



应用人自体富血小板纤维蛋白基质于拔牙创愈合后的定量评估

Quantitative Evaluation of Extraction Socket Healing Following the Use of Autologous Platelet-Rich Fibrin Matrix in Humans

Barry I.Simon, Priyu Gupta, Shereen Tajbakhsh

原载 Int J Periodontics Restorative Dent. 2011; 31: 285-295. (英文)

陈欣骥 译 林敏魁 闫福华 审

摘要

富血小板纤维蛋白基质 (PRFM) 是一种通过离心血液获得的自体生物材料。本研究对 21 例应用 PRFM 植入拔牙创治疗后牙槽嵴的变化进行定量分析。对拔牙后, 植入 PRFM 后及术后 4 个月的牙槽嵴宽度和高度采用标准化测量。嵴顶根方 3mm、5mm 处牙槽嵴宽度平均骨吸收分别为 0.32mm (4.71%) 和 0.57mm (7.38%), 高度平均骨吸收 0.67mm (7.13%)。植入 PRFM 的位点临床愈合较快, 极少有组织瓣开裂, 骨密度较高。同引导骨组织再生技术相比, 单纯应用 PRFM 缩短了手术时间, 无须膜的操作, 克服了膜应用潜在的问题, 并降低了骨吸收。

患者拔牙后应用引导骨组织再生术 (GBR) 是目前局部牙槽嵴保存和再生最常用的治疗方案。通常, GBR 技术应用屏障膜及无活性商品化的骨替代材料或自体骨移植材料。由于骨移植材料的惰性与血供不足, 膜的移位或暴露, 黏骨膜瓣的设计缺陷, 外科手术和缝合技术的要求高, GBR 术后愈合往往欠佳。随着创伤愈合方面知识的更新, 新技术已经可克服无活性材料的缺陷, 从而发挥更积极的作用, 其中富血小板血浆 (PRP) 已显示了良好的应用前景。

PRP 是一种由患者血液离心而获得的自体浓缩血小板、血浆制备物。关于其在牙周和口腔外科方面

的应用, 已有相当多的报道。尽管很多相关研究对其作用有着正面的报道, 但由于实验设计、PRP 制备方法、组织愈合量化分析方法以及移植材料的使用等因素的不同, 也有一些动物实验和人体试验的结果无法证明 PRP 的良好效果。

支持应用 PRP 的研究认为 PRP 含有多种自体生长因子。PRP 中的血小板含有的颗粒激活时可以释放多种生长与分化因子 (表 1)。这些生长因子通常在创伤愈合时释放, 调节如细胞增殖、分化、趋化, 胞外基质合成以及组织器官的形态发生等。因此, 如果在创伤愈合开始的时候通过应用 PRP, 在局部释放较高浓度的生长因子, 有望促进创伤的加速愈合。

PRP 可促进成纤维细胞的增殖和骨组织修复,

译者单位 福建医科大学附属口腔医院
福建省福州市鼓楼区杨桥中路 246 号 350002

表1 PRFM中的血小板所含生长因子

生长因子	靶细胞/组织	功能
PD-EGF	血管细胞, 表皮细胞 成纤维细胞及很多其他类型的细胞	细胞生长, 募集反应 分化, 皮肤融合 细胞因子分泌
PDGF, A+B	成纤维细胞, 平滑肌细胞, 成骨细胞, 间充质干细胞	促进细胞生长, 募集反应 血管细胞生长, 肉芽形成 分泌生长因子, 与骨形态发生蛋白共同作用下 促进基质形成(胶原与骨)
TGF- β 1	血管组织, 表皮细胞 成纤维细胞, 单核细胞 转化生长因子基因家族(包括BMPs) 成骨细胞(最高浓度的TGF- β 1)	血管(+/-), 胶原合成 抑制生长, 凋亡(细胞死亡) 分化, 激活
IGF-1,2	骨, 血管, 皮肤, 其他组织 成纤维细胞	细胞生长, 分化, 募集 与PDGF共同作用下胶原合成
VEGF/ECGF	血管细胞	细胞生长, 迁移, 新生血管形成, 抗吞噬作用(抵抗细胞死亡)
bFGF	血管, 平滑肌, 皮肤 成纤维细胞, 其他细胞类型	细胞生长 细胞迁移, 血管生长

PRFM: 富血小板血浆纤维蛋白基质; PD-EGF: 血小板衍生表皮因子; PDGF: 血小板源性生长因子; TGF- β 1: 转化生长因子 β 1; IGF: 胰岛素样生长因子; VEGF/ECGF: 血管内皮生长因子; bFGF: 碱性成纤维细胞生长因子

提高组织血管化和胶原形成, 以及间充质干细胞与成骨细胞的有丝分裂。假设PRP可释放生长因子, 那么在牙槽嵴保存术中, 使用PRP应该比使用无生物活性的移植材料获得更好的创口愈合。为了检验这个假说, 我们曾以犬作为实验动物, 分别应用PRFM(自体浓缩富血小板脱凝血酶纤维凝胶)与常规GBR技术(脱钙冷冻干燥骨粉与可吸收胶原膜), 进行组织学与组织计量学研究, 观察评估术后10d, 2、3、6、12周时4只杂种犬拔牙创愈合情况。PRFM由全血两次离心获得。第一步离心从红细胞、白细胞中分离出富血小板血浆与血小板血浆。第二步将富血小板血浆和血小板血浆离心获得含有活性血小板的纤维基质。

术后2周, PRFM治疗组牙槽窝中可见排列有序的连接组织, 新骨自边缘向中心生长。术后6周, 牙槽窝已完全被骨充满。而应用DFDBA和胶原膜的治疗组愈合相对缓慢。术后3周时, GBR治疗组牙槽窝中为无活性的DFDBA颗粒, 炎症组织浸润, 边缘未发现新生骨。12周时, GBR治疗组仍可见炎症组织包绕的颗粒状骨, 牙槽窝的上2/3为少量结缔组

织, 下1/3有新骨形成。这时, DFDBA治疗组中出现的薄的牙槽嵴骨吸收情况并未在PRFM治疗组中观察到。

显然, 至少在犬实验中, 单独应用PRFM植入牙槽窝中相比移植DFDBA, 拔牙创可能获得更快的愈合及更少的骨吸收。因此, 我们设计了相关的临床试验, 定量测定临床牙槽嵴保存治疗时, 单独植入PRFM是否有类似结果。

1 方法与材料

本研究共计纳入21名因后期需要种植治疗而要求拔牙及GBR治疗的患者(女性12人, 男性9人, 年龄范围24~63岁)。机构审查委员会批准该研究计划。患者知情同意后纳入研究之中。排除标准包括患有已知的影响伤口愈合的危险因素, 如糖尿病与吸烟, 服用损害血小板功能药物的患者, 怀孕妇女以及免疫功能障碍者。

患者都接受了标准化的诊断性检查, 包括根尖X线片, 研究模型, 临床照片, 并且进行牙体与牙周的临床评估。在拔牙与植入手术之前, 所有必要的

辅助治疗都已完成。

为了能够做到标准化测量，我们特制了一个真空压模的支架，用以测量嵴顶根方3mm和5mm处的宽度，制作了一个丙烯酸支架用以测量牙槽嵴的高度。这些依靠在拔牙区邻牙咬合面稳定的支架，由于具有固定的参考标志，所以可以保证测量的标准化。这些支架考虑到重复测量的需要，都制作了3个分界线，分别在拔牙窝的中点及近、远中3mm处。

1.1 检测

所有测量由一个人完成。收集的测量数据包括3个特定时间点牙槽嵴的高度和宽度：①拔牙后即刻测量；②植入PRFM后；③术后4个月。牙槽嵴高度可通过将专用的牙周探针垂直于测量高度的支架，并穿过支架上的3个分界刻度进行分别测量。该探针触及到牙槽嵴腭侧的最冠方。测量值以毫米为单位记录在支架的冠边缘。

牙槽嵴宽度的测量使用一个嵴测量器，专门用于测量牙槽嵴顶根方3mm和5mm处的宽度。宽度的尺寸取决于嵴测量器的两个尖端打开的大小，电子游标卡尺以1/10mm为单位记录。为保证最大限度的可重复性，嵴测量器的平行于鼻翼耳屏线，在3个测量点插入支架的分界线刻度处。

1.2 外科手术过程

抽取9ml的静脉血，收集于含有枸橼酸钠和专用的摇溶分离凝胶的试管中。以1100g离心力离心6min。这种分离剂可将血浆与血小板分离至上清中，而把红细胞留在试管底部（图1）。这种分离状态可在试管中稳定地维持1h以上。

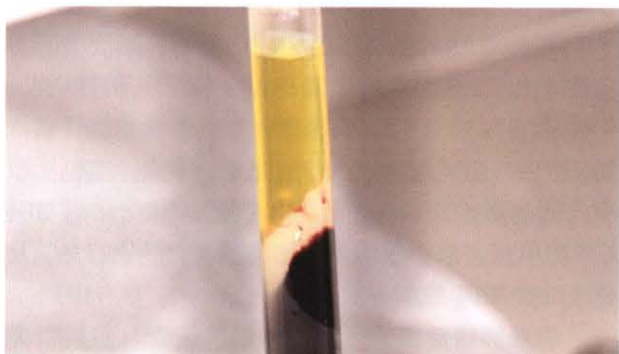


图1 首次离心后试管内收集物

局麻下（2%利多卡因，含1:50 000的肾上腺素）翻起颊舌侧全厚瓣（图2），微创拔牙及牙槽窝清创后（图3），拔牙窝分成5个等级（表2）。

拔牙后，收集试管中的上清液转移至另一个含有氯化钙的试管中（图4）。转移的上清中含有PRP（含有完整的血小板）与血浆蛋白（特别是纤维蛋白原/纤维蛋白）。该试管以1 450g离心15min。与此同时，我们可放置支架开始首次牙槽骨宽度与高度的测量。第二次离心后，取出PRFM移植体（图5）



图2 翻起颊舌侧全厚瓣，暴露牙槽嵴

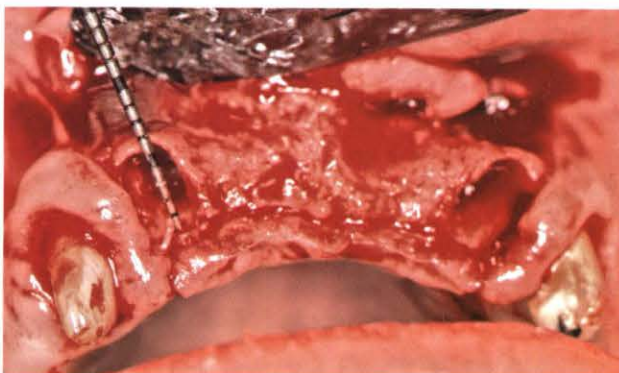


图3 拔牙后颊面观

表2 拔牙窝分级*

I级	牙槽窝中四面骨壁均存在
II级	存在三面完整的骨壁，第四面骨壁冠1/2缺失
III级	存在三面完整的骨壁，第四面骨壁完全缺失
IV级	一面完整的骨壁，其余三面部分或完全缺失
V级	所有骨壁部分或有些骨壁完全缺失

* 根据拔牙后剩余的骨壁分级



图4 上清转移至二次离心试管

立即植入拔牙窝中(图6)。若对于非I级的拔牙窝,用PRFM植入后并重建缺失的骨壁,再次使用支架进行第2次测量,随后用4-0的Teflon缝线严密缝合组织瓣。

术后处理包括应用全身性抗生素10d(阿莫西林,500mg,3/d),含0.12%氯己定葡萄糖酸的漱口液(2/d),布洛芬(400mg,痛时服用),术后14d拆线,4~6周时检查软组织愈合情况与口腔卫生。



图5 自二次离心试管中取出的PRFM

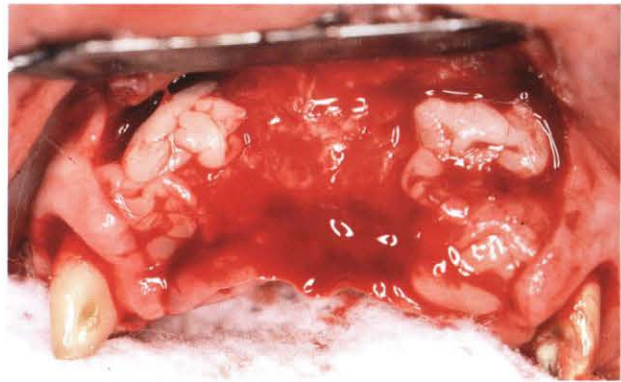


图6 PRFM 植入拔牙窝

4个月后,使用支架进行第3次测量(图7)。牙种植体按照制造商的说明植入(图8),同样给予全身性抗生素10d(阿莫西林,500mg,3/d),含0.12%氯己定葡萄糖酸的口腔漱口液(2/d),布洛芬(400mg,痛时服用)。所有患者的术后回访时间都与首次手术的时间间隔相一致。

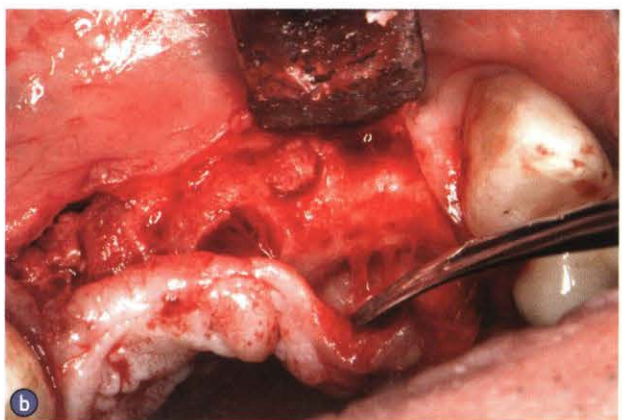
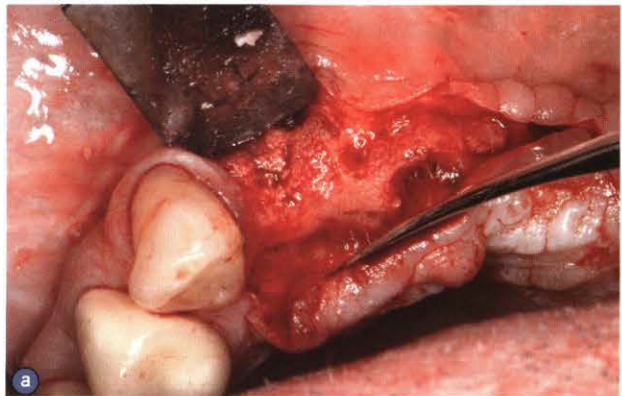


图7 愈合4个月的拔牙窝

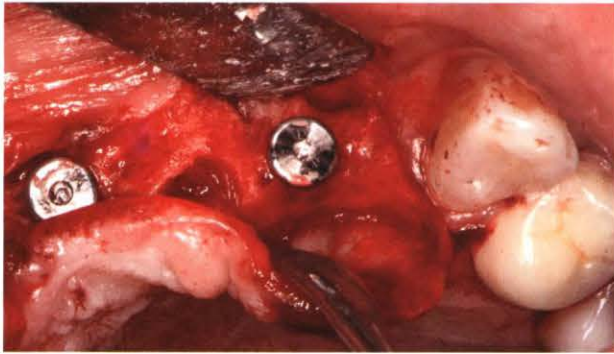


图8 依照制造商说明书植入种植体

1.3 统计学分析

拔牙时, 植入PRFM时及愈后4个月所测量的数据用重复测量方差分析和配对 *t* 检验进行比较。拔牙时与植入PRFM时测量数据的差值为拔牙窝扩增的量。植入PRFM时与愈后4个月测量数据的差值为这4个月中牙槽嵴宽度和高度吸收的量。由于近中、中点、远中3个测量点所获数据差别很小, 故合在一起作为各个时间点测量的数据使用。

2 结果

本研究的结果来自于21名患者的21个牙位。6颗磨牙, 其余15颗非磨牙。5颗磨牙分级为I级, 1颗II级。15颗非磨牙中8颗为I级, 5颗II级, 2颗III级。所有拔牙创软组织愈合都很快。整个愈合过程未发现感染及其他不利于愈合的组织反应。仅有3例手术区域第1周出现组织瓣轻微的开裂, 第2周即完全被上皮组织覆盖。其余18例直至术后4个月植入种植体时, 组织瓣都保持紧密结合。曾经开裂的位点和未曾开裂的位点相比较, 牙槽嵴宽度和高度变化无明显差别。

2.1 宽度

如表3所示, 把分级为I级, II级, III级的

拔牙位点测量数据混合在一起统计时, 嵴顶根方3mm处的拔牙时平均宽度为6.79mm, 植入种植体时(愈后4个月)为6.47mm, 愈合期间牙槽骨宽度有0.32mm(4.71%)的微小吸收, 差别具有统计学意义($P < 0.05$)。

嵴顶根方5mm处的平均宽度拔牙时为7.72mm, 植入种植体时为7.15mm, 这意味着在4个月的愈合期间, 牙槽嵴的宽度有0.57mm(7.38%)的丧失, 也具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 高度

拔牙时的混合后平均高度与种植时相比, 牙槽嵴高度降低了0.67mm(表3), 与术前的高度相比下降了7.13%, 具有统计学意义($P < 0.014$)。

2.3 拔牙创各分级牙槽嵴高度与宽度净增加/丧失

表4比较了I级, II级, III级牙槽窝宽度与高度的测量值。本研究中, I级13例, II级6例, III级2例。II级和III级的数量很少, 无法进行有效的统计学评价。然而, 数据提示我们, 拔牙后剩余的骨壁越多, 愈合期间发生的骨丧失越少。惟一有统计学意义的比较是嵴顶根方5mm处的宽度测量值, I级平均骨丧失仅为0.16mm(2.04%), 与各级混合统计的骨丧失平均值0.57mm(7.38%)相比有显著性差异。

3 讨论

PRFM是一种有活性的、生物相容性优良的自体生物材料, 可被单独用于牙槽嵴保存, 同时其可刺激骨快速长入牙槽窝。本研究发现, 术后4个月, 牙槽窝中已充满成熟的骨, 并未发现明显的黏膜内陷。愈合期间, 牙槽嵴的大小基本没有明显的变化, 宽度和高度的减少虽然微小, 但具有统计学意义。

本研究中牙槽嵴高度和宽度的变化与使用生物

表3 拔牙时、植入PRFM以及植入种植体时牙槽嵴形态变化值(mm)

尺寸	拔牙时	植入PRFM时	差值(拔牙时与植入PRFM时)	植入种植体时	差值(拔牙时与植入种植体时)	与拔牙时变化的百分比
高度	9.39	8.48	0.9	8.72	-0.67	-7.13%
宽度(3mm)	6.79	9.12	2.33	6.47	-0.32	-4.71%
宽度(5mm)	7.72	9.44	1.72	7.15	-0.57	-7.38%

表4 拔牙窝愈合后宽度与高度变化净值 (mm) 及百分比

	混合统计		I 级		II 级		III 级	
	净差值	差值 %	净差值	差值 %	净差值	差值 %	净差值	差值 %
高度	-0.67	-7.13	-0.68	-6.96	-0.93	-11.23	-0.5	-5.33
宽度 (3mm)	-0.32	-4.71	-0.29	-4.05	-0.96	-14.80	1	21.23
宽度 (5mm)	-0.57	-7.38	-0.16	-2.04	-1.48	-17.82	0.3	4.9

可吸收膜或膜与移植材料联合应用相比,在保持牙槽形态方面结果更为理想。Lekovic 等人的试验中,使用可吸收的生物膜对 I 级拔牙窝实施牙槽嵴保存术 4~6 个月后,平均牙槽嵴宽度减小 1.31mm (17.79%),高度减低 0.38mm (11.59%)。Lasella 等人最近的研究表明,使用 DFDBA 与胶原膜治疗拔牙窝缺损,术后牙槽嵴平均宽度减小 1.2mm (13.04%)。其他的研究结果显示 GBR 手术后宽度和高度的减低甚至更大。尽管这些研究使用不同的方法,无法直接比较,但至少表明以 PRFM 为移植物进行牙槽嵴保存术时,比单独应用膜或膜与移植物联合应用更为有效 (表 4)。

由于 PRFM 具有刺激正常生理功能的作用,可加速组织再生,因此,良好的骨与软组织反应是毋庸置疑的。如表 1 中所描述的,PRFM 中有活力的血小板含有的内生性生长因子,可影响软组织与骨组织愈合,我们需要这些生长因子存在于软硬组织再生的整个过程,并发挥作用。Leitner 等人的一项研究检测了 4 种 PRP 制备品,其中也包括 PRFM,结果表明,各种 PRP 都可在 5d 内持续释放生长因子。然而,该试验只检测了 PDGF 一项,有可能是其他内生性生长因子在这 5d 里已无法检测出。

Leitner 等人的研究由于方法学方面的原因,结果不够可靠。首先,他们没有遵从制造商的说明书关于首次离心的速度与时间的要求 (1 000g, 15min vs 制造商指导 1 100g, 6min),增加的时间与轻微降低的转速/分钟有可能对血小板获得产生不利的影响。其次,其实验中的所有系统都是首次离心后测量,这改变了血小板每单位体积的浓度,而 PRFM 应该二次离心后才能完全浓缩血小板 (首次离心后浓度为 2 倍,第 2 次离心后血小板浓度为 4 倍)。最后,该研究中首次离心后,没有用外源性的活化物质激活浓缩的血小板。除了 PRFM 以外,所有 PRP 制备品在用

于口腔治疗中应使用外源性的活化物质激活形成凝胶状。因此,该研究中 PDGF-AB 的测量值既不存在于已活化的 3 种 PRP 制备品中,也不存在于二次离心后的 PRFM 中,不具有实际意义。

创伤愈合中,大多数 PRP 制备系统使用的外源性激活物致血小板释放生长因子的时间长度很关键。O'Connell 和 Carroll 应用流式细胞技术证明:以牛凝血酶作为血小板的外源性激活物,可立刻导致血小板脱颗粒而崩解。接着所有的生长因子立刻完全释放出来,由于创伤的愈合整个过程都存在血管与细胞不断的生长,血小板颗粒中的生长因子短暂、几乎完全的释放对愈合后期几乎没有作用。

相反,PRFM 可持续释放生长因子。Carroll 等人体外研究结果表明:血小板中的生长因子可连续释放 7d,6 种来自 PRFM 中的生长因子在第 7 天结束时释放的浓度和实验开始时几乎没差别。因此,我们有理由推测运用 PRFM 的伤口处生长因子持续释放,可能 7d 以后才会下降消失。

大多数 PRP 制品在首次离心分离全血时分成 3 个部分:血细胞 (白细胞与红细胞) 层,富血小板层 (PRP),贫血小板层 (PPP)。富血小板层在加入外源性激活物或患者全血时,会转化成凝胶状物质。在有些制备系统中,PPP 与氯化钙、凝血酶要求一起加入 PRP,从而得到更加坚固的凝块。在 PRFM 的制备中,血细胞层从血小板血浆层中被分离出来,PRP 和 PPP 层在第二次更快更长的离心后通过再钙化得到。在第二次离心中,纤维蛋白发生交联化,形成致密的纤维蛋白基质,内含具有生物活性的血小板。交联化也使凝块更稳定,并防止收缩,产生的黏状物可抵抗移位,维持空间的稳定性;还可防止软组织侵入。另外,纤维蛋白可作为内皮细胞,成骨细胞及其他组织修复细胞植入的支架。愈合开始时存在这种有序的纤维蛋白基质和其他一般的血凝块相

比,血管进入伤口的速度大大提高,骨形成细胞也能更快地进入伤口开始形成新骨。而一般伤口愈合则需要更长的时间来形成纤维蛋白与血管化。

在牙槽嵴保存术时单独应用 PRFM 还有一个优点,即不需要放置和拆除覆盖的膜,也不必加入其他无生物活性的移植材料。不需要使用膜材料,就可缩短手术时间,降低手术难度,消除了膜移位、膜暴露、组织感染等并发症。而很多研究已报道应用无生物活性的移植材料会延长愈合时间。

本研究中,PRFM 的加入是否会增加拔牙窝的牙槽骨还无法预计。尽管黏稠的 PRFM 可避免移位,但仍需要考虑组织瓣严密缝合的压力。从 PRFM 用于治疗慢性下肢溃疡的研究我们了解到:提高第二次离心的速度与时间可获得浓度更高的膜样纤维蛋白基质,其质地与黏稠度可满足增加牙槽骨的要求。另一种增加拔牙窝的牙槽骨方法可用 PRFM 与具有生物相容性的、骨传导支架材料如磷酸三钙、硫酸钙或可吸收羟基磷灰石等联合应用。

隆重推出口腔种植的“金标准”丛书——“国际口腔种植学会(ITI)口腔种植临床指南”

中国医学科学院 北京协和医院口腔种植中心主任 宿玉成(教授)译



第一卷:《美学区种植治疗 - 单颗牙缺失的种植修复》

在所有的口腔种植文献中,本书是唯一的一部以临床证据为依据,全面论述美学区单颗牙缺失种植的临床专著。本书提出并详细论述了美学区种植的治疗原则、十二项风险因素与控制原则、标准的种植外科与种植修复的临床操作程序、引导骨再生以及骨和软组织增量的原则与技术、种植美学并发症的病因及处理等重要方面。本书以 819 幅图片、16 个表格、19 个完整病例,全面展现了美学区单颗牙种植的临床过程、设计原则、治疗程序、操作技术和完美的治疗效果、并发症处理,是口腔医学和牙种植学的经典之作。



第二卷:《牙种植学的负荷方案 - 牙列缺损患者的种植修复》

在所有的口腔种植文献中,本书是唯一的一部以临床证据为依据,全面论述种植体负荷方案的临床专著,尤其注重于牙列缺损病例的种植负荷方案。本书提出并详细论述了种植体负荷方案的分类与原则(即刻修复/负荷,早期修复/负荷,常规负荷,延期负荷)、适应证与并发症、风险因素与控制原则等重要方面。本书以 452 幅图片、10 个表格、16 个完整病例,全面展现了牙列缺损患者牙种植的临床过程、负荷方案、修复程序、操作技术和完美的治疗效果,是口腔医学和牙种植学的经典之作。



第三卷:《拔牙位点种植 - 各种方案》

在所有的口腔种植文献中,本书是唯一的一部以临床证据为依据,全面论述种植体植入时机的临床专著。本书提出并详细论述了拔牙窝愈合过程的最新研究进展、牙槽窝愈合后的牙槽嵴变化、种植体植入时机的分类与原则(即刻种植、I型种植,早期种植;II型和III型种植,延期种植;IV型种植)、优缺点、种植体周围骨缺损间隙的愈合方式和增量技术、各种种植时机的风险因素与控制原则、各种种植方案的种植外科与种植修复的临床操作程序、美学并发症的病因及处理等重要方面。本书以 543 幅图片、20 个表格、21 个完整病例,全面展现了各种种植方案的临床过程、治疗程序、操作技术和完美的治疗效果、并发症处理,是口腔医学和牙种植学的经典之作。



第四卷:《牙种植学的负荷方案 - 牙列缺失患者的种植修复》

本书将基于不同的种植体负荷方案(即刻修复/负荷,早期修复/负荷,常规负荷,延期负荷),图文并茂地全面展现牙列缺失患者的牙种植临床过程、负荷方案、修复程序、操作技术、适应证与并发症、风险因素与控制原则和完美的治疗效果,是口腔医学和牙种植学的经典之作。

定价:320元(第一卷),280元(第二卷),300元(第三卷),300元(第四卷)

本书由于印量少(仅印刷1000套),且不在书店销售,因此欲购从速。