

富含血小板血浆在骨科的应用前景

周海洋 王 宸[△]

(东南大学附属中大医院骨科 江苏 南京 210009)

摘要 富含血小板血浆是近几十年来出现的一种血液制品,由于制备方法和应用方式不同而备受争议,但是由于其自身特点及其独特优势目前受到了很多关注。现在随着骨科病人增多和病种增多,很多病人出现了骨不连及骨折部位愈合不良的现象。在骨科领域应用富含血小板血浆,促进骨折愈合,为研究骨折愈合相关机制开辟了一个更广阔的领域。

关键词 富含血小板血浆 制备方法 细胞因子 骨不连

中图分类号 :R457 **文献标识码** :A **文章编号** :1673-6273(2011)05-999-02

Application of Platelet-rich Plasma in Orthopedics

ZHOU Hai-yang, WANG Chen[△]

(Department of orthopaedics, zhongda hospital affiliated Southeast university, Jiangsu, Nanjing, 210009, China)

ABSTRACT: Platelet-rich plasma is the emergence of the new blood product in recent decades, due to preparation methods and applications in different ways and controversial, but due to its own characteristics and unique advantages is currently subject to a lot of attention. Now, patients increase in orthopedics and varieties of the disease increases, many patients have nonunion or part of healing phenomenon in the fracture site. Application in the field of orthopedics for platelet rich plasma, and promote healing for the study of mechanisms related to fracture healing has opened up a wider area.

Key words: platelet-rich plasma Preparation cytokines nonunion

Chinese Library Classification(CLC): R457 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2010)05-999-02

富含血小板血浆(Platelet-rich plasma PRP)是利用全血经过一定的设备分离得到的血制品,它含有高浓度血小板和白细胞及少量红细胞。Ferrari^[1]等为避免在开胸手术中病人过度输注同种异体血,于1987年第一次应用PRP于手术部位,获得了很好的效果,自此PRP逐渐被大家认识并被应用于临床。在2001年,Choukroun^[2]等学者制备的第二代富含血小板产品:富含血小板纤维(platelet-rich fibrin PRF)应用于临床和实验也起到了很好效果,目前也受到了广大学者的青睐

血小板血浆的制备方法

目前富含血小板血浆的制备没有统一的方法,很多学者及专家对PRP的研究和制备有不同的认识,通过这些方法制备的PRP在实验及临床应用中起到部分作用。国外一些公司开发了一些比较实用的商业制备途径主要^[3]:1.The AutoloGel™ System (Cytomedix, Little Rock, Ark);2.Autologous Growth Factor™ (AGF™) (Ultraconcentrator U100; Interpore Cross International, Irvine, Calif);3. The Secquire® Cell Separator (PPAI Medical, Fort Myers, Fla);4. The Secquire® Cell Separator (PPAI Medical, Fort Myers, Fla);5. The Symphony™II Platelet Concentrate System (PCS) (DePuy ACE, Warsaw, Ind);6. Accelerate™ Platelet-Rich Plasma (PRP) Gel (Exactech Inc., Gainesville, Fla);这些方法基本原理都是通过离心分离而获得的富含血小板血

浆,通过这些方法可以获得的血小板血浆的浓度是正常全血四倍以上。

1 富含血小板血浆应用的优点

1.1 安全性

由于富含血小板血浆属自体制备血液制品,减少了疾病如HIV、肝炎、梅毒等通过血液系统传播。制备PRP过程中应用牛凝血酶作为血凝块形成的起始剂,在早期应用过程中部分人体内产生对抗牛的Va的凝血酶的抗体,为了避免抗体的产生,从1997年以后在制备牛凝血酶的过程中将Va清除^[4]。PRP预存的凝固体可以减少术前或术中输血带来的缺点如血小板减少、低纤维蛋白原血症或应用抗凝剂治疗等^[5]。富含血小板血浆中含有大量的白细胞,可以减少局部的炎症及感染机会,并且术中应用可以减少术中及术后的出血。

1.2 多种细胞因子的释放

国内外专家对创伤组织如皮肤、骨组织等的愈合做了深入的研究及探讨,它们通过生物途径或基因途径来提高组织愈合的质量,缩短组织愈合的时间。如利用细胞因子放入骨折断端促进骨折的愈合,但单一的细胞因子制造及造价费用高,并且细胞因子的半衰期很短,如:VEGF(vascular endothelial growth factor)、PDGF、BMP、IGF等在几秒内就失去了生物活性。为了增加细胞因子的生物活性,一些专家学者利用转基因技术利用病毒或其他载体转染某些细胞因子基因,国内学者钟刚等^[6]利用pBLAST49-mRNA质粒基因转染的方法来增加VEGF的表达的方法,提高骨折部位的VEGF的浓度,明显促进骨折的愈合。而这些基因多为单一细胞因子的基因,H. Eckardt等^[7]利用

作者简介 周海洋(1979-)男,硕士研究生,研究方向:骨与关节。

Tel:18913965725 E-mail: zhy456973@sina.com

△通讯作者 王宸 E-mail: wangchen@medical.com

(收稿日期:2010-09-06 接受日期:2010-10-10)

rhVEGF(recombinant human (rh) VEGF)治疗兔骨不连模型 经过 7 周通过观察骨痂大小及骨折部位的生物力学测定明显的高于对照组,明显的促进骨折愈合,利用锶-85 标记的微球体注入兔体内观察阳性组及对照组的血流,发现和正常的骨组织无明显的差异,无统计学意义;实验过程中检测骨折部位的 VEGF 的浓度为 100ug VEGF。这些基因载体的细胞持续释放细胞因子,但作为一种异源性成分对人体的安全性值得怀疑并且费用高,很难在临床普及。

很多专家学者探讨利用自体成分来治疗疾病,由于血制品取材广泛,费用低,得到了广大学者的喜爱。血小板在凝血过程中起到重要作用并且其含有的 α 颗粒释放细胞因子促进组织的愈合,特别是难治性疾病的治疗如糖尿病溃疡、骨不连等。血小板 α 颗粒含有无数的蛋白,这些蛋白促进创伤组织的愈合过程。这些蛋白里含有 TGF- β (transforming growth factor- β)、PF4 (platelet factor 4)、PDAF(platelet-derived angiogenesis factor)、VEGF、EGF (epidermal growth factor)、ECGF (epithelial cell growth factor)、IGF (insulin-like growth factor)、TSP (thrombospondin)、纤维蛋白原等^[5]。这些蛋白多为生长因子、细胞因子、化学趋化因子家族,并被作为分泌性蛋白,通过激活的血小板被释放到创伤部位而影响创伤愈合过程^[8,9]。一些专家^[10]利用一些商业制备途径的 PRP 分析发现 AGF7、GPS II β 、2 APC+8 Symphony II 中 PDGF 增加了 310%-546%、TGF 增加了 380%-720%、VEGF290%-620%、EGF390%-510%。国内学者袁南兵^[11]等利用不同离心方法制备自体富血小板凝胶(autologous platelet-rich gel,APG)的方法,通过改变离心速度比较不同的离心力对 PLT 富集的影响:采用酶联免疫吸附法测定全血和 APG 中 PDGF、BB、VEGF、IGF-1、EGF 和 TGF- β 5 种生长因子浓度。研究发现血小板浓度及各种细胞因子浓度较正常全血明显增高,具有统计学意义。

2 在骨科及骨不连的应用前景

骨折愈合是一个十分复杂的过程,很多因素如全身因素激素、营养、局部因素、骨折部位损伤的程度、局部力学稳定性、细胞因子、细胞外的电环境和 pH 及氧张力等,都可以干扰骨折愈合的过程,都可以加速或抑制骨折愈合过程^[12]。目前高能量伤病人逐渐增多,这些病人损伤部位组织损伤严重,局部愈合带来困难。一些专家对肢体远端损伤病人包括多发性骨折、肢体的血管离断、严重的软组织损伤、严重的足踝关节损伤 371 名病人进行流行病学调查^[13]显示骨不连达 31%仅次于感染。局部感染导致骨折端和软组织坏死,延长局部充血时间,如局部化脓性感染所致骨坏死产生死骨片,溶骨性感染性肉芽组织所形成的骨缝和内固定物松动所致骨折端移位等等一系列并发症,导致骨折并发感染患者更易发生骨不连^[14]。

骨不连一般认为是多种不利因素导致骨折部位愈合不良,目前凡骨折 8 个月后期未能达到骨性连接的骨折都被认为骨不连,但 FDA 定义为骨折 9 个月仍未愈合,并且连续 3 个月未有任何愈合的迹象。骨不连形态学上分为肥大型、硬化型与萎缩型,但是多数病人为混合型骨不连。X 线照片显示骨折端互相分离,断端间隙较大,骨折端硬化,并出现了骨质萎缩疏松,髓腔封闭。骨折部位骨折愈合功能停止,骨折端形成假关节,给病

人带来了很大痛苦。目前治疗主要为骨折部位再次手术行自体或异体骨移植、自体骨髓移植等。很多专家探讨利用自体髂骨、腓骨等多种生物材料治疗骨不连,如时述山^[14]等利用绞索髓内钉、自体髂骨及术后注射自体红骨髓治疗骨不连患者,获得了较好的效果,目前自体生物材料缺乏及取自体骨带来的一系列并发症,也给治疗带来了影响和限制。

富含血小板血浆取材自体全血,已经被应用于口腔科、颌面外科、整形外科等临床很多领域,但 PRP 仍作为辅助性治疗的一种生物材料。如 Valerio Cervelli 等^[15]应用自体制备的富含血小板血浆作为一种特殊载体凝胶混合分离得到的自体脂肪细胞,植入人面部缺陷部位收到了很好的整容效果。为了探讨富含血小板血浆在骨科领域的应用,Lowery GL 等^[16]学者将制备好的富含血小板血浆植入椎体骨折部位,获得了较好的效果。骨不连作为骨折治疗的一个重要课题,一些学者将 PRP 引入了骨不连的治疗,Chao-ching Chiang 等^[17]将 PRP 植入病人骨不连部位获得了较好的治疗效果。基于众多的关于富含血小板血浆基础研究和临床应用,更多的研究应该进一步的探讨 PRP 在骨不连治疗中的影响和有效性,这将为骨不连提供一个更广阔的治疗平台。

参考文献(References)

- [1] Ferrari M, Zia S, Valbonesi M. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery[J]. Int J Artif Organs, 1987,10:47-50
- [2] Choukroun J, Diss A, Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution[J]. Implantodontie, 2004, 13:87-97
- [3] Thomas S. Roukis, DPM, FACFAS, Autologous Platelet-Rich Plasma for Wound and Osseous Healing: A Review of the Literature and Commercially Available Products[J]. Advances in Therapy, 2006, 23 (2):218
- [4] Christie RJ, Carrington L, Alving B. Postoperative bleeding induced by topical bovine thrombin: report of two cases [J]. Surgery, 1997,121:708-710
- [5] Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP?[J]. Implant Dent, 2001,10:225-228
- [6] 钟刚 裴福兴 樊瑜波 血管内皮生长因子基因转染促进骨折愈合的实验研究[J]. Orthop J China, 12(8) :604-606
Gang zhong, Fuxing Yuan, Yubo Fan Experimental study of the Vascular endothelial growth factor gene transfer for fracture healing [J]. Orthop J China, 12 (8): 604-606
- [7] H. Eckardt, M. Ding, recombinant human vascular endothelial growth factor enhances bone healing in an experimental nonunion model[J]. J bone Joint Surg, 2005, 87:1434-8
- [8] Anitua E, Sanchez M, Zalduendo MM, de la Fuente M, Prado R, Orive G, And` a I Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors [J]. Cell Prolif, 2009,42 (2): 162-170
- [9] Anitua E, And` a I, Ardanza B, Nurden P, Nurden At Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration[J]. Thromb Haemost, 2004,91(1):4-15

(下转第 998 页)

- transition pore[J]. Mol Cell Biol, 2000, 20: 5454-68
- [23] Tabata T, Tsukamoto N, Fooladi AA, et al. RNA interference targeting against S100A4 suppresses cell growth and motility and induces apoptosis in human pancreatic cancer cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009,18; 390 (3): 475-480
- [24] Bromn LF, Berse B, Jackman RW, et al. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in adenocarcinomas of the gastrointestinal tract [J]. Cancer Res, 1993, 53(19): 4727-4735
- [25] 贾富鑫, 张东, 刘江伟. S100A4 蛋白与肿瘤血管生成的研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2010, 2(10): 389-391
- Fu-Xin Jia, Zhang Dong, Jiang-wei Liu. Progress of the Related Research Between S100A4 Protein and pancreatic cancer. [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2010, 2(10): 389-391
- [26] arrett SC, Varney KM, Weber DJ, Bresnick AR. S100A4, a mediator of metastasis[J]. J Biol Chem, 2006, 281: 677-680
- [27] 李春生, 倪灿荣. S100A4 和 E-Cadherin 在胰腺癌组织中的表达及与相关性研究[J]. 临床肝胆病杂志, 2006, 3(22): 207-208
- LI Chun-Sheng, NI Can-Rong. Expression of S100A4 and E-cadherin in pancreatic carcinoma and their relationship study [J]. Chin J Clin Hepatol, 2006, 3(22): 207-208
- [28] 刘苗, 董春燕, 邹多武, 等. S100 mRNA 在胰腺癌中的表达及其意义[J]. 胰腺病学, 2006, 6(4): 230-232
- LIU Miao, DONG Chun-Yan, ZOU Duo-Wu, LI Zhao-Shen, TU Zhen-Xing. Expression and Significance of S100 Family in Pancreatic Cancer[J]. Chin J Pancreatol, 2006, 6(4): 230-232
- [29] Tarabykina S, Griffiths TR, Tulchinsky E, et al. Metastasis-associated protein S100A4: spotlight on its role in cell migration[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2007, 7(3): 217
- [30] Oida Y, Yamazaki H, Tobita K, et al. Increased S100A4 expression combined with decreased E-cadherin expression predicts a poor outcome of patients with pancreatic cancer [J]. Oncol Rep, 2006, 16 (3): 457-463
- [31] onemura Y, Endou Y, Kimura K, et al. Inverse expression of S100A4 and E-cadherin is associated with metastatic potential in gastric cancer[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6: 4234-42
- [32] Logsdon CD, Simeone DM, Binkley C, et al. Molecular profiling of pancreatic adenocarcinoma and chronic pancreatitis identifies multiple genes differentially regulated in pancreatic cancer[J]. Cancer Res, 2003, 63: 2649-57
- [33] Lowe AW, Olsen M, Hao Y, et al. Gene expression patterns in pancreatic tumors, cells and tissues[J]. PLoS ONE, 2007, 2: e323
- [34] Eibl G, Takata Y, Boros LG, et al. Growth stimulation of COX-2-negative pancreatic cancer by a selective COX-2 inhibitor[J]. Cancer Res, 2005, 65: 982-90
- [35] Baril P, Gangeswaran R, Mahon PC, et al. Periostin promotes invasiveness and resistance of pancreatic cancer cells to hypoxia-induced cell death: role of the β 4 integrin and the PI3k pathway[J]. Oncogene, 2007, 26: 2082-94
- [36] Akada M, Crnogorac-Jurcevic T, Lattimore S, et al. Intrinsic chemoresistance to gemcitabine is associated with decreased expression of BNIP3 in pancreatic cancer [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11: 3094-101
- [37] 刘江伟, 李开宗, 襄科峰, 等. COX-2 抑制剂联合顺铂对胰腺癌细胞增生和凋亡的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2004, 12(5): 1193-1143
- Jiang-Wei Liu, Kai-Zong Li, Ke-Feng Dou, et al. Effects COX-2 inhibitor With cisplatin on proliferation and apoptosis of pancreatic cancer cells[J]. World Chin J Digestol, 2004, 4; 12(5): 1139-1143

(上接第 1000 页)

- [10] Appel TR, Potzsch B, Muller J, von Lindern JJ, Bergi SJ, Reich RH. Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment [J]. Clin Oral Implants, 2002, 13: 522-5289
- [11] 袁南兵, 王椿等. 自体富血小板凝胶的制备及其生长因子分析[J]. Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery, 2008, 22(4): 468-471
- Nanbing Yuan, ChunWang. Preparation and growth factor analysis of the autologous platelet-rich gel [J]. Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery, 2008, 22(4): 468-471
- [12] 胡蕴玉主编. 现代骨科基础与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 88-115
- YunyuHu editor contemporary orthopaedics basic science and clinical practice [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 88-115
- [13] Anthony M. Harris, MD, Peter L. Althausen, MD, Complications Following Limb-Threatening Lower Extremity Trauma [J]. J Orthop Trauma, 2009, 23(1): 1-6
- [14] Jain AK, Sinha S. Infected nonunion of the long bones [J]. Clin Orthop Relat Res, 2005, (431): 57-65
- [15] 时述山, 李亚非. 长骨骨不连骨缺损的综合治疗 (附 31 例报告) [J]. 中国矫形外科杂志, 2001, 8(7): 662-664
- Shi Shu-shan, Li Ya-fei. Nonunion of long bones in the integrated treatment of bone defects (with 31 cases) [J]. Orthopedic Journal of China, 2001, 8(7): 662-664
- [16] Valerio Cervelli, Ludovico Palla. Autologous Platelet-Rich Plasma Mixed with Purified Fat Graft in Aesthetic Plastic Surgery [J]. Aesth Plast Surg, 2009, 33: 716-721
- [17] Lowery GL, Kulkarni S, Pennisi AE. Use of autologous growth factors in lumbar spinal fusion[J]. Bone, 1999, 25: 47S-50S
- [17] chao-ching Chiang, MD, Chen-Yao Su. Early Experience and Results of bone graft enriched with autologous platelet gel for recalcitrant nonunions of lower extremity[J]. J Trauma, 2007, 63: 655-661