

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.35.046

# 富血小板纤维素浓缩物及其在口腔颌面外科中的应用进展\*

李鹏飞<sup>1</sup>, 张 纲<sup>1</sup>综述, 杨建明<sup>2</sup>审校

(1. 第三军医大学新桥医院口腔科, 重庆 400037; 2. 重庆市黔江中医院口腔科 409099)

**关键词:**富血小板血浆;富血小板纤维素;组织愈合;生长因子;血液处理**中图分类号:**R783**文献标识码:**A**文章编号:**1671-8348(2014)35-4827-03

如何利用生物医学辅助手段调控炎症, 加快组织愈合, 是目前临床研究所面临的难题<sup>[1]</sup>。软硬组织的愈合受到多种细胞因子的调节, 而这些细胞因子同时又受到多种信号的调控。目前研究还不能完全揭示组织愈合全过程, 已有的研究表明, 血小板在组织愈合过程中扮演着重要角色, 而不仅仅只具有止血功能。

## 1 血小板浓缩物的发展历史

纤维素即活化的血浆纤维胶原分子, 是一种可溶解的纤维分子, 不仅大量存在于血浆中, 同时也存在于血小板  $\alpha$  颗粒中<sup>[2]</sup>。纤维素在凝血过程中可促进血小板凝集, 同时参与血管再生。所有凝血反应的最终产物均是纤维胶原。纤维胶原是可溶解蛋白, 一旦接触凝血酶后即转化为不可溶解蛋白。这种复合物便构成了受伤部位最初的血凝块, 类似瘢痕样基质。

纤维素凝结核在过去的 30 年间在很多领域都有应用, 仍存在不少争议, 主要集中在凝结核制备繁琐费时, 同时存在交叉感染的风险<sup>[2-3]</sup>。随着血小板富集技术的发展, 学者们研制出一种新的纤维素, 即富血小板血浆 (platelete-rich plasma, PRP) 凝结核<sup>[4]</sup>。然而该凝结核需要严格的血液处理, 且操作繁冗。因此, 法国学者 Choukroun 于 20 世纪 90 年代初在 PRP 基础上加以改进, 研制出另一类血小板浓缩物家族, 即富血小板纤维素 (platelete-rich fibrin, PRF)。这种生物材料在口腔颌面外科中得到应用并取得良好的效果, 同时也可应用于牙周治疗、口腔种植等领域<sup>[5]</sup>。

从外周血液分离的血小板是生长因子的自身来源。临床上, 血小板常用来预防和治疗因各种原因导致血小板减少而出现的大出血, 如脊髓萎缩、急性白血病等<sup>[6]</sup>。血小板浓缩物作为生物医学辅助治疗, 起源于纤维素凝结核的应用。早在 20 世纪 70 年代, 医学界就发现了纤维素凝结核的特点, 并加以应用到创伤或手术组织, 加快了组织愈合过程<sup>[7]</sup>。20 世纪 90 年代, 有学者提出了富血小板凝结核, 即纤维胶原、凝血酶以及钙离子复合物, 并对其加以描述。由于血浆中纤维胶原浓度较低, 因此形成的纤维素凝结核质量和稳定性不尽如人意。

PRP 是经过改良的纤维素凝结核, 通过集中浓缩, 达到提高血小板浓度的目的<sup>[7-8]</sup>。大量文献证实在临床应用中取得成功。PRP 是骨组织及软组织愈合过程中所需生长因子简单而又可靠的来源<sup>[9]</sup>。普通血凝块仅含有 5% 的血小板, 其余 94% 及 1% 分别为红细胞和白细胞。而 PRP 中血小板含量高达 95%。通过自身血液制备的 PRP, 因其所含生长因子浓度较高, 常被应用于骨缺损或需要骨增量的辅助治疗<sup>[10]</sup>。PRP 的缺点在于需要将血液进行抗凝处理。PRF 是第 2 代血小板浓缩物, 是对传统方法制备的 PRP 的进一步改进。

## 2 PRF——天然的纤维素基质

PRF 是一种免疫原性血小板富集物, 包含了血液的所有成分, 因此有益于组织愈合, 而不会出现免疫反应<sup>[11]</sup>。这种生物材料与自身血凝块基质类似, 不同于以往的纤维素凝结核及经典的血小板浓缩物。PRF 可通过简单的血液离心得到, 而不需要添加额外物质<sup>[12]</sup>。PRF 包含的纤维素基质, 呈立体网状分子结构, 主要成分包括血小板、白细胞、细胞因子以及干细胞等<sup>[13-14]</sup>。临床研究表明, PRF 基质结构尤其适合促进组织联合修复, 而不会产生明显炎症反应。PRF 凝结核主要用来处理骨创面, 具有多方面优点, 包括促进创伤愈合、加速骨细胞生长及分化成熟、封闭创面及止血。PRF 也可以制成生物膜的形式。很多临床病例研究表明, PRF 与移植骨皮瓣联合应用能够显著提高新生骨骨密度。

## 3 PRF 与 PRP 的优势比较

PRF 无需特殊血液处理; 制备简单, 制备效率高; PRF 制备中避免了使用抗凝剂, 同时使用过程中也避免应用小牛血清凝血酶进行激活; 有研究表明, PRP 制备过程中使用的小牛凝血酶对于生物体细胞具有毒性<sup>[15]</sup>。生理状态下, 由于血液样本中少量凝血酶的存在, 血液本身也在缓慢的进行着由纤维蛋白原向纤维素的转变。这个缓慢的过程逐渐形成了有利于组织愈合、修复的生理性空间组织结构。具有空间网状组织结构的纤维素复合物与此类似, 在细胞迁移、增殖等方面甚至优于上述生理性组织结构。

在 PRF 形成中, 缓慢的聚合过程将血小板细胞因子与多孔状的纤维素凝结核有机的结合在一起。这就意味着 PRF 能够在纤维素基质重新塑型过程中释放细胞因子, 这也正是 PRF 不同于其他血小板浓缩物的地方<sup>[16]</sup>。也能很好的解释临床上观察到 PRF 具有促进组织愈合的特性。同时, PRF 对于机体免疫系统有协助效应。由于 PRF 基质组织相容性极好, 有利于干细胞迁移, 加快组织愈合过程。研究表明, PRP 对于刺激骨再生的潜力微乎其微, 原因在于 PRP 所含的生长因子释放太快, 往往在细胞从周围组织生长出来之前生长因子就已经所剩无几了。体外实验研究表明在生长因子释放方面, PRF 明显优于 PRP。Simonpieri 等<sup>[17]</sup>研究发现, PRF 中生长因子释放速率较 PRP 缓慢, 因而促进创口愈合作用更持久。法国学者 Choukroun 等<sup>[1]</sup>首次将 PRF 应用于临床并取得良好效果。由于其制备操作便利, 血液无需特殊处理等优点, 已超越 PRP。Gassling 等<sup>[18]</sup>通过一系列临床病例观察发现, PRF 的应用加快了创伤组织的愈合。Arai 等<sup>[19]</sup>研究发现, PRF 纤维素支架有利于干细胞的爬行迁移。同时, PRF 支架还起到附着和保护骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein,

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81271098)。 作者简介: 李鹏飞 (1983—), 在职博士, 主治医师, 主要从事临床口腔工作。

BMP)的重要作用。

#### 4 PRF 的制备

PRF 制备的过程简单,所需医疗设备与制备 PRP 相同。6 mL 无抗凝剂真空采血管采集患者 5 mL 静脉血 2 管。采血管即可置于离心机上,以 3 000 r/min 离心 10 min。离心完成后可见试管内分成 3 层,即最下方红色的红细胞沉积层,上层棕黄色上清液层及中间包含纤维素的凝结层<sup>[20]</sup>。弃上清液,收集中间层及其下方 2 mm 左右的红细胞层,此即 PRF。PRF 生成的机制为:纤维蛋白原在离心初期位于试管上方,当在离心过程中与周围凝血酶混合后形成纤维素。这一过程持续进行,离心过程中由于各组分比重不同,在红细胞层上方、无细胞血浆层下方的中间层逐渐形成纤维素凝结物,而大部分血小板就位于这些网状凝结物中<sup>[21]</sup>。

该技术成功与否的关键在于采集血液及采集完成后试管置入离心机的速度。由于采集的血液无任何抗凝成分,因此当血液一接触玻璃采集试管时就会开始发生凝固。而在把采集到的血样置于离心机时同样需要花费不少时间,因而时间在制备 PRF 的过程中显得尤为关键和重要<sup>[22]</sup>。快速操作是成功获得 PRF 的惟一途径。通过排出纤维素凝结物基质中的液体,操作者便可以获得良好的 PRF 生物膜。

#### 5 PRF 在口腔颌面外科的应用

Randelli 等<sup>[23]</sup>发现,PRF 基质中不仅含有白细胞,同时该 PRF 基质能促进白细胞迁移,并首次成功应用 PRF 对颌面部骨折伴有软组织缺损进行治疗。纤维素及其降解产物在生理状态下具有免疫支持特性,主要是通过调节分化受体群落得以实现。如 CD11/CD18 受体等。PRF 在口腔颌面部的应用范围广泛,对于颌骨缺损类病损可采用凝胶充填,消除死腔,如大范围囊肿刮除术后,阻生智齿、尖牙拔除术后等;对于软组织缺损,可采用压膜覆盖,保护及修复创面,如牙龈撕脱、颊黏膜缺损等,修复前齿槽外科术后,各种皮瓣(肌皮瓣、骨皮瓣等)移植术后以及需植骨等特殊处理的种植术后等。相比较于创伤后生理性愈合,创面应用 PRF 能够缩短一半的组织愈合时间<sup>[21]</sup>。综合国内外临床病例研究及体内、外试验研究的文献发现,PRF 具有立体网状结构,有利于血小板和生长因子以化学键形式结合于纤维蛋白原上,其中纤维蛋白网的存在使得这些细胞因子在 PRF 的降解过程中能逐步缓慢释放,利于发挥生长因子间的协同作用,延长生长因子的作用时间。同时为修复相关的细胞提供了增殖分化的场所,在组织修复过程中发挥了细胞支架的作用。而且纤维蛋白基质是促进间充质干细胞移植最适合的基质载体<sup>[24]</sup>。纤维蛋白还可以促进新生血管形成,促进血液里未分化的间充质细胞向成骨细胞转变,形成骨组织。PRF 作为一种新型的生物材料,在口腔颌面部组织创伤愈合方面具有良好的应用前景。

#### 6 展 望

虽然 PRF 具有很多优点,但作为自体复合材料,制备 PRF 所需的血样本量有限,因此制备的 PRF 量也有限,这也限制了其在大面积手术,如普外科大手术方面的应用。如何提高 PRF 合成产量,扩大 PRF 适应证是亟需深入研究的课题。目前研究的重点在于通过体内、体外实验研究,使 PRF 中生长因子在体内的释放达到最优化,最大程度的为临床治疗提供帮助。虽然现在各种文献、医疗机构的数据表明 PRF 在创伤修复方面取得了令人满意的效果,但还需继续观察长远的效果并进行更深入的研究。

#### 参考文献:

- [1] Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift [J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006, 101(3): 299-303.
- [2] Saluja H, Dehane V, Mahindra U. Platelet-rich fibrin: A second Generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons [J]. *Ann Maxillofac Surg*, 2011, 1(3): 53-57.
- [3] Sunitha Raja V, Munirathnam Naidu E. Platelet-rich fibrin: Evolution of a second-generation platelet concentrate [J]. *Indian J Dent Res*, 2008, 19(3): 42-46.
- [4] He L, Lin Y, Hu XL, 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.
- [5] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, 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.
- [6] Sclafani AP. Applications of Platelet-Rich fibrin matrix in facial plastic surgery [J]. *Facial Plastic Surgery*, 2009, 25(4): 270-276.
- [7] Kang YH, Jeon SH, Park JY, et al. Platelet-rich fibrin is a Bioscaffold and reservoir of growth factors for tissue regeneration [J]. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(3/4): 349-359.
- [8] Clipet F, Tricot S, Alno N, et al. In vitro effects of choukroun's Platelet-Rich fibrin conditioned medium on 3 different cell lines implicated in dental implantology [J]. *Implant Dent*, 2012, 21(1): 51-56.
- [9] Wu XW, Ren JA, Li JS. Fibrin glue as the cell-delivery vehicle for mesenchymal stromal cells in regenerative medicine [J]. *Cytotherapy*, 2012, 14(5): 555-562.
- [10] Giusti I, Rugghetti A, D'ascenzo S, et al. The effects of platelet gel-released supernatant on human fibroblasts [J]. *Wound Repair Regen*, 2013, 21(2): 300-308.
- [11] Li Y, Rodrigues J. Injectable and biodegradable hydrogels: gelation, biodegradation and biomedical applications [J]. *Chem Soc Rev*, 2012, 41(3): 2193-2221.
- [12] Ren J, Wu X, Hong Z, et al. Management of a patient with colcutaneous fistula by autologous platelet-rich fibrin glue [J]. *Am Surg*, 2012, 78(2): 86-87.
- [13] Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, et al. Slow release of growth factors and hrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a Gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies [J]. *Growth Factors*, 2009, 27(1): 63-69.
- [14] Mooney E, Loh C, Pu LL. ASPS/PSEF Technology Assessment Committee. ASPS/PSEF technology assessment

- committee, the use of fibrin glue in plastic surgery[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2009, 124(7):989-992.
- [15] Qi H, Ge BJ, Liu LM, et al. Successful management of chylous ascites with total parenteral nutrition, somatostatin, and fibrin glue[J]. *Chin Med J*, 2007, 120(20):1847-1849.
- [16] Avalos-González J, Portilla-deBuen E, Leal-Cortés CA, et al. Reduction of the closure time of postoperative enterocutaneous fistulas with fibrin sealant[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(22):2793-2800.
- [17] Simonpieri A, Del Corso M, Vervelle A, et al. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2012, 13(7):1231-1256.
- [18] Gassling V, Hedderich J, Açil Y, et al. Comparison of platelet rich fibrin and collagen as osteoblast-seeded scaffolds for bone tissue engineering applications[J]. *Clin Oral Implants Res*, 2013, 24(3):320-328.
- [19] Arai T, Kawamura A, Matsubara Y, et al. Effect of chronic kidney disease on platelet reactivity to dual-antiplatelet therapy in patients treated with drug-eluting stents[J]. *Heart Vessels*, 2012, 27(5):480-485.
- [20] Chang IC, Tsai CH. Platelet-rich fibrin modulates the ex-
- pression of extracellular signal-regulated protein kinase and osteoprotegerin in human osteoblasts[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2010, 95(6):327-332.
- [21] 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.
- [22] Esposito M, Maghazireh H, Grusovin MG, et al. Soft tissue management for dental implants: what are the most effective techniques? A Cochrane systematic review[J]. *Eur J Oral Implantol*, 2012, 5(11):221-238.
- [23] Randelli PS, Arrigoni P, Cabitza P, et al. Autologous platelet rich plasma for arthroscopic rotator cuff repair. A pilot study[J]. *Disabil Rehabil*, 2008, 30(20/22):1584-1589.
- [24] Dohan ED, 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.

(收稿日期:2014-06-15 修回日期:2014-09-29)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.35.047

## 静脉血栓栓塞症风险评估模型的临床应用研究进展\*

洪跃玲 综述, 杨相梅<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属第一医院呼吸内科 400016)

关键词: 静脉血栓形成; 血栓栓塞; 血管疾病

中图分类号: R473.5

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)35-4829-03

静脉血栓栓塞症(venous thromboembolism, VTE)是包括深静脉血栓形成(deep venous thrombosis, DVT)和肺血栓栓塞症(pulmonary thromboembolism, PTE)2种临床表现形式的一组血栓栓塞性疾病<sup>[1]</sup>。其发病率高、并发症严重,是临床医务人员所面临的严峻问题。因此,有必要选取合适的VTE风险评估模型进行风险评估,及时有效的予以干预,降低其发生率。本文旨在对目前常用的风险评估模型的临床应用进展进行综述。

### 1 VTE 风险评估的重要性及其意义

在原卫生部颁发的《三级综合医院评审标准实施细则(2011年版)》中,将择期手术后并发症(肺栓塞、深静脉血栓)作为了住院患者医疗质量与安全监测指标,这表明VTE因其高发率、严重后果越来越受到临床的关注。有文献报道<sup>[2-3]</sup>,由于基因多态性及种族差异,DVT在不同人群中存在差异。但近年来,随着对VTE认识的提高,国内外诊断的VTE患者

逐年上升。有研究表明,在内科住院患者中VTE的患病率约为12%<sup>[4]</sup>;在外科术后患者中也成为一种常见的并发症<sup>[5]</sup>;尤其是在重症监护室的发生率更是高达10%~80%<sup>[6]</sup>。不同国家及组织均推出指南强调VTE预防的重要性。

既然VTE已成为一种危害较大的血管疾病,是住院患者常见并发症之一,预防VTE的发生有着十分重要的意义。目前,国内外大多采用VTE风险评估模型筛选高危患者,将其进行危险程度的分级,再根据危险程度的不同采取相对应的预防措施。有报道显示<sup>[7]</sup>,2005~2008年,日本围术期采用VTE预防措施的人群比例显著上升,而围术期肺栓塞(PE)病死率得到显著下降。可见,用评估工具筛选出高危人群从而进行预防是很有必要的。WHO已将是否预防VTE纳入手术安全评价标准。但用于VTE风险评估的模型较多,各有优势,也存在某些不足。如何选择一种有效、简单、实用的评估模型来识别高危人群就成为临床医务人员所面临的挑战。