

可注射型富血小板纤维蛋白联合封闭式负压引流技术 治疗慢性难愈性创面的应用研究

陈道才¹, 谢娟¹, 李红红¹, 朱邦中¹, 陈增红¹, 娄寅¹, 方颖², 曹东升¹

摘要 目的 探讨可注射型富血小板纤维蛋白(i-PRF)联合封闭式负压引流(VSD)技术治疗慢性难愈性创面的疗效。方法 选取80名慢性难愈创面患者,随机均分为对照组和i-PRF组。对照组予创面清创后行封闭式负压引流治疗,i-PRF组予创面清创后即行创面及创周i-PRF多点分散注射,再行封闭式负压引流治疗,两组患者均以7d为一周期重复上述治疗,达修复标准后修复创面。比较两组患者治疗后第7、14天的细菌培养结果、白细胞计数、C反应蛋白、红细胞沉降率、新鲜肉芽组织生长情况及疼痛评分,记录达修复标准准备时间及创面愈合时间。结果 治疗后第7、14天i-PRF组各项炎症指标及疼痛评分降低较对照组更明显,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗后第7、14天观察组新鲜肉芽组织覆盖率及细菌转阴率更高,差异有统计学意义($P < 0.05$);i-PRF组达修复标准准备时间及创面愈合时间均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 i-PRF联合VSD治疗慢性创面相比于单纯应用VSD技术,能更有效控制创面感染,减轻患者疼痛,加速创面愈合,减少住院时间。

关键词 可注射型富血小板纤维蛋白;封闭式负压引流;慢性难愈性创面;局部注射

中图分类号 R 62

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)10-1622-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.10.022

2021-07-10 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1808085MH282)

作者单位:¹安徽医科大学第二附属医院整形外科,合肥 230601

²安庆市立医院整形外科,安庆 246003

作者简介:陈道才,男,硕士研究生;

曹东升,男,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: 137322289@qq.com

慢性难愈性创面通常指因各种因素引起的经过常规治疗无法在可预期的时间内按正常生物学步骤完全愈合的创面^[1]。其形成机制复杂,治疗周期长,耗费大量医疗资源。封闭负压引流(vacuum sealing drainage,VSD)技术是将封闭式敷料与创面引流技术创造性的结合,被广泛应用于多学科的各类慢性创面,有一定疗效,但在治疗一些复杂慢性创面及促进创面组织再生等方面仍有局限^[2]。Choukroun et al^[3]研究表明降低自体血液浓缩制品制备过程中的离心力与离心速度,能获得性能更为优良的新一代自体血小板浓缩物可注射型富血小板纤维蛋白(injectable platelet-rich fibrin,i-PRF),其中的血小板、生长因子、细胞因子和白细胞含量更高,拥有较强的流动性及抗细菌活性^[4-6],具有促进组织再生及伤口愈合的作用^[7]。i-PRF在慢性难愈创面治疗中罕见报道,该研究旨在探讨i-PRF联合封闭式负压引流技术对比传统单纯负压创面引流治疗在慢性创面治疗中的疗效。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取2018年10月至2020年11月在安徽医科大学第二附属医院整形外科收治的80例慢性难愈性创面患者,根据随机数字表法将80例患者分成对照组和i-PRF组,每组各40例,两组患者入院相关临床资料比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表1。本研究经过医院伦理委员会批准,患者均签署了知情同意书。

1.2 纳入与排除标准

group. Flow cytometry was used to detect the effect of IL-15 on the expression of natural killer (NK) cell receptor in peripheral blood of patients with KOA and healthy controls, and the ELISA method was used to detect the effect of IL-15 on the levels of tumor necrosis factor α (TNF- α) and interferon γ (IFN- γ) by peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). **Results** The level of serum IL-15 in KOA group was higher than that in control group. IL-15 could enhance the expression of NK cell receptors CD69, CD94 and NKG2D in KOA group. The levels of TNF- α and IFN- γ in the supernatant of KOA group were higher than those of control group. **Conclusion** IL-15 antagonist may become a new treatment option to prevent or delay the progression of KOA.

Key words knee osteoarthritis; IL-15; natural killer cells; TNF- α ; IFN- γ

表1 两组患者一般临床资料比较($n=40$, $\bar{x} \pm s$)

一般临床资料	对照组	i-PRF 组	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	51.98 ± 8.69	50.43 ± 9.54	0.760	0.450
术前病程(d)	71.83 ± 22.29	74.40 ± 21.86	-0.552	0.603
创面大小(cm^2)	48.01 ± 25.19	45.91 ± 23.20	0.388	0.699
WBC($\times 10^9/\text{L}$)	12.53 ± 3.83	12.63 ± 4.36	-0.102	0.919
CRP(mg/L)	16.36 ± 8.61	17.06 ± 9.91	-0.338	0.736
ESR(mm/h)	46.18 ± 23.70	47.32 ± 24.48	-0.214	0.831
NRS [*] 疼痛评分	5.55 ± 2.15	5.60 ± 2.19	-0.103	0.918
性别				
男	26	23	0.474	0.491
女	14	17		
细菌培养				
阳性	30	32	0.287	0.592
阴性	10	8		
创面类型				
压疮	6	8		
糖尿病足	12	10		
静脉溃疡	7	10	1.397	0.845
外伤后创面	8	7		
术后切口不愈合	7	5		

WBC: 白细胞; CRP: C 反应蛋白; ESR: 红细胞沉降率; * 表示使用疼痛数字评价量表(numerical rating scale, NRS)进行术前疼痛评估^[8]

1.2.1 纳入标准 ① 年龄 18 ~ 65 岁; ② 符合慢性难愈创面诊断标准: 出现创面经常换药清创治疗 4 周以上无好转迹象或加重者; ③ 病情稳定无明显手术禁忌者。

1.2.2 排除标准 ① 有精神或者认知功能障碍患者; ② 诊断有血液系统疾病, 血小板计数 $< 100 \times 10^9/\text{L}$, 血红蛋白 $< 110 \text{ g/L}$ 的患者; ③ 近期服用抗凝药物或者免疫抑制剂的患者; ④ 处于妊娠期、哺乳期的妇女; ⑤ 创面面积大于 100 cm^2 、下肢严重坏疽的患者; ⑥ 恶性肿瘤导致的溃疡。

1.3 方法

1.3.1 i-PRF 制备 根据创面大小, 用 50 ml 无菌注射器自患者肘静脉抽取 20 ~ 50 ml 静脉血, 立即注入离心机无菌离心管中, 700 r/min 离心 3 min, 血液经低速离心后分两层, 上层液体即为 i-PRF^[7]。

1.3.2 创面处理 对照组: 创面行彻底清创术, 修剪适当大小 VSD 敷料覆盖创面, 生物膜贴合包裹; i-PRF 组: 创面行彻底清创术, 然后用 2 ml 无菌注射器抽取 i-PRF 多点分散注射于创面及创面周缘, 修剪适当大小 VSD 敷料覆盖创面, 生物膜贴合包裹; 术后: 两组患者处理一致, 接中心负压持续吸引, 负压值维持在 26.66 ~ 46.66 kPa, 期间予生理盐水间断冲洗创面; 以 7 d 为一治疗周期, 两组患者分别重复上述操作直至创面肉芽组织新鲜饱满达修复标准后修复创面。

1.4 观察指标

1.4.1 炎症指标及疼痛评分 术后第 7、14 天复查炎症指标 WBC、CRP、ESR, 并进行 NRS 疼痛评分。

1.4.2 创面细菌培养结果 术前、术后第 7、14 天分别取创面分泌物做细菌培养, 计算创面细菌转阴率, 创面细菌转阴率 = (原有创面细菌培养阳性例数 - 治疗后创面细菌培养阳性例数) / 原有创面细菌培养阳性例数 $\times 100\%$ 。

1.4.3 肉芽组织生长情况 术后第 7、14 天查看创面肉芽组织生长情况, 采用无菌薄膜勾边法计算创面新鲜红色肉芽组织覆盖率 = 新鲜红色肉芽组织面积 / 原创面面积 $\times 100\%$; 并切取少量创缘组织行 HE 染色组织学观察及免疫组织化学标记血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) 表达情况。

1.4.4 创面达修复标准时间及创面愈合时间 记录创面达修复标准准备时间(初次清创至达手术修复标准的时间)、创面愈合时间(初次清创至创面愈合的时间)。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 18.0 软件进行分析, 正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本比较采用 t 检验, 重复测量资料比较采用两因素重复测量数据方差分析。非正态分布资料采用中位数及四分位数间距描述, 比较采用秩和检验; 计数资料采用卡方检验; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗后创面细菌培养结果比较 对照组治疗后 7、14 d 细菌转阴率分别为 30.00%、56.67%; i-PRF 组治疗后 7、14 d 细菌转阴率分别为 56.25%、90.63%; 治疗后 14 d 两组患者创面细菌培养结果差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 2。

表2 两组患者治疗后创面细菌培养结果比较

组别	原有阳性例数	治疗后 7 d		治疗后 14 d	
		阳性	阴性	阳性	阴性
对照	30	21	9	13	17
i-PRF	32	14	18	3	29
χ^2 值	-	4.340		9.326	
P 值	-	0.037		0.002	

2.2 两组患者治疗前后炎症指标水平比较 两组患者治疗后第 7、14 天复查 WBC、CRP、ESR 水平均呈降低趋势, i-PRF 组较对照组下降趋势更明显, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 见表 3。

表3 两组患者治疗前后 WBC、CRP、ESR 水平比较(n = 40 $\bar{x} \pm s$)

指标	对照组	i-PRF 组	F 值	P 值
WBC($\times 10^9/L$)				
治疗前	12.53 \pm 3.83	12.63 \pm 4.36	0.092	0.763
治疗后 7 d	9.62 \pm 2.97	8.29 \pm 2.60	48.970	<0.001
治疗后 14 d	8.48 \pm 2.62	6.76 \pm 1.67	79.480	<0.001
CRP(mg/L)				
治疗前	16.43 \pm 8.77	17.09 \pm 9.98	0.834	0.367
治疗后 7 d	9.34 \pm 3.96	6.93 \pm 2.44	49.440	<0.001
治疗后 14 d	5.27 \pm 2.77	2.75 \pm 1.59	80.760	<0.001
ESR(mm/h)				
治疗前	46.18 \pm 23.69	47.33 \pm 24.48	3.959	0.054
治疗后 7 d	32.35 \pm 18.29	24.12 \pm 11.52	20.780	<0.001
治疗后 14 d	22.23 \pm 10.52	14.75 \pm 5.77	45.540	<0.001

2.3 两组患者治疗前后创面疼痛程度比较 两组患者治疗后局部疼痛均较前缓解, i-PRF 组患者疼痛缓解程度较对照组明显, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 4。

表4 两组患者治疗前后 NRS 疼痛评分比较(n = 40 $\bar{x} \pm s$)

组别	治疗前	治疗后 7 d	治疗后 14 d	F 值	P 值
对照	5.55 \pm 2.15	4.65 \pm 2.26	3.35 \pm 1.99	38.78 ^b	<0.001 ^b
i-PRF	5.60 \pm 2.19	3.38 \pm 2.03	2.10 \pm 1.37	114.3 ^b	<0.001 ^b
F 值	0.035 ^a	22.25 ^a	45.56 ^a	-	-
P 值	0.852 ^a	<0.001 ^a	<0.001 ^a	-	-

^a表示单独检验分组效应; ^b表示单独检验时间效应

2.4 两组患者治疗后创面新鲜红色肉芽组织覆盖率比较 i-PRF 组治疗后 7、14 d 创面新鲜红色肉芽

组织覆盖率均较对照组高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 见表 5 和图 1、2。

表5 两组患者治疗后创面新鲜红色肉芽组织覆盖率比较(n = 40 $\bar{x} \pm s, \%$)

	治疗后 7 d	治疗后 14 d
对照组	34.25 \pm 14.39	63.49 \pm 17.28
i-PRF	56.82 \pm 16.81	94.45 \pm 5.14
t 值	-6.453	-10.860
P 值	<0.001	<0.001

2.5 创缘组织 HE 染色及免疫组织化学标记对比

i-PRF 组术后第 7、14 天创缘组织新生微血管数高于对照组, 见图 3; VEGF 免疫组化染色呈不同程度黄棕色, i-PRF 组术后第 7、14 天 VEGF 表达较对照组显著, 见图 4。

2.6 两组患者创面达修复标准准备时间及创面愈合时间比较 i-PRF 组患者创面达修复标准准备时间及创面愈合时间均较对照组缩短, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 见表 5。

表5 创面达修复标准准备时间及愈合时间比较[n = 40 $d, n(\%)$]

组别	创面达修复标准准备时间	创面愈合时间
对照	21(7)	36.5(10.75)
i-PRF	14(4)	25.5(9.50)
Z 值	-5.972	-6.717
P 值	<0.001	<0.001

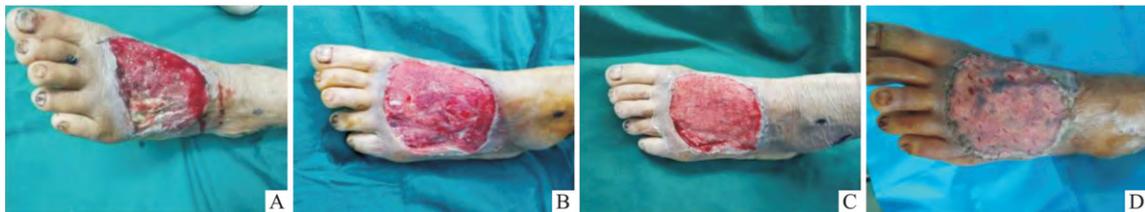


图1 i-PRF 组典型病例

A: 术前; B: 术后第 7 天; C: 术后第 14 天 D: 植皮术后 7 d



图2 对照组典型病例

A: 术前; B: 术后第 7 天; C: 术后第 14 天; D: 术后第 21 天; E: 植皮术后 7 d

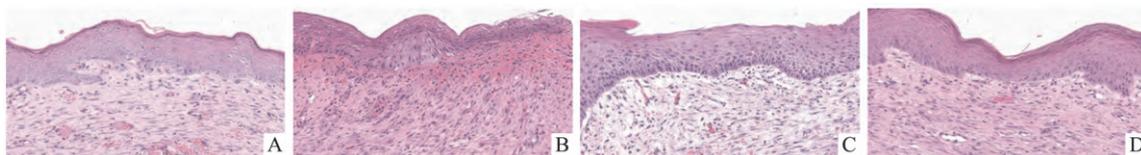


图3 创缘组织 HE 染色 ×400

A: 观察组术后第 7 天; B: 对照组术后第 7 天; C: 观察组术后第 14 天; D: 对照组术后第 14 天

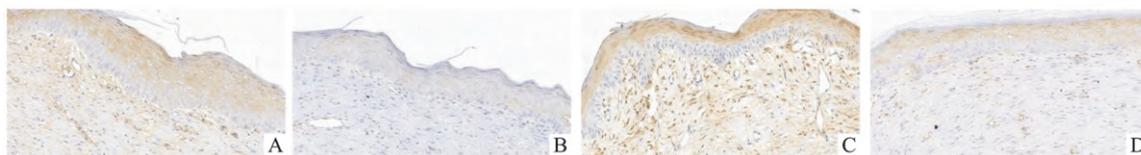


图4 创缘组织免疫组化标记结果 ×400

A: 观察组术后第 7 天; B: 对照组术后第 7 天; C: 观察组术后第 14 天; D: 对照组术后第 14 天

3 讨论

创面愈合过程包括出血、炎症反应、肉芽组织形成和组织重塑四个阶段,是一个动态的、有序的、相互交错的过程,但此过程可能在各种内外因素作用下被破坏,形成病理性炎症反应,最终导致慢性难愈创面。其形成原因复杂,血糖异常、细菌生物膜形成、缺血-再灌注损伤、生长因子缺乏、相关基因表达异常等均会影响创面修复,导致创面迁延不愈^[9]。

创面换药及清创手术等常规治疗方法疗效不佳,VSD技术能将局部坏死组织及分泌物持续引流,减轻局部感染及水肿,为创面创造良好的愈合条件,但创面肉芽组织生长及组织再生需要足够浓度的生长因子、控制细胞过度凋亡、血运重建等条件,VSD技术在这些方面并无优势^[10]。自体血液浓缩物中含有大量的血小板、生长因子、纤维蛋白和白细胞,因其能够加速伤口愈合,促进软硬组织再生,已经在修复和重建领域广泛应用^[5]。i-PRF作为新一代血小板浓缩物,生物活性更高,不含任何添加剂,避免了免疫排斥及过敏反应等问题,通过一次低速离心即可获得,制备过程相对简单,而且具有良好的流动性,可局部注射,增强了局部应用时的可操作性^[3-4,6]。

在本研究中,观察组患者治疗后创面感染控制情况、炎症指标下降程度、新鲜肉芽组织生长情况、局部疼痛缓解程度等方面均较对照组效果显著,表明负压引流技术联合i-PRF治疗慢性难愈创面治疗较单纯应用负压引流技术疗效更佳,分析其机制可能如下:①细菌生物膜的形成是导致创面难愈的重

要因素甚至起决定作用,其可促使细菌耐药,逃避宿主免疫作用和抗生素杀伤,使创面长期处于炎症反应阶段^[10]。因此破坏并消灭创面表面的细菌生物膜至关重要。相关文献^[11]报道i-PRF富含血小板、白细胞、抗菌肽、凝血酶等成分,通过相关通透蛋白、乳铁蛋白、防御素、肝素结合蛋白、磷脂酶A2等活性分子的作用干扰细菌细胞的代谢活性,导致其进入凋亡和坏死阶段,发挥较强的抗细菌生物膜和抗菌活性;②i-PRF包含多种参与炎症调节的细胞因子:肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6、IL-4和VEGF能够调节免疫应答,使促炎和抗炎细胞因子保持动态平衡,增强抗感染能力,促进血管再生,利于创面愈合^[12]。③i-PRF中的血小板被激活,可以释放大量的生长因子,如VEGF、表皮生长因子、成纤维细胞生长因子、转化生长因子- β 、血小板源生长因子和胰岛素样生长因子等,这些活性分子能够刺激参与伤口愈合相关细胞的迁移、增殖与分化,包括中性粒细胞、巨噬细胞、成纤维细胞和间充质干细胞等,同时促进创面愈合各个阶段的血管生成,在组织再生修复过程中发挥着极为重要的作用^[13]。④i-PRF特殊的纤维蛋白立体网状结构,能够附着大量的血小板和生长因子,形成缓释系统,可以延长活性成分在创面中的作用时间;纤维蛋白还能刺激CD11/CD18以及整合素 $\alpha v \beta 3$ 受体的基因表达,促使参与组织再生愈合相关细胞结合到纤维蛋白、玻连蛋白和纤连蛋白,并为这些细胞的附着、迁移与增殖分化提供场所^[14]。⑤VSD技术能及时将创面分泌物及渗液引流,减轻水肿,建立利于创面愈合的液体平衡微环境,与i-PRF相辅相成,加速创面愈合^[10]。

参考文献

- [1] 董 伟,肖玉瑞,吴敏洁,等.中国慢性难愈性创面诊疗思路及原则[J].中华烧伤杂志 2018,34(12):868-73.
- [2] Lalezari S, Lee C J, Borovikova A A, et al. Deconstructing negative pressure wound therapy [J]. *Int Wound J* 2017,14(4):649-57.
- [3] Choukroun J, Ghanaati S. Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept [J]. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2018,44(1):87-95.
- [4] 常尧仁,刘纯,殷丽华.富血小板纤维蛋白衍生物的研究进展[J].华西口腔医学杂志 2019,37(6):660-5.
- [5] 王宁,仲维剑.自体血液浓缩物在组织再生中的应用与作用[J].中国组织工程研究 2021,25(1):146-51.
- [6] Karde P A, Sethi K S, Mahale S A, et al. Comparative evaluation of platelet count and antimicrobial efficacy of injectable platelet-rich fibrin with other platelet concentrates: An *in vitro* study. [J]. *J Indian Soc Periodontol* 2017,21(2):97-101.
- [7] Miron R J, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, et al. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? [J]. *Clin Oral Investig* 2017,21(8):2619-27.
- [8] Hayesa C J, Krebs E E, Hudson T, et al. 阿片剂量递增对疼痛强度的影响:一项回顾性队列研究[J].中国疼痛医学杂志,2020,26(10):721-4.
- [9] 汪新伟,荣洁琳,蒋思静,等.富血小板纤维蛋白在治疗糖尿病兔皮肤溃疡中的实验研究[J].安徽医科大学学报,2017,52(7):983-7.
- [10] Webster J, Liu Z, Norman G, et al. Negative pressure wound therapy for surgical wounds healing by primary closure. [J]. *Cochrane Database Syst Rev* 2019,3:CD009261.
- [11] Jasmine S A T, Janarthanan K, et al. Antimicrobial and antibiofilm potential of injectable platelet rich fibrin—a second-generation platelet concentrate—against biofilm producing oral staphylococcus isolates [J]. *Saudi J Biol Sci* 2020,27(1):41-6.
- [12] Aydinyurt H S, Sancak T, Taskin C, et al. Effects of injectable platelet-rich fibrin in experimental periodontitis in rats [J]. *Odontology* 2020,109(2):422-32.
- [13] 孙涛,和红兵.富血小板纤维蛋白在牙周组织再生中的研究进展[J].口腔医学研究 2020,36(9):808-10.
- [14] 朱卫丽,薛小萍,刘衍春.富血小板纤维蛋白在临床医学中的应用研究进展[J].中国输血杂志 2016,29(5):545-8.

Application of injectable platelet – rich fibrin combined with vacuum sealing drainage technology in the treatment of chronic ulcers

Chen Daocai, Xie Juan, Li Honghong, et al

(Dept of Plastic Surgery, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To investigate the clinical efficacy of injectable platelet-rich fibrin (i-PRF) combined with vacuum sealing drainage (VSD) technology in the treatment of chronic ulcers. **Methods** 80 patients with chronic ulcers were enrolled and randomly divided into control group and i-PRF group. In the control group, ulcers were blocked through the negative pressure drainage after wound debridement, and in the i-PRF group, ulcers were conducted multi-point dispersion injection of i-PRF on the wound surface and around the wound after wound debridement, followed by closed negative pressure drainage treatment. All patients repeated the above treatment in a 7-day cycle, and wounds were repaired after reaching the restore standard. The relevant parameters of the two groups were recorded, evaluated and compared on 7th day and 14th day after treatment, including bacterial culture, leukocyte, C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, fresh granulation tissue growth and NRS score, preparation time for the second-stage repair surgery and the time for complete wound healing. **Results** The inflammation indexes and pain scores decreased in both groups on 7th and 14th day after treatment, while i-PRF group showed a more significant downward trend ($P < 0.05$); i-PRF group had higher coverage of fresh granulation tissue and higher rate of bacterial conversion on 7th and 14th day after surgery, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); i-PRF group had significantly lower preparation time for secondary repair surgery and complete wound healing time than VSD group ($P < 0.05$). **Conclusion** Compared with the single application of VSD technology, i-PRF combined with VSD can play a more effective role in treating chronic wounds, controlling infection, reducing pain, accelerating wound healing and reducing hospitalization time.

Key words injectable platelet-rich fibrin; vacuum sealing drainage; chronic wounds; regional injection