

富血小板血浆的制备及其在整形外科中的应用进展

肖义青¹, 宋灿², 姚静³, 蔡霞², 陈振雨², 王彦进²

(1 青岛经济技术开发区第一人民医院, 山东青岛 266555; 2 青岛大学附属医院;

3 济南市中心医院)

摘要:富血小板血浆(PRP)含有多种促进组织愈合和软组织再生的生长因子,因取自自体全血,无免疫排斥性,制备相对简单,取材方便,在整形美容外科的应用越来越广泛。PRP 作为一项新兴治疗方法,在组织修复中能促进细胞生长,具有抗菌活性,尤其在难愈性创面治疗中有独特优势;在脂肪移植中能提高移植脂肪的成活率;在植发、减轻瘢痕、面部年轻化、组织工程软骨等多个方面中应用效果满意。但 PRP 的制备目前尚无统一标准,其使用剂量及时间等问题需进一步探讨。

关键词:富血小板血浆;外科;整形;脂肪移植

doi:10.3969/j.issn.1002-266X.2015.17.038

中图分类号:R622 文献标志码:A 文章编号:1002-266X(2015)17-0095-03

富血小板血浆(PRP)是指自体的新鲜全血经离心后分离出来的血小板(PLT)和血浆的浓缩物,一般 PRP 中 PLT 浓度为全血的 3~6 倍。Marx 等^[1]认为,PLT 为 $1 \times 10^6/\mu\text{L}$ 是有效生长因子释放的阈浓度。PRP 因取自自体全血,无免疫排斥性,制备相对简单,取材较为方便,含有多种生长因子且各生长因子组分与人体相同,目前已应用于骨科、口腔科、整形外科和慢性创面等多个学科。但 PRP 的制备目前尚无统一标准,PRP 的使用剂量及时间等问题需进一步探讨。现将 PRP 的制备及其在整形外科中的应用进展综述如下。

1 PRP 的制备

1977 年 Harke 等^[2]首次将全血分离制备出 PRP,并且将其用于心脏外科手术患者,获得较好效果。1984 年 Okuda 等^[3]研究发现,PRP 含有多种生长因子,且能促进骨缺损的修复。1997 年 Whitman 等^[4]用自体 PRP 技术修复骨缺损,随后 PRP 逐渐用于临床。体外注射 PRP 需在注射前加入激活剂,常用的是凝血酶和钙离子,它们能激活 PRP 中的 α 颗粒释放多种生长因子,并且释放生长因子的浓度在一定范围内与激活剂的量呈正比。

PRP 的制备分为密度梯度离心法和全自动血浆分离置换法。影响 PRP 制备的因素有离心力、离心时间、离心次数、激活剂、温度等。PRP 在激活前,任何一种可能的情况均会使其激活,或影响其完整性、活性及各种组分。毛亚丽等^[5]研究发现,血浆胶体

渗透压成分对 PLT 的变形有促进作用。PLT 变形是 PLT 活化的一种表现,在试验中调整 PRP 的 PLT 浓度最常用的是生理盐水和贫血小板血浆(PPP)。林颢等^[6]认为第 1 次以 900 g 离心 10 min,第 2 次 700 g 离心 10 min,所得的 PRP 血小板浓度和转化生长因子(TGF)- β_1 浓度最高。王天祥等^[7]发现,在离心力、离心时间及最终 PRP 体积相同的情况下,若全血中 PLT 升高,相应离心制备出的 PRP 中 PLT 亦高,PRP 中 PLT 源性生长因子(PDGF)-AB、TGF- β_1 水平随 PLT 的升高而增加,即 PRP 中 PDGF-AB、TGF- β_1 水平与 PLT 呈正相关。全自动血浆分离置换法使用血细胞分离仪器等一些专业设备离心分离而获得 PRP,目前主要用于 PLT 的采集和成分输血。各个分离系统制备的 PRP 中 PLT 浓度不尽相同。目前 PRP 的制备方法无完全的统一标准,如何制备出稳定有效的 PRP,还需大量试验进行比较。

2 PRP 在整形外科中的应用

2.1 在组织损伤修复中的应用 创面愈合是一个复杂的持续过程,包括凝血、炎症、肉芽组织形成、上皮和组织再生。PRP 能快速产生大量的生长因子,填补创面愈合机制启动时内源性生长因子过少的情况;并且 PRP 中含有大量的纤维蛋白,为细胞的生长提供良好的支架,PRP 还有抑菌及止痛作用。PRP 被钙化激活后分泌大量的生长因子,其中 PDGF 是愈合开始首先出现的生长因子,能促进细胞有丝分裂、毛细血管的生长及巨噬细胞的活化^[8]。PRP 中的纤维蛋白产生一个合适的三维结构,为修复细胞提供良好的支架,有助于促进组织修

复和再生。胡以信等^[9]在 PRP 用于兔烫伤创面愈合试验中发现,10 d 时实验组毛细血管量及成纤维细胞较对照组更丰富,早期 FGF 及 VEGF 阳性细胞表达较高,14 d 后逐步下降。PRP 常联合一些种子细胞来治疗创面及软组织损伤,比如脂肪干细胞或骨髓间充质干细胞,在愈合时间、愈合率、毛细血管形成及修复细胞再生方面均优于单用 PRP。Kim 等^[10]在 16 只新西兰白兔身上做 10 cm × 10 cm 大小的皮瓣,随后注入 PRP,观察到成熟毛细血管的密度及微血管数均高于对照组。Nishimoto 等^[11]报道了 1 例背部慢性溃疡的患者,切除溃疡后用皮瓣覆盖创面,缝合后在皮缘注射 PRP,8 个月后显微镜观察到成熟的成纤维细胞替代了机化的组织,恢复良好。Drago 等^[12]发现 PRP 被激活后能发挥抑菌作用,且抗微生物活性跟浓度无相关性,其抑菌作用可能是由于激活后释放了一种抗微生物蛋白。Bahar 等^[13]在治疗骶尾部瘻时,将创面清创后注射 PRP,在第 1 周和第 4 周发现实验组较对照组疼痛有差异,具体机制有待研究。因此,PRP 能促进修复细胞的增殖及毛细血管生长,具抗炎止痛作用,是促进创面愈合的一种新的治疗方法。

2.2 在脂肪移植中的应用 近年来,PRP 技术在自体脂肪移植修复方面的应用成为研究热点。PRP 可促进大量生长因子的释放从而促进各种软组织修复生长,继而被广泛用于外科治疗中,在脂肪移植方面也逐渐开展起来。Oh 等^[14]用 PRP 复合自体脂肪移植试验发现,脂肪的质量及体积、毛细血管数量均高于对照组,且有很少的囊泡和病理纤维化。刘景兰等^[15]用裸鼠模型研究兔 PRP 联合脂肪干细胞(ADSCs)对颗粒脂肪移植血运重建的影响,发现两者联合组较其他对照组微血管数量多,且血管内皮细胞 CD₃₄ 阳性表达率较其余各组明显升高,脂肪细胞形态良好成分叶状,纤维结缔组织少,可见血运重建对移植脂肪成活的重要性。孟繁星等^[16]用不同方法制备自体 PRP 凝胶支架,当 PRP 中 PLT 浓度约达 $500 \times 10^9 / L$ 时,ADSCs 增殖及活性达到最高,可能是制备 PRPADSSs 复合体的最佳浓度,PRP 在细胞生长过程中提供三维立体支架。

随着脂肪移植在乳房重建中的应用,脂肪移植逐渐用于治疗面部缺陷。王昕等^[17]用自体 PRP 复合自体脂肪颗粒填充矫治唇部软组织畸形,术后观察 12 例患者填充区质地柔软,曲线柔和,外观改善满意,未有明显淤血、血肿、脂肪液化和感染。自体脂肪移植在治疗面部凹陷、乳腺癌术后美观等整形外科手术中有重要作用,PRP 可促进脂肪移植的成活

率,减少移植后脂肪组织的坏死、液化等。但也有学者对 PRP 在脂肪移植中的作用提出质疑,Fontdevila 等^[18]发现添加 PRP 对脂肪移植没有效果,甚至会影响脂肪的成活率,对此还需更多的基础研究来探索。

2.3 在美容方面的应用 PRP 的倡导者认为其可促进较硬组织及软组织的损伤修复,PRP 在整形领域的应用范围越来越广。雄激素性脱发是一种常见的影响患者心理的疾病,治疗效果欠佳。Trink 等^[19]发现,PRP 治疗斑秃有效,Schiavone 等^[23]发现 PRP 注射能提高毛发成活率。Khatu 等^[21]用胰岛素注射器将 PRP 注射入 11 例不同程度的雄性激素脱发患者头皮内,在注射第 1 次和第 4 次时可观察到脱发减少。Uebel 等^[24]试验表明在植发前用 PRP 处理毛囊可促进毛发的生长提高密度,PRP 促进毛发生长的机制可能是促进了真皮乳头层细胞分泌成纤维细胞生长因子及血管内皮生长因子,注射 PRP 可改善皮肤缺血状况并增加毛囊周围毛细血管的再生。

PRP 常被用于面部除皱手术,可明显促进皮肤真皮干细胞的增殖;PLT 血浆释放的大量生长因子能有效促进Ⅲ型和Ⅳ型胶原的增生,PRP 形成的凝胶可填补凹陷,从而消除皱纹,起到美容作用。临床上用微针导入自体 PRP 来观察其对女性肤质的影响,发现患者面颊区皮肤水分、弹性、暗斑、油脂均有改善。Willemsen 等^[22]在面部年轻化治疗中,将 PRP 应用到面部脂肪移植和最小切割面部提升术中,缩短了恢复时间,并且提高了手术的整体美观效果。PRP 能增加透明质酸的分泌,改善皮肤光老化,目前仍需大量基础试验和临床观察加以证实。

PRP 在治疗瘢痕方面也取得了较好效果。目前二氧化碳激光在减少皱纹方面效果显著,但治疗后伴有疤痕和长时间的红斑,PRP 可有效辅助二氧化碳激光治疗面部老化,蔡金辉等^[23]用 PRP 配合点阵激光治疗面部痤疮后瘢痕,治疗后面部红斑及脱痂时间较单纯点阵激光治疗者缩短,瘢痕区皮肤创面愈合加速,术后面部外观改善。可见,PRP 可减弱激光的微创,具有促进创面愈合的作用,促使胶原组织重塑,真皮结构快速生长,使面部痤疮后的瘢痕淡化或消退。Nita 等^[24]用剥脱性二氧化碳激光与 PRP 和自体脂肪移植联合治疗 64 例身体不同部位有瘢痕的患者,用低强度的激光诱导刺激修复细胞特别是成纤维细胞的增殖,加速愈合,在激光治疗区域同时形成一个低光子活化区域来减少脂肪的吸收,可有效治疗萎缩的陈旧疤痕。PRP 还可用于构

建组织工程软骨,为全耳廓软骨再生提供了新的思路。

综上所述,PRP 被激活后产生大量生长因子、纤维蛋白原、补体等,促进组织再生。PRP 制备简便且不会发生排异反应,未添加额外成分,取材方便。其能提高移植脂肪及植发的成活率、减轻瘢痕、改善面部老化等,在整形外科领域的应用广泛。但促进组织的修复需要各生长因子的协同作用,具体作用机制未完全明了,亦未明确其有效成分;PRP 的制备仍无统一的标准,如何制备 PRP 最佳有效浓度、PRP 的使用剂量及时间等问题,还需进一步探讨。

参考文献:

- [1] Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2004,62(4):489-496.
- [2] Harke H, Tanger D, Furst-Denzer S, et al. Effect of a preoperative separation of platelets on the postoperative blood loss subsequent to extracorporeal circulation in open heart surgery [J]. *Der Anaesthesist*, 1997,26(2):64-71.
- [3] Okuda K, Kawase T, Momose M, et al. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro[J]. *J Periodontol*, 2003,74(6):849-857.
- [4] Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet Gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 1997, 55(11):1294-1299.
- [5] 毛亚丽,韩纪举,王云,等. 血小板聚集初期形状变化与聚集的关系及其影响因素分析[J]. *山东医药*,2014,54(24):1-3.
- [6] 林颖,孙杰聪,李广盛,等. 离心力、时间对富血小板血浆中生长因子浓度的影响[J]. *医学信息*,2014,27(5):181-182.
- [7] 王天祥,邹高峰,王秋旭,等. 富血小板血浆 PDGF-AB TGF- α 含量与血小板计数的关系[J]. *山东医药*,2012,52(45):61-63.
- [8] Ortolani E, Guerriero M, Coli A, et al. Effect of PDGF, IGF-1 and PRP on the implant osseointegration. An histological and immunohistochemical study in rabbits [J]. *Ann Stomatol*, 2014, 5(2):66-68.
- [9] 胡以信,袁杰,邹勇,等. 富血小板血浆在促进兔烫伤创面愈合中 bFGF VEGF 的表达及意义[J]. *重庆医学*,2013,42(35):4297-4301.
- [10] Kim HY, Park JH, Han YS, et al. The effect of platelet-rich plasma on flap survival in random extension of an axial pattern flap in rabbits[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2013,132(1):85-92.
- [11] Nishimoto S, Fukuda K, Kawai K, et al. Supplementation of bone marrow aspirate-derived platelet-rich plasma for treating radiation-induced ulcer after cardiac fluoroscopic procedures: A preliminary report[J]. *Indian J Plast Surg*, 2012,45(1):109-114.
- [12] Drago L, Bortolin M, Vassena C, et al. Plasma Components and Platelet Activation Are Essential for the Antimicrobial Properties of Autologous Platelet-Rich Plasma: An In Vitro Study [J]. *PLoS One*, 2014,9(9):e107813.
- [13] Bahar MM, Akbarian MA, Azadmand A, et al. Investigating the Effect of Autologous Platelet-Rich Plasma on Pain in Patients With Pilonidal Abscess Treated With Surgical Removal of Extensive Tissue[J]. *Iranian Red Crescent Medical J*, 2013,15(11):e6301.
- [14] Oh DS, Cheon YW, Jeon YR, et al. Activated platelet-rich plasma improves fat grafts survival in nude mice: a pilot study [J]. *Dermatol Surg*, 2011,37(5):619-625.
- [15] 刘景兰,胡刚,高景恒,等. ADSCs 与 PRP 联合脂肪颗粒移植对血运重建的影响 [J]. *中国美容整形外科杂志*,2012,6(23):327-330.
- [16] 孟繁星,李放,白煜,等. 不同方法制备兔自体富血小板血浆凝胶支架促进脂肪干细胞增殖比较 [J]. *解放军医学院学报*, 2013,34(6):635-639.
- [17] 王昕,陈小平,林金德,等. 自体富血小板血浆脂肪颗粒填充矫治唇部软组织缺损畸形的临床观察 [J]. *中国美容整形外科杂志*,2012,23(9):544-547.
- [18] Fontdevila J, Guisantes E, Martínez E, et al. Double-blind clinical trial to compare autologous fat grafts versus autologous fat grafts with PDGF: no effect of PDGF [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2014, 134(2):219-230.
- [19] Trink A, Sorbellini E, Bezzola P, et al. A randomized, double-blind, placebo- and active-controlled, half-head study to evaluate the effects of platelet-rich plasma on alopecia areata [J]. *Br J Dermatol*, 2013,169(3):690-694.
- [20] Schiavone G, Raskovic D, Greco J, et al. Platelet-rich plasma for androgenetic alopecia: a pilot study [J]. *Dermatol Surg*, 2014,40(9):1010-1019.
- [21] Khatu SS, More YE, Gokhale NR, et al. Platelet-rich plasma in androgenic alopecia: myth or an effective tool [J]. *J Cutan Aesthet Surg*, 2014,7(2):107-110.
- [22] Willemsen JC, van der Lei B, Vermeulen KM, et al. The effects of platelet-rich plasma on recovery time and aesthetic outcome in facial rejuvenation: preliminary retrospective observations [J]. *Aesthetic Plast Surg*, 2014,38(5):1057-1063.
- [23] 蔡金辉,程颺,项晓飞,等. 点阵激光联合 PRP 对面面部痤疮瘢痕的治疗体会 [J]. *中国美容医学*,2013,21(12):10-11.
- [24] Nita AC, Orzan OA, Filipescu M, et al. Fat Graft, Laser CO₂ and Platelet-Rich-Plasma Synergy in Scars Treatment [J]. *J Med Life*, 2013,6(4):430-433.

(收稿日期:2014-12-22)