

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.01.029

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220927.1949.030.html\(2022-09-28\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220927.1949.030.html(2022-09-28))

富血小板血浆治疗糖尿病足溃疡的研究进展*

王倩, 颜玺, 黄鑫 综述, 简华刚[△] 审校
(重庆医科大学附属第二医院急救部 400010)

[摘要] 糖尿病足溃疡(DFU)是糖尿病慢性并发症中较为严重的一种,治疗难度大,住院时间长,创面愈合缓慢,致残、致死率高。随着对 DFU 机制研究的逐渐深入,以富血小板血浆(PRP)为代表的血小板浓缩物被广泛应用于临床,其具有制备方法简单、费用较低、抗感染能力强、缩短创面愈合时间等优势,已成为治疗 DFU 重要的辅助方法之一。目前国内 PRP 制备方法较多,各单位所使用的制备参数各不相同,缺乏统一标准,导致所制备的 PRP 制品中血小板含量差异较大、临床疗效参差不齐。因此,该文就 PRP 的制备、DFU 创面愈合困难的原因、PRP 促进 DFU 愈合的机制及相关研究进展进行综述。

[关键词] 富血小板血浆;制备方法;糖尿病足溃疡;研究进展

[中图分类号] R632.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)01-0146-05

Research progress of platelet rich plasma in treating diabetes foot ulcer*

WANG Qian, YAN Xi, HUANG Xin, JIAN Huagang[△]

(Department of Emergency, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[Abstract] Diabetes foot ulcer (DFU) is one of the more serious chronic complications of diabetes, which is difficult to treat, and has long hospital stay, slow wound healing, and high disability and death rate. With the gradual deepening of the study on the mechanism of diabetes foot ulcer, the platelet concentrate represented by platelet-rich plasma (PRP) has been widely used in clinic, which has the advantages of simple preparation method, low cost, strong anti-infection ability, shortening wound healing time and so on. It has become one of the important auxiliary methods for the treatment of DFU. At present, there are many domestic PRP preparation methods, the preparation parameters used by various units are different, and there is a lack of unified standards, resulting in large differences in platelet content in the prepared PRP products and uneven clinical efficacy. Therefore, this article reviews the preparation of PRP, the causes of DFU wound healing difficulties, the mechanism of PRP promoting DFU healing and related research progress.

[Key words] platelet rich plasma; preparation methods; diabetes foot ulcer; research progress

糖尿病足(diabetic foot, DF)定义为糖尿病患者踝关节以远的皮肤和皮下组织的破坏,通常会侵犯到肌肉和骨组织,下肢动脉闭塞和外伤可增加其发生的概率。DF 是导致糖尿病患者残疾和死亡的主要原因之一。目前,糖尿病足溃疡(diabetes foot ulcer, DFU)已成为我国重要的公共卫生问题。DFU 患者死亡率高达 11%,截肢率已达 22%^[1]。下肢动脉闭塞、周围神经病变和创伤是 DFU 风险增加的 3 个主要原因。由于糖尿病患者自身糖代谢障碍的影响,细菌生物膜的产生,创面局部肉芽组织生长所需的生长因子缺乏,传统的清创术已不能满足创面肉芽生长的需求,富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)可以

解决这个问题。PRP 是通过体外离心技术获得的自体血液制品,其中高浓度的血小板可产生大量生长因子,促进细胞分裂增殖,加速创面微血管形成,从而改善创面微环境,促进创面愈合,可广泛用于各种 DFU 的修复。

1 DFU 愈合困难原因

DFU 创面难愈合、延迟愈合与创面微环境的改变、局部细菌感染、细菌生物膜的形成及创面生长因子的缺乏有关,由于各种原因共同作用导致局部生长因子减少和活性降低^[2],主要原因如下:(1)长期高糖环境导致糖尿病患者外周动脉硬化,外周血管狭窄导致创面供血不足,局部代谢产物排泄障碍、生长因子

和其他营养物质供应不足导致创面愈合困难^[3]。(2)糖尿病患者血液处于高凝状态,血液黏度的增加会影响细胞之间的物质交换及糖基化最终产物的堆积^[4],影响创面局部金属蛋白酶(MMPs)的水平,改变生长因子的活性并降低其功能^[5]。除此以外,组织中糖代谢产物排泄障碍,导致代谢产物异常堆积阻碍了各类修复细胞的增殖,促进细胞凋亡,表皮细胞上皮化时间延长,细胞外基质合成受阻,降解增加,血管舒缩功能障碍等导致急性创面慢性化,并出现创面延迟愈合或不愈合^[6]。(3)糖尿病患者创面易被病原微生物定植,导致创面局部感染程度加重^[7]。创面细菌感染导致细菌不可逆的附着于创面局部,繁殖分化并分泌多糖基质,包裹细菌群落产生细菌生物膜,可抵抗抗生素、杀菌剂、恶劣环境及宿主免疫防御机制,导致创面细菌难以根治;还可分泌多糖基质、脂蛋白等多糖蛋白复合物刺激细菌繁殖;细菌生物膜中的炎性渗出物可持续为细菌提供营养,导致持续的过度炎症反应^[8]。同时,创面缺血缺氧表达内皮细胞黏附因子增加,导致白细胞介素(IL)-1 α 、IL-1 β 、肿瘤坏死因子(TNF)- α 等促炎因子释放增加,加速创面炎症级联反应发生^[9]。(4)神经病变和糖代谢产物异常堆积导致参与创面修复细胞功能下降甚至凋亡,创面生长因子分泌减少,高浓度的炎症因子刺激细胞释放大量蛋白水解酶,水解生长因子及受体、基质蛋白等促进创面愈合所需的生长因子,抑制肉芽组织生长使创面修复进程受阻^[10]。

2 PRP 促进慢性创面愈合作用机制

创面愈合可分为凝血期、炎症期、修复期、成熟期 4 个时期。慢性创面愈合主要是后 2 个时期受阻,这与创面局部缺乏生长因子和纤维蛋白有关^[11]。PRP 被激活后形成富血小板凝胶,每个血小板由 50~80 个 α 颗粒和数百种生物活性蛋白组成,主要包括以血小板源性生长因子(PDGF)为代表的多种生长因子。这些生长因子主要参与组织修复过程,并有其特定的生物分子功能,改变创面炎症细胞功能、促进肉芽组织生长及血管神经再生。PRP 中大量的纤维蛋白可促进细胞迁移增殖。纤维蛋白原激活后形成的网络结构为修复细胞的爬行提供支架。任慈等^[12]报道自体 PRP 中丰富的纤维蛋白,能够收缩创面促进细胞修复,还可在创面局部形成湿润的环境,加速创面愈合。

2.1 抗炎

DFU 创面抗炎和炎症微环境的失衡促进了慢性持续性炎症反应的出现和发展。LI 等^[13]研究发现 PRP 中的白细胞具有抗炎作用;有研究^[13-14]通过建立体外 DFU 模型发现 DFU 中的 miRNA 水平与伤口愈合直接相关,miRNA-21/PDCD4/NF- κ B 信号通路是 PRP 发挥抗炎作用的直接机制,PRP 可上调 miRNA-21 水平,下调 PDCD4 水平来降低 NF- κ B 活性,

从而促进组织修复。国内一项研究显示,PRP 可分泌血小源性抗菌肽(包括血小板碱性蛋白、纤维蛋白肽等),通过降低炎症反应增强免疫作用^[15]。

2.2 抗菌

ÇETINKAYA 等^[16]发现革兰阳性球菌中的耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌,革兰阴性杆菌中的肺炎克雷伯菌和铜绿假单胞菌是各种慢性创面中较为常见的菌群,PRP 可抑制上述细菌的活性发挥抗菌作用。CHEN 等^[4]用糖尿病慢性难愈合创面患者的全血制备 PRP 研究其体外抗菌作用,结果显示 PRP 可降低金黄色葡萄球菌细菌活性,其发挥抗菌作用的机制可能是 PRP 释放的血小板杀菌蛋白(platelet microbicidal protenins PMPs)可增加细菌细胞膜的通透性,PMPs 进入细胞后抑制细胞内物质合成,从而起到抗菌作用。PRP 中活化的血小板还可通过释放多种生物活性物质(如腺苷、组胺、趋化因子、免疫球蛋白等),诱导血小板聚集,也可通过趋化白细胞发挥抗菌作用。

2.3 大量生长因子和活性物质释放

PRP 含有丰富的生长因子、细胞因子、抗菌肽等生物活性物质,可刺激细胞增殖分化,基质合成,加速组织再生与修复^[17]。PRP 中包含的主要生长因子有:血小板源性生长因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子 β (TGF- β)、胰岛素样生长因子(IGF)、表皮生长因子(EGF)等^[18]。相关研究表明,PRP 中的生长因子可诱导组织细胞中 MMPs 抑制剂(TIMP)释放增加,TIMP 可抑制 MMPs 合成,MMPs/TIMP 二者比例下降可延长创面细胞基质、细胞外基质及生长因子降解时间,促进创面愈合^[19]。

2.4 改善局部循环

PRP 可以通过提供多种生长因子和细胞因子改善创面局部微循环,促进糖尿病缺血创面的愈合^[20]。PRP 中的 VEGF 与血管内皮细胞受体(VEGFR)结合可刺激内皮细胞增殖,促进创面微血管生成。FGF 通过促进蛋白多糖产生,刺激内皮细胞增殖而改善创面局部循环^[21]。

2.5 自噬作用

一项国内的研究发现,自噬与创面愈合密切相关,PRP 可以通过调节自噬水平加速 DFU 创面的愈合,具有调节炎症、抑制凋亡、抗氧化应激和促进血管生成的作用^[22]。实验证明,经 PRP 治疗的 DF 患者,创面肉芽组织中 LC-3 蛋白表达水平升高,LC3-II/LC3-I 比值升高,自噬反应增强。PRP 可以抑制组织细胞中炎症因子的释放和聚集,改善创面局部微环境,这也可能与自噬有关^[23]。

2.6 促进周围神经修复

PRP 可促进周围神经修复,其机制可能与 PRP 具有刺激细胞增殖的潜力有关,可诱导如神经生长因

子(NGF)、神经胶质衍生生长因子(GDNF)、脑源性神经营养因子和睫状神经营养因子等的合成,并明显增加施旺细胞的增殖,促进轴突迁移和再生。ROSENBERG 等^[24]研究表明,PRP 可以刺激大鼠坐骨神经的修复,效果相当于自体神经移植。还发现,PRP 中的 PDGF 是施旺细胞的有丝分裂原,且 TGF- β 具有调控施旺细胞的作用。

3 制备方法

PRP 是通过体外离心静脉血液得到的血小板和生长因子的浓缩物。它可以是自体的,也可以是异体的。根据制备时采取的离心次数不同,分为一次离心法和二次离心法。国内外对于 PRP 的制备方案没有统一的指南或共识。目前,我国广泛采用二次离心法。然而,由于各研究单位使用的离心设备不同,制备参数和成品质量也有很大差异。

PRP 中的多种高浓度的生长因子是其发挥效应的主要物质,国际细胞医学学会根据 PRP 中的血小板浓度划分出低浓度(2.5~3 倍)和高浓度(5~9 倍);基础研究和临床应用普遍认同血小板浓度 $500 \times 10^9/L \sim 1\,000 \times 10^9/L$ 为其发挥作用的有效浓度。部分研究人员认为,血小板浓度 2~6 倍对组织修复有促进作用,血小板过度激活后产生过高浓度的生长因子反而会抑制细胞增殖,阻碍组织再生与创面修复^[25]。

PRP 制备过程需严格遵守无菌原则,采取“现采现用”原则^[26]。根据创面大小抽取静脉血 20~100 mL,加入含枸橼酸钠抗凝剂的试管中,第一次离心后血液分为 3 层,最上层为贫血小板血清层,最下面为红细胞层,中间为富血小板层,弃去最下层红细胞层,余下上清液收集备用。上清液经二次离心后分为两层,最上层为血清层,下层即为 PRP 层。将两次离心所获得 PRP 收集在一起,以 10:1 比例加入血小板激活剂葡萄糖酸钙注射液,10 min 内完成创面注射。

目前,国内外研究人员普遍认为二次离心法所得到的血小板浓度较高。HELLER 等^[27]发现第一次以 $160 \times g$ 低速离心 20 min,第二次以 $400 \times g$ 高速离心 15 min,所得血小板浓度相当于正常血小板浓度的 10 倍。LANDEBERG 等^[28]研究后发现离心力大于 $250 \times g$ 时血小板会过度破坏,第一次离心时间小于 5 min 得到的血小板浓度与全血中的浓度无明显差异。因此他认为第一次以 $200 \times g$ 离心 15 min,第二次以 $200 \times g$ 离心 10 min 制备的 PRP 促进创面修复的效果较好。张昭远等^[29]采用第一次以 $400 \times g$ 离心 10 min,第二次以 $1\,100 \times g$ 离心 10 min 得到的 PRP 中血小板浓度约为全血浓度的 6.13 倍,应用于创伤修复效果良好。袁南兵等^[30]比较了几种离心方法后发现第一次以 $313 \times g$ 低速离心 4 min,第二次以 $1\,252 \times g$ 高速离心 6 min,血小板浓缩倍数可达到 3~7 倍,血小板回收率高达 75% 以上,是制备 PRP 较

好的方法。

4 应用及进展

4.1 PRP 联合干细胞

脂肪来源的干细胞可通过分化为成纤维细胞和角质形成细胞直接促进创面愈合^[31]。干细胞还可以通过释放多种生长因子及瘦素、脂联素等创面愈合相关的肽促进创面愈合^[32]。脂肪细胞与 PRP 联合应用,可在早期促进脂肪细胞血管化,改善缺血,提高细胞存活率,增强脂肪来源的干细胞促进创面愈合的能力^[33]。

4.2 同种异体 PRP

不同患者的病情有一定差异,尤其是糖尿病患者的年龄段主要分布于中老年组。糖尿病患者全身状况差且存在很多并发症,尤其是糖尿病肾病患者血黏度增加,血流动力学改变,血小板易发生聚集,血小板数量减少、功能减退等使治疗无法达到预期效果,难以从中分离提取 PRP,因此很难确保 PRP 的质量和疗效。在这些患者中,使用同种异体 PRP 已成为一种较为理想的治疗选择。早在 2003 年研究人员就开始研究异基因 PRP,CARTER 等^[34]在公马的难愈性创面模型中使用异基因 PRP,结果表明同种异体 PRP 对慢性创面具有相同的治疗效果,实验中未发生不良反应。

5 展望和小结

PRP 在治疗慢性难愈合性创面方面具有诸多优势。PRP 作为一种自体生物材料,具有制备简单,使用后无副作用,组织修复和再生能力强,低免疫原性,不传播传染性疾病,抗感染能力强等特点;高浓度的生长因子加速创面愈合,纤维蛋白促进创面收缩,多种因素共同作用促进创面愈合。

PRP 在临床的广泛应用为治疗慢性难愈合性创面提供了新的方向,但还存在很多局限性。(1)目前国内外关于 PRP 的制备方法不够成熟,不同制备方法及制备参数所得到的 PRP 成分和浓度不同,不同的活化方法和不同的抗凝剂会产生不同的量-效关系,这是 PRP 在临床推广的最大阻碍。(2)PRP 的半衰期短,储存时间短,常规的真空冷冻方法无法保证冷冻制剂的生物效应,尚缺乏大量的基础实验和临床试验以进一步制订标准化制备方法,统一血小板浓度标准,进一步阐明其修复创面的分子机制,以更好地应用于慢性创面的临床治疗。

PRP 和其他技术的联合应用提高了慢性难愈合性创面的治愈率^[35]。创面局部采用 PRP 同时联合基因技术或细胞工程技术治疗慢性难愈合性创面成为可能;通过 DNA 分子重组技术或基因探针技术将目的基因导入靶细胞,再诱导或抑制目的基因的表达,并对细胞的特定功能进行调控,从而达到促进创面愈合的目的^[36]。

参考文献

- [1] RAMIREZ-ACUÑA J M, CARDENAS-CADENA S A, MARQUEZ-SALAS P A, et al. Diabetic foot ulcers: current advances in antimicrobial therapies and emerging treatments[J]. *Antibiotics (Basel)*, 2019, 8(4): 193.
- [2] ZUBAIR M. Prevalence and interrelationships of foot ulcer, risk-factors and antibiotic resistance in foot ulcers in diabetic populations: a systematic review and meta-analysis[J]. *World J Diabetes*, 2020, 11(3): 78-89.
- [3] HICKS C W, CANNER J K, MATHIOUDAKIS N, et al. Incidence and risk factors associated with ulcer recurrence among patients with diabetic foot ulcers treated in a multidisciplinary setting[J]. *J Surg Res*, 2020, 246: 243-250.
- [4] CHEN Z H. A study on the therapeutic effects of autologous platelet-rich plasma in the treatment of limbs refractory wound infection[J]. *Int J Clin Expert Med*, 2017, 10(11): 15316-15322.
- [5] 葛玉, 赵建军, 王会聪, 等. 2 型糖尿病患者发生糖尿病足相关因素研究[J]. *华南预防医学*, 2021, 47(8): 1018-1020.
- [6] XU J, GOU L, ZHANG P, et al. Platelet-rich plasma and regenerative dentistry [J]. *Aust Dent J*, 2020, 65(2): 131-142.
- [7] 马飞飞. 糖尿病足感染的特点与治疗[J/CD]. *临床医药文献电子杂志*, 2018, 5(64): 57.
- [8] KURUP R, ANSARI A A. A study to identify bacteriological profile and other risk factors among diabetic and non-diabetic foot ulcer patients in a Guyanese hospital setting[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2019, 13(3): 1871-1876.
- [9] SIES H, JONES D P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(7): 363-383.
- [10] 陈仕星, 邓晶莹, 苏达康, 等. 脂肪来源于干细胞治疗慢性创面的疗效及对患者 MMP-2、MMP-9 表达水平的影响[J]. *海南医学*, 2021, 32(19): 2472-2475.
- [11] 赵鹏宇, 向小燕. 血小板浓缩物治疗糖尿病足溃疡的研究进展[J]. *川北医学院学报*, 2020, 35(6): 1113-1117.
- [12] 任慈, 朱玲, 金州烽, 等. 富血小板血浆联合负压创面治疗慢性创面的研究进展[J]. *中国医疗美容*, 2020, 10(6): 140-143.
- [13] LI T, MA Y, WANG M, et al. Platelet-rich plasma plays an antibacterial, anti-inflammatory and cell proliferation-promoting role in an in vitro model for diabetic infected wounds[J]. *Infect Drug Resist*, 2019, 12: 297-309.
- [14] GUPTA S, PALICZAK A, DELGADO D. Evidence-based indications of platelet-rich plasma therapy[J]. *Expert Rev Hematol*, 2021, 14(1): 97-108.
- [15] WANG Z, ZHAO Q, ZHANG D, et al. Essential roles for platelets during neutrophil-dependent or lymphocyte-mediated defense against bacterial pathogens[J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2016, 27(6): 667-672.
- [16] ÇETINKAYA R A, YENILMEZ E, PETRONE P, et al. Platelet-rich plasma as an additional therapeutic option for infected wounds with multi-drug resistant bacteria: in vitro antibacterial activity study [J]. *Eur J Trauma Emerg Surg*, 2019, 45(3): 555-565.
- [17] RAMASWAMY REDDY S H, REDDY R, BABU N C, et al. Stem-cell therapy and platelet-rich plasma in regenerative medicines: a review on pros and cons of the technologies[J]. *J Oral Maxillofac Pathol*, 2018, 22(3): 367-374.
- [18] LYNCH M D, BASHIR S. Applications of platelet-rich plasma in dermatology: a critical appraisal of the literature[J]. *J Dermatolog Treat*, 2016, 27(3): 285-289.
- [19] KINOSHITA H, ORITA S, INAGE K, et al. Freeze-dried platelet-rich plasma induces osteoblast proliferation via platelet-derived growth factor receptor-mediated signal transduction [J]. *Asian Spine J*, 2020, 14(1): 1-8.
- [20] PU D, LEI X, LENG W, et al. Lower limb arterial intervention or autologous platelet-rich gel treatment of diabetic lower extremity arterial disease patients with foot ulcers [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(18): 485.
- [21] 麻华胆, 郑爱甜, 吴标良. 细胞自噬在糖尿病溃疡创面愈合中作用的研究进展[J]. *右江医学*, 2020, 48(2): 81-85.
- [22] 胡振平, 许辉, 叶茂, 等. 糖尿病足感染者创面肉芽组织细胞自噬相关蛋白表达[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2018, 12(5): 453-458.
- [23] HESSELER M J, SHYAM N. Platelet-rich plasma and its utility in medical dermatology: a systematic review[J]. *J Am Acad Dermatol*, 2019, 81(3): 834-

- 846.
- [24] ROSNER B I, HANG T, TRANQUILLO R T. Schwann cell behavior in three-dimensional collagen gels: evidence for differential mechanotransduction and the influence of TGF- β 1 in morphological polarization and differentiation [J]. *Exp Neurol*, 2005, 195(1):81-91.
- [25] EVERTS P, ONISHI K, JAYARAM P, et al. Platelet-rich plasma: new performance understandings and therapeutic considerations in 2020 [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20):7794.
- [26] 单桂秋, 施琳颖, 李艳辉, 等. 自体富血小板血浆制备技术专家共识 [J]. *中国输血杂志*, 2021, 34(7):677-683.
- [27] HELLER D B, AMAN Z S, NWACHUKWU B U, et al. Preparation methods and clinical outcomes of platelet-rich plasma for intra-articular hip disorders: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials [J]. *Orthop J Sports Med*, 2020, 8(10):2325967120960414.
- [28] LANDESBURG R, ROY M, GLICKMAN R S. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2000, 58(3):297-300.
- [29] 张昭远, 卫愉轩, 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.
- [30] 袁南兵, 王椿, 王艳, 等. 自体富血小板凝胶的制备及其生长因子分析 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2008, 22(4):468-471.
- [31] KAUX J F, EMONDS-ALT T. The use of platelet-rich plasma to treat chronic tendinopathies: a technical analysis [J]. *Platelets*, 2018, 29(3):213-227.
- [32] 李培兵, 金宏, 刘佃辛, 等. 瘦素促进皮肤创伤大鼠胶原合成的实验研究 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2011, 27(1):72-74.
- [33] EPPLEY B L, WOODDELL J E, HIGGINS J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2004, 114(6):1502-1508.
- [34] CARTER C A, JOLLY D G, SR C E W, et al. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing [J]. *Exper Mol Pathol*, 2003, 74(3):244-255.
- [35] CHEN J, WAN Y, LIN Y, et al. Platelet-rich fibrin and concentrated growth factors as novel platelet concentrates for chronic hard-to-heal skin ulcers: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *J Dermatolog Treat*, 2022, 33(2):613-621.
- [36] SESSIONS J W, ARMSTRONG D G, HOPE S, et al. A review of genetic engineering biotechnologies for enhanced chronic wound healing [J]. *Exp Dermatol*, 2017, 26(2):179-185.

(收稿日期:2022-05-08 修回日期:2022-08-10)

(上接第 145 页)

- [26] ALKHAYER A, PIFFKÓ J, LIPPOLD C, et al. Accuracy of virtual planning in orthognathic surgery: a systematic review [J]. *Head Face Med*, 2020, 16(1):34.
- [27] DE WAARD O, BRUGGINK R, BAAN F, et al. Operator performance of the digital setup fabrication for orthodontic-orthognathic treatment: an explorative study [J]. *J Clin Med*, 2021, 11(1):145.
- [28] MASCARENHAS W, MAKHOUL N. Efficient in-house 3D printing of an orthognathic splint for single-jaw cases [J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2021, 50(8):1075-1077.
- [29] KERNITSKY J R, OHIRA T, SHOSHO D, et al. Corticotomy depth and regional acceleratory phenomenon intensity [J]. *Angle Orthod*, 2021, 91(2):206-212.
- [30] 何东明, 毛丽霞, 刘凯, 等. 精准牙-骨移动的手术先行正颌正畸联合治疗——数字医学时代的理念与尝试 [J]. *口腔医学*, 2022, 42(1):20-22.
- [31] KANKAM H K N, GUPTA H, SAWH-MARTINEZ R, et al. Segmental multiple-jaw surgery without orthodontia: clear aligners alone [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2018, 142(1):181-184.
- [32] JIANG Q, LI J, MEI L, et al. Periodontal health during orthodontic treatment with clear aligners and fixed appliances: a meta-analysis [J]. *J Am Dent Assoc*, 2018, 149(8):712-720.
- [33] SCHNEIDER D, KÄMMERER P W, HENNIG M, et al. Customized virtual surgical planning in bimaxillary orthognathic surgery: a prospective randomized trial [J]. *Clin Oral Investig*, 2019, 23(7):3115-3122.

(收稿日期:2022-04-22 修回日期:2022-08-26)