

基础研究

椎体内注射医用生物蛋白胶对松质骨
创面出血影响的实验研究

庞广兴, 陈建庭, 钟招明, 郑锦畅, 裴卫卫

(南方医科大学南方医院脊柱骨病外科 510515 广州市)

【摘要】目的:探讨椎体内注射医用生物蛋白胶减少松质骨创面出血的有效性与安全性。**方法:**10 只成年家犬全麻下前路暴露 L2~L5 椎体, 其中 6 只动物 L2~L5 椎体随机分为实验组与对照组, 每组每只 2 个椎体。实验组椎体内注射医用生物蛋白胶, 对照组未注射给药, 给药 30s 后同时于 L2~L5 椎体前方作直径 8mm、深 6mm 的骨缺损, 记录骨创面的控制出血时间、止血时间、出血量及各组 10min 内止血百分比。另 4 只动物 L2~L5 椎体内注入医用生物蛋白胶与欧乃派克混合物, 给药 30min 后行 CT 扫描计算椎体内药物扩散体积百分比, 观察药物局部渗漏及静脉渗漏情况。所有动物实验前后检测血浆凝血酶原时间(PT), 术后 3d 拍胸部 X 线片后处死, 剖胸探查有无肺梗死灶。**结果:**实验组和对照组的控制出血时间分别为 $97\pm 48s$ 和 $417\pm 101s$ ($P<0.001$), 止血时间分别为 $291\pm 167s$ 和 $890\pm 237s$ ($P<0.001$), 出血量分别为 $0.80\pm 0.67g$ 和 $4.39\pm 1.84g$ ($P<0.001$), 10min 内止血百分比分别为 91.67% 和 16.67% ($P=0.001$)。药物扩散体积百分比为 $72.1\%\pm 11.2\%$ 。药物造影组 CT 扫描未发现静脉渗漏, 椎间孔渗漏 1 个(6.25%), 椎管内渗漏 5 个(31.25%)。所有动物实验前、后 PT 转异率无显著性差异 ($P=0.628$)。所有动物术后未发现神经损伤症状, 胸片未见肺梗死征象, 剖胸探查未发现肺梗死灶。**结论:**成年家犬椎体内注射医用生物蛋白胶可明显减少松质骨创面出血, 安全性较好。

【关键词】 医用生物蛋白胶; 椎体; 注射; 出血; 犬

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2009.05.13

中图分类号: R605, R318.08 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2009)-05-0372-04

Injection of fibrin sealant directly into vertebral body for hemostasis of injured cancellous bone: an experimental study/PANG Guangxing, CHEN Jianting, ZHONG Zhaoming, et al/Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2009, 19(5): 372~375

【Abstract】 Objective: To evaluate the hemostatic efficacy and safety in injured cancellous bone by injection of fibrin sealant (FS) directly into vertebral body. **Method:** The lumbar vertebral body of L2-L5 in 10 adult dogs were exposed through anterior approach under intravenous anesthesia. In 6 dogs, vertebral bodies of L2-L5 were randomized to experimental and control group. In experimental group, FS was injected directly into vertebral bodies, control group was used as blank control. One bone defect of 8mm in diameter and 6mm in depth was created in L2-L5 vertebral bodies at the same time. The time of controlled bleeding and hemostasis, hemorrhagic volume and percentage of hemostasis in 10min were recorded. In the other 4 dogs, FS mixed with lohexol was injected into the 16 vertebral bodies. The percentage of distribution of FS in the vertebral body was calculated under CT scan. The blood coagulating functions were examined before and after experiment, CT scan were performed to assess FS leakage. Chest X-ray was obtained, after that, the 10 dogs were executed to explore the statue of pulmonary infarction at the third day after experiment. **Result:** The time to controll bleeding was 97 ± 48 second and 417 ± 101 second for experimental group and control group respectively, the time to hemostasis was 291 ± 167 second and 890 ± 237 second, the hemorrhagic volume was $0.80\pm 0.67g$ and $4.39\pm 1.84g$ for experimental group and control group respectively ($P<0.001$). Hemostasis was achieved within 10 minutes in 11 bodies (91.67%) in experimental group and in 3 bodies in control group (16.67%) ($P=0.001$). The average percentage of distribution of FS in the vertebral body was $72.1\%\pm 11.2\%$. There was

第一作者简介: 男(1978-), 在读硕士, 研究方向: 脊柱畸形

电话: (020)62787190 E-mail: pangguangxing78@163.com

通讯作者: 陈建庭

no significant difference in PT between pre-and post-experiment in all dogs ($P=0.628$).FS leakage was found in 6 bodies (37.50%),including 5 slight epidural leakage,1 slight foramina leakage,FS entering vein was not found and no major neurological complication was found.Pulmonary infarction was not found in autopsy and radiograph.**Conclusion:**Injection of FS directly into vertebral body offered effective and safe hemostasis on injured cancellous bone.

【Key words】 Fibrin sealant; Injection; Vertebral body; Hemostasis; Dog

【Author's address】 Department of Spinal and Orthopedic Surgery, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, 510515, China

在椎体切除或截骨手术中,椎体松质骨创面由于血窦丰富、结构松散,术中出血往往较多。Cho 等^[1]报道 41 例经椎弓根截骨术中平均出血量高达 $2617 \pm 1645 \text{ml}$ 。尽管局部止血药对于松质骨创面的止血疗效已得到证实^[2-5],但传统的局部给药方法都是在骨创面暴露后直接应用于创面表面。在椎体切除或截骨的过程中,松质骨创面的暴露是一个不断重复的动态过程,传统的给药方法在这种情况下很难达到止血效果。因此,探索一种能在椎体骨创面暴露之前预防或减少创面出血的方法显得非常有必要。本研究选择医用生物蛋白胶作为实验研究材料,通过椎体内注射的方式,观察其预防或减少创面出血的有效性与安全性,为临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

健康成年家犬 10 只(南方医科大学实验动物中心提供),年龄 1.2~2.3 岁,体重 12~17kg,雌雄不限;医用生物蛋白胶(广州倍绣生物技术有限公司);碘海醇注射液(上海通用电气药业有限公司);电子天平(Sartorius BS223, $d=0.001\text{g}$);秒表(上海秒表厂);CT 机(GE Light Speed 16, GE 公司);X 光机(KXO-15R, Toshiba 公司);钻头;电钻;电刀;手术器械一套。

1.2 实验方法

随机抽取 6 只家犬,术前禁食 12h,以戊巴比妥钠 30mg/kg 静脉全麻,气管插管、备皮。仰卧位固定后术区皮肤消毒、铺巾。取左侧旁正中入路暴露 L2~L5 椎体,同一动物 L2~L5 椎体随机分为 2 组,每组 2 个椎体,实验组椎体内注射蛋白胶,对照组不注射给药。实验组于椎体正前方钻一直径 3.5mm、深 3mm 孔道,将配好的蛋白胶沿孔道以 0.5ml/s 的速度均衡注入,剂量为 2.5ml。给药 30s 后同时于 L2~L5 椎体正前方钻孔(实验组以给药

孔为中心钻孔),直径 8mm、深度为 6mm,观察并记录每个椎体骨创面控制出血时间(由骨创面暴露至骨创面出血为轻微渗出为止)、止血时间(由骨创面暴露至骨创面完全止血为止,以观察创面止血后 1min 不再出血为准)、出血量(骨创面出血用镊子钳夹干燥棉球粘取,电子天平称出棉球粘血前后质量变化为出血量)、各组 10min 内止血百分比(各组 10min 内止血椎体数与椎体总数的百分比)。

另 4 只家犬麻醉后前路显露 L2~L5 椎体,用碘海醇注射液(300mg/ml)与生物蛋白胶以 1:5 体积混合后注入 L2~L5 椎体内(经试验该比例混合对蛋白胶凝固无明显影响),剂量为 2.5ml,给药方式同上述实验组。给药 30min 后行 L2~L5 椎体 CT 扫描获得横断面影像。根据扩散药物与周围松质骨的对比度应用 GE Light Speed 16 CT 测量不规则图形面积的软件在图像上勾画出二者的边界(图 1),分别获得其每一层的面积(S_i),再根据每一层的高度(h_i ,每一层高度即为扫描层厚,为 1mm)算出每层的体积 $V_i = S_i \times h_i$,根据微积分原理计算物体的总体积 $V = V_1 + V_2 + V_3 + \dots + V_n = \sum V_i$ 。计算药物扩散体积与椎体体积并求出扩散体积百分比。

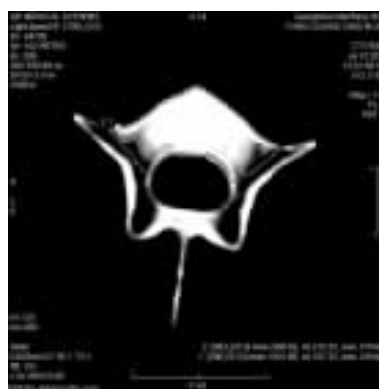


图 1 蛋白胶在椎体内扩散良好,根据扩散药物与周围松质骨的对比度在图像上可勾画出二者的边界

所有动物开始手术切皮时及给药 30min 后分别采血检测血浆凝血酶原时间(PT),分别计算实验前后 PT 转异率 (PT 异常动物例数与总例数的比值)。在药物造影动物给药后 30min 行 L2~L5 节段 CT 横断面扫描观察生物蛋白胶渗漏情况,并计算渗漏量 (体积计算方法同上述蛋白胶扩散体积计算方法);术后观察所有动物肢体活动情况;术后 3d 所有动物拍胸部 X 线片后处死,剖胸探查肺脏有无梗死灶。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计分析软件进行统计学处理,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用两样本 t 检验,百分比和率的比较采用 Fisher 确切概率检验, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

见表 1。实验组控制出血时间、止血时间平均值均较对照组明显缩短,平均出血量明显小于对照组,10min 内止血百分比接近对照组的 6 倍,以上各指标两组间比较均有显著性差异 ($P < 0.001$ 或 $P = 0.001$)。椎体内医用生物蛋白胶扩散体积百分比为 47.8%~87.6%,平均 $72.1\% \pm 11.2\%$ 。实验前后所有动物的 PT 转异率变化无显著性差异(20%比 40%, $P = 0.628$)。药物造影组(16 个椎体)CT 扫

表 1 实验组与对照组椎体骨创面止血有效性指标数值
($\bar{x} \pm s, n = 12$)

	实验组	对照组
控制出血时间(s)	97 ± 48^{①}	417 ± 101
止血时间(s)	291 ± 167^{①}	890 ± 237
出血量(g)	0.80 ± 0.67^{①}	4.39 ± 1.84
10min 止血百分比(%)	$91.67^{②}$	16.67

注:与对照组比较① $P < 0.001$,② $P = 0.001$

描显示蛋白胶椎管内渗漏椎体 5 个(31.25%),椎间孔渗漏 1 个(6.25%,图 2),平均渗漏量为 $0.73 \pm 0.21\text{ml}$ ($0.48 \sim 1.05\text{ml}$),未发现静脉渗漏。所有动物术后均存活,未发现明显神经损伤症状,术后胸片检查未发现肺梗死征象,剖胸探查双肺表面大体观察及以层厚为 1cm 作横断面剖开观察均未发现明显肺梗死灶。

3 讨论

医用生物蛋白胶利用血液中参与凝血的有关成分模拟机体凝血过程的最后阶段形成高粘度的纤维蛋白凝胶而发挥止血作用。该产品由两种试剂组成,一种为含有高浓度纤维蛋白原及凝血因子 XIII;另一种主要含凝血酶原及氯化钙,两种试剂混合后通过一系列的化学反应最后形成稳定的不溶性纤维蛋白多聚体。因其具有创面止血、促进伤口愈合、封闭组织缺损、防止组织粘连等作用而广泛应用于临床外科大手术^[9]。

在脊柱外科领域,医用生物蛋白胶已被应用于固定脊柱植骨块^[7]、CT 引导下经皮穿刺注射治疗术后或自发性脑脊液漏^[8-10]及骶神经根囊肿性腰痛^[11]。还有人将生物蛋白胶与聚乙二醇酸筛网结合进行硬脊膜缺损修补^[12]。在创面止血方面,已被应用于减少脊柱侧凸后路矫形手术中松质骨创面及椎管静脉丛的出血^[13,14]。但用于椎体切除或截骨前预先阻塞松质骨血窦及骨小梁腔隙减少创面出血尚未见报道。

本研究应用医用生物蛋白胶椎体内注射用于松质骨创面止血,结果显示实验组与对照组椎体骨创面出血各项观察指标均有显著性差异 ($P < 0.001$)。其作用原理是扩散至椎体血窦及骨小梁腔隙的高粘度纤维蛋白凝胶闭塞血窦及堵塞骨小

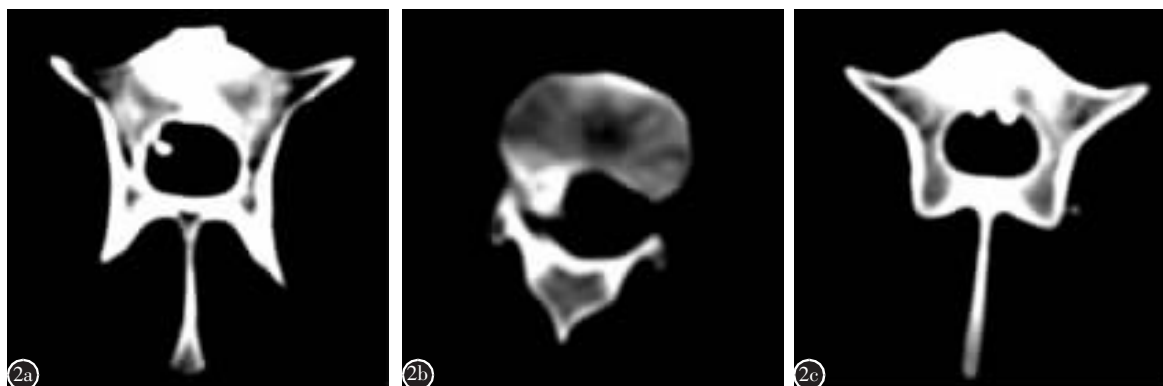


图 2 蛋白胶在椎体的渗漏情况 a 蛋白胶椎管内渗漏 b 蛋白胶椎间孔渗漏 c 蛋白胶沿椎体后壁静脉孔渗漏

梁间隙后减少骨创面出血。生物蛋白胶的凝固时间通常为 5~10s,凝固过程中粘度增加,注射速度过快由于椎体内压力过高及药物粘度过低容易通过椎体后壁静脉孔渗漏而影响药物扩散^[15];相反注射速度过慢由于椎体内压力过小及药物粘度过高同样限制其扩散。根据经验我们建议保持一定的注射速度,本实验注射速度为 0.5ml/s,椎体 CT 扫描观察药物扩散效果较满意(扩散体积百分比平均为 72.1%±11.2%)。安全性方面,实验前、后动物 PT 转异率无显著性差异($P=0.628$)。CT 检查未发现静脉渗漏,椎间孔渗漏 1 例(6.25%),椎管渗漏 5 例(31.25%)。椎管渗漏率较高可能与家犬椎体中部扁平、矢状径较小有关,药物易通过椎体后壁静脉孔渗漏^[15]。本实验渗漏成分椎管内占位未超过椎管直径 1/4,术后观察未发现明显神经损伤症状。在实际临床手术中,因为该类手术行椎体截骨或切除后通常行椎管减压及探查,能有效降低由于药物渗漏压迫神经结构造成的相关并发症,故渗漏的影响可能并不严重。

药物椎体内扩散体积是评估该方法可行性的指标,经过试验观察我们认为 1:5 造影剂体积浓度的蛋白胶在松质骨中显影良好,凝固时间及粘度改变不大。药物在椎体内凝固后粘度增高而丧失流动性,故药物与造影剂能较好的结合从而保持扩散范围的一致性。本实验算出蛋白胶在椎体内扩散的体积百分比为 72.1%±11.2%(47.8%~87.6%)。在实际临床手术中进行相同操作,术者可以根据椎体大小在多个位点进行多次给药以提高扩散范围。

本研究对椎体内注射医用生物蛋白胶减少椎体松质骨创面出血的有效性与安全性进行了初步观察。结果证明了该方法的安全性与有效性,说明椎体内注射医用生物蛋白胶对控制椎体松质骨创面出血有一定的应用前景。鉴于该方法之前尚未见文献报道,加之本实验样本量较小,观察时间较短,故其安全性与有效性还需进一步观察,以便为日后临床应用提供实验依据。

4 参考文献

1. Cho KJ, Bridwell KH, Lenke LG, et al. Comparison of Smith-Petersen versus pedicle subtraction osteotomy for the correction of fixed sagittal imbalance[J]. Spine, 2005, 30(18):2030-2037.
2. Cobden RH, Thrasher EL, Harris WH. Topical hemostatic agents to reduce bleeding from cancellous bone: a comparison of microcrystalline collagen, thrombin, and thrombin-soaked gelatin foam[J]. J Bone Joint Surg Am, 1976, 58(1):70-73.
3. Harris WH, Crothers OD, Moyon BJ, et al. Topical hemostatic agents for bone bleeding in humans: a quantitative comparison of gelatin paste, gelatin sponge plus bovine thrombin, and microfibrillar collagen [J]. J Bone Joint Surg Am, 1978, 60(4):454-456.
4. Finn MD, Schow SR, Schneiderman ED. Osseous regeneration in the presence of four common hemostatic agents [J]. J Oral Maxillofac Surg, 1992, 50(6):608-612.
5. Sugamori T, Iwase H, Maeda M, et al. Local hemostatic effect of microcrystalline partially deacetylated chitin hydrochloride[J]. J Biomed Mater Res, 2000, 49(2):225-232.
6. Albala DM, Lawson JH. Recent clinical and investigational applications of fibrin sealant in selected surgical specialties[J]. J Am Coll Surg, 2006, 202(4):685-697.
7. Ono K, Shikata J, Shimizu K, et al. Bone-fibrin mixture in spinal surgery[J]. Clin Orthop Relat Res, 1992, 275:133-139.
8. Patel MR, Louie W, Rachlin J. Postoperative cerebrospinal fluid leaks of the lumbosacral spine: management with percutaneous fibrin glue[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 1996, 17(3):495-500.
9. Patel MR, Caruso PA, Yousuf N, et al. CT-guided percutaneous fibrin glue therapy of cerebrospinal fluid leaks in the spine after surgery[J]. AJR Am J Roentgenol, 2000, 175(2):443-446.
10. Gladstone JP, Nelson K, Patel N, et al. Spontaneous CSF leak treated with percutaneous CT-guided fibrin glue[J]. Neurology, 2005, 64(10):1818-1819.
11. Patel MR, Louie W, Rachlin J. Percutaneous fibrin glue therapy of meningeal cysts of the sacral spine [J]. AJR Am J Roentgenol, 1997, 168(2):367-370.
12. Hida K, Yamaguchi S, Seki T, et al. Nonsuture dural repair using polyglycolic acid mesh and fibrin glue: clinical application to spinal surgery[J]. Surg Neurol, 2006, 65(2):136-142.
13. Tredwell SJ, Sawatzky B. The use of fibrin sealant to reduce blood loss during Cotrel-Dubousset instrumentation for idiopathic scoliosis[J]. Spine, 1990, 15(9):913-915.
14. Sekhar LN, Natarajan SK, Manning T, et al. The use of fibrin glue to stop venous bleeding in the epidural space, vertebral venous plexus, and anterior cavernous sinus: technical note[J]. Neurosurgery, 2007, 61(3 Suppl):E51.
15. 徐宝山, 胡永成, 唐天驷, 等. 经皮椎体成形术的实验研究与临床应用[J]. 中华骨科杂志, 2002, 22(6):323-330.

(收稿日期:2008-11-28 修回日期:2009-03-19)

(英文编审 蒋欣)

(本文编辑 李伟霞)