

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.03.013

文章编号: 1005-8982 (2018) 01-0064-05

低分子肝素结合替罗非班治疗老年急性下肢深静脉血栓对 PAC-1、P 选择素的影响

陈俞宏, 李孝成, 赵黎明

(广西柳州市人民医院 血管外科, 广西 柳州 545000)

摘要: **目的** 研究低分子肝素结合替罗非班治疗老年急性下肢深静脉血栓的疗效以及对血小板激活复合物-1 (PAC-1)、P 选择素的影响。**方法** 选取 2013 年 2 月-2016 年 2 月广西柳州市人民医院收治的老年急性下肢深静脉血栓 (ADVT) 患者 138 例为研究对象, 采用随机数字表法分为观察组和对照组, 每组 69 例。对照组患者给予低分子肝素皮下注射 2 周, 观察组在对照组基础上联合替罗非班静脉泵注。比较两组患者治疗前后的下肢肢围差、血小板计数、凝血四项、PAC-1 和 P 选择素阳性率。**结果** 治疗前, 两组患者的各项指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后两组患者的膝上 15 cm 和膝下 10 cm 处下肢肢围差均降低, 观察组肢围差低于对照组; 两组患者的纤维蛋白原浓度均下降, 观察组低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。治疗前后, 两组患者的凝血酶原时间、活化部分凝血酶原时间、凝血酶时间和血小板计数无变化, 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗后两组患者的 PAC-1 及 P 选择素阳性率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 低分子肝素结合替罗非班可以有效治疗老年 ADVT, 减小下肢肢围差, 降低 PAC-1 和 P 选择素的阳性表达, 抑制血栓形成, 不影响患者凝血功能, 疗效良好, 值得临床推广。

关键词: 低分子肝素; 替罗非班; 老年; 下肢深静脉血栓; 血小板激活复合物-1; P 选择素

中图分类号: R543.6

文献标识码: A

Therapeutic effect of low molecular heparin plus Tirofiban in acute deep venous thrombosis

Yu-hong Chen, Xiao-cheng Li, Li-ming Zhao

(Department of Vascular Surgery, People's Hospital of Guangxi Liuzhou City, Liuzhou, Guangxi 545000, China)

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of low molecular heparin plus Tirofiban in acute Deep venous thrombosis (ADVT) and potential underlying mechanisms. **Methods** Totally 138 cases of ADVT admitted into our hospital from February 2013 to February 2016 were included and randomly divided into control group and observation group ($n = 69$). Patients from control group received standard treatment of low molecular heparin, while patients from observation group was treated with Tirofiban in addition to low molecular heparin. Limb circumference difference, platelet count, PT, APTT, TT, FIB pre- and post- treatments, PAC-1 and CD62P positive rate were recorded. **Results** All patients recovered in both groups ($P > 0.05$). Decrease of limb circumference and FIB concentration in observation group were significant when compared with control group ($P < 0.05$). Platelet count, PT, APTT and TT were decreased in the two groups while no dramatic difference were founded between the groups ($P > 0.05$). Positive rate of PAC-1 was decreased significantly with treatment of tirofiban in both observation group and control group when compared with groups receiving low molecular heparin only [(11.45 ± 1.63) % vs (7.68 ± 1.03) %, (11.79 ± 1.67) %, (3.92 ± 0.94) %, separately, ($P < 0.05$)]. Reduction of positive rate of CD62P was more

收稿日期: 2017-07-10

significant with treatment of Tirofiban in both observation group and control group when compared with groups receiving low molecular heparin only [(13.30 ± 1.52) % vs (4.83 ± 1.05) %, (12.89 ± 1.47) % vs (9.01 ± 1.26)%, separately, ($P < 0.05$)]. **Conclusion** Low molecular heparin combined with Tirofiban is a promising therapeutic option for ADVT, and inhibition of thrombosis is achieved potentially through decreased expression of PAC-1 and CD62P.

Keywords: low molecular heparin; Tirofiban; advt; pac-1; cd62p

急性下肢深静脉血栓 (acute deep venous thrombosis, ADVT) 能导致下肢水肿、静脉曲张,甚至下肢运动功能障碍,严重时还会引起肺栓塞等并发症,可能危及生命安全。引起 ADVT 的最主要的 2 个原因是静脉血流滞缓和血液呈高凝状态,与血小板的活化、凝聚息息相关,血小板的活化依赖于血小板膜上的糖蛋白 IIb/IIIa 复合物以及纤维蛋白原的参与^[1]。血小板激活复合物-1 (platelet active complex-1, PAC-1) 和 P 选择素是 2 种血小板活化标志物。其中 PAC-1 是糖蛋白 II b/ III a 复合物的抗原表位的单克隆抗体,是血小板活化早期的标志物, P 选择素 (CD62P) 是糖蛋白 II b/ III a 与纤维蛋白原结合形成血小板凝聚时的重要的标志物^[2]。替罗非班能通过干扰糖蛋白 II b/ III a 复合物与纤维蛋白原结合抑制血小板凝集,是一种有效的抗血栓药物。低分子肝素是一种临床常用的抗凝血药,生物活性是普通肝素的 3 倍。临床关于各种抗血栓药物的疗效的文献较多,但是关于抗血栓药物对 ADVT 患者体内 PAC-1 和 P 选择素的文献报道较少。本研究旨在探讨低分子肝素结合替罗非班治疗老年急性下肢深静脉血栓的疗效以及对 PAC-1、P 选择素的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2013 年 2 月-2016 年 2 月本院收治的老年 ADVT 患者 138 例为研究对象,根据随机数字表法分为对照组和观察组,每组 69 例。对照组患者予低分子肝素治疗,观察组予低分子肝素和替罗非班联合治疗。对照组:男性 39 例,女性 30 例;年龄 60 ~ 79 岁,平均 (68.2 ± 0.9) 岁;引发血栓原因 (长期卧床 18 例,外科手术 32 例,外伤 16 例,不明原因 3 例)。观察组:男性 41 例,女性 28 例;年龄 62 ~ 80 岁,平均 (67.1 ± 0.7) 岁;引发血栓原因 (长期卧床 16 例,外科手术 31 例,外伤 18 例,不明原因 2 例)。两组患者的一般资料差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 纳入标准和排除标准

1.2.1 纳入标准 ①所有患者符合相关诊断标准^[3]; ②经彩色多普勒超声、下肢静脉造影诊断以及 D-二聚体检测确诊为 ADVT; ③患者年龄 ≥ 60 岁; ④获得患者家属知情同意书。

1.2.2 排除标准 ①排除恶性肿瘤导致的深静脉血栓患者; ②排除伴有严重心脏疾病、肝肾功能障碍的患者; ③排除有出血性疾病患者; ④排除入院前 1 周内接受过相关抗血栓治疗的患者; ⑤排除精神异常、意识障碍患者; ⑥排除对本研究药物过敏的患者。

1.3 方法

治疗方法^[4]: 对照组患者每 12 h 进行 1 次低分子肝素钠注射液皮下注射 (5 000 IU), 连续治疗 14 d; 观察组患者采用替罗非班静脉泵注: 先以 0.4 μg/(kg · min) 的速率静脉泵注 30 min, 后改变速率为 0.1 μg/(kg · min), 共持续泵注 72 h, 低分子肝素治疗方法和时间同对照组。观察和比较两组患者治疗前和治疗 14 d 后相关指标。

1.4 观察指标

1.4.1 临床症状和体征变化情况 分别于治疗前和治疗后第 14 天测定患者的下肢平均肢围差来评价患肢肿胀程度, 平均肢围差 = 患肢肢围 - 健肢肢围, 分别以患者膝关节的髌骨中部上 15 cm 处和下 10 cm 为标准。

1.4.2 凝血指标检测 分别于治疗前和治疗后第 14 天清晨采集外周静脉血 3 ml, 测定患者的血常规血小板计数 (platelet, PLT) 和凝血功能 4 项, 包括纤维蛋白原 (fibrinogen, FIB)、凝血酶原时间 (prothrombin time, PT)、活化部分凝血酶原时间 (activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶时间 (thrombin time, TT), 用以评定患者的凝血功能。

1.4.3 PAC-1 和 P 选择素测定 分别于治疗前和治疗后第 14 天清晨空腹分别使用 2 支真空采血管采集外周静脉血 3 ml, 分别加入 PAC-1-FITC、CD62P-PE 和 CD61-PerCP 3 种血小板表面特异性标记抗体, 室温孵育 20 min, 再加入 1 ml 固定液, 遮光 2 ~ 6℃ 静置

30 min, 使用贝克曼库尔 EPICS[®] ALTRA[™] 流式细胞仪检测 PAC-1 和 CD62P 2 种血小板细胞表面因子的阳性率。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 计量资料进行正态分布及方差齐性检验。同组治疗前后比较采用配对 t 检验, 两组间比较采用两独立样本 t 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床症状和体征变化

治疗前, 两组患者膝上 15 cm、膝下 10 cm 处肢围差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后, 两组患者的膝上 15 cm、膝下 10 cm 处肢围差均减小, 差异有统计学

意义 ($P < 0.05$); 且治疗 14 d 后观察组膝上 15 cm、膝下 10 cm 处肢围差大于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组凝血指标比较

治疗前, 两组患者的各项凝血指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后两组患者的 FIB 浓度下降, 且治疗后的观察组 FIB 水平低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); PLT、PT、APTT 及 TT 4 项指标治疗前后以及两组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 PAC-1 和 P 选择素水平

治疗前, 两组患者的 PAC-1 和 P 选择素阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后, 两组患者的 PAC-1 和 P 选择素阳性率均降低, 且观察组于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 两组患者治疗前后下肢肢围差比较 ($n=69$, cm, $\bar{x} \pm s$)

组别	膝上 15 cm		t 值	P 值	膝下 10 cm		t 值	P 值
	治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
对照组	4.95 \pm 0.73	3.16 \pm 0.46	17.232	0.000	2.81 \pm 0.56	2.03 \pm 0.21	10.833	0.000
观察组	4.91 \pm 0.70	2.24 \pm 0.39	27.678	0.000	2.79 \pm 0.51	1.18 \pm 0.25	23.546	0.000
t 值	0.329	12.672			0.219	21.635		
P 值	0.734	0.000			0.827	0.000		

表 2 两组患者治疗前后凝血指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	FIB/ (g/L)		PLT/ ($\times 10^9/L$)		PT/s		APTT/s		TT/s	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	5.42 \pm 1.71	3.26 \pm 1.56 [†]	231 \pm 36.1	223 \pm 35.2	12.5 \pm 2.6	13.7 \pm 2.4	33.6 \pm 2.9	33.2 \pm 3.4	13.8 \pm 1.6	13.5 \pm 1.9
观察组	5.38 \pm 1.69	2.70 \pm 1.38 [†]	236 \pm 34.2	230 \pm 35.6	12.7 \pm 2.1	13.5 \pm 2.3	34.0 \pm 2.8	33.6 \pm 3.0	13.4 \pm 1.7	13.9 \pm 1.8
t 值	0.138	2.233	0.835	1.161	0.497	0.500	0.824	0.733	1.423	1.270
P 值	0.890	0.027	0.405	0.247	0.620	0.618	0.411	0.465	0.157	0.206

注: † 与治疗前比较, $P < 0.05$

表 3 两组患者治疗前后 PAC-1 和 P 选择素阳性率比较 ($n=69$, %, $\bar{x} \pm s$)

组别	PAC-1		t 值	P 值	P 选择素		t 值	P 值
	治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
对照组	11.45 \pm 1.63	7.68 \pm 1.03	16.241	0.000	12.89 \pm 1.47	9.01 \pm 1.26	16.647	0.000
观察组	11.79 \pm 1.67	3.92 \pm 0.94	34.113	0.000	13.30 \pm 1.52	4.83 \pm 1.05	38.084	0.000
t 值	1.210	22.398			1.611	21.170		
P 值	0.228	0.000			0.110	0.000		

3 讨论

老年患者由于基础疾病血液呈高凝状态,加上长期卧床、手术导致血管受损,是 ADVT 发病的高危人群。ADVT 的形成与血小板凝聚息息相关,血小板凝聚分为血小板活化、黏附以及聚集 3 个过程,其中血小板糖蛋白 II b/III a 受体与纤维蛋白原结合是血小板发生凝聚的最终共同通路^[5]。替罗非班是一种非肽类的可逆性血小板糖蛋白 II b/III a 受体拮抗剂,能通过有效干扰血小板活化和聚集的最终通路来抑制血小板凝聚,进而抑制血栓形成;是一种高效的抗血栓形成药物,临床通常与肝素联合广泛应用于心肌梗死、心绞痛或冠脉综合征等疾病^[6],但两者联用治疗 ADVT 的报道较少。

本研究使用低分子肝素结合替罗非班治疗老年 ADVT,结果表明,治疗 14 d 后,联合用药的观察组的膝上 15 cm 和膝下 10 cm 处的肢围差、以及纤维蛋白原浓度低于单独使用低分子肝素的对照组;但是 PLT、PT、APTT 及 TT 间两组患者无差异,且与治疗前比较无变化。高浓度的纤维蛋白原是血栓形成的重要风险因素^[7],肢围差的下降和纤维蛋白原浓度的下降说明联合治疗对老年 ADVT 患者具有良好的抗血栓作用;PLT、PT、APTT 及 TT 未发生变化说明低分子肝素与替罗非班联合不影响患者的凝血功能。

血小板的活化与凝聚是发生血栓的必要条件和步骤,血小板在活化过程中,其表面的膜糖蛋白分子的数量和分布以及结构会发生变化^[8]。血小板活化过程中有 2 种重要标志物,分别是 PAC-1 和 P 选择素,分别是血小板活化早期、晚期的标志物。PAC-1 是血小板表面的膜糖蛋白,是纤维蛋白原的受体,其功能是与纤维蛋白原发生结合,促使血小板凝聚。正常情况下,90% 以上的 PAC-1 以复合物的形式存在,此时不具有结合能力;在血小板发生活化时,PAC-1 的形态结构发生变化,暴露与纤维蛋白原结合的结合位点,产生受体活性,能与纤维蛋白原等蛋白结合,激活 Ca^{2+} 通道,加速血小板的活化和聚集^[9]。P 选择素是血小板 α 颗粒表面的一种膜蛋白,当血小板发生活化时,血小板 α 颗粒膜与质膜会发生融合,使得 P 选择素暴露于血小板质膜的表面,是一项血小板活化的重要标志^[10]。除此之外,P 选择素还能介导活化血小板与内皮细胞核各种细胞之间的黏附作用,能调节中性粒细胞与内皮细胞发生黏附,促进血液进入高凝状态^[11]。并且血小板完成活化后,可以释放多种血小板因子、血栓素等促血栓活性因子,启动一系列的后续表达,促进患者的下肢血管收缩、

使下肢形成高静脉压,促使 ADVT 生成^[12]。正常情况下,血小板以单个分散状态存在于血管内,当血管内皮受损、血液黏稠度发生变化时血小板发生活化、凝聚起到止血和修复血管内皮作用^[13]。老年患者在血管内皮受损后,血流速度减慢,伴随自身基础疾病以及行动不便,极易导致血小板凝聚,发生下肢深静脉血栓。

本研究采用低分子肝素与替罗非班联合治疗老年 ADVT,使用流式细胞仪检测两组患者治疗前和治疗后的 PAC-1 和 P 选择素阳性率。结果发现两组患者的 PAC-1 和 P 选择素阳性率均下降,但联合用药的观察组患者的 PAC-1 和 P 选择素阳性率低于单独使用低分子肝素的对照组,比较有差异。分析认为其具体机制是通过替罗非班特有的氨基酸序列竞争性占据血小板糖蛋白 IIb/IIIa 的连接位点,抑制纤维蛋白原结合,进而抑制血小板的活化,阻碍血小板后续的黏附和聚集,抑制血栓形成;血小板活化受到抑制,使得 PAC-1 和 P 选择素的阳性率下降,血小板与内皮细胞等的黏附作用下降,后续的各种血小板因子和血栓素等也可能受到抑制,下肢深静脉血栓形成受到抑制^[14]。宋吉法^[15]研究替罗非班对急性冠脉综合征患者的血小板活化度的影响发现,采用阿司匹林、低分子肝素和替罗非班能降低 CD62PPAC-1 的表达,在心血管事件上有良好疗效。许研等^[16]探讨替罗非班在老年急性梗死围术期的应用效果,发现替罗非班能有效降低 PAC-1 和 P 选择素的阳性表达率,本文结果与之相似。

综上所述,低分子肝素结合替罗非班可以有效治疗老年机 ADVT,减小下肢肢围差,降低 PAC-1 和 P 选择素的阳性表达,抑制血栓形成,不影响患者凝血功能,疗效良好,值得临床推广。

参 考 文 献:

- [1] PRANAV M, FILIP D, JENNIFER L, et al. The NLRP3 inflammasome and bruton's tyrosine kinase in platelets co-regulate platelet activation, aggregation, and in vitro thrombus formation[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 483(1): 230-236.
- [2] 王玲. 急性脑梗死患者不同病情程度与血清中 PAC-1 和 CD62p 的不同表达分析 [J]. *重庆医科大学学报*, 2013, 38(6): 638-640.
- [3] 王深明,武日东. 下肢深静脉血栓形成治疗指南与实践 [J]. *中国实用外科杂志*, 2015, 5(12): 1264-1266.
- [4] 古旭云,朱昱冰,赵磊,等. 盐酸替罗非班联合低分子肝素治疗急性下肢深静脉血栓的疗效 [J]. *实用医学杂志*, 2014, 30(2): 298-300.
- [5] 柳晓娜,朱宁,魏国峰,等. 糖尿病合并急性冠状动脉综合征患者血小板表面 PAC-1 和 CD62P 表达水平 [J]. *中国动脉硬化杂*

- 志, 2013, 23(2): 161-164.
- [6] MARIA A, SARA A, FRANCESCO C, et al. Phosphate- or citrate-buffered tirofiban versus unfractionated heparin and its impact on thrombocytopenia and clinical outcomes in patients with acute coronary syndrome: A post hoc analysis from the PRISM trial[J]. JACC: Cardiovascular Interventions, 2016, 9(16): 1667-1676.
- [7] YACOV S, ERAN L R, EYAL B A, et al. Comparison of C-reactive protein and fibrinogen levels in patients having anterior wall ST-segment elevation myocardial infarction with versus without left ventricular thrombus (From a Primary Percutaneous Coronary Intervention Cohort)[J]. The American Journal of Cardiology, 2013, 112(1): 57-60.
- [8] 王星, 张璐萍. 西洛他唑对骨折创伤术后下肢静脉栓塞患者血浆中血小板相关指标的影响 [J]. 中国生化药物杂志, 2014, 34(4): 134-139.
- [9] 黄涛, 王海侨. PAC-1、CD62p 和 D-Dimer 含量与急性脑梗死患者梗死体积的相关性 [J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(14): 3302-3304.
- [10] PATRICIA N, MARIA D, LUIS B P, et al. Changes of soluble CD40 ligand in the progression of acute myocardial infarction associate to endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and vascular endothelial growth factor but not to platelet CD62P expression[J]. Translational Research, 2015, 166(6): 650-659.
- [11] 王朝辉, 鞠文博, 黄竞妍. 脑血栓患者治疗前后血小板膜糖蛋白 CD62p 水平的比较 [J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(5): 1152-1153.
- [12] 张蕴鑫, 刘建龙, 贾伟, 等. P-选择素、溶酶体颗粒糖蛋白、血小板活化因子和血浆 D-二聚体水平与下肢深静脉血栓形成的关系 [J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(5): 1221-1223.
- [13] 沈明强, 程庆璋, 石冬敏. 不同抗血小板治疗对急性脑梗死患者血小板活化聚集状态的比较 [J]. 南京医科大学学报, 2013, 33(2): 213-216.
- [14] 罗亚玮, 陈方, 潘昱, 等. 任血小板糖蛋白 II b/III a 受体拮抗药替罗非班的抗血小板以外作用 [J]. 中国药房, 2015, 26(2): 278-281.
- [15] 宋吉法. 替罗非班对急性冠脉综合征患者血小板活化度的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(14): 2954-2955.
- [16] 许研, 李金秀. 围术期应用替罗非班在急性心肌梗死老年患者介入治疗中价值 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, 28(3): 306-308.

(王荣兵 编辑)