

氨甲环酸对全膝关节置换动物模型隐性失血的作用

袁磊, 包倪荣, 赵建宁(南京大学医学院临床学院, 解放军南京军区南京总医院骨科, 江苏省南京市 210002)

文章亮点:

1 文章通过建立人工膝关节置换动物模型, 观察使用氨甲环酸后早期围手术期失血的变化, 结果显示氨甲环酸全膝关节置换前的使用可以明显减少术中显性失血, 缩短手术时间, 能够显著减少置换后第1天的隐性失血量, 这是由于手术应激后纤维蛋白溶解增加引起的失血进入到了第三组织间隙, 对该机制引起的其他隐性失血无明显作用。同时氨甲环酸的安全性可靠, 不增加围手术期血栓风险。实验可为氨甲环酸的临床使用提供理论依据, 为探索隐性失血的机制提供帮助。

2 实验成功制作了隐性失血的动物模型, 因不考虑置换后膝关节功能活动, 追求最大限度的模拟人体组织相容性, 在同期学者设计兔膝关节假体理念的基础上, 使用钛合金材料自行设计假体, 需进一步规范和完善。其次未将皮下淤血及膝关节周径变化纳入统计, 亦未对置换后兔的血及尿的生化成分进行检验, 以更好的完善隐性失血的发生机制。

关键词:

植入物; 人工假体; 全膝关节置换; 显性失血; 隐性失血; 氨甲环酸; D-D二聚体; 动物模型

主题词:

关节成形术, 置换, 膝; 失血, 手术; 氨甲环酸; 模型, 动物

基金资助:

江苏省临床医学科技专项资助(BL2012002)

摘要

背景: 骨科关节置换后隐性失血导致严重的贫血, 需输血纠正, 氨甲环酸的使用能明显减少围手术期失血, 减少输血率, 但氨甲环酸对隐性失血的作用机制及关联性不清。

目的: 通过建立人工膝关节置换兔模型, 观察使用氨甲环酸后早期围手术期失血的变化, 探讨氨甲环酸对隐性失血的作用以及对下肢深静脉血栓的影响。

方法: 自行设计完成兔膝关节假体, 20只成年新西兰兔随机分成两组, 每组10只, 均进行同一侧膝关节置换, 实验组在置换前15 min给予0.5 g 100 mL的氨甲环酸静滴补液, 对照组于相同时间给予100 mL的氯化钠。所有动物于置换前1 d, 置换后3 h, 6 h, 24 h, 48 h, 72 h, 第7天分别进行耳缘静脉采血, 进行血常规及凝血功能检查, 测定血浆D-D二聚体的含量, 同时记录手术时间及术中出血量, 置换后进行下肢静脉超声检查的筛选。

结果与结论: 两组置换前体质量、血红蛋白、红细胞压积和D-D二聚体水平差异无显著性意义($P > 0.05$)。两组手术时间以及术中显性失血量的差异有显著性意义($P < 0.05$), 置换后24 h的血红蛋白和红细胞压积值比较差异有显著性意义($P < 0.05$), 实验组优于对照组。两组置换后D-D二聚体差异无显著性意义($P > 0.05$)。手术时间、术中显性失血与置换后24 h的血红蛋白、红细胞压积值具有明显相关性($P < 0.05$), 与置换后72 h、第7天的血红蛋白、红细胞压积值变化以及围手术期D-D二聚体的变化无明显相关性。置换后下肢静脉超声检查未发现明显的血栓。提示全膝关节置换前氨甲环酸的使用可以明显减少术中显性失血, 缩短手术时间, 能够显著减少置换后第1天的隐性失血量, 这由于手术应激后纤维蛋白溶解增加引起的, 对该机制引起的其他隐性失血无明显作用。同时氨甲环酸的安全性可靠, 不增加围手术期血栓风险。

袁磊, 包倪荣, 赵建宁. 氨甲环酸对全膝关节置换动物模型隐性失血的作用[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(17):2648-2654.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.17.005

Effects of tranexamic acid on hidden blood loss after total knee arthroplasty in animal models

Yuan Lei, Bao Ni-rong, Zhao Jian-ning (Clinical Department, Medical School, Nanjing University, Department of Orthopedics, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Hidden blood loss leads to severe anemia after orthopedic joint arthroplasty. Blood transfusion is needed. Use of tranexamic acid can significantly decrease perioperative blood loss, reduce blood transfusion rate, however, mechanism of action of tranexamic acid on hidden blood loss and its relevance are not clear.

OBJECTIVE: By establishing the rabbit models of total knee prosthesis, this study was designed to observe the

袁磊, 男, 1989年生, 江苏省常州市人, 汉族, 南京大学医学院在读硕士, 主要从事骨科关节方面研究。

通讯作者: 赵建宁, 主任, 主任医师, 教授, 博士生导师, 南京大学医学院临床学院, 解放军南京军区南京总医院骨科, 江苏省南京市 210002

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2015)17-02648-07

稿件接受: 2015-03-20

http://www.crter.org

Yuan Lei, Studying for master's degree, Clinical Department, Medical School, Nanjing University, Department of Orthopedics, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Zhao Jian-ning, Chief physician, Professor, Doctoral supervisor, Clinical Department, Medical School, Nanjing University, Department of Orthopedics, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China

Accepted: 2015-03-20

variation of early preoperative blood loss with tranexamic acid, and to study the effects of tranexamic acid on hidden blood loss and its influence on deep venous thrombosis of lower limb.

METHODS: We designed the rabbit knee prosthesis ourselves. A total of 20 adult New Zealand rabbits were randomly divided into two groups, each group with 10 rabbits. Knee arthroplasty on the same side was performed. Experimental group received intravenous injection of 0.5 g 100 mL tranexamic acid at 15 minutes before replacement. Control group was given 100 mL sodium chloride at the same time. Blood was collected from all animals through ear vein at 1 day before replacement, 3, 6, 24, 48, 72 hours and 7 days after replacement. Blood routine examination and blood coagulation function test were conducted. The content of plasma D-Dimer was determined. Simultaneously, the operation time and intraoperative bleeding amount were recorded. After replacement, lower limb venous ultrasonography was performed.

RESULTS AND CONCLUSION: No significant difference in body weight, hemoglobin, hematocrit, and D-Dimer levels was detected between the two groups before replacement ($P > 0.05$). Significant differences in operation time and intraoperative dominant blood loss were detectable between the two groups ($P < 0.05$). Significant differences in hemoglobin and hematocrit were detected at 24 hours after replacement ($P < 0.05$), and these were better in the experimental group than in the control group. No significant difference in D-Dimer was observed between the two groups after replacement ($P > 0.05$). Operation time and intraoperative dominant blood loss were significantly associated with hemoglobin and hematocrit at 24 hours after replacement ($P < 0.05$). The changes in hemoglobin and hematocrit at 72 hours and 7 days after replacement were not apparently correlated with intraoperative D-Dimer changes. Obvious thrombus was not seen by lower limb venous ultrasonography after replacement. These results indicated that the use of tranexamic acid before total knee arthroplasty apparently reduced the intraoperative dominant blood loss, shortened operation time, and noticeably decreased hidden blood loss at 1 day after replacement, which was caused by the increased fibrinolysis with surgical stress, and did not apparently impact other hidden blood loss induced by other mechanism. Simultaneously, tranexamic acid is safe and reliable, and does not increase the risk of perioperative thrombus.

Subject headings: Arthroplasty, Replacement, Knee; Blood Loss, Surgical; Tranexamic Acid; Models, Animal

Funding: the Clinical Science and Technology Project of Jiangsu Province, No. BL2012002

Yuan L, Bao NR, Zhao JN. Effects of tranexamic acid on hidden blood loss after total knee arthroplasty in animal models. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2015;19(17):2648-2654.

0 引言 Introduction

人工膝关节置换是修复退行性膝关节炎、类风湿关节炎、痛风性关节炎等终末膝关节疾病的有效手段^[1], 通过关节置换, 可以去除疼痛, 矫正关节畸形, 重建无痛、稳定、有功能的关节, 提高患者的生活质量。近年来手术量日益增加, 老年患者数量剧增。人工膝关节围手术期失血量偏高, 随着置换技术的不断发展, 置换过程中的显性失血量显著减少, 隐性失血目前被认为是围手术期失血的重要途径^[2], 甚至失血量超过了50%^[3], 然而隐性失血的发生机制尚未清楚, 影响隐性失血的相关因素之间的联系也不明了, 制约患者术后康复的主要原因。

为了减少隐性失血, 临床上开始探究使用止血药物治疗, 近期使用最广泛的是氨甲环酸。氨甲环酸是一种纤溶酶原抑制剂, 能够可逆性封闭纤溶酶原分子上的赖氨酸结合位点, 使纤溶酶原失去了与纤维蛋白结合的能力, 阻断纤维蛋白降解, 达到止血的作用, 它并不增加纤维蛋白的合成。在脊柱外科手术和人工膝关节置换围手术期均有涉及氨甲环酸的使用, 已有较多文献报道氨甲环酸不但能减少围手术期失血量, 减少输血率, 而且不增加患者深静脉血栓风险^[4-15]。根据以往学者的经验支持静脉输液是给药途径可预见的最大功效^[16-17]。Ahlberg等^[18]、Nilsson^[19]、Benoni等^[20]根据氨甲环酸3 h半衰期的作用机制结合手术时间认为置换开始前立即给药有效。

目前许多学者认为氨甲环酸能明显减少术中及术后早

期显性失血量^[21-22], 然而对隐性失血的作用报道较少, 对是否能减少围手术期隐性失血仍不明确, 文章设计了人工膝关节置换动物模型, 以期对氨甲环酸的临床应用以及探索隐性失血的发生机制提供进一步理论依据。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2014年3至8月在解放军南京军区南京总医院动物实验中心完成。

材料: 实验选取约6月龄健康清洁级新西兰大白兔20只, 雄性, 体质量2.5-3.0 kg, 平均2.8 kg。从实验金陵种兔场动物中心购买, 许可证号: SCXK(苏)2012-0003。由解放军南京军区南京总医院比较医学科提供相关饲养条件: 单笼饲养自动冲洗, 自由饮水和定量喂食1周, 动物房温度维持在25 °C, 相对湿度在60%上下, 7: 00-17: 00人工采光10 h。实验过程中对动物处置方法符合动物伦理学要求。

兔D-D二聚体Elisa试剂盒购自南京奇博能生物科技有限公司, 其他仪器及设备均由南京大学实验中心提供。

方法:

假体制备: 置入物表面由不锈钢构成, 实验所用的兔人工膝关节假体根据兔膝关节的解剖学及生物学特点自行设计制作^[23], 胫骨平台似等腰梯形, 上边6 mm, 底边16 mm, 两腰等长为10 mm, 底角设定为60°, 梯形四角磨

棱,于梯形中心处焊接一底边圆直径为5 mm、长约10 mm的圆柱体,定位胫骨髓内杆,胫骨平台厚2-4 mm,股骨面呈高原形状(见图1A)。股骨髁假体厚度为3 mm,股骨内外髁之间留有髁间窝,外髁较内髁大(约8:5),与兔股骨胫骨关节面匹配,因兔股骨前弓更明显,髓内杆稍带弧度(约10°)与股骨前弓一致,近股骨假体前方,髓内杆8 mm长,直径5 mm,关节表面微隆起抛光(见图1B)。实验中所用假体由张家港机电加工场根据查阅文献以及动物膝关节解剖后对应要求加工完成,生物相容性与人膝关节假体类似。将3 g戊巴比妥钠溶于100 mL的生理盐水中,制成3%的溶液,平时放置于4 °C冰箱保存。

分组:健康新西兰兔按随机数字法分成两组,每组10只,均左侧模拟膝关节表面置换,实验组于置换前患肢备皮时(约置换前15 min)给予0.5 g 100 mL的氨甲环酸静滴补液,对照组于相同时间给予100 mL的氯化钠。

动物模型制备(图1C, D):实验动物统一术前禁食禁水4 h,并于清晨10点进行手术,术前给予1 mL地西洋配合3%的戊巴比妥钠液体3 mL静推麻醉,术中根据兔的麻醉程度,追加剂量3-7 mL。麻醉满意后仰卧位固定于手术实验台,取仰卧位,对术肢进行备皮(兔膝关节周围5 cm毛发剃除),术区严格按照无菌手术操作要求进行消毒铺单,2%的利多卡因2 mL膝关节周围局部麻醉。取正中切口,长约5 cm,髁旁内侧入路切开关节囊,将髁骨向外侧牵开,显露兔膝关节,暴露股骨远端内外髁,清理膝关节周围脂肪垫,屈膝90°,暴露胫骨平台,切断前交叉韧带,清除内外侧半月板,术中若出现出血,给予小纱布压迫止血。保护好周围内外侧副韧带及膝后动脉,用微型摆锯对股骨髁及胫骨平台截骨2.0-3.0 mm,小骨刀截去剩余部分,在股骨滑车中下1/3位置开槽,用磨钻对胫骨和股骨分别钻孔扩髓10 mm,骨蜡封住骨面止血,10 mL生理盐水冲洗关节腔,试放假体伸直膝关节确定无误后,取出假体(如安装假体困难可继续做相应截骨或软组织平衡)、纱布压迫关节腔止血,迅速调制骨水泥,待骨水泥发热时部分涂于假体内侧面及髓内杆上,注射器将骨水泥注入髓腔内,均匀分散在截骨面,快速放置假体,打压器打压至假体与骨面充分接触,待骨水泥硬化,10 mL生理盐水彻底冲洗,缝合皮肤。全程术肢加压包扎。术毕给予地西洋1 mL术后镇痛,术侧肌肉注射80 U青霉素预防感染,连续注射3 d,置换后给予100 mL羟乙基淀粉溶液进行补液。置换后仍置于单笼不固定饲养。

处理及采样:新西兰兔适应性生长1周,均于右耳耳缘静脉采血,置换前1 d,置换后3 h, 6 h, 24 h, 48 h, 72 h、第7天分别进行采血,置换前、置换后分别行凝血功能检测,凝血功能异常的排除,置换测定血常规,置换后第1, 2, 3, 7天复查血常规,每次准备1.8 mL血液样本以0.13 mol/L的柠檬酸钠抗凝,抗凝剂与静脉血以1:9的体积比比,血液样本立即常温下离心10 min(3 000 r/min)

后取上清液,统一放入-80 °C冰箱保存以备成批检测。

主要观察指标:观察置换前、置换后血红蛋白、红细胞压积、血小板、凝血功能,术中显性失血量=[术中纱布质量-(15 mL生理盐水质量+对应的干燥小纱布的质量)] \times 1 mL/mg。对D-D二聚体行定性及定量检查。

统计学分析:由第一作者用SPSS 13.0软件进行统计学分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示。对照组和实验组比较采用配对设计 t 检验;各时间点的血红蛋白、红细胞压积、手术时间、显性失血、D-D二聚体采用独立样本 t 检验;对氨甲环酸的使用与置换后失血和血栓风险行相关性分析,用Pearson相关系数表示。以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 纳入新西兰兔 20 只,随机分为两组,全部进入结果分析,无脱失。置换后第 3 天进行下肢静脉超声检查,第 7 天观察切口均愈合良好,判断并无假体周围感染予以处死(图 2)。

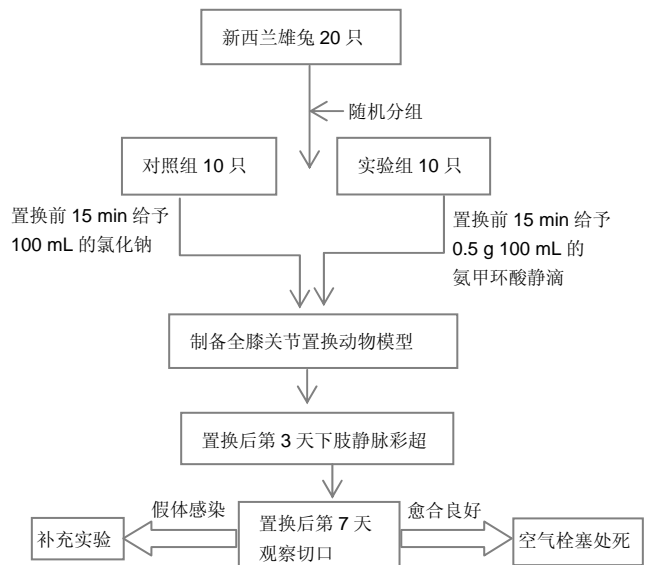


图 2 实验流程图

Figure 2 Flowchart of the experiment

2.2 统计学结果 根据统计学分析得出的结果示:置换前 20 只新西兰大白兔(包括对照组 10 只和实验组 10 只)测其体质量,两组置换前体质量、血红蛋白、红细胞压积和 DD-二聚体的比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。两组所需的手术时间以及术中显性失血量差异有显著性意义($P < 0.05$),见表 1。

对照组与实验组置换后 24 h 的血红蛋白和红细胞压积值的比较差异有显著性意义,而置换后 24 h 的 D-D 二聚体差异无显著性意义。两组置换后 72 h、第 7 天的红细胞压积值差异有显著性意义,见表 2。

通过表 3, 4 相关性分析结论得出:手术时间与术中显性失血与置换后 24 h 的血红蛋白和红细胞压积值具有明显相关性($P < 0.05$),与置换后 72 h 和第 7 天血红蛋白、

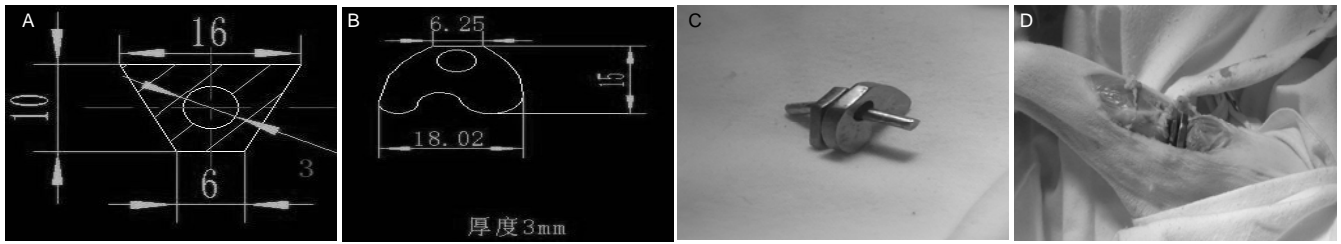


图1 膝关节置换模型制备

Figure 1 Preparation of rabbit models of knee replacement

图注: 图A为股骨假体平面设计图; B为胫骨假体平面设计图; C为关节配对假体; D为膝关节置换兔模型。

表1 两组置换前体重、血红蛋白、红细胞压积、D-D二聚体以及手术时间、显性失血量的比较

Table 1 Comparison of weight, hemoglobin, hematocrit, D-Dimer, operation time and dominant blood loss before replacement in both groups

项目		方差方程的 Levene 检验		均值方程的 t 检验			标准误差值	差分的 95%置信区间		
		F	Sig.	t	df	Sig.(双侧)		均值差值	下限	上限
置换前体重	假设方差相等	0.660	0.427	-1.607	18	0.125	-0.070	0.044	-0.162	0.022
置换前血红蛋白	假设方差相等	0.157	0.697	-0.105	18	0.918	-0.300	2.862	-6.313	5.713
置换前红细胞压积	假设方差相等	0.141	0.711	-0.560	18	0.582	-0.004	0.008	-0.021	0.012
置换前D-D二聚体	假设方差相等	0.051	0.824	-0.003	18	0.998	-0.077	27.266	-57.361	57.207
手术时间	假设方差相等	0.135	0.718	10.513	18	0.000 ^a	41.500	3.948	33.206	49.794
显性失血	假设方差相等	2.329	0.144	13.701	18	0.000 ^b	7.233	0.527	6.123	8.342

表注: 采用独立样本 t 检验得出, 两组手术时间比较, ^aP < 0.05; 两组术中显性失血量比较, ^bP < 0.05。

表2 两组置换后 24 h、72 h、7 d 的血红蛋白、红细胞压积和 D-D 二聚体比较

Table 2 Comparison of hemoglobin, hematocrit and D-Dimer at 24, 72 hours and 7 days after replacement in both groups

项目		方差方程的 Levene 检验		均值方程的 t 检验			标准误差值	差分的 95%置信区间		
		F	Sig.	t	df	Sig.(双侧)		均值差值	下限	上限
置换后24 h血红蛋白	假设方差相等	1.230	0.282	-7.426	18	0.000 ^a	-9.600	1.293	-12.316	-6.884
置换后24 h红细胞压积	假设方差相等	3.386	0.082	-4.638	18	0.000 ^a	-0.031	0.006	-0.046	-0.017
置换后72 h血红蛋白	假设方差相等	0.131	0.721	0.043	18	0.966	0.100	2.321	-4.777	4.977
置换后72 h红细胞压积	假设方差相等	0.008	0.952	-0.082	18	0.936	-0.010	0.007	-0.015	0.015
置换后7 d血红蛋白	假设方差相等	0.299	0.591	0.564	18	0.580	1.300	2.305	-3.542	6.142
置换后7 d红细胞压积	假设方差相等	0.081	0.779	0.229	18	0.821	0.092	0.0122	-0.023	0.028

表注: 采用独立样本 t 检验得出, 两组置换后 24 h 的血红蛋白和红细胞压积比较, ^aP < 0.05。

表3 手术时间、术中显性失血和置换后 24 h、72 h、第 7 天红细胞压积、血红蛋白的相关性分析

(n=20, P)

Table 3 Correlation of operation time and intraoperative dominant blood loss with hemoglobin and hematocrit at 24, 72 hours and 7 days after replacement

项目		显性	手术	置换后24 h	置换后72 h	置换后7 d	置换后24 h	置换后72 h	置换后7 d
		失血	时间	红细胞压积	红细胞压积	红细胞压积	血红蛋白	血红蛋白	血红蛋白
显性失血	Pearson 相关性	1	0.922	-0.760	-0.008	0.007	-0.871	0.020	0.102
	显著性(双侧)		0.000 ^a	0.000 ^a	0.986	0.976	0.000 ^a	0.933	0.667
手术时间	Pearson 相关性	0.922	1	-0.816	-0.096	0.181	-0.918	-0.056	0.241
	显著性(双侧)	0.000 ^a		0.000 ^a	0.688	0.446	0.000 ^a	0.813	0.305

表注: 采用两样本线性相关性分析得出, ^aP < 0.05。

红细胞压积的变化无关, 结合表5得出: 使用氨甲环酸对置换后 D-D 二聚体的变化无明显相关性。

2.3 实际意义 氨甲环酸可以明显减少膝关节置换术中显性失血, 减少手术时间, 能够显著减少置换后第 1 天由于应激性纤溶亢进引起并最后进入到组织间隙的隐性失血

量, 置换后超声检查均未检测出血栓, 证实它并不增加围手术期血栓风险。

3 讨论 Discussion

近年来, 人工膝关节置换后大量的隐性失血越来越受

表5 两组置换后 D-D 二聚体的比较

(n=20)

Table 5 Comparison of D-Dimer after replacement in both groups

项目	方差方程的 Levene 检验		均值方程的 t 检验				均值差值	标准误差值	差分的 95%置信区间	
	F	Sig.	t	df	Sig.(双侧)	下限			上限	
置换后3 h	假设方差相等	2.266	0.150	-0.449	18	0.659	-19.153	42.689	-108.842	70.534
置换后6 h	假设方差相等	0.372	0.550	0.063	18	0.950	3.123	49.575	-101.030	107.278
置换后24 h	假设方差相等	2.492	0.132	0.948	18	0.356	34.641	36.549	-42.145	111.428
置换后48 h	假设方差相等	0.075	0.788	-0.117	18	0.908	-5.800	49.604	-110.015	98.415
置换后72 h	假设方差相等	0.036	0.852	-0.417	18	0.682	-11.516	27.629	-69.564	46.532
置换后7 d	假设方差相等	0.010	0.921	0.814	18	0.426	21.548	26.484	-34.092	77.190

表注: 采用独立样本 t 检验得出, $P > 0.05$ 。

表4 术中显性失血和置换后 D-D 二聚体动态变化的相关性分析

(n=20, P)

Table 4 Correlation of intraoperative dominant blood loss with dynamic changes in postoperative D-Dimer

项目		3 h	6 h	24 h	48 h	72 h	7 d
显性失血	Pearson 相关性	-0.090	0.039	0.289	0.008	-0.049	0.211
	显著性 (双侧)	0.706	0.871	0.217	0.972	0.837	0.372

表注: 采用独立样本 t 检验得出, $P > 0.05$ 。

到学者的重识, 随着外科手术技术不断发展, 手术过程中的显性失血量显著减少, 但置换后严重的血红蛋白水平下降严重制约着患者的康复, 降低了治疗满意度。然而, 隐性失血的发生机制尚不明了, 主要考虑: ①可能因游离脂肪酸增加使红细胞和血红蛋白的膜发生过氧化损伤引起红细胞渗透脆性增加, 最后导致溶血^[23]。②手术创伤以及术毕手术止血不彻底引起血液大量进入组织间隙形成血肿^[24-25]。③早期为预防深静脉血栓的形成使用抗凝药物。④可能与手术中骨髓脂肪、骨水泥及骨碎屑进入血液循环引起毛细血管床异常开放有关。⑤其他组织器官出血如胃肠道出血等。目前隐性失血的预防措施主要有: 置换后数小时内局部的冰敷和患侧肢体的加压包扎等物理预防、术中自体血的回输、控制性低血压和置换后止血药物(如氨甲环酸)的运用、置换后体位的合理调整和提前补充血红蛋白的原料等。

本文选用的实验动物为新西兰兔, 其膝关节组织结构与人类接近, 便于实验操作, 可以避免因选择较大动物模型而浪费不必要的科研投入, 经济高效, 而且以兔来建立膝关节置换模型日趋成熟, Zampelis等^[26]通过建立兔膝关节假体模型来研究骨-假体界面骨长入与假体稳定性的相关性研究, Mauerer等^[27]证明了附有TiO₂的假体涂层中Cu²⁺的释放在兔全膝关节置换模型中抗感染的作用。余世明等^[28]通过研究膝关节及其髓腔的解剖结构为制作兔用生物型人工膝关节假体奠定了理论基础, 严志强等^[29]进一步设计制作了实用的兔解剖型人工膝关节假体, 在此基础上, 作者利用钴铬钼材料自行制作兔用膝关节假体, 较好的模

拟了临床全膝关节置换^[30]。

目前在减少髌膝关节置换后失血的作用上, 氨甲环酸已成为当今热点。氨甲环酸可显著减少术中失血量40%~50%, 并显示出减少置换后失血减轻了膝关节肿胀并可减少输血需求^[31], 大多研究报道也支持其安全性^[24-25]。Randelli等^[32]通过随机对照研究全膝关节置换后纤维蛋白密封剂的作用时发现未与氨甲环酸联合使用是不能减少置换后血红蛋白的丢失以及降低输血率的。关于围膝关节置换期间氨甲环酸如何给药的相关报道中, Alshryda等^[33]通过Meta分析比较静脉应用氨甲环酸比局部更能减少失血量和降低输血率, Wind等^[34]赞同这个观点。甘伟伟等^[35]在探讨氨甲环酸的应用时机对关节置换后失血的影响时发现置换前1 h给药比术中给药更能减少围手术期失血, Benoni等^[20]证实了术毕静脉给氨甲环酸并不能有效减少置换后的失血。

在进行人工膝关节置换时, 为了得到清晰的手术视野, 多数学者会选择使用止血带, 但止血带的使用会导致术中组织暂时的缺血、置换后的缺血再灌注损伤后加重组织的氧化应激反应引起血管通透性增加以及释放止血带后短期的纤溶亢进均会加重血液向组织间隙的外渗, 同时增加了置换后伤口并发症的出现^[36], 考虑止血带的运用会加重置换后血红蛋白的丢失^[37], 影响研究隐性失血的发生机制, 故而本实验中放弃使用止血带。

同时因麻醉方式、年龄、性别、体质量指数、基础疾病、置换方式、假体类型、和抗凝药物的使用、下肢缺血再灌注的形成、组织过氧化应激反应、置换后放置引流管等相关因素均会不同程度影响围手术期隐性失血的差异^[23-24, 38-42], 本研究中选用同一月龄、均为雄性、体质量无明显差异的新西兰兔作为实验动物, 均模拟膝关节表面置换术, 统一定制同一型号的假体, 术中未给与止血带处理, 置换后未放置引流管, 为了更好的直观的观察D-D二聚体的变化, 围手术期不采取任何物理预防血栓及抗凝药物治疗, 具有良好的客观真实性。

在本实验研究中, 由同一实验者建立多个人工膝关节置换的动物模型, 以此来探究置换后隐性失血的形成机制, 鲜有文献报道。本实验中因置换后未放置引流管, 同时将渗出

到加压包扎的敷料上的极少量血液忽略不计, 故无置换后显性失血量, 免进行膝关节置换后的关节腔容量较小, 积聚在关节内的血液亦随之减少。本实验中兔围手术期丢失的总血容量=术中显性失血量+置换后隐性失血量, 置换后的血红蛋白值和红细胞压积值反应了总体的失血状态, Sehat等^[2]已证实了隐性失的计算公式中红细胞压积值是最重要的变量, 目前尚未建立兔的血容量计算方法, 无法直接计算这部分隐性失血量, 但前后的巨大差异不难发现单单术中那部分可见失血已不能构成这种差异的原因, 置换后的隐性失血是造成这种现象的主要原因。与对照组相比, 可证实随着置换前15 min氨甲环酸的使用, 实验组可以明显减少术中出血, 手术时间亦会相应的减少, 与众多文献报道结果一致。

根据统计学分析得出的结果示, 置换前20只新西兰大白兔(包括对照组10只和实验组10只)测其体质量, 由表1可得两组置换前体质量、血红蛋白、红细胞压积和D-D二聚体的比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。表2显示对照组与实验组置换后24 h的血红蛋白和红细胞压积值的比较结果有明显差异, 结合表3手术时间与术中显性失血与置换后24 h的血红蛋白和红细胞压积值具有明显相关性($P < 0.05$), 一方面说明术中引起的红细胞急性丢失, 直接引起置换后血红蛋白和红细胞压积值的下降, 而这两部分不相符合的特点可以发现必然存在另一部分置换后隐形的血液丢失参与。表3可以看出随着置换前氨甲环酸的使用, 与对照组相比, 明显减少了血红蛋白和红细胞压积的下降, 并且氨甲环酸的使用也只与置换后24 h的血红蛋白和红细胞压积的变化明显相关($P < 0.05$), 与置换后72 h、第7天的血红蛋白、红细胞压积值的变化无显著相关性($P > 0.05$)。早在2005年, Kumar等^[43]学者发现全膝关节置换后12 h时就已通过引流管引流出了置换后显性失血量的84%, 到置换后24 h时这一值达到了94%。手术自身可引起创伤后炎症反应, 产生氧自由基, 致使血管通透性增加, 红细胞向周围组织渗出或是发生自溶, 同时应激性纤溶反应加强, 根据氨甲环酸的药代动力学特点^[35], 置换开始前即给予, 可以抑制纤维蛋白溶解级联的早期阶段, 减少这部分血液的丢失。表3中同时也分析了手术时间、显性失血及置换后24 h的血红蛋白值红细胞压积值与置换后72 h、第7天的血红蛋白、红细胞压积的相关性, 亦证实之间无明显关联($P > 0.05$), 故可总结出氨甲环酸的使用是不可能完全减少甚至避免置换后隐性失血的发生, 该实验是具有统计学意义的。D-D二聚体是纤溶酶溶解的交联纤维蛋白凝块, 主要反映纤维蛋白溶解功能, 是排除血栓的敏感指标。虽然氨甲环酸的临床效果已多次被证明, 它的安全性亦得到肯定, 但是本实验在完全抛弃物理预防及药物干涉来预防血栓的情况下, 对置换前及置换后多次进行D-D二聚体的检测, 实验组与对照组差异并无显著性意义, 配合置换后定期的下肢静脉超声检查没有明显的血栓, 说明了氨甲环酸的运用并不增加血栓风险, Cid等^[5]、Gandhi等^[11]通过Meta分析证实其安全可靠。

结论: 本文通过建立人工膝关节置换动物模型, 观察使用氨甲环酸早期围手术期失血的变化, 结果显示氨甲环酸置换前的使用可以明显减少术中显性失血, 缩短手术时间, 能够显著减少置换后第1天的隐性失血, 部分因手术应激后纤维蛋白溶解增加引起并最后进入到组织间隙的隐性失血, 随着抗纤溶药物的运用而减少, 但它并不能减少非该机制引起的其他隐性失血量, 故对置换后3, 7 d的作用不明显。同时其安全性可靠, 不增加围手术期血栓风险, 为临床减少围置换期输血率的发生提供了不可替代的作用。本实验成功制作了隐性失血的动物模型, 因不考虑置换后膝关节功能活动, 追求最大限度的模拟人体组织相容性, 在同期学者设计兔膝关节假体的理念的基础上, 使用钛合金材料自行制作假体, 需进一步规范及完善; 其次本文未将皮下淤血及膝关节周径变化纳入统计; 亦未对置换后兔的血及尿的生化成分进行检验, 以更好的完善隐性失血的发生机制。总而言之, 仍需要进行深入实验研究来探索隐性失血的机制。

作者贡献: 第一作者构思并设计实验, 收集实验数据并进行统计分析, 经通讯作者审校, 第一作者对文章负责, 未采用盲法评估。

利益冲突: 文章及内容不相关利益冲突。

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

学术术语: 隐性失血-随着对隐性失血的探讨深入, 分析其机制如下: ①可能因游离脂肪酸增加使红细胞和血红蛋白的膜发生过氧化损伤引起红细胞渗透脆性增加, 最后导致溶血。②手术创伤以及术毕手术止血不彻底引起血液大量进入组织间隙形成血肿。③早期为预防深静脉血栓的形成使用抗凝药物。④可能与手术中骨髓脂肪、骨水泥及骨碎屑进入血液循环引起毛细血管床异常开放有关。⑤其他组织器官出血如胃肠道出血等。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Fuqiang G, Wanshou G, Wei S, et al. Correlation between the coverage percentage of prosthesis and postoperative hidden blood loss in primary total knee arthroplasty. *Chin Med J*. 2014; 127(12): 2265-2269.
- [2] Sehat KR, Evans RL, Newman JH. Hidden blood loss following hip and knee arthroplasty correct management of blood loss should take hidden loss into account. *J Bone Joint Surg*. 2004; 86(4):561-565.
- [3] Shen H, Li Z, Feng M, et al. Analysis on hidden blood loss of total knee arthroplasty in treating knee osteoarthritis. *Chin Medical J*. 2011;124(11):1653.
- [4] Benoni G, Lethagen S, Nilsson P, et al. Tranexamic acid, given at the end of the operation, does not reduce postoperative blood loss in hip arthroplasty. *Acta Orthop*. 2000;71(3):250-254.
- [5] Cid J, Lozano M. Tranexamic acid reduces allogeneic red cell transfusions in patients undergoing total knee arthroplasty: results of a meta-analysis of randomized controlled trials. *Transfusion*. 2005;45(8):1302-1307.

- [6] Wong J, Abrishami A, El Beheiry H, et al. Topical application of tranexamic acid reduces postoperative blood loss in total knee arthroplasty: a randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am* 2010;92(15):2503.
- [7] Ishida K, Tsumura N, Kitagawa A, et al. Intra-articular injection of tranexamic acid reduces not only blood loss but also knee joint swelling after total knee arthroplasty. *Int Orthop*. 2011;35: 1639-1645.
- [8] MacGillivray RG, Tarabichi SB, Hawari MF, et al. Tranexamic acid to reduce blood loss after bilateral total knee arthroplasty: a prospective, randomized double blind study. *J Arthroplasty*. 2011;26(1): 24-28.
- [9] Karam JA, Bloomfield MR, Dilorio TM, et al. Evaluation of the efficacy and safety of tranexamic acid for reducing blood loss in bilateral total knee arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2014;29(3): 501-503.
- [10] Iwai T, Tsuji S, Tomita T, et al. Repeat-dose intravenous tranexamic acid further decreases blood loss in total knee arthroplasty. *Int Orthop*. 2013;37(3): 441-445.
- [11] Gandhi R, Evans H M, Mahomed S R, et al. Tranexamic acid and the reduction of blood loss in total knee and hip arthroplasty: a meta-analysis. *BMC Res Notes*. 2013;6(1): 184.
- [12] Gillette BP, DeSimone LJ, Trousdale RT, et al. Low risk of thromboembolic complications with tranexamic acid after primary total hip and knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 2013;471(1):150.
- [13] Aguilera X, Martinez-Zapata MJ, Bosch A. Efficacy and safety of fibrin glue and tranexamic Acid to prevent postoperative blood loss in total knee arthroplasty: a randomized controlled clinical trial. *J Bone Joint Surg*. 2013;95(22):2001-2007.
- [14] Ma YQ, Zhang YC, Zhang H. [Local application of tranexamic acid reduces blood loss in unilateral total knee arthroplasty: a retrospective comparison analysis]. *Zhonghua Waikexue*. 2013;51(1):40-43.
- [15] Vigna-Taglianti F, Basso L, Rolfo P, et al. Tranexamic acid for reducing blood transfusions in arthroplasty interventions: a cost-effective practice. *Eur J Orthop Surg Traumatol*. 2013: 1-7.
- [16] Sarzaeem MM, Razi M, Kazemian G, et al. Comparing Efficacy of Three Methods of Tranexamic Acid Administration in Reducing Hemoglobin Drop Following Total Knee Arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2014.
- [17] Seo JG, Moon YW, Park SH, et al. The comparative efficacies of intra-articular and IV tranexamic acid for reducing blood loss during total knee arthroplasty. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2013;21(8):1869.
- [18] Ahlberg A, Eriksson O, Kjellman H. Diffusion of tranexamic acid to the joint. *Acta Orthopaedica*. 1976;47(5): 486-488.
- [19] Nilsson IM. Clinical pharmacology of aminocaproic and tranexamic acids. *J Clin Pathol*. 1980;33(Suppl 14):41-47.
- [20] Benoni G, Lethagen S, Nilsson P, et al. Tranexamic acid, given at the end of the operation, does not reduce postoperative blood loss in hip arthroplasty. *Acta Orthop Scand*. 2000;71:250-254.
- [21] Good L, Peterson E, Lisander B. Tranexamic acid decreases external blood loss but not hidden blood loss in total knee replacement. *Br J Anaesth*. 2003;90(5):596.
- [22] Lin PC, Hsu CH, Chen WS, et al. Does tranexamic acid save blood in minimally invasive total knee arthroplasty? *Clin Orthop Relat Res*. 2011;469(7):1995.
- [23] 余世明,刘建华,徐栋梁,等. 兔用生物型人工膝关节假体的设计与制作[J]. *中华关节外科杂志(电子版)*, 2009,3(4):63-66.
- [24] Bao N, Zhou L, Cong Y, et al. Free fatty acids are responsible for the hidden blood loss in total hip and knee arthroplasty. *Med Hypoth*. 2013;133(1):104-107.
- [25] McManus KT, Velchik MG, Alavi A, et al. Non-invasive assessment of postoperative bleeding in TKA patients with Tc-99m RNCs. *J Nuclear Med*. 1987;28(8): 565-567.
- [26] Zampelis V, Tägil M, Lidgren L, et al. The effect of a biphasic injectable bone substitute on the interface strength in a rabbit knee prosthesis model. *J Orthop Surg Res*. 2013; 8(1): 25.
- [27] Mauere A, Lange B, Welsch GH, et al. Release of Cu²⁺ from a copper-filled TiO₂ coating in a rabbit model for total knee arthroplasty. *J Mat Sci*. 2014;25(3):813-821.
- [28] 余世明,刘建华,徐栋梁,等. 兔用生物型人工膝关节假体的设计与制作[J]. *中华关节外科杂志(电子版)*, 2009,3(4):63-66.
- [29] 严志强,张乐,王新亮,等. 计算机辅助设计兔解剖型人工膝关节假体[J]. *广东医学*, 2014,35(13):1997-2001.
- [30] 严俊伟,唐成,李祥全,等. 全膝关节置换术后感染模型的建立[J]. *中华关节外科杂志(电子版)*, 2014,8(1):60-64.
- [31] 高福强,李子剑,刘延青,等. 初次全膝关节置换术后肢体肿胀程度与隐性失血量的相关性研究[J]. *中国矫形外科杂志*, 2011,19(3): 199-202.
- [32] Randelli F, D'Anchise R, Ragone V, et al. Is the newest fibrin sealant an effective strategy to reduce blood loss after total knee arthroplasty? A randomized controlled study. *J Arthroplasty*. 2014;29(8):1516-1520.
- [33] Alshryda S, Mason J, Vaghela M, et al. Topical (intra-articular) tranexamic acid reduces blood loss and transfusion rates following total knee replacement: a randomized controlled trial (TRANX-K). *J Bone Joint Surg Am*. 2013;95 (21):1961-1968.
- [34] Wind TC, Barfield WR, Moskal JT. The effect of tranexamic acid on transfusion rate in primary total hip arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2014; 29(2):387-389.
- [35] 甘伟伟,刘斌,谢贵杰. 氨甲环酸应用时机对髋关节置换手术患者失血量影响的研究[J]. *安徽医药*, 2014,18(8):1569-1571.
- [36] Alcelik I, Pollock RD, Sukeik M, et al. A comparison of outcomes with and without a tourniquet in total knee arthroplasty: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Arthroplasty*. 2012;27(3): 331-340.
- [37] Zan PF, Yang Y, Fu D, et al. Releasing of tourniquet before wound closure or not in total knee arthroplasty: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Arthroplasty*. 2015;30(1):31-37.
- [38] 陈虎,曹力,杨德盛,等. 麻醉方式与全膝关节置换术后深静脉血栓发生率分析[J]. *中国矫形外科杂志*, 2012, 20(5): 402-405.
- [39] Jiang X, Hand AR, Shen S, et al. Enhanced tissue plasminogen activator synthesis by the sympathetic neurons that innervate aging vessels. *J Neurosci Res*. 2003;71(4): 567-574.
- [40] Bell TH, Berta D, Ralley F, et al. Factors affecting perioperative blood loss and transfusion rates in primary total joint arthroplasty: a prospective analysis of 1642 patients. *Can J Surg*. 2009;52(4): 295.
- [41] Mega JL, Braunwald E, Wiviott SD. Low doses of rivaroxaban effectively lower the risk of cardiac events. *Am J Cardiol*. 2013.
- [42] Tai TW, Chang CW, Yang CY, et al. Effects of tourniquet use on blood loss and soft-tissue damage in total knee arthroplasty: a randomized controlled trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2012; 94(24): 2209-2215.
- [43] Kumar GS, Von Arx OA, Pozo JL. Rate of blood loss over 48 hours following total knee replacement. *Knee*. 2005;12(4): 307-309.