

富血小板血浆在眼科疾病治疗中的进展

宋殊琪 吴真真 黄蒂 李晓娟 魏斌
武警北京市总队医院 北京 100027

摘要:富血小板离心血浆(platelet-rich plasma, PRP)是指将全血通过离心而提取分离出的一种含有大量血小板的血浆浓缩物。被离心激活后的血浆可在人体内产生生长因子及细胞因子等多种生物活性物质。近年来国外将富血小板血浆广泛地应用于治疗各种眼表及退行性视网膜疾病,为很多具有难治性眼部疾病患者提供了治疗希望。但国内有关研究的报道相对较少。本文就PRP的来源、生物学机理及特性、制备方法、组成化学成分及其在眼科的最新技术研究进展等方面做一个详细综述。

关键词:富血小板血浆,生长因子;眼科疾病;进展

富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)是离心自体血液后分离出的一种富血小板浓缩物,即相当于血小板平均浓度至少2倍以上基础值的血浆。早期研究发现用于治疗血小板减少症^[1]。PRP来源于机体自身,无增加免疫排斥及传播多种疾病的风险。经激活可直接产生多种生长因子及细胞因子^[2]。协同参与并促进细胞分裂、分化,加速组织的再生与修复,此外还有抗炎、抑菌、减轻疼痛等多种治疗作用^[3]。近年来,prp一直是研究的热点,并被广泛应用于骨科、烧伤整形、神经外科等多种临床学科。而PRP在眼科的临床应用也越来越广泛。如治疗神经营养性角膜炎、角膜碱烧伤、干眼症、眼表角膜基质层的修复、视网膜色素变性等。本文就近年来PRP在眼科临床领域的应用和研究进展情况综述如下。

1 PRP的成分及生物学特性

PRP的主要成分是高浓度的血小板,是正常血小板浓度的4~8倍^[4]。此外还含有大量蛋白质、凝血因子等。其中这些蛋白质可直接产生上千种有利于组织再生和修复的生物活性物质。

PRP中的血小板被白介素激活后发生血小板脱颗粒作用,产生的大量生长因子、细胞因子转化为活性细胞状态。同时PRP可在靶细胞形成纤维蛋白质和细胞支架,通过内分泌等多种调节方式广泛作用于靶细胞,促进其相关细胞的基因表达,合成组织修复再生所需要的纤维蛋白质,增强组织修复再生的能力。主要的因子包括血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor,

EGF)、白介素-8(interleukin-8)^[5]等。

经临床研究,成人的骨髓基质干细胞、成骨细胞、成纤维细胞、及表皮细胞所表达的PRP中含有许多相关的生长因子受体。这些生长因子受体可以通过反向作用诱导内源性的细胞内信号蛋白活性,引起细胞增殖、血管生成、胶原合成等,从而有效地使富血小板血浆细胞可以正常发挥其功能。PRP中含多种高浓度的白细胞,参与机体的免疫反应和防御机制。这些白细胞通常可以迅速清除机体局部的病原体,增强机体抗感的染能力。如中性粒细胞在炎症反应因子趋化作用下,吞噬局部细菌,并通过产生大量的过氧化物和超氧化物来迅速杀灭病原体,而高浓度的单核细胞则通过释放干扰素和白细胞活性介素从而增强了创面愈合和抗细菌感染的的能力^[6]。与此同时白细胞可以清除局部已经坏死的组织、加快损伤组织的愈合和修复。Bielecki等^[7]发现PRP凝胶可以有效抑制体内金黄色葡萄球菌的繁殖和生长以及大肠杆菌的活性,这些机制使得PRP广泛应用于促进局部损伤创面的愈合和修复以及治疗慢性骨髓炎等。另有研究人员报道,较高浓度白细胞的PRP会在局部产生大量促分解因子而加速肌腱细胞、和软骨细胞的凋亡^[8],故不能用于治疗慢性关节炎及退行性关节炎等疾病。因此临床应用中需根据疾病需求来调节PRP中白细胞的浓度。

2 PRP的制备

21世纪以来,诸多专家和学者对PRP的加工制备及相关产品的研发过程进行了深入研究。但国内外尚无统一的制作标准。总的来说分为手工制作、机械制作两种。而我国则以手工制作为主。即取自体血,在不同的温度和转速下离心,根据不同血液成分的沉降速率,将血液分成贫血小板血浆(PPP)、PRP、RBCs3层。Dohan Ehrenfest等^[9]根据成品有无白细胞及纤维蛋白分子结构,将PRP成

作者简介:宋殊琪,1983.8.女,汉,河北张家口、医生.武警北京市总队医院、主治医师、研究生、眼底病。

品分为富血小板血浆(P-PRP)、富白细胞血小板血浆(L-PRP)、富血小板纤维蛋白(P-PRF)和富白细胞血小板纤维蛋白(L-PRF)4种主要的类型。不同类型的PRP适用范围及实际临床应用疗效均有明显的差异。然而目前用来决定PRP生物特性的化学因子十分复杂,尚未完全阐明,有待于进一步规范、系统的科学研究。

3 PRP 在眼表及其他眼科疾病的临床应用

3.1 一般概况 眼表疾病(ocular surface disease, OSD)是近年来眼科学中研究发展极为迅速的学科之一,泛指各种损害结膜及角膜上皮组织正常结构与功能的疾病。这一新概念不仅充分解析了原来不能进行科学解析的各种临床病理现象,同时对疾病的治疗也有很大帮助。首先如对角膜缘上皮细胞结构与功能的认识促进了这类眼表疾病的正确临床诊断,也促进了角膜缘上皮细胞移植的出现,极大地提高了这类眼表疾病的临床治疗效果。再如对泪膜的生理及疾病治疗中的重要意义,羊膜在眼表疾病治疗中作用的正确认识等等。这些研究进展使我们对以前一些熟悉的疾病有了新的了解。大量国内眼科研究工作人员报道PRP含有的生长因子及细胞因子对角膜、结膜损伤有很好的促进愈合作用,对许多眼表疾病治疗作用效果显著。如神经营养性角膜炎、角膜溃疡、角膜上皮缺损、角膜碱烧伤、干眼症、持续性角膜上皮缺损、视网膜色素变性等,PRP在眼科领域有很大的发展前景。为眼表疾病及眼底疾病带来了新的曙光。

3.1.1 神经营养性角膜炎、角膜溃疡等疾病 Anitua等^[10]对富含生长因子(PRGF)自体血浆滴眼液与自体血清(AS)滴眼液进行了针对性的研究。其结论是:PRGF滴眼液中含有较高的表皮生长因子,可有效促进表皮细胞增殖和迁移活动,加速伤口的生长和愈合,与AS相比,PRGF可以有效保护并抑制TGF- β 1诱导结膜成纤维细胞的分化,防止肌成纤维细胞转化为成纤维细胞;PRGF可以有效改善眼表伤口愈合,减少疤痕形成。近年来^[11]报道了利用PRGF血浆滴眼液治疗神经营养性角膜炎(nk)的疗效。并分析某些因素对治疗效果可能产生影响。该项研究对象为使用PRGF滴眼液治疗nk2-3期患者。观察角膜溃疡损伤修复的时间、治疗前后溃疡愈合率、眼表疾病指数(osdi)、最佳矫正视力(bcva)及视觉模拟评分(vas)的变化。评估患者临床变量对研究结果的影响。对31例(38只眼)接受自体血清治疗的患者进行了评估,其中5例对自体血清治疗无反应。大多数病例(97.4%)角膜溃疡完全愈合。平均溃疡愈合时间为11.4周(sd13.7),统计学意义显著($p > 0.05$)。研究结论认为:PRGF滴眼液是治疗nk2-3期患者安全有效的最

佳选择,在短时间内有较高的溃疡愈合率,可有效减轻nk患者的临床症状和体征,从而防止nk恶化为更为严重的眼部并发症。但还可能需更大规模的临床病例跟踪研究,以更好地确保其研究数据和结果的准确性和可靠性,并进一步阐明其作用和机制。

Ronci等^[9]主要研究了PRP对持续性眼上皮缺损角膜溃疡的影响和治疗效果,研究血小板数量与角膜病变部位的各种可溶性分子相互作用GF浓度对角膜伤口愈合治疗过程的影响。临床应用高浓度自体PRP($338 \times 10^9/L$)治疗角膜溃疡患者10例,1滴/眼,3次/日。比较患者矫正视力、上皮愈合的情况。大部分角膜溃疡患者视力和眼部症状从接受治疗2周后症状开始逐渐有所改善,最终角膜病变痊愈或明显好转。临床结论显示:PRP可以有效治疗持续性角膜溃疡缺损,促进角膜上皮愈合再生。但该研究样本量小,研究局限,后期还需对不同类型的角膜病变进行大量研究。

3.1.2 视网膜色素变性 视网膜色素变性疾病(retinitis chromiosa, RP)中视细胞凋亡和休眠的主要原因之一是视细胞微环境中生长因子的凋亡。生长因子和其他神经营养素的作用能显著减缓动物模型微环境中的视网膜变性和视细胞凋亡。^[13]研究结果证明:通过有效激活休眠的光感受器,来确定自体富血小板血浆(aPRP)注射液是否可以RP细胞凋亡患者的视觉功能产生有益的影响。本研究共71只眼,其中包含48例不同程度视野狭窄的RP患者。对37例49只眼行aPRP。对照组由11例患有双眼对称性双侧视野狭窄(VF)的患者组成。11例患者中,一只眼注射血浆aPRP,另一只眼注射自体血小板血浆aPPP作为实验对照。研究的总持续时间一般为9周:aPRP或aPPP组分别注射3次,每次注射后间隔3周,第三次注射后再继续随访3周。对所有患者进行视力(VA)测试,对合适的患者分别进行VF、显微视野(MP)和多焦视网膜电流图(mfERG)测试,以便于评估患者在注射aPRP或aPPP前后的视觉功能变化。结果:48只眼中有19只眼在应用aPRP后,ETDRS表中的最佳矫正视力值提高了11.6个字母,但无统计学意义($P = 0.056$)。48只眼注射aPRP后,VF值的平均偏差从-25.3提高到-23.1db($P = 0.0001$)。环1的mfERG P1振幅从24.4提高到38.5nv/deg²($P = 0.0001$),环2从6.7提高到9.3nv/deg²($P = 0.0301$),环3从3.5提高到4.5nv/deg²($P = 0.0329$)。环1的mfERGN1振幅从0.18提高到0.25nv/deg²($P = 0.011$)。环2的mfERGN1振幅从0.05提高到0.08nv/deg²($P = 0.014$)。注射aPPP的11只对对照眼无明显改善。在23例有黄斑病变的RP患者中,aPRP注射后MP平均阈

值从15.0dB提高到16.4dB ($P = 0.0001$)。随访期间未发现与注射aPRP相关的任何眼部或全身其他不良事件。结论是:初步的临床研究结果是非常令人鼓舞的,在统计学上显著改善VF值、mfERG值和MP。使用自体富血小板血浆(aPRP)注射液似乎是一种有效治疗的选择,对于RP患者的视力恢复,可能会有积极的结果,随访1年,眼部及全身无严重不良反应。但仍需进一步长期随访研究来确定疗效的持续时间及用药频率。

3.1.3 干燥综合征 富含生长因子的PRP治疗原发性和继发性干燥综合征(SS)中重度干眼的疗效和安全性,并分析几个因素对治疗结果的影响^[14]。所有患者均采用免疫安全的PRGF滴眼液治疗。分别于PRGF治疗前和治疗后评估眼表疾病指数(osdi)、最佳矫正视力(bcva)、视觉模拟量表(vas)频率和严重程度评分。还对治疗组进行了安全评估,报告了所有不良事件。对26例(原发性SS12例,继发性14例)共52只患眼进行了评估。PRGF治疗组osdi评分(41.86%)、bcva评分(62.97%)、vas频率(34.75%),严重程度评分(41.50%)明显降低($P < 0.05$)。评估结果认为PRGF联合皮质类固醇治疗后bcva和vas频率评分明显改善($P < 0.05$)。治疗后干燥综合征患者的眼表症状和体征明显减轻。仅2例报告有不良反应(7.7%)。因此PRGF治疗原发性和继发性ss是安全有效的。

3.1.4 LASIK术后眼表并发症 Alio等^[15]对LASIK术后出现眼表并发症的13名患者进行了分析,应用PRP滴眼液进行局部治疗,疗程为4周。结果:眼表症状明显有所改善者占85%,最佳矫正视力提高12行字占54%,角膜荧光染色消失患者占69%,泪膜破裂时间明显延长超过2s的患者占46%,一例患者4周内对PRP滴眼液不耐受。结论表明:PRP滴眼液可以有效缓解LASIK术后出现的眼表并发症。Javaloy等^[16]学者研究了PRP对LASIK术后神经再生的影响和作用,对108只术眼治疗情况进行随机、连续、对照、前瞻性和盲法研究。患者每只手术眼随机分配到2组中的一个。一组用平衡盐溶液进行处理,另一组接受PRP滴眼液治疗,疗程为3个月。比较两组角膜敏感度阈值($p > 0.05$)。用裂隙灯检查分析基底纤维密度,PRP治疗组术前差别不显著。术后第1和第3个月,裂隙灯检查分析角膜染色类型和严重程度,发现E-PRP治疗组均显著降低。实验结论:PRP能够有效促进LASIK术后角膜上皮恢复,但对角膜敏感度恢复效果不明显。

综上所述,PRP来源于自体,制作方便简单,不存在自体免疫排斥及其他疾病传播的风险,在临床各学科的研究和应用优点突出。其所富含的生长因子之间相互协

同,诱导自体调节细胞分裂、分化、增殖,加速损伤组织自然愈合。PRP中大量白细胞和单核细胞可有效清除损伤后的坏死病灶组织,增加局部组织抗感染能力。但PRP还存在许多有待研究和解决的问题:PRP制作目前尚无统一标准,需要严格按照国家有关主管部门的批准进行检验,对其制备和临床应用进行对照、统一及标准化质量控制研究,为PRP的临床广泛应用和发展提供保证。另外由于在制备过程中受采血部位、离心速率、时间与次数等多种因素的影响,导致PRP中各生长因子浓度差异很大,直接影响临床应用效果。再加上目前PRP中各种生长因子的活性、生物学作用及机制尚未完全研究明了。从而某种程度上导致有些专家和学者对PRP的临床疗效持怀疑态度。目前对于PRP在眼科学领域的应用和研究尚需要更多可靠的临床实验数据,希望在不久的将来,PRP的临床疗效能够在国际上得到广泛认可,使PRP在眼科疾病的治疗方面获得更好的临床应用,为广大眼部疾病患者和医生带来福音。

参考文献

- [1]Alves R,Grimalt R. A Review of platelet-rich plasma: history, biology, mechanism of action, and classification [J]. Skin Appendage Disord,2018, 4 (1) : 18-24.
- [2]Marques LF,Stessuk T,Camargo IC,et al. Platelet-rich plasma (PRP) : methodological aspects and clinical applications[J].Platelets,2015,26 (2) : 101-113.
- [3]Etulain J. Platelets in wound healing and regenerative medicine[J]. Platelets,2018,29 (6) :556-568.
- [4] Yuan T,Guo SC,Han P,et al.Applications of leukocyte -and platelet-rich plasma (L-PRP) in trauma surgery[J]. Curr Pharm Biotechnol, 2012, 13 (7) : 1173-1184.
- [5]Lynch MD, Bashtir S.Applications of platelet-rich plasma in dermatology: A critical appraisal of the literature[J]. J Dermatology Treat, 2016, 27 (3) : 285-289.
- [6]Yuan T, Zhang C Q, Tang M J. Autologous Platelet-rich plasma enhances healing of chronic wounds[J]. wounds, 2009, 21 (10) : 280-285.
- [7] Bielecki TM.Percutaneous injection of autogenous growth factors in patient nonunion of the humerus. A case report. J Orthopaedics, 2006, 3 (3) : 15
- [8]Yuan T, Zhang C Q, Wang J H. Augmenting tendon and ligament repair with platelet-rich plasma (PRP) [J]. Muscles Ligaments Tendons J, 2013,3 (3) :139-149.
- [9]Dohan E DM, Andia I, Zumstein MA, et al.

Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine; current consensus, clinical implications and perspectives *Muscles[J]. Ligaments Tendons*, 2014,4 (1) :3-9.

[10] Anitua E, Fuente MI, Muruzabal F, et al. Plasma rich in growth factors (PRGF) eye drops stimulates scarless regeneration compared to autologous serum in the ocular surface stromal fibroblasts[J]. *Eye*,2015, 135 (1) : 118-126.

[11] Liu X, Ling Y, Huang J, et al. Treatment of patients with neurotrophic keratitis stages 2 and 3 with plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) eye-drops[J]. *Yan ke xue bao*,2002,18: 9-14

[12] Dell'Omo R, Cifariello F, Dell'Omo E, et al. Influence of retinal vessel printings on metamorphopsia and retinal architectural abnormalities in eyes with idiopathic macular epiretinal membrane[J]. *Invest Ophthalmol Vis Scien*,

2013, 54: 7803-7811.

[13] Shinoda K, Kimura I, Eshita T, et al. Effects of subtenon-injected autologous platelet-rich plasma on visual functions in eyes with retinitis pigmentosa : preliminary clinical results[J]. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2001, 239: 941-945.

[14]Kadonosono K, Itoh N, Nomura E, et al. The effect of immunologically safe plasma rich in growth factor eye drops in patients with sjogern syndrome[J]. *Retina* ,1999,19: 536-539.

[15]Alio JL, Pastor S, Ruiz-Colecha J, et al. Treatment of ocular SUI-face syndrome after LASIK with autologous platelet-rich plasma[J]. *Refract Surg*, 2007, 23 (6) : 617-619.

[16]Javaloy J, Alio JL, Rodriguez AE, et al. Effert of platelet-rich plasma in nerve regeneration after LASIK[J]. *J Refract surg*,2013, 29 (3) : 213-219.