
HOJENÍ

2. číslo
6. ročník

ISSN 1802-6400

RAN 2012



- autotransplantáty ■ plastická chirurgie ■ kapitoly z historie
 - edukace zdravotníků ■ popáleniny ■ dekubity ■ ulcus cruris
 - podtlaková terapie ■ lokální hemostyptika ■ stránky ČSLSR
-

Hojení široce síťovaných autotransplantátů pomocí autologních epidermálních buněk a bezbuněčné xenodermis Xe-Derma

Robert Zajíček, Igor Pačuga, Hubert Šuca, Radana Königová, Ludomír Brož, Eva Matoušková
Klinika popáleninové medicíny, 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

Souhrn:

U rozsáhle popálených pacientů je základem chirurgického přístupu v léčbě co nejrychlejší uzavěr ranné plochy. Pro pokrytí co největší plochy lůžka rány je autotransplantát před aplikací široce síťován (mesh grafting). Cílem této studie bylo podpořit epitelizaci prostorů mezi můstky široce síťovaného autotransplantátu pomocí aplikace epidermálních buněk pacienta a biologického krytu Xe-Derma (XD). Buněčná suspenze byla získána peroperačně z tenkého dermo-epidermálního štěpu (1–4 cm²) kůže pacienta ReCell systémem nebo standardní trypsinizací. U 14 pacientů s hlubokými popáleninami nad 30 % povrchu těla byla část ranné plochy o rozsahu 2–4 % tělesného povrchu po excizi kryta autotransplantátem široce meshovaným v poměru 1:3 (8 pacientů) nebo 1:6 (6 pacientů). Na třetinu vymezené autotransplantované plochy byly nakapány buňky do ok autotransplantátu a kryty XD (skupina buňky+XD). Druhá třetina ranné plochy byla kryta pouze XD bez buněčné suspenze (skupina XD) a třetí část plochy byla standardně kryta mastným tylem Grassolind (kontrola). Rány kryté autoštěpem síťovaným v poměru 1:3 se pod všemi testovanými kryty zahojily do 9 dnů, rozdíly v epitelizaci byly obtížně hodnotitelné. Při poměru síťování 1:6 byla epitelizace ok autotransplantátu ve skupině buňky+XD rychlejší (9–14 dní) než ve skupině XD (12–17 dní), kvalita zhojené kůže byla v obou případech velmi dobrá. Kontrolní plocha krytá tylem Grassolind se hojila protražovaně, za 20 dnů bylo zhojeno 30–50 % plochy mezer, epidermis se rozpadala. Studie prokázala výrazný přínos sendvičového krytí (kombinace autoštěpu, autologních kožních buněk a XD) pro hojení široce síťovaných autotransplantátů. Také krytí samotnou XD vykazovalo pozitivní hojivý efekt.

Klíčová slova:

- hojení ran
- síťovaný autotransplantát
- epidermální buňky
- izolace buněk
- ReCell systém
- Xe-Derma

Summary:

Healing of widely meshed autografts using freshly isolated autologous epidermal cells and acellular xenodermis Xe-Derma

In extensively burned patients the major step in complex therapy is the fastest possible closure of the wound. To cover the highest possible extent of the wound bed, the autograft is largely meshed prior to application. This work aimed to stimulate the epidermal regeneration of spaces (windows) surrounded by bridges of a largely expanded dermo-epidermal graft using autologous epidermal cells and acellular pig dermis Xe-Derma (XD). Cells were obtained from the patient's skin (1–4 cm²) by the ReCell system or by standard trypsinization. In 14 patients with deep burns a part of the burn area was covered with the autograft meshed 1:3 (8 patients) or 1:6 (6 patients). On one part of the burned area the cells were dropped into the windows of the graft and covered with XD (cells+XD group). The second part was covered with XD alone (XD group). The third part was covered with Grassolind tulle gras (control). The wounds covered with the autograft meshed 1:3 had all healed completely in the course of nine days and differences in the healing time were difficult to distinguish. In wounds autografted with 1:6 mesh, epithelization of windows was faster in the areas treated with cells+XD (9–14 days) then with XD alone (12–17 days); the quality of the healed skin was good in both cases. Healing of the control area covered with Grassolind was prolonged: in 20 days 30–50 % of the grafted area had healed, and the epidermis was fragile and disintegrated. The study showed a positive effect of three sandwiched biological covers (largely expanded autograft, autologous skin cells, XD) on healing of widely meshed autografts. XD without cells also showed a positive healing effect.

Key words:

- wound healing
- meshed autograft
- primary epidermal cells
- cell harvesting
- ReCell system
- Xe-Derma

MUDr. Robert Zajíček

Klinika popáleninové medicíny
FN Královské Vinohrady
Šrobárova 50
100 34 Praha 10

Úvod

Moderní metody pro hojení ran zahrnují léčbu pomocí buněčné terapie – keratinocytů nebo složených biologických krytů obsahujících i více druhů buněk. Buňky jsou většinou kultivované, což je časově náročné (O'Connor et al. 1981; Braye et al. 2000). Poslední dobou se začaly pro terapii využívat i primární buňky izolované z tkáně v průběhu operace (Gravante et al. 2007; Wood et al. 2007).

Rozsáhlé popáleninové úrazy jsou mimořádně závažné pro postiženého i jeho rodinu a okolí. Samotná léčba a následná dlouhodobá, prakticky celoživotní, rehabilitace jsou pro pacienta i společnost velkou zátěží. Pacienti jsou často po úrazu vyřazeni z plnohodnotného života a podrobují se i několika desítkám náročných rekonstrukčních výkonů, hrozí riziko „sociální smrti“ se všemi negativními sociálními i socioekonomickými důsledky. Principem léčby v akutním stavu zůstává snaha o co nejrychlejší obnovu integrity tělesného povrchu pacienta – jeho kožního krytu, a to buď spontánní epitelizací u povrchných popálenin, nebo nekrektomií (odstranění odumřelé kůže) a uzávěrem rány autotransplantací dermo-epidermálním štěpem u hlubokých popálenin. Metody směřující k urychlení procesu hojení u popálenin s částečnou ztrátou kůže a zvýšení efektu autotransplantací u hlubokých popálenin jsou ve svém důsledku přínosem nejen léčebným, ale i ekonomickým (zkrácením délky léčby, menším rizikem vzniku komplikací apod.).

V případě rozsáhlé popálených pacientů je základem chirurgického přístupu v léčbě co nejrychlejší uzávěr ranné plochy. Čím dříve dojde k uzávěru popálených míst definitivním krytem – autotransplantátem, tím je prognóza přežití pacienta příznivější, redukuje se extrémní hypermetabolický stav, funkční i estetické následky úrazu se významně snižují a klesají finanční náklady na léčbu (Königová et al. 2010). I přes pokroky v moderní léčbě a tkáňovém inženýrství je stále nutno k plnohodnotnému uzávěru „ztraceného“ kožního krytu použít pacientovu autologní kož-



Foto: GEUM – Mgr. Karel Vízner

ní tkáň. Pro překlenutí diskrepance mezi rozsahem popálení u extenzivních termických traumat a limitovanými odběrovými plochami je v popáleninové medicíně využívána kombinace krytů syntetických a biologických, které zajistí vhodné podmínky pro epitelizaci (Herndon 2007; Königová et al. 2010). V případě, kdy je nutný chirurgický přístup (nekrektomie a autotransplantace), slouží biologické a syntetické kryty k přípravě lůžka rány pro autotransplantaci, přispívají k vytvoření mladé příznivé granulační vrstvy na nekrektomované ploše, podporují reepitelizaci místa odběru kožního štěpu a poskytují přiloženým autotransplantátům podmínky pro jejich úspěšné přihojení. Moderní přístupy k léčbě rozsáhlých kožních defektů zahrnují také urychlení regenerace tkáně v místě defektu pomocí implantace biomateriálu, kožních buněk, nebo kompletní tkáňové náhrady složené z více vrstev (Jones et al. 2002).

Při aplikaci autoštěpů na lůžko rány používáme široké síťování (mesh-grafting) v poměru 1:3–1:6 abychom štěpem pokryli co největší rannou plochu (Herndon 2007; Königová et al. 2010). Epidermální buňky z okrajů můstek kožního transplantátu musí pak svým růstem, proliferací a migrací zaplnit mezery (oka) mezi můstky síťovaného autotransplantátu. Užití vysokých poměrů expanze (více než 1:3) nám sice umožní pokrytí větší plochy, ale za cenu nárůstu komplikací při hojení ok mezi můstky štěpu. Buňky musí překonat větší vzdálenost k vyplnění defektu, hojení se tak prodlužuje za cenu vyššího

rizika infekce a tvorby nepříznivé granulační tkáně. Výsledný kožní kryt je nekvalitní, má tendenci ke spontánnímu rozpadu, vytváření reziduálních granulačních plošek, které mohou vést k sekundární infekci. Dlouhodobé hojení takto komplikovaných ran vede sekundárně k hypertrofickému hojení a rozvoji jizevnatých kontraktur. Je důležité si uvědomit, že široké expanze kožních štěpů využíváme především u rozsáhlých popáleninových úrazů. Pacienti s rozsáhlou ztrátou kůže jsou ohroženi septickými komplikacemi různé etiologie. Také extrémní dlouhodobý stresový hypermetabolismus hraje negativní roli při hojení ploch. Z těchto důvodů moderní popáleninová medicína využívá celé spektrum možností k urychlení procesu hojení včetně nejmodernějších metod tkáňového inženýrství.

Kultivované keratinocyty se využívají k hojení popálenin již od roku 1981 (O'Connor et al. 1981), avšak kultivace trvá 2–3 týdny a získaná epidermis je velmi křehká a nestabilní. V poslední době se objevily nové možnosti izolace a aplikace kožních buněk přímo v průběhu operace (Gravante et al. 2007; Wood et al. 2007; Goodman 2008; van Geel et al. 2001). ReCell (Avita Medical, UK) je komerční kit pro rychlou (30–45 min) izolaci autologních buněk z malého dermo-epidermálního štěpu kůže a jejich aplikaci na rannou plochu (Gravante et al. 2007; Mulekar et al. 2008). Podobným způsobem je možné enzymaticky rozvolnit buňky standardní trypsinizací (Mulekar et al. 2005; Mulekar et al. 2008). Získaná suspenze bu-

něk je nasprejována či nakapána na ránu. Jako doplnění buněčné součásti biologického krytu jsme v naší modifikaci metody použili pro krytí aplikované buněčné suspenze bezbuněčnou xenodermis Xe-Derma (Medicem Technology, ČR) která má sama o sobě hojivé a stimulační účinky na rány (Zajíček et al. 2008; Zajíček et al. 2011).

Cílem studie bylo stimulovat epidermální regeneraci mezi můstky široce expandovaného dermo-epidermálního štěpu použitím sendvičové techniky tří různých biologických krytů: široce expandovaného autotransplantátu, suspenze autologních kožních buněk

a acelulární prasečí dermis. Tím by mělo dojít ke zkrácení doby epitelizace mezi můstky meshovaného štěpu s redukcí časných i pozdních komplikací hojení ran u rozsáhle popálených pacientů.

Materiál a metody

Pacienti

Do studie byli zařazeni pacienti s rozsahem hlubokých popálenin větším než 30 % tělesného povrchu, z výběru byli vyloučeni pacienti s rozsahem popálení nad 80 % a věkové kategorie pod 15 nebo nad 60 let. Dále byli vyloučeni pacienti postižení úrazu elektrickým proudem, radiačním poleptáním nebo s těžkým inhalačním traumatem, pacienti pod vlivem léků ovlivňujících hojení a pacienti s přidruženými chorobami.

Odběr kůže a izolace keratinocytů

Na začátku operace byl pacientovi s rozsáhlými popáleninami odebrán tenký dermo-epidermální štěp kůže (síla 0,15–0,30 mm; velikost 2–4 cm²). Kůže byla vložena do trypsinu v ReCell systému (obr. č. 1) nebo do 0,5% trypsinu/EDTA (1:1) a inkubována 30–40 minut ve 37 °C. Po vyjmutí z trypsinu byla kůže opláchnuta v SCL (sodium compound lactate, součást kitu ReCell) nebo v mediu H-MEM a poté oddělena epidermis od dermis, čímž se uvolnily bazální buňky. Rozvolnění kůže

bylo dokončeno seškrabáním zbytků buněk z kůže nebo roztřepáním v mini-třepáče (vortexu). Ze získané suspenze byly vyjmuty zbytky kůže (jehlou, filtrace 100 μm sítkem). Suspenze byla ještě naředěna v SCL nebo H-MEM mediu na 1–2 ml (0,5 ml/1 cm² kůže) a nasáta do stříkačky. Výtěžek buněk z 1 cm² kůže (2,2–2,7x10⁶ buněk) byl aplikován na 80 cm² ranné plochy. Doba potřebné přípravy nepřesahovala 45 minut od odběru vzorku.

Transplantace

Pacientovi byl odebrán dermo-epidermální kožní štěp o síle 0,2–0,3 mm a síťován 1:3 (8 pacientů) nebo 1:6 (6 pacientů). Plně expandovaný štěp byl aplikován na ránu a plocha byla opticky rozdělena na tři části o velikosti 100–200 cm². Na první část ranné plochy byla aplikována buněčná suspenze nakapáním přibližně 3x10⁴ buněk/cm² do ok autotransplantátu (obr. č. 2) a plocha kryta XD (obr. č. 3) meshovanou v poměru 1:1,5 (skupina *buněky+XD*). Druhá část plochy byla kryta pouze úzce meshovanou XD (skupina *XD*). Třetí část ranné plochy byla kryta standardním postupem – mastným tylem Grassolind a obkladem roztoku Furantoinu a sloužila jako kontrola. Plochy s XD byly povrchově kryty mastným tylem a gázou zvlhčenou v roztoku Furantoinu a suchým povrchovým krytem z gázového obvazu.



Obrázek z archivu autorů

■ Obr. č. 1: ReCell systém – systém jamek se zahříváním, enzymy, roztoky

Do 1. jamky s trypsinem se vloží malý vzorek kůže na 30 minut při 37 °C. Oddělíme epidermis od dermis (rozvolnění bazálních buněk), sneseme z dermis zbytky buněk. Suspenzi zfiltrujeme přes sítko, naředíme v SCL a nasprejujeme či nakapeme na ránu.

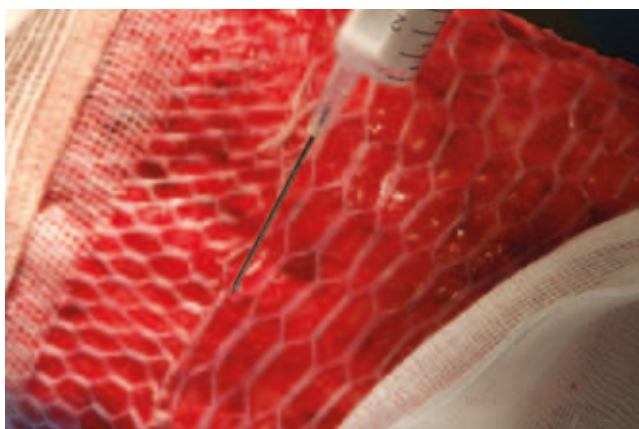


Foto z archivu autorů

■ Obr. č. 2: Aplikace suspenze buněk do ok široce síťovaného autotransplantátu s expanzí 1:6

Na snímku je patrný rozdíl v poměru expanze 1:3 (levá strana) a 1:6 (pravá strana).

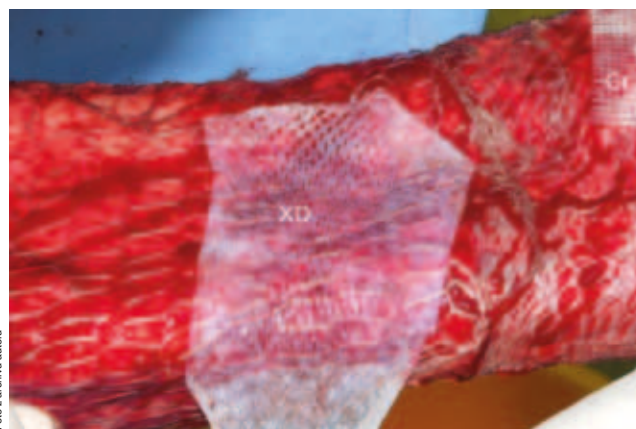


Foto z archivu autorů

■ Obr. č. 3: XD (mesh 1:1,5) přiložená na autotransplantát (mesh 1:6)

Vpravo nahoře mastný tyl Grassolind (Gr).

■ **Obr. č. 4:** Hojení široce síťovaného autotransplantátu na popálenině III. stupně

Pacient 61 let byl popálen při výbuchu propanbutanové láhve, popáleniny II.–III. stupně na 61 % povrchu těla. Stav komplikován následnou infekcí, léčba antibiotiky. Tři týdny po úrazu provedena autotransplantace plochy na stehnu. Po snesení granulační tkáně rána kryta středně silným štěpem síťovaným 1:6; 3 % tělesného povrchu.

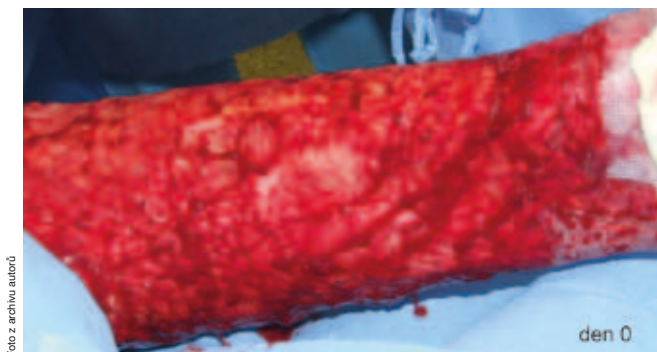


Foto z archivu autorů

■ **Obr. č. 4a:** Den 0: lůžko rány po epifasciální nekrektomii připraveno k autotransplantaci.

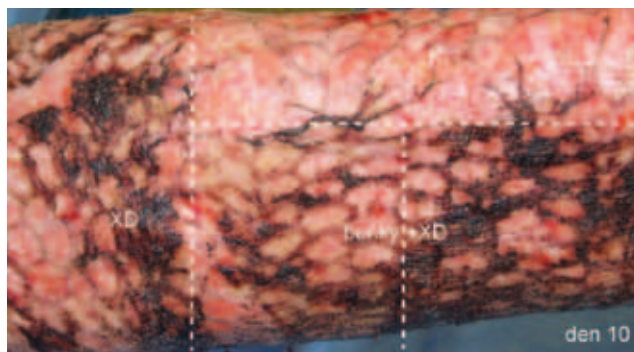


Foto z archivu autorů

■ **Obr. č. 4d:** Den 10: v místě, kde byly aplikovány buňky +XD, je patrný celistvější kryt, ale i v místech, kde byla aplikována pouze XD, je patrná epitelizace výraznější než v kontrolní oblasti s tylem Grassolind.



Foto z archivu autorů

■ **Obr. č. 4b:** Den 0: autotransplantace: plocha rozdělena nad kolenem přibližně na třetiny, v pravé části aplikovány rozvolněné buňky ve formě suspenze, kryto dvěma pláty úzce meshovaného krytu Xe-Derma (buňky+XD); vlevo krytí pouze meshovaným krytem Xe-Derma (XD); zbytek plochy kryt tylem Grassolind (K – kontrola) a obklady s Furantoinem. Jako povrchní kryt celé plochy byl použit mastný tyl Grassolind, převaz gázou.



Foto z archivu autorů

■ **Obr. č. 4e:** Den 13: celkový pohled na ránu s jasně viditelnou hranicí hojení všech tří ploch. Místo, kde byly buňky (buňky+XD), je prakticky na 98 % zhojeno. Místo, kde byla pouze Xe-Derma (XD) je zhojeno z 80 %. Kontrolní plocha krytá tylem Grassolind (K) je nezhojena, četné zbytkové plochy v místě meshe.

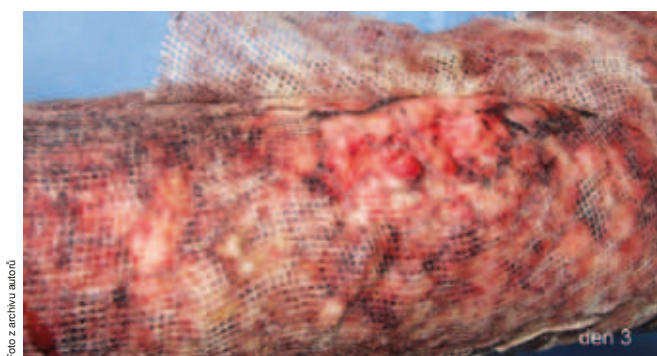


Foto z archivu autorů

■ **Obr. č. 4c:** Den 3: plocha krytá tylem Grassolind. Při odklopení tylu je vidět mesh 1:6 na kontrolní ploše. Rána čistá, bez známek infekce.



Foto z archivu autorů

■ **Obr. č. 4f:** Den 64: kvalitně zhojená plocha v případech, kde byla použita XD s buňkami i XD bez buňek; klinicky není patrný rozdíl. Jizevnatá tkáň je relativně pevná, s minimem zbytkových ploch tam, kde nebylo dokonalé zakrytí XD. Kontrolní oblast, kde byl mesh 1:6 kryt pouze tylem Grassolind (K), je fragilní, s dosud nezhojenými povrchními defekty, s tendencí k zatrhávání a rizikem sekundární infekce plochy.

Hodnocení hojení

Průběžně byla vyhodnocována epitelizace ok meshovaného transplantátu (% epitelizace – epidermal coverage) a hojení rány bylo dokumentováno fotograficky. Při pravidelných převazech v intervalu 48–72 hodin byla hodnocena přítomnost infekce. Po úplném zhojení byla sledována fragilita a estetický vzhled. Výsledky byly hodnoceny dvěma erudovanými popáleninovými specialisty. Po týdnu byly odebrány vzorky na histologické vyšetření.

Výsledky

Hojení štěpu síťovaného v poměru 1:3

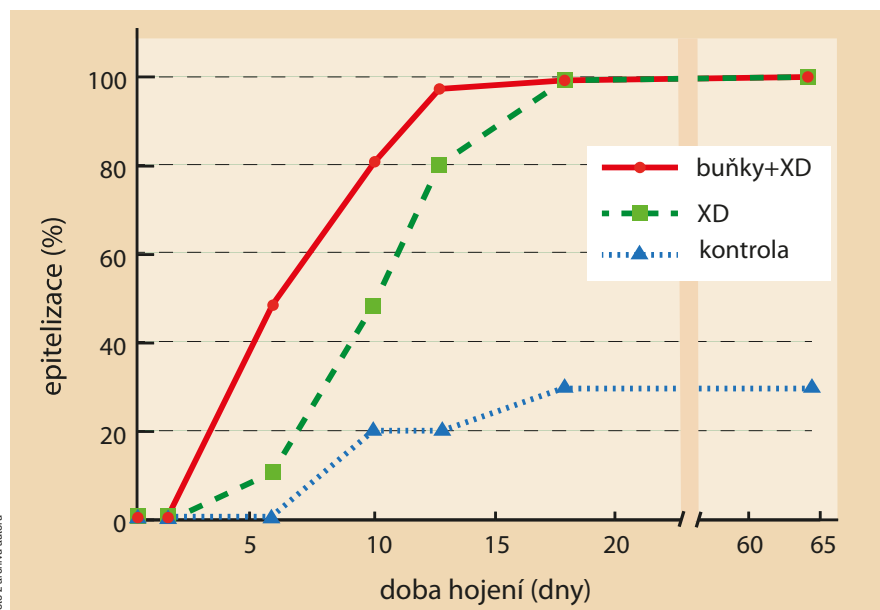
Rány kryté autoštěpem síťovaným 1:3 se pod všemi testovanými kryty (*buňky+XD*, *XD*, *kontrola*) zahojily do 9 dnů. Vzhledem k relativně malé expanzi bylo hodnocení epitelizace obtížné. Hojení ploch krytých *XD* s buňkami i bez buněk bylo dle orientačního vyhodnocení o něco rychlejší než hojení kontroly.

Hojení štěpu síťovaného v poměru 1:6

Signifikantní rozdíly bylo možné sledovat až u vyšší expanze 1:6. Z celkem šesti ošetřených pacientů byla u jednoho pacienta plocha infikovaná (*Staphylococcus aureus*) a došlo ke ztrátě štěpů v celém rozsahu plochy, jeden pacient zemřel. V tabulce č. 1 jsou uvedeny výsledky transplantace u 4 paci-

entů pod jednotlivými kryty. Nejrychlejší reepitelizace byla makroskopicky pozorována u skupiny, kde do ok štěpu byla aplikována buněčná suspenze a kryta *XD* (skupina *buňky+XD*) (obr. č. 2, 3). Delší doba epitelizace byla u skupiny, kde autotransplantát byl kryt pouze *XD* (skupina *XD*). Obě skupiny kryté *XD* vykazovaly tvorbu pevné epidermis. U skupiny kryté tylem Grasso-

lind (*kontrola*) byla epitelizace pomalá, mezery mezi můstky štěpu se zcela nezhojily a kvalita nově vytvořeného epidermálního krytu byla nízká. Epidermis byla křehká, snadno se mechanicky lamelovitě odlučovala od lůžka rány, sekundárně se místy infikovala (obr. č. 4).



■ Graf. č. 1: Průběh epitelizace široce síťovaného transplantátu (1:6) pod sledovanými kryty u pacienta s popáleninami II.–III. stupně na 61 % povrchu těla. Všechny 3 kryty byly aplikovány na plochu s popáleninami III. stupně po nekrektomii.

Tab. č. 1: Epitelizace ok široce síťovaného transplantátu 1:6 pod jednotlivými kryty (*buňky+XD*, *XD*, *kontrola* Grasso-*lind*) na popáleninách III. stupně

pacient	pohlaví	věk	% BSA	úraz	operace	kryt	% zhojené plochy/den zhojení	kvalita epidermis
1.	muž	42	56	výbuch	19. den	buňky+XD	100 %/ 9. den	pevná
						XD	100 %/12. den	pevná
						kontrola	50 %/20. den	křehká, rozpadá se
2.	žena	47	45	hoření	24. den	buňky+XD	100 %/12. den	pevná
						XD	100 %/14. den	pevná
						kontrola	40 %/20. den	křehká, rozpadá se
3.	žena	50	30	hoření	20. den	buňky+XD	100 %/11. den	pevná
						XD	100 %/13. den	pevná
						kontrola	40 %/20. den	křehká, rozpadá se
4.	muž	61	61	výbuch	22. den	buňky+XD	100 %/14. den	pevná
						XD	100 %/17. den	pevná
						kontrola	30 % /20. den	křehká, rozpadá se

Kazuistika

Podrobný časový průběh hojení široce síťovaného autotransplantátu u pacienta č. 4 s popáleninami II.–III. stupně na 61 % povrchu těla je dokumentován v grafu č. 1 a na obr. č. 4. Detail hojení 7 dnů po aplikaci buněk+XD je na obr. č. 5. Na obr. č. 6. je vidět histologie hojení autotransplantátu meshovaného 1:6 týden po aplikaci epidermálních buněk+XD. Zatímco na ploše s aplikovanými buňkami a krytem Xe-Derma je vidět tvořící se epidermis s 2–5 vrstvami keratinocytů (obr. č. 6), v biopsiích odebraných z plochy kryté pouze XD či tylem Grassolind keratinocyty dosud patrné nebyly.

Diskuse

V předchozí studii jsme prokázali, že bezbuněčná prasečí dermis Xe-Derma je kvalitní biologický kryt pro hojení povrchních popálenin v dětském věku (Zajíček et al. 2011). Na xenomatrix se mohou přichytit a růst keratinocyty i jiné buňky, což umocňuje její hojivý efekt (Zajíček et al. v tisku). V našich starších publikacích jsme ukázali, že také bezbuněčná prasečí dermis s kultivovanými keratinocyty (Matoušková et al. 1993) aplikovaná buňkami směřujícími do rány („upside down“) měla výrazné hojivé účinky (Matoušková et al. 1997; Matoušková et al. 2002).

Některé studie z posledních let ukázaly, že i nekultivované buňky mohou

být využity k hojení ran různé etiologie nebo pro repigmentaci ploch u vitiliga (Navarro et al. 2000; VanGeel et al. 2001; Gravante et al. 2007; Mulekar et al. 2008). Nedávno byl firmou Avita vyvinut systém ReCell – jednorázový kit pro získání autologních epidermálních buněk z malého dermo-epidermálního štěpu kůže a jejich okamžitou aplikaci na ránu. Zpracování a rozvolnění tkáně se děje v průběhu operace bez nutnosti specializované kultivační laboratoře. Tím se urychlí použití buněk bez dlouhé a náročné fáze kultivace keratinocytů. Systém ReCell může být při určité zkušenosti nahrazen standardní trypsinizací kůže ve sterilní zkumavce a roztrpáním získané suspenze v minitřepače (vortexu).

V naší modifikaci metody jsme se rozhodli využít kombinaci dvou kvalitních biologických krytů – suspenze autologních kožních buněk a acelulární prasečí dermis Xe-Derma pro podporu hojení ploch mezi můstky široce expandovaného autotransplantátu. Autologní čerstvě izolované buňky jsou směsí keratinocytů, fibroblastů, melanocytů, Langerhansových buněk i krevních elementů, jejichž růstové faktory vedou ke stimulaci hojení různých typů ran. Byla prokázána i schopnost keratinocytů se v ráně uchytit a proliferovat (Navarro et al. 2000). Pro studii jsme použili meshování v poměru 1:6, kde byly výsledky dobře patrné. Vyšší poměry expan-

ze jako např. 1:9 v praxi nepoužíváme vzhledem k obtížné aplikaci na lůžko rány. Ultratenké a dlouhé můstky štěpu mají tendenci k rolování a nepřilnou tak na lůžko rány.

Makroskopické i histologické výsledky naší studie ukázaly, že nejlépe probíhalo hojení po aplikaci suspenze epidermálních buněk krytých XD, ale překvapivě dobrou stimulaci (a kvalitu kůže) navodila i samotná XD, což potvrzuje naše předchozí závěry o pozitivním vlivu acelulární prasečí dermální matrix na růst, stratifikaci a proliferaci epidermálních buněk (Zajíček et al. v tisku). XD vytváří v sendvičovém krytu matrix pro buněčné elementy, které jsou kolagenními a elastickými vlákny tohoto biologického krytu stimulovány k proliferační aktivitě. XD také slouží jako mechanická ochrana rány před vysycháním. Předpokládáme, že krytem Xe-Derma vytvořené mikroprostředí zvyšuje pravděpodobnost uchycení frakce rozvolněných buněk na lůžko rány – pacientovy buňky se po ukotvení nejen samy dělí, ale svými růstovými faktory přispějí i k rychlejší proliferaci epidermálních buněk migrujících z můstků sítě dermo-epidermálního štěpu.

Problematická zůstává vlastní aplikace buněčné suspenze na ránu. Výtěžek z odběru 1 cm² (cca 2,5 milionů buněk) jsme aplikovali na 80 cm² rány. Předpokládáme, že při využití popsané sendvičové techniky bychom moh-

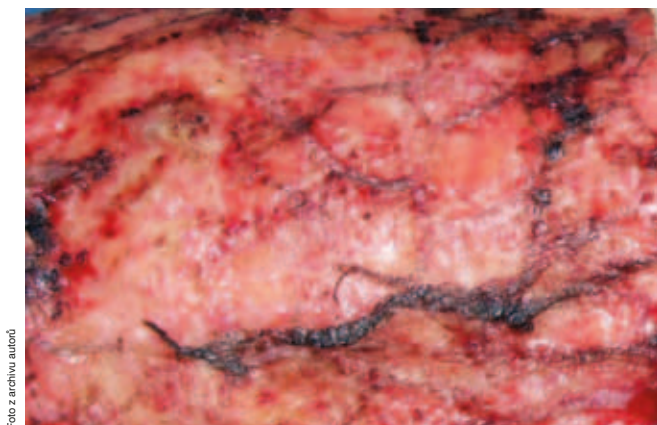


Foto z archivu autorů

■ Obr. č. 5: Detail hojení

Týden po aplikaci buněk+XD jsou již některá oka štěpu zhojena, epidermis konfluentní.

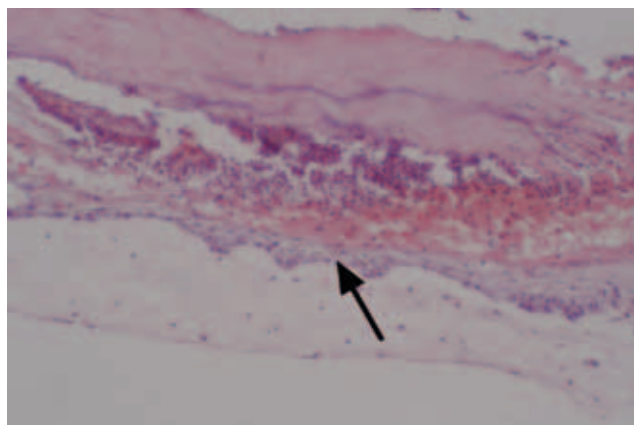


Foto z archivu autorů

■ Obr. č. 6: Histologie hojení po aplikaci krytu buňky+XD

V parafínovém řezu z biopsie odebrané 7. den po aplikaci buněk+XD (odběr uprostřed oka autotransplantátu síťovaného 1:6) je vidět tvořící se epidermis s 2–5 vrstvami keratinocytů (šipka, hematoxylin-eosin).

li pokrýt z jednoho odběru rozsáhlejší rannou plochu. Při použití ručního spreje (injekční stříkačka se sprejovacím nástavcem) docházelo však k velkému rozptylu aerosolu buněk a aplikace do prostorů mezi můstky štěpu byla nepřesná. Aplikace suspenze stříkačkou s jehlou je sice přesnější, ale v případě konkávních ploch suspenze buněk částečně stékala mimo aplikovaný prostor. Výhodná by dle našeho názoru byla kombinace buněk s fibrinovým lepidlem, která by kromě hemostatického efektu mohla vést i k zlepšení ukotvení buněk na lůžko rány v některých rizikových lokalitách. Dle literatury však není v uchycení buněk na ránu s fibrinovým lepidlem nebo bez něj rozdíl (Currie et al. 2000).

V literatuře bylo popsáno několik způsobů sendvičového krytí. Nejčastější je kombinace autotransplantátů a alotransplantátů (Jones et al. 2002; Königová et al. 2010). Tato kombinace je v ČR možná v případě čerstvých aloštěpů, odebraných rodinným příslušníkem pacienta. Kadaverózní alotransplanta-

ce není v ČR standardizována. Nevýhodou použití čerstvých alotransplantátů v sendvičovém krytí je nutnost odběru aloštěpu rodinnému příslušníku, podání anestezie, nutná hospitalizace, nezbytné náklady na léčbu odběrové plochy, riziko přenosu infekčních chorob. Případná alotransplantace vyžaduje navíc vynikající spolupráci rodiny. Výhody naší modifikace sendvičové transplantace vidíme v jednoduchosti, rychlosti a bezpečnosti s prokazatelným pozitivním klinickým efektem. Odběrové místo pro získání rozvolněných buněk je malé, doba přípravy buněčné suspenze je krátká. Xe-Derma začíná být na Klinice popáleninové medicíny FN Královské Vinohrady standardním biologickým krytem s pestrou škálou použití. Biomechanické vlastnosti XD (krátká doba namáčení, snadná manipulovatelnost, přilnavost, jednoduchá možnost meshování v různých poměrech expanze, transparence krytu) nám umožňují její bezproblémové přiložení na ránu. Síťování krytu Xe-Derma je důležité pro drenáž rány a evakuaci sekretu.

Závěr

Naše studie prokázala výrazný přínos použití sendvičového krytí u poměru kožní expanze 1:6. V případě poměru síťování autotransplantátu v poměru 1:3 byly rozdíly v době hojení při použití všech tří typů sledovaných krytů špatně hodnotitelné, dle orientačního odhadu bylo i v tomto případě hojení ploch krytých XD s buňkami rychlejší a kvalitnější než hojení kontroly. Zkrácení doby epitelizace mezi můstky meshovaného štěpu je důležité pro redukcii časných i pozdních komplikací hojení ran u rozsáhle popálených pacientů.

Práce byla finančně podpořena grantem
č. NS 10507-3 IGA MZ ČR.

Literatura

Braye, F., Oddou, L., Bertin-Maghit, M. et al. Widely meshed autograft associated with cultured autologous epithelium for the treatment of major burns in children: report of 12 cases. *Eur J Pediatr Surg* 10, 1: 35–40, 2000.

Currie, L., Martin, R., Sharpe, J. R., James, S. E. A comparison of keratinocyte cell sprays with and without fibrin glue. *Burns* 29, 7: 677–685, 2003.

Goodman, G. J. An automated autologous cell transplantation method for the treatment of hypopigmented scarring. *Dermatol Surg* 34, 4: 578–581, 2008.

Gravante, G., Di Fede, M. C., Araco, A. et al. A randomized trial comparing ReCell system of epidermal cells delivery versus classic skin grafts for the treatment of deep partial thickness burns. *Burns* 33, 8: 966–972, 2007.

Herndon, D. Wound healing. In: *Total Burn Care. Saunders Elsevier, 3rd Edition, 2007; p. 127–136.*

Jones, I., Currie, L., Martin, R. A guide to biological skin substitutes. *Br J Plast Surg* 55, 3: 185–193, 2002.

Königová, R., Bláha, J. et al. *Komplexní léčba popáleninového traumatu. Karolinum: Praha, 2010.*

Matoušková, E., Brož, L., Pokorná, E., Königová, R. Prevention of burn wound conversion by allogeneic keratinocytes cultured on acellular xenodermis. *Cell Tissue Bank* 3, 1: 29–35, 2002.

Matoušková, E., Buček, S., Vogtová, D. et al. Treatment of burns and donor sites with human allogeneic keratinocytes grown on acellular pig dermis. *Br J Dermatol* 136, 6: 901–907, 1997.

Matoušková, E., Vogtová, D., Königová, R. A recombined skin composed of human keratinocytes cultured on cell-free pig dermis. *Burns* 19, 2: 118–123, 1993.

Mulekar, S. V., Al Issa, A., Al Eisa, A., Asaad, M. Genital vitiligo treated by autologous, noncultured melanocyte-keratinocyte cell transplantation. *Dermatol Surg* 31, 12: 1737–1739, 2005.

Mulekar, S. V., Ghwish, B., Al Issa, A., Al Eisa, A. Treatment of vitiligo lesions by Re-Cell vs. conventional melanocyte-keratinocyte transplantation: a pilot study. *Br J Dermatol* 158, 1: 45–49, 2008.

Navarro, F. A., Stoner, M. L., Park, C. S. et al. Sprayed keratinocyte suspensions accelerate epidermal coverage in a porcine microwound model. *J Burn Care Rehabil* 21, 6: 513–518, 2000.

O'Connor, N. E., Mulliken, J. B., Banks-Schlegel, S. et al. Grafting of burns with cultured epithelium from autologous epidermal cells. *Lancet* 1, 8211: 75–78, 1981.

Van Geel, N., Ongenaes, K., De Mil, M., Naeyaert, J. M. Modified technique of autologous noncultured epidermal cell transplantation for repigmenting vitiligo: a pilot study. *Dermatol Surg* 27, 10: 873–876, 2001.

Wood, F. M., Stoner, M. L., Fowler, B. V., Fear, M. W. The use of a non-cultured autologous cell suspension and Integra dermal regeneration template to repair full-thickness skin wounds in a porcine model: a one-step process. *Burns* 33, 6: 693–700, 2007.

Zajíček, R., Brož, L., Klein, L. et al. Xe-Derma: nový biologický kryt pro léčbu akutních a chronických ran. *Hojení ran* 2, 2: 18–27, 2008.

Zajíček, R., Mandys, V., Měšťák, O. et al. Human keratinocyte growth and differentiation on acellular porcine dermal matrix in relation to wound healing potential. *ScientificWorldJournal*, v tisku.

Zajíček, R., Matoušková, E., Brož, L. et al. New biological temporary skin cover Xe-Derma® in the treatment of superficial scald burns in children. *Burns* 37, 2: 333–337, 2011.

Článek byl publikován
v časopise

