

616—089.84.3/611.77—0199.9:542.46/:47)

KLINICKÉ ZKUŠENOSTI S POUŽITÍM LYOFILIZOVANÉHO KOŽNÍHO HOMOŠTĚPU

MUDr. I. KUSÁK, MUDr. M. KRAČMER, MUDr. M. CHYTILOVÁ, MUDr. V. KULHÁNEK

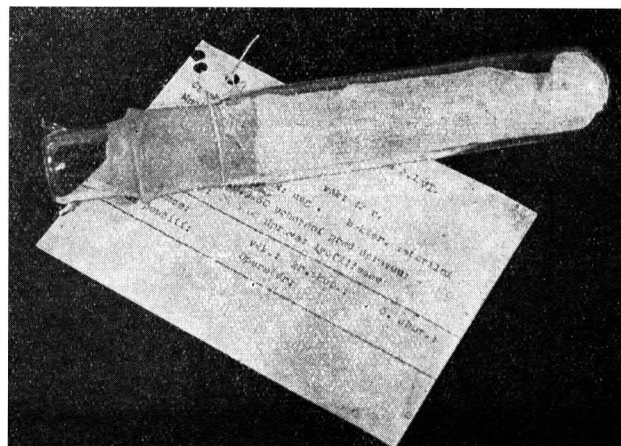
Z Výzkumného ústavu traumatologického v Brně. Ředitel prof. MUDr. Vladimír NOVÁK, doktor lék. věd

V posledních třech letech jsme v pokusech řešili otázku použití lyofilizovaného kožního homoštěpu při odložené transplantaci, kdy z jakéhokoli důvodu nebylo možné nebo vhodné okamžitě užít autoštěpu ke krytí kožních defektů (Kračmer a spol.). Naše práce potvrdily, že lyofilizovaný kožní homoštěp může uchovat spodinu rány v dobrém stavu pro pozdější definitivní překrytí autoštěpem. Spodina je čistá, bez přerůstajících granulací. Dále pokusné práce ukázaly, že kožní homoštěp není jen pasivním krytem rány, ale že se zúčastňuje aktivně hojení (Kračmer a spol.). Tato biologická aktivita je vzájemná. Lyofilizovaný homoštěp omezuje růst bakteriální flóry. Usnadňuje přihojení autoštěpu tím, že čerstvé novotvořené pupeny cévní v nízké vrstvě granulační plochy, připravené k vrůstání do homoštěpu, vrůstají do autoštěpu a urychlují jeho přihojení. Na druhé straně lyofilizovaný kožní homoštěp vyvolá transplantační imunitní odpověď (Maurer cit. Haškem), avšak stupeň schopnosti vyvolat tvorbu protilátek podle našich výsledků (Kulháněk a spol.) i podle bádání jiných autorů (Chalmers) — je nižší než po homoštěpech jinak konzervovaných. Opíraje se o své experimentální výsledky, považovali jsme za oprávněné použít lyofilizovaných kožních homoštěpů v klinické praxi. Připravili jsme si zásobu lyofilizovaných kožních homoštěpů, které uchováváme při pokojové teplotě. Štěpy byly odebírány ze zemřelých, krátce po smrti, Humbyho nožem za přísně aseptických podmínek operačního sálu, podle zásad platících pro tkáňové banky. Ihned po odebrání byly rozprostřeny na sterilní mlu, kryty další vrstvou mlu, potom svínuty a vloženy do sterilních nádob se zabroušenou zátkou. Poté byly zmrazeny a lyofilizovány stejným způsobem, jakého jsme použili v experimentu, a to na přístroji typu Shell vlastní výroby ve vysokém vakuu 10^{-3} mm Hg s teplotovým spádem 69—73 °C. Štěpy jsme lyofilizovali v těchto nádobách, do kterých byly ukládány po odběru. Po ukončení lyofilizace byla nádoba uzavřena zabroušenou zátkou a zalita parafínem (viz obr. č. 1). Takto připravený štěp v případě potřeby máčíme ve 200 ml fyziologického roztoku, popřípadě se dvěma sty tisíci jednotek peni-

cilínu s $\frac{1}{2}$ g streptomycinu. Zpravidla po 30 minutách nabude štěp normální vláčnosti a pružnosti a nabývá tak vzhledu čerstvého štěpu. Nynějši naše zásoba je již více než rok stará. Štěpy mají stále stejnou kvalitu až na naznačené tmavší zbarvení povrchního epitelu, snad vlivem použitých dezinfekčních prostředků při odběru. Histologický nálezn za rok odpovídá nálezům, které byly dělány ihned po lyofilizaci.

Zdálo by se, že indikace k použití lyofilizovaného homoštěpu v míru nejsou příliš časté, ukázalo se však, že i v denní běžné chirurgii mají lyofilizované kožní homoštěpy svou důležitost, jak o tom svědčí klinické výsledky u našich 9 nemocných, u nichž jsme z různých indikací použili lyofilizovaných kožních homoštěpů k prozatímnímu krytí kožních defektů. Z tohoto počtu bylo 6 mužů a 3 ženy ve věku od 34 do 80 let. U všech nemocných jsme opakovaně sledovali tvorbu protilátek metodou Steffenovou, modifikovanou Kulhánkem (Kulháněk a spol.). U žádného z nich se touto metodou nepodařilo prokázat protilátky.

První nemocný (F. M., č. chor. 2402/58), 35letý slevač, byl popálen při odlévání železa. Popáleniny druhého a třetího stupně postihly 20 %



1. Skleněná nádoba s lyofilizovaným kožním homoštěpem ovinutým v mlu.

tělního povrchu. Po vzestupu teploty koncem týdne zjištěno zelenomodré prosáknutí obvazu a vytvoření několika furunklů s hlubokými čepy v nepopálených místech. Vzhledem k infekci a septickému stavu sneseny kožní nekrózy a spodina kryta kožními lyofilizovanými homoštěpy. Z furunklů i popálených ploch vypěstován na penicilín rezistentní *staphylococcus albus*. Další průběh hojení byl klidný, nemocný bez teplot. Pátý den při převazu štěpy lpí pevně ke spodině. Homoštěpy odloupnuty, spodina je čistá a kryta dermoepidermálními autoštěpy, které se dále bez poruch přirojily. Ze stěrů z granulačních ploch pod lyofilizovanými homoštěpy nevyrostly žádné mikroby. Dvanáctý den po autotransplantaci byl nemocný propuštěn zhojený domů.

Druhý nemocný (H. B., č. chor. 2401/58), 47letý slevač, poraněn stejným způsobem, jen v menším rozsahu. Po snesení nekrotické nešlo bezpečně určit hloubku postižení tkání, proto defekty zatím kryty homoštěpy, které se po týdnu odlučují, a spodina je epitelizována.

Třetí nemocný (P. L., č. chor. 2953/59), 50letý natěrač, po zasažení elektrickým proudem ohořel a popáleninami bylo postiženo 53 % tělního povrchu, z toho bylo 30 % popálenin 2. stupně a 23 % 3. stupně. V průběhu léčení dochází k infikování popálených ploch *bacterium coli* a *pseudomonas aeruginosa*. Vzhledem k celkovému těžkému stavu a k tomu, že byly převážně infikovány nekrotické kožní plochy, přikročeno k jejich odstranění. Stav nemocného nedovoloval zatížit jej snášením autoštěpů a navíc zbývalo pro odběr kůže jen jedno stehno. Defekty po odstranění nekrotické z poloviny kryty homoštěpy. Stav nemocného se pak rychle upravuje, mizí *bacterium coli*. Zbývající granulační plochy se čistí pod vlhkým obvazem a je možno krýt je kožními autoštěpy a po odhojení homoštěpů dokončeno krytí autotransplantáty. Nemocný propuštěn zhojen a po pozdější úpravě kontraktur vzniklých v jizvách mezi štěpy a na jejich okrajích je opět schopen svého původního zaměstnání.



2. Pravý bérce nemocné S. M. Obnažená holenní kost po odloučení nekrózy.

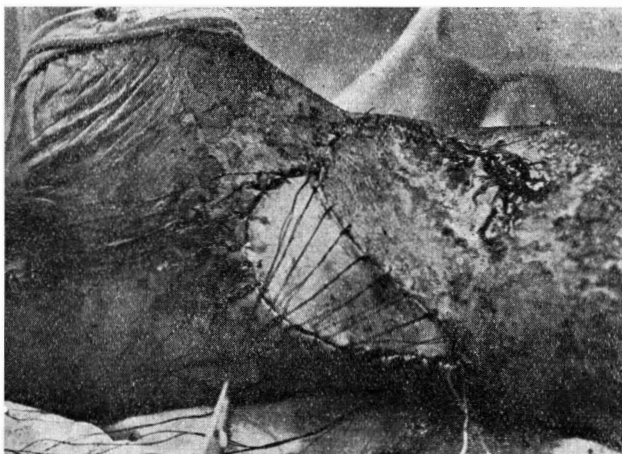


3. Tkáňový defekt kryt přiloženým lyofilizovaným homoštěpem.

Čtvrtý nemocný (N. F., č. chor. 2455/58), 34letý, utrpěl rozdrčení prstů levé nohy se zhmožděním nohy takového stupně, že bylo ohroženo její cévní zásobení. Rány silně znečištěny. Po exartikulaci druhého článku palce úprava pahýlu, kůže zašita, po snesení rozdrčeného 2. až 5. prstu zbývá nekrytý defekt 6×8 cm, který za nejistých oběhových poměrů byl kryt lyofilizovaným štěpem. Pátého dne pro bolest a vzestup teploty revize rány. Okolí homoštěpu je klidné, přesto byl štěp odloupen. Spodina je čistá, žádná zánětlivá reakce. Zato na pahýlu palce zánětlivé změny vynucují rozpuštění sutury. Po třech dnech aplikace vlhkého obvazu a po dalších pěti dnech krytí defektu novým homoštěpem rána zakryta autotransplantátem, přiloženým se bez komplikací. Po 14 dnech nemocný zhojen. Z hnisu z pahýlu palce vypěstován na penicilín rezistentní *staphylococcus aureus haemolyticus*, ze stěru pod kožním lyofilizovaným homoštěpem nevyrostly žádné mikroby.

Pátá nemocná (V. B., č. chor. 3960/60), 44letá žena, byla povalena autem. Utrpěla pohmoždění mozku se zlomením spodiny lebni, četné rány a pohmožděnin a zlomení pravostranných žeber. Na pravém bérce a na hřbetě pravé nohy je plošná rána s defektem kůže 10×15 cm, znečištěná blátem. Na spodině obnaženy šlachy, okolní kůže zhmožděná a odřena. Po resuscitaci vzhledem k celkovému stavu a s ohledem na nejistotu krevního zásobení po těžkém zhmoždění končetiny byl defekt kryt lyofilizovaným homoštěpem. Průběh hojení klidný, nemocná je bez teplot a subjektivních potíží. Při převazu dvanáctý den štěp převážně odhojen, spodina granuluje. Po aplikaci vlhkého obvazu rána kryta kožním autotransplantátem a po třech týdnech po úrazu je defekt zhojen.

Šestý 81letý nemocný (K. V., č. chor. 3762/60) byl povalen autem. Levá dolní končetina lividní, chladná, pulzace hmatná jen na stehenní tepně. Rozsáhlé, hluboké tržné a zhmožděné rány dolní části bérce a nohy. Rány nekrvácejí. Rentgen prokazuje zlomeninu zevního kotníku a tří metatarzů. Po nitrotepenném nástřihu novokainem



4. Krytí defektu nad obnaženou holenní kostí stočením laloku; druhotný defekt kryt volným dermoepidermálním autoštěpem.

do stehenní tepny začíná zvolna úprava cévního zásobení. Po úpravě rány zbývá kožní defekt 10×20 cm, který za nejistých oběhových poměrů byl vykryt kožním homoštěpem. V dalších dnech dochází ke zlepšení prokrvení. Při kontrole 7. dne štěp přihojen a 12. dne vyměněn za autotransplantát. Spodina byla čistá, krytá granulacemi, bakteriologicky s gramnegativními baktériemi bez známek patogenity. Přihojování autoštěpu bylo nerušené. Nemocný zhojen.

Sedmý nemocný (K. O., č. chor. 3201/60), 63letý, byl sražen motocyklem. Při přijetí je v těžkém šoku, má otevřenou tříštivou zlomeninu pravého bérce, zlomeninu pravého stehna a předloktí, četné rány. Po resuscitaci a ošetření ran extenze dolní končetiny. Na pravém bérce nad zlomeninou defekt překryt posunem laloku a druhotný defekt vykryt autoštěpem. Během léčení posunutý lalok nekrotizuje, za tři týdny po odstranění nekrózy vzniká defekt 4×6 cm, na jehož spodině jsou obnažené kostní úlomky, zřejmě sekvestrované, které byly odstraněny. Nelze určit rozsah sekvestrace, proto na defekt přiložen lyofilizovaný kožní homoštěp. Po 8 dnech štěp přihojen, 28. den jsou patrné jen jeho zbytky nad granulacemi. Po překrytí místním rotačním lalokem a krytí druhotného defektu autoštěpem rána zhojena.

Osmá nemocná (S. M., č. chor. 2474/61), 41letá, pádem z půdy utrpěla otevřenou zlomeninu bérce (viz obraz č. 2—5). Zavedena Kirschnerova extenze za patní kost. Sutura kůže nad zlomeninou byla pod napětím, a přestože byl proveden uvolňovací nářez, došlo k nekróze kůže nad zlomeninou a obnažení kosti holenní. Plánované krytí rotačním lalokem bylo nutno odložit pro vážnost celkového stavu, který byl způsoben rozsáhlým plicním infarktem. Proto zatím použito ke krytí obnažené kosti kožního homoštěpu. Před jeho přiložením vypěstován ze spodiny streptococcus alfa viridans. Stejný mikrob nalezen i ve sputu. Štěp se udržel na ráně dva týdny a po aplikaci vlhkého obvazu potom již při celkovém dobrém stavu pacientky byla obnažená

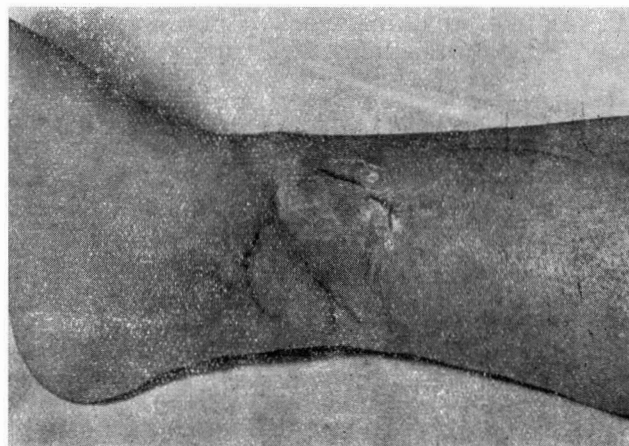
holenní kost úspěšně zakryta rotačním lalokem a druhotný defekt autoštěpem.

Devátá nemocná (R. E., č. chor. 968/61), 51letá diabetička, byla k nám převezena z jiného ústavu, kde se léčila tři týdny pro otevřenou zlomeninu obou kotníků po motocyklovém úrazu. Po kompenzaci diabetu při revizi sneseny rozsáhlé nekrózy z okolí nekrotického zevního kotníku, který byl rovněž odstraněn. Za daného stavu nelze pomýšlet na krytí posunutým lalokem, volíme překrytí homoštěpem, který je ponechán do odhojení za postupné epitelizace rány od okrajů.

Úvaha

Z uvedeného přehledu devíti nemocných, kde jsme použili lyofilizovaného kožního homoštěpu, je patrné, že i v mírové praxi za určitých okolností je způsob odložené transplantace výhodný. V naší sestavě jsme měli různé indikace. Nemocné s popáleninami, u nichž z různých důvodů bylo výhodné použití lyofilizovaného homoštěpu. U prvního nemocného nás k tomu vedla přítomnost současné hnisavé komplikace na jiném místě kožního povrchu s projevy sepse, u druhého nemocného to byla nejistota o hloubce postižení tkání a konečně u třetího popáleného těžký celkový stav. U dalších tří nemocných došlo k poranění se zhmožděním a ztrátou kůže a s postižením hlubších měkkých tkání se značným znečištěním a pochybnou výživou končetin. U zbývajících nemocných po otevřených zraněních skeletu došlo k nekróze kůže nad zlomeninou a celkový klinický stav, popřípadě komplikující přidružená onemocnění nedovolila provést primární krytí takto vzniklých defektů.

U všech nemocných bylo sérologicky pátráno po oběhových protilátkách námi používanou metodou konsumpcí séra proti lidským globulinům (Kulháněk, Chytilová), ale u žádného nebyly zjištěny. Podle histologicky dokázaných místních projevů transplantační imunitní odezvy jsme přesvědčeni, že lyofilizovaný kožní homoštěp tvorbu protilátek vyvolá. Hladina těchto protilátek se však dosud používanými metodami sérologicky zjistit nedá. Pro klinickou praxi je dů-



5. Konečný stav po zhojení kožního krytu.

ležité to, že tvorba protilátek jako imunitní odpověď organismu na lyofilizovaný kožní homoštep je tak nízká, že za normálních okolností hojení později přiloženého autotransplantátu není patrným způsobem ohroženo. Ani v jednom případě nedošlo k poruše přiohování autoštepů nebo rotačních laloků, jejíž příčinou by byla imunitní reakce vyvolaná homotransplantátem. Spodiny po odhojení lyofilizovaného homoštepu byly u všech nemocných čisté a tam, kde již byla infekce přítomná, štepy sice dříve zanikaly, avšak infekci bylo možno lépe zvládnout a jejich užití nevedlo ke zhoršení, naopak, vlivem biologické aktivity štepu došlo ke zlepšení. U jednoho nemocného, kde v těsném sousedství došlo k hnisavé komplikaci, plocha krytá lyofilizovaným štěpem zůstává sterilní. U čerstvých poranění lze s výhodou využít skutečnosti, že lyofilizovaný kožní štěp se v první fázi přiohjí. K jeho odhojení dochází zpravidla kolem 14. dne, v některých případech trvá až 24 dnů. Spodina rány zůstává čistá, mnohdy sterilní, u značně znečištěných ran bývá přítomná nepatogenní saprofytická flóra. A nakonec nedochází k tvorbě přebujelých málo životných granulací, na které se pozdější autoštep špatně přiohjuje. Vytvářejí se naopak granulace ve slabé vrstvě s četnými cévními pupeny, v souhlase s našimi experimentálními výsledky. Další velkou výhodou je třeba spatřovat v nenáročnosti na skladování a v možnosti dlouhodobého uchování lyofilizovaných kožních homoštepů.

Z á v ě r

Po zkušenostech považujeme za výhodnější primární excizi hlubokých nekrotických a krytí defektů lyofilizovanými homoštepy u popálených, u nichž celkový stav nedovoluje autotransplantaci. Tím se zabrání druhotné infekci a podstatně se omezí resorpce rozpadových látek z nekrotické tkáně. Dále je možno lyofilizovaných homoštepů užívat na krytí defektů po uvolňovacích nářezech při cirkulačních poruchách končetin, kde zmenší nebezpečí sekundární infekce a přitom dovolí sledovat stav končetiny po řadu dnů, aniž je současně nemocný postižen dalším defektem a bolestí na odlehlé části kožního povrchu, zejména tehdy, kdy dojde přece jen ke ztrátě končetiny. Dále předpokládáme, že čím větší je časová tíseň při nahromadění těžce raněných, jako při

hromadných neštěstích nebo ve válce, tím spíše je možno indikace rozšiřovat. Kožní lyofilizovaný homoštep umožňuje odsun raněného i na vzdálená pracoviště s minimálním rizikem možnosti vzniku druhotné infekce, bez současného většího ohrožení nemocného imunitní reakcí.

Jsme si vědomi toho, že počet našich uvedených nemocných je malý. Naše indikace však byly přísné vzhledem k tomu, že jsme dosud neměli zkušenosti, pokud se týká imunitní odpovědi i celého dalšího vývoje v hojení kožních defektů u člověka po použití lyofilizovaných homoštepů. Po nynějších dobrých zkušenostech budeme využívat výhody lyofilizovaného kožního homoštepu jistě častěji. Pro všechny tyto nesporné výhody můžeme tedy považovat zatím krytí kožních defektů lyofilizovanými kožními homoštepy v traumatologii za přínos.

P í s e m n i c t v í

1. Chalmers J.: Transplantation Immunity in Bone Homografting. J. Bone Jt. Surg. 41-B, 160, 1959.
2. Kračmer M., Kusák I., Chytilová M., Kulhánek V.: The Use of Lyophilized Skin Homografts in Delayed Transplantation Folia Biol. 5, 38-42, 1959.
3. Kračmer M., Kusák I., Chytilová M., Kulhánek V.: Krytí rány lyofilizovaným štěpem před odloženou transplantací. Rozhl. chir. 38, 17-19, 1959.
4. Kulhánek V., Chytilová M., Kračmer M., Kusák I.: Imunitní odpověď organismu na čerstvé, zmrazené a lyofilizované homotransplantáty. Rozhl. chir. 39, 388, 392, 1960.
5. Kulhánek V., Chytilová M.: Pozměněný způsob průkazu protilátek proti tkáňovým antigenům konsumpcí séra proti lidským globulinům. Čs. epidem., mikrob. a imunol. 10, 57-59, 1961.
6. Maurer P. cit. Haškem M.: Referát o mezinárodním kolokviu o biologii homotransplantací. Čas. lék. čes. 1457, 1958.

S o u h r n

V posledních třech letech bylo použito ve Výzkumném ústavě traumatologickém lyofilizovaných kožních homoštepů jako zatímního krytu kožních defektů před odloženou autotransplantací u devíti nemocných. Indikace k tomuto výkonu byly:

1. Kožní defekt u nemocných v celkovém těžkém stavu, jako je tuková embolie, sepse, crush syndrom, plicní infarkt a podobně.
2. Kožní defekt na končetině s ohroženou výživou.
3. Tkáňové defekty v okolí otevřené zlomeniny, kde pro zánětlivé komplikace nelze použít autologních tkání.

Navrženy ještě další indikace k použití kožních lyofilizovaných homoštepů a zdůrazněna jejich důležitost při hromadných neštěstích.