

血小板浓缩物在慢性难愈合创面愈合中的治疗进展

陈晓妍 杨景哲*

承德医学院附属医院 河北 承德 067000

【摘要】: 慢性难愈合创面治疗周期长、疗效差且致残率高, 给患者的身体、生活等带来了巨大的影响。随着对于血小板生理作用的研究深入, 从自体静脉血离心得到的血小板浓缩物给慢性难愈合创面的治疗带来了全新的方法。本文就血小板促进愈合的机制、血小板浓缩物的分类及其在慢性难愈合创面中的应用作一综述。

【关键词】: 慢性难愈合创面; 血小板浓缩物; PRF

Progress in the treatment of Platelet Concentrates in Chronic refractory wound healing

XiaoyanChen, JingzheYang

(Department of burn and plastic Surgery, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde Medical College, Hebei Province, 067000, China)

Abstract: Chronic refractory wounds have a long treatment cycle, poor curative effect and high disability rate, which has a huge impact on the health, economy and life of patients. With the in-depth study of the physiological function of platelets, the platelet concentrates obtained from the centrifugation of autologous venous blood has brought a new method to the treatment of chronic refractory wounds. This article reviews the mechanism of platelets promoting healing, the classification of platelet concentrates and their application in chronic refractory wounds.

Keywords: Chronic refractory wounds, Platelet concentrates, Platelet-rich fibrin

慢性难愈合创面是指临床上由各种原因引起的、经 1 个月以上治疗未能愈合, 也无愈合趋势的创面^[1]。创面的修复和愈合由炎症、增殖和重塑三个阶段相互交织而成^[2], 此过程中任何一个阶段受到全身或局部因素的影响而失调时, 都将导致慢性难愈合创面的产生。虽然慢性难愈合创面治疗手段多样, 但不可否认的是治疗效果依旧不尽人意, 时效性差。

慢性难愈合创面的治疗方法包括内科疗法、清创术、外科常规换药、外科皮瓣/皮片移植术、负压封闭引流技术等。随着治疗理念和技术的更新, 出现了一些新型疗法, 包括细胞治疗、基因疗法、血小板浓缩物 (platelet concentrates, PCs)^[3]。PCs 是取自患者自体静脉全血经离心后所得, 含有高浓度的生长因子、白细胞等细胞因子, 通过刺激细胞增殖和血管新生等方式, 以促进创面愈合的浓缩血小板制品。近年来, 已有不少学者将 PCs 应用于慢性难愈合创面的治疗, 并且得到了较为理想的效果。PCs 现已成为慢性难愈合创面治疗的研究热点。

PCs 主要包括富血小板血浆 (platelet-rich plasma, PRP)、富血小板纤维蛋白 (platelet-rich fibrin, PRF)、浓缩生长因子 (concentrated growth factors, CGF) 三类。本文旨在对于血小板促进创面愈合的机制、各类 PCs 的特点及其在慢性难愈合创面中的临床应用进行概述。

1 血小板促进愈合的机制

机体损伤时, 血小板最先激活机体内外源性凝血机制, 最终通过形成纤维蛋白凝块发挥止血作用, 同时募集趋化因子抗炎。凝块中的血小板活化后释放大量生长因子, 如血小板衍生生长因子 (platelet derived growth factor,

PDGF)、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF)、胰岛素样生长因子 (insulin like growth factor, IGF)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等, 促进细胞大量增殖、血管新生, 最终有效地促进创面愈合^[4]。生长因子是组织细胞新陈代谢过程中重要的信号分子, 在促进创面愈合过程中具有重要作用^[5]。

2 PCs

PCs 取自患者自身静脉血, 按照规范化操作流程提取所得, 经证实具有促进局部组织愈合、再生的能力。PCs 旨在强化血小板在创面愈合中的作用, 释放出更多的生长因子, 最终达到修复、重塑组织的目的。

2.1 分类

DOHAN EHRENFEST 等人^[6]于 2009 年首次将 PCs 分为以下四大类: ① P-PRP (pure platelet-rich plasma): 纯富含血小板血浆; ② L-PRP (leukocyte and platelet-rich plasma): 白细胞-富含血小板血浆; ③ P-PRF (pure platelet-rich fibrin): 纯富含血小板纤维蛋白; ④ L-PRF (leukocyte and platelet-rich fibrin): 白细胞-富含血小板纤维蛋白。

CHOUKROUN 等人于 2014 年首次定义了可注射型富血小板纤维蛋白 (injectable platelet-rich fibrin, I-PRF) 和改良型富血小板纤维蛋白 (advanced platelet-rich fibrin, A-PRF) 两大类新型血小板制剂。

TUNALI 等人 2012 年首次采用钛制试管进行离心制备, 命名为钛制备富血小板纤维蛋白 (titanium prepared platelet-rich fibrin, T-PRF)^[7]。

目前应用于临床的血小板浓缩物, 主要经历了以下三

个阶段: 第一代血小板浓缩物 PRP; 第二代 PRF; 第三代 CGF。

2.2 各类 PCs 的制备、特点及功能

2.2.1 PRP

1. 制备方法

PRP 中要求每毫升血清中含有超过 100 万个血小板或达基线血小板量的 5 倍^[8]。目前, 对于制备方法尚无明确规定, 主要分为密度梯度离心法和血浆分离置换法, 临床上常用离心法制备。

离心法中对于离心次数、时间、采血量等不同的选择, 所得到 PRP 中血小板浓度各有差别。卫愉轩等人^[9]对于筛选出的 94 篇 PRP 制备的相关文献整理后指出: 目前国内临床上 PRP 的制备主要采用二次离心法 (80.2%), 制备的主要流程参照的是 Landersberg 法。

2. 特点及功能

PRP 取自体血离心后, 富含创面愈合所需的各种生长因子, 同时还存在高浓度的白细胞类物质。Chi-Sheng 等人构建了骨关节炎小鼠模型, 用炎症因子 (IL-1 β +TNF- α) 处理创面 2 天后, 发现 PRP 组的细胞数量、活性程度明显高于对照组, 认为 PRP 对于局部炎症存在抑制作用^[10]。但 MAGHSOUDI 等人的实验认为 PRP 对于铜绿假单胞、肺炎克雷伯杆菌无任何作用^[11]。故 PRP 的抑菌作用及机制还需要更多实验证实。

PRP 在制备过程最常添加外源性激活剂 (枸橼酸钠、氯化钙等), 使其中生长因子的释放在 24h 之内达峰值, 后不断下降, 其活性可持续 5-8 天^[12]。在制备过程中加入不同的激活剂, 对于生长因子的释放时常及创面持续时间存在很大影响^[13]。

PRP 制备过程中激活剂的选择关系到生长因子释放时间的长短, 且在制备过程中加入的外源性激活剂, 可能会导致过敏、免疫排斥等问题的出现, 故如今临床上 PRP 已逐渐被其他 PCs 所取代。

2.2.2 PRF

1. 制备方法

PRF 作为第二代血小板浓缩物由 Choukroun 首次提出, 是自体全血经 1 次离心后, 所获得的纤维蛋白基质^[14]。PRF 制备简单, 无添加外源性物质, 相较于其他 PCs 而言, 具有更广阔的应用价值。

制备方法: 取患者 10ml 外周静脉血, 置于无任何添加的试管中, 3000r/min 离心 10min 后, 分为 3 层: 上 - 贫血小板血浆 (platelet-poor plasma, PPP), 中 - PRF 凝胶, 下 - 红细胞。

2. 特点及功能

PRF 与其他 PCs 不同的是富含大量的纤维蛋白^[15], 将血小板困于纤维网的同时拦截血液中的细胞因子, 随后缓慢释放, 使生长因子的浓度在 7-14 天之间达峰值, 在 28 天内保持在较高水平^[16]。

此外, PRF 中含有大量的细胞因子, 包括促炎因子、抗炎因子和生长因子, 抗炎与炎症因子相互拮抗, 以达到抗感染的作用; 各种生长因子 (PDGF、TGF- β 、VEGF 等), 能够刺激细胞增殖、血管新生, 以促进伤口愈合。Nelson R Pinto 等人纳入了 44 名慢性难愈合创面的患者, 在经 PRF

治疗后, 9 名糖尿病足溃疡患者的创面在 3 个月内完全闭合, 其余复杂性创面在治疗后, 均出现明显改善, 认为 PRF 对于慢性难愈合创面具有积极促愈作用^[17]。

2.2.3 第三代血小板浓缩物 CGF

1. 制备方法

CGF 由 Sacco 首次提出: 抽取 9ml 自体静脉血于无菌 Vacuette 管中, 使用 Medifuge MF200 专用离心机, 2 700r/min、2min, 后降至 2 400r/min、4min, 再加速到 2 700r/min、4min, 最后 3 300r/min、3min 制得。离心后分为三层: 上层 - PPP, 中层 - CGF、白细胞、CD34+ 干细胞, 下层 - 红细胞^[18]。

2. 特点及功能

CGF 与 PRF 大致类似, 区别在于差速离心制备的 CGF 中, 含有较 PRF 更致密的纤维蛋白网状结构以及更高浓度的生长因子^[19]。李永斌等人对比 PRF 和 CGF 的降解速度发现, 5 天内 PRF 膜片将完全降解, CGF 膜片则需 7 天, 故 PRF 降解速度较 CGF 稍快^[20]。

据相关研究分析, CGF 中主要包含了血小板、纤维蛋白及 CD34+ 细胞群等成分, 血小板活化后释放大量的生长因子 (VEGF、PDGF、EGF 等), 各生长因子能够发挥刺激细胞增殖、新生血管等作用。ZHANG L 等人模拟兔体内环境发现, CGF 能够促进家兔骨膜细胞的增殖、刺激成骨分化^[21], CD34+ 细胞群则在组织修复方面有明显作用, CGF 中的干细胞、单核细胞可迁移至伤口处, 并可进一步分化为 M2 型巨噬细胞, 最终促进伤口的愈合^[22]。HONG 等人将 CGF 作用于从人牙髓中提取牙髓干细胞上, 发现 CGF 可促进牙髓干细胞增生和分化, 认为 CGF 在治疗牙髓病方面具有很大前景^[23]。

3 PCs 在慢性难愈合创面的临床应用

3.1 PRP

PRP 在慢性难愈合创面中的愈合效果报道众多。余祖改等人对 60 名慢性窦道患者进行常规换药和 PRP 治疗的研究发现, PRP 组窦道愈合率达 93%, 换药次数明显低于常规组, 且感染率明显下降^[24]。周俊丽等人的一项 Meta 分析中, 纳入 33 项随机对照试验, 共涉及糖尿病足溃疡患者 2520 例, 结果显示在治愈率方面, PRP 明显优于新型敷料^[25]。

3.2 PRF

PRF 具备加速组织愈合的能力, 已经成为组织工程的研究热点。罗楠等人采用 PRF 联合泡沫敷料治疗慢性创面证实, PRF 联合泡沫敷料可显著缩短愈合时间、减少换药次数、压疮愈合计分量表评分总分显著下降, 明显减轻患者的痛苦, 显著促进创面愈合^[26]。Bayer A 等人的一项回顾性研究中, 纳入了 35 名存在慢性难愈合创面的患者, 其中包括慢性动脉闭塞性疾病、慢性静脉功能不全、糖尿病及各种术后愈合障碍所致的慢性创面, 在经 PRF 规律治疗后, 77.1% 的患者均得到一定改善, 其中 40% 的患者完全再上皮化, 认为 PRF 能够有效地促进慢性难愈合创面的愈合且创面的大小对于 PRF 的疗效不产生任何影响^[27]。

就目前的临床和基础研究数据结果而言, PRF 较 PRP 具有制备过程简单、无外源性物质、安全性能更高、不引发机体免疫反应、释放各类生长因子更持久等优势; 较

CGF而言,制备过程简便、操作简单、不需要特殊离心机等优势,已经显示出良好的应用前景,随着研究的不断深入,有望突破慢性难愈合创面的治疗难关。

3.3 CGF

第三代血小板浓缩物CGF进入临床时间较短,在慢性难愈合创面的治疗上缺乏相关报道。汪淼等人使用液态和凝胶态CGF联合治疗了15例慢性创面的患者,对照组仅采用常规换药、抗感染等处理,结果显示对照组的创面愈合时间均长于CGF组,且无明显瘢痕形成^[28]。CGF拥有高浓度生长因子和高密度的纤维蛋白等优势,在慢性难愈合创面的治疗中具有巨大潜能,但需大量的临床和基础研究数据的支持。

4 结语

综上所述,作为慢性难愈合创面治疗手段之一,血小板浓缩制品的效果已经得到普遍的认可。

PRP在制备过程中必须加入外源性抗凝剂,由此产生了少数不良事件还需进一步的研究其安全性。在PRP基础上改良制成了不需添加抗凝剂的PRF和CGF,安全性能更高。其中PRF制备简便,不受专业人员、技术的限制,其致密的纤维蛋白网状结构,显著延长了生长因子释放和作用时间,利于创面的愈合,目前临床上在骨科、口腔等学科应用广泛,尚未发现其不良反应。PRF的时效性得到了广泛的肯定,但对于慢性难愈合创面方面的研究稀缺,多为基础实验,临床研究空白,需要更多临床实验来验证其有效性。CGF作为第三代血小板制品,对于临床而言是一个全新的概念,制备过程复杂、要求高,限制了其临床推广,且多用于骨再生、上颌窦提升等方面,慢性难愈合创面中的应用空白,故对于慢性难愈合创面的是否具有明确的促进作用还需更多的基础和临床研究。

就临床而言,PCs取自患者自体静脉血,制备量有限,很难用于大面积创伤,故对PCs的使用应根据具体情况而定。此外,离心速度的选择对于生长因子、纤维蛋白、细胞种类的影响,以及PCs在创面修复中的具体作用机制还需进一步探索。

参考文献:

[1] 张伟,张俊峰,王冕,等.体表慢性难愈合创面患者下肢深静脉血栓形成的发生情况及影响因素[J].中华医学杂志,2020,100(4):291-294.

[2] Jones CM, Rothermel AT, Mackay DR. Evidence-Based Medicine: Wound Management[J]. *Plast Reconstr Surg*. 2017,140(1):201-216.

[3] 魏在荣,黄广涛.慢性创面的治疗进展及创面外科整合治疗模式探讨[J].中华烧伤杂志,2019,35(11):4.

[4] Lambrechts I. Therapeutic Potential of Dental Pulp Stem Cells and Leucocyte- and Platelet-Rich Fibrin for Osteoarthritis[J]. *Cells*, 2020, 9 (4):980. doi:10.3390/cells9040980.

[5] Chicharro-Alcántara Deborah, Rubio-Zaragoza Mónica, Damiá-Giménez Elena, et al. Platelet Rich Plasma: New Insights for Cutaneous Wound Healing Management[J]. *Journal of Functional Biomaterials*, 2018, 9(1):10. doi:10.3390/

jfb9010010.

[6] 乔新婷,卢发强.富血小板浓缩物在皮肤创面愈合中的应用现状[J].中国临床新医学,2019,12(2):229-232.

[7] 常尧仁,刘纯,殷丽华等.富血小板纤维蛋白衍生物的研究进展[J].华西口腔医学杂志,2019,37(6):660-665.

[8] Jorge, Chahla, Bert R, et al. Biological Treatment for Osteoarthritis of the Knee: Moving from Bench to Bedside-Current Practical Concepts[J]. *Arthroscopy: the journal of arthroscopic & related surgery: official publication of the Arthroscopy Association of North America and the International Arthroscopy Association*, 2018, 34(5):1719-1729. doi:10.1016/j.arthro.2018.01.048.

[9] 卫愉轩,张昭远,范峥莹,袁霆.中国富血小板血浆临床制备方法的研究进展[J].中华关节外科杂志(电子版),2020,14(2):196-200.

[10] Chi-Sheng, Chiou, Chi-Ming, et al. Mechanistic insight into hyaluronic acid and platelet-rich plasma-mediated anti-inflammatory and anti-apoptotic activities in osteoarthritic mice. [J]. *Aging*, 2018,10(12):4152-4165.

[11] MAGHSOUDI O, RAYJBAR R, MIRJALILI S H, et al. Inhibitory activities of platelet-rich and platelet-poor plasma on the growth of pathogenic bacteria[J]. *Iran J Pathol*, 2017, 12(1):79-87.

[12] 张诗韵.血小板浓缩物在年轻恒牙髓再生中的应用进展[J].口腔材料器械杂志,2018,27(3):162-166. doi:10.11752/j.kqcl.2018.03.09.

[13] 庄雅雯,曾奕明,陈云峰,等.不同激活剂对人富血小板血浆释放曲线的影响[J].中华结核和呼吸杂志,2018,41(11):868-872.

[14] 王澜,刘刚,李哲等.富血小板纤维蛋白在合并并行皮下窦道的慢性创面治疗中的临床应用[J].中华烧伤杂志,2018,34(9):637-642.

[15] 侯晓媛,鲁严.富血小板血浆在皮肤科中的应用进展[J].中华皮肤科杂志,2019,52(4):279-282.

[16] Bilgen F, Ural A, Bekerecioglu M. Platelet-rich fibrin: An effective chronic wound healing accelerator. [J] *Tissue Viability*. 2021,30(4):616-620. doi:10.1016/j.jtv.2021.04.009.

[17] PINTO, NELSON R., UBILLA, MATIAS, ZAMORA, YELKA, et al. Leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) as a regenerative medicine strategy for the treatment of refractory leg ulcers: a prospective cohort study[J]. *Platelets*, 2018,29(5):468-475. doi:10.1080/09537104.2017.1327654.

[18] QIAO J, AN N, OUYANG X. Quantification of growth factors in different platelet concentrates [J]. *Platelets*, 2017,28(8):774-778. doi:10.1080/09537104.2016.1267338. Epub 2017 Feb 21.

[19] Isobe K, Watanebe T, Kawabata H, et al. Mechanical and degradation properties of advanced platelet - rich fibrin (A - PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet - poor plasma - derived fibrin (PPTF) [J]. *Int J Implant Dent*, 2017,3(1):17. doi:10.1186/s40729-017-0081-7. Epub 2017

May 2.

[20] 李永斌, 孙迎春, 韦荣智, 等. 浓缩生长因子纤维蛋白与富血小板纤维蛋白体外降解的对比 [J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(14): 2234-2240.

[21] ZHANG L, AI H. Concentrated growth factor promotes proliferation, osteogenic differentiation, and angiogenic potential of rabbit periosteum-derived cells in vitro [J]. *J Orthop Surg Res*, 2019, 14(1): 146. doi:10.1186/s13018-019-1164-3.

[22] Kao CH. Use of concentrate growth factors gel or membrane in chronic wound healing : Description of 18 cases [J]. *Int Wound J*, 2020, 17(1): 158-166. doi:10.1111/iwj.13250. Epub 2019 Oct 29.

[23] HONG S, LI L, CAI W, et al. The potential application of concentrated growth factor in regenerative endodontics [J]. *Int Endod J*, 2019, 52(5): 646-655. doi:10.1111/iej.13045. Epub 2018 Dec 18.

[24] 余祖改, 高娅, 孟庆南等. 自体富含血小板血浆应用于慢性皮肤窦道的临床观察 [J]. 实用医学杂志, 2022, 38(2): 255-257. doi:10.3969/j.issn.1006-5725.2022.02. 024.

[25] 周俊丽, 王小俊, 王海焦, 李春. 新型医用敷料治疗糖尿病足溃疡疗效比较的网状 Meta 分析 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(16): 2562-2569.

[26] 罗楠, 郭锦丽, 石雯等. 富血小板纤维蛋白联合泡沫敷料治疗慢性伤口的效果观察 [J]. 实用骨科杂志, 2022, 28(1): 92-95.

[27] Bayer A, Höntschi G, Kaschwich M, Dell A, Siggelkow M, Berndt R, Rusch R, Harder J, Gläser R, Cremer J. Vivostat Platelet-Rich Fibrin® for Complicated or Chronic Wounds-A Pilot Study. [J] *Biomedicines*. 2020, 8(8): 276. doi:10.3390/biomedicines8080276.

[28] 汪淼, 赵启明, 陆海山等. CGF 在多种类型创面修复中的临床应用 [J]. 中国美容医学, 2020, 29(4): 75-78. doi:10.15909/j.cnki.cn61-1347/r.003533.

基金项目: 河北省 2023 年度医学科学研究课题计划 (20231383)

作者简介: 陈晓妍 (1997-11-04), 女, 江苏淮安, 学士, 在读研究生, 慢性难愈合创面

* 通讯作者: 13653247707@163.com