

富血小板血浆促进糖尿病大鼠足溃疡愈合疗效研究

郭映靓 张佳欢 贾冰 张思怡 陈佳怡 迪轩轩 张露

西安培华学院 陕西 西安 710025

摘要:目的:探讨富血小板血浆(PRP)对促进糖尿病大鼠足溃疡愈合疗效。方法:取60只180-200g的SD大鼠将大鼠腹腔注射链脲佐菌素30/Kg诱发糖尿病,随机数字表法分为三组,A组采取富血小板血浆(PRP)治疗,B组湿性愈合敷料治疗,C组负压封闭引流(VSD)治疗,比较三组的治疗效果。结果:A组总有效率96.67%,高于B组的73.33%,C组的76.67%,差异有统计学意义($p<0.05$)。A组愈合时间(21.37 ± 3.12)d,短于B组、C组,A组肉芽组织覆盖率(26.32 ± 6.96)%、生长厚度(2.26 ± 0.96)mm,均高于B组、C组,差异有统计学意义($p<0.05$)。三组治疗后的血糖水平比较,差异无统计学意义($p>0.05$)。A组不良反应发生率5.00%,低于B组、C组,差异有统计学意义($p<0.05$)。治疗后,A组炎症因子水平均优于B组、C组,差异有统计学意义($p<0.05$)。结论:糖尿病大鼠足溃疡采取PRP治疗的愈合率及安全性更高,愈合时间更短,便于促进创面的早日修复。

关键词:富血小板血浆;糖尿病;足溃疡

随着社会的不断进步,生活水平的不断提高,糖尿病(Diabetes Mellitus,DM)的发病率也逐年升高^[1]。目前全球已经有糖尿病患者逼近4亿,预计至2035年前后将达5.92亿,我国的糖尿病患者已达1.14亿,并且每年还以150-200万人的幅度不断增加,而II型糖尿病占糖尿病患者人数的90%以上,由糖尿病而引起的微血管和大血管并发症已成为人类致死以及致残的重要原因之一。由于代谢紊乱所引起的神经系统及血管功能障碍,致使糖尿病患者的皮肤较正常人更容易发生损伤,加之糖尿病患者的免疫系统障碍,一旦形成溃疡,往往合并感染,迁延不愈^[2]。据统计,约15%糖尿病患者在一生的病程中会发生糖尿病足(Diabetic foot,DF),而其中5%的足溃疡患者需接受截肢手术治疗,严重影响了患者的生活质量^[3]。有学者报道,在发达国家中患者截肢原因有60%是因为糖尿病足^[4]。因此,本文通过建立糖尿病大鼠下肢皮肤溃疡模型,观察富血小板血浆干预对高血糖状态下,下肢皮肤溃疡创面的影响。

1 实验方法

1.1 糖尿病大鼠模型的建立

取60只180-200g的SD大鼠建立糖尿病大鼠的模型,局糖局脂喂养4周后,将大鼠腹腔注射链脲佐菌素30/Kg诱发糖尿病72h后,在大鼠的眼眶毛细血管进行血液采集,当大鼠的外周血血糖浓度大于16.7mmol/L时,可以认为糖尿病大鼠的模型制备成功^[5]。

1.2 下肢皮肤溃疡模型的建立

糖尿病大鼠模型制备成功后的8周,以0.3ml/100g

腹腔注射10%水合氯醛麻醉,剪掉糖尿病大鼠左后肢大腿外侧毛,将直径10mm长的圆形铁块置于水中煮沸,取出铁块后置于麻醉大鼠腿部30s,造成烫伤。3天后,沿糖尿病大鼠烫伤痕迹去除全层的皮肤,得到约170mm²圆形溃疡,糖尿病大鼠下肢皮肤溃疡模型建立成功。

1.3 富血小板血浆的制备

另取20只400g左右大鼠,每日1只至4只(根据伤口大小)以0.3ml/100g腹腔注射10%水合氯醛麻醉后,剪开大鼠胸腔,用预先肝素化的10ml注射器各心脏采血8ml,注入预先加入抗凝剂的离心管中,各取1ml大鼠的全血进行血小板计数。各管剩余7ml全血1500rpm离心15min,吸取上清液,再以400rpm离心5min,弃去上清液,剩下的沉淀物混匀后即得到富血小板(PRP)。

1.4 分组及处理

随机根据数字表法将大鼠分为三组,每组20例。A组溃疡分级: I级3例, II级13例, III级4例; B组溃疡分级: I级6例, II级11例, III级3例; C组溃疡分级: I级4例, II级12例, III级2例。分别将这三组大鼠的伤口损伤情况进行科学评估,为各组大鼠按照不同的方式清理疮口并进行不同方式的换药处理。

A组大鼠的疮口采用富血小板血浆(PRP)进场伤口处理,将富血小板血浆(PRP)与凝血酶-钙剂混合物按照不同的比例进行混合(5:1或10:1),并将混的药物均匀的涂在大鼠的疮口上,并在表面用凡士林油纱覆盖。固定大鼠的足部疮面1小时,使得药物凝固,以防药物流失。2到3日后更换

药物并观察大鼠足部溃疡面是否有组织的坏死、新鲜肉芽以及上皮生长等情况。

B 组大鼠采用敷料治疗, 根据大鼠足部的疮面采用不同大小的纱块以及水凝胶类敷料, 将药物整齐的敷在大鼠的伤口处, 并及时的更换药物, 保证伤口顺利愈合。

C 组大鼠采用负压封闭引流 (VSD) 治疗。

1.5 观察指标与疗效判定标准

1.5.1 观察 6 周至 8 周的时间并对比三组大鼠的治疗效果。

三组大鼠的治疗效果判断标准	
痊愈	大鼠足部溃疡面已经完全被新生上皮组织覆盖
显效	创面结痂基本脱落, 基本愈合创面局部组织, 创面愈合面积 >80%
有效	创面愈合面积为 40%~80% 之间; 无效: 病情无改变, 愈合面积 <40%

总有效率 = (痊愈例数 + 显效例数 + 有效例数) / 总例数 × 100%。

1.5.2 观察创面治疗及愈合的情况 (如愈合时间、伤口愈合肉芽覆盖率及厚度)。

1.5.3 采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测治疗前后的炎症因子水平变化情况。

1.5.4 观察治疗后不良反应事件发生情况, 采用奥林巴斯全自动生化分析仪 AU400 检测治疗之前与治疗后 GLU 浓度的变化。

1.6 统计学处理

采用 SPSS21.0 统计学软件进行数据分析, 计数资料用率 (%) 表示, 采用 χ^2 检验, 计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间的比较采用方差分析, 两组间的比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 A、B、C 三组足溃疡大鼠治疗

A 组大鼠经过治疗后其有效治疗率为 95%, B 组大鼠经过治疗后其有效治疗率为 70%, C 组大鼠经过治疗后其有效治疗率为 80%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 三组临床治疗总有效率比较 [n(%), n=20]

组别	痊愈	显效	有效	无效	总有效
A 组	11 (55.00)	6 (30.00)	2 (10.00)	1 (5.00)	19 (95.00)
B 组	3 (15.00)	6 (30.00)	5 (25.00)	6 (30.00)	14 (70.00)
C 组	6 (30.00)	4 (20.00)	6 (30.00)	4 (20.00)	16 (80.00)
χ^2 值 / P 值	5.145 / 0.015				

2.2 三组创面修复效果比较

A 组大鼠经过治疗后伤口愈合时间 (34.26 ± 3.63) d, 短于 B 组、C 组, A 组大鼠经过治疗后肉芽组织覆盖率

(27.69 ± 7.36)%、生长厚度 (3.26 ± 1.23) mm, 均高于 B 组、C 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 三组创面修复效果比较 ($\bar{x} \pm s$, n=30)

组别	愈合时间	肉芽组织覆盖率 (%)	肉芽组织厚度 (mm)
A 组	21.37 ± 3.12	26.32 ± 6.96	2.26 ± 0.96
B 组	30.13 ± 3.25	19.14 ± 6.73	1.03 ± 0.56
C 组	31.25 ± 3.95	20.79 ± 6.19	1.16 ± 0.68
F 值	5.633	6.252	6.252
P 值	0.001	0.001	0.001

检测指标表示为平均值 ± 标准差

2.3 三组炎症因子水平比较

A 组大鼠经过治疗后炎症因子水平平均优于 B 组、C 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 三组炎症因子水平比较

组别	时间段	TNF- α (ng/L)	IL-1 (ng/L)
A 组	治疗前	245.15 ± 33.66	65.34 ± 4.43
	治疗后	62.19 ± 16.43	22.96 ± 1.78
B 组	治疗前	245.34 ± 33.61	65.23 ± 4.55
	治疗后	93.36 ± 21.34	36.59 ± 2.15
C 组	治疗前	245.29 ± 33.69	65.78 ± 4.56
	治疗后	103.45 ± 19.25	38.71 ± 2.25

检测指标表示为平均值 ± 标准差

2.4 三组不良反应比较

A 组大鼠经过治疗后不良反应发生率 5.00%, 低于 B 组、C 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 4 三组不良反应事件比较

组别	创面红肿	皮疹	感染	总不良反应
A 组	0 (0.00)	1 (5.00)	0 (0.00)	1 (5.00)
B 组	1 (5.00)	2 (10.00)	1 (5.00)	4 (20.00)
C 组	2 (10.00)	1 (5.00)	1 (5.00)	4 (20.00)
χ^2 值 / P 值	5.145 / 0.015			

3 讨论

糖尿病足溃疡是糖尿病综合因素引发的足部疼痛、皮肤深溃疡和肢端坏疽等病变的总成^[6]。近年来糖尿病足溃疡已成为影响糖尿病患者及其家属生活质量的重要疾病之一, 随着医学技术的不断进步, 糖尿病足溃疡的治疗方法也被越来越多的学者研究和报道, 同时糖尿病足溃疡也可导致截肢的严重后果, 对人的精神、心理、身体都会产生很大的负性情绪。因此该病发病机制十分复杂并且非常多变, 目前

认为糖尿病创面愈合受损的原因除了神经系统的作用以外,更主要是由于高血糖状态可以使晚期糖基化终产物发生大量的蓄积,导致创面局部内皮细胞及成纤维细胞持续的功能不良,从而减少了生长因子分泌以及胶原的生成,使得患者的血管增生严重不良、细胞迁移的能力减弱、基质成分的合成效率低于降解的效率,造成组织的局部微环境平衡紊乱,并且糖基化终产物的大量蓄积阻碍了患者炎性细胞的功能,从而增加了创面感染的风险,在这些因素的共同作用下,患者的创面局部的微循环灌注不良,物质的交换不断减弱,阻碍了肉芽组织的正常生长,最终导致伤口不易愈合或延迟愈合^[7-9]。

本研究通过对比实验,说明了富血小板血浆(PRP)在大鼠足溃疡的治疗过程中具有更加明显的优势。富血小板血浆(PRP)具有血小板的粘附、聚集、止血等特点和优势,属于血小板浓缩物质,特别是在保护伤口和愈合方面优势显著,富血小板血浆(PRP)中的血小板被激活后,纤维蛋白、骨钙素、骨连接素等因子被释放,这些因子都具有生长因子趋化能力。同时,这些被释放出的因子更能促进细胞的分裂和细胞生长繁殖,使得足溃疡大鼠的伤口快速的新生出血管组织,促进神经的修复,使得细胞外基质与骨基质的合成更加紧密。

富血小板血浆(PRP)内存在较多的Fib,可以使糖尿病大鼠足溃疡的伤口更加快速的修复,并有利伤口的疮面缩小,使得大鼠足溃疡的恢复时间得以缩短。此外,富血小板血浆(PRP)含有大量的血细胞成分,如:PLT、WBC。这些细胞在集体的免疫效应发挥重大优势,血小板更能释放出较多的趋化因子、过氧化物、抗菌肽、腺苷、免疫球蛋白等,不仅可以发挥PLT的止血作用,同时白细胞的免疫作用也可以消灭病原菌,使疮面保持干净,不易感染;富血小板血浆(PRP)的质量方法可以让疮面的药物形成胶状,不仅可直接作用于创面,也能让药物不易脱落,为疮面的修复提供良好的环境。因此,富血小板血浆(PRP)治疗法相比与其他常规的治疗方法,有利于加速创面的早日愈合,白细胞也能够及时将病原菌清除,引发一系列的免疫反应。本研究结果表明,富血小板血浆(PRP)有更高的附着能力,有助于紧贴创面,可以为溃疡的愈合提供良好的环境。

因此,对糖尿病足溃疡大鼠采取富血小板血浆(PRP)进行治疗的效果十分显著,富血小板血浆(PRP)治疗具有方法简单、治疗时间短、安全性能高等优势。

参考文献:

[1] 国蓉,李肖珏,陈燕燕.糖化血红蛋白在糖尿病筛查和诊断中的意义[J/OL].海军军医大学学报:1-6[2023-04-10].

[2] 杨瑞,巴特.间充质干细胞外泌体在创面修复中的作用研究进展[J].中国冶金工业医学杂志,2023,40(02):140-141.

[3] 李德昌.糖尿病烧伤患者创面植皮的愈合情况分析[J].中国冶金工业医学杂志,2023,40(02):235.

[4] 董军,王君.显微手术修复结合封闭式负压引流术治疗手创伤感染的临床效果研究[J].大医生,2023,8(07):66-68.

[5] 刘超凡,盛荣荣.基于行为转变理论的护理干预结合标准化营养照护模式对2型糖尿病患者饮食控制、血糖水平及健康知信行的影响[J].临床医学研究与实践,2023,8(10):119-121.

[6] 王军,刘鹏,牛文晶,许彪,杨皓.中西医结合外治法在糖尿病足治疗中的应用[J].中国临床医生杂志,2023,51(04):384-387.

[7] 李立恒,远洋,魏建初,韩月臣.富血小板血浆促进面神经损伤后修复的实验研究[J].中国眼耳鼻喉科杂志,2023,23(02):151-156.

[8] 李红星,张信岳,等.代谢组学技术在痛风类疾病研究中的应用进展[J].中国现代应用药学.2021,38(1):122-128.

[9] 王艳,王椿,何利平,等.自体富血小板凝胶与标准疗法治巧糖尿病难治性皮肤溃疡的随机对照研究[J].中国糖尿病杂志,2019,(11):822-825.

项目基金:

西安培华学院2023年校级大学生创新创业训练计划项目PHDC2023078《富血小板血浆促进糖尿病大鼠足溃疡愈合机制的研究》。