

ZVLÁŠTNÍ RUBRIKA

PŮVODNÍ ZAHRANIČNÍ PŘÍSPĚVKY S ČESKÝM PŘEKLADEM

616-001.17-001.5-039.39-089

616-001.17-001.5-039.39-089

DIE ANWENDUNG VON AUTOLOGEN KERATINOZYTENKULTUREN BEI DER BEHANDLUNG VON THERMOMECHANISCHEN KOMBINATIONSVÉRLETZUNGEN

¹E. KOLLIG, ¹U. EICKHOFF, ¹M. SENKAL, ²H. L. KLAMMER
¹Chirurg. Univ. Klinik St. Josef Hospital, Bochum
²Chirurg. Klinik St. Johannes Hospital, Bonn

Einleitung

Eine thermomechanische Kombinationsverletzung liegt durchschnittlich bei etwa 5 % der Brandverletzten vor (21). Bei zivilen Grossschadensereignissen kann diese Quote 20 % und mehr betragen, wie dies Angaben aus jüngerer Zeit belegen.

Infolge der zunehmenden Technisierung hat auch bei militärischen Auseinandersetzungen der Anteil von Brandverletzten kontinuierlich zugenommen (Tab. 1). Die Explosion von Spreng- und Treibstoff bei getroffenen Fahrzeugen, Flugzeugen oder Panzern zieht fast stets eine thermomechanische Kombinationsverletzung häufig in Verbindung mit einem Inhalationstrauma nach sich (24).

Tabelle 1

Anteil der Brandverletzten unter den verwundeten Soldaten

Militärische Auseinandersetzungen	Anteil Brandverletzter
Vietnam (1966/67)	2,6 %
Yom-Kippur (1973)	9,3-10,5 %
Libanon (1982)	8,6 %
Falkland (1982)	19-21 %

War der Schwerbrandverletzte in der Vergangenheit zunächst durch den Verbrennungsschock vital gefährdet, so stehen heute die aus der Wundinfektion entstehende Sepsis sowie die Katabolie als lebensbedrohliche Komplikationen im Vordergrund. Die Erfahrung zeigt, dass sich der Brandverletzte erst nach definitiver Deckung der verlorenen Hautareale mit autologem Material tatsächlich von der Verbrennungskrankheit erholen kann. Die Brandwunde gilt als die fundamentale pathologische Störung, die den schnellstmöglichen

POUŽITÍ AUTOLOGNÍCH KERATINOCYTOVÝCH KULTUR K LÉČBĚ KOMBINOVANÝCH TERMOMECHANICKÝCH PORANĚNÍ

¹E. KOLLIG, ¹U. EICKHOFF, ¹M. SENKALL, ²H. L. KLAMMER
¹Chirurgická univerzitní klinika Nemocnice sv. Josefa, Bochum
²Chirurgická klinika Nemocnice sv. Johana, Bonn

Úvod

Kombinované termomechanické poranění se vyskytuje průměrně asi u 5 % popálených (21). U civilních velkých havárií může tento podíl dosáhnout 20 % i více, jak to dokazují údaje z poslední doby.

V důsledku zvyšující se technizace vzrůstal také u vojenských konfliktů neustále podíl popálených (tabulka 1). Výbuch traskaviny a pohonných hmot při zasažení vozidel, letadel nebo tanků přináší s sebou téměř vždy termomechanické kombinované poranění, často ve spojení s inhalačním traumatem (24).

Tabulka 1

Podíl popálených mezi raněnými vojáky

Vojenské konflikty	Podíl popálených
Vietnam (1966/67)	2,6 %
Yom-Kippur (1973)	9,3-10,5 %
Libanon (1982)	8,6 %
Falklandy (1982)	19-21 %

Byl-li těžce popálený v minulosti vitálně ohrožován především popáleninovým šokem, pak nyní stojí v popředí sepse vznikající z rané infekce a také katabolismus jako komplikace ohrožující jeho život. Zkušenost ukázala, že popálený teprve po definitivním krytí oblastí se ztrátou kůže autologním materiálem se může zotavit z popáleninové nemoci. Popáleninová rána představuje základní patologickou poruchu, která vyžaduje pokud možno nejrychlejší obnovení tělesného krytu (23). Jde-li o termomechanické kombinované poranění,

Behandlungsabschluss erfordert (23). Liegt eine thermomechanische Kombinationsverletzung vor, muss mit noch schwerwiegenden Traumafolgen und assoziierten Komplikationen gerechnet werden (21). Daraus ergibt sich die Indikation für die frühestmögliche Entfernung des verbrannten Gewebes und die baldige autoplastische Wunddeckung. Hier kann die Transplantation von gezüchteten autologen Keratinozyten einen wesentlichen Beitrag zur Verkürzung der kritischen Phase der offenen Verbrennungsareale beitragen. Nachdem 1981 O'Connor et al. (16) sowie 1984 Gallico et al. (7) die erfolgreiche Anwendung von gezüchteten, autologen Keratinozyten bei tiefermalen Verbrennungen vorgestellt hatten, beschäftigten sich weltweit viele Arbeitsgruppen mit der 1975 von Rheinwald und Green (17) inaugurierten Serienkultivierung humaner Keratinozyten für den autologen Hautersatz.

Unsere Erfahrungen bei der Behandlung von Patienten mit lebensbedrohlichen, thermomechanischen Kombinationsverletzungen unter Anwendung der genannten Methode werden im folgenden Abschnitt vorgestellt und diskutiert. Es handelt sich um die Patienten von der Abteilung Unfallchirurgie und Verbrennungsmedizin des Bundeswehrzentralkrankenhauses Koblenz.

Kasuistiken

Patient I

Ein 25jähriger Soldat erlitt während des Golfkrieges bei der Explosion eines Tanklastzuges zweit- und drittgradige Verbrennungen von 64 % der Körperoberfläche sowie eine schwere Zerstümmerungsverletzung des linken Beines am Oberschenkel distal. Auf dem Kriegsschauplatz wurde die notfallmässige Oberschenkelamputation durchgeführt, eine offene Wundbehandlung schloss sich an. Nach Stabilisierung der vitalen Parameter konnte der Verletzte per Lufttransport zuverlegt werden. Bei Übernahme war der kreislaufstabile Patient intubiert und weiter beatmungspflichtig. Die verbrannten Hautareale zeigten eine Besiedelung mit einem multiresistenten *Pseudomonas aeruginosa*, derselbe Keim wurde auch in den Bronchialwegen nachgewiesen (Abb. 1).

Methodik der Zellkultivierung

Die Keratinozyten wurden nach folgender Methode kultiviert (6): eine 1-2 cm² grosse, fett- und dermisbefreite (Spalt)hautbiopsie wird nach Zerkleinerung enzymatisch durch Trypsin in der Ebene der Basalmembran in Dermis und Epithel aufgetrennt. Die isolierten Einzelzellen werden nach der Methode von Green (9) auf einem Fibroblastenzellrasen (Feederzellen) ausgesät. Durch eine vorangehende Gammabestrahlung dieser Fibroblasten

musíme počítat s ještě závažnějšími následky poranění a s nimi spojenými komplikacemi (21). Z toho plyne indikace pro co možná nejčasnější odstranění popálených tkání a včasné autoplastické krytí rány. Zde může transplantace vykultivovaných autologních keratinocytů podstatně přispět ke zkrácení kritické fáze otevřených oblastí popáleniny. Poté, co roku 1981 O'Connor a spolupracovníci (16) a také roku 1984 Gallico a spolupracovníci (7) popsali úspěšné použití vykultivovaných autologních keratinocytů při hlubokých popáleninách, mnohé pracovní skupiny na celém světě se zabývaly sériovou kultivací lidských keratinocytů zavedenou roku 1975 Rheinwaldem a Greenem (17) pro účely autologní náhrady kůže.

Naše zkušenosti s léčbou pacientů s život ohrožujícím termomechanickým kombinovaným poraněním léčených zmíněnou metodou jsou zpracovány a je o nich diskutováno v této práci. Pacienti jsou z oddělení úrazové chirurgie a léčby popálenin v Ústřední vojenské nemocnici v Koblenzi.

Kazuistiky

Pacient I

Pěťadvacetiletý voják utrpěl v průběhu války v Perském zálivu při explozi nákladního vlaku s pohonnými hmotami popáleniny druhého a třetího stupně na 64 % celkového povrchu těla a rozdrčení distální části stehna levé dolní končetiny. Na bojišti v nouzových podmínkách byla provedena amputace v úrovni stehna, následovala otevřená léčba rány. Po stabilizaci vitálních funkcí mohl být raněný odsunut letecky.

Při příjmu byl pacient se stabilním krevním oběhem intubován a dále uměle ventilován. Popálené kožní oblasti vykazovaly osídlení multirezistentním kmenem *Pseudomonas aeruginosa* a tentýž kmen byl prokázán rovněž z průdušek (obrázek 1).

Metoda buněčné kultivace

Keratinoocyty byly kultivovány touto metodou (6): Kožní štěp (biopsie) o velikosti 1-2 cm² zbavený tuku a dermis byl po rozmělnění enzymaticky trypsinem rozdělen na úrovni bazální membrány na dermis a epitel. Izolované jednotlivé buňky byly naočkovány podle metody Greena (9) na vrstvu fibroblastových buněk.

V důsledku předchozího ozáření gama paprsky nejsou tyto fibroblasty již schopny proliferace,

sind diese nicht mehr proliferationsfähig, produzieren aber Anheftungsfaktoren, Wachstumsfaktoren und niedermolekulare Metaboliten für die Keratinozyten. Als Wachstumsmedium wird eine 3:1 Mischung aus Dulbecco's Modification of Eagle's Medium und Ham's F12 verwendet. Nach der Aussaat werden die Zellkulturen bei 37 °C und 9 % CO₂ inkubiert und in zweitägigem Abstand mit frischem Medium versorgt. Nach ungefähr 8 Tagen bedecken die Zellen 80 % der Gewebekulturflecken. Um deren weitere Expansion zu bewirken, werden die Primärkulturen in diesem Stadium passagiert: mit einer Lösung aus Trypsin und EDTA werden sie von der Oberfläche der Flaschen gelöst und als Einzelzellsuspension in Sekundärkulturen angelegt, die das 20- bis 30fache der Primärkulturfläche erreichen. Innerhalb von 3 bis 4 Wochen kann so aus 1 cm² Haut bis zu 1 m² Keratinozytenepithel gewonnen werden. Nach 8 bis 10 Tagen werden die Sekundärkulturen als konfluenter Zellrasen präpariert. In diesem Zustand weisen die Zellkulturen deutliche Anzeichen einer beginnenden Differenzierung auf. Sie sind mechanisch so stabil, dass sie unter enzymatischer Wirkung der Dispase als zusammenhängendes Häutchen aus der Kulturschale abgelöst und auf einer Vaseline-Gase fixiert zur Transplantation gebracht werden können.

Die Lokalthherapie der Verbrennungsareale erfolgte mit Polyvidon-Jod, mit Ausnahme des zweitgradig verbrannten Gesichtes, das mit Silbersulfadiazin-Creme behandelt wurde. Es wurde ein 4 cm² grosses Stück Vollhaut von der linken Oberarminnenseite entnommen und zur Keratinozytenzüchtung und nach der oben beschriebenen Methode weiter verarbeitet. In den aufeinanderfolgenden Operationen wurde der Oberschenkelstumpf gekürzt und mit autologen Meshgraft-Transplantaten gedeckt. Die nekrektomierten Hautareale der übrigen betroffenen Körperabschnitte wurden -soweit verfügbar- successive ebenfalls mit autologen Meshgrafts versorgt oder temporär mit Synthografts konditioniert (Epigard®). Nachdem mit der entsprechenden Latenzzeit (20 Tage) ausreichend kultivierte Keratinozyten zur Verfügung standen, wurden diese als Sheets auf die Streckseiten beider Unterarme, des rechten Unter- und Oberschenkels transplantiert (Abb. 2, Abb. 3). Die Einheilungsquote der transplantierten Keratinozytensheets wurde 20 Tage nach deren Anwendung beurteilt und variierte abhängig von der Verbrennungstiefe und dem jeweiligen Körperabschnitt: nach tiefermaliger Verbrennung (2 b°) sahen wir eine "take-rate" am rechten Unterarm von 10%, am rechten Unterschenkel von 70%. Am linken Oberschenkel betrug die Quote 80%. Auf drittgradig verbranntem Areal des linken Oberschenkels konnte die Reepithelisierung von 50% der transplantierten Fläche beobachtet werden.

Die autologen Meshgrafttransplantate heilten komplett ein, am Oberschenkelstumpf konnte eine

avšak produkují adhezivní faktory, růstové faktory a nízkomolekulární metabolity pro keratinocyty. Jako růstové médium se používá směs v poměru 3:1 Dulbecco's Modification of Eagle's Medium a Ham's F 12. Po naočkování se buněčné kultury inkubují při 37 °C a v prostředí obsahujícím 9 % CO₂. Ve dvoudenních intervalech jsou zásobeny čerstvým kultivačním médiem. Po zhruba 8 dnech pokryjí buňky 80 % plochy nádoby pro tkáňovou kultivaci. K dosažení jejich další expanze se primární kultury v tomto stadiu pasážují: s pomocí roztoku trypsinu a EDTA jsou uvolněny s povrchu kultivační nádoby a ze suspenze jednotlivých buněk jsou založeny sekundární kultury, které dosahují dvacetinásobné až třicetinásobné plochy primární kultury. V průběhu 3 až 4 týdnů lze tak z 1 cm² kůže získat až 1 m² keratinocytového epitelu. Po 8 až 10 dnech jsou sekundární kultury připraveny do podoby souvislé buněčné vrstvy. V tomto stavu vykazují buněčné kultury zřetelné známky počínající diferenciaci. Jsou mechanicky tak stabilní, že pod vlivem enzymatického působení je lze jako souvislou vrstvu oddělit od kultivační nádoby a přenést na vazelinovou gázu a tím připravit k transplantaci.

Místní terapii popálených oblastí jsme prováděli jodpolyvinylpyrolidonem s výjimkou popálenin druhého stupně na tváři, které byly léčeny krémem Silversulfadiazin. Z vnitřní-strany levé paže byl odebrán kousek plné kůže o velikosti 4 cm² ke kultivaci keratinocytů a podle výše popsané metody dále zpracován. V následujících operacích byl pahýl stehna zkrácen a pokryt autologními síťovanými transplantáty.

Nekrektomované kožní oblasti ostatních postižených částí těla byly - pokud byly k dispozici - postupně rovněž kryty autologními síťovanými štěpy nebo byly dočasně ošetřeny syntetickým krytem (Epigard®). Jakmile byly po příslušné době 20 dnů k dispozici v dostatečném množství nakultivované keratinocyty, byly tyto jako pláty transplantovány na extenzorové strany obou předloktí, pravého bérce a stehna (obrázek 2, obrázek 3).

Rozsah přihojení transplantovaných keratinocytových plátů byl hodnocen po 20 dnech po jejich aplikaci a kolísal v závislosti na hloubce popálení a na jejím umístění na těle: Po hlubokých dermálních popáleninách (2 b stupně) jsme pozorovali na pravém předloktí 10 %, na pravém bérce kolem 70 % ploch přihojených. Na levém stehně byl podíl přihojení 80 %. V oblasti levého stehna s popáleninami třetího stupně jsme pozorovali reepitelizaci na 50 % transplantované plochy.

Autologní síťované transplantáty se kompletně přihojily, na pahýlu stehna se rána zhojila per pri-

primäre Wundheilung dokumentiert werden. Der Patient erholte sich nach dem definitiven plastischen Verschluss der Verbrennungsareale zunehmend und konnte mobilisiert werden. Acht Wochen nach der Übernahme wurde er zur weiteren Rehabilitation in die USA verlegt.

Patient II

Ein 27-jähriger Soldat zog sich bei der Explosion und dem Absturz eines Helikopters in den Indischen Ozean zweit- und drittgradige Verbrennungen von 60 % der Körperoberfläche, ein Inhalationstrauma sowie eine drittgradig offene Oberarmtrümmerfraktur rechts zu. Im Rahmen der Erstversorgung wurde neben der Schockbekämpfung und Anwendung von Mafenid® auf den verbrannten Hautarealen die Stabilisierung des rechten Humerus durch einen Fixateur externe bei offener Wundbehandlung durchgeführt. Anschließend wurde der Verletzte auf dem Luftweg nach Deutschland zuverlegt. Bei der Übernahme war der Patient intubiert, kreislaufstabil und kontrolliert beatmet. Die Verbrennungsareale wurden topisch mit Polyvidon-Jod therapiert, am rechten Oberarm kam bei täglichem Verbandswechsel mit Wundtoilette und Konditionierung der offenen Wundfläche mit Epigard® eine modifiziert-offene Wundbehandlung (MOW) zur Anwendung. Die tiefermalen und drittgradigen Verbrennungen wurden nekrektomiert, am rechten Humerus wurden avitale Knochenfragmente entfernt, der Oberarm verkürzt, um zu ermöglichen den freiliegenden frakturierten Humerus mit ortsfähigem vitalen Gewebe decken zu können. Die Hautdefektareale wurden, soweit zu gewinnen, mit autologen Meshgrafts gedeckt. Ansonsten wurden zur temporären Deckung und Konditionierung Synthografts benutzt.

Nach initialer Entnahme eines Spalthautstreifens zur Keratinozytenkultivierung (zur Technik vgl. Pat. I) konnten zwanzig Tage nach Übernahme des Verletzten die ersten autologen Keratinozytensheets auf die Beine und den linken Unterarm transplantiert werden. Auch hier resultierte bei der Beurteilung 20 Tage nach der Transplantation ein differenter Einheilungserfolg abhängig von Verbrennungstiefe und -areal (Abb. 4, Abb. 5): nach 3^o Verbrennung waren am Oberschenkel eine "take-rate" von 10 % zu sehen, am Unterschenkel eine von 40%. Im Fall der tiefermalen Läsion konnten wir am Unterschenkel die vollständige Reepithelisierung verzeichnen (100 %). Am rechten Oberarm war nach dem geschilderten operativen Vorgehen ein komplikationsloses Einheilen der autologen Meshgrafts zu verzeichnen, eine ossäre Infektion sahen wir nicht. Mit dem Verschluss der Defektareale erholte sich der Patient soweit, dass er sechs Wochen nach der Übernahme zur weiteren, abschliessenden Behandlung in die USA verlegt werden konnte.

mam. Patient se zotavil po definitivním plastickém krytí popálených oblastí a byl schopen odsunu. Osm týdnů po přijetí byl odsunut do USA k další rehabilitaci.

Patient II

Sedmadvacetiletý voják utrpěl při explozi a zřícení vrtulníku do Indického oceánu popáleniny druhého a třetího stupně na 60 % povrchu těla, inhalační trauma a také otevřenou tříštivou zlomeninu pravé paže. V rámci prvního ošetření vedle protišokových opatření a aplikace Mafenidu® na popálené plochy byla provedena stabilizace pravého humeru externím fixátorem při otevřené léčbě rány. Potom byl raněný letecky přepraven do Německa.

Při příjmu byl pacient již intubován, arteficiálně ventilován a krevní oběh měl stabilizován. Popálené plochy byly místně ošetřeny jodpolyvinylpyrolidonem, na pravé paži při každodenních převazech s toaletou rány a při ošetřování otevřené ranné plochy Epigardem® jsme použili modifikovanou otevřenou léčbu rány. Na hlubokých popáleninách třetího stupně byla provedena nekrektomie, na pravém humeru byly odstraněny avitální kostní úlomky, paže byla zkrácena, abychom mohli uvolněný zlomený humerus překrýt místní vitální tkání. Oblasti s kožními defekty byly podle možnosti pokryty autologními síťovanými štěpy. Jinak byly k dočasnému krytí a léčbě použity syntetické kryty.

Po prvotním odběru kožních štěpů pro kultivaci keratinocytů (co se týče techniky, shodná jako u pacienta I) po 20 dnech od přijetí pacienta mohly být transplantovány první autologní keratinocytové pláty na dolní končetiny a levou paži. Také zde při hodnocení za 20 dnů po transplantaci jsme pozorovali různou úspěšnost hojení v závislosti na hloubce a umístění popáleniny (obrázek 4, obrázek 5): U popáleniny třetího stupně jsme na stehně viděli přihojení na 10 % plochy, na bérce na 40 %.

V případě hlubokých kožních lézí na bérce jsme zaznamenali ve 100 % úplnou reepitelizaci. Na pravé paži po popsáném operačním výkonu jsme pozorovali vhojení autologních síťovaných štěpů bez komplikací, infekci kostí jsme nepozorovali.

Po uzávěru defektních oblastí se pacient zotavil do té míry, že 6 týdnů po jeho převzetí mohl být přepraven k závěrečnému doléčení do USA.

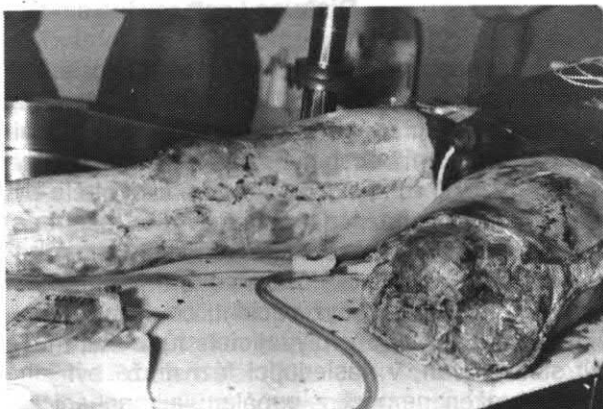


Abb. 1 Pat. I, drittgradige Verbrennungen an beiden Beinen sowie traumatische Oberschenkelamputation links; Verletzungsbild zum Zeitpunkt der Übernahme

Obr. 1 Pacient I, popáleniny 3. stupně na obou dolních končetinách a zároveň traumatická amputace stehna vlevo; stav zranění v okamžiku přijetí

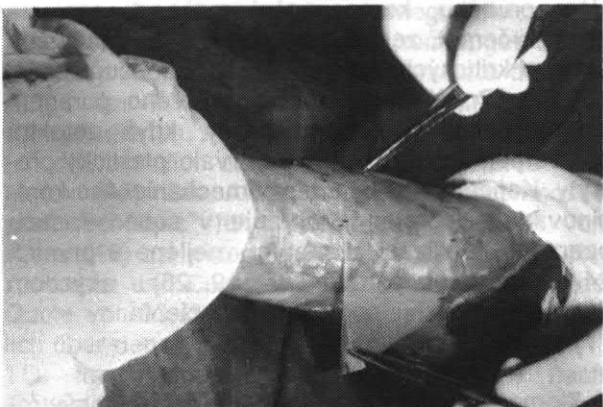


Abb. 2 Pat. I, Transplantation von autologen Keratinozytensheets nach Nekrektomie und Konditionierung, hier rechter Unterarm

Obr. 2 Pacient I, transplantace plátu autologních keratinocytů po nekrektomii a ošetření pravého předloktí



Abb. 3 Pat. I, 10 Tage nach Keratinozytentransplantation auf den rechten Unterarm

Obr. 3 Pacient I, 10 dnů po transplantaci keratinocytů na pravém předloktí



Abb. 4 Pat. II, Transplantation von gezüchteten, autologen Keratinozytensheets nach Nekrektomie und Konditionierung, hier Oberschenkel

Obr. 4 Pacient II, transplantace nakultivovaných autologních keratinocytových plátů po nekrektomii a ošetření stehna



Abb. 5 Pat. II, konfluierende Epithelisierung am Unterschenkel 25 Tage nach Transplantation von autologen Keratinozyten

Obr. 5 Pacient II, splývající epitelizace na bérce 25 dnů po transplantaci autologních keratinocytů

Diskussion

Das thermomechanische Kombinationstrauma wird in den geläufigen Traumascores nicht der Verletzungsschwere entsprechend berücksichtigt, muss aber hinsichtlich der vitalen Gefährdung als das Polytrauma gewertet werden (21). Die vorliegenden Zusatzverletzungen sollten bereits zu Beginn erkannt und adäquat behandelt werden, wobei das Gesamttherapiekonzept den pathophysiologischen Folgen der Einzelverletzungen gerecht werden muss (22, 25). Kann der Patient hinsichtlich des initialen Schocks und seiner resultierenden Konsequenzen stabilisiert werden, ist er in der Folgezeit durch die Verbrennungskrankheit und die mechanischen Verletzungskomponente vital gefährdet. Sepsis und Katabolismus können insbesondere bei langwierigen Verläufen die Kompensationsmöglichkeiten des Patienten überfordern, zumal beim Schwerverbrannten gerade in den kritischen Phasen eine Immunsuppression vorliegt (4, 14, 27). Der Verbrennungspatient kann sich erst dann definitiv von seiner Verletzung erholen, wenn die Defektareale der verbrannten Haut auf Dauer plastisch gedeckt wurden. Das Behandlungskonzept bei der thermomechanischen Kombinationsverletzung beinhaltet die frühzeitige, operative Frakturstabilisierung - am besten innerhalb der ersten 24h nach dem Trauma (5, 19, 26) - , um die frühestmögliche Mobilisation des Patienten zu erreichen. Die Frakturen sollten hinsichtlich ihrer Versorgung prinzipiell als offene Frakturen betrachtet werden. Ist eine offene Reposition der Fraktur unumgänglich, so sollte ihr eine modifiziert offene Behandlung der Operationswunde folgen. Die ebenfalls frühestmögliche, permanente plastische Versorgung ist als weiterer, elementarer Faktor in der Therapie anzustreben. Insbesondere bei ausgedehnten Verbrennungen (>60 %) und damit nur geringen Spenderarealen für autologe Spalthauttransplantate gestaltet sich dieses Vorhaben schwierig oder zumindest unerwünscht prolongiert. Zudem stellt jede Spalthautentnahmestelle wiederum ein Defektareal dar. In dieser Situation sehen wir eine gute Indikation für die Anwendung von kultivierten epidermalen Zelltransplantaten. Sie stellen zwar noch nicht den angestrebten vollwertigen Hautersatz dar, weisen aber die nachfolgenden Vorteile auf: Limitierung der benötigten Spenderareale, physiologische, definitive Wundabdeckung, Produktion von Zytokinen, Wachstumsfaktoren und Matrixelementen (23), optimale Konditionierung vor autologer Spalthauttransplantation sowie protektive Wirkung durch antimikrobiellen Effekt und Barrierefunktion. Demgegenüber sind jedoch auch klare Nachteile zu verzeichnen: der Zeitfaktor von etwa 20 Tagen, eine zumindest initial geringe mechanische Belastbarkeit, eine höhere Anforderung an die topische Behandlung, problematisches Einheilungsverhalten bei 3° Verbrennungen, der Kostenfaktor

Diskuse

Při běžném hodnocení kombinovaného termomechanického traumatu není vždy brán zřetel na závažnost poranění, které však vzhledem k vitálnímu ohrožení musí být hodnoceno jako polytrauma (21). Existující další poranění by měla být již na začátku poznána a adekvátně ošetřena, přičemž celková terapeutická koncepce musí odpovídat patofyziologickým následkům jednotlivých poranění (22, 25). I když pacient, co se týče initiačního šoku a z toho vyplývajících důsledků, může být stabilizován, v následující fázi může být jeho život ohrožen nemocí z popálení a mechanickými složkami poranění.

Sepse a katabolismus mohou, zvláště při vleklém průběhu, kompenzační možnosti pacienta zcela vyčerpat, zejména když u těžce popáleného právě v kritických fázích dojde k imunosupresi (4, 14, 27). Popálený se může ze svého poranění zotavit definitivně teprve tehdy, když defektní oblasti popálené kůže jsou natrvalo plasticky překryty. Koncepce léčby u termomechanického kombinovaného poranění zahrnuje v sobě včasnou operační stabilizaci zlomenin - nejlépe v prvních 24 hodinách po poranění (5, 19, 26) - abychom dosáhli co nejdříve pohyblivosti pacienta.

Zlomeniny by měly být, co se týče jejich ošetřování, považovány zásadně za otevřené. Je-li otevřená repozice zlomeniny nevyhnutelná, měla by následovat modifikovaná otevřená léčba operační rány. Stejně tak bychom měli usilovat o co nejčasnější trvalé plastické ošetření, což je dalším elementárním faktorem v terapii.

Zvláště při rozsáhlých popáleninách (> 60 %) a s nepatrnými plochami vhodnými pro odběr autologních kožních štěpů se uskutečňuje tento záměr obtížně nebo alespoň s nevitným zpožděním. Přitom každé místo odběru kožního štěpu představuje opět defektní oblast.

V této situaci vidíme vhodnou indikaci pro použití kultivovaných epidermálních buněčných transplantátů. Ty sice nepředstavují ještě plnohodnotnou náhradu kůže, o kterou usilujeme, avšak vykazují tyto výhody: omezení potřeby odběru kožních štěpů, fyziologické definitivní krytí rány, produkce cytokinů, růstové faktory a elementy matrix (23), optimální příprava před autologní transplantací kožních štěpů a rovněž ochranný účinek daný antimikrobním efektem a bariérovou funkcí.

Naproti tomu je třeba uvést jasné nevýhody: časový faktor kolem dvaceti dnů, alespoň zprvu nepatrná mechanická odolnost, vyšší požadavek na místní terapii, problematičtější přijímání u popálenin třetího stupně a faktor finančních

und die aufwendige Logistik.

Zwar wurde von Compton et al. (2) nachgewiesen, dass sich nach Transplantation von autologen, epidermalen Zellkulturen eine stabile Neodermis entwickelt, dennoch bleibt mit der auch bei den eigenen Patienten beobachteten, niedrigen "take-rate" auf nekrektomierten Arealen mit drittgradigen Verbrennungen ein ernstzunehmendes Problem (11). Die Anforderungen an den idealen Hautersatz werden derzeit nur von der patienteneigenen Haut erfüllt (8). Vor allem stellt die Regeneration der dermalen Komponente ein bislang ungelöstes Problem dar (23).

Die kombinierte Verwendung von homologer Allodermis und kultivierten, autologen epithelialen Transplantaten durch das von Cuono et al. (3) beschriebene Verfahren der zweizeitigen Transplantation bietet eine Lösungsmöglichkeit: nach Nekrektomie und Deckung mit homologer Spenderhaut bietet der bindegewebig ersetzte dermale Anteil der Allodermis den in zweiter Sitzung transplantierten, kultivierten autologen Keratinozyten offensichtlich die zur Einheilung erforderliche Matrix (20). Die Anwendung dieser "composite graft technique" führte nach den Angaben von Rives (18) zu einer Einheilungsrate von 75,4%, Hickerson und Compton (12) berichten über eine Quote von 93,4%. Diese Ergebnisse stehen deutlich über denen aus den Angaben der Literatur (1, 11). Im eigenen Patientengut konnten nach Transplantation von autologen Keratinozyten Einheilungsquoten von bis zu 80 % nur auf Areale tiefer dermalen Verbrennung beobachtet werden. Die vorangehende Konditionierung bzw. temporäre Deckung war durch Synthografts erfolgt. Das Vorhandensein oder Fehlen einer tragfähigen, extrazellulären dermalen Matrix ist für die Einheilung von Transplantaten wie für die Reepithelialisierung im Rahmen der Wundheilung überhaupt von grosser Bedeutung (13, 15). Fehlt eine solche Matrix, muss entweder eine niedrige "take-rate" in Kauf genommen werden - wie teilweise auch bei den eigenen Patienten - oder es muss eine solche Matrix geschaffen werden, wie dies derzeit durch die Anwendung von Allodermis in der "composite graft technique" möglich ist. Bei der Indikationsstellung zur Verwendung von frischer und kryokonservierter Fremdhaut sollte allerdings die potentielle Infektionsmöglichkeit bedacht werden (8). Hautanhangsgebilde lassen sich inzwischen züchten, das kultivierte, dermale Volläquivalent ist aber noch Gegenstand der Forschung (1, 10) und bis auf absehbare Zeit nicht für die klinische Anwendung zu erwarten (11).

Schlussfolgerung

Durch die Anwendung von autologen, kultivierten Keratinozyten können vor allem bei tiefermalen Verbrennungen Spalthauttransplantate einge-

bracht werden.

I když Compton se spolupracovníky (2) prokázal, že po transplantaci autologních epidermálních buněčných kultur se vytváří stabilní neodermis, přesto zůstává nízký stupeň přijetí na nekrektomovaných plochách u popálenin třetího stupně, což bylo pozorováno i u našich pacientů, stále nejzávažnějším problémem (11).

Požadavky na ideální náhradu kůže jsou plněny toho času pouze vlastní pacientovou kůží (8). Především regenerace dermálních komponent představuje dosud nevyřešený problém (23).

Kombinované použití homologní alodermis a kultivovaných autologních epiteliálních transplantátů metodou dvoustupňové transplantace popsanou Cuonem a spolupracovníky (3) skýtá možnost řešení: Po nekrektomii a krytí homologním kožním štěpem poskytuje vazivo nahrazující dermální část alodermis kultivovaným autologním keratinocytům transplantovaným při druhém sezení potřebnou matrix pro vhojení (20).

Použití této „composite graft technique“ vedlo podle údajů Rivese (18) k 75,4 % zhojení, Hickerson a Compton (12) referují o 93,4 %. Tyto výsledky stojí zřetelně nad výsledky jiných literárních údajů (1, 11). U vlastního souboru pacientů jsme pozorovali po transplantaci autologních keratinocytů zhojení až z 80 % pouze na plochách s hlubokými dermálními popáleninami.

Předcházející příprava, respektive dočasné krytí, bylo provedeno syntetickými kryty. Přítomnost nebo chybění nosné extracelulární dermální matrix pro vhojení transplantátů a pro reepitelizaci v rámci hojení rány má velký význam (13, 15).

Chybí-li taková matrix, musíme buď počítat s nízkým procentem přijetí - jak tomu bylo částečně i u našich pacientů - nebo se musí taková matrix vytvořit, jak to umožňuje použití alodermis v „composite graft technique“. Při stanovení indikace pro použití čerstvé nebo kryokonzervované alogenní kůže bychom měli ovšem myslet i na potenciální nebezpečí infekce (8).

Kožní přídatné útvary lze mezitím kultivovat, vykultivovaný dermální plně hodnotný ekvivalent je však stále ještě předmětem výzkumu (1, 10) a v dohledné době nebude dostupný pro klinické použití (11).

Závěr

Použitím autologních kultivovaných keratinocytů lze především u hlubokých dermálních popálenin omezit nutnost odběru kožních transplan-

spart werden (11). Diese Methode erlaubt unter Berücksichtigung ihrer Besonderheiten den definitiven plastischen Wundverschluss. Wir sehen bei thermomechanischen Verletzungen mit ausgedehnten Verbrennungen (mehr als 60 % der Körperoberfläche) eine gute Indikation zur Verwendung von autologen, gezüchteten Keratinozyten zur permanenten Wunddeckung. Aufgrund der zunächst nur geringen mechanischen Belastbarkeit der Keratinozytentransplantate bevorzugen wir als Empfängerareale die Streckseiten der Extremitäten (Gelenke ausgenommen) sowie die Ventralseite von Thorax und Abdomen.

Zusammenfassung

Die thermomechanische Kombinationsverletzung muss hinsichtlich der pathophysiologischen Konsequenzen als Polytrauma betrachtet werden. Die Versorgung dieses Verletzungstypus stellt durch zwei wesentliche, miteinander verknüpfte Probleme eine besondere Herausforderung an die Verbrennungsmedizin dar; zum einen der meist ausgedehnte thermische Schaden des Hautinteguments, zum anderen die häufig offenen Frakturen der Extremitäten oder sonstige mechanische Verletzungen. Ein Schwerbrandverletzter erhält sich erst nach definitiver plastischer Deckung der zuvor nekrosektomierten Areale. Bei limitierten Spenderhautbezirken sehen wir für die Verwendung von autologen Keratinozytenkulturen bei thermomechanisch Kombinationsgeschädigten eine gute Indikation zur definitiven Versorgung von tief dermalen Verbrennungsarealen nach Nekrektomie, zum beschleunigten Abheilen von oberflächlichen Verbrennungen und zur Stimulation der Reepithelisation von Spenderarealen im Hinblick auf die weitere Transplantatgewinnung von derselben Stelle. Die besten Resultate wurden von uns bei zweitgradigen Verbrennungen gesehen, wo bei noch erhaltener dermalen Matrix eine hohe Angehörigkeit der Keratinozyten gewährleistet (bis 80% im eigenen Patientengut) ist. Die schlechteren Ergebnisse bei drittgradigen Verbrennungen (Angehörigkeit bis maximal 40% im eigenen Kollektiv) können durch die Verwendung von Allogodermis nach tangentialer Frühexcision mit anschließender autologer Keratinozytentransplantation entscheidend verbessert werden.

Literatur

1. BOYCE, S. T. - GREENHALGH, D. G. - KAGAN, R. J.: Skin anatomy and antigen expression after burn wound closure with composite grafts of cultured skin cells and biopolymers. *Plast. Reconstr. Surg.* (1993) 91: 632.
2. COMPTON, C. - GILL, J. - BRADFORD, B. A.: Skin regenerated from cultured epithelial autografts on full thickness burn wounds from 6 days to 5 years after grafting. *J. Invest. Dermatol.* (1989) 60: 600-612.
3. CUONO, C. B. - LANGDON, R. - BIRCHALL, N. - BARTEL-

tátů (11). Tato metoda umožňuje při zohlednění jejich zvláštností definitivní plastické krytí rány. U termomechanických poranění s rozsáhlými popáleninami (více než 60 % povrchu těla) vidíme vhodnou indikaci k použití autologních kultivovaných keratinocytů k trvalému krytí rány.

Na základě zpočátku jen nepatrné mechanické odolnosti keratinocytových transplantátů upřednostňujeme jako oblasti pro jejich aplikaci extenzorové strany končetin (s výjimkou kloubů) a rovněž ventrální stranu hrudníku a břicha.

Souhrn

Kombinované termomechanické poranění musí být považováno vzhledem k patofyziologickým důsledkům za polytrauma. Péče o tento typ poranění představuje dva podstatné spolu související problémy; na jedné straně jde o rozsáhlá termická poškození kožního krytu, na druhé straně o zlomeniny končetin, často také o otevřené zlomeniny končetin nebo jiná mechanická poranění. Pacient s těžkými popáleninami se uzdraví teprve po definitivním plastickém překrytí oblastí po dříve provedené nekrektomii.

Při omezených oblastech nepoškozené kůže, odkud lze odebírat kožní štěpy, vidíme v použití autologních keratinocytových kultur u nemocných s termomechanickým kombinovaným poškozením dobrou indikaci pro definitivní ošetření oblastí s hlubokými dermálními popáleninami po nekrektomii, pro dosažení urychleného zhojení povrchních popálenin a pro stimulaci reepithelizace v místech odběru štěpů, což by umožnilo další odběr z téhož místa.

Nejllepší výsledky jsme pozorovali u popálenin druhého stupně, kdy při ještě zachované dermální matrix bylo dosaženo vysokého procenta přijetí keratinocytů (až v 80 % ve vlastním souboru nemocných). Horší výsledky u popálenin třetího stupně (procento přijetí maximálně do 40 % ve vlastním souboru) mohou být podstatně zlepšeny použitím alogenní kůže po tangenciální včasné excizi s následující autologní transplantací keratinocytů.

Překlad V. Měrka

- BORT, S. - MCGUIRE, J.: Composite autologous - allogeneic skin replacement: Development and clinical application. *Plast. Reconstr. Surg.* (1987) 80: 626-635.
- DAIFUKU, R. - ANDRESEN, J. - MORSTYN, G.: Recombinant methionyl human granulocyte colony-stimulating factor for the prevention and treatment of non neutropenic infectious diseases. *J. Antimicrob. Chemother.* (1993) 32:91.
- DOSSET, A. B. - HUNT, J. L. - PURDUE, G. F. - SCHLEGEL, J. D.: Early orthopedic intervention in burn patients with

- major fractures. *J. Trauma* (1991) 31: 888-892.
6. EICKHOFF, U. - MAIER, K.: Stimulation der Wundheilung durch Transplantation autologer Keratinozyten-Kulturen. Aus: Sedlarik, K. M. ed.: Wundheilung, Gustav Fischer Verlag Jena - Stuttgart, 2. Auflage (1993): 279-287.
 7. GALLICO, G. G. - O'CONNOR, N. E. - COMPTON, C. C. - KEHINDE, O. - GREEN, H.: Permanent coverage of large burn wounds with autologous cultured epithelium. *N. Engl. J. Med.* (1984) 311: 448-451.
 8. GERMANN, G. - RAFF, T.: Fremdhauttransplantation bei Schwerverbrannten. *Chirurg* (1995) 66: 260-270.
 9. GREEN, H. - KEHINDE, O. - THOMAS, J.: Growth of cultured human epidermal cells into multiple epithelia suitable for grafting. *PNAS* (1976) 76: 5665.
 10. HANSBROUGH, J. F. - BOYCE, S. T. - COOPER, M. L. - FOREMAN, T. J.: Burn wound closure with cultured autologous keratinocytes and fibroblasts attached to a collagen-glycosaminoglycan substrate. *JAMA* (1989) 262: 2135.
 11. HENCKEL von DONNERSMARCK, G. - MÜHLBAUER, W. - HÖFTER, E. - HARTINGER, A.: Die Verwendung von Keratinozytenkulturen in der Schwerverbranntenbehandlung - bisherige Erfahrungen, Ausblicke zur weiteren Entwicklung. *Unfallchirurg* (1995) 98: 229-232.
 12. HICKERSON, W. - COMPTON, C.: Technical advances in the utilization of cultured epidermal autografts. Abstract 659, 3rd International Congress on the Immune Consequences of Trauma, Shock and Sepsis - Mechanisms and Therapeutic Approaches. Munich 1994, March 2nd-5th.
 13. HOFSTÄDTER, F.: Pathologie der Wundheilung. *Chirurg* (1995) 66: 174-181.
 14. HORGAN, A. F. - MENDEZ, M. V. - O'RIORDAIN, D. S. - HOLZHEIMER, R. G.: Altered gene transcription after burn injury results in depressed T-lymphocyte activation. *Ann. Surg.* (1994) 222: 342.
 15. MacNEIL, S.: What does the extracellular matrix serve in skin grafting and wound healing? *Burns* (1994) 20: 67.
 16. O'CONNOR, N. E. - MULLIKEN, J. B. - BANKS-SCHLEGEL, S.: Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells. *Lancet* (1981) 1: 75-78.
 17. RHEINWALD, J. G. - GREEN, H.: Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell* (1975) 6: 331-344.
 18. RIVES, J. M. - SELLAM, P. - KARCENY, B. - AINAUD, P. - Le BEVER, H. - Le REVEILLE, R. - CARLIN, H.: Cultured epithelial autografts (CEA) management and colonisation control in extensive burn injuries: "Thoughts on local dressing". Abstract 152, 9th Congress of the International Society for Burn Injuries, Paris 1994, June 27th-July 1st.
 19. SAFFLE, J. R. - SCHNELBY, A. - HOFMAN, A. - WARDEN, G. D.: The management of fractures in thermally injured patients. *J. Trauma* (1983) 23: 902-910.
 20. SCHIOZER, W. A. - HARTINGER, A. - HENCKEL von DONNERSMARCK, G. - MÜHLBAUER, W.: Composite grafts of autogeneic cultured epidermis and glycerol preserved allogeneic dermis for the coverage of full thickness burn wounds: Case reports. *Burns* (1994) 20: 503.
 21. SCHULTZ, H. J. - SCHMIDT, H. G. K. - QUEITSCH, C. - JÜRGENS, C. - BISGWA, F.: Die Behandlung schwerer Begleitverletzungen beim Verbrennungspatienten. *Unfallchirurg* (1995) 98: 224-228.
 22. SCHWEIBERER, L. - NAST-KOLB, D. - DUSWALD, K. H. - WAYDHAS, C. - MÜLLER, K.: Das Polytrauma - Behandlung nach diagnostischem und therapeutischem Stufenplan. *Unfallchirurg* (1987) 90: 529-538.
 23. VOGT, P. M. - HEBEBRAND, D. - HUSSMANN, J. - STEINAU, H. U.: Biologische und molekularbiologische Aspekte der Verbrennungstherapie. *Chirurg* (1995) 66: 251-259.
 24. WEINER, S. - BARRETT, J.: Trauma management for civilian and military physicians. W. B. Saunders Company, Philadelphia (1986).
 25. WOLF, G. - DITTMANN, M. - FREDE, K. E.: Klinische Versorgung des Polytraumatisierten. *Chirurg* (1978) 49: 737-744.
 26. ZELLWEGER, G. - KÜNZI, W.: Das Polytrauma beim Verbrennungspatienten. *Z. Unfallchir. Versicherungsmed. Berufskr.* (1986) 79: 165-166.
 27. ZELLWEGER, G.: Die Behandlung der Verbrennungen. Dtsch. Ärzte Verlag Köln 2. Auflage (1995).

Schlüsselwörter: Thermomechanischen Verletzungen; Kultiviertes autologes Epithel.

Klíčová slova: Termomechanická poranění; Kultivovaný autologní epitel.