

Можливості прогнозування приживлення вільних розщеплених аутодермотрансплантатів у шахтарів, які постраждали від глибоких опіків

В.В. Солошенко

ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака НАМН України», Донецьк
Донецький національний медичний університет ім. Максима Горького

Мета дослідження — виявити імунологічні маркери аутосенсibiliзації до клітин власної шкіри для профілактики відторгнення вільних розщеплених аутодермотрансплантатів. Дослідження виконано за участю 20 пацієнтів із опіками, які постраждали під час вибухів метано-вугільної суміші на шахтах Донецької та Луганської областей й перебували на лікуванні в Донецькому опіковому центрі у 2008–2010 рр. Імунологічне дослідження проведено у відділі експериментальної хірургії і лабораторної діагностики ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака» НАМН України — у крові шахтарів, які отримали опіки, виявляли антинуклеарний чинник, а також антитіла до ядерних антигенів шкіри, що екстрагуються. Розроблено діагностичну методику прогнозування і заповігання відторгнення аутодермотрансплантатів, яка ґрунтується на даних імунологічного дослідження і дозволяє виявляти аутоантитіла до власної шкіри і своєчасно проводити імуносупресивну терапію. Частота відторгнення аутодермотрансплантатів у різні терміни лікування знизилася від 3 до 6 разів. Завдяки розробленому способу прогнозування відторгнення аутодермотрансплантатів у хворих групи дослідження швидше загоїлися опікові рани, що призвело до зниження тяжкості перебігу опікової хвороби. Суттєво зменшено кількість аутодермотрансплантацій на 1 хворого. Все це було одним із чинників, що зумовили зменшення терміну стаціонарного лікування шахтарів.

Ключові слова: опік, аутодермотрансплантація, імунологічна діагностика, лізис трансплантату.

Вступ

За наявності поширених глибоких опіків прогноз приживлення вільних розщеплених аутодермотрансплантатів життєво важливий для найшвидшого загоєння опікових ран і порятунку життя пацієнтів із опіками. Опікова травма створює сприятливі умови для розвитку вторинного імунодефіциту і генералізації інфекції внаслідок втрати на значній площі шкірного покриву, аутогенної інтоксикації, підвищеного антигенного навантаження за рахунок загибелі тканинних білків та ферментного аутолізу тканин (Скуинь Л.М., Кашкин К.П., 1998; Фісталь Е.Я. та співавт., 2006). У результаті проведених авторами досліджень встановлено, що вже на 1-шу–2-гу добу після травми у крові з'являються тканинні антигени, які мають загальні компоненти з обпеченою і нормальною шкірою. А також з'являються додаткові антигенні компоненти, що не виявляються у нормі у шкірі та інших тканинах здорової людини. На сьогодні шкіру людини представлено як орган імуноної системи, який має необхідний склад клітин, що кооперують між собою як комплементарні структури на їх поверхні, так і при участі імунорегуляторних цитокінів. Подібна організація дозволяє шкірі брати участь як в імуних реакціях усього організму, так і виконувати деякі імунологічні процеси самостійно *in situ* (Скрипкин Ю.К., Лезвинская Е.М., 1989). Одночасно з появою нових антигенних структур було ви-

явлено, що настає втрата нормальних, органоспецифічних агентів, наявних у здорової шкірі людини, а також втрата властивостей аутоглобулінів. Ці умови можуть призвести до зміненої імуноної реакції на власний антиген ураженням контрольної функції Т-лімфоцитів, елімінуючих клітин імуноної системи — продуцентів аутоантитіл (Auböck J. et al., 1998). Враховуючи складну систему організації шкіри як імунокомпетентного органу, слід вважати, що термічний вплив призведе до часткового ураження чи загибелі клітини взагалі, що провокує функціональні порушення на усіх етапах формування імуноної відповіді: порушення експресії антигенів і рецепторів на поверхні клітини, порушення подання антигенів і аутоантигенів лімфоцитам, дисбаланс у кооперації клітин, а також порушення в селекції клонів, що відповідають за розпізнавання аутоантигенів (Гусак В.К. та співавт., 2000).

Існують різні способи лабораторної діагностики і прогнозування відторгнення аутодермотрансплантатів у лікуванні постраждалих, яким виконували кілька разів операцію щодо трансплантації аутошкіри на ранові поверхні. Наприклад, пропонується прогнозувати відторгнення вільних розщеплених аутодермотрансплантатів на підставі зниження рівня холестерину до нижньої межі норми і нижче, а також при зниженні альбумін/глобулінового коефіцієнта (Зуев С.Г., 2006). Існує спосіб лабораторного прогнозу ризику відторгнення аутодермотрансплантатів, який

ґрунтується на визначенні рівня вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів, а саме: кетодієнів і луг Шіффа в ізопропанольній фазі плазми крові, а також важливого показника стану антиоксидантної системи — концентрації церулоплазміну у плазмі крові. Співвідношення системи перекисного окиснення ліпідів до антиоксидантної системи є прогностичним критерієм можливості приживлення чи відторгнення аутодермотрансплантатів (Ярец Ю.И., Новикова И.А., 2010).

Відомі також клінічні ознаки придатності опікової рани до аутодермотрансплантації, які відомі вже давно: наявність грануляційної тканини, відсутність некрозу, відносно хороше кровопостачання реципієнтної ділянки тощо. Крім того, для приживлення вільних розщеплених аутодермотрансплантатів має бути належним рівень гемоглобіну та білків плазми крові. Однак невирішеним залишається питання про відторгнення аутодермотрансплантата при проведенні оперативного лікування після 3-го тижня з часу отримання травми, особливо коли це 3-тя чи 4-та трансплантація. Як правило, 1-ша аутодермотрансплантація виконується на 5–10-ту добу після ранньої некретомії на функціонально значущій ділянці. У Донецькому опіковому центрі прийнята тактика раннього оперативного лікування, внаслідок чого після 3-го тижня пацієнту із опіками виконується від 2 до 5 аутодермотрансплантацій, тому вірогідність відторгнення трансплантатів зростає з кожним наступним оперативним

втручанням у зв'язку з імунологічним навантаженням організму. Особливо гостро постає проблема хірургічного лікування пацієнтів із опіками з комбінованою чи поєднаною термічною травмою, тому що тяжкість стану потерпілого може суттєво погіршитися внаслідок лізису пересаджених аутодермотрансплантатів.

Мета дослідження — виявити імунологічні маркери аутосенсibiliзації до клітин власної шкіри для профілактики відторгнення вільних розщеплених аутодермотрансплантатів.

Об'єкт і методи дослідження

Імунологічне дослідження проводили у відділі експериментальної хірургії і лабораторної діагностики ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака» НАМН України. Дослідження виконано за участю 20 пацієнтів із опіками, які постраждали під час вибухів метано-вугільної суміші на шахтах Донецької та Луганської областей й перебували на лікуванні в Донецькому опіковому центрі у 2008–2010 рр. Вони становили групу дослідження. Інші 20 шахтарів із опіками становили групу порівняння ретроспективно за даними історії хвороб та власних спостережень. Ці хворі перебували на лікуванні в Донецькому опіковому центрі у 1995–2007 рр. Загальна площа ураження становила у групі дослідження 55,6±17,46%, у групі порівняння — 44,75±15,57% поверхні тіла. Площа глибокого опіку становила у групі спостереження 12,75±9,8%, у групі порівняння — 10,94±6,79% поверхні тіла відповідно. Виходячи з явища, що досліджується, визначальним показником у групах була площа глибокого опіку, за цією ознакою групи порівняння (F-тест=0,144). Тактика оперативного лікування глибокого опіку в групах була приблизно однаковою і ґрунтувалася на доктрині раннього хірургічного лікування. Перша некректомія у групі дослідження виконувалася на 13,95±6,17 добу і в групі порівняння — на 10,28±5,25 добу після травми. Перша аутодермотрансплантація виконувалася в групі дослідження на 19,95±3,75 добу, у групі порівняння — на 19,85±6,4 добу.

Предметом нашого дослідження було виявлення аутосенсibiliзації для своєчасного призначення глюкокортикостероїдів з метою запобігання відторгненню пересаджених аутодермотрансплантатів і профілактики лізису раніше пересаджених розщеплених вільних аутодермотрансплантатів. Позитивним результатом була відсутність проявів лізису шкіри. Приживлення розщеплених шкірних клаптів після операції оцінювали на 7-му добу як задовільне після приживлення не менше 90% площі пересаджених клаптів. Наявність лізису пересадженого аутодермотрансплантату, відсутність крайової епітелізації оцінювали як негативний результат. Відторгнення аутодермотрансплантату внаслідок вторинного некрозу реципієнтної ділянки або механічне пошкодження трансплантату не враховувалися, як явище, що не відповідає предмету дослідження.

Прогнозування відторгнення аутодермотрансплантатів виконували таким чином: хворому, який постраждав від вибуху метано-вугільної суміші й одержав глибокі опіки, при потрапленні в опіковий центр на 2-гу добу лікування брали венозну кров для імунологічного дослідження з метою визначення наявності в сироватці крові постраждалого антитіл до фрагментів клітин шкіри. В нормі антитіла до власної шкіри відсутні у крові людини, але в деяких випадках можуть бути наявні у разі захворювань сполучної тканини або перенесеної нещодавно травми з поширеним ураженням шкіри, що може спричинити гіпердіагностику при подальших дослідженнях. Повторне дослідження проводили через 3 тиж після цього терміну за 1 добу до запланованого оперативного втручання, що пов'язано з аутодермотрансплантацією. В імунологічній лабораторії досліджували наявність антинуклеарного фактора у сироватці крові. Антинуклеарний чинник визначали в сироватці крові пацієнтів із використанням наборів «Mosaic Нер-20-10/Liver (Monkey) IIFT» («Euroimmun AG», Німеччина). До наборів включено предметне скло з біочіповими реакційними ділянками, поверхня яких вкрита Нер-20-10-клітинами та зрізами печінки приматів. Принцип методу полягає в тому, що на першій стадії реакції скло інкубують зі зразками розчиненої сироватки крові пацієнта. Наявні в позитивних зразках специфічні антитіла класів IgA, IgG та IgM зв'язуються з ядерними антигенами. На другій стадії антитіла, що зв'язалися, виявляються флуоресцентним фарбуванням, яке відбувається в результаті інкубування скла з міченими флуоресцентом антитілами до відповідних імуноглобулінів людини. Характер світіння оцінюється за допомогою флуоресцентного мікроскопу («Eurostar II Plus», «Euroimmun AG», Німеччина). Антитіла до ядерних антигенів, що екстрагуються, визначаються імуноферментним методом з використанням наборів «ENA-screep» («Orgentec», Німеччина). Вимірювання оптичної щільності проводили за допомогою планшетного фотометра «Multiscan Ascent ELISA Reader» («Labsystems», Фінляндія) при довжині хвилі 450 і 620 нм. Обробку даних проводили з використанням програмного забезпечення «Ascent Software».

Результати та їх обговорення

У групі дослідження в зразках крові на 3-й тиждень лікування у 3 хворих виявлено антинуклеарний чинник і ядерні антигени, що екстрагуються. Факт виявлення у сироватці крові пацієнтів із опіками антинуклеарного чинника або ядерних антигенів, що екстрагуються, вважається

загрозою відторгнення пересаджених розщеплених вільних аутодермотрансплантатів. Ґрунтуючись на цих даних, хворому в день оперативного втручання призначали імуносупресивну терапію (преднізолон у таблетках в дозі 20–40 мг/добу залежно від маси тіла). При негативному результаті — відсутності аутоантитіл до власної шкіри — вважали, що загрози відторгнення аутодермотрансплантатів немає. Імуносупресивна терапія преднізолоном в цьому разі не проводилася. На 5-ту добу після операції, тобто на 25–30-ту добу лікування, при проведенні перев'язок фіксували приживлення або лізис пересаджених аутодермотрансплантатів (таблиця).

У 15 учасників групи дослідження проводили повторне імунологічне дослідження крові. У цих хворих результат попереднього імунологічного дослідження був негативним, вони мали опікові рани, що потребують аутодермотрансплантації. Наявність антинуклеарних чинників на 35-ту–40-ву добу лікування виявлено ще у 7 хворих, що стало сигналом для проведення імуносупресивної терапії. Також в післяопераційний період оцінювали стан пересаджених напередодні вільних аутодермотрансплантатів. На цей період у 4 хворих у групі дослідження практично загоїлися опікові рани (див. таблицю). У групі порівняння у 4 пацієнтів на 40-ву добу теж загоїлися всі рани, тому проводилося подальше дослідження у 16 пацієнтів із опіками.

Дані про приживлення пересаджених клаптів у групі порівняння також враховували на 5–6-ту добу після операції. В цих хворих імуносупресивна терапія проводилася із запізненням (за даними листів призначення), після констатації факту лізису.

Як бачимо з наведених у таблиці даних, у групі порівняння лізис аутодермотрансплантатів реєстрували в 6 разів частіше, ніж у групі дослідження, на 26–30-ту добу після травми і в 3 рази частіше на 40-ву–45-ту добу лікування. У групі дослідження теж фіксували явище лізису пересаджених аутодермотрансплантатів в 1 хворого на 30-ту добу, ще в 1 — на 45-ту добу лікування. На наш погляд, це зумовлено недостатньою дозою імунодепресанту (преднізолону). Корекція дозування глюкокортикостероїду дозволила припинити лізис аутодермотрансплантатів у цих хворих. Проведене імунологічне дослідження — якісне і не може свідчити про ступінь імунологічних порушень.

Кількість аутодермотрансплантацій у групі дослідження становила у середньому 2,15±1,3 на 1 пацієнта із опіками, водночас у групі порівняння цей показник був 3±1,6 на 1 хворого, що свідчить про значущу різницю в кількості повторних аутодермотрансплантацій. Вважаємо, що нам вдалося зменшити кількість повторних оперативних втручань і за рахунок втіленої у практику

Термін контролю стану рани у групі	Наявність лізису аутодермотрансплантатів, n (%)			
	26-та–30-та доба		40-ва–45-та доба	
	Приживлення	Лізис	Приживлення	Лізис
Дослідження	19 (95)	1 (5)	15 (93,75)	1 (6,25)
Порівняння	14 (70)	6 (30)	13 (81,25)	3 (18,75)

імунологічної діагностики. Тривалість стаціонарного лікування у групі дослідження була 43 ± 13 діб, а у групі порівняння — $57,5 \pm 19$ діб (F -тест=0,015). Таким чином, у групі дослідження вдалося скоротити термін стаціонарного лікування, одним із чинників цього була наша рання імунологічна діагностика аутосенсibiliзації до власної шкіри.

Висновки

Розроблено діагностичну методику прогнозування і запобігання відторгненню аутодермотрансплантатів у пацієнтів із опіками, яка ґрунтується на даних імунологічного дослідження, що дозволяє виявляти аутоантитіла до власної шкіри і своєчасно проводити імуносупресивну терапію (частота відторгнення аутодермотрансплантатів у різні терміни лікування знизилася від 3 до 6 разів). Таким чином, завдяки розробленому способу прогнозування відторгнення аутодермотрансплантатів у хворих групи дослідження швидше загоїлися опікові рани, що зумовило зменшення тяжкості перебігу опікової хвороби (тяжка опікова хвороба була у 85% пацієнтів групи порівняння, а в групі дослідження — у 65%). Це було одним із чинників, який привів до зменшення термінів стаціонарного лікування шахтарів, які постраждали від вибуху метано-вугільної суміші.

Список використаної літератури

- Гусак В.К., Николенко Ю.И., Фісталь Э.Я. и др. (2000) Иммуная компетентность кожи как один из механизмов развития аутоагрессии при термических повреждениях. Вестн. гигиены и эпидемиологии, 4(2): 256–261.
- Зуев С.Г. (2006) Причины лизиса расщепленного кожного лоскута у больных с онкопатологией и опухолевыми процессами. Научно-информационный сборник АрхМедиКат, 13: 10–11.
- Скрипкин Ю.К., Лезаинская Е.М. (1989) Кожа — орган иммунной системы. Вестн. дерматологи и венерологии, 10: 14–18.
- Скуинь Л.М., Кашкин К.П. (1998) Клинико-иммунологические критерии вторичных иммунодефицитных состояний. Лаборатория, (10): 3–5.
- Фісталь Е.Я., Козинець Г.П., Самойленко Г.Є. та ін. (2006) Комбустиологія. Мс, Донецьк, 236 с.
- Ярец Ю.И., Новикова И.А. (2010) Лабораторный прогноз риска отторжения аутодермотрансплантата. Вестн. хирургии им. И.И. Грекова, 169(2): 34–38.

Auböck J., Irschick E., Romani N. et al. (1998) Rejection, after a slightly prolonged survival time, of Langerhans cell-free allogeneic cultured epidermis used for wound coverage in human. Transplantation, 45(4): 730–737.

Возможности прогнозирования приживления свободных расщепленных аутодермотрансплантатов у шахтеров, пострадавших от глубоких ожогов

В.В. Солошенко

Резюме. Цель исследования — выявление иммунологических маркеров аутосенсibiliзации к клеткам собственной кожи для профилактики отторжения свободных расщепленных аутодермотрансплантатов. Исследование выполнено при участии 20 пациентов с ожогами, которые пострадали во время взрывов метано-угольной смеси в шахтах Донецкой и Луганской областей и находились на лечении в Донецком ожоговом центре в 2008–2010 гг. Иммунологическое исследование проведено в отделе экспериментальной хирургии и лабораторной диагностики ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака» НАМН Украины — в крови шахтеров, получивших ожоги, выявляли антинуклеарный фактор, а также антитела к экстрагируемым ядерным антигенам кожи. Разработана диагностическая методика прогнозирования и предупреждения отторжения аутодермотрансплантатов, которая основывается на данных иммунологического исследования и позволяет выявлять аутоантитела к собственной коже и своевременно проводить иммуносупрессивную терапию. Частота отторжения аутодермотрансплантатов в разные сроки лечения снизилась от 3 до 6 раз. Благодаря разработанному способу прогнозирования отторжения аутодермотрансплантатов у больных группы исследования отмечено более быстрое заживление ожоговых ран, что привело к снижению тяжести течения ожоговой болезни. Значительно уменьшилось количество аутодермотрансплантаций на 1 больного. Все это было одним из факторов, обусловивших уменьшение сроков стационарного лечения шахтеров.

Ключевые слова: ожог, аутодермотрансплантация, иммунологическая диагностика, лизис трансплантата.

Prognostic possibilities of split-skin autografts engraftment in miners with deep burns

V.V. Soloshenko

Summary. The aim of the research was to reveal immunologic markers of autosensibilization to own skin cells to prevent autograft rejection. The research has been performed in 20 burned miners suffered from methane-coal dust compound explosions occurred in mines located in Donetsk and Lugansk areas. All of these patients were treated in Donetsk Burn Center in 2008–2010 yrs. Immunologic research has been conducted in experimental surgery and laboratory diagnostics department of Gusak Institute of Urgent and Recovery Surgery. The antinuclear factor and antibodies to extractable nuclear antigens were detected in blood of burned miners. There was developed the diagnostic method of prognosis and prevention of autograft rejection based on the data of immunologic research which allows detecting autoantibodies to own skin and consequently to implement an immunosuppressive treatment in proper time. Application of this method led to decrease of an autograft rejection from 3 to 6 times in various terms of treatment. The developed method of prognosis of autograft rejection promoted faster burn wounds reparation that led to decrease of burn disease severity in the research group of patients. The number of autograft transplantations on a burned patient was significantly reduced. All this has been one of the factors that led to the reduction of length of burned miners' hospital stay.

Key words: burns, skin autografting, immunologic diagnostics, graft lysis.

Адреса для листування:

Солошенко Віталій Вікторович
83003, Донецьк, просп. Ілліча 16
Донецький національний медичний
університет ім. Максима Горького,
кафедра комбустиології і
пластичної хірургії
E-mail: burncenter@mail.ru