

富血小板血浆结合松质骨移植治疗腕舟骨骨不连的实验研究

刘 星 田利军 邓志刚 郭宇松 张三冰 高金宝

摘 要 **目的** 通过实验研究探讨富血小板血浆结合松质骨移植治疗腕舟骨骨不连的效果。**方法** 健康新西兰大白兔 36 只,随机分为 A、B 两组,每组 18 只,两组建立腕舟骨骨不连动物模型后,A 组为腕舟骨骨不连处植入松质骨治疗,B 组为舟骨骨不连处植入松质结合 PRP 治疗,术后 8 周观察动物一般状况与骨愈合情况。**结果** 术后 A 组骨基质可见且钙盐沉积不明显,B 组骨不连区能够看到诸多新生骨,但新生骨量较 A 组低;术后 8 周 B 组实验侧修复性新骨形成均多于 A 组,对比差异有统计学意义($P < 0.05$)。术后 8 周观察组的软骨总体形态与微形态评分分别为 1.74 ± 0.43 分和 3.20 ± 1.74 分,对照组分别为 3.61 ± 0.56 分和 7.42 ± 1.24 分,观察组明显少于对照组($P < 0.05$)。两组胶原含量在术后都呈现明显上升的趋势,术后 8 周观察组与对照组的胶原含量分别为 $0.24 \pm 0.03 \text{ ng/L}$ 和 $0.17 \pm 0.06 \text{ ng/L}$,观察组明显高于对照组($P < 0.05$)。**结论** 富血小板血浆结合松质骨移植治疗腕舟骨骨不连对骨的再生与修复有明显的促进作用,应用比较方便,有比较好的应用价值。

关键词 富血小板血浆 松质骨 腕舟骨骨不连 软骨 胶原含量

中图分类号 R6 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.02.023

Platelet Rich Plasma Combined with Cancellous Bone Graft in the Treatment of Scaphoid Nonunion Effect. Liu Xing, Tian Lijun, Deng Zhigang, et al. Trauma Section 2 Shijiazhuang Third Hospital, Hebei 050011 China

Abstract **Objective** To investigate the experiment effects of platelet rich plasma combined with cancellous bone graft in the treatment of scaphoid nonunion. **Methods** Thirty-six healthy New Zealand white rabbits were selected and were randomly and equally divided for group A and group B with 18 rats in each group, the two groups were established scaphoid bone nonunion animal model, group A were implantation treated with cancellous bone at scaphoid bone, group B were implantation treated with navicular bone combined with cancellous PrP therapy, postoperative 8 weeks were to observe the general state of animals and bone healing. **Results** The postoperative bone in group A were not even area visible large amounts of new bone, group B were showed that the bone matrix and a small amount of calcium salt deposition, but the new bone was low than the group A; The experimental side repair of bone formation of postoperative 8 weeks in group B were higher than that in group A, the differences were statistical significance($P < 0.05$). The total cartilage morphology and micro morphology scores of the group B were 1.74 ± 0.43 points and 3.20 ± 1.74 points respectively, and the group A were 3.61 ± 0.56 points and 7.42 ± 1.24 points respectively, the group B was significantly less than that of the group A($P < 0.05$). The collagen content in the two groups were showed significant upward trend, The postoperative 8 weeks in the group B and the group A were $0.24 \pm 0.03 \text{ ng/L}$ and $0.17 \pm 0.06 \text{ ng/L}$, the group B was significantly higher than the group A($P < 0.05$). **Conclusion** Rich platelet rich plasma combined with cancellous bone transplantation in the treatment of carpal scaphoid bone nonunion of bone regeneration and repair has significant role in promoting, the application is more convenient that has better application values.

Key words Platelet rich plasma; Cancellous bone; Scaphoid nonunion; Cartilage; Collagen content

骨不连又称骨折不愈合,是指骨折经过治疗,超过通常愈合时间,再度延长治疗,仍未达到愈合。而在骨折修复与愈合过程中,许多维生素、生长因子、激素通过影响成骨细胞的增生、成熟、基质矿化、细胞内

钙自身稳定、高分子合成来影响骨折修复^[1,2]。富含血小板血浆是全血通过浓集和分离后所得血液制品,含有丰富的生长因子,并且具有较高浓度的血小板,在骨折修复等方面具有一定的特殊作用^[3-5]。富含血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)可通过生长因子,例如胰岛素样生长因子(IGF)等起促进骨再生作用,作为生物材料已经被成功应用于相关代谢性骨疾病的治疗,但是其在骨折中实验及临床应用还未见报道,对腕舟骨骨不连的影响也未见研究^[6-8]。本研究

基金项目:河北省医学科学研究基金资助项目(20160777)

作者单位:050011 石家庄市第三医院创伤 2 科(刘星、田利军、邓志刚、郭宇松),手足外科(张三冰、高金宝)

通讯作者:刘星,电子信箱:liuxing085@163.com

建立了腕舟骨骨不连标准模型,并予以应用局部应用 PRP 进行干预,通过对骨不连处行检测分析,以探讨 PRP 对骨折愈合的影响及可能的作用机制,旨在为临床应用提供参考,现报道如下。

材料与方法

1. 研究材料:选择健康新西兰大白兔 36 只,体重 2 ~ 3kg,6 月龄,雌雄不限(动物实验伦理批号 JSX2011492),由笔者医院实验动物中心提供,按清洁级的要求饲养,自由进食水。选择河北博海生物工程有限公司的自体富含血小板血浆,枸橼酸钠分析纯、纤维蛋白胶、抑肽酶都由上海生物工程有限公司提供。

2. 模型建立与分组:将所有大白兔随机分为 A、B 两组,每组 18 只。A 组(对照组)为腕舟骨骨不连处植入松质骨治疗,B 组(观察组)为舟骨骨不连处植入松质结合 PRP 治疗。在 PRP 的制作过程中,在无菌环境中,采用 0.03g/L 戊巴比妥钠耳缘静脉注射麻醉,在兔耳的中央动脉中抽取自体血,量为 5ml,常规抗凝后 10ml 离心管中,500r/min 离心 5min,将上层血浆抽取出,1000r/min 离心 7min,取下层沉淀(血小板浓集液),震荡制成血小板浓缩液。在建立动物模型时,采用 4.0% 戊巴比妥钠 0.5ml/kg 对腹腔进行注射,达到麻醉的目的,在腕舟中段隆起的位置按照纵行方向完成 4cm 的切口,游离腕舟将骨膜及骨间膜切口,以此达到排异反应减少和骨痂生长加快的目的,通过各个兔拥有的自体松质骨完成移植。在兔的髂骨处取自体骨片,湿纱布包好后放置于腕舟骨的骨折处。将离心制成的 PRP 在无菌环境中,通过明胶海绵来完成对浓缩液进行吸附,把它放在骨不连旁,减缓释放与聚集作用。

3. 观察指标:(1)实验 8 周后将空气栓塞法将动物处死,肉眼观察腕舟骨软骨形态的变化。(2)计算机图像分析:应用图像分析系统采集图像并分析,每个标本选取两张 HE 切片,每个切片取 4 个视野,记录新生骨在骨骨不连区所占的面积百分比相比较。(3)软骨评分:切取关节面带少量软骨下骨的全层软骨,制成石蜡切片,行常规 HE 染色,根据 Mankin 评分标准对软骨总体形态与微形态评分进行评分。(4)记录所有大鼠在骨不连愈合过程中胶原含量的变化,采用比色法进行检测。

4. 统计学方法:采用软件 SPSS 14.00 进行分析,通过均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,对比采用重复测量设计的方差分析或者 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计

学意义。

结 果

通过大体标本观察及病理组织学检查显示,A 组与 B 组均显示骨缺损区无骨性连接,为纤维瘢痕组织填充,骨端硬化,表明骨不连模型建立成功。B 组骨不连区具有诸多新生骨,软骨组织明显减少,具有丰富的骨基质,且钙盐沉积现象明显,间填充较少的新生骨和纤维结缔组织。A 组骨基质可见且钙盐沉积不明显,新生骨组织呈现出的是交织状,其量少于 A 组。

计算机图像分析对比显示,随着进度不断推进,新骨越来越多,在判定之后得知,术后 8 周 B 组实验侧修复性新骨形成均多于 A 组,差异有统计学意义($t = 6.983, P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组术后新生骨组织占面积百分数($\bar{x} \pm s$)

组别	n	面积(%)
观察组	18	75.35 $\pm$ 2.95
对照组	18	46.08 $\pm$ 3.10

软骨总体形态与微形态评分对比显示,经过评定,术后 8 周观察组的软骨总体形态与微形态评分分别为 1.74 $\pm$ 0.43 分和 3.20 $\pm$ 1.74 分,对照组分别为 3.61 $\pm$ 0.56 分和 7.42 $\pm$ 1.24 分,观察组明显少于对照组($P < 0.05$)。经过测定,两组胶原含量在术后都呈现明显上升的趋势,术后 8 周观察组与对照组的胶原含量分别为 0.24 $\pm$ 0.03ng/L 和 0.17 $\pm$ 0.06ng/L,观察组明显高于对照组($t = 3.181, P < 0.05$)。

讨 论

腕舟骨骨不连当前在临床上逐渐多见,具体发病机制还未明确,如今针对腕舟骨骨不连的治疗上,无论手术还是药物都只能具体症状具体处理,然而难以从病因上进行治疗,导致预后比较差^[9]。如今骨组织工程技术不断提高,在组织工程骨中生长因子越来越重要。众所周知,在骨不连部位,血小板启动了复杂愈合过程,血小板能发挥生理性止血,释放大量生物活性蛋白介导受伤部位细胞,在受伤部位通过调制被激活,刺激它们清理伤口和形成新组织^[10,11]。PRP 是利用全血经过一定设备分离得到的血制品,被激活后形成凝胶状,含有少量红细胞和高浓度血小板^[12]。PRP 中还含有较高浓度的生长因子,对骨的修复和再生具有重要作用。

相关研究表明,PRP 可以诱导骨再生,可以促进

骨和上皮组织的生长愈合,也可加快伤口的自然愈合过程,对促进细胞黏附、防止细胞流失也有一定作用^[13,14]。本研究显示,术后 A 组骨基质可见且钙盐沉积不明显,B 组骨不连区能够看到诸多新生骨,但新生骨量较 A 组低;术后 8 周 B 组实验侧修复性新骨形成均多于 A 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。说明 PRP 与松质骨一起植入骨不连区能促进骨的愈合,加速骨的形成。

在 PRP 当中,生长因子具有较高的浓度,如血管内皮生长因子(VEGF)、转移生长因子- β 等,具有促进组织愈合再生的功能^[15,16]。特别是通过 PRP + 松质骨组成的组织工程骨材料,由于其具体的操作,没有免疫原性,所以制备过程比较简单,成骨效果明确^[17]。本实验的动物模型的建立,以最贴近临床应用条件为目的,植骨没有用异体骨或者人工骨,而是在无菌环境中选择血小板浓缩液及自体骨进行操作。本研究显示,术后 8 周观察组的软骨总体形态与微形态评分观察组明显少于对照组($P < 0.05$),提示 PRP 能从组织学水平上改善兔软骨的损伤进程。从机制上分析,可能会激活从周围正常软骨产生的多行软骨细胞,从而实现软骨的修复;一旦血小板被激活,这些生长因子缓慢释放并参与软骨修复过程^[18]。然而部分研究者通过研究指出,关于骨修复与再生 PRP 并没有显著的促进作用,只是得出 PRP 对骨的再生与修复的作用有时间依赖性的结论^[19]。本研究显示两组胶原含量在术后都呈现明显上升的趋势,术后 8 周观察组与对照组的胶原含量分别为 $0.24 \pm 0.03 \text{ ng/L}$ 和 $0.17 \pm 0.06 \text{ ng/L}$,观察组明显高于对照组($P < 0.05$),说明 PRP 对骨的再生与修复具有促进作用。但本研究样本量偏小,没有对关节滑液进行分析,没有从 PRP 不同浓度上进行比较,将在今后进行深入分析。

总之,富血小板血浆结合松质骨移植治疗腕舟骨骨不连对骨的再生与修复有明显的促进作用,应用比较方便,拥有较好的应用价值。

参考文献

- 徐立明,石法亮,王仁款,等.腕舟骨骨不连手术治疗 16 例临床分析[J].国际医药卫生导报,2015,21(7):927-930
- Yüksel S, Guleç MA, Gultekin MZ, *et al.* Comparison of the early - period effects of bone marrow - derived mesenchymal stem cells and platelet - rich plasma on achilles tendon ruptures in rats[J]. Connect Tissue Res,2016,6(18):221-227
- 王涛.接骨药丸联合桡骨茎突切除植骨螺钉内固定治疗腕舟骨骨不连研究[J].按摩与康复医学,2015,6(16):17-19

- 侯靖钊,包洪卫,肖海祥,等.骨髓 PRP 关节腔内注射治疗膝骨性关节炎效果观察[J].交通医学,2016,30(1):73-75
- 许金樱,徐肖俊.富血小板血浆配合骨性关节炎方治疗膝骨性关节炎 50 例临床观察[J].浙江中医杂志,2016,51(3):193
- 潘龙,徐剑炜.猪富血小板血浆冻干粉细胞因子释放的研究[J].中华实验外科杂志,2016,33(3):620-623
- Gomes - Ferreira PH, Okamoto R, Ferreira S, *et al.* Scientific evidence on the use of recombinant human bone morphogenetic protein - 2(rhBMP-2) in oral and maxillofacial surgery[J]. Oral Maxillofac Surg,2016,6(19):33-38
- 郑健生,胡君玲,陈文,等.富血小板血浆对猪自体移植皮片成活和生长的影响[J].中华烧伤杂志,2016,32(2):112-116
- 金泉,武培彪.混合浓缩血小板与单采血小板质量比较分析[J].中国输血杂志,2016,29(1):90-91
- Avila - Ortiz G, Bartold PM, Giannobile W, *et al.* Biologics and cell therapy tissue engineering approaches for the management of the edentulous maxilla: a systematic review[J]. Int J Oral Maxillofac Implants,2016,31(Suppl):121-128
- 陈志军,杨彪,张大华.PRPP 联合闭合复位空心螺钉内固定治疗股骨颈骨折[J].局解手术学杂志,2016,25(3):195-198
- 张钰,林尊文,刘明军,等.桡骨骨膜瓣移植重建舟骨血运在舟骨骨不连手术中的应用[J].中华骨科杂志,2016,21(3):136-142
- LaPrade RF, Dragoo JL, Koh JL, *et al.* AAOS research symposium updates and consensus: biologic treatment of orthopaedic injuries[J]. J Am Acad Orthop Surg,2016,5(24):113-119
- Lyras DN, Kazakos K, Tilkeridis K, *et al.* Temporal and spatial expression of TGF - β 1 in the early phase of patellar tendon healing after application of platelet rich plasma[J]. Arch Bone Jt Surg,2016,4(2):156-160
- Doiphode AM, Hegde P, Mahindra U, *et al.* Evaluation of the efficacy of platelet - rich plasma and platelet - rich fibrin in alveolar defects after removal of impacted bilateral mandibular third molars[J]. J Int Soc Prev Community Dent,2016,6(Suppl 1):47-52
- 牛常英,谭慎兴,曹哲,等.逆行桡动脉返支的桡骨茎突骨膜瓣移植转位修复腕舟骨陈旧性骨折[J].潍坊医学院学报,2015,37(5):341-343
- 刘瑞祥,梁海,王义平,等.腕舟骨骨折应用带血管筋膜蒂桡骨茎突骨瓣转位植入治疗的临床观察[J].实用手外科杂志,2015,29(2):166-167
- Schroeder CC, Scariot JS, Ribeiro JC, *et al.* Platelet rich plasma (PRP) produces an atherofibrotic histophenotype during craniofacial bone repair due to changes of immunohistochemical expression of Erk1/2, p38 α / β , adiponectin and elevated presence of cells exhibiting B - scavenger receptor (CD36⁺) [J]. Braz Dent J,2016,27(3):243-254
- 张杰,王振继,王鹏伟,等.自体富血小板血浆凝胶联合游离超薄穿支皮瓣移植修复手足创面对患者预后及血清促红细胞生成素的影响[J].医疗装备,2016,29(3):166-167

(收稿日期:2016-06-13)

(修回日期:2016-07-05)