

富血小板纤维蛋白在颌面部缺损修复中的应用

李 强 综述,夏德林 审校

(泸州医学院附属口腔医院颌面外科,四川泸州 646000)

关键词:富血小板纤维蛋白;富血小板血浆;生长因子;颌面部缺损

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.27.041

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)27-2786-03

富血小板纤维蛋白(platelet-rich fibrin, PRF)是通过直接离心自体外周血液获得的蛋白凝胶。它富含血小板、白细胞、多种生长因子及细胞活素等,能促进干细胞的移动、增殖、分化,新血管生成及胶原蛋白合成。有研究表明,PRF 作为最新一代的血液制品,对因发育不足、增龄性萎缩、创伤、肿瘤及其他原因导致的颌面软硬组织缺损的修复有明显的促进作用,现将富血小板纤维蛋白在颌面部缺损修复中的应用作一综述。

1 PRF 发展简介及其制备

1.1 PRF 的发展简介 血液来源的外科辅助制品大体上经历了 3 个发展阶段^[1]。最初的医用纤维蛋白黏结剂^[2],如氧化纤维素、明胶海绵等,有研究认为,这些制剂如同淋巴液一样对控制缓慢、弥散性出血有较好效果,但是对于严重出血不起作用,也不能代替传统的外科止血手段,而且其制备时间长,过程较复杂,纤维蛋白制剂又有造成病毒感染的危险^[1],因此,从 70 年代末逐渐被淘汰。从自身血液制品角度出发,有研究发现更为简化的制剂——浓缩富血小板血浆(concentrated platelet-rich plasma, cPRP)。它的制作原理是在使用前收集外周血液样品,立即用细胞离心机两次离心浓缩,并在处理过程中分步添加抗凝剂、牛凝血酶和钙离子,用以诱导浓缩的血小板活化,并形成凝胶。cPRP 中富含多种蛋白生长因子^[3-4],如血小板衍化生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、类胰岛素生长因子(insulin like growth factor, IGF)等,它们对颌面部软、硬组织的修复有明显的促进作用^[5-8],是近年颌面外科的研究热点之一。但 Kuo 等^[9]认为牛凝血酶等添加物可能抑制 cPRP 生长因子的释放,另外凝血酶中含有外源性蛋白——凝血因子 V,它可能引起免疫系统反应,导致凝血功能紊乱,最终危及生命。于是,以此技术为基础,Choukroun 等^[10]发明了更简单、快速,不用添加任何试剂的自体血制品——PRF。

1.2 PRF 的制备 这项技术的特点是既不添加抗凝剂也不添加牛凝血酶和任何促凝因子,只是单纯靠离心自体外周血液获得纤维蛋白凝胶,与血液凝集的生理过程十分相似。制作步骤非常简单:抽取外周血样 10 mL(不添加抗凝剂)装入离心管,立即以离心半径 2 700~3 000 r/m 的速度离心 10~12 min^[3,11],因为不含抗凝剂,血样中大多数血小板在接触管壁后的几分钟之内就会活化,释放凝聚因子。在被本身所含的凝血酶激活为纤维蛋白前,纤维蛋白原在离心初始,处于试管的较上部,之后在红细胞层和非细胞层之间形成纤维蛋白凝块,理论上血小板也被包裹在其中。成功的关键在于血液采集和转移到离心机要迅速^[3]。因为没有抗凝剂,血样会在一接触试管

壁就开始凝聚,所以只能在最初的几分钟离心将纤维蛋白原分离出来。快速处理是获得有效的 PRF 凝胶的惟一方法。如果采集和转移的时间过长,就会导致失败:纤维蛋白在试管内弥散凝聚,无法获得连续、完整的基质块。最后将上部的上清液和底部的红细胞层修剪掉,就获得 PDGF、VEGF、EGF、白介素 1(interleukin 1, IL-1)和 IL-4 的纤维凝胶块。将其中多余的液体排出,就获得了非常柔韧的自体来源的纤维蛋白膜^[9-11]。

2 PRF 促进组织修复的机制

PRF 促进组织修复的机制尚无定论。目前有研究认为,生长因子是最主要的效用因子。PRP 中的各种生长因子对组织的再生可产生不同的生物学效应,加上各种生长因子的协同作用,形成一系列不同的信号蛋白调节途径,与生理环境更为接近^[12]。PDGF 能够刺激骨髓基质细胞的有丝分裂,增加成骨细胞的活性,刺激内皮细胞的分化,促进成骨区毛细血管的生成,增加胶原蛋白合成。还具有刺激单核-巨噬细胞趋化的作用^[13]。TGF 调节细胞的生长分化,促进胶原蛋白的合成,同时增强骨钙化过程中非胶原细胞外基质蛋白的生成,刺激骨祖细胞有丝分裂和分化,增加成骨细胞数量,抑制破骨细胞活性的作用^[4]。VEGF 是一个重要的血管生成因子,它调节血管的出芽与生长。Kazumi 等^[14]发现,牵引 5 d 后肥大软骨细胞、成骨样细胞和前骨质中成纤维样细胞分泌 VEGF。VEGF 阳性分布与血管新生一致,其浓度逐渐升高。David 等^[15]通过对比 PRF 中 VEGF 与 IL-1 β 、IL-4 和 IL-6 的活性认为,PRF 可能是通过它所含的白细胞分泌的白介素引起炎症反应达到促进血管新生、组织愈合的效果。从物理角度分析,PRF 作为一种实体充填材料,未吸收期间可在组织缺损区起到引导组织再生的支架作用;也会对术区组织产生一定的压力,减少术后出血;另外,纤维蛋白的粘接特性可使伤口更密合,加速伤口愈合,减少术后疼痛和感染^[1,10]。

3 PRF 在颌面部组织缺损修复的应用研究

国外学者围绕 PRF 在颌面部组织缺损修复方面的应用做了大量基础和临床研究。Dohan 等^[16]在对牙龈成纤维细胞、上颌骨成骨细胞的原代培养试验中,添加 PRF 后观察到 PRF 明显促进细胞增殖分化,促进成骨细胞矿化,并认为白细胞可能是主要的作用因子。He 等^[17]研究发现,PRF 释放 PDGF 较 PRP 持久;进行碱性磷酸酶活性测验,试验组矿化现象均高于对照组,而 PRF 促进矿化的作用强于 PRP。Dohan 等^[18]发现 PRF 明显促进人颌骨间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)的增殖分化,而且与剂量成正相关,PRF 实验组矿化现象明显,PRF 中的多种内容物尤其是白细胞对促进 BMSC 的分化起到了重要作用。PRF 能加速骨愈合。减少术后疼痛^[19-20]。Mazor 等^[21]将 PRF 用于上颌窦提升并同

期放置种植体手术,术后 6 个月观察到新骨形成 7~13 mm,平均(10.1±0.9)mm,没有种植体脱落现象,在种植体底部尚有连续的骨组织;组织结构排列有序。而 Sclafani 等^[22]用 PRF 作为填充材料修复 15 例鼻唇沟凹陷患者效果显著,预后好。采用大块骨移植修复颌骨缺损存在移植骨的融合较慢且困难的问题。Simonpieri 等^[23]将 PRF 与甲硝唑联合应用于异体骨移植修复的 20 例复杂上颌骨缺损病例中,术后 1~5 年内植入 184 个种植体,发现 PRF 有助于骨膜新生和成熟,种植体周围被新生牙龈包围,骨面平整,种植体稳固,未见脱落现象。虽然有研究认为,PRF 对促进颌面部组织缺损的修复具有积极效用,但也有少数报道质疑 PRF 的临床效用。Gassling 等^[24]研究发现,PRP 释放的生长因子和细胞活素都较 PRF 释放的高。Gürbüz 等^[25]采用^{99m}Tc 闪烁法测定 PRF 对拔牙创口成骨活性的试验;40 例双侧第 3 磨牙阻生拔除 PRF 填充缺损病例,术后 4 周测定,有大量成纤维细胞和炎症细胞,未见明显新骨形成;PRF 凝胶表面的纤维蛋白网中有血小板聚集颗粒,认为 PRF 对拔牙创口的骨修复无明显促进作用。

4 展 望

PRF 是浓缩血小板的新方法,已是国外研究的热点。纤维蛋白分子的生物活性使 PRF 具有促进伤口愈合,瘢痕形成的能力,纤维凝胶的聚合使 PRF 具有更加完美的生物学结构来促进愈合过程。PRF 作用机制复杂,在以下几个方面值得更深入的研究:(1)PRF 的具体分子构象。虽然 Dohan 等^[26]在光镜和电镜下观察 PRF 发现高达 97%的血小板和过量的白细胞都包裹在 PRF 的三维立体网状结构中,在近红细胞层的几个毫米范围,凝聚着大量血小板和纤维蛋白,纤维蛋白网坚韧厚实。但这些可溶性小分子是否会存留,以及如何存留在纤维网状凝胶中,还有待探究。(2)PRF 中主要的效用因子。如前所述,现在普遍认为 PRF 中含有的多种生长因子是促进组织愈合的主要效用分子。也有学者提出,白细胞是主要的作用因子^[15-16,18];那么生长因子和白细胞二者谁是主要效用分子?抑或是相互协同?需要进一步研究探讨。(3)PRF 效用因子释放的影响因素。Dohan 等^[26]发现,不同材质的试管(玻璃或塑料)和压缩力对 PRF 的最终结构没有影响,但有可能影响到某些生长因子的释放及其作用的发挥。PRF 可以制备成凝胶或压缩成膜状,这两种不同形态会不会影响到效用因子的释放?另外很多结果来自体外试验,应当考虑到人体组织环境对 PRF 释放效用分子的影响。(4)PRF 释放效用因子的时机,持续时间。Su 等^[27]报道生长因子大约在 PRF 制备好后 5 h 开始释放。PRF 修复作用的持续时间尚未见报导。

总之,需要对血小板以及 PRF 的特性作进一步研究,使这种有价值的生物制剂更广泛地应用于临床。

参考文献:

- [1] 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): 51-55.
- [2] Clark RA. Fibrin and wound healing[J]. Ann N Y Acad Sci, 2001, 936: 355-367.
- [3] Toffler M, Holtzclaw D, Toscano N, et al. Introducing choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery milieu[J]. JIACD, 2009, 1(6): 21-32.
- [4] Everts PA, Knape JT, Weibrich G, et al. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review[J]. J Extra Corpor Technol, 2006, 38(2): 174-187.
- [5] Roukis TS, Zgonis T, Tiernan B. Autologous platelet-rich plasma for wound and osseous healing: A review of the literature and commercially available products[J]. Advances in Therapy(R), 2006, 23(2): 218-237.
- [6] Nazaroglou I, Matoulas E, Kafas P, et al. The effect of PRP (Platelet-Rich Plasma) on reconstruction of mandibular and maxillary bone defects: A review of recent experimental studies on humans and animals[J]. Surg J, 2009, 4(1): 1-7.
- [7] Picardi A, Lanti A, Cudillo L, et al. Platelet gel for treatment of mucocutaneous lesions related to graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplant[J]. Transfusion, 2010, 50(2): 501-506.
- [8] 邵山, 徐欣, 马跃, 等. 富血小板血浆在口腔颌面外科中的应用[J]. 中华临床医师杂志, 2008, 2(3): 351-355.
- [9] Kuo YP, Lee YL, Tseng YH, et al. Influence of ethanol on the release of growth factors in human blood-derived platelet gels[J]. Biologicals, 2010, 38(1): 120-127.
- [10] Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, et al. Une opportunité parodontologie: le PRF[J]. Implantodontie, 2000, 42: 55-62.
- [11] Sunitha Raja V, Munirathnam Naidu E. Platelet-rich fibrin: Evolution of a second-generation platelet concentrate [J]. Indian J Dent Res, 2008, 19(1): 42-46.
- [12] 于洪波, 沈国芳. 富血小板血浆在牵引成骨中的应用及研究进展[J]. 口腔颌面外科杂志, 2008, 1(18): 61-64.
- [13] Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, et al. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement of bone grafts[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1998, 85(6): 638-646.
- [14] Kazumi SJ, Yoshihiro S, Hisashi H. Immunohistochemical study of vascular endothelial growth factor (VEGF) and bone morphogenetic protein-2, -4 (BMP-2, -4) on lengthened rat femurs[J]. J Cranio Maxill Surg, 2005, 33(4): 238-245.
- [15] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Antoine Diss, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006, 101(3): E51-55.
- [16] Dohan Ehrenfest DM, Diss A, Odin G, et al. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009, 108(3): 341-352.
- [17] He L, Lin Y, Hu X, et al. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the

effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009, 108(5): 707-713.

- [18] Dohan Ehrenfest DM, Doglioli P, de Peppo GM, et al. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way[J]. Arch Oral Biol, 2010, 55(3): 185-194.
- [19] Lee EH, Kim JY, Kweon HY, et al. A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2010, 109(5): e33-38.
- [20] Anilkumar K, Geetha A, Umasudhakar, et al. Platelet-rich-fibrin: A novel root coverage approach [J]. J Indian Soc Periodontol, 2009, 13(1): 50-54.
- [21] Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, et al. Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months [J]. J Periodontol, 2009, 80(12): 2056-2064.
- [22] Sclafani AP. Platelet-rich fibrin matrix for improvement of deep nasolabial folds [J]. J Cosmet Dermatol, 2010, 9(1): 66-71.

- [23] Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, et al. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part II: implant surgery, prosthodontics, and survival [J]. Implant Dent, 2009, 18(3): 220-229.
- [24] Gassling VL, Acil Y, Springer IN, et al. Platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in human cell culture [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009, 108(1): 48-55.
- [25] Gürbüz B, Pıkdöken L, Tunali M, et al. Scintigraphic evaluation of osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin [J]. J Oral Maxillofac Surg, 2010, 68(5): 980-989.
- [26] Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, et al. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane [J]. J Periodontol, 2010, 81(4): 546-555.
- [27] Su CY, Kuo YP, Tseng YH, et al. In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009, 108(1): 56-61.

(收稿日期: 2011-04-18 修回日期: 2011-05-15)

· 综 述 ·

核能应用中核辐射与核安全的探讨

王玉婵 综述, 严清波, 袁耿彪[△] 审校

(重庆医科大学附属第二医院核医学科 400010)

关键词: 核能; 核辐射; 核安全

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.27.042

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)27-2788-03

核能以环保、节能、高效等优势被多个国家采用。全球人口膨胀、城市化效应和经济快速发展对电能的需求越来越大,特别是经济增长迅速的亚洲地区,核能被广泛地应用于核电站以提供电力。但目前全球的核反应堆仍没有完全安全的设计方案^[1]。日本地震、海啸引发的福岛核电站事故引起了人们对核能安全使用的担忧^[2]。现将核能应用、核辐射与核安全的现状综述如下。

1 核材料(医用放射性核素)应用

1.1 核材料 核材料是指核工业及核科学研究中所专用的材料。包括核燃料及核工程材料(即非核燃料材料)。核燃料是指能产生裂变或聚变核反应并释放出巨大核能的物质。核燃料可分为裂变燃料和聚变燃料(或称热核燃料)两大类。裂变燃料主要指易裂变核素如铀-235(²³⁵U)、钚-239(²³⁹Pu)和铀-233(²³³U)等。此外,由于铀-238(²³⁸U)和钍-232(²³²Th)也可转换成易裂变核素,也称其为核燃料。聚变燃料包含氢的核素氘、氚化合物等。核工程材料是指反应堆及核燃料循环和核技术中用的各种特殊材料,如核反应堆结构、元件包壳、反应堆控

制、慢化剂、冷却剂、屏蔽材料等^[3],均是放射性核素,使用时必须注意防护。对Pu、²³³U、浓缩度大于20%的²³⁵U实行严格控制与管理。安全保障规程适用于燃料循环的全部环节,包括燃料制造、发电、燃料后处理、贮存和运输。

1.2 医用放射性核素 临床诊断和治疗使用的放射性核素均需通过加速器、反应堆、裂变产物中提取和放射性核素发生器淋洗获得,获得途径包括:(1)加速器通过加速质子、氘核、 α 粒子等带电粒子轰击各种靶核,引起不同核反应,生成多种放射性核素。该途径产生的放射性核素有:碳-11(¹¹C)、氮-13(¹³N)、氧-15(¹⁵O)、氟-18(¹⁸F)、碘-123(¹²³I)、铊-201(²⁰¹Tl)、镓-67(⁶⁷Ga)、铟-111(¹¹¹In)等,目前正电子药物常常采用此种方式。(2)利用核反应堆强大的中子流轰击各种靶核,所生产的放射性核素有:锝-99m(^{99m}Tc)、钼(⁹⁹Mo)、锡-113(¹¹³Sn)、碘-125(¹²⁵I)、碘-131(¹³¹I)、磷-32(³²P)、碳-14(¹⁴C)、氚-3(³H)、锶-89(⁸⁹Sr)、氙-133(¹³³Xe)、铼-186(¹⁸⁶Re)、钐-153(¹⁵³Sm)等,常用于核素诊断和体外示踪技术;(3)核燃料辐照后产生400多种裂变产物,有实际提取价值和应用于临床的仅10余种,如

[△] 通讯作者, Tel: (023) 63693339; E-mail: yuan_gb@126.com.