

富血小板血浆术后不同干预时机对大鼠随意皮瓣成活的影响

林泽安, 方林森*

安徽医科大学第一附属医院烧伤科, 安徽 合肥

收稿日期: 2026年4月21日; 录用日期: 2026年5月15日; 发布日期: 2026年5月22日

摘要

目的: 观察富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)不同术后干预时机对大鼠随意皮瓣成活的影响, 并比较术后即刻给药后再于术后第3天追加PRP的干预效果。方法: 采用改良McFarlane大鼠背部随意皮瓣模型。实验动物随机分为空白组、术后即刻组、术后第1天组、术后即刻 + 术后第3天组和术后第3天组, 于相应时间点给予PRP干预。术后第7天观察测定皮瓣坏死率, 并采用Western blot检测Caspase-1、IL-1 β 和IL-18蛋白表达。结果: 各PRP干预组皮瓣坏死范围均较空白组缩小。预设比较显示, 术后即刻组坏死率低于空白组, 术后即刻 + 术后第3天组坏死率进一步低于术后即刻组(均 $P < 0.05$)。Western blot结果显示, IL-1 β 、IL-18和Caspase-1组间总体差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。其中, 术后即刻 + 术后第3天组IL-1 β 和Caspase-1水平进一步降低, 而IL-18主要表现为空白组与各干预组之间差异。结论: PRP不同术后干预时机与大鼠随意皮瓣成活结局相关。术后即刻给药可改善皮瓣成活, 在此基础上于术后第3天追加一次干预, 可进一步降低坏死率。

关键词

富血小板血浆, 随意皮瓣, 术后干预时机, 追加给药, 炎症反应

Effect of Platelet-Rich Plasma Administered at Different Postoperative Time Points on the Survival of Random-Pattern Skin Flaps in Rats

Zean Lin, Linsen Fang*

Department of Burns, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei Anhui

Received: April 21, 2026; accepted: May 15, 2026; published: May 22, 2026

*通讯作者。

Abstract

Objective: To determine whether the postoperative timing of PRP administration affects random-pattern skin flap survival in rats, and whether an additional dose on postoperative day 3 provides further benefit after immediate treatment. **Methods:** A modified McFarlane dorsal random-pattern skin flap model was established in rats. Animals were assigned to an untreated group, an immediate postoperative PRP group, a postoperative day 1 PRP group, an immediate postoperative plus postoperative day 3 PRP group, and a postoperative day 3 PRP group. PRP was administered at the designated time points. Flap necrosis rate was assessed on postoperative day 7. Caspase-1, IL-1 β , and IL-18 protein expression was measured by Western blot. **Results:** Flap necrotic area was smaller in all PRP intervention groups than in the untreated group. Planned comparisons showed that immediate postoperative PRP reduced the necrosis rate versus the untreated group, while immediate postoperative PRP plus an additional POD3 treatment further reduced necrosis versus immediate postoperative PRP alone (both $P < 0.05$). Western blot results showed that IL-1 β , IL-18, and Caspase-1 expression also differed significantly among groups overall (all $P < 0.05$). In the immediate postoperative plus postoperative day 3 group, IL-1 β and Caspase-1 levels were lower than those in the three single-treatment groups, whereas IL-18 mainly differed between the untreated group and the PRP-treated groups. **Conclusion:** The effect of PRP on flap survival in this rat model varied with postoperative timing. Immediate postoperative treatment improved flap survival, and an additional dose on postoperative day 3 further reduced flap necrosis.

Keywords

Platelet-Rich Plasma, Random-Pattern Skin Flap, Postoperative Timing of Intervention, Additional Dosing, Inflammatory Response

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

在临床中, 随意皮瓣于体表软组织缺损修复中应用广泛。与轴型皮瓣或游离皮瓣相比, 其设计较灵活, 取材相对方便, 在局部组织覆盖中仍有稳定应用价值[1]。但随意皮瓣血供主要依赖真皮下血管网, 远端区域易出现灌注不足和继发坏死, 这是限制其成活的主要问题之一[1][2]。

富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)来源于自体血液, 制备相对简便, 已被用于多种组织修复场景的辅助治疗[3]。PRP 中含有多种血小板释放的生物活性成分, 可参与炎症调节、血管生成及组织修复过程[3][4]。已有动物实验提示, PRP 用于皮瓣后可改善远端存活, 减轻炎症反应, 或降低缺血再灌注损伤[5][6]。但现有研究在给药时机、处理方式及观察终点等方面仍存在差异, 结论并不完全一致[4]。

从组织修复进程看, 术后不同时间点对应的局部环境并不相同。伤口早期以止血和炎症反应为主, 随后逐步转入增殖和修复阶段, 炎症向增殖的转换通常发生在术后数日内[7][8]。因此, 术后即刻、术后第 1 天和术后第 3 天给药所面对的组织生理学背景并不一致。同一种制剂在不同时间点进入组织, 其作用对象和效应幅度可能不同。基于这一点, 单次早期干预与后续追加给药有必要分开研究探索。

坏死面积比例可以提供最重要的宏观比较数据, 而局部变化还可从组织蛋白层面进行补充, 比如 Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 可从炎症相关层面提供辅助的证据[4][8]。本研究采用改良 McFarlane 大鼠背

部随意皮瓣模型, 比较不同术后干预时机下 PRP 对皮瓣成活的影响, 并重点观察在术后即刻给药基础上于术后第 3 天追加一次, 是否仍可获得进一步改善。

2. 材料与方法

2.1. 实验动物与分组

选用特定病原体阴性(specific pathogen-free, SPF)健康成年雌性 Sprague-Dawley (SD)大鼠, 体重 210~220 g, 实验动物购自安徽医科大学实验动物中心。动物饲养于 20℃~25℃、12 h 光暗交替的环境中, 自由摄食饮水, 实验前适应性饲养 1 周。本实验经安徽医科大学实验动物伦理委员会批准(批准号: LLSC20242525; 2025 年 3 月 18 日)。

采用随机数字表法将动物分为 5 组: 空白组、术后即刻组、术后第 1 天组、术后即刻 + 术后第 3 天组和术后第 3 天组。空白组不接受 PRP 干预, 术后即刻组于术后即刻给药; 术后第 1 天组于术后第 1 天给药, 术后第 3 天组于术后第 3 天给药, 术后即刻 + 术后第 3 天组于术后即刻及术后第 3 天分别给药 1 次。坏死面积定量及 Western blot 每组纳入 6 只动物。另取若干只同种异体 SPF 级健康成年雌性 SD 大鼠用于取血制备 PRP, 这些大鼠不纳入实验分组及统计分析。

2.2. PRP 制备

在无菌条件下采集同种异体大鼠全血, 以柠檬酸钠抗凝, 采用二次离心法制备 PRP。全血先于室温下 200 × g 离心 20 min, 离心后分为血浆层、白膜层和红细胞层。吸取血浆层及白膜层转入新离心管, 再次以 200 × g 离心 20 min。二次离心后弃去上层约 2/3 贫血小板血浆, 保留底部血小板沉淀及少量血浆, 沿管壁轻柔吹打重悬, 得到 PRP。所有供体全血及 PRP 样本均采用全自动血液分析仪进行检测。经检测供体全血血小板计数为 $(628 \pm 237) \times 10^6/\text{mL}$, 对血小板计数明显异常的供体样本, 不用于 PRP 制备。经二次离心后, PRP 成品血小板计数为 $(2026 \pm 253) \times 10^6/\text{mL}$, PRP 白细胞总数为 $3.3 - 7.6 \times 10^6/\text{mL}$ 。对于血小板浓缩倍数低于 3 倍或高于 5 倍的 PRP 样本予以剔除。

2.3. 随意皮瓣模型建立及 PRP 给药

于大鼠背部右侧设计 1 cm × 5 cm 长方形皮瓣, 头侧作为蒂部。为统一位置, 以背部后正中线与双侧肩胛下角连线交点为参考, 皮瓣头侧端位于该点尾侧约 1 cm 处; 皮瓣长轴与后正中线平行, 内侧缘距后正中约 1 cm。沿设计线切开皮肤、皮下组织及皮肤, 于深筋膜表面将皮瓣整体掀起, 切断外侧及尾侧胸背和后肋间穿支, 使皮瓣灌注主要依赖蒂部真皮下血管网。

将凝血酶冻干粉溶解于 10%葡萄糖酸钙注射液中, 配制为 1000 U/mL PRP 激活剂。给药前按 0.1 mL/cm² 剂量将 PRP 与激活剂按体积比 10:1 混合, 室温静置后形成凝胶, 凝胶随后数秒内回缩析出液体, 待液化后立即抽吸析出液体均匀注射于皮瓣基底部, 各批次均按相同流程连续完成激活与给药, 保证在室温条件下 PRP 在制备后 3 h 内完成活化与给药。空白组在相同部位均匀注射等体积生理盐水。术后即刻组于皮瓣缝合前给药, 随后使用 5-0 丝线间断原位缝合固定。其余各组先完成皮瓣建模及缝合, 再于相应时间点超声引导下进针给予 PRP。

2.4. 皮瓣存活及坏死面积评价

于术后第 7 天拍照记录各组皮瓣外观。拍照前清除表面分泌物及血痂。表面呈黑色、干燥、痂样改变的区域定义为坏死区; 颜色正常或轻度暗红、质地柔软且仍具弹性的区域定义为存活区。所有图像在定量前进行随机编号, 评估者在未知分组信息条件下完成面积测量。

将图像导入 Image-Pro Plus 6.0 软件, 测量皮瓣总面积及坏死面积, 并计算坏死面积占总面积的百分比, 记为坏死率。以单只动物的坏死率作为统计单位。

2.5. Western Blot 检测

于术后第 7 天取皮瓣远端交界区组织, 液氮速冻后保存于 -80°C 。取样后加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液匀浆提取总蛋白, 离心后取上清, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。按等量上样原则进行 SDS-PAGE 电泳并转膜至 PVDF 膜。膜封闭后分别孵育 Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 一抗, 再孵育相应二抗并显色。以 β -actin 作为内参。采用 ImageJ 软件测定条带灰度值, 条带灰度值分析在未知分组信息条件下完成, 以目标蛋白与 β -actin 灰度比值表示相对表达水平。

2.6. 统计学分析

采用 R 进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。坏死率为主要终点, 先采用单因素方差分析判断总体组间差异, 再围绕研究问题进行两组预设比较: 空白组与术后即刻组, 用于判断早期 PRP 干预是否有效; 术后即刻组与术后即刻 + 术后第 3 天组, 用于判断追加给药是否带来额外收益。两组比较采用独立样本 t 检验。

Western blot 指标先进行单因素方差分析, 总体差异有统计学意义后采用 Tukey 事后检验进行多重比较。图中字母用于表示组间差异, 不共享相同字母的组别差异有统计学意义。P < 0.05 视为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 不同术后干预时机 PRP 对皮瓣坏死率的影响

术后第 7 天, 各组皮瓣外观存在差异。空白组远端可见较明显黑痂样坏死区, 各 PRP 干预组远端坏死范围均较空白组缩小, 其中术后即刻 + 术后第 3 天组坏死范围最小。见图 1。

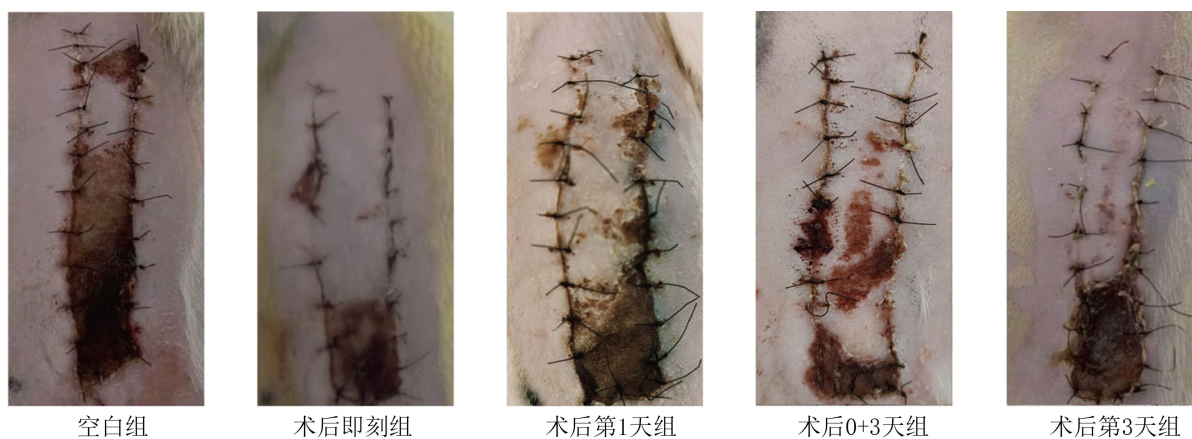
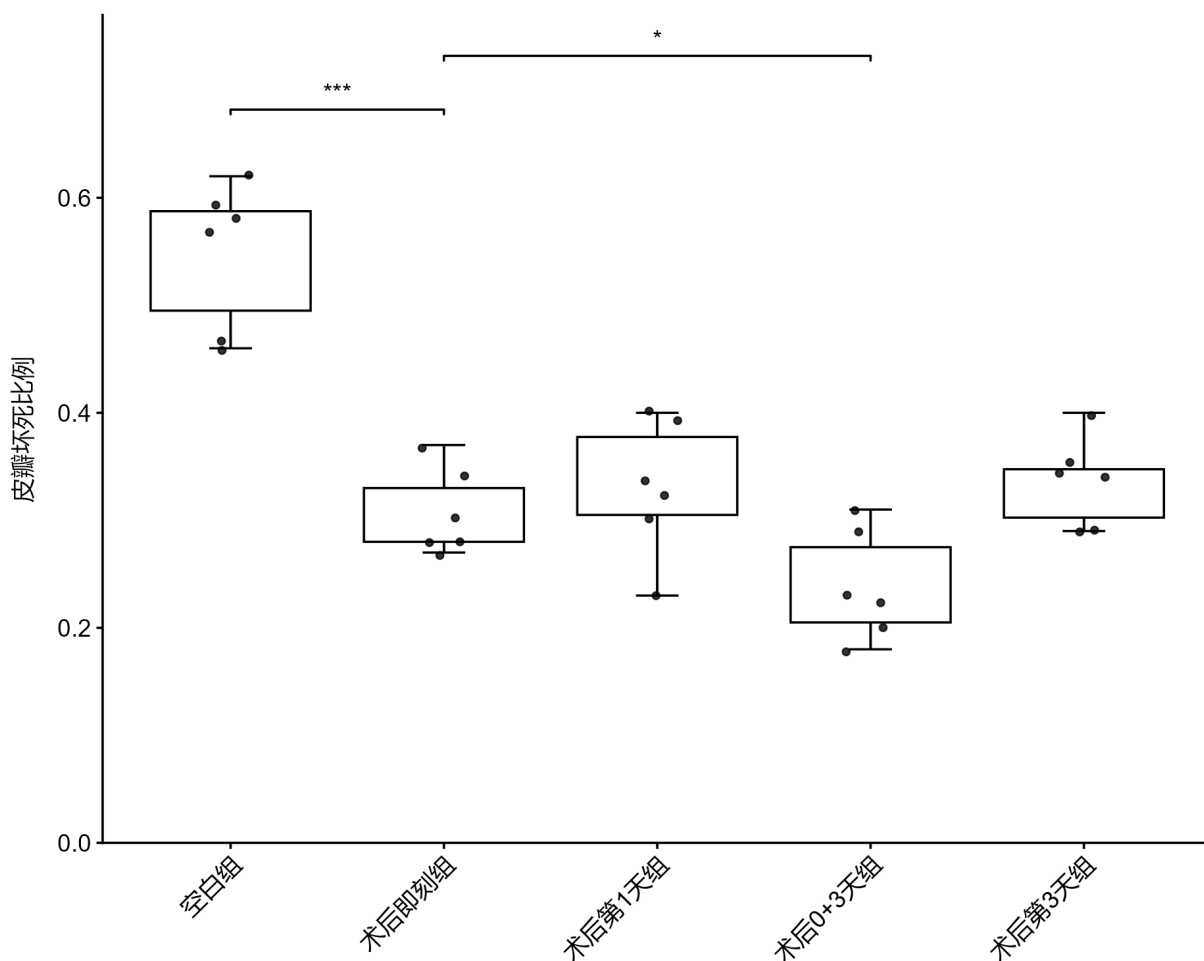


Figure 1. Gross appearance of flaps on postoperative day 7

图 1. 术后第 7 天各组皮瓣外观代表图

坏死率定量结果显示, 各组总体差异有统计学意义 ($F = 28.50, P < 0.001$)。空白组坏死率为 $(54.8 \pm 6.7)\%$, 术后即刻组为 $(30.7 \pm 4.0)\%$, 术后第 1 天组为 $(33.0 \pm 6.3)\%$, 术后即刻 + 术后第 3 天组为 $(23.8 \pm 5.1)\%$, 术后第 3 天组为 $(33.5 \pm 4.1)\%$ 。预设比较显示, 术后即刻组坏死率低于空白组 ($t = 7.61, P < 0.001$); 在此基础上, 术后即刻 + 术后第 3 天组坏死率进一步低于术后即刻组 ($t = 2.58, P = 0.029$)。见图 2。



* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ 。

Figure 2. Flap necrosis rate under different postoperative PRP regimens

图 2. 不同术后干预时机 PRP 对皮瓣坏死率的影响

3.2. 不同给药方案对炎症相关蛋白表达的影响

3.2.1. IL-1 β

IL-1 β 蛋白表达在各组间存在总体差异($F = 17.80, P < 0.001$)。空白组相对表达量为 0.99 ± 0.20 ，术后即刻组为 0.67 ± 0.05 ，术后第 1 天组为 0.68 ± 0.04 ，术后即刻 + 术后第 3 天组为 0.47 ± 0.10 ，术后第 3 天组为 0.68 ± 0.07 。Tukey 事后比较显示，空白组高于各干预组；术后即刻 + 术后第 3 天组低于术后即刻组、术后第 1 天组和术后第 3 天组；术后即刻组、术后第 1 天组和术后第 3 天组之间差异无统计学意义。见图 3(A)、图 3(B)。

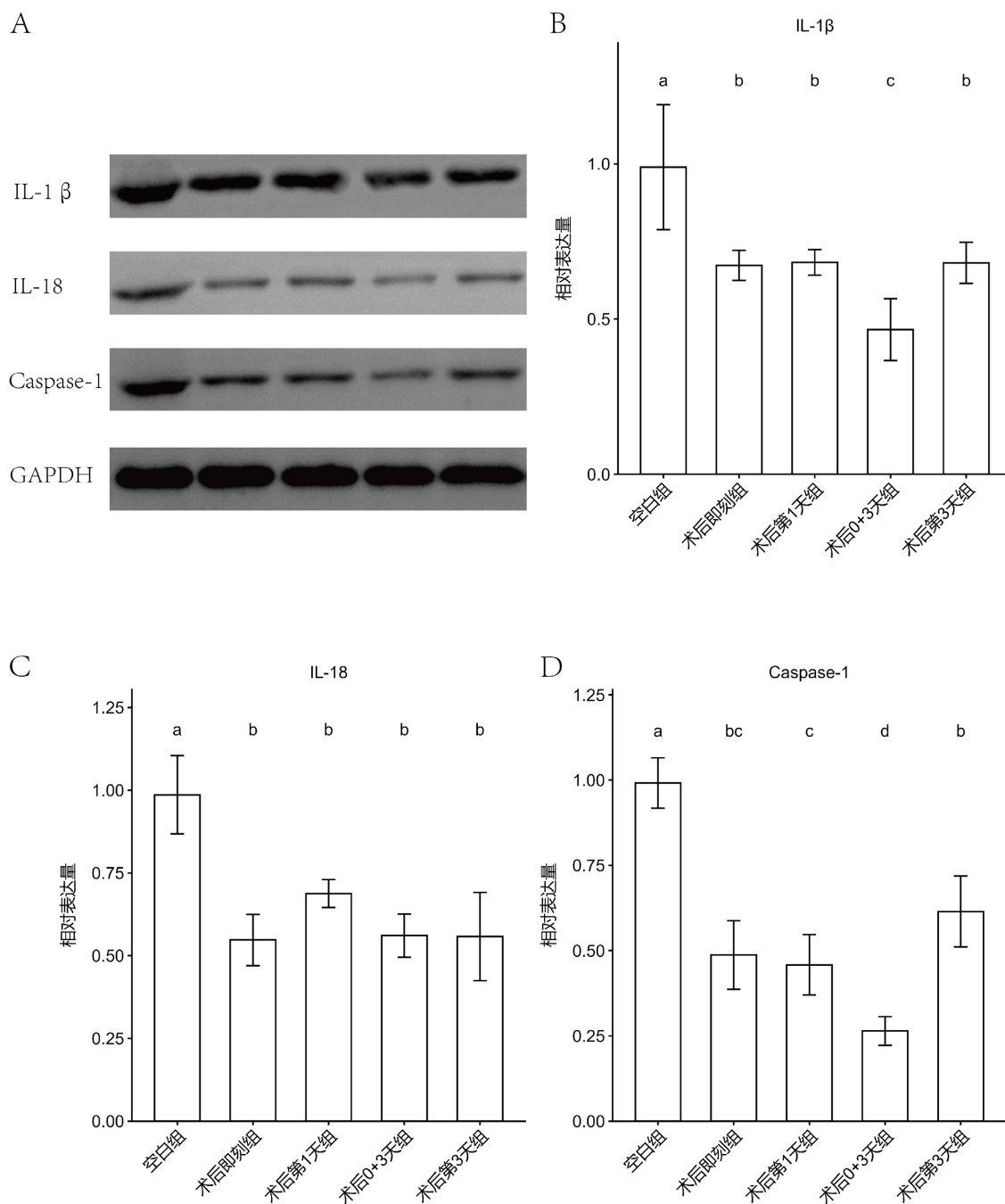
3.2.2. IL-18

IL-18 蛋白表达在各组间存在总体差异($F = 23.94, P < 0.001$)。空白组相对表达量为 0.99 ± 0.12 ，术后即刻组为 0.55 ± 0.08 ，术后第 1 天组为 0.69 ± 0.04 ，术后即刻 + 术后第 3 天组为 0.56 ± 0.07 ，术后第 3 天组为 0.56 ± 0.13 。Tukey 事后比较显示，空白组高于各干预组；各干预组之间差异无统计学意义。见图 3(A)、图 3(C)。

3.2.3. Caspase-1

Caspase-1 蛋白表达在各组间存在总体差异($F = 61.04, P < 0.001$)。空白组相对表达量为 0.99 ± 0.07 ，

术后即刻组为 0.49 ± 0.10 , 术后第 1 天组为 0.46 ± 0.09 , 术后即刻 + 术后第 3 天组为 0.26 ± 0.04 , 术后第 3 天组为 0.61 ± 0.10 。Tukey 事后比较显示, 空白组高于各干预组; 术后即刻 + 术后第 3 天组低于术后即刻组、术后第 1 天组和术后第 3 天组; 术后第 3 天组高于术后第 1 天组; 术后即刻组与术后第 1 天组、术后即刻组与术后第 3 天组之间差异无统计学意义。见图 3(A)、图 3(D)。



A: 各组皮瓣组织中 IL-1 β 、IL-18 和 Caspase-1 的代表性 Western blot 条带图。B~D: IL-1 β 、IL-18 和 Caspase-1 的灰度定量结果。不同字母表示差异有统计学意义。

Figure 3. Expression of inflammatory-related proteins under different PRP regimens
图 3. 不同给药方案下炎症相关蛋白表达水平

4. 讨论

本研究比较了 PRP 在不同术后干预时机下对大鼠随意皮瓣成活的影响。结果显示, 术后即刻组坏死率低于空白组, 在此基础上术后即刻 + 术后第 3 天组坏死率进一步下降。就单次给药方案而言, 术后第 1 天组和术后第 3 天组坏死率数值均高于术后即刻组。上述结果表明术后干预时机不同, PRP 对皮瓣成活的改善程度也不同, 在早期给药基础上于术后第 3 天追加一次, 仍可获得进一步改善。

这一结果与皮瓣术后局部环境的阶段性变化基本一致。随机皮瓣术后早期主要面临缺血、渗出和炎症反应放大, 随后才逐步进入坏死清除、微环境重建和修复推进阶段[7][8]。因此, 术后即刻、术后第 1 天和术后第 3 天并不对应同一组织背景。术后即刻给药更接近损伤起点, 单次延后至术后第 3 天并不能替代早期干预。另一方面, 术后即刻 + 术后第 3 天组优于术后即刻组, 提示追加给药并非简单重复, 而是在早期干预基础上进一步压低了终点坏死率。既往关于 PRP 与皮瓣成活的研究, 多集中于干预组与对照组之间的比较, 主要探究 PRP 是否有效[5][6]。本研究在此基础上进一步比较了术后不同干预时机, 并纳入术后第 3 天追加给药方案。结果显示, PRP 的作用并非与术后时间点无关。单次给药中, 术后即刻组坏死率数值最低; 在此基础上于术后第 3 天再给药, 结局仍可进一步改善。与单纯验证疗效相比, 这一结果更接近临床上对给药时机和追加策略的实际判断。

Western blot 结果从炎症相关层面提供了补充信息。IL-1 β 、IL-18 和 Caspase-1 在空白组均处于较高水平, PRP 干预后整体下降, 说明干预组局部炎症相关状态低于空白对照。但 3 个指标并未呈现完全一致的变化。IL-18 在空白组与各 PRP 干预组之间存在差异, 干预组内部却并没有表现出明显差异。而 IL-1 β 和 Caspase-1 在不同给药方案中的差异则更加明显, 追加给药在 IL-1 β 和 Caspase-1 这两个指标上对应了更低的表达水平。原因可能在于三者虽同属炎症小体相关分子, 但 Caspase-1 更接近炎症小体活化本身, IL-1 β 更偏向损伤后的诱导性升高, 而 IL-18 在皮肤相关组织中存在一定基础表达, 且细胞来源广泛。本研究检测的是术后第 7 天交界区组织匀浆总蛋白, 结果容易受到局部坏死程度、细胞构成及蛋白代谢过程的影响, 这些都可能是 3 个指标的组间变化未呈现出完全平行的变化的原因。

本研究仍有一定局限。第一, 观察终点统一设在术后第 7 天, 能够完成不同给药方案之间的横断面比较, 但不能反映更早阶段的动态变化。第二, 本研究重点放在时间窗和追加给药, 未进一步比较不同剂量、不同频次及更长观察周期。第三, 炎症相关蛋白检测仅限于 Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18, 能够支持炎症状态差异的判断, 但不能覆盖皮瓣修复过程中的全部变化。总体来看, 在该高缺血负荷随意皮瓣模型中, PRP 干预与皮瓣成活改善相关; 术后即刻给药后于术后第 3 天追加一次, 可进一步降低坏死率, 并伴随部分炎症相关蛋白继续下调。

5. 结论

研究表明, PRP 于术后不同干预时机可以造成不同的皮瓣成活结局。术后即刻给药可降低大鼠随意皮瓣坏死率, 在此基础上于术后第 3 天追加一次干预, 可进一步改善结局。炎症相关蛋白结果显示, 追加给药组 IL-1 β 和 Caspase-1 表达进一步降低。说明在该高缺血负荷随意皮瓣模型中, PRP 的干预效果与术后时机有关, 早期给药联合后续追加具有更优表现。

利益冲突

所有作者声明不存在利益冲突。

基金项目

该研究资金由安徽医科大学临床医学高峰学科建设项目(编号: 9301001815)资助。

参考文献

- [1] Hashimoto, I., Abe, Y., Ishida, S., Kashiwagi, K., Minoda, K., Yamashita, Y., *et al.* (2016) Development of Skin Flaps for Reconstructive Surgery: Random Pattern Flap to Perforator Flap. *The Journal of Medical Investigation*, **63**, 159-162. <https://doi.org/10.2152/jmi.63.159>
- [2] Lee, J.H., You, H.J., Lee, T.Y. and Kang, H.J. (2022) Current Status of Experimental Animal Skin Flap Models: Ischemic Preconditioning and Molecular Factors. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 5234. <https://doi.org/10.3390/ijms23095234>
- [3] Alves, R. and Grimalt, R. (2018) A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. *Skin Appendage Disorders*, **4**, 18-24. <https://doi.org/10.1159/000477353>
- [4] Chicharro-Alcántara, D., Rubio-Zaragoza, M., Damiá-Giménez, E., Carrillo-Poveda, J., Cuervo-Serrato, B., Peláez-Gorrea, P., *et al.* (2018) Platelet Rich Plasma: New Insights for Cutaneous Wound Healing Management. *Journal of Functional Biomaterials*, **9**, Article 10. <https://doi.org/10.3390/jfb9010010>
- [5] Rah, D.K., Min, H.J., Kim, Y.W. and Cheon, Y.W. (2017) Effect of Platelet-Rich Plasma on Ischemia-Reperfusion Injury in a Skin Flap Mouse Model. *International Journal of Medical Sciences*, **14**, 829-839. <https://doi.org/10.7150/ijms.19573>
- [6] Chai, J., Ge, J. and Zou, J. (2019) Effect of Autologous Platelet-Rich Plasma Gel on Skin Flap Survival. *Medical Science Monitor*, **25**, 1611-1620. <https://doi.org/10.12659/msm.913115>
- [7] Landén, N.X., Li, D. and Stähle, M. (2016) Transition from Inflammation to Proliferation: A Critical Step during Wound Healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **73**, 3861-3885. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2268-0>
- [8] Ellis, S., Lin, E.J. and Tartar, D. (2018) Immunology of Wound Healing. *Current Dermatology Reports*, **7**, 350-358. <https://doi.org/10.1007/s13671-018-0234-9>