

闭式引流联合自体富血小板凝胶对糖尿病足的临床疗效

谢娟, 丁浩, 曹东升, 方颖, 吕阳

摘要 观察闭式引流联合自体富血小板凝胶治疗糖尿病足的临床疗效。按照随机分组法将 60 例糖尿病足溃疡 (DFU) 患者分为两组。治疗组采用富血小板凝胶 (APG) 联合封闭负压引流 (VSD) 治疗, 对照组仅采用 VSD 治疗。比较两组 DFU 的治愈率和愈合时间, 比较 3 周末及 6 周末 DFU 的组织学标本。自体富血小板凝胶联合封闭负压引流治疗 DFU 的愈合率及时间、创面细菌转阴时间明显优于封闭负压引流的疗效。

关键词 自体富血小板凝胶; 封闭负压引流; 糖尿病足溃疡
中图分类号 R 62

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)03-0478-04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.03.029

糖尿病足溃疡 (diabetic foot ulcer, DFU) 是临床上常见的难治性创面之一, 其组织活力差, 感染不易控制, 容易引起危及生命的恶性结果, 如截肢或败血

症等。因此, 在全球范围内, DFU 的感染、坏死的控制及组织的修复已成为世界公共卫生的难题^[1]。目前糖尿病足溃疡的临床治疗是在全面清创的基础上, 采用封闭式负压引流装置, 其所形成的负压环境减少了组织的水肿并增加了创面中的血液灌注。但对于糖尿病足溃疡同时存在末梢血管、神经的病变及基础代谢的紊乱, 使局部炎症修复细胞分泌功能障碍, 各种生长因子的供应不足限制了溃疡愈合的能力^[2]。自体富血小板凝胶 (autologous platelet-rich gel, APG) 系取自患者自身外周静脉血, 经离心处理后与钙离子和凝血酶激活后可释放各种类型生长因子, 有利于损伤组织修复再生, 研究^[3]显示可用于颌面外科、整形外科、骨科。该研究探讨自体富血小板凝胶联合封闭负压引流 (vacuum sealing drainage, VSD) 治疗糖尿病足的疗效是否比单一使用封闭负压引流更有效。

1 材料与方法

1.1 病例资料 本研究纳入 60 例 2016 年~2018 年于安徽医科大学第二附属医院整形外科接诊的 DFU 患者。其中男 39 例, 女 21 例。排除糖尿病急

2018-11-19 接收

基金项目: 安徽省卫生计生委科研项目 (全科医学临床科研课题) (编号: 2016QK062)

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院整形外科, 合肥 230601

作者简介: 谢娟, 女, 副主任医师;

丁浩, 男, 副主任医师, 责任作者, E-mail: dingh2327@ sina.com

ed into control group (radiotherapy alone) and experimental group (sodium glycididazole combined with radiotherapy). All patients were imaged by ¹⁸F-FDG and ¹⁸F-FMISO PET/CT before and after therapy. ¹⁸F-FMISO PET/CT was scanned the next day after ¹⁸F-FDGPET/CT. The maximum standardized uptake value (SUVmax) of tumor and muscle, tumor muscle ratio (TMR) and hypoxic volume (HV) were determined and calculated for hypoxia status and radiosensitization effect evaluation. **Results** The TMR value (2.46 ± 0.78) of ¹⁸F-FDG uptake of tumors in the experimental group after therapy was slightly lower than that in the control group (2.69 ± 0.68). However there was no significantly difference between two groups ($t = 1.81, P > 0.05$). The TMR value (1.80 ± 0.35) of ¹⁸F-FMISO uptake of tumors in the experimental group was lower than that in the control group (2.31 ± 0.51), the difference was statistically significant ($t = 3.747, P < 0.01$). The reduction of tumor hypoxia volume in the experimental group after therapy (1.72 ± 0.59) was greater than that in the control group (1.26 ± 0.56), the difference was statistically significant ($t = 26, P < 0.05$). **Conclusion** Compared with ¹⁸F-FDG, ¹⁸F-FMISO can better reflect the hypoxic tissue in the tumor, thereby evaluating the radiosensitizer to improve the radiosensitivity of hypoxic cells in the tumor and improve the therapeutic effect.

Key words glycididazole sodium; ¹⁸F-FDG; ¹⁸F-FMISO; radiosensitizer; nasopharyngeal carcinoma

性并发症、合并严重心、肺、肝、肾或血液系统疾病,伴有恶性肿瘤,患有严重精神疾病且无法配合治疗,有自身免疫性疾病或服用免疫抑制剂和激素的患者。将患者随机分为两组:实验组(VSD+富血小板凝胶组)和对照组(VSD组),每组30例。实验组(VSD+富血小板凝胶组),其中男19例,女11例;对照组(VSD组),其中男20例,女10例。所有的手术均由同一个治疗小组完成。本研究已经通过本院伦理委员会批准,患者自愿参加本研究并签署知情同意书以保护患者的隐私。

1.2 研究方法

1.2.1 基础治疗 所有病例均通过口服降糖药物或肌注胰岛素控制血糖,并严格控制患者饮食。对患者创面经严格消毒后行清创术,去除创面的失活组织及无血供坏死骨,清创过程中应由浅入深仔细进行。

1.2.2 APG制备的探究 为探究在不同离心速度下APG的提取情况,招募共30名身体健康志愿者自愿提供自身外周静脉血40 ml,随机分为A、B两组,各15名,将离心方法设定为方法一:A组以3 000 r/min离心10 min,将上清液吸到边界层下1 mm,将离心管内剩余物质转移至另一无菌离心管,再以3 000 r/min离心10 min,用无菌巴氏灭菌管吸出3/4上清液,弃去剩余的1/4下层摇匀获得为富含血小板血浆(PRP)。方法二:B组先以2 000 r/min离心4 min,再以4 000 r/min离心6 min,方法同前。比较各组全血和PRP的PLT浓度及回收率,得出以下结果:A组和B组全血中血小板浓度无显著差异;B组PRP中血小板浓度、回收率均明显高于A组,差异有统计学意义(表1),因此,认为B组的方法可获得更高浓度的富含血小板血浆。故本实验研究中APG凝胶的制备选择了B组的离心程序。

1.2.3 APG制备 取患者自身外周静脉血40 ml,按照APG制备时的B组离心方法得到PRP后,将PRP与凝血酶-钙剂(1 ku/ml)按照10:1的比例同时打进三通注射器中,待其充分混合后可形成凝固状态的APG凝胶后均匀推注至实验组清创后的溃疡。

1.2.4 分组干预 实验组第1个24 h暂不开放VSD负压,仅保持创面封闭状态,24 h后开始从-125 mmHg开始使用VSD负压。对照组则是创面清创后直接覆盖VSD材料,生物膜密封覆盖后即刻开通-125 mmHg负压。使用连续负压抽吸并用外盐冲洗引流管。对照组每周更换VSD辅料1次,实验

组在更换VSD材料时给予APG凝胶治疗1次(方法同前),每次更换VSD材料前将创面内分泌物或组织送细菌培养,直至患者创面愈合或细菌定量为阴性。

1.2.5 取材及记录相关指标 分别在3周末及6周末拆除VSD后切取创缘直径约0.5 cm新生皮肤及皮下肉芽组织,HE染色后在显微镜下观察。每次更换VSD之前,分别实时记录每位患者的溃疡创面细菌培养结果、创面愈合情况和创面愈合时间。

1.3 统计学处理 采用SPSS 16.0软件进行数据分析及统计,使用 t 检验和 χ^2 检验比较两组之间变量的差异。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基本情况的比较 实验组年龄、糖尿病病程、溃疡病程、溃疡面积、WBC平均值、CRP平均值与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。实验组病原菌感染率80%,对照组病原菌感染率79%。见表2。

表1 两组不同离心方法之间血小板浓度的比较($n = 30, \bar{x} \pm s$)

项目	A组	B组	P 值
全血($\times 10^9/L$)	263.50 \pm 76.63	232.32 \pm 127.29	> 0.05
PRP($\times 10^9/L$)	779.67 \pm 352.39	1263.80 \pm 834.74	< 0.05
升高倍数	3.03 \pm 1.32	4.72 \pm 1.83	< 0.05
回收率(%)	51.29 \pm 21.3	68.22 \pm 17.30	< 0.05

表2 实验组患者及对照组患者基本情况的比较($n = 30, \bar{x} \pm s$)

基本情况	实验组	对照组	P 值
年龄(年)	62.50 \pm 10.50	62.23 \pm 12.43	0.929
糖尿病病程(年)	9.67 \pm 5.23	9.20 \pm 5.16	0.729
溃疡病程(天)	20.13 \pm 16.79	20.57 \pm 14.70	0.916
溃疡面积(cm^2)	7.96 \pm 6.74	7.27 \pm 5.43	0.989
WBC($\times 10^9/L$)	10.47 \pm 5.05	11.14 \pm 3.65	0.068
CRP(mg/L)	94.86 \pm 88.84	102.96 \pm 76.14	0.815
病原菌感染率(%)	80	79	-

2.2 不同时间点两组的治愈率、愈合时间和细菌转阴时间的比较 比较两组患者治疗3周末的愈合率,实验组愈合率40.0%高于对照组愈合率16.7%,差异有统计学意义($P < 0.05$);比较患者治疗6周末的愈合率,实验组愈合率90.0%高于对照组愈合率63.3%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。以6周末为观察点,在6周末未愈合创面愈合时间均按照42 d(6周)进行统计。实验组溃疡愈合时间短于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。实验组创面细菌转阴时间短于对照组,差异有统计学意义(表3)。在6周末观察期结束后,实验组中有3

例未达到愈合标准,用皮肤抑制物封闭残留的小伤口,对照组有 11 名患者未痊愈。在 8 周末时达愈合者 3 例,剩余 8 例接受了皮片移植术。

表 3 比较两组的治愈率、愈合时间和细菌转阴时间

项目	实验组(n =30)	对照组(n =30)	统计量值	P 值
3 周末				
治愈	12	5	4.022	0.045
好转	18	25		
6 周末				
治愈	27	19	4.565	0.033
好转	3	11		
愈合时间(d)	23.73 ± 8.54	32.07 ± 8.74	0.150	0.000
细菌转阴时间(周)	1.87 ± 1.04	3.33 ± 1.06	0.268	0.000

DFU 创面愈合为治愈,面积缩小为好转

2.3 组织学观察 分别观察 3 周末及 6 周末创面组织 HE 染色切片,3 周末实验组与 3 周末对照组相比新生微血管较多,胶原纤维排列有序。6 周末实验组与 6 周末对照组相比新生微血管丰富,胶原纤维排列与正常皮肤组织类似,较对照组来说排列更有序(图 1)。

2.4 创面愈合情况观察 实验组:患者,男,63 岁,糖尿病病史 10 年,系左足第二趾破溃 10 余天入院。治疗前创面内大量坏死肉芽组织,创面血供较差;APG + VSD 治疗 1 周后可见创面内不见坏死组织,肉芽生长良好;APG + VSD 治疗两周后可见创面基本愈合,表皮逐渐愈合(图 2)。

3 讨论

DFU 治疗的原则是在基础疾病控制的基础上,注重创面坏死物的清除,感染的控制及采用各种辅助疗法促进肉芽生长,上皮的爬行。因此在本次实

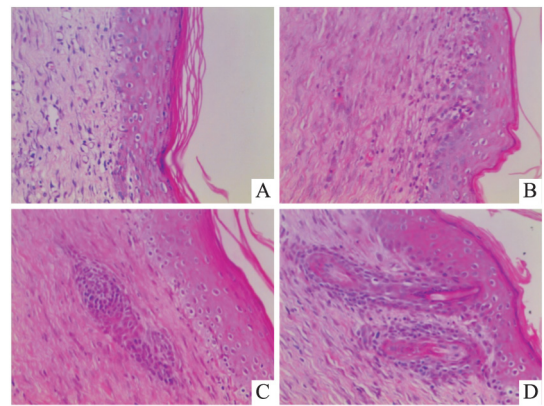


图 1 两组 DFU 在 3 周末及 6 周末的组织学标本 HE × 100
A: 对照组 3 周; B: 实验组 3 周; C: 对照组 6 周; D: 实验组 6 周

验中,对两组病例在清创的基础上给予了不同的辅助治疗手段。对照组采用 VSD 负压引流治疗,实验组采用 APG 联合 VSD 治疗,3 周末实验组愈合率 40.0% 明显高于对照组愈合率 16.7%,两组患者 6 周末实验组愈合率 90.0% 显著高于对照组愈合率 63.3%。同时比较实验组和对照组患者的溃疡愈合时间,结果发现,实验组平均愈合时间(23.73 ± 8.54) d,明显短于对照组(32.07 ± 8.74) d,与对照组相比,使用 APG 的实验组显著缩短了治疗时间并提高了愈合率。

在对照组中,当使用 VSD 时,建立的负压降低了伤口组织的压力,并且在负压的作用下重新打开了闭塞的微小血管。进一步扩张微血管,使整个创面的血流供应得到改善^[4],但溃疡创面内肉芽的生长、上皮的爬行,都与各种促细胞生长因子相关。VSD 改善创面血流的供应,仅仅是间接的促进生长因子的合成和释放,并且过程较漫长,尤其对于糖尿



图 2 实验组创面愈合情况观察
A: 治疗前; B: APG + VSD 治疗 1 周后; C: APG + VSD 治疗 2 周后

病溃疡,本身存在微血管病变,其对溃疡创面血运的恢复及改善所需时间往往更长。实验组在 VSD 的基础上给予了 APG 凝胶,其富含的多种具有活性的生长因子,如类胰岛素样生长因子(IGF)、转移生长因子- β (TGF- β)、血小板源性生长因子(PDGF)等,通过细胞因子的活化和趋化作用,可以促进细胞如成纤维细胞和内皮细胞的增殖和迁移,从而促进新生血管的形成,从而加速胶原沉积和组织重建。APG 同时含有大量的纤维蛋白,为成纤维细胞的爬行和迁移提供了良好的支架,从而加速了创面愈合并控制了瘢痕的生长^[5]。

创面的愈合与感染的控制密不可分,实验组创面细菌转阴时间平均为(1.87 ± 1.04)周,明显短于对照组创面细菌转阴时间平均为(3.33 ± 1.06)周。APG 中富含单核细胞和白细胞,血小板经活化后可以释放出多种抗菌活性物质,如血小板杀菌蛋白、组胺、免疫球蛋白等均可起到一定的有效抗感染作用,作为络合剂,凝血酶可以将这些活性成分凝结成附着于溃疡表面的凝胶状物质,这更有利于肉芽的生长,从而加速溃疡的愈合^[6]。

综上所述,使用自体富血小板凝胶联合封闭负压引流治疗糖尿病足溃疡优于使用负压闭式引流,其缩短了患者的住院周期,减少手术次数,可以作为一些合并多种基础疾病,不耐受或对于不愿意接受皮肤移植或皮瓣手术治疗糖尿病足溃疡的老年患者的治疗选择之一。同时患者住院时间及住院费用显著降低,提高了患者的生活质量,减轻了患者的经济

负担。现临床上 APG 联合 VSD 治疗糖尿病足溃疡的应用还未普及,可能的原因是 APG 的提取率不稳定,提取过程需严格按照无菌操作,使制备过程中存在人为误差和一些损耗,影响了最终治疗效果。同时如何量化 APG 凝胶的使用,即不同溃疡面积下的 APG 凝胶的使用剂量及使用方式,仍有待进一步的基础研究。

参考文献

- [1] Martins-Mendes D, Monteiro-Soares M, Boyko E J, et al. The independent contribution of diabetic foot ulcer on lower extremity amputation and mortality risk [J]. *J Diabetes Complicat*, 2014, 28(5): 632-8.
- [2] 张莹. 糖尿病足内皮功能紊乱机制的研究进展 [J]. *检验医学* 2013, 28(10): 948-51.
- [3] Amable P R, Carias R B, Teixeira M V, et al. Platelet rich for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors [J]. *Stem Cell Res Ther* 2013, 4(3): 67-80.
- [4] Qu J, Yan R, Wang L, et al. Free dermatoplasty combined with vacuum sealing drainage for the treatment of large-area soft tissue defects accompanied by bone exposure in the lower leg [J]. *Exp Ther Med* 2013, 5(5): 1375-80.
- [5] Poon H, Le Cocq H, Mountain A J. Dermal fenestration with negative pressure wound therapy: a technique for managing soft tissue injuries associated with high-energy complex foot fractures [J]. *J Foot Ankle Surg* 2016, 55(1): 161-5.
- [6] Amable P R, Carias R B, Teixeira M V, et al. Platelet rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors [J]. *Stem Cell Res Ther* 2013, 4(3): 67.

Vacuum sealing drainage combined with autologous platelet-rich gel for the treatment of diabetic foot

Xie Juan, Ding Hao, Cao Dongsheng, et al

(Dept of Plastic Surgery, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract To observe the clinical effects of closed vacuum sealing drainage combined with autologous platelet-rich gel for the treatment of diabetic foot ulcer. 60 patients with DFU were randomly divided into two groups. The treatment group was treated with autologous platelet-rich gel combined with VSD; the control group was treated with VSD alone. Comparison of cure rate and healing time of DFU in two groups and histological specimens of DFU at 3 and 6 weeks. Vacuum sealing drainage combined with autologous platelet-rich gel for the treatment of DFU is more effective than VSD with only negative pressure drainage for promoting the healing of DFU and shortening the healing time.

Key words autologous platelet-rich gel; vacuum sealing drainage; diabetic foot ulcer