

李斌 单程 黄嘉懿 张强 张

· 专家论坛与共识 ·

自体单采富血小板血浆关节腔注射治疗膝骨关节炎的专家共识*

中国输血协会临床输血管理专业委员会

摘要:膝骨关节炎(KOA)是最常见的肌肉骨骼疾病之一,富血小板血浆(PRP)广泛用于 KOA 治疗,但由于 PRP 制备技术、贮存方法和关节腔注射治疗方案等差异较大,已影响 KOA 治疗的效果。本共识由国内多家具备自体单采 PRP 治疗 KOA 经验的大型三甲医院的输血医学、骨科学和康复医学等学科(科室)的专家,在充分总结临床 PRP 治疗 KOA 的实践经验 and 全面、系统地回顾分析相关文献的基础上,对自体单采 PRP 应用于关节腔注射治疗 KOA 的方法作了深入探讨后而达成。共识包含 4 方面内容:共识达成的背景、自体单采血小板制备 PRP 用于 KOA 治疗的优势、单采 PRP 冰冻贮存理论依据和贮存方式、单采 PRP 关节腔注射治疗 KOA 的临床应用方案;推荐:使用单采血小板技术制备的自体 PRP 通过关节腔注射治疗 KOA,PRP 中的血小板浓度(Plt) $(1\ 000\sim 1\ 800)\times 10^9/L$ 、红细胞混入浓度(RBC) $\leq 3.2\times 10^{10}/L$ 、白细胞混入浓度(WBC) $\leq 2.0\times 10^9/L$,PRP 宜以 -80°C 贮存,贮存期 ≤ 6 个月,1 个疗程注射 3~4 次、每次间隔 1~2 周,单膝关节的注射量(4~8)mL/人(次),注射前抽去患者关节积液、不与麻醉剂或皮质类固醇激素混合注射关节腔,注射后 <48 h 限制剧烈运动。本共识意在推动临床自体单采 PRP 治疗 KOA 的规范化应用、提高临床治疗 KOA 的效果及其评价的科学性,为今后制定规范的自体单采 PRP 治疗 KOA 指南或(和)标准初步奠定基础。

关键词:单采富血小板血浆;膝骨关节炎;关节腔注射;专家共识

中图分类号:R457.1 R684.3 R331.1*43 文献标识码:C 文章编号:1004-549X(2022)12-1187-08

Expert consensus on intraarticular injection of autologous apheresis platelet-rich plasma in the treatment of knee osteoarthritis Working Party on Clinical Transfusion Management, Chinese Society of Blood Transfusion

Abstract: Knee osteoarthritis (KOA) is one of the most common musculoskeletal diseases. Platelet-rich plasma (PRP) has been widely used in the treatment of KOA. However, the effectiveness of KOA treatment has been affected due to the large differences in PRP preparation technology, storage method, and intra-articular injection treatment plan. Based on a comprehensive and systematic literature review and clinical practice experience, experts in blood transfusion medicine, orthopedics and rehabilitation medicine and other disciplines (departments) from a number of domestic large-scale tertiary hospitals with experience in the treatment of KOA with apheresis PRP formed this expert consensus by in-depth study. The consensus includes four aspects: the background of the formation of the consensus, the advantages of preparing PRP from autologous platelets apheresis for KOA treatment, the theoretical basis and the frozen storage method of apheresis PRP, and the clinical application scheme of apheresis PRP intraarticular injection for the treatment of KOA. Recommendations are as follows: autologous PRP prepared by platelets apheresis is used to treat KOA by intra-articular injection; the platelet concentration(Plt) in PRP prefers $(1\ 000\sim 1\ 800)\times 10^9/L$, the red blood cells(RBC) contamination should be $\leq 3.2\times 10^{10}/L$, and the leukocytes (WBC) contamination should be $\leq 2.0\times 10^9/L$; PRP is suitable to be stored at -80°C , within 6-months storage; a course of treatment prefers 3 to 4 occasions of injection, with an interval of 1 to 2 weeks; the injection volume of one knee joint could be (4~8)mL/person; the joint effusion should be removed before injection without mixing with anesthetics or corticosteroids; restriction of strenuous exercise for 48 hours after injection is necessary. This consensus is intended to promote the standardized application of autologous apheresis PRP in the treatment of KOA, improve the effectiveness of clinical treatment of KOA and the scientificity of its evaluation, so as to lay a preliminary foundation for formulating standardized guidelines or (and) standards for the treatment of KOA with autologous apheresis PRP in the future.

Key words: platelet-rich plasma apheresis, knee osteoarthritis, intra-articular injection, expert consensus

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是 1 种常见的退行性骨关节病,其人群发病率高,严重影响患者的日常活动和生活质量^[1-5]。国内外多项研究显示:富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)膝关节腔注射治疗 KOA 的效果明显,越来越被医患双方所接受,并被认为是 1 种很有前景的治疗手段^[3,6-8]。然而,由于 PRP 技术尚未标准化,亦即 PRP 制备

方法多样,不同方法制备的 PRP 质量差异较大,加之临床治疗方案各不相同等异质性因素,都可能导致临床 PRP 治疗 KOA 的效果不一并缺乏可比性^[1,9-10]。在常用的血袋法、套装法和机器单采(简称机采或单采,本共识统称为单采)等 PRP 制备方法中,单采血小板制备的 PRP 产品(以下简称单采 PRP)质量相对“标准化”^[10-13],因而国内已开展自体 PRP 治疗 KOA 的医院越来越多地应用单采 PRP,只是与之相配套的 PRP 贮存条件和治疗方案等不尽相同,同时普遍缺乏

质量控制,故严重影响了临床对 PRP 治疗 KOA 效果的评价。有鉴于此,迫切需要在国内建立标准化的针对单采自体 PRP 治疗 KOA 方案或流程,以指导该技术在临床规范化的开展,确保其疗效及其评价的科学性。为推动 PRP 技术规范化的临床应用,中国输血协会输血管理专业委员会于 2021 年 5 月 18 日发起成立了由国内多家大型三甲医院输血科、相关临床科室和医学科研院所相关专业技术人员组成的专家联盟,同时在其中设立了 PRP 治疗关节损伤的项目协作组(以下简称项目协作组),该项目组成员由专家联盟中具备单采 PRP 治疗 KOA 经验的人士组成,通过 1 年多的对自体 PRP 治疗 KOA 的有关理论和既有临床实践的广泛讨论,最终达成了本共识,不仅意在规范并推荐自体 PRP 治疗 KOA 的技术方法供同道们在临床实际应用中参考,而且期望藉此基础性工作抛砖引玉,尽早制定出我国规范的自体单采 PRP 治疗 KOA 指南或(和)标准。

1 达成共识的背景

KOA 以关节滑膜充血、水肿、关节软骨退化、骨赘形成、半月板退化为病理特征^[1,14]。由于成人膝关节软骨无血管和无神经的生理特性,使其病损后再生能力差,愈合潜力受限,导致 KOA 治疗困难^[15-16],严重影响患者的生活质量。目前,KOA 的治疗重点和目标是调整活动、缓解疼痛和僵硬、纠正关节潜在畸形以及延迟或避免全膝关节置换术等^[16],以改善患者的关节功能和生活质量。国际骨关节炎协会(OARSI)在 2019 年便已将包括关节腔注射疗法在内的保守治疗作为 KOA 的一线治疗方案推荐^[1]。

PRP 中高浓度血小板通过激活剂或内源性途径激活后,会释放大量生长因子等生物活性物质,能够诱导细胞迁移和增殖、促进基质形成、抑制软骨细胞凋亡等^[16-18]。KOA 患者关节腔注射 PRP,可以减轻其炎症反应、刺激膝关节磨损软骨区域的软骨再生,从而缓解疼痛、改善关节功能^[19-20]。体外和动物实验已显示 PRP 对软骨细胞增殖有促进作用^[21];但现有的一些文献报道的临床研究的 PRP 疗效结果却存在异质性,考虑与 PRP 制备方法及其产品中血小板浓度(Plt)和白细胞(WBC)红细胞(RBC)的混入量、PRP 注射剂量与频次以及注射后患者的相对休息时间等有关^[22-23]。国内在 2018 年已有其他的医疗行业组织推出了 PRP 应用于 KOA 治疗的指南和共识^[8,24];国外 2020 年的 1 个由德国等国专家达成的共识强调了 PRP 制备产品质量和应用标准化的重要性^[22]。国内外不断有研究提出或强调 PRP 的制备以及临床治疗方案标准化的必要性^[11,22,25-32]。

现有多项制备 PRP 的方法,国内外学者经过大量比较都发现单采 PRP 的质量好、易实现标准化。如 2015 年和 2017 年,有比利时学者一再指出和强调获得质量稳定的 PRP 的唯一方法是使用血液成分分离机单采制备 PRP^[12-13]。2021 年,来自法国、加拿大等 5 个国家的 15 名专家在其达成的 PRP 治疗 KOA 的专家共识中指出:只有单采技术才能获得 Plt 和 WBC 标准化的 PRP 产品^[11]。2021 年本专业委员会推出的《自体富血小板血浆制备技术专家共识》将血液成分分离机单采制备 PRP 推荐为首选方案^[10]。目前,国内单

采 PRP 在 KOA 治疗中的应用越来越广泛,但缺乏对单采 PRP 优势、贮存方法和单采 PRP 治疗 KOA 方案的共识。

以患者为中心是临床治疗的 1 项基本原则。高质量的 PRP 产品、合适的贮存方法和优化的自体单采 PRP 治疗 KOA 方案是确保治疗效果的前提基础。项目协作组成员基于自身的临床实践经验,查阅了国内外相关基础和临床试验研究、meta 分析等的文献资料,在经过多回深入的讨论后,就自体单采 PRP 治疗 KOA 的优势、贮存方法和治疗方案达成共识,期望藉本共识的推出为国内同行开展自体单采 PRP 关节腔注射治疗 KOA,提供尽可能规范和标准的参照依据。

2 单采制备自体 PRP 在 KOA 治疗中具有明显的优势

2.1 制备设备的优势 单采设备的自动化、智能化程度高,血液成分采集量和产品浓度可调,有利于产品质量控制和标准化制备。目前通用的血液成分分离机分为连续式和间断式 2 类,均采取高度智能化设计,根据各种血液成分比密不同,通过离心和光学探测系统检测、控制来分离出不同的血液成分。单采 PRP 与成分血中的单采血小板采集过程类似,而采集量[约(40~60)mL/(人)次]远较单采血小板[约 250 mL/(人)次]少,可根据患者个体情况和治疗需求设定 PRP 采集参数和采集量。不同的血液成分分离机采集参数设定有所不同,但主要参数都包括了采集前血小板的基础浓度、抗凝剂比例和采集终浓度等,因而 PRP 采集量和产品浓度可根据治疗需求调节。对于关节腔注射自体 PRP 治疗的 KOA 患者,1 个疗程(通常注射 3~4 次)一般采集制备 PRP (40~60)mL/人即可;对于严重 KOA 患者,可根据治疗次数增加采集量;可根据患者的 Plt 和血细胞比容(Hct)结果设置预留血浆,以备调整最终 Plt 使用。PRP 制备全程可追溯,对于临床应用的安全性和有效性具有重要价值^[11]。凡此制备过程的种种特性都有利于单采 PRP 质量控制和标准化,并且已被多个研究证实:只有使用血液成分分离机单采(技术)才能在所有患者中获得质量相对标准化的单采 PRP^[11-13]。

2.2 制备耗材的优势 单采制备 PRP 的耗材是通过国家 III 类医疗器械注册的一次性封闭式专用耗材,采集过程除耗材安装、参数设置和静脉穿刺外,其余操作均可在密闭无菌管道中自动完成,因而环境因素和操作过程造成产品污染的概率很低。采集 PRP 使用的抗凝剂为枸橼酸-枸橼酸钠-葡萄糖(ACD),对血小板影响少,可以保证单采 PRP 质量^[17,33]。故单采 PRP 安全性较其他方法制备的 PRP 产品高。

2.3 制备产品的优势 由于血液成分分离机的自动化、智能化程度高,可有效调控所采集的 PRP 中目标 Plt,其产品通常可达到 $Plt > 1.000 \times 10^9 / L$ 。虽然不同厂家(品牌)的血液成分分离机质量上存在差异,但与手工法制备的 PRP 相比,单采 PRP 不但血小板的浓度、纯度更高,而且所混入的红、白细胞数量——对患者的治疗效果有一定的影响——明显降低(具体见“2.4”)。此外,机器采集避免了人工采集(操作)的不稳定性和不同操作者技术的差异,大大提高了 PRP 产品质量的稳定性^[10-13]。PRP 发挥治疗作用的机制是 PRP 中的血小板通过内源性激活后释放大量的对 KOA 有修复作用的生长因子等生物活性因子^[34],且 PRP 中的 Plt 与其所释

放的生物活性物质的浓度呈正相关关系(这是 PRP 治疗 KOA 的理论基础)^[18,35],因此 PRP 中高浓度、高纯度的血小板能为 PRP 治疗 KOA 提供基础保障。

2.4 自体单采 PRP 低损伤与低不良反应的优势

2.4.1 单采 PRP 中的红细胞低混入量可减少红细胞对患者关节的损伤 红细胞可能通过释放活性氧化物质对临床疗效产生负面影响,其对关节的损害已通过血友病性关节炎模型得到进一步证实^[36]。PRP 注射入患者关节腔后,其中的红细胞膜受衰老或剪切力影响破裂所释放出的游离血红蛋白(FHb)及其降解产物具有细胞毒性,能导致氧化应激、一氧化氮(NO)流失、炎症通路激活和免疫抑制等,最终造成患者微循环功能障碍、局部血管收缩伴血管损伤和严重的组织损伤^[32]。另外,当含有红细胞的 PRP 被注射进入人体组织时,会引起红细胞衰亡的局部反应,进而触发巨噬细胞迁移抑制因子——能抑制单核细胞和巨噬细胞的迁移,向周围组织发出强烈的促炎信号、抑制干细胞迁移和成纤维细胞增殖,并导致明显的局部细胞功能障碍——释放^[37]。因此,临床将 PRP 应用于 KOA 治疗时,控制 PRP 产品中的 RBC 显得尤为重要;而单采 PRP 中的红细胞混入量很低^[10]。依照单采血小板质量的国标:按 250 mL/袋换算,须为单采 PRP 中的 RBC $\leq 3.2 \times 10^{10}/L$ ^[38],有利于 KOA 治疗。其他方法制备的 PRP 中红细胞混入量要达到此标准,势必降低血小板回收率和 PRP 产品的收集量,从而大大增加实际制备操作难度。

2.4.2 单采 PRP 中的低白细胞混入量可减少患者局部炎症等不良反应 PRP 中白细胞的作用存在争议^[5,39],最近也出现了大量新的、高质量的研究证据支持在治疗 KOA 时使用低白细胞 PRP(LP-PRP)^[16,40]。由于白细胞可能产生对关节炎和疼痛有害的金属蛋白酶和炎性细胞因子^[5],因而关节腔注射富含白细胞 PRP(LR-PRP)能引起更严重的急性炎症反应和增加滑膜细胞死亡^[13,17,22];白细胞还有增加局部不良反应的风险,加剧疼痛和肿胀^[39]。因此,推荐首选自体 LP-PRP 治疗 KOA,而单采 PRP 的白细胞混入量低,一般 WBC $\leq 2.0 \times 10^9/L$ ^[10,41],更能满足取得临床疗效的需求。

2.5 单采 PRP 的性价比优势 在自体单采 PRP 的制备过程中,只有目标成分(血小板和少量血浆)被留在收集袋中,其他成分均及时回输到患者体内,减少了不必要的血液损失;而应用手工法采集、分离患者全血制备得到 PRP 后,其他成分(红细胞、白细胞和多余的血浆)不能回输给患者,只能丢弃。例如采集患者全血 40 mL/次制备得到 Plt $\geq 1\ 000 \times 10^9/L$ 的 PRP 只有 4~6 mL,仅能满足单侧 KOA 患者的 1 次治疗,而 1 个疗程治疗 4 次,单侧 KOA 治疗需采集全血 160 mL、双侧 KOA 治疗则需采集全血 320 mL。已有研究证明 PRP 冰冻保存(依据详见 3.1)后仍然临床使用有效^[18]。因此使用 1 套耗材、1 次单采制备的 PRP 可以多次使用,性价比远高于其他方法制备的 PRP;不仅如此,1 次单采就能制备满足双侧 KOA 1 个疗程治疗剂量和浓度的 PRP,还耗时短(通常约 20 min),可节省制备过程的医院人力资源成本,也使患者无多次穿刺之虞。而手工法制备 PRP 至少需要 2 次离心分离,制备过程中需要实时调节 Plt,不但耗时

较长(通常约 60 min),而且一般是当场采集制备的自体 PRP 须马上使用。如此推算,自体单采 PRP 的制备时间更短、制备成本更低,并减轻了患者的经济负担。

3 可低温冰冻贮存使自体单采 PRP 能够 1 次采集并分装保存和多次使用

3.1 单采 PRP 低温冰冻贮存的依据 贮存 PRP 的前提是其生物特性的保留。国外有研究指出,PRP 中血小板活化是通过 α 颗粒脱粒释放生长因子实现,激活方法包括机械方法(涉及冰冻血小板解冻)与化学方法(涉及添加钙和凝血酶)2 种^[41]。冻融导致血小板的物理破坏后释放生长因子,所以 PRP 可以冰冻保存。日本的 1 项体外研究显示,冷冻干燥的 PRP 中仍保持了其活性且促进成骨细胞增殖的能力与新鲜 PRP 相当^[42];而更早有研究证实-40℃贮存的 PRP 冻融后释放的血管内皮生长因子浓度较新鲜 PRP 无明显变化($P > 0.05$),所以 1 次制备的 PRP 可以冰冻贮存用于下一次治疗^[43]。在美国甚至有学者认为-80℃单次冻融后的特定 PRP 产品可能对肌肉骨骼组织损伤后再生与修复更有利^[44]。PRP 冰冻贮存是 1 种安全的保存方式,可以充分保持 PRP 的质量及其生物活性^[18,45],为自体单采 PRP 在临床的推广应用创造了条件,尤其是可简化和方便那些需要多次注射患者的 PRP 使用与管理。

3.2 应用于 KOA 治疗的自体单采 PRP 低温冰冻贮存 对于复杂的生物样品的保存,目前常用的是冰冻(-20、-40、-80℃)和液氮这 2 种低温贮存方式;现已发现-80℃超低温和液氮不会对长期贮存的生物样品质量产生不利影响^[44];而且我们的研究也证实 6 个月内-80℃贮存不影响单采 PRP 生长因子的释放量。为了选择 1 种适当且实用可行的自体单采 PRP 的保存策略,尽可能减少 PRP 的生物活性成分损失,根据冰冻贮存原理、基础实验数据和临床应用经验,我们推荐自体单采 PRP 用于关节腔注射治疗 KOA 时,1 次采集制备 1 个疗程的使用剂量,密闭分装,1 袋 PRP 依据血小板常规贮存要求在 22℃振荡保存时间 ≤ 5 d 使用,该疗程内剩余的 PRP 于-80℃冰冻保存备用,暂且推荐-80℃贮存期 ≤ 6 个月。自体单采 PRP 的贮存方式支持其 1 次采集多次使用。对于冰冻贮存温度(-20、-40、-80℃)的选择以及对应贮存期限,还有待进一步的大样本、多中心研究确认。

4 自体单采 PRP 关节腔注射治疗 KOA 的临床治疗推荐方案

4.1 单采 PRP 关节腔注射治疗 KOA 的适应证和禁忌症

4.1.1 适应证 多项临床随机对照试验证实,PRP 关节腔注射在 KOA 患者长期疼痛缓解和关节功能改善方面优于透明质酸(HA),在治疗 6 个月~1 年期间,患者症状持续改善,生活质量明显提高^[26-31,46-51]。关节腔注射 PRP 是治疗 Kellgren-Lawrence(K-L)分级中 I~III 级(轻中度)KOA 的有效方法^[11,52];有学者认为 PRP 对于年轻、体重指数(BMI)较低的患者疗效通常更好^[11,22]。结合本项目组专家自己的临床应用 PRP 的经验,我们推荐对轻、中度 KOA 患者采用自体单采 PRP 关节腔注射治疗,不但远期效果更好,而且 PRP 产品的质量能有效保证。

尽管在 KOA 的早期给患者关节腔注射 PRP 有更好的疗效,但 PRP 在 KOA 的各个阶段都有临床应用价值已为临床试验所证实^[16]。据报道尽管同样注射 PRP 后,对重度 KOA (K-LIV 级)患者的疗效较中度 KOA (K-L≤III 级)患者的疗效有所降低,但连续多次注射 PRP 后,可改善或维持严重、难治性 KOA 的功能评分(K-L 分级)^[26,52]。近期国外有学者提出为确保 PRP 注射治疗重度 KOA 患者的疗效(体现为功能 K-L 分级改善)的重复性,应考虑一致的 PRP 产品制备方案^[53]。单采 PRP 因其制备方法(技术)的规范和可重复性,故更益于改善重度 KOA 患者的症状(功能 K-L 分级),但临床医生不应期望重度 KOA 患者在采集 PRP 后获得与轻、中度 KOA 同样的临床效果。

在此我们推荐自体单采 PRP 关节腔注射治疗的适应证为轻、中度 KOA 和有手术禁忌症或无手术意愿的重度 KOA。

4.1.2 禁忌症 根据单采 PRP 制备方法和治疗需要,可分为绝对禁忌症:包括 ACD 抗凝剂过敏、非稳定期的严重心脑血管疾病、败血症、血液动力学不稳定、出凝血功能障碍、血小板功能障碍性疾病、关节穿刺部位感染;相对禁忌症:恶性肿瘤、不明原因的 C 反应蛋白过度升高、Plt 过低。

4.2 自体单采 PRP 关节腔注射治疗 KOA 的推荐方案

4.2.1 推荐用于关节腔注射治疗 KOA 的自体单采 PRP 的 Plt ($\times 10^9/L$) 为 1 000~1 800 目前公认 PRP 的作用机制是:血小板通过内源性激活后释放出的生长因子以及促炎和抗炎细胞因子在维持关节内环境稳定方面发挥着核心作用^[34]。释放生长因子的数量直接取决于 PRP 产品中的 Plt^[18,30,35,54];单采 PRP 的 Plt 相对较高^[10],发挥治疗作用生物活性物质浓度自然也高。早在 2011 年即有本项目组中的专家研究发现:PRP 促进细胞增殖作用随 Plt 的增加而增强,在 Plt ($\times 10^9/L$) 1 500~2 500 时趋于稳定,>2 500 时细胞增殖能力反而下降^[55]。此后国外的研究也显示:PRP 中的 Plt ($\times 10^9/L$) 如果只有 1.5 倍生理浓度,其对骨再生没有促进作用^[17],只有当 $\geq 1 000$ 时,才会明显发挥其刺激增殖作用^[40,56]。即便患者膝关节内未形成积液,正常存在的少量关节液也会对注入关节腔的 PRP 有一定稀释作用,所以与治疗其他组织损伤的 PRP 产品相比,用于 KOA 治疗的 PRP 产品中需要更高的 Plt。虽然有美国学者在 2020 年提出 PRP 发挥组织修复机制作用需要其 Plt ($\times 10^9/L$) $\geq 1 500$ ^[32];但所含 Plt 过高可能会降低 PRP 的功效^[13,57]。为此,本专业委员会此前推出的 PRP 制备共识推荐的 Plt 以其在人体中的 4~8 倍生理浓度为宜^[10];而根据我国的卫生行业标准我国成年人的 Plt ($\times 10^9/L$) 参考区间在 125~350^[58];国内健康人群 Plt ($\times 10^9/L$) 为 225±49.8(男)、245±54.6(女)^[59-60]。结合本项目组专家临床实践经验,在此我们推荐自体单采 PRP 治疗 KOA 时,其中的 Plt ($\times 10^9/L$) 以 1 000~1 800 为宜。由于单采 PRP 在 KOA 的临床应用研究仍在进行中,现阶段的认识存在局限性,包括“最佳 Plt”还需要多中心、大样本的随机对照研究来确认。

4.2.2 推荐关节腔注射自体单采 PRP 治疗 KOA 的 1 个疗程为注射 3~4 次且每次间隔 1~2 周 相关的临床随机对照研究和 meta 分析显示:KOA 患者接受 2~3 次自体单采 PRP 关

节腔注射便有较好的疗效,多次(≥ 3 次)注射比单次注射能更有效地改善关节功能;注射间隔 1~2 周^[26,61-62]。值得注意的是,在美欧的同行中,有观点认为 KOA 患者在接受 3 次 PRP 关节腔注射(方案)后,疼痛缓解维持时间 ≥ 6 个月,通常可以维持 1 年或更长,严重(K-LIV 级)的 KOA 患者可能需要 3~6 次注射才能获得最大程度的缓解^[16];还有专家的共识是 KOA 患者多次(2~4 次)注射 PRP 的效果优于单次注射^[22]。国内已有的相关指南也同样指出多次注射 PRP 可更好地缓解 KOA 患者的疼痛、改善其关节功能,不会增加不良事件发生率,注射间隔时间 ≥ 1 周^[8]。鉴于 1 次采集的自体单采 PRP 容量足以满足多次注射,结合临床实践经验,我们推荐 1 个疗程为注射 3~4 次,对于严重 KOA 患者可适当增加注射次数,注射间隔 1~2 周;对于双侧 KOA 可以同时注射^[11,63]。

4.2.3 推荐关节腔注射自体单采 PRP 治疗 KOA 注射量为 (4~8)mL/次 PRP 注射的疗效受 PRP 产品中的 Plt 及其生物活性因子含量的影响,因此疗效与注射的 PRP 剂量直接关联^[64]。迄今不同文献报道的 PRP 注射量不尽相同,有平均注射量 5 mL/次^[65],也有注射 8 mL/次的^[66]。更有法国学者提出并证明了 PRP 注射量为 (8.8±1.1) mL/次的合理性,因为有研究评估膝关节腔的容量约为 9 mL^[67-68]。2021 年来自 5 个法语国家的专家达成的共识认为,KOA 患者注射 PRP (4~8)mL/人(次)较为合适,但注射量与 PRP 的制备方法和 Plt 相关联^[11]。基于国内外临床研究 PRP 注射治疗 KOA 的现状、单采 PRP 中的 Plt 明显高于其他方法制备的 PRP 产品,结合自己临床实践经验,我们推荐给 KOA 患者单膝关节腔内注射 PRP (4~8) mL/次为宜。临床医生可根据患者关节腔容量等实际情况适当调节 PRP 用量。

4.3 自体单采 PRP 关节腔注射治疗 KOA 的注意事项

4.3.1 对于伴有积液积液的 KOA 患者在注射 PRP 之前应先抽吸关节积液 国内目前已有的相关指南和共识都建议在应用 PRP 注射治疗前,要先抽吸 KOA 患者的关节积液^[8,24]。日本有学者提出,当 KOA 患者膝关节有明显积液时,先要尽可能抽出积液后,再向患者关节腔注射 PRP 的效果才有保障^[69]。法语国家联合推出的专家共识认为:KOA 患者注射 PRP 前引流关节积液可以立即改善关节疼痛和功能限制,还可以减少积液对注射 PRP 的稀释,从而对疗效起有益的影响^[11]。

4.3.2 KOA 患者关节腔注射 PRP 时不应与皮质类固醇激素或麻醉剂一道混合注射 PRP 诱导细胞增殖,皮质类固醇激素和局部麻醉剂却对细胞增殖具有抑制作用,可诱导过多的细胞死亡,也部分或完全抑制 PRP 的治疗作用^[11];麻醉剂对血小板功能,特别是血小板聚集的毒性作用也得到了充分证实,麻醉剂对血小板活化以及生长因子和细胞因子的释放可能有负面影响^[11]。因此不建议将它们混合做关节腔注射;必要时可在穿刺点行局部浸润麻醉,但应避免将麻醉剂注入患者关节腔内。

4.3.3 KOA 患者关节腔注射 PRP 后 <48 h 不做剧烈运动 1 项出自波兰学者的自体脂肪组织与自体 PRP 注射治疗 KOA 的随机对照研究(研究方案)提出注射后患者要限制活动^[4];另一项基于 PRP 注射治疗 KOA 病例的回顾性研究则

提示 KOA 患者注射 PRP 后 <48 h 不宜剧烈运动^[70]。前述法语国家的专家共识强调,注射 PRP 后患者休息 48 h 不是严格卧床,而是在此期间限制患者的体力活动^[11]。据此我们推荐 KOA 患者在注射自体单采 PRP 后 <48 h,应避免剧烈运动或在康复医师/治疗师指导下活动。

4.3.4 KOA 患者注射自体单采 PRP 的其他注意事项 完成关节腔注射后,用无菌敷贴包扎穿刺点,协助患者屈、伸膝关节数次,使 PRP 在关节腔内均匀分布。伴有糖尿病患者应在血糖得到有效控制后方可接受 PRP 注射治疗。

4.4 自体单采 PRP 治疗 KOA 其他需要注意的问题

4.4.1 抗血小板聚集治疗不是 PRP 注射的禁忌证,但可能会通过阻止血小板活化影响其疗效 抗血小板药物是血小板聚集的抑制剂,可以抑制血小板活化,进而影响 PRP 的疗效;只是目前尚缺乏关于抗血小板药物对关节腔注射 PRP 效果实际影响的实验研究(数据)。对于初级预防的 KOA 病例,建议骨科医生在与心血管内科或(和)神经内科专家讨论后,可以考虑在关节腔注射 PRP 治疗过程中暂时中断抗血小板治疗,中断的持续时间可以依据抗血小板药物的半衰期及血小板寿命,在自体单采 PRP 采集和注射前 1 周停药、注射后 1 周再恢复用药;对于存在严重心脑血管并发症潜在风险的 KOA 患者,一般不建议停用血小板聚集抑制剂^[11]。可以在 KOA 患者已使用血小板聚集抑制剂的情况下采集和注射自体单采 PRP,但必须认识到抗血小板药物可能对 PRP 注射治疗 KOA 效果产生的影响。另外,自体单采 PRP 的采集和注射后的穿刺部位按压时间应适当延长。

4.4.2 PRP 关节腔注射是 1 种全身和局部耐受性良好的 KOA 治疗方法 相比捐献血小板,自体单采 PRP 的采集量少、采集时间短,因此采集过程较少出现献血反应,即使 KOA 患者在注射过程中出现口唇发麻等低钙症状,一般都可自行缓解,严重者可给予口服葡萄糖酸钙(对应用自体单采 PRP、年龄 ≥ 56 岁的 KOA 患者同样适用)^[71]。研究证实 KOA 患者关节腔 PRP 注射有很好的全身和局部耐受性^[11,72]。国内外已有的指南和共识都指出关节腔注射 PRP 后局部疼痛和(或)肿胀发生率不高并可在几天内自然消退,局部不良反应的发生与操作者注射技巧和熟练程度相关;而自体单采 PRP 的 WBC 少,不良反应发生率更低^[8,11]。

4.4.3 自体单采 PRP 注射可避免血液传播疾病风险和异体免疫风险 为避免输血相关性传染病和异体血免疫风险等,我们仅推荐自体单采 PRP 关节腔注射治疗 KOA 的方法。

4.4.4 自体单采 PRP 注射和其他 KOA 治疗方法的结合 临床治疗 KOA 的方法较多,如健康教育、减重、运动、药物、手术等疗法。自体单采 PRP 关节腔注射结合其他方法的应用尚需进一步研究,以期规范开展。

5 结语

自体单采 PRP 与其他方法制备的 PRP 相比,具有相对独特的优势,是适合关节腔注射治疗 KOA 的有效方法。按照本共识开展自体单采 PRP 治疗 KOA 临床实践的骨科、康复科和输血科,需充分结合自身的临床经验与患者 KOA 的严重程度、有无并发症及个体差异等因素综合衡量。鉴于单

采 PRP 的临床应用依然是 1 种正在开发的新方法,大样本、多中心的随机对照研究在国内外都较少,临床实际应用中仍存在或可能出现的许多具体问题,尚需要进一步探索并解决。需要指出的是:自体单采 PRP 治疗 KOA 虽然同样有效,但由于自体 PRP 产品存在输血相关性传染病和同种异体免疫风险,本共识限定在自体单采 PRP。受参与制定本共识专家对单采 PRP 关节腔注射治疗 KOA 的机理及其现有研究的意义与视野(包括文献检索能力)所限,本共识具有明显的“阶段性”特征。期待随着越来越多同道在临床的参考使用、国内外相关文献的更新和循证医学证据的日增,本共识的内容能够实时、不断地更新、完善,并有更多的同道参与(议)其中,进一步制定相关指南或(和)标准,为单采 PRP 关节腔注射治疗 KOA 提供更全面、更科学的技术支撑。

本共识(项目)专家组成员(并列第一作者,以专家所属单位汉语拼音排序):北京医院 宫济武,复旦大学附属华山医院 夏荣,福建省漳州市医院 原敏、吴市春,广西壮族自治区人民医院 黎海澜、孙可,贵州省贵黔国际总医院 赵树铭、王序全,哈尔滨医科大学附属第一医院 刘凤华、曹荣祎、王文波,海军军医大学第一附属医院 钱宝华,河南省人民医院 燕备战、赵甲军,解放军北部战区总医院 郑伟,解放军第九六〇医院 黄象艳、张强、钟萍、武文,解放军东部战区总医院 栾建凤、许斌,解放军南部战区总医院 单桂秋、周谋,解放军西部战区总医院 彭涛、庞日朝,解放军中部战区总医院 郑山根、刘万兵、魏世隽,空军军医大学第二附属医院 穆士杰、王海鹏,空军军医大学第一附属医院 尹文、张大伟,陆军军医大学大坪医院 文爱清、王子明,南昌大学第二附属医院 饶美英、兰小勇,南方医科大学顺德医院 田英、宋洋,青岛大学附属医院 王海燕、李铁山,山东大学齐鲁医院 马现君,山东第一医科大学附属省立医院 浑守永、范晓华,山东省千佛山医院 刘小信,首都医科大学附属北京友谊医院 李小飞、胡向东,四川大学华西医院 何红晨、秦莉,武汉市第四医院 缪希莉、李涛,西安大兴医院 夏爱军、景海荣,郑州大学第一附属医院 杨乾坤、陈思

执笔:黄象艳^{*}(解放军第九六〇医院 输血医学科),张强[#](解放军第九六〇医院 骨科),钟萍(解放军第九六〇医院 康复医学科),单桂秋[△](解放军南部战区总医院 输血医学科),宫济武[△](北京医院 输血科)

并列第一执笔人;△ 共同通信作者:单桂秋(1963.10-),男,主任技师,主要从事血小板及其富血小板血浆拓展应用研究,电话:020-88686867,Email:rabbit_2007@126.com;宫济武(1965.12-),男,主任技师,主要从事输血管理、免疫血液学、临床输血等研究,电话:010-65289292,Email:13910066259@139.com

参考文献

- [1] Bannuru RR, Osani MC, Vaysbrot EE, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee, hip, and polyarticular osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 2019, 27(11):1578-1589.
- [2] Phillips M, Vannabouathong C, Devji T, et al. Differentiating factors of intra-articular injectables have a meaningful impact on knee osteoarthritis outcomes: a network meta-analysis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2020, 28(9):3031-3039.

- [3] Hong M, Cheng C, Sun X, et al. Efficacy and safety of intra-articular platelet-rich plasma in osteoarthritis knee; a systematic review and meta-analysis. *Biomed Res Int*, 2021, 2021;2191926. doi:10.1155/2021/2191926.
- [4] Bąkowski P, Kaszyński J, Walecka J, et al. Autologous adipose tissue injection versus platelet-rich plasma (PRP) injection in the treatment of knee osteoarthritis: a randomized, controlled study-protocol. *BMC Musculoskelet Disord*, 2020, 21(1):314.
- [5] Di Nicola V. Degenerative osteoarthritis a reversible chronic disease. *Regen Ther*, 2020, 15:149-160.
- [6] Dhillon MS, Patel S, Bansal T. Improving PRP for use in osteoarthritis knee- upcoming trends and futuristic view. *J Clin Orthop Trauma*, 2019, 10(1):32-35.
- [7] Weber AE, Bolia IK, Trasolini NA. Biological strategies for osteoarthritis; from early diagnosis to treatment. *Int Orthop*, 2021, 45(2):335-344.
- [8] 中国医疗保健国际交流促进会骨科分会. 关节腔注射富血小板血浆治疗膝骨关节炎的临床实践指南(2018年版). *中华关节外科杂志(电子版)*, 2018, 12(4):444-448.
- [9] Kolasinski SL, Neogi T, Hochberg MC, et al. 2019 American college of rheumatology/ arthritis foundation guideline for the management of osteoarthritis of the hand, hip, and knee. *Arthritis Rheumatol*, 2020, 72(2):220-233.
- [10] 中国输血协会临床输血管理专业委员会. 自体富血小板血浆制备技术专家共识. *中国输血杂志*, 2021, 34(07):677-683.
- [11] Eymard F, Ornetti P, Maillat J, et al. Intra-articular injections of platelet-rich plasma in symptomatic knee osteoarthritis: a consensus statement from French-speaking experts. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2021, 29(10):3195-3210.
- [12] Kaux JF, Bouvard M, Lecut C, et al. Reflections about the optimization of the treatment of tendinopathies with PRP. *Muscles Ligaments Tendons J*, 2015, 5(1):1-4.
- [13] Milants C, Bruyère O, Kaux JF. Responders to platelet-rich plasma in osteoarthritis: a technical analysis. *Biomed Res Int*, 2017, 2017:7538604.
- [14] Fuggle NR, Cooper C, Oreffo ROC, et al. Alternative and complementary therapies in osteoarthritis and cartilage repair. *Aging Clin Exp Res*, 2020, 32(4):547-560.
- [15] Lai LP, Stitik TP, Foye PM, et al. Use of platelet-rich plasma in intra-articular knee injections for osteoarthritis: a systematic review. *PM R*, 2015, 7(6):637-648.
- [16] Cook CS, Smith PA. Clinical update: why prp should be your first choice for injection therapy in treating osteoarthritis of the knee. *Curr Rev Musculoskelet Med*, 2018, 11(4):583-592.
- [17] Collins T, Alexander D, Barkatali B. Platelet-rich plasma: a narrative review. *EFORT Open Rev*, 2021, 6(4):225-235.
- [18] Melnikov DV, Kirillova KA, Zakharenko AS, et al. Effect of cryoprocessing on platelet-rich autoplasmal preparations. *Sovrem Tekhnologii Med*, 2021, 12(6):54-60.
- [19] Longjam DS, Akoijam JS, Ahongshangbam MS, et al. Comparison of the clinical effect of intra-articular injection of platelet-rich plasma and methyl prednisolone in primary osteoarthritis of knee: a randomized controlled trial. *Int J Adv Med*, 2019, 6(6):1842-1848.
- [20] Negrini F, De Lucia F, Negrini S, et al. Case report: rehabilitation after platelet-rich growth factors' intra-articular injections for knee osteoarthritis: two case reports of a home-based protocol. *Front Pharmacol*, 2021, 12:718060. doi:10.3389/fphar.2021.718060.
- [21] Szwedowski D, Szczepanek J, Paczesny Ł, et al. The effect of platelet-rich plasma on the intra-articular microenvironment in knee osteoarthritis. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11):5492.
- [22] Tischer T, Bode G, Buhs M, et al. Platelet-rich plasma (PRP) as therapy for cartilage, tendon and muscle damage—German working group position statement. *J Exp Orthop*, 2020, 7(1):64.
- [23] Johal H, Khan M, Yung SP, et al. Impact of platelet-rich plasma use on pain in Orthopaedic surgery: a systematic review and meta-analysis. *Sports Health*, 2019, 11(4):355-366.
- [24] 中国医疗保健国际交流促进会骨科分会. 富血小板血浆在关节外科临床应用专家共识(2018年版) *中华关节外科杂志(电子版)*, 2018, 12(5):596-600.
- [25] Trams E, Kulinski K, Kozar-Kaminska K. The clinical use of platelet-rich plasma in knee disorders and surgery—a systematic review and meta-analysis. *Life (Basel)*, 2020, 10(6):94.
- [26] Görmeli G, Görmeli CA, Ataoglu B, et al. Multiple PRP injections are more effective than single injections and hyaluronic acid in knees with early osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2017, 25(3):958-965.
- [27] Ahmad HS, Farrag SE, Okasha AE, et al. Clinical outcomes are associated with changes in ultrasonographic structural appearance after platelet-rich plasma treatment for knee osteoarthritis. *Int J Rheum Dis*, 2018, 21(5):960-966.
- [28] Buendía-López D, Medina-Quirós M, Fernández-Villacañás Marín MA. Clinical and radiographic comparison of a single LP-PRP injection, a single hyaluronic acid injection and daily NSAID administration with a 52-week follow-up: a randomized controlled trial. *J Orthop Traumatol*, 2018, 19(1):3.
- [29] Di Martino A, Di Matteo B, Papio T, et al. Platelet-rich plasma versus hyaluronic acid injections for the treatment of knee osteoarthritis: results at 5 years of a double-blind, randomized controlled trial. *Am J Sports Med*, 2019, 47(2):347-354.
- [30] Louis ML, Magalon J, Jouve E, et al. Growth factors levels determine efficacy of platelet-rich plasma injection in knee osteoarthritis: a randomized double blind noninferiority trial compared with viscosupplementation. *Arthroscopy*, 2018, 34(5):1530-1540.e2.
- [31] Su K, Bai Y, Wang J, et al. Comparison of hyaluronic acid and PRP intra-articular injection with combined intra-articular and intraosseous PRP injections to treat patients with knee osteoarthritis. *Clin Rheumatol*, 2018, 37(5):1341-1350.
- [32] Everts P, Onishi K, Jayaram P, et al. Platelet-rich plasma: new performance understandings and therapeutic considerations in 2020. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20):7794.
- [33] Kawase T, Okuda K. Comprehensive quality control of the regenerative therapy using platelet concentrates: the current situation and prospects in Japan. *Biomed Res Int*, 2018, 2018:6389157. doi:10.1155/2018/6389157.
- [34] Ornetti P, Nourissat G, Berenbaum F, et al. Does platelet-rich plasma have a role in the treatment of osteoarthritis? *Joint Bone Spine*, 2016, 83(1):31-36.

- [35] Qiao J, An N, Ouyang X. Quantification of growth factors in different platelet concentrates. *Platelets*, 2017, 28(8):774-778.
- [36] Graiet H, Lokchine A, Francois P, et al. Use of platelet-rich plasma in regenerative medicine; technical tools for correct quality control. *BMJ Open Sport Exerc Med*, 2018, 4(1):e000442.
- [37] Repsold L, Joubert AM. Eryptosis: an Erythrocyte's suicidal type of cell death. *Biomed Res Int*, 2018, 2018:9405617. doi:10.1155/2018/9405617.
- [38] 全血及成分血质量要求. GB 18469-2012.
- [39] Kim JH, Park YB, Ha CW. Adverse reactions and clinical outcomes for leukocyte-poor versus leukocyte-rich platelet-rich plasma in knee osteoarthritis; a systematic review and meta-analysis. *Orthop J Sports Med*, 2021, 9(6):23259671211011948.
- [40] Gilat R, Haunschild ED, Knapik DM, et al. Hyaluronic acid and platelet-rich plasma for the management of knee osteoarthritis. *Int Ortho*, 2021, 45(2):345-354.
- [41] Kikuchi N, Yoshioka T, Taniguchi Y, et al. Optimization of leukocyte-poor platelet-rich plasma preparation; a validation study of leukocyte-poor platelet-rich plasma obtained using different preparer, storage, and activation methods. *J Exp Orthop*, 2019, 6(1):24.
- [42] Kinoshita H, Orita S, Inage K, et al. Freeze-dried platelet-rich plasma induces osteoblast proliferation via platelet-derived growth factor receptor-mediated signal transduction. *Asian Spine J*, 2020, 14(1):1-8.
- [43] Hosny N, Goubran F, Hasan BB, et al. Assessment of vascular endothelial growth factor in fresh versus frozen platelet rich plasma. *J Blood Transfus*, 2015, 2015:706903. doi:10.1155/2015/706903.
- [44] Whitney KE, Dornan GJ, King J, et al. The effect of a single freeze-thaw cycle on matrix metalloproteinases in different human platelet-rich plasma formulations. *Biomedicines*, 2021, 9(10):1403.
- [45] Roffi A, Filardo G, Assirelli E, et al. "Does platelet-rich plasma freeze-thawing influence growth factor release and their effects on chondrocytes and synoviocytes?" *Biomed Res Int*, 2014, 2014:692913. doi:10.1155/2014/692913.
- [46] Lin KY, Yang CC, Hsu CJ, et al. Intraarticular injection of platelet-rich plasma is superior to hyaluronic acid or saline solution in the treatment of mild to moderate knee osteoarthritis; a randomized, double-blind, triple-parallel, placebo-controlled clinical trial. *Arthroscopy*, 2019, 35(1):106-117.
- [47] Cole BJ, Karas V, Hussey K, et al. Hyaluronic acid versus platelet-rich plasma; a prospective, doubleblind randomized controlled trial comparing clinical outcomes and effects on intra-articular biology for the treatment of knee osteoarthritis. *Am J Sports Med*, 2017, 45(2):339-346.
- [48] Duymus TM, Mutlu S, Demek B, et al. Choice of intra-articular injection in treatment of knee osteoarthritis: platelet-rich plasma, hyaluronic acid or ozone options. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2017, 25(2):485-492.
- [49] Huang Y, Liu X, Xu X, et al. Intra-articular injections of platelet-rich plasma, hyaluronic acid or corticosteroids for knee osteoarthritis; a prospective randomized controlled study. *Orthopade*, 2019, 48(3):239-247.
- [50] Joshi Jubert N, Rodríguez L, Reverté-Vinaixa MM, et al. Platelet-rich plasma injections for advanced knee osteoarthritis; a prospective, randomized, double-blinded clinical trial. *Orthop J Sports Med*, 2017, 5(2):2325967116689386.
- [51] Raeesadat SA, Hosseini PG, Bahrami MH, et al. The comparison effects of intra-articular injection of platelet rich plasma (PRP), plasma rich in growth factor (PRGF), hyaluronic acid (HA), and ozone in knee osteoarthritis; a one year randomized clinical trial. *BMC Musculoskelet Disord*, 2021, 22(1):134.
- [52] Ip HL, Nath DK, Sawleh SH, et al. Regenerative medicine for knee osteoarthritis-the efficacy and safety of intra-articular platelet-rich plasma and mesenchymal stem cells injections; a literature review. *Cureus*, 2020, 12(9):e10575.
- [53] Ehlers CB, Webb AR, McCormick BP. Standardized platelet rich plasma injections for osteoarthritis of the knee. *Cureus*, 2020, 12(10):e10900.
- [54] Taniguchi Y, Yoshioka T, Sugaya H, et al. Growth factor levels in leukocyte-poor platelet-rich plasma and correlations with donor age, gender, and platelets in the Japanese population. *J Exp Orthop*, 2019, 6(1):4.
- [55] 单桂秋, 李艳辉, 张雅妮, 等. 血小板凝胶制备方法的体外实验研究. *中国输血杂志*, 2011, 24(04):270-274.
- [56] Jain NK, Gulati M. Platelet-rich plasma; a healing virtuoso. *Blood Res*, 2016, 51(1):3-5.
- [57] Dai WL, Zhou AG, Zhang H, et al. Efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of knee osteoarthritis; a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arthroscopy*, 2017, 33(3):659-670.e1.
- [58] 中华人民共和国卫生部. 血细胞分析参考区间. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [59] Wu X, Zhao M, Pan B, et al. Complete blood count reference intervals for healthy han chinese adults. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0119669.
- [60] 王宏, 叶琴, 陆琳, 等. WS/T405-2012 血细胞分析参考区间. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(1):62-63.
- [61] Kavadar G, Demircioglu DT, Celik MY, et al. Effectiveness of platelet-rich plasma in the treatment of moderate knee osteoarthritis; a randomized prospective study. *J Phys Ther Sci*, 2015, 27(12):3863-3867.
- [62] Vilchez-Cavazos F, Millán-Alanís JM, Blázquez-Saldaña J, et al. Comparison of the clinical effectiveness of single versus multiple injections of platelet-rich plasma in the treatment of knee osteoarthritis; a systematic review and meta-analysis. *Orthop J Sports Med*, 2019, 7(12):2325967119887116.
- [63] El-Kadiry AE, Lumbao C, Salame N, et al. Bone marrow aspirate concentrate versus platelet-rich plasma for treating knee osteoarthritis; a one-year non-randomized retrospective comparative study. *BMC Musculoskelet Disord*, 2022, 23(1):23.
- [64] Magalon J, Velier M, Francois P, et al. Comment on "responders to platelet-rich plasma in osteoarthritis; a technical analysis". *Biomed Res Int*, 2017, 2017:8620257.
- [65] Gato-Calvo L, Magalhaes J, Ruiz-Romero C, et al. Platelet-rich plasma in osteoarthritis treatment; review of current evidence. *Ther Adv Chronic Dis*, 2019, 10:2040622319825567.
- [66] Delgado D, Garate A, Vincent H, et al. Current concepts in intraosseous Platelet-Rich Plasma injections for knee osteoarthritis. *J Clin Orthop Trauma*, 2019, 10(1):36-41.

聚合血红蛋白的脱氧及其对分子稳定性的影响研究*

郭小强¹ 王万军¹ 张丽莉² 王瑶曦³ 陈刚^{2,3,Δ}

[1.西南交通大学 生命科学与工程学院, 四川 成都 610031; 2.遵义医科大学珠海校区 生物工程系; 3.云锦华彰(北京)生物科技有限公司]

摘要:目的 考察牛源性聚合血红蛋白(polyhemoglobin, polyHb)脱氧过程中的主要因素对其脱氧效果的影响,并验证其热稳定性。**方法** 以血氧饱和度和溶氧量变化作为主要监测指标,考察 polyHb 溶液的气液比相界面面积、pH 值和血红蛋白(hemoglobin, Hb)浓度对脱氧过程的影响。在此基础上,在模拟巴氏病毒灭活条件下,以高铁血红蛋白(methemoglobin, MetHb)含量和 Hb 回收率作为监测指标,验证不同氧合程度对 polyHb 分子稳定性的影响。**结果** 气液比相界面面积越大,脱氧速率越快,脱氧效果越好;较低的 pH 值会使 polyHb 分子的氧亲和力降低,从而促进 polyHb 的脱氧;Hb 浓度对 polyHb 的脱氧没有显著影响。此外,稳定性试验考察结果表明,脱氧程度越高,polyHb 的耐热性增强,polyHb 的氧化程度越低,Hb 回收率越高。**结论** 气液比相界面面积和 pH 值对 polyHb 溶液的脱氧有着比较显著的影响,脱氧可以提高 polyHb 的分子稳定性。本研究可为血液代用品及载氧药物的产业化开发提供试验参考和理论依据。

关键词: 聚合血红蛋白;脱氧;气液比相界面面积;氧亲和力;分子稳定性

中图分类号: R331.1⁺41 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2022)12-1194-05

Study on deoxygenation of polymerized bovine hemoglobin and its effects on the molecular stability GUO Xiaoliang¹, WANG Wanjun¹, ZHANG Lili², WANG Yaoxi^{1,3}, CHEN Gang^{2,3}. 1. School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China; 2. Department of Bioengineering, Zhuhai Campus of Zunyi Medical University; 3. Beijing Pro-heme Biotechnology Co., Ltd

Abstract: Objective To identify the key factors that regulate the physical vacuum stirring deoxygenation process of bovine hemoglobin and evaluate the stabilities of polyHb solution with different oxygenation degree. **Methods** The effects of several factors including gas liquid specific phase boundary area, pH values and polyHb concentrations on deoxygenation process were investigated through monitoring the oxygen saturation of polyHb solution. Furthermore, the MetHb contents of the studied polyHb solutions were measured at regular intervals during the experiments to evaluate the molecular stability of the polyHb through monitoring the oxidation degrees of the experimental Hb solutions under the mimic pasteurization conditions. **Results** The results showed that the more gas liquid specific phase boundary area could accelerate deoxygenation rate, the better deoxygenation results could be yielded. On the other hand, lower pH value could promote the deoxygenation process of the polyHb solution due to the decreasing of oxygen affinity of the polyhemoglobin molecules. Further-

more, results of investigation about the Hb concentration presented that Hb concentration had no remarkable effects on the deoxygenation of polyHb. In addition, the results from the stability experiments presented that higher degree of deoxygenation could decrease the oxidation process and thus increase the heat tolerance of the polyhemoglobin. **Conclusion** The deoxygen-

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2022.12.002

* 基金项目:国家自然科学基金(32160238),贵州省科技人才项目(黔科合平台人才[2018]5772-024); Δ 通信作者:陈刚(1982.02-),博士,副研究员,主要从事载氧药物与血液代用品、生物大分子药物及药物新型载体等研究,电话:13536571578 Email:biomedicinechen@163.com

- [67] Guillibert C, Charpin C, Raffray M, et al. Single injection of high volume of autologous pure PRP provides a significant improvement in knee osteoarthritis; a prospective routine care study. *Int J Mol Sc*, 2019, 20(6):1327.
- [68] Rastogi AK, Davis KW, Ross A, et al. Fundamentals of joint injection. *AJR Am J Roentgenol*, 2016, 207(3):484-494.
- [69] Kenmochi M. Clinical outcomes following injections of leukocyte-rich platelet-rich plasma in osteoarthritis patients. *J Orthop*, 2019, 18:143-149.
- [70] Medina-Porqueres I, Martin-Garcia P, Sanz-De Diego S, et al. Platelet-rich plasma for thumb carpometacarpal joint osteoarthritis in

a professional pianist; case-based review. *Rheumatol Int*, 2019, 39(12):2167-2175.

[71] 胡燕,刘丽萍,张利,等.富血小板血浆的采集影响因素探讨. *中国输血杂志*, 2021, 34(11):1238-1241.

[72] Zhao J, Huang H, Liang G, et al. Effects and safety of the combination of platelet-rich plasma (PRP) and hyaluronic acid (HA) in the treatment of knee osteoarthritis; a systematic review and meta-analysis. *BMC Musculoskelet Disord*, 2020, 21(1):224.

(2022-06-07 收稿,12-21 修回)

本文编辑:蔡辉