

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.28.008 [http://www.crter.org]

张兴安, 吴蜀江, 卢海彬, 石修全, 王洪玲, 曹云亮, 李元秀. 自体富血小板血浆修复面神经损伤[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(28):5145-5150.

自体富血小板血浆修复面神经损伤*

张兴安¹, 吴蜀江², 卢海彬², 石修全¹, 王洪玲², 曹云亮¹, 李元秀³ (1遵义医学院研究生院, 贵州省遵义市 563003; 大连大学附属中山医院, ²口腔科, ³肌电图室, 辽宁省大连市 116011)

文章亮点:

文章具有临床实用价值, 其热点内容主要集中在面神经损伤修复与再生微环境的营造, 各类神经营养因子在面神经损伤修复再生过程中的作用等, 通过动物实验证明富血小板血浆在面神经损伤修复再生中具有促进作用。

关键词:

组织构建; 神经组织构建; 自体富血小板血浆; 面神经损伤; 硅胶神经再生室; 神经生长因子; 神经再生

摘要

背景: 周围性面神经损伤治疗包括手术、理疗及药物等方法, 但有些情况下治疗效果并不十分理想。

目的: 研究自体富血小板血浆在面神经损伤修复中的作用。

方法: 将健康大白兔 10 只双侧面部神经上颊支横断后置入硅胶神经再生导管, 一侧注入富血小板血浆为实验侧, 另一侧注入生理盐水为对照侧。术后 8 周进行面神经大体观察、神经电生理检测、组织学观察、图像分析、评价面神经再生恢复情况。

结果与结论: 实验侧口轮匝肌动作电位潜伏期明显低于对照侧, 复合神经肌肉动作电位振幅(M波)明显高于对照侧($P < 0.01$)。实验侧再生神经更显成熟, 再生轴突较多, 髓鞘分化较好, 髓鞘厚度较均匀, 再生轴突的直径接近正常, 神经轴突较密集, 排列较规则, 神经纤维外膜较对照侧增厚, 胶原纤维、弹力纤维层较对照侧增多; 对照侧再生轴突数目较少, 分布不均匀, 轴突发育较差, 并见大量纤维结缔组织, 空泡变性较实验侧为多。实验侧再生神经在有髓轴突直径、面积、髓鞘厚度及轴突计数等方面均明显优于对照侧, 两组差异有显著性($P < 0.01$)。提示富血小板血浆在面神经损伤修复再生中具有促进作用。

Autologous platelet rich plasma repair facial nerve injury

Zhang Xing-an¹, Wu Shu-jiang², Lu Hai-bin², Shi Xiu-quan¹, Wang Hong-ling², Cao Yun-liang¹, Li Yuan-xiu³
(¹Department of Postgraduate, Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China;
²Department of Stomatology, ³Department of Electromyogram Room, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian 116001, Liaoning Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Therapeutic methods for of peripheral facial nerve injury include surgery, physical therapy and drug treatment, but the treatment effect is not ideal in some certain cases.

OBJECTIVE: To study the effect of autologous platelet rich plasma on repair of facial nerve injury.

METHODS: The bilateral destroyed buccal nerve branches of the 10 white rabbits were put in silica gel nerve regeneration chamber, one side injected with platelet rich plasma as experimental group, the other side injected with normal saline as control group. The general observation, neuroelectrophysiology detection, histological observation, image analysis and evaluation of facial nerve regeneration recovery were performed at 8 weeks after surgery.

RESULTS AND CONCLUSION: The action potential latency of the orbicularis oris at the experimental side was significantly lower than that at the control side, and the action potential amplitude (M wave) of compound nerve muscle of the experimental side was significantly higher than that of the control side ($P < 0.01$). Compared with the control side, the regenerative nerves of the experimental side were more mature with more regenerative axons, and the differentiation of myelin sheath was more mature and the thickness of myelin sheath was well-distributed. Meanwhile, the diameters of axons were closed to the normal diameter, and the nerve axons were more intensive and arranged more regularly, the outer membrane of nerve fiber was thicker and the collagen fiber and elastic fiber layer were increased when compared with the control group. The number of regenerative axons of the control side was less, and the axons were distributed irregularly and poorly developed, and a large number of fibrous connective tissues were observed. The vacuolar degeneration at the control side was more than the experimental side. The regenerated nerve in the experimental side was better than the control side in the diameter of myelinated axon, area, myelin sheath thickness and axon count, and there were significant differences between two groups ($P < 0.01$). It indicates that platelet rich plasma has a promoting effect in the repair and regeneration of facial nerve.

张兴安★, 男, 1977年生, 四川省南充市人, 汉族, 遵义医学院在读硕士, 主治医师, 主要从事面神经损伤修复方面的研究。
378718226@qq.com
nczhangxingan@tom.com.

通讯作者: 吴蜀江, 硕士, 主任医师, 硕士生导师, 大连大学附属中山医院口腔科, 辽宁省大连市 116011
wushujiang61@sina.com

中图分类号: R318
文献标识码: A
文章编号: 2095-4344
(2013)28-05145-06

收稿日期: 2013-05-28
修回日期: 2013-06-05
(201304186/YJ-C)

Zhang Xing-an★, Studying for master's degree, Attending physician, Department of Postgraduate, Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
378718226@qq.com,
nczhangxingan@tom.com

Corresponding author: Wu Shu-jiang, Master, Chief physician, Master's supervisor, Department of Stomatology, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian 116001, Liaoning Province, China
wushujiang61@sina.com

Supported by: Scientific Research Project of Dalian Municipal Health Bureau in 2010*

Received: 2013-05-28
Accepted: 2013-06-05

Key Words: tissue construction; nerve tissue construction; autologous platelet rich plasma; facial nerve injury; silica gel nerve regeneration chamber; nerve growth factor; neural regeneration

Zhang XA, Wu SJ, Lu HB, Shi XQ, Wang HL, Cao YL, Li YX. Autologous platelet rich plasma repair facial nerve injury. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(28):5145-5150.

0 引言

富血小板血浆是全血经过离心分离而得到的血液制品, 含有多种生长因子, 这些生长因子具有促进细胞增殖、分化、趋化和刺激血管化等多方面作用, 在多种组织修复与再生过程中起作用, 已用于骨再生促进骨修复、血管发生、软组织修复以及和干细胞复合用于骨科领域和组织工程^[1-2], 在口腔种植、颌面外科重建、牙周外科等也有广泛应用^[3-4]。有研究发现含有多种生长因子的富血小板血浆提取液能克服外源性神经生长因子的缺点和不足, 明显促进周围神经再生^[5]。富血小板血浆提取液能否促进面神经损伤的修复和再生目前还没有报告。

近年来, 许多学者对面神经损伤后的修复过程进行了大量的研究, 神经营养因子家族等在面神经再生过程中的促进作用及用药方式成为研究的重点。实验研究表明, 神经营养因子的局部应用对于受损面神经结构和功能的恢复起着重要作用^[6], 但这类药物为生物制剂, 价格昂贵, 不易得, 大多数疗效不确切, 且有不良反应, 目前大多还只是用于动物实验中, 大范围临床应用还受到限制^[7]。

因此, 有必要寻求一种简单, 方便, 有效没有不良反应物质用于促进面神经损伤的修复和再生。实验在健康大耳白兔面神经损伤模型中注入富血小板血浆提取液, 通过对兔面神经大体观察、电生理检测、组织形态学定量分析等方法, 初步探讨富血小板血浆在面神经损伤修复再生中的作用, 为富血小板血浆在面神经损伤的临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 实验于2012年4月至2013年1月在大连大学附属中山医院实验动物中心完成。

材料:

动物: 清洁级健康大耳白兔10只, 5-7个月龄, 雌雄不限, 体质量2.0-2.5 kg, 由大连医科大学实验动物中心提供, 动物许可证书: SCXK(辽)2008-0002。

实验兔置于室温(23±2)℃、相对湿度(50±5)%环境中, 分笼饲养; 实验中对动物的处理符合动物伦理学要求。

面神经损伤修复使用的试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
网状纤维试剂盒	广州市维格斯生物科技有限公司
NDI-200P+型神经电检诊仪	上海市海神医疗电子仪器厂
SC-3610 低速离心机	安徽中科中佳科学仪器有限公司
Nikon Ecope Ti 倒置显微镜、Nikon T1-RCP 计算机成像系统、Nikon 图像分析仪	日本 Nikon 公司

方法:

富血小板血浆的制备: 采用二次离心法^[8], 用10 mL注射器抽取1 mL复方枸橼酸钠抗凝剂, 再从兔耳中央动脉抽取5 mL血液, 摇匀, 置入离心管中, 以离心半径为13.5 cm、转速2 400 r/min离心10 min。液体分成上清液层和红细胞层, 吸取上清液及交界面以下1.0-2.0 mm的红细胞至另一离心管, 再次离心以离心半径为13.5 cm、转速3 600 r/min, 离心10 min。弃去上清液上3/4, 剩余液体约0.8 mL, 摇匀, 即为富血小板血浆。整个富血小板血浆的制作过程均需无菌操作。

实验动物分组: 健康大耳白兔10只双侧神经上颊支横断后置入硅胶神经再生导管(自制), 采用双侧自身对照, 随机分为实验侧和对照侧。实验侧注入富血小板血浆, 对照侧注入生理盐水。

面神经损伤实验模型的建立: 医用硅胶管(内径2.0 mm, 外径2.2 mm)剪成10 mm长, 制成神经再生导管, 浸泡于体积分数75%的乙醇中消毒30 min, 用无菌生理盐水冲洗备用。将兔以3.0%戊巴比妥钠(按30-40 mg/kg半量引导维持)耳缘静脉麻醉, 2%利多卡因颊部浸润麻醉(3 mL), 常规消毒铺巾, 于颊部眼睑缘下方1.5 cm处做3 cm长水平横切口, 切开皮肤、皮下组织至腮腺前缘嚼肌筋膜表面, 寻找并暴露面神经上颊支2 cm长, 快速垂直切断神经, 两侧均用自制神经导管套接吻合缺损, 将两神经断端各嵌入导管内2 mm, 用8-0丝线将两端神经外膜与硅胶管壁各缝合固定3针。实验侧用准备好的富血小板血浆0.2 mL注入硅胶管内, 对照侧用等量生理盐水注入。硫酸庆大霉素及生理盐水冲洗创口, 3-0丝线分层缝合伤口。动物分笼饲养, 面神经损伤后3 d常规肌注抗生素预防感染, 8周后进行相关检测。

大体观察: 面神经损伤后8周, 兔行3.0%戊巴比妥钠(30-40 mg/kg)耳缘静脉全身麻醉, 不做局部浸润麻醉, 然后沿原切口寻找并暴露修复的神经片段。观察周围组织的炎症、粘连及瘢痕情况、导管内神经再生情况、神

经瘤形成情况。

神经电生理检测：大体标本观察完毕，使用NDI-200P+型神经电生理分析系统，将刺激电极与神经干近心端充分接触，记录电极插入口轮匝肌3-5 mm，地极接同侧兔下肢。刺激方式为方波刺激，波宽1 ms，从0 mV开始增大刺激强度，直至出现最大反应波幅为止。检测口轮匝肌动作电位潜伏期和复合神经肌肉动作电位振幅(M波)值。

组织学观察：神经电生理检测完毕，处死动物，切取整段修复神经，即刻投入体积分数10%甲醛固定液中，固定24 h，常规脱水、透明、石蜡包埋。离神经导管近、远端各5 mm处行连续半薄切片，按厚度7 μm切片。

苏木精-伊红染色：将切片放入苏木精水溶液中染色5 min。酸水及氨水中分色，各10 s。流水冲洗1 h后入蒸馏水片刻。入体积分数70%和90%乙醇中脱水各10 min。入乙醇伊红染色液染色3 min。显微镜下观察。

氢氧化银氨液嗜银染色：常规脱蜡，水洗和双蒸馏水清洗。1%蛋白银溶液内浸银，60℃隔水恒温箱内孵育18 h。室温冷却。双蒸馏水清洗4次(时间控制在1 min以内)。在还原液中还原15 min。流水洗3 min，再用双蒸馏水清洗。0.5%氯化金水溶液浸泡40 min。流水洗3 min，再用双蒸馏水清洗。体积分数2%草酸水溶液浸泡20 min。流水洗5 min，再用双蒸馏水清洗。5%硫代硫酸钠水溶液浸泡3 min。流水洗5 min，再用双蒸馏水清洗。乙醇脱水、透明、封固。采用Nikon图像分析智能计数软件系统，在光镜下放大100倍，每张切片按方位随机选取5个视野进行计数。分别测量近、远心端再生轴突数和再生轴突直径，计算面积。

$$\text{面积} = \pi \times \text{再生轴突的长轴长度} \times \text{再生轴突的短轴长度} / 4$$

主要观察指标：观察再生神经的数量、髓鞘厚度、神经纤维的生长。

统计学分析：数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用SPSS 12.0统计软件(美国SPSS公司)对各组数据进行配对t检验， $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 所有实验兔均健康成活，无感染，无死亡，创口愈合良好，剖开原切口，两侧神经再生管内均有神经生长，故均进入结果分析。

2.2 富血小板血浆促进面神经损伤兔再生神经的生长 兔面神经损伤实验侧硅胶再生室周围可见一薄层纤维结缔组织包裹，导管与周围组织无明显粘连，透过硅胶再生室壁见纤维条索样组织长过缺损区。可见少许细小再生神经纤维及血管包裹于导管外侧，去除导管见再生神经连续性好，未形成吻合口处膨大和神

经瘤，神经表面血管生长丰富，其直径接近正常的神经干，见图1。



A: 实验侧再生神经(箭头)

B: 实验侧再生神经直径与正常神经接近

注：富血小板血浆治疗兔面神经损伤后，可见纤维条索样组织长过缺损区，细小再生神经纤维及血管包裹于导管外侧，去除导管见再生神经连续性好，未形成吻合口处膨大和神经瘤，神经表面血管生长丰富。

图1 兔面神经损伤实验侧再生神经的生长

Figure 1 Growth of regenerated nerve in the experimental side

兔面神经损伤对照侧可见导管口两端神经明显增粗，部分细小分支错位长入周围肌肉和腺体组织中，去除导管后见再生神经曾长锥形向中间生长，部分组织苍白，血运欠佳，其直径小于实验侧，见图2。



A: 对照侧再生神经(箭头)

B: 对照侧再生神经再生神经较细，中央明显狭窄

注：生理盐水治疗兔面神经损伤后，导管口两端神经明显增粗，部分细小分支错位长入周围肌肉和腺体组织中，去除导管后见再生神经曾长锥形向中间生长，部分组织苍白。

图2 兔面神经损伤对照侧再生神经的生长

Figure 2 Growth of regenerated nerve in the control side

2.3 富血小板血浆促进面神经损伤兔再生神经功能的恢复 神经电生理检测结果显示，面神经损伤后8周兔实验侧及对照侧均能引出清晰稳定的面神经复合动作电位，见图3。面神经损伤兔实验侧动作电位潜伏期明显短于对照侧($P < 0.01$)，而波幅则高于对对照侧($P < 0.01$)，见表1，说明富血小板血浆促进面神经功能的恢复。

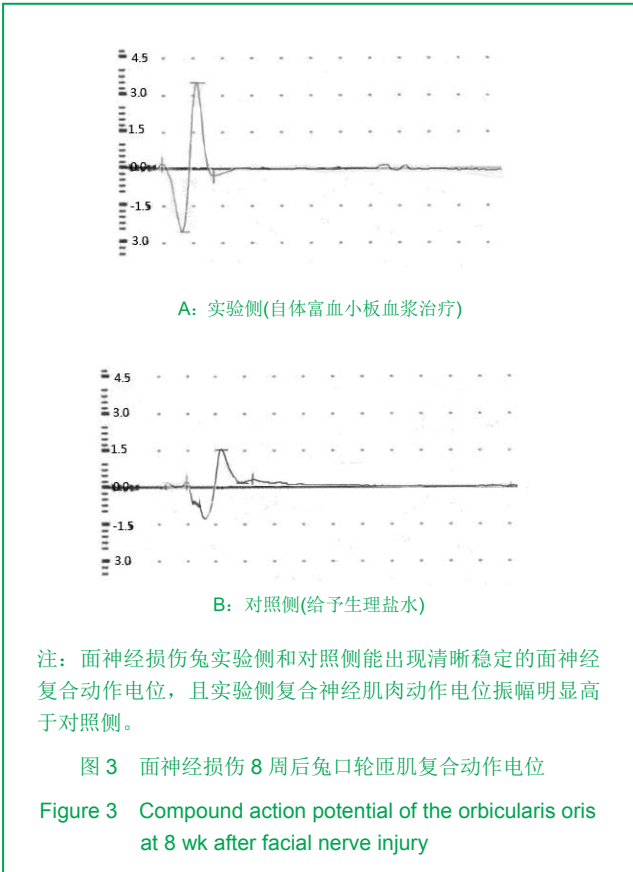


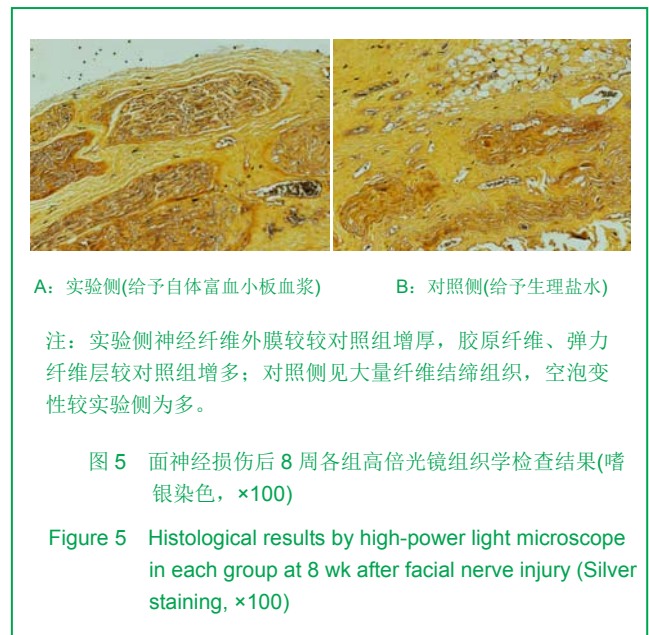
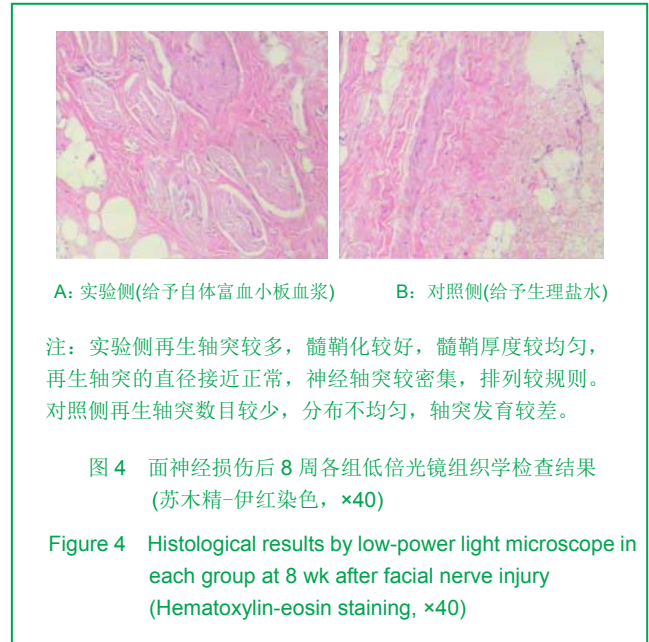
表1 面神经损伤后8周兔两侧面神经肌肉动作电位潜伏期和波幅

Table 1 Comparison of action potential latency and amplitude of the facial nerve muscle between two sides at 8 wk after facial nerve injury ($\bar{x} \pm s, n=10$)

部位	潜伏期(ms)	波幅(mV)
实验侧	1.93±0.27	3.45±0.24
对照侧	2.97±0.42	1.52±0.39
<i>t</i>	4.912	9.057
<i>P</i>	< 0.01	< 0.01

注: 口轮匝肌动作电位潜伏期和复合神经肌肉动作电位振幅(M波)值可作为判断面神经功能恢复的指标, 由于富血小板血浆治疗侧较生理盐水治疗的对照侧的动作电位潜伏期缩短, 且波幅升高, 提示富血小板血浆促进面神经功能的恢复。

2.4 富血小板血浆促进面神经损伤兔再生神经组织结构的恢复 苏木精-伊红染色及嗜银染色显示, 面神经损伤兔实验侧可见硅管中央核心部分由无髓和有髓轴突构成, 并伴有新生血管形成。再生轴突较多, 髓鞘化较好, 髓鞘厚度较均匀, 再生轴突的直径接近正常, 神经轴突较密集, 排列较规则, 神经纤维外膜较对照组增厚, 胶原纤维、弹力纤维层较对照组增多; 对照侧再生轴突数目较少, 分布不均匀, 轴突发育较差, 并见大量纤维结缔组织, 空泡变性较实验组为多, 见图4, 5。



面神经损伤后8周实验侧有髓轴突数目, 直径及面积均明显高于对照侧($P < 0.01$), 见表2。

表2 面神经损伤后第8周两侧有髓轴突数目、直径、面积

Table 2 Number, diameter and area of myelinated axons in two sides at 8 wk after facial nerve injury ($\bar{x} \pm s$)

部位	数目(个)	直径(μm)	面积(μm^2)
实验侧	2 092±425	2.31±0.19	4.21±0.70
对照侧	1 239±312	1.53±0.18	1.86±0.44
<i>t</i>	4.85	9.40	9.01
<i>P</i>	< 0.01	< 0.01	< 0.01

注: 由于富血小板血浆治疗侧的再生神经有髓轴突数目、直径、面积明显大于对照侧; 提示富血小板血浆能促进面神经功能的恢复。

3 讨论

外伤性面神经损伤是面瘫发病的重要原因, 多由颅颌面创伤和医源性损伤造成, 且近年来有上升趋势, 所以外伤性面神经损伤研究也是国内外学者研究的热点之一。其热点内容主要集中在面神经损伤修复与再生微环境的营造^[9-10], 各类神经营养因子在面神经损伤修复再生过程中的作用等^[11-12]。

面神经损伤后, 断裂轴突的再生与修复对预后起决定作用。神经损伤的修复和再生是个十分复杂的过程, 有赖于许旺细胞的分裂增殖和靶组织合成的神经营养因子的支持^[13], 需要局部微环境内许多因素的协调作用, 多种细胞因子参与其中^[14]。有研究表明, 在神经损伤早期, 许旺细胞由于没有大量分裂增殖, 且通过轴浆逆向运输营养因子骤减, 缺乏神经营养因子支持的神经元有可能死亡, 从而使周围神经不能再生或再生乏力。因此促进许旺细胞分裂增殖和早期在受损的微环境中导入外源性神经因子有助于损伤的修复和促进其再生^[15-16]。

有许多实验证实, 早期应用外源性神经营养因子, 可促进面神经修复再生^[17-19]。目前应用的神经营养因子大多疗效不确切且价格昂贵, 具体应用方法及不良反应方面仍有一定争议, 因此临床应用受到一定限制, 需寻找一种简单、方便、有效没有不良反应物质用于促进面神经损伤的修复和再生。富血小板血浆含有多种高浓度生长因子, 其活性可持续5-8 d, 弥补了外源性生长因子不足, 已有实验证实能促进周围神经损伤修复与再生^[5]。

实验通过兔面神经损伤模型, 利用硅胶管制作面神经再生室, 在其内注入自体富血小板血浆, 观察其对面神经再生的促进作用及神经功能恢复。结果表明富血小板血浆能促进面神经再生和改善神经功能。面神经损伤后第8周, 在硅胶再生导管内, 面神经已完全长过缺损区, 再生神经已经很成熟, 神经表面血管生长丰富, 其直径接近正常的神经干。光镜下, 神经束膜结构更完善, 轴索较密集、粗大, 髓鞘化显著, 髓鞘厚度较均匀, 再生轴突的直径接近正常, 神经轴突较密集, 排列较规则, 神经纤维外膜较对照组增厚, 胶原纤维、弹力纤维层较对照组增多。而电生理检测发现, 富血小板血浆组动作电位潜伏期明显短于对照组而波幅则高于对照组; 显微图像分析也表明, 面神经损伤后8周实验组有髓轴突数目, 直径及面积明显高于对照组。表明发生面神经损伤后, 早期应用富血小板血浆有利于面神经的修复和再生, 促进面神经功能早期恢复。

富血小板血浆提取液是血液经离心分层后位于白细胞上方富含血小板的血浆部分。当血小板激活后, 颗

粒释放出多种生长因子, 主要包括血小板衍生生长因子、胰岛素样生长因子、血管内皮生长因子、转化生长因子、成纤维细胞生长因子等。这其中也包含营养神经元和促进轴突生长的一些生长因子, 这些神经营养因子单独应用可促进周围神经生长^[20-22], 推测应用包含这些生长因子富血小板血浆也可对周围神经损伤后的再生产生影响, 实验证实了这一推测^[5]。这其中是单独某一生长因子起作用还是所有生长因子协同作用, 其机理还有待进一步研究。

富血小板血浆在临床各学科领域具有明显的优点, 富血小板血浆无疾病传染及免疫排斥反应, 从根本上解决了疾病之间传播的危险。富血小板血浆中含有多种高浓度的生长因子, 各生长因子的比例与体内正常比例相似, 并具有最佳的协同作用^[23]。富血小板血浆凝胶具有黏附性, 有利于移植物的黏附、防止生长因子的流失, 保持局部较高的生长因子浓度^[24-25]。富血小板血浆制作简单且对患者的损伤小, 只需从患者的静脉取血即可制作富血小板血浆, 国外已有专门制作富血小板血浆的仪器^[26], 操作简便并且所需时间短。因此, 通过自体富血小板血浆促进面神经损伤修复的进一步研究, 有可能为临床提供一条简单有效且利于面神经功能早期恢复的途径, 具有良好的临床应用前景。

基金资助: 2010年大连市卫生局科研课题, 课题名称: 自体富血小板血浆与NGF对面神经损伤修复作用的比较研究。

作者贡献: 实验设计及评估为通讯作者及第一作者, 实验实施由全体课题参与作者完成, 所有人员均经过正规科研培训。第一作者成文, 通讯作者审效并对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置应符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

学术术语: 自体富血小板血浆是通过离心自体全血分离出的含有高浓度血小板的血浆, 具有大量生长因子。作为自体血小板浓缩物, 其中所含的各种生长因子比例与正常生理浓度相近。各生长因子之间能有最佳的协同作用, 这也是其可更快促进组织修复的一个重要因素。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Andia I, Sánchez M, Maffulli N. Platelet rich plasma therapies for sports muscle injuries: any evidence behind clinical practice? *Expert Opin Biol Ther.* 2011;11(4):509-518.

- [2] Griffin XL, Smith CM, Costa ML. The clinical use of platelet-rich plasma in the promotion of bone healing: a systematic review. *Injury*. 2009;40(2):158-162.
- [3] Inchingolo F, Tatullo M, Marrelli M, et al. Regenerative surgery performed with platelet-rich plasma used in sinus lift elevation before dental implant surgery: an useful aid in healing and regeneration of bone tissue. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012;16(9):1222-1226.
- [4] Markou N, Pepelassi E, Kotsovilis S, et al. The use of platelet-rich plasma combined with demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of periodontal endosseous defects: a report of two clinical cases. *J Am Dent Assoc*. 2010;141(8):967-978.
- [5] 张卫兵,洪光祥,王发斌,等.自体富血小板血浆提取液对周围神经再生的作用[J].中华实用外科杂志,2006,23(9):1143.
- [6] 张森林,孟昭业,董震,等.神经生长因子几丁质管修复兔面神经缺损[J].中国现代医学杂志,2003,13(3):8-10.
- [7] Novikov L, Novikova L, Kellerth JO. Brain-derived neurotrophic factor promotes axonal regeneration and long-term survival of adult rat spinal motoneurons in vivo. *Neuroscience*. 1997;79(3):765-774.
- [8] Okuda K, Kawase T, Momose M, et al. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *J Periodontol*. 2003;74(6):849-857.
- [9] Hernández-Cortés P, Garrido J, Cámara M, et al. Failed digital nerve reconstruction by foreign body reaction to Neurolac nerve conduit. *Microsurgery*. 2010;30(5):414-416.
- [10] Wang CY, Liu JJ, Fan CY, et al. The effect of aligned core-shell nanofibres delivering NGF on the promotion of sciatic nerve regeneration. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2012; 23(1-4):167-184.
- [11] Serpe CJ, Byram SC, Sanders VM, et al. Brain-derived neurotrophic factor supports facial motoneuron survival after facial nerve transection in immunodeficient mice. *Brain Behav Immun*. 2005;19(2):173-180.
- [12] Guntinas-Lichius O, Irintchev A, Streppel M, et al. Factors limiting motor recovery after facial nerve transection in the rat: combined structural and functional analyses. *Eur J Neurosci*. 2005;21(2):391-402.
- [13] Fansa H, Keilhoff G, Förster G, et al. Acellular muscle with Schwann-cell implantation: an alternative biologic nerve conduit. *J Reconstr Microsurg*. 1999;15(7):531-537.
- [14] 李少兵,韩卉.神经营养因子与周围神经再生[J].解剖科学进展. 2001,7(3):265-270.
- [15] 王栓科,张致英,洪光祥.周围神经损伤与轴突趋向因子[J].现代康复,2001,5(18):54-55.
- [16] 陈炜,陈继川,姬长友,等.局部应用神经营养因子对面神经损伤修复作用的试验研究[J].重庆医学,2007,36(3):207-208.
- [17] 刘亚峰,高炳庆,梁传余,等.神经生长因子在面神经损伤修复中作用的实验研究[J].中华耳鼻咽喉科杂志,1998,33(1):27-29.
- [18] 张治军,高炳庆,梁传余,等.胰岛素样生长因子对面神经损伤的修复作用[J].中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志,2004,12(1):7-9.
- [19] Sánchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003;18(1):93-103.
- [20] 仇建军,张长青,袁霆,等.富血小板血浆及所含相关因子在组织修复再生中的应用与作用[J].中国组织工程研究与临床康复,2009, 13(41):8131-8134.
- [21] Yol S, Tekin A, Yilmaz H, et al. Effects of platelet rich plasma on colonic anastomosis. *J Surg Res*. 2008;146(2):190-194.
- [22] Kajikawa Y, Morihara T, Sakamoto H, et al. Platelet-rich plasma enhances the initial mobilization of circulation-derived cells for tendon healing. *J Cell Physiol*. 2008;215(3):837-845.
- [23] Landesberg R, Moses M, Karparkin M. Risks of using platelet rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg*. 1998;56(9): 1116-1117.
- [24] Robiony M, Polini F, Costa F, et al. Osteogenesis distraction and platelet-rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg*. 2002;60(6):630-635.
- [25] Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2000;58(3):297-301.
- [26] Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009;27(3):158-167.