T1	T2	T3	T4
血栓组	29	65.5 $\pm$ 11.2	196.3 $\pm$ 57.5	261.2 $\pm$ 77.4	88.5 $\pm$ 14.7
非血栓组	39	63.1 $\pm$ 10.3	159.4 $\pm$ 44.2	198.5 $\pm$ 61.2	69.2 $\pm$ 12.1
t 值		0.915 5	2.993 4	3.730 7	5.933 5
P 值		0.363 3	0.003 9	0.000 4	0.000 0

注:T1 为手术前,T2 为手术成功后 1 d,T3 为手术成功后 5 d,T4 为手术成功后 10 d

此外,血栓组在 T2 至 T4 时间点的 VEGF 测量值与相应的 D-二聚体含量呈强相关的关系,Pearson 系数为 0.681, $R^2 = 0.892$ ($P < 0.05$);非血栓组在 T2 至 T4 时间点的 VEGF 测量值与相应的 D-二聚体含量呈弱相关的关系,Pearson 系数为 0.451, $R^2 = 0.634$ ($P < 0.05$)。

2.4 两组血清纤维蛋白原含量变化 两组手术前血清纤维蛋白原测量值比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);两组在手术后血清纤维蛋白原测量值均先升高后降低,提示手术可造成血清纤维蛋白原含量升高。两组手术后各时间点血清纤维蛋白原测量值比较,血栓组均高于非血栓组($P < 0.05$),血栓组术后血清纤维蛋白原含量上升更为显著,且峰值

显著高于非血栓组,提示纤维蛋白原含量上升与病人血栓形成密切相关。见表4。

表4 老年骨折病人68例血栓组和非血栓组
外周静脉血清纤维蛋白原含量变化(mg/dL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	T1	T2	T3	T4
血栓组	29	125.5 ± 21.2	172.5 ± 36.2	219.5 ± 51.4	181.5 ± 44.6
非血栓组	39	128.4 ± 25.3	153.4 ± 34.6	164.5 ± 41.1	139.2 ± 35.5
t 值		0.500 1	2.207 4	4.902 4	4.354 5
P 值		0.618 6	0.030 8	0.000 0	0.000 0

注:T1为手术前,T2为手术成功后1 d,T3为手术成功后5 d,T4为手术成功后10 d

此外,血栓组在T2至T4时间点的VEGF测量值与相应的血清纤维蛋白原含量呈强相关的关系,Pearson系数为0.742, $R^2 = 0.921$ ($P < 0.05$);非血栓组在T2至T4时间点的VEGF测量值与相应的血清含量呈弱相关的关系,Pearson系数为0.429, $R^2 = 0.611$ ($P < 0.05$)。

2.5 两组手术前后血栓弹力图变化 血栓组术前有7例(24.14%)血液凝固性降低,非血栓组术前有10例(25.64%)血液凝固性降低,两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。血栓组术后有4例(13.79%)血液凝固性降低,非血栓组术后有16例(41.03%)血液凝固性降低,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

表5 老年骨折病人68例血栓组和非血栓组手术
前后血栓弹力图结果比较/例

组别	例数	术前血液凝固性降低	术后血液凝固性降低
血栓组	29	7	4
非血栓组	39	10	16
χ^2 值		0.020 0	5.941 2
P 值		0.887 4	0.014 8

3 讨论

下肢深静脉血栓是骨折卧床病人常见并发症,临床表现为单侧或双侧下肢肿胀、血栓后综合征以及致命的肺栓塞,严重危害病人的生命健康,国外文献报道其年发病率超过1.1%^[6],尽管国内尚缺乏大宗病例多中心流行病学调查资料,但从文献和临床资料分析可以看出该病发病率很高。下肢深静脉血栓系指血液在下肢深静脉系统发生异常地凝聚,阻塞下肢深部静脉的管腔,导致急性下肢深静脉回流障碍、静脉内部压力升高并且对静脉瓣膜造成破坏而引发的一系列症状和体征^[7-8]。德国生理学家Virchow提出静脉血栓的主要病因包括:静脉内血流滞缓或者血液呈高凝状态以及静脉壁损伤,前两者是主要的原因,任何可能导致这三种病

因的疾病最终将成为深静脉血栓栓塞危险因素^[2]。

VEGF是血管内皮细胞的具有特异性的通透因子及趋化因子。在胚胎生长发育阶段,胚胎血管的生成需要依赖于VEGF的准确表达。在出生之后,VEGF依旧在血管产生过程中处于十分重要的地位:骨髓中的内皮祖细胞能够通过外源性VEGF动员至外周血内,VEGF可以促进内皮祖细胞的增殖、迁移以及趋化^[9],可以促进血管新生。笔者分析,血管受损后VEGF的量变多为DVT形成所导致,骨折软组织损伤由于不直接接触血管内皮细胞,其干预弱于DVT。在富含VEGF的微环境中外周血循环中内皮祖细胞的数量显著提升。这是因为微环境中氧的缺乏进一步促进了内皮祖细胞的增殖分化,最终提升了内皮祖细胞促进血管新生的效应。血栓形成后,由于血流瘀滞,栓子内部形成乏氧环境,导致栓子内VEGF和bFGF含量显著升高,从而提高血栓溶解和机化的速度^[10]。VEGF自身发挥抗血栓的机理可能在于^[11-14]:①作为机体局部的内生性调节剂,既参与血管内皮细胞的完整性的保持,又保持了血管内皮细胞的正常生理功能,从而避免触发机体内源性或外源性凝血途径。②VEGF能够提高一氧化氮(NO)以及前列环素(PGI₂)的产生。一氧化氮通过激活可溶性鸟苷酸环化酶,促进细胞内cGMP含量上升,最终使得血小板聚集和黏附性能下降。③VEGF还可以提高丝氨酸蛋白酶、纤维蛋白溶解酶、尿激酶和组织型纤溶酶原的表达和活性,这些酶能够激活纤溶酶原形成纤溶酶,最终促进血栓发生溶解。

研究表明^[15-17],外周血中D-二聚体、纤维蛋白原及细胞炎性因子与深部静脉血栓形成过程密切相关。人体的纤溶系统激活后,纤维蛋白原转化为纤维蛋白单体与第Ⅷ因子形成交联,经过纤溶酶水解后的产物称作D-二聚体,血浆内纤维蛋白原的积聚引发纤溶活动的增强,D-二聚体指标随之上升,因此D-二聚体能够在分子水平特异性的反映出人体血液的高凝状态和纤维蛋白溶解过程亢进^[18-20]。血小板胶原受体形成的二聚体可以识别纤维蛋白原和纤维蛋白,从而促进血小板的黏附和激活过程中的血栓形成,血小板胶原受体与纤维蛋白原含有交互的胶原结合位点,其对固定化纤维蛋白原血小板黏附/激活/团聚从而最终形成聚合纤维蛋白发挥关键作用^[21-22]。

本实验研究结果显示:血栓组和非血栓组在手术后血清VEGF测量值均先升高后降低,提示手术损伤后新生血管形成过程可造成血清VEGF含量升高。术后各时间点血清VEGF测量值比较,血栓组均高于非血栓组($P < 0.05$),血栓组病人术后血清

VEGF 含量上升更为显著,且峰值显著高于非血栓组,提示下肢深部静脉血栓形成过程能够刺激 VEGF 的表达,以促进血栓溶解过程的发生。同时血栓组在不同时间点的 VEGF 测量值与相应的 D-二聚体和血清纤维蛋白原含量呈强相关的关系 ($P < 0.05$);非血栓组在不同时间点的 VEGF 测量值与相应的 D-二聚体和血清纤维蛋白原含量呈弱相关的关系 ($P < 0.05$)。提示骨折创伤和手术能够促进 VEGF 表达,来促进新生血管形成,修复损伤,同时下肢深部静脉血栓形成过程能够进一步促进机体 VEGF 的表达,以促进血栓溶解过程的发生。此外,血栓弹力图能够全面反映病人动态凝血过程中的切应力随时间变化的情况,能够精确地描述直观的凝血机制信息。本研究发现,血栓组术后血液凝固性降低病例显著少于非血栓组 ($P < 0.05$),从动态监测凝血过程反映出血栓组病人血液普遍处于凝固性提升的状态。

本研究的不足之处在于血栓病人术前或术后是一般给予了对症治疗干预,如注射低分子肝素、放置滤器等,虽然低分子肝素是对 VEGF、D-二聚体、纤维蛋白原数据的影响不大,但如能完全排除其干扰则试验结果将更准确。

综上所述,VEGF 与老年骨折病人下肢深静脉血栓的形成过程中的血清 D-二聚体、纤维蛋白原随着时间呈现一定变化规律,这些变化能够反映深部静脉血栓形成过程中血液凝聚状态和纤维蛋白溶解过程的变化,VEGF 表达的升高对下肢深部静脉血栓的诊疗过程及其预后转归有一定的指导作用。

参考文献

- [1] 严广斌. 下肢深静脉血栓[J]. 中华关节外科杂志,2007,1(2):99.
- [2] CERVANTES J, ROJAS G. Virchow's legacy: deep vein thrombosis and pulmonary embolism[J]. World Journal of Surgery, 2005, 29: S30-S34.
- [3] KING A. Thrombosis; selective D-dimer testing improves efficiency of DVT diagnosis [J]. Nature reviews. Cardiology, 2013, 10(3):118.
- [4] 王晖,余朝文,李博,等. 兔急性后腔静脉血栓形成中内皮细胞 VEGF 与 bFGF 表达的变化[J]. 中国普通外科杂志,2013,22(6):726-730.
- [5] GÉLINAS DS, BERNATCHEZ PN, ROLLIN S, et al. Immediate and delayed VEGF - mediated NO synthesis in endothelial cells: Role of PI3K, PKC and PLC pathways[J]. British Journal of Pharmacology, 2002, 137(7):1021-1030.
- [6] HEIT JA. Epidemiology of venous thromboembolism[J]. Nature Reviews Cardiology, 2015, 12(8):464-474.
- [7] 吴庆华,寇镭. 下肢深静脉血栓形成的诊断和治疗[J]. 中华全科医师杂志,2012,11(2):89-92.
- [8] 刘建龙,贾伟. 骨折后深静脉血栓的早期诊断与处理[J]. 中华全科医师杂志,2008,7(6):375-377.
- [9] 赵刚. 携带 VEGF 基因的内皮祖细胞功能改变及在损伤血管内膜修复中的作用[D]. 重庆:第三军医大学,2007.
- [10] WALTHAM M, BURNAND KG, COLLINS M, et al. Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor are found in resolving venous thrombi[J]. Journal of Vascular Surgery, 2000, 32(5):988-996.
- [11] VAN DER ZEE R, MUROHARA T, LUO Z, et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor augments nitric oxide release from quiescent rabbit and human vascular endothelium[J]. Circulation, 1997, 95(4):1030-1037.
- [12] TSURUMI Y, MUROHARA T, KRASINSKI K, et al. Reciprocal relation between VEGF and NO in the regulation of endothelial integrity[J]. Nature Medicine, 1997, 3(8):879-886.
- [13] WHEELER-JONES C, ABU-GHAZALEH R, COSPEDAL R, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates prostacyclin production and activation of cytosolic phospholipase A 2 in endothelial cells via p42/p44 mitogen-activated protein kinase[J]. FEBS Letters, 1997, 420(1):28-32.
- [14] ZACHARY I, MATHUR A, YLA-HERTTUALA S, et al. Vascular protection a novel nonangiogenic cardiovascular role for vascular endothelial growth factor [J]. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 2000, 20(6):1512-1520.
- [15] BAKHSI H, ALAVI-MOGHADDAM M, WU KC, et al. D-dimer as an applicable test for detection of posttraumatic deep vein thrombosis in lower limb fracture [J]. Am J Orthop (Belle Mead NJ), 2012, 41(6):E78-E80.
- [16] WELLS P S, ANDERSON D R, RODGER M, et al. Evaluation of D-dimer in the diagnosis of suspected deep-vein thrombosis[J]. New England Journal of Medicine, 2003, 349(13):1227-1235.
- [17] GOLDBABER S Z, BOUNAMEAUX H. Pulmonary embolism and deep vein thrombosis[J]. The Lancet, 2012, 379(9828):1835-1846.
- [18] D'ALESSIO A, MARCHETTI M, TARTARI CJ, et al. Long Term Low Molecular Weight Heparin Anticoagulant Therapy Modulates Thrombin Generation and D-dimer in Patients with Cancer and Venous Thromboembolism [J]. Cancer Invest, 2017, 35(7):490-499.
- [19] JORAKU A, NITTA S, TANAKA K, et al. Screening of deep vein thrombosis prior to surgery using D-dimer testing and venous ultrasonography of lower extremities [J]. Hinyokika Kyo, 2017, 63(6):229-233.
- [20] KWIEŃNIAK M, AL-AMAWI T, BŁASZKOWSKI T, et al. The usefulness of D-dimer in diagnosis and prediction of venous thromboembolism in patients with abdominal malignancy [J]. Pol Przegl Chir, 2017, 89(3):27-30.
- [21] TRITSCHLER T, LIMACHER A, MÉAN M, et al. Usefulness of D-Dimer Testing in Predicting Recurrence in Elderly Patients with Unprovoked Venous Thromboembolism [J]. Am J Med, 2017, 130(10):1221-1224.
- [22] INDURUWA I, MOROI M, BONNA A, et al. Platelet collagen receptor GPVI-dimer recognizes fibrinogen and fibrin through their D-domains, contributing to platelet adhesion and activation during thrombus formation [J]. J Thromb Haemost, 2018, 16(2):389-404.

(收稿日期:2018-01-15,修回日期:2018-03-17)