

血小板裂解液关节腔注射治疗膝骨性关节炎的临床观察

侯燕¹ 秦立武² 鞠昌军² 余昕² 严伟² 张亚霖² 姜红江^{1,2△}

[摘要] **目的:**观察血小板裂解液关节腔注射治疗膝骨性关节炎的近期临床疗效。**方法:**自 2015 年 1 月至 2016 年 12 月采用前瞻临床随机对照的研究方式,对 100 例膝骨性关节炎患者进行研究,治疗组(A 组)50 例,血小板裂解液关节腔注射治疗,对照组(B 组)50 例,透明质酸钠关节腔注射治疗。连续治疗 1 个月后比较两组患者患膝 KSS 评分、WOMAC 评分和 Lysholm 评分。**结果:**治疗组(A 组)患膝 WOMAC 评分明显低于对照组(B 组)($P < 0.05$),KSS 评分和 Lysholm 评分均高于 B 组($P < 0.05$)。**结论:**血小板裂解液关节腔内注射治疗膝骨性关节炎的近期临床疗效明显,是膝关节骨性关节炎治疗方法的一种新选择。

[关键词] 血小板裂解液;透明质酸钠;膝骨性关节炎;疗效

[中图分类号] R684.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2017)11-0029-04

Clinical Effect of Intra-articular Injection of Platelet Lysate in Treatment of Knee Osteoarthritis

HOU Yan¹ QIN Liuw² JU Changjun² YU Xin²
YAN WEI² ZHANG Yalin² JIANG Hongjiang^{1,2△}

¹ Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230000, China;

² Shandong Wendeng Orthopedics Hospital, Wendeng 264000, Shandong China.

Abstract Objective: To observe the short-term clinical efficacy of intra-articular injection of platelet lysate in the treatment of knee osteoarthritis. **Methods:** From January 2015 to December 2016, 100 patients with knee osteoarthritis were studied by prospecting clinical randomized controlled trials. 50 patients in group A were treated with intra-articular injection of platelet lysates, while 50 patients in group B were treated with intra-articular injection of sodium hyaluronate. One month after continuous treatment, the knee KSS score, the WOMAC score and the Lysholm score were compared between the two groups. **Results:** The WOMAC scores of group A were significantly lower than those of group B ($P < 0.05$), and the KSS scores and the Lysholm scores of group A were higher than those of group B ($P < 0.05$). **Conclusion:** The treatment of knee osteoarthritis with intra articular injection of platelet lysate has obvious short-term curative effect, it is a new choice for the treatment of knee osteoarthritis.

Keywords: platelet lysate; sodium hyaluronate; knee osteoarthritis; clinical effect

膝骨性关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)是中老年最常见的骨关节病,临床表现为膝关节肿痛、功能障碍,严重影响生活质量^[1]。目前口服药物及关节镜清理等手术治疗临床效果都不理想^[2]。近年来,国内外许多学者报道应用富血小板血浆(Platelet Rich Plasma, PRP)关节腔注射治疗 KOA,在临床上取得了

良好疗效。本文在 PRP 的基础上,改良制作方法,制作血小板裂解液(Platelet Lysate, PL),进行关节腔注射治疗膝骨性关节炎。2015 年 1 月至 2016 年 12 月笔者采用前瞻临床随机对照的研究方式,对 100 例膝骨性关节炎患者进行研究,现报告如下。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

选取 2015 年 1 月至 2016 年 12 月,在本院骨关节三科住院治疗的 100 例膝骨性关节炎患者,按入院先后顺序,依次分入治疗组(A 组)和对照组(B 组),A 组

¹ 安徽中医药大学(合肥,230000)

² 山东省文登整骨医院

△通信作者 E-mail: boneman@163.com

关节腔注射 PL 治疗, B 组予关节腔注射 HA 治疗, 两组各 50 例。本研究经山东省文登整骨医院伦理委员会审核通过, 且所有患者治疗前均已经被告知治疗详情并签署治疗方法选择知情同意书。

1.2 诊断标准

根据美国风湿病协会修订的有关膝骨性关节炎诊断标准: 1) 前月大多数时间有膝痛; 2) 有骨摩擦音; 3) 晨僵 < 30 min; 4) 年龄 > 38 岁; 5) 有骨性膨大。满足 1) + 2) + 3) + 4) 条, 或 1) + 2) + 5) 或 1) + 4) + 5) 条者可诊断为膝骨性关节炎。

1.3 纳入标准

1) 符合上述诊断标准; 2) X 线片 David 分型为 I, II, III 型; 3) WOMAC 关节评分系统评价为轻、中度; 4) 同意参与本研究, 签署知情同意书。

1.4 排除标准

1) 合并有糖尿病、风湿性疾病、凝血障碍、感染, 免疫抑制疾病者; 2) 近期接受抗凝治疗的患者; 3) 近期服用非甾体抗炎药的患者。

1.5 治疗方法

1.5.1 制备 PL 采取患者外周静脉血 100 mL (双侧膝关节注射者可择日再取 100 mL), 抽入已加有低分子量肝素钙 2 000 U 的针管中。进行两次离心操作: 第一次离心是将血液离心 20 min (离心机转速 1 000 r/min, 离心半径 6 cm), 分离出上、中层血清; 将取出的血清放入 -80 °C 环境中冷冻, 次日再将此血清于 37 °C 恒温水浴中解冻 5 min, 再于离心机 (转速 3 000 r/min, 离心半径 6 cm) 中离心 6 min, 分离出上层血清。加入 10 μ g/mL 强力霉素注射液 (按照 1 000 : 1 的体积比例)。最后通过过滤, 得到血小板裂解液, 装入 5 mL 针管, 共 5 支备用 (见图 1~4)。

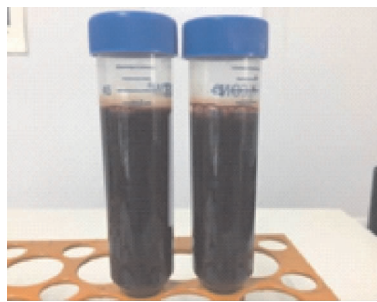


图 1 采得的外周静脉血

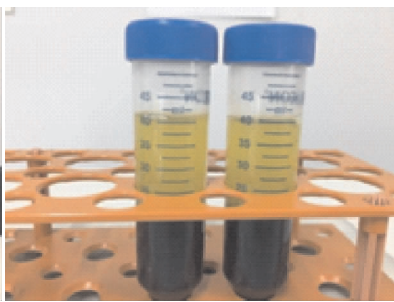


图 2 第一次离心后

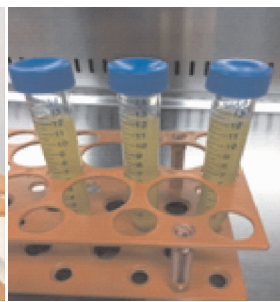


图 3 第二次离心后



图 4 成品

1.5.2 关节腔注射治疗 1) PL 治疗组: 患者取坐位, 患膝常规消毒后, 屈膝 90°, 用 5 mL 针头朝髁间窝方向刺入髁腱外侧凹陷处, 回抽针管, 至抽出关节液, 确认针头端在关节腔内, 避免刺入髁下脂肪垫或滑膜等组织。若关节积液较多, 可继续抽出。留置针头, 拔出针管, 慢慢推注入 5 mL PL, 完成后拔出针头, 注射 30 min 后, 观察有无不良反应。若无不良反应, 病人可回家, 并充分休息 1 d。次日病人可允许进行可耐受的日常活动。患者每 3 d 注射 1 次, 每膝共注射 5 针。治疗期间如疼痛需避免服用非甾体抗炎药物, 可服用扑热息痛。2) HA 治疗组: 关节腔注射 5 mL HA, 患者每 7 d 注射 1 次, 每膝共注射 4 针, 注射方法及治疗期间处理措施同 PL 治疗组。

1.6 疗效评定方法

疗效评价标准: 1) 患膝关节 KSS 评分^[3]: 通过临床评分和功能评分等评价膝关节, 优 85~100 分, 良 70~84 分, 可 60~69 分, 差 < 60 分; 2) WOMAC 评分^[4]。包含膝关节的疼痛、僵硬和功能三个部分, 国内外常用于作为 KOA 的评估指标, 覆盖了整个骨关节炎的基本症状和体征; 3) Lysholm 评分^[5], 通过记录疼痛、僵硬和日常生活能力来评价膝关节。记录两组患

者完成所有注射治疗后 1 个月患膝 KSS 评分、WOMAC 评分和 Lysholm 评分及不良反应。

1.7 统计学方法

采用 SPSS20.0 统计软件对所得数据进行统计处理, 比较患膝 KSS 评分、WOMAC 评分和 Lysholm 评分, 组内治疗前后比较采用配对 t 检验, 组间同一时间点比较采用两样本 t 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 一般资料

纳入研究的患者共 100 例: 男 42 例, 女 58 例; 年龄 55~72 岁, 中位数 62 岁; 病程 5~15 年, 中位数 8.5 年; David 分型为 I 型 32 例, II 型 30 例, III 型 38 例; WOMAC 关节评价轻度 46 例, 中度 54 例。

2.2 病例完成情况

本次研究共纳入 100 例患者, 期间 1 例患者退出治疗, 实际完成 99 例。其中 PL 治疗组 50 例共 72 膝, HA 治疗组 49 例共 65 膝。治疗前后血常规及肝肾功能检查均未见明显异常。治疗期间 1 例患者患膝出现发热及胀痛, 予冰敷及口服对乙酰氨基酚, 1 d 后症状消失。各组患者一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 有可比性 (见表 1~2)。

表 1 两组患者一般资料比较

组别	例数	性别比 (男/女)	年龄(岁) ($\bar{x}\pm s$)	病程(年) ($\bar{x}\pm s$)	侧别			David 分型		
					左膝	右膝	双侧	I	II	III
A 组	50	22/28	60.2 \pm 6.9	10.3 \pm 3.6	12	11	27	13	40	24
B 组	50	20/30	59.4 \pm 5.7	9.9 \pm 3.1	15	11	25	20	32	24
检验值		$\chi^2=0.164$	$F=1.676$	$F=1.310$	$\chi^2=0.510$			$\chi^2=2.367$		
P		0.658	0.198	0.254	0.775			0.306		

表 2 两组患者膝关节 KSS 评分、WOMAC 评分及 Lysholm 评分比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	KSS 评分	WOMAC 评分	Lysholm 评分
A 组	50	62.67 \pm 2.54	45.87 \pm 5.63	41.97 \pm 5.99
B 组	50	61.79 \pm 2.34	45.89 \pm 5.92	41.09 \pm 6.26
F		1.192	1.491	0.472
P		0.053	0.853	0.380

2.3 疗效评价

两组患者治疗结束后 1 个月患膝关节 KSS 评分、WOMAC 评分及 Lysholm 评分与治疗前相比,差异无统计学意义($P>0.05$);且治疗后 1 个月 A 组、B 组间比较差异有统计学意义($P>0.05$),见表 3~5。

表 3 两组患者治疗前后膝关节 KSS 评分比较($\bar{x}\pm s$)

组别	治疗前	治疗后 1 个月	t	P
A 组	62.67 \pm 2.54	73.56 \pm 2.28	31.551	0.017
B 组	61.79 \pm 2.34	67.56 \pm 2.01	30.141	0.002
F	1.192	0.060		
P	0.053	0.021		

表 4 两组患者治疗前后膝关节 WOMAC 评分比较($\bar{x}\pm s$)

组别	治疗前	治疗后 1 个月	t	P
A 组	45.87 \pm 5.63	30.54 \pm 1.58	27.442	0.025
B 组	45.89 \pm 5.92	33.51 \pm 3.99	17.644	<0.01
F	1.491	3.452		
P	0.853	0.001		

表 5 两组患者治疗前后膝关节 Lysholm 评分比较($\bar{x}\pm s$)

组别	治疗前	治疗后 1 个月	t	P
A 组	41.97 \pm 5.99	58.071 \pm 5.12	14.464	0.031
B 组	41.09 \pm 6.26	52.71 \pm 5.46	18.184	<0.01
F	0.472	3.453		
P	0.380	<0.01		

3 讨论

KOA 的主要病理特点为关节软骨的破坏,关节内炎症因子的沉积,后者又会进一步加重前者的发生。因此在治疗上需要促进软骨形成,抑制软骨破坏。目前膝骨性关节炎的保守治疗方式通过抗炎、镇痛、润滑关节来改善临床症状,主要为对症治疗不是针对基本病理的治疗方案。关节腔内注射是现在采用比较多的治疗方法,使用的药物主要有皮质类固醇激素、玻璃酸钠等。

第一版 OA 指南推荐使用透明质酸作为关节腔注射药物,现已得到广泛使用。HA 广泛存在于人体的

结缔组织和软骨中,在膝关节内是关节滑液和关节软骨基质的重要组成部分,它可以使滑液保持粘弹性状态^[6]。在随机安慰剂对照的多中心研究中,证明 HA 关节腔注射对膝骨关节炎是有效的^[7],且对早期骨关节炎患者效果更明显。关节腔内注射 HA 可补充膝关节的内源性 HA 的缺失、一定程度上抑制炎症因子及蛋白多糖的释放,减少软骨破坏,提高关节腔内的粘弹性及润滑作用^[8]。

血小板裂解液是在富血小板血浆(Platelet Rich Plasma,PRP)的基础上进一步分离制得,去除了 PRP 细胞成分。国内外研究发现^[9,10],血小板裂解液中有 30 多种生长因子,如血小板源性生长因子(Platelet Derived Growth Factor,PDGF)、转化生长因子- β (Transforming Growth Factor,TGF- β)、血管内皮生长因子(Vascular Endothelial Growth Factor,VEGF)、类胰岛素生长因子(Insulin-like Growth Factor,IGF)、表皮生长因子(Epidermal Growth Factor,EGF)等,还含有多种蛋白质,如纤维蛋白、纤连蛋白玻连蛋白和血小板反应蛋白。这些生长因子和蛋白质可以从诸多方面发挥着组织修复的作用^[11,12]。

膝关节腔内注射 PL,首先,能将生长因子直接作用于靶点,促进软骨源性细胞刺激关节软骨细胞增殖分化和软骨基质合成^[10]。其次,近年来更有研究表明,PRP 能促进内源性 HA 的生成,减少软骨破坏^[13]。这就从病因出发治疗膝 OA。此外,PRP 能通过降低 NF- κ B 的转移活性,同时抑制 COX-2 及 CXCR4 基因的表达,从而直接抑制炎症反应^[14,15]。Kon 等^[16]在 2011 年进行了一项比较 PRP 与低分子量 HA(LWHA)、高分子量 HA(HWHA)治疗 150 例 KOA 临床疗效的研究。研究表明,PRP 组患者治疗满意度优于其他两组($P=0.04$)特别是在减轻患膝疼痛及改善功能活动方面更有优势。邹国友等^[17]对 205 例患

者共 278 膝进行对比研究,发现 HA 治疗组患者症状和 WOMAC 评分均不及 PRP 治疗组,并指出 PRP 能够有效消除非细菌性炎症。

所以,PL 在针对膝骨性关节炎病理和病因治疗理论上均优于 HA,众多实验和研究也都证明了这一点。本组 99 例患者共 137 膝,注射治疗完成后 1 个月随访结果也支持这一论点。本次研究有 1 例患者注射 PL 后,患膝出现疼痛及皮温升高的不良反应,笔者认为原因可能为:1)PL 中含有未完全去除的白细胞,释放出蛋白酶、活性氧而出现了炎性反应;2)PL 内的多种抗炎因子引起的刺激性反应;3)PL 不慎注入了滑膜、脂肪垫或其他软组织,引起组织内压力增高导致。其具体机制还有待进一步研究证实。综上,PL 的优势在于:血小板裂解液是针对病理病因治疗,通过多种生长因子的协同作用,一方面抑制炎性因子,缓解关节不适症状,另一方面能修复破坏的关节软骨和软骨下骨。PL 在保留了 PRP 优势的基础上,去除了细胞成分,降低了不良反应发生的风险。PL 采自患者自身外周静脉血,其安全性可靠。

本研究的不足在于:1)纳入病例较少,且为轻中度关节炎患者,样本量低、局限性大,需要更大样本量进行研究。2)随访时间较短,未对远期疗效进行跟踪研究,需要后续长期的随访调查。3)本次研究观察指标部分存在一定程度上的主观性,且尚未对治疗前后膝关节液中炎性因子及生长因子水平进行检测。这也是今后研究的一个重要方向。4)目前 PL(PRP)的制作方法、浓度、注射剂量与疗程的方面尚无统一标准,不同标准的实验结果不尽相同,这需要更多的实验室及临床研究来统一规范。

参考文献

- [1] 金凤羽.原发性膝骨性关节炎的非手术治疗[J].中国组织工程研究,2013,17(30):5531-5538.
- [2] 李隶.近 10 年治疗膝骨性关节炎的研究进展[J].内蒙古中医药,2016,35(16):99-100.
- [3] Insall JN,Dorr LD,Scott RD,et al. Rationale of the knee society clinical rating system[J].Clinical Orthopaedics & Related Research,1989,248(248):13-14.
- [4] Bellamy N,Buchanan WW,Goldsmith CH,et al. Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee[J].Journal of Rheumatology,1988,15(12):1833-1840.
- [5] Lysholm J,Gillquist J. Evaluation of knee ligament sur-

gery results with special emphasis on use of a scoring scale[J].American Journal of Sports Medicine,1982,10(3):150-154.

- [6] 张德清,张灵鹏,张雪斐,等.透明质酸钠对膝骨性关节炎关节滑液中骨桥蛋白和血管内皮生长因子水平的影响及其意义[J].中国卫生检验杂志,2016,(2):222-224.
- [7] Curran MP. Hyaluronic acid(Supartz®): a review of its use in osteoarthritis of the knee[J].Drugs Aging,2010,27(11):925-941.
- [8] Kilincoglu V,Yeter A,Servet E,et al. Short term results comparison of intraarticular platelet-rich plasma(prp)and hyaluronic acid(ha)applications in early stage of knee osteoarthritis[J].International Journal of Clinical & Experimental Medicine,2015,8(10):18807-18812.
- [9] 严伟,谭训香,姜红江,等.体外冲击波联合血小板裂解液局部注射治疗难治性肱骨外上髁炎[J].中医正骨,2016,28(8):52-55.
- [10] Wroblewski AP,Mejia HA,Wright VJ. Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair[J].Operative Techniques in Orthopaedics,2010,20(2):98-105.
- [11] 谢磊,刘佳,王华军,等.关节腔注射富血小板血浆对膝关节炎性骨性关节炎的治疗效果[J].中国老年学杂志,2017,37(4):959-960.
- [12] 吴晓,檀亚军,咸杰,等.富血小板血浆修复膝关节骨关节炎[J].中国组织工程研究,2016,20(42):6259-6264.
- [13] Boswell SG,Cole BJ,Sundman EA,et al. Platelet-Rich Plasma:A Milieu of Bioactive Factors[J].Arthroscopy the Journal of Arthroscopic & Related Surgery,2012,28(3):429-439.
- [14] 林清宇.关节熏洗剂协同富血小板血浆治疗骨性关节炎的临床研究[D].南京:南京中医药大学,2016.
- [15] Cugat R,Cuscó X,Seijas R,et al. Biologic enhancement of cartilage repair: the role of platelet-rich plasma and other commercially available growth factors[J].Arthroscopy the Journal of Arthroscopic & Related Surgery,2015,31(4):777-783.
- [16] Kon E,Mandelbaum B,Buda R,et al. Platelet-rich plasma intra-articular injection versus hyaluronic acid viscosupplementation as treatments for cartilage pathology: from early degeneration to osteoarthritis[J].Arthroscopy the Journal of Arthroscopic & Related Surgery,2011,27(11):1490-1501.
- [17] 邹国友,郑闽前,贾伟涛,等.富血小板血浆与透明质酸钠关节腔内注射治疗膝骨关节炎的疗效比较[J].中华损伤与修复杂志:电子版,2014,9(6):630-633.

(收稿日期:2017-02-03)