

· 临床研究 ·

分光光度法估算经皮内窥镜下腰椎椎间盘切除术中出血量

夏 宇, 晏铮剑, 高 翔, 王可然, 杜 宇, 唐锴鹰, 张 汛, 陈 亮*

重庆医科大学附属第二医院骨科, 重庆 400010

【摘要】目的 探讨采用分光光度法评估经皮内窥镜下腰椎椎间盘切除术(PELD)中出血量的可行性。**方法** 2018年3月—10月,采用PELD治疗腰椎椎间盘突出症(LDH)患者62例,分别使用分光光度法、血红蛋白计算法、目测法估算术中出血量。分光光度法将所测冲洗液的光密度(OD)值与氯化高铁血红蛋白标准液标准曲线的OD值相比测定血红蛋白浓度,再根据血红蛋白浓度计算出血量;血红蛋白计算法以术后全血血红蛋白下降程度为依据判断出血量;目测法根据术者个人经验判断出血量。**结果** 分光光度法、血红蛋白计算法和目测法估算的PELD术中出血量分别为 (51.85 ± 27.48) mL、 (216.00 ± 155.91) mL和 (32.17 ± 20.11) mL,分光光度法估算的出血量低于血红蛋白计算法,但高于目测法,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 由于PELD利用水作为介质,术中出血被冲洗液大量稀释,难以准确判断术中出血量。分光光度法受标本影响小,可客观地定量检测出血量,为此类手术的术中出血量的判断提供了新的选择。

【关键词】 腰椎; 椎间盘移位; 内窥镜检查; 减压术, 外科; 外科手术, 微创性; 失血, 手术

【中图分类号】 R 681.533.1 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-2957(2019)06-0415-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-2957.2019.06.010

Estimation of blood loss during percutaneous endoscopic lumbar discectomy by spectrophotometry

XIA Yu, YAN Zheng-jian, GAO Xiang, WANG Ke-ran, DU Yu, TANG Kai-ying, ZHANG Xun, CHEN Liang*

Department of Orthopaedics, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

【Abstract】 Objective To explore the feasibility of estimation of blood loss during percutaneous endoscopic lumbar discectomy(PELD) by spectrophotometry. **Methods** From March 2018 to October 2018, 62 patients with lumbar disc herniation(LDH) were treated with PELD. The intraoperative blood loss was estimated by spectrophotometry, hemoglobin calculation and visual observation. The optical density(OD) value of the washing solution measured by spectrophotometry was compared with the OD value of the standard curve of hemiglobincyanide standard solution to determine the hemoglobin concentration, and then the blood loss was calculated according to the hemoglobin concentration. Hemoglobin calculation method was used to calculate the blood loss based on the postoperative decrease of whole blood hemoglobin. The visual observation method was used to evaluate the blood loss volume by the operator's personal experience. **Results** The amount of blood loss was (51.85 ± 27.48) mL, (216.00 ± 155.91) mL and (32.17 ± 20.11) mL estimated by spectrophotometry, hemoglobin calculation and visual observation, respectively. The blood loss measured by spectrophotometry was less than that measured by hemoglobin calculation, while more than that measured by visual observation, all with statistical significances($P < 0.05$). **Conclusion** The blood loss during PELD is difficult to accurately determine because the intraoperative blood loss was diluted by rinse solution which is used as the medium during the operation. Spectrophotometry is less affected by specimens and can objectively and quantitatively detect the blood loss, which provides a new choice for judging the blood loss during such operations.

【Key Words】 Lumbar vertebrae; Intervertebral disc displacement; Endoscopy; Decompression, surgical; Surgical procedures, minimally invasive; Blood loss, surgical

J Spinal Surg, 2019, 17(6): 415-418

经皮内窥镜下腰椎椎间盘切除术(PELD)作为治疗腰椎椎间盘突出症(LDH)的一种新兴技术,

具有创伤小、对脊柱稳定性影响小、患者术后恢复快等优点^[1-4],但由于PELD在水介质中进行,术中持续冲洗导致术中出血被大量稀释,尚无法准确估算术中出血量。分光光度法是以氯化高铁血红蛋白

*通信作者: 陈 亮 liang.chen_cqmusah@hotmail.com

测定为基础, 通过测定其光密度(OD)值来计算血红蛋白浓度, 是国际血液学标准委员会(ICSH)推荐使用的血红蛋白测定方法, 对于低浓度的血红蛋白亦可准确测定, 目前测定血红蛋白浓度所使用的其他方法均需用此法验证及校准^[5]。本研究采用分光光度法测量术中冲洗液的OD值, 以氯化高铁血红蛋白标准液绘制标准曲线, 据此计算术中出血量^[6], 为PELD术中出血量的估算提供一种相对准确的方法。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2018年3月—10月, 本院采用PELD治疗LDH患者62例(排除中途转开放手术、术中冲洗液未完全收集、有严重基础疾病、手术前后资料缺如的患者), 手术均由同一组医师完成, 其中男28例、女34例, 年龄(51 ± 13)岁。分别使用分光光度法、血红蛋白计算法、目测法估算术中出血量。记录患者术前和术后血红蛋白浓度、术中冲洗液体积等数据。

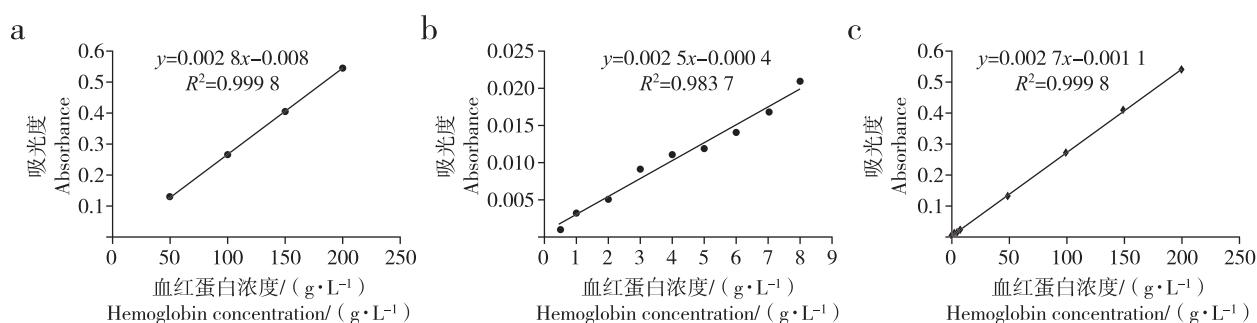
1.2 方法

1.2.1 分光光度法原理

血红蛋白中的亚铁离子(Fe^{2+})被高铁氯化钾氧

化为高铁离子(Fe^{3+}), 血红蛋白转化为高铁血红蛋白(Hi)。Hi与氯化钾中的氯离子反应生成氯化高铁血红蛋白(HiCN)。HiCN最大吸收波峰为540 nm, 波谷为504 nm^[7]。在特定条件下, HiCN在540 nm处的OD值与浓度成正比^[8-9], 根据测得的OD值可求得血红蛋白浓度^[10-11]。

本研究使用的HiCN标准液(上海榕柏生物科技有限公司)有4个标准浓度, 分别为50、100、150、200 g/L, 使用UV6100型紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司)测定HiCN标准液在540 nm处的OD值, 以标准液浓度为横坐标, OD值为纵坐标, 绘制标准曲线(图1a)。由于预实验中发现标本中血红蛋白浓度范围为1.0~6.0 g/L, 故将100 g/L的标准液稀释成0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 g/L的标本, 测量其在540 nm处的OD值, 绘制标准曲线, 所得曲线线性关系良好(图1b)。将图1a与图1b合并, 得到合并后标准曲线(图1c)作为本研究的标准曲线。使用临床输血用悬浮红细胞验证标准曲线在本研究中的可行性, 选取10份悬浮红细胞标本, 测定血红蛋白浓度, 分别取5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 mL, 稀释至2 000 mL, 测定其OD值, 与标准曲线中相应浓度对应的OD值比较, 验证分光光度法的可行性。



a: 氯化高铁血红蛋白标准液 b: 稀释后的氯化高铁血红蛋白标准液 c: 合并后
a: Standard solution of hemiglobincyanide b: Diluted standard solution of hemiglobincyanide c: Merged

图1 分光光度法估算出血量的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of spectrophotometry in estimating blood loss

1.2.2 标本处理及出血量估算

分光光度法: 术前抽取患者静脉血5 mL备用。术前吸引器瓶中预先加入肝素抗凝, 术中使用一次性防水单及产科剖宫产用防水贴膜, 防止冲洗液漏至无菌单或台下。术中使用的所有沾血纱布均用生理盐水反复冲洗至基本无色。使用吸引器确保收集术区所有冲洗液及血液, 术后将冲洗液标本充分混匀, 采用临床用一次性输血器过滤(红细胞平

均直径7 μm , 滤网孔径170 μm)^[12-13], 在保证滤除椎间盘纤维组织、脂肪、韧带组织等杂质的同时保证血红蛋白的完整性。取冲洗液标本, 使用血红蛋白测定试剂盒HiCN法处理后测定其在540 nm处的OD值, 根据标准曲线测出冲洗液中血红蛋白浓度, 同时测定患者术前静脉血中血红蛋白浓度, 计算出血量。出血量(mL)=冲洗液标本血红蛋白浓度(g/L) \times 冲洗液总体积(mL)/术前血红蛋白浓

度(g/L)。

血红蛋白计算法:术前、术后均抽取患者静脉血5 mL,送血常规检查,以血红蛋白每下降5 g/L为失血200 mL^[14],通过术前与术后血常规中血红蛋白的浓度差得出术中出血量。

目测法:术后凭主刀医师及另外2名有多次此类手术经验的医师通过肉眼观察术中冲洗液颜色估计出血量,取3人估计出血量的平均值作为目测法结果。

1.3 统计学处理

采用SPSS 24.0软件对数据进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD-t检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

以生理盐水稀释后的不同浓度悬浮红细胞标本作为检测对象,测定的OD值与标准曲线中相应浓度对应的OD值比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),说明标准曲线可用于低浓度血红蛋白测定,分光光度法用于测定冲洗液中血红蛋白浓度是准确可行的。

患者术前血红蛋白浓度为(127.0 ± 18.3)g/L,术后血红蛋白浓度为(121.9 ± 17.8)g/L,术中冲洗液量为(1 704 ± 388)mL。分光光度法测得冲洗液中血红蛋白浓度为(3.93 ± 1.92)g/L,据此估算术中出血量为12.30~164.33(51.85 ± 27.48)mL;血红蛋白计算法估算的术中出血量为40~960(216.00 ± 155.91)mL;目测法估计的术中出血量为5~100(32.17 ± 20.11)mL;3种方法测得术中出血量差异均有统计学意义($P < 0.05$),其中目测法估计的出血量低于分光光度法,血红蛋白计算法估算的出血量高于分光光度法。

3 讨 论

术中出血量是衡量手术效果的一项重要指标,但目前尚缺乏测量PELD术中出血量的详细方法。在既往文献中,常规开放手术中出血量的评估方法是计算术前与术后血红蛋白的差值,此法简便易行,但影响因素过多(术中补液、机体应激、术中麻醉药物的使用、术后体液再分布等)^[15-16],精确度偏低,应用于出血量较大的传统开放手术时误差尚可接受,而PELD的微创特性,术中出血对血红蛋白水平的影响并不十分明显,此法并不适用。此

外,PELD术中出血量小且被冲洗液大量稀释,难以直接收集血液进行计算,加之冲洗液中血红蛋白浓度极低,超出了临床检验常用的血细胞分析仪的最低检出限度,无法使用血细胞分析仪直接测算^[17]。目前,对于PELD术中出血量主要依靠主刀医师根据冲洗液的颜色进行估算,这种目测法估计出血量主要依赖于主刀医师的个人经验,误差很大,实际出血量常比目测法测得量高^[18],且各医师由于经验及认知水平不同,对冲洗液颜色及其相对应出血量的判断不尽相同,在临床工作中很难形成量化的标准。

本研究采用分光光度法,以HiCN法为基础,将术中收集的所有含有血液的冲洗液均匀混合后作为标本,可准确测得标本中血红蛋白浓度,进一步计算得到出血量,可提高估算的准确性。为保证将误差控制在可接受范围内,本研究采取了一系列措施:①为避免仪器本身的测量误差,每次测定OD值前均使用符合ICSH标准的HICN标准液进行仪器校正。②由于术中各阶段出血量不同,术中必须全程收集并使血液与冲洗液均匀混合以保证结果的准确性。故本研究术中使用产科剖宫产用手术贴膜及一次性防水单,以保证术中标本不会漏至无菌单上或手术台下,同时使用冲洗液将术中沾血的纱布洗涤至无色以保证术中出血尽可能被完全收集。③标本凝固将使测量产生明显误差,本研究组在吸引器瓶中预先使用肝素,可有效防止凝血。④本方法的原理是测量标本的OD值,术中产生的杂质如椎间盘、脂肪、韧带等组织将使测得的OD值偏大,使用临床用一次性输血器过滤冲洗液可有效避免杂质对标本OD值的影响,同时可保证红细胞完全通过输血器滤网(红细胞平均直径为7 μm,滤网孔径为170 μm)。为保证估算的准确性,本研究操作较为繁琐,今后仍需进一步探讨更简便且严谨的方法以迅速估算PELD术中出血量,并确保进一步减少实验误差。

本研究验证了分光光度法计算PELD术中出血量的可行性,且此方法并不局限于这一手术方式,还可用于估算其他以水为介质的微创手术术中出血量,如膀胱镜、各种关节镜、颈椎经椎间孔入路内窥镜技术、经皮肾镜等。准确估算术中出血量是评价手术创伤大小、比较不同术式疗效差异、指导术后康复治疗的重要指标,分光光度法可较为准确地估算PELD术中出血量,为临床工作中评估出血量提供了一个量化标准和新的选择。

参考文献

- [1] Apostolides PJ, Jacobowitz R, Sonntag VK. Lumbar discectomy microdiscectomy: “the gold standard”[J]. Clin Neurosurg, 1996, 43: 228-238.
- [2] Lee DY, Shim CS, Ahn Y, et al. Comparison of percutaneous endoscopic lumbar discectomy and open lumbar microdiscectomy for recurrent disc herniation[J]. J Korean Neurosurg Soc, 2009, 46(6): 515-521.
- [3] Kim M, Lee S, Kim HS, et al. A comparison of percutaneous endoscopic lumbar discectomy and open lumbar microdiscectomy for lumbar disc herniation in the Korean: a meta-analysis[J]. BioMed Research International, 2018, 2018: 9073460.
- [4] Pan L, Zhang P, Yin Q. Comparison of tissue damages caused by endoscopic lumbar discectomy and traditional lumbar discectomy: a randomised controlled trial[J]. Int J Surg, 2014, 12(5): 534-537.
- [5] Verwilghen RL. Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood(ICSH Standard 1986) and specifications for international haemiglobincyanide reference preparation(Third edition)[J]. Int J Lab Hematol, 2015, 9(1): 73-79.
- [6] Behrens JA, Brown WP, Gibson DF, et al. Whole-blood hemoglobin determinations: a comparison of methodologies[J]. Am J Clin Pathol, 1979, 72(6): 904-908.
- [7] Sowemimo-Coker SO. Red blood cell hemolysis during processing[J]. Transfus Med Rev, 2002, 16(1): 46-60.
- [8] Zijlstra WG, Buursma A, Zwart A. Molar absorptivities of human hemoglobin in the visible spectral range[J]. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol, 1983, 54(5): 1287-1291.
- [9] Hoek W, Kamphuis M, Gast R. Haemoglobin cyanide: molar lineic absorbance and stability constant[J]. J Clin Chem Clin Biochem, 1981, 19(12): 1209-1210.
- [10] 张建中, 贺福如. 氧化高铁血红蛋白测定中若干问题的探讨[J]. 临床检验杂志, 1996, 14(2): 112.
- [11] 张亚男. 氧化高铁血红蛋白测定法对血红蛋白测定方法及临床意义[J]. 中国现代药物应用, 2013, 7(11): 48-49.
- [12] Agarwal S, Kumar V, Shakher C. Analysis of red blood cell parameters by Talbot projected fringes[J]. J Biomed Opt, 2017, 22(10): 1-8.
- [13] Haden RL. Diffraction methods for measuring the diameter of the red blood cell[J]. J Lab Clin Med, 1938, 23(5): 508-518.
- [14] 英国血液学会. 英国红细胞临床应用指南[J]. 国外医学输血及血液学分册, 2003, 26(5): 466-469.
- [15] Fantoni D, Shih AC. Perioperative fluid therapy[J]. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 2017, 47(2): 423-434.
- [16] 赵静, 虞意华. 围手术期目标导向液体治疗对患者预后影响的研究进展[J]. 中华外科杂志, 2016, 54(12): 951-954.
- [17] Kawai Y, Takeuchi K, Shimizu N, et al. Accuracy, precision and clinically acceptable level of complete blood cell count by an automated multichannel hematology analyzer[J]. Rinsho Byori, 1999, 47(4): 343-352.
- [18] Rothermel LD, Lipman JM. Estimation of blood loss is inaccurate and unreliable[J]. Surgery, 2016, 160(4): 946-953.

(收稿日期: 2019-03-12)

(本文编辑: 于 倩)