

血小板浓缩制品在创面修复中的应用研究进展

李羽霖 陈诺 谢卫国

武汉大学同仁医院暨武汉市第三医院烧伤研究所 430060

通信作者:谢卫国, Email: wgxie@hotmail.com

【摘要】 创面的修复过程需要多种生长因子参与调节,但是目前临床上仍然缺乏强效、长效、价格适中的生长因子制剂,而血小板浓缩制品为临床上创面的治疗提供了一种经济、方便、有效的选择。从第1代血小板浓缩制品富血小板血浆开始,研究人员致力于优化血小板浓缩制品的性能,让其具有更强的稳定性、更丰富的生物活性因子以及更优秀的临床表现,富血小板纤维蛋白和浓缩生长因子应运而生。血小板浓缩制品均具有促进创面愈合、提升创面愈合质量的效果。本文旨在对血小板浓缩制品的历史和分类进行综述,对其性质和临床应用进行比较,对其作用机制进行阐述,同时对相关研究中存在的问题和该领域未来发展进行分析和展望。

【关键词】 伤口愈合; 富血小板血浆; 生物相容性材料; 富血小板纤维蛋白; 浓缩生长因子

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81772097);重大疾病防治科技行动计划(2018-ZX-01S-001)

Research advances on the application of platelet concentrate products in wound repair

Li Yulin, Chen Nuo, Xie Weiguo

Institute of Burns, Tongren Hospital of Wuhan University & Wuhan Third Hospital, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Xie Weiguo, Email: wgxie@hotmail.com

【Abstract】 Multiple growth factors are required to regulate the wound repair process. Currently, there is still a lack of potent, durable, and inexpensive growth factor product in clinical practice. Meanwhile, platelet concentrate products provide an economical, convenient, and effective choice for the treatment of wounds in clinical practice. Starting from the first generation of platelet concentrate products, platelet-rich plasma, researchers have focused on optimizing the performance of platelet concentrate products for higher stability, more abundant bioactive factors, and more optimal clinical performance. Platelet-rich fibrin and concentrated growth factor emerged since then. Platelet concentrate products have the effect of promoting the speed of wound healing and enhancing

the quality. This article aims to summarize the history and classification of platelet concentrate products, compare their properties and clinical applications, elaborate their mechanism of action, and analyze the problems existing in relevant researches while prospecting the future development of this field.

【Key words】 Wound healing; Platelet-rich plasma; Biocompatible materials; Platelet-rich fibrin; Concentrated growth factor

Fund program: General Program of National Natural Science Foundation of China (81772097); Action Plan for Science and Technology in Major Disease Prevention and Control (2018-ZX-01S-001)

皮肤创面修复的过程是许多生长因子发挥协同作用的复杂生物过程。生长因子是一种由多种组织细胞产生的内源性信号分子,主要存在于血浆和血小板中,可以通过调节细胞迁移、增殖和血管化促进创面愈合。

在各种皮肤创面中,慢性溃疡的治疗最为复杂。慢性溃疡无法通过正常有序而及时的修复过程达到解剖和功能上的完整状态,其难以愈合的潜在病因有多种,包括全身疾病、局部血液供应障碍、失神经支配、长期精神压力等。如果正常的愈合过程被打断,溃疡可能会由于缺乏生长因子和细胞因子而成为慢性溃疡,从而延迟愈合过程。

富血小板血浆(PRP)的成功提取为治疗慢性创面提供了一个颇有前景的新思路。PRP及其后的改良产品富血小板纤维蛋白(PRF)、浓缩生长因子(CGF)等,提供大量在组织修复中起重要作用的信号细胞因子和生长因子,通过包括调节炎症、血管生成以及新组织的合成和重塑在内的多种机制,帮助在内部创造最有利于恢复组织动态平衡的生物环境。与传统的清创、换药、NPWT等相比,血小板浓缩制品制备简单、经济有效、持续时间长,而且本质上是自体的,没有传染性病原体,是一种安全的治疗方式。本文旨在对血小板浓缩物的历史和分类进行综述,对其性质和临床应用进行比较,对其作用机制进行阐述,同时对相关研究中存在的问题和该领域未来发展进行分析和展望。

DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200730-00363

本文引用格式:李羽霖,陈诺,谢卫国.血小板浓缩制品在创面修复中的应用研究进展[J].中华烧伤杂志,2021,37(10):990-995. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200730-00363.

Li YL, Chen N, Xie WG. Research advances on the application of platelet concentrate products in wound repair[J]. Chin J Burns, 2021, 37(10): 990-995. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200730-00363.



1 血小板浓缩制品的发展简史

1.1 理论背景

血供决定创面愈合的速度和效果,是组织再生的先决条件。血液中的生长因子通过调节炎症反应、促进肉芽组织形成和诱导血管生成等促进创面愈合过程中基质的形成和重塑,而生长因子缺乏是造成慢性创面的重要原因。压疮已经被证实存在碱性 FGF (bFGF)、血小板衍生生长因子 (PDGF)、EGF 和 TGF- β 的缺乏^[1],同时有研究者观察到 PDGF 在慢性溃疡中的表达低于手术造成的急性创面^[2]。

随着人们对生长因子在慢性创面病理生理学中作用认识的不断加深,生长因子成为创面管理的热门研究方向。然而,由于生长因子具有稳定性低、通过创面周围皮肤的吸收受限、体内半衰期短、在到达创面区域之前通过渗出被清除、局部和/或全身给药后的不良反应等不足,导致其临床应用受限。此外,生长因子具有与受体结合的特异性、与 ECM 成分相互作用的复杂性、对于空间分布的依赖性。因此在空间和时间上控制生长因子的传递,对于它们作为再生药物在临床实践中的有效和安全使用至关重要,血小板浓缩制品于是应运而生。

1.2 血小板浓缩制品发明的简要历程

血液中不同成分沉降比的差异是各成分得以分离的基础,而离心技术的优化则推动着血小板浓缩制品更新换代。

1977 年,PRP 第 1 次被成功分离提取^[3];1984 年,Anderson 等^[4]通过简易成对离子液相色谱法观察到 PRP 含多种生长因子;1993 年,PRP 的概念得以提出;1998 年,在口腔医学领域第 1 次发现 PRP 的作用,即通过对 PDGF 和 TGF- β 的富集加快成骨速度,增加最终成骨量^[5]。

2001 年,法国学者 Joseph Choukroun 发明了一种不需要添加外源性抗凝剂,且操作时间较短的浓缩程序,即将静脉血以 2 700 r/min 离心 12 min。由于在富集血小板和生长因子的同时,试管中还产生了一种凝胶样的三维纤维蛋白基质,因此该产品被命名为 PRF^[6]。得益于纤维蛋白本身的结构和制备过程中缓慢的聚合模式,PRF 能加速瘢痕形成,促进创面愈合^[7]。

2006 年,第 3 代血小板浓缩制品 CGF 由 Sacco 首次开发并在临床应用。与 PRF 相比,CGF 的制备采用差速离心技术,离心后试管中的静脉血分为 3 层:血清层、CGF 纤维蛋白凝胶层、红细胞及血小板层。CGF 所含生长因子种类与 PRF 相同,主要包括 VEGF、FGF、EGF、PDGF 等,其作用的差异性可能归结于二者微观结构的不同^[8]。

1.3 血小板浓缩物的分类与命名

2014 年,Dohan Ehrenfest 等^[9]指出,第 1 代血小板浓缩制品的命名十分混乱,市场上存在众多商业化产品,既没有规范化的制备程序,也没有统一的术语进行描述,造成了文献杂乱无章、技术路线五花八门、产品描述含糊不清的现象。而自 PRF 发明以来,相关问题逐步得到重视。就 PRP 和 PRF 系列产品而言,2009 年 Dohan Ehrenfest 等^[10]首次提出按照细胞种类(多为白细胞)和纤维蛋白结构的分类标准,将相关产

品分为纯 PRP 或去白细胞 PRP、富白细胞 PRP(L-PRP),纯 PRF 或去白细胞 PRF、富白细胞 PRF(L-PRF)。然而,仍有许多血液制品尚未归类。研究人员准确、详细地描述产品性状,将为进一步细化血小板浓缩制品的分类和命名提供帮助。另外,细胞类型、血小板采集效率、血小板含量、白细胞采集效率、白细胞含量,甚至是离心机参数、产品形式(液态、凝胶态、固态等)等也可以作为分类的潜在标准。

2 血小板浓缩制品的制备方法及其成分

2.1 制备方法

如前所述,PRP 的制备方法未统一,但其共同特点如下:需使用抗凝剂延长制品在创面的作用时间、迅速离心(各种方法均要求在 1 h 内完成 PRP 的制备)、需经过 2 次离心、加入牛凝血酶及氯化钙以激活凝血酶原。张昭远等^[11]研究了应用不同离心条件优化 L-PRP 的制作方案,其中 2 次离心法(800 \times g 离心 10 min,1 100 \times g 离心 10 min)可获得较为满意的血小板回收率和富集系数,且白膜层较厚,可降低对操作者的精细化操作要求,提高容错率及可推广性。由于血小板浓缩制品的质量取决于离心力、离心时间、温度和操作过程等,该结果也可以作为其他相关制品的优化出发点之一。

Joseph Choukroun 是 PRF 的发明者,其研究团队在制备 PRF 的过程中未使用任何外源性添加物,他们采用一步离心法——取血置入离心管后迅速将其低速离心,利用玻璃离心管中的硅元素催化血小板激活和纤维蛋白的生理性聚合,模拟生理凝血过程,并由此收集到更接近天然结构的血凝块^[6]。此外,通过改变离心程序,采血后立即以 700 r/min 离心 3 min 并取上清液,可形成可注射型 PRF (i-PRF)^[12]。i-PRF 含有更高浓度白细胞、血小板、生长因子和纤维蛋白原,能够使骨替代材料凝集成团,增加其整体抗压强度。这样使 PRF 同时具备固相与液相 2 种形态,使用更加灵活,活性组分更加丰富。

CGF 的制备采用差速不间断离心技术,应用 Medifuge 离心加速机(离心半径为 17.5 cm),具体程序如下:加速 30 s,以 2 700 r/min 离心 2 min,2 400 r/min 离心 4 min,2 700 r/min 离心 4 min,3 000 r/min 离心 3 min,减速 36 s。这种方法可以产生比 PRF 体积更大、密度更高、生长因子更多的富纤维蛋白块,而血小板、生长因子等生物活性物质则浓缩在一个纤维蛋白结构的凝胶层中^[13],因此理论上 CGF 较 PRF 拥有更好的再生能力和更广泛的使用范围。

2.2 PRP、PRF、CGF 所含成分的异同

由于以上几种血小板浓缩制品制备理念相同,即通过抽取患者自身的血液后进行离心制备,故也有学者对其成分之间具体的差异提出疑问。有研究者指出,与 PRP 相比,改良型 PRF (A-PRF) 和 CGF 提取物含有更高水平的血小板和 PDGF;A-PRF 和 CGF 均能显著刺激人骨膜细胞的增殖,并且在较高剂量下不会如 PRP 一样表现出抑制作用^[14]。该研究清楚地表明,A-PRF 和 CGF 中都含有大量的生长因子,且推测这 2 种制剂比 PRP 更能诱导血管生成、组织再生和创面愈

合。该研究还进行了 A-PRF、CGF、PRP 这 3 种制品所含成分多少的比较,在血小板浓度方面, A-PRF>CGF>PRP;在白细胞浓度方面, A-PRF>CGF>PRP;在 TGF- β_1 浓度方面, A-PRF>CGF>PRP;在 VEGF 浓度方面, A-PRF>CGF>PRP;在 PDGF-BB 浓度方面, CGF>A-PRF>PRP;在 IL-1 β 浓度方面, PRP>A-PRF>CGF;在 IL-6 浓度方面,三者差异不大;在促进细胞增殖的表观效力方面, PRP>CGF>A-PRF。

综上所述,有理由推测,这几种不同的血小板浓缩制品内促炎性细胞因子含量的差异极大可能来源于离心速度和时间的不同。从微观层面上来看,在 PRP 的制备过程中,由于高浓度外源性凝血酶的作用,使得纤维蛋白原的聚合速度远快于生理反应,导致形成的纤维蛋白网僵硬而缺乏弹性,不利于网罗细胞因子及促细胞迁移^[8]。而在 CGF 和 PRF 的制备过程中,由于未添加抗凝剂、促凝剂等外源性物质,通过离心过程本身启动凝血机制,让制品中的纤维蛋白原单体在凝血酶含量为生理量的条件下,使纤维蛋白原分支生理性地彼此交织成网,终产品弹性良好且强韧。PRF 和 CGF 这种缓慢的聚合模式使它们网罗小分子生物活性物质及细胞的能力优于 PRP 制品,并且安全性更高。

3 血小板浓缩制品在促进创面愈合中的作用及其机制

尽管有许多研究证实 PRP、PRF 和 CGF 对于创面愈合有促进作用,但是相关机制尚不明确,研究较少。如前所述,三者的主要成分均为血小板及生长因子等,只是其浓度和结构不相同,提示三者促进创面愈合的机制可能有相同之处,主要集中在促进血管生成、缓解炎症反应和氧化应激等方面。随着对信号通路和分子机制研究的深入,血小板浓缩制品在改善局部细胞的表现遗传学变化和线粒体功能方面的作用也成为重要的研究方向。

基质细胞衍生因子 1(SDF-1)和趋化生长因子受体 4(CXCR4)与血管生成密切相关。陈滔等^[15]证实,PRP 可通过提高糖尿病大鼠背部原位回植带蒂皮瓣局部和全身 VEGF 水平,上调 SDF-1 与 CXCR4 表达,促进血管生成,促进皮瓣成活,该研究结果为解决糖尿病患者较高的皮瓣移植坏死率提供了新的思路。Xu 等^[16]在小鼠背部制备全层皮肤缺损创面,并分别使用 PRP 和生理盐水处理创面,结果显示 PRP 极大促进创面愈合,体现在显著减少 IL-17A 和 IL-1 β 等炎症相关细胞因子、增加局部血管密度、增强再上皮化等方面,并与 VEGF、胰岛素样生长因子 I 等生长因子的分泌增加有关。此外,该研究团队还观察到,PRP 改善了原代培养的胚胎干细胞的存活并激活其迁移和增殖。熊隆江等^[17]运用新西兰大白兔构建关节软骨缺损模型,并将 PRP 植入软骨缺损处,结果表明,PRP 能够明显改善关节氧化应激损伤。该研究主要的氧化应激检测指标为关节液上清液中的谷胱甘肽、丙二醛、SOD 和 8-羟基脱氧鸟苷,因未检测血液中相关指标的变化,也未从信号通路方面对氧化应激损伤进行评估,故具有一定局限性,但也揭示了在局部应用 PRP 时,氧化应激的改善或许也是促进创面愈合的一个因素。

有关 PRF 作用机制的研究大量集中在对于促进骨再生方面。研究表明,碱性磷酸酶活性^[18]和核因子 κ B 受体激活蛋白配体的表达^[19]与 PRF 的作用密切相关,该结果对于促进创面愈合机制的探究同样具有启示意义。辛西凤等^[20]的实验表明,PRF 对糖尿病新西兰大白兔全层皮肤缺损创面的愈合有促进作用,其主要作用机制之一可能与 PRF 应用于创面后,组织内 VEGF 浓度升高有关。卓然等^[21]证实,PRF 能够有效促进糖尿病大鼠深达浅筋膜层创面的愈合,其作用机制与提高 Wnt/ β 连环蛋白信号通路的转导有关。

Dong 等^[22]通过体外实验观察到,CGF 通过磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路调节高糖诱导的小鼠胚胎成骨细胞前体细胞 MC3T3-E1 细胞成骨功能障碍,即 CGF 释放的可溶性因子可通过 PI3K/Akt 通路的调节,显著促进 MC3T3-E1 细胞的增殖以及细胞骨架的延伸、分化和矿化。该研究团队也提出,由于体外研究不能模拟体内条件,故需要进一步研究来阐明 CGF 在体内对骨缺损修复的作用和机制。Qi 等^[23]则观察到,CGF 通过 Akt/Wnt/ β 连环蛋白和转录共激活因子相关蛋白信号通路促进大鼠牙龈再生,具体机制为 CGF 能促进细胞增殖和迁移,可提高纤维连接蛋白、I 型胶原蛋白、VEGF 和血管生成素 1 的水平。

4 临床上应用血小板浓缩制品的安全性和有效性

4.1 PRP

截至目前,大量研究和综述文章表明 PRP 在组织修复领域有良好效果。Marck 等^[24]于 2014 年的综述表明 PRP 在临床上有明确的促进创面愈合、软组织及成骨修复的作用,还可以加速骨组织愈合,并且能显著缩短创面愈合时间,提高愈合质量。在烧伤领域,刘哲伟等^[25]观察到在深 II 度烧伤创面治疗中应用 PRP 外敷,能明显缩短创面愈合时间,提高创面愈合率,减少换药次数,疗效安全可靠。

然而 PRP 用于创面修复的最佳治疗时间和治疗浓度有待进一步研究。由于早期不同实验者制备 PRP 的方法有所不同,所以关于 PRP 的作用比较无法协调统一。而在一些研究中观察到 PRP 在组织修复上并没有具有统计学意义的作用^[26],在促进瘢痕形成方面也缺乏长期试验结果,可能是因为制备方法导致成分不足,也有可能是因为 PRP 本身作用有限^[24]。故目前的研究不仅集中在研究 PRP 在组织修复中的作用,还有针对 PRP 制备与使用方法及其联合材料的研究,使其更为高效。

Prabhu 等^[27]评价了 PRP 治疗 104 例慢性溃疡患者的疗效,结果表明,PRP 治疗可使 81.73% 的患者痊愈,12.5% 的患者植皮愈合,可以提高慢性溃疡的愈合率。另外,关于 PRP 的应用形式,一项前瞻性随机对照研究通过比较 PRP 敷料、PRP 局部注射、单纯压迫疗法治疗下肢慢性静脉性溃疡患者后溃疡的面积、愈合情况、并发症和溃疡复发情况了解到,PRP 局部注射对慢性静脉性溃疡愈合的促进作用大于 PRP 敷料和单纯压迫疗法,而所有患者的复发率和安全性均相当^[28]。杨荣华等^[29]则观察到在骨折术后创面感染不愈、糖尿

病足伴感染、压疮等慢性创面中联合应用负压创面治疗技术和 PRP 可以促进患者创面愈合,缩短住院时间,改善炎症反应,减轻疼痛。该研究团队还证实 PRP 可以有效促进糖尿病足创面愈合,缩短住院时间,降低截肢(趾)率,减少复发率,明显改善患者的生活质量^[30]。李婷等^[31]的荟萃分析表明,应用 PRP 治疗糖尿病患者慢性皮肤溃疡优于清创、引流、减压、敷料覆盖等常规治疗方法,可显著提高皮肤溃疡的愈合率和总有效率,缩短皮肤溃疡愈合时间及住院时间,减少住院费用。

4.2 PRF

基础研究表明,L-PRF 纤维蛋白网状结构的成熟度优于 PRP,与生理状态更加接近^[32]。PRF 可在创面部位持续作用几天,并且在创面中释放显著量的治愈因子^[33]。

临床上,PRF 易与大多数手术技术相结合发挥促创面愈合作用,在口腔颌面部外科手术中应用较多^[32]。将 L-PRF 作为填充和介入治疗的生物材料或作为保护愈合膜用于治疗皮肤溃疡的效果令人满意。Crisci 等^[34]使用 L-PRF 治疗糖尿病足部的骨髓炎溃疡,在手术清创后,将 L-PRF 膜和制膜过程中压榨出的上清液一同置入皮肤损伤部位,患处愈合速度显著加快,没有出现感染和复发迹象,愈合良好。有学者将 PRF 与喷洒法皮粒播植术联合应用于 5 例大面积 III 度烧伤后 2 个月创面迁延不愈患者,结果观察到 2 例患者出现快速再上皮化,2 例曾经植皮失败的患者 1 周内创面完全愈合^[35]。虽然此小型回顾性研究有一定局限性,但仍提示 PRF 为治疗再上皮化停滞的烧伤患者的一种有前途的治疗方法。邓波等^[36]关于 PRF 治疗慢性创面有效性与安全性的荟萃分析表明,PRF 在加速创面愈合,缩短患者住院时间,提高创面治愈率以及减少患者住院费用等方面具有潜在优势,但仍需更多临床试验验证其有效性和安全性。张彬柱等^[37]研究表明,PRF 治疗静脉曲张溃疡创面的效果显著,是治疗该类创面安全、有效、可行的方法。PRF 疗法适合病程长、创基条件差的慢性创面,以及不能通过手术去除下肢静脉血栓的患者^[38]。

4.3 CGF

CGF 作为生长因子的储存池,可以传递生长因子,增强细胞分化。研究表明,CGF 可促进比格犬牙髓损伤时的牙髓再生^[39];在存在 TNF- α 诱导的炎症的情况下,CGF 可促进人牙周膜干细胞的增殖和成骨分化^[40]。杨景军等^[41]在老年烧伤患者中进行了试验,证明 CGF 能够加速创面愈合,减少愈合所需时间,促进肉芽组织特异性蛋白表达,减轻患者疼痛,减少瘢痕形成,且疗效可靠。

目前将 CGF 等制品联合其他生物材料、细胞或手术以加强组织修复效果,也是一种合理且具有前景的研究方向。Chen 等^[42]研究显示,联用骨髓间充质干细胞(BMSC)与 CGF 能够促进大鼠颅骨缺损的修复,该联合疗法中 CGF 为 BMSC 的稳定生长提供了三维支架,让创面既有细胞成分,也有细胞因子来持续作用;CGF 通过增强 BMSC 的骨诱导活性,以促进骨形成;而且该联合疗法在刺激血管生成方面优于胶原蛋白,是一种非常具有前途的、促进骨再生的治疗方法。CGF

在不同支架中作用不同,通过对比细胞因子释放动力学的不同,Yu 等^[43]观察到,相比联用 CGF 与去蛋白牛骨矿物质和单用 CGF,CGF 联合纤维内矿化胶原会释放更多的细胞因子,更有利于人牙周组织再生。Kizilaslan 等^[44]研究显示,与单用 CGF 和单用异体移植物相比,异体移植物联合 CGF 治疗后糖尿病大鼠颅骨缺损部位骨化率最高,提示该联合疗法可减少糖尿病对骨愈合的负面影响,对于大面积的骨缺损不失为一种有前景的疗法。汪森等^[45]研究表明,与清创、抗感染、换药等常规治疗相比,液态 CGF 与凝胶态 CGF 的联合应用能有效促进慢性溃疡、皮肤软组织坏死及烧伤创面愈合,加快创面愈合速度,提高创面愈合质量,控制感染并减轻瘢痕形成,且制备简单,操作便捷,患者的满意程度更高,在临床创面修复中具有很高的应用价值及前景。Kao^[46]用 CGF 凝胶或膜治疗 18 例慢性创面患者后,在 16 例患者创面观察到明显的肉芽组织和再生表皮覆盖,从而证明了 CGF 的创面治疗作用。此外,他们观察到连接到 CGF 膜的 HaCaT 细胞迁移并增殖形成上皮样结构,证实 CGF 凝胶能加速创面软组织的再生,而 CGF 膜可能有助于创面边缘再上皮化。

但是,关于 CGF 在组织修复方面的效果是否优于 PRF 和 PRP,目前尚无定论。Park 等^[47]的研究表明,相比于 PRF,在微观结构上,CGF 单位面积内的纤维蛋白原结构更厚,形态更规则;在动物实验中,CGF 对于成年犬股骨缺损处新骨形成的效果更显著。Kim 等^[48]研究显示,与空白对照比较,PRP、PRF 和 CGF 均有显著促进兔颅骨缺损修复的作用,但 3 种血小板浓缩制品的治疗效果无明显差别。

4.4 血小板浓缩制品与其他材料及方法的联合应用

虽然各项临床研究表明血小板浓缩制品对于皮肤创面愈合等具有一定程度的积极作用,但是其更为广泛的应用仍需与生物材料和其他疗法结合,目前的研究方向也逐渐从单一运用血小板浓缩制品转向结合其他疗法。Ghufran 等^[49]研究表明,经姜黄素预处理的人脂肪源性干细胞与 PRP 联合应用可以通过促进 Fb 增殖、增加新血管形成、减少炎症、形成厚厚一层被上皮细胞覆盖的致密 ECM 加速糖尿病大鼠全层皮肤缺损创面愈合。此外,这种联合治疗显著改善了创面部位关键的愈合标志物的表达,获得如促血管生成(得益于 VEGF)、真皮基质沉积(得益于 I 型胶原蛋白的 $\alpha 1$ 基因)、细胞迁移(得益于 bFGF)和细胞增殖(得益于增殖细胞核抗原)的效果。Qiao 等^[50]则观察到 PRP 包被的多孔钛合金能够显著促进 BMSC 的附着、增殖、迁移和成骨分化。目前关于钛网联合血小板浓缩制品的研究集中在口腔医学方面,如王献利等^[51]同样运用钛网,再联合 CGF,引导上前牙即刻种植重度骨缺损的骨再生,疗效稳定、显著。提示可以选择此类材料作为血小板浓缩制品的支架和平面,使临床效果更为显著、应用更为广泛,如将之应用于烧伤患者术后的辅助治疗、糖尿病足部溃疡患者的治疗中。

除去联合应用其他材料,将血小板浓缩制品与现有的治疗手段相结合也不失为一个有前景的探索方向。如李艳玲等^[52]利用 PRP 凝胶联合 VSD 治疗患者心脏术后正中切口的

不愈合,显著缩短了创面愈合时间与住院时间,不仅解决了单用 PRP 易污染的问题,同时具备方便易行、易贴合、能够充分填塞腔隙等优点。刘刚等^[53]则用 VSD 技术联合 PRF 修复巨大皮肤脓肿清创后难愈性创面,治疗后感染得到有效控制,肉芽组织生长良好,植皮后皮片存活良好,证实其疗效确切,能显著减轻患者痛苦。然而尽管效果显著,VSD 技术与血小板浓缩制品的联合应用也具有其局限性,如生长因子等物质的含量会随负压引流而流失等。

5 展望

皮肤创面的治疗是一个复杂的、需要多手段结合的过程。利用生物材料和生长因子复制创面微环境,激活有利于创面愈合的关键再生途径,是治疗皮肤创面,尤其是慢性创面的一种有前途的策略,故对于如何优化血小板浓缩制品中生长因子的空间传递效率,如何利用生物材料的空间结构辅助血小板浓缩制品发挥效用,及寻找更简便、经济、高效的联合应用方法仍是现在的研究焦点。无论何种制品,最终目的是模拟生理情况下生长因子和 ECM 成分协同促进创面愈合的活性,这就需要研究人员通过寻找新的生物功能材料,以增强和延长血小板浓缩制品里生物活性成分的作用,或者反之,将 PRP、PRF、CGF 等制品作为一种支架联合干细胞等对创面进行治疗^[42],这些都可以作为攻克和突破的方向。

在积极开展血小板浓缩制品运用于创面的研究的同时,仍需探索以下几个方面:进一步明晰血小板浓缩制品中生长因子调控创面愈合复杂的分子机制,进一步重视局部运用血小板浓缩制品的有效性与方法,进一步重视生长因子的适应证与不同创面对疗效的反应程度。

总而言之,针对血小板浓缩制品的研究仍有很大空间,可以进一步统一和规范相关制备方法,并结合多学科拓宽其使用范围,让市场规范化。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cooper DM, Yu EZ, Hennessey P, et al. Determination of endogenous cytokines in chronic wounds[J]. *Ann Surg*, 1994, 219(6): 688-691; discussion 691-692. DOI:10.1097/00000658-199406000-00012.
- [2] Pierce GF, Tarpley JE, Tseng J, et al. Detection of platelet-derived growth factor (PDGF)-AA in actively healing human wounds treated with recombinant PDGF-BB and absence of PDGF in chronic nonhealing wounds[J]. *J Clin Invest*, 1995, 96(3): 1336-1350. DOI:10.1172/JCI118169.
- [3] Imandt L, Genders T, Wessels H, et al. An improved method for preparing platelet-rich plasma[J]. *Thromb Res*, 1977, 11(3): 429-432. DOI:10.1016/0049-3848(77)90195-5.
- [4] Anderson GM, Young JG, Cohen DJ, et al. Liquid-chromatographic determination of serotonin and tryptophan in whole blood and plasma[J]. *Clin Chem*, 1981, 27(5): 775-776.
- [5] Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, et al. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1998, 85(6): 638-646. DOI: 10.1016/s1079-2104(98)90029-4.
- [6] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I : technological concepts and evolution[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006, 101(3): e37-44. DOI:10.1016/j.tripleo.2005.07.008.
- [7] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II : platelet-related biologic features[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006, 101(3): e45-50. DOI:10.1016/j.tripleo.2005.07.009.
- [8] Dohan DM, Corso MD, Charrier JB. Cytotoxicity analyses of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) on a wide range of human cells: the answer to a commercial controversy[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2007, 103(5): 587-593. DOI: 10.1016/j.tripleo.2007.03.016.
- [9] Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, et al. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives [J]. *Muscles Ligaments Tendons J*, 2014, 4(1): 3-9.
- [10] Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF)[J]. *Trends Biotechnol*, 2009, 27(3): 158-167. DOI:10.1016/j.tibtech.2008.11.009.
- [11] 张昭远, 卫榆轩, 张长青, 等. 应用不同离心条件优化富白细胞富血小板血浆制作方案研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2020, 34(8): 1025-1030. DOI:10.7507/1002-1892.201911054.
- [12] 王旭竹. 可注射型富血小板纤维蛋白在组织再生中的作用[D]. 武汉: 武汉大学, 2018.
- [13] Jin RZ, Song GT, Chai JH, et al. Effects of concentrated growth factor on proliferation, migration, and differentiation of human dental pulp stem cells in vitro[J]. *J Tissue Eng*, 2018, 9: 2041731418817505. DOI:10.1177/2041731418817505.
- [14] Masuki H, Okudera T, Watanebe T, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF)[J]. *Int J Implant Dent*, 2016, 2(1): 19. DOI:10.1186/s40729-016-0052-4.
- [15] 陈滔, 郑鑫, 黄杨, 等. 富血小板血浆通过调节 SDF-1/CXCR4 信号通路影响糖尿病皮瓣新生血管化机制的研究[J]. *中华全科医学*, 2016, 14(6): 953-956. DOI:10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.2016.06.022.
- [16] Xu PC, Wu YG, Zhou LN, et al. Platelet-rich plasma accelerates skin wound healing by promoting re-epithelialization[J/OL]. *Burns Trauma*, 2020, 8: tkaa028[2021-07-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32821743/>. DOI:10.1093/burnst/tkaa028.
- [17] 熊隆江, 李思云, 黄晓蓬, 等. 自体骨软骨移植联合富血小板血浆对兔膝关节骨软骨缺损的修复作用及机制[J]. *医学理论与实践*, 2020, 33(5): 689-691. DOI:10.19381/j.issn.1001-7585.2020.05.001.
- [18] 张晓洁, 许胜, 孟维艳, 等. 富血小板纤维蛋白提取液对钛表面成骨细胞黏附、增殖及分化的影响[J]. *中华口腔医学杂志*, 2017, 52(1): 48-52. DOI:10.3760/cma.j.issn.1002-0098.2017.01.010.
- [19] 杨世茂, 王明国, 李静, 等. 富血小板纤维蛋白与富血小板血浆体外释放生长因子的比较及其对脂肪干细胞增殖分化的影响[J]. *华西口腔医学杂志*, 2012, 30(6): 641-644, 649. DOI: 10.3969/j.issn.1000-1182.2012.06.019.
- [20] 辛西凤, 赵金, 董子龙, 等. 富血小板纤维蛋白(PRF)在糖尿病皮肤溃疡愈合中的应用及可能的作用机制探讨[J/CD]. *临床医药文献电子杂志*, 2019, 6(46): 23-24. DOI:10.16281/j.cnki.jocml.2019.46.014.
- [21] 卓然, 王杨, 刘刚, 等. PRF 对糖尿病大鼠创面 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响[J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(9): 95-98, 65.

- DOI:10.11969/j.issn.1673-548X.2019.09.021.
- [22] Dong K, Hao PJ, Zhou WJ, et al. Concentrate growth factors regulate osteogenic dysfunction of MC3T3-E1 cells induced by high glucose through PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Implant Dent*, 2019, 28(5):478-483. DOI:10.1097/ID.0000000000000921.
- [23] Qi L, Liu L, Hu Y, et al. Concentrated growth factor promotes gingival regeneration through the AKT/Wnt/ β -catenin and YAP signaling pathways[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2020, 48(1):920-932. DOI:10.1080/21691401.2020.1773482.
- [24] Marck RE, Middelkoop E, Breederveld RS. Considerations on the use of platelet-rich plasma, specifically for burn treatment[J]. *J Burn Care Res*, 2014, 35(3):219-227. DOI: 10.1097/BCR.0b013e31829b334e.
- [25] 刘哲伟, 苏开新, 陈军, 等. 富含血小板血浆外敷在深 II 度烧伤创面修复中的临床应用[J]. *天津医药*, 2014, 42(12):1213-1215. DOI:10.3969/j.issn.0253-9896.2014.12.017.
- [26] Martinez-Zapata MJ, Martí-Carvajal AJ, Solà I, et al. Autologous platelet-rich plasma for treating chronic wounds[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016(5):CD006899. DOI:10.1002/14651858.CD006899.pub3.
- [27] Prabhu R, Vijayakumar C, Bosco Chandra AA, et al. Efficacy of homologous, platelet-rich plasma dressing in chronic non-healing ulcers: an observational study[J]. *Cureus*, 2018, 10(2):e2145. DOI:10.7759/cureus.2145.
- [28] Elbarbary AH, Hassan HA, Elbendak EA. Autologous platelet-rich plasma injection enhances healing of chronic venous leg ulcer: a prospective randomised study[J]. *Int Wound J*, 2020, 17(4):992-1001. DOI:10.1111/iwj.13361.
- [29] 杨荣华, 林泽鹏, 信琪, 等. 负压创面联合富血小板血浆对慢性难愈性创面患者疼痛及炎症指标的影响[J]. *黑龙江医药*, 2020, 33(3):523-526. DOI:10.14035/j.cnki.hljyy.2020.03.015.
- [30] 杨荣华, 阮树斌, 林泽鹏, 等. 富血小板血浆治疗糖尿病足难愈性创面的作用研究[J]. *中国实用医药*, 2020, 15(20):47-49. DOI:10.14163/j.cnki.11-5547/r.2020.20.017.
- [31] 李婷, 孟涛, 刘斌焰, 等. 自体富血小板血浆治疗糖尿病慢性皮肤溃疡疗效的 Meta 分析[J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(14):2952-2958. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2020.14.014.
- [32] 安然, 孙迎春, 高平. 富白细胞血小板纤维蛋白与富血小板血浆对比[J]. *河北医药*, 2013, 35(20):3148-3150. DOI:10.3969/j.issn.1002-7386.2013.20.062.
- [33] 董希杰. 富血小板纤维蛋白在慢性伤口治疗中的应用研究进展[J]. *湖北民族学院学报(医学版)*, 2018, 35(1):60-62, 66. DOI:10.13501/j.cnki.42-1590/r.2018.01.019.
- [34] Crisci A, Marotta G, Licito A, et al. Use of leukocyte platelet (L-PRF) rich fibrin in diabetic foot ulcer with osteomyelitis (three clinical cases report) [J]. *Diseases*, 2018, 6(2):30. DOI:10.3390/diseases6020030.
- [35] Andreone A, den Hollander D. A retrospective study on the use of dermis micrografts in platelet-rich fibrin for the resurfacing of massive and chronic full-thickness burns[J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019:8636079. DOI:10.1155/2019/8636079.
- [36] 邓波, 江波, 陈静文, 等. 自体富血小板纤维蛋白治疗慢性伤口有效性与安全性的 Meta 分析[J]. *护理学报*, 2019, 26(13):6-11. DOI:10.16460/j.issn1008-9969.2019.13.006.
- [37] 张彬柱, 刘刚, 龚慧, 等. 应用富血小板纤维蛋白治疗静脉曲张溃疡效果研究[J]. *创伤与急危重病医学*, 2019, 7(6):383-385. DOI:10.16048/j.issn.2095-5561.2019.06.16.
- [38] 吴晶洋, 白艳洁, 王稚英. 富血小板纤维蛋白和浓缩生长因子对施万细胞影响的比较[J]. *中国医科大学学报*, 2016, 45(12):1089-1093. DOI:10.12007/j.issn.0258-4646.2016.12.008.
- [39] Xu FF, Qiao L, Zhao YM, et al. The potential application of concentrated growth factor in pulp regeneration: an in vitro and in vivo study[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1):134. DOI:10.1186/s13287-019-1247-4.
- [40] Li XJ, Yang HX, Zhang ZJ, et al. Concentrated growth factor exudate enhances the proliferation of human periodontal ligament cells in the presence of TNF- α [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(2):943-950. DOI:10.3892/mmr.2018.9714.
- [41] 杨景军, 陈航, 魏子人, 等. 自体富血小板凝胶在老年烧伤患者整复治疗中对创面愈合及肉芽组织特异性蛋白表达的影响[J]. *中国美容医学*, 2019, 28(12):83-87. DOI:10.15909/j.cnki.cn61-1347/r.003430.
- [42] Chen X, Wang J, Yu L, et al. Effect of concentrated growth factor (CGF) on the promotion of osteogenesis in bone marrow stromal cells (BMSC) in vivo[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):5876. DOI:10.1038/s41598-018-24364-5.
- [43] Yu M, Wang XJ, Liu Y, et al. Cytokine release kinetics of concentrated growth factors in different scaffolds[J]. *Clin Oral Investig*, 2019, 23(4):1663-1671. DOI:10.1007/s00784-018-2582-z.
- [44] Kizilaslan S, Karabuda ZC, Olgac V. The effect of concentrated growth factor on calvarial bone in diabetic healing[J]. *J Craniofac Surg*, 2020, 31(1):158-161. DOI:10.1097/SCS.0000000000006087.
- [45] 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.
- [46] 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.
- [47] Park HC, Kim SG, Oh JS, et al. Early bone formation at a femur defect using CGF and PRF grafts in adult dogs: a comparative study[J]. *Implant Dent*, 2016, 25(3):387-393. DOI:10.1097/ID.0000000000000423.
- [48] Kim TH, Kim SH, Sándor GK, et al. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing[J]. *Arch Oral Biol*, 2014, 59(5):550-558. DOI:10.1016/j.archoralbio.2014.02.004.
- [49] Ghufuran H, Mehmood A, Azam M, et al. Curcumin preconditioned human adipose derived stem cells co-transplanted with platelet rich plasma improve wound healing in diabetic rats[J]. *Life Sci*, 2020, 257:118091. DOI:10.1016/j.lfs.2020.118091.
- [50] Qiao SC, Shen QB, Li ZH, et al. 3D-printed Ti6Al4V scaffolds coated with freeze-dried platelet-rich plasma as bioactive interface for enhancing osseointegration in osteoporosis[J]. *Materials & Design*, 2020, 194:108825. DOI:10.1016/j.matdes.2020.108825.
- [51] 王献利, 王国庆, 冯艳川, 等. 钛网联合浓缩生长因子在上前牙即刻种植中的短期临床效果观察[J]. *口腔颌面修复学杂志*, 2020, 21(1):12-16. DOI:10.19748/j.cn.kqxf.1009-3761.2020.01.003.
- [52] 李艳玲, 郝岱峰, 崔正军. 富血小板血浆凝胶联合负压封闭引流治疗患者心脏术后正中切口不愈合的疗效[J]. *中华烧伤杂志*, 2017, 33(10):619-622. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2017.10.007.
- [53] 刘刚, 王杨, 左娜, 等. 负压封闭引流技术联合富血小板纤维蛋白修复巨大皮肤脓肿清创后难愈性创面[J]. *中国美容医学*, 2019, 28(12):1-3. DOI:10.15909/j.cnki.cn61-1347/r.003403.