

© Ю.И.Ярец, И.А.Новикова, 2010
УДК 616.5-089.843-089.168-089.17

Ю.И.Ярец, И.А.Новикова

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРОГНОЗ РИСКА ОТТОРЖЕНИЯ АУТОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТА

Кафедра клинической лабораторной диагностики (зав. — проф. И.А.Новикова) Гомельского государственного медицинского университета, Республика Беларусь

Ключевые слова: аутодермопластика, локальные глубокие раны, прогноз, кетодиены, основания Шиффа, церулоплазмин.

Введение. Операция аутодермопластики (АДП) играет важную роль в хирургическом лечении ран [8]. Одним из частых осложнений данной операции является лизис аутооттрансплантата, частота которого, по данным различных авторов, составляет от 10 до 30% [6, 9]. Лизис пересаженного кожного лоскута приводит не только к обнажению уже закрытых ран и потере трансплантатов, но и к увеличению раневой поверхности за счет донорских участков. Даже небольшой по площади лизис увеличивает сроки восстановления кожного покрова, так как требует проведения повторной операции или длительного консервативного лечения. Серьезной причиной неудач трансплантации аутологичной кожи является отсутствие объективных методов адекватной оценки готовности раны к АДП, которая в настоящее время осуществляется лишь на основании клинической оценки состояния больного и визуальных признаков гранулирующей раны. Однако факторы, влияющие на исход АДП, многочисленны и разнообразны. Кроме чисто технических причин (недостаточная подготовка ран к операции, дефекты трансплантатов и их укладки и др.) [3], важное значение имеет общее состояние организма на момент трансплантации.

Известно, что активные формы кислорода и продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) являются универсальными вторичными мессенджерами, которые участвуют в передаче сигналов через клеточные мембраны, регулируют их проницаемость, активность рецепторов клеток и в целом осуществляют контроль метаболического статуса организма [2, 12]. Баланс про- и антиоксидантных систем (антиоксидантная защита — АОЗ) обеспечивает оптимальную реактивность организма в ответ на различные травмирующие воздействия [10]. Это указывает, что параметры системы ПОЛ/АОЗ могут отражать готовность организма к оперативному вмешательству и служить про-

гностическими критериями исходов оперативного лечения.

Нами ранее показано, что наличие локального раневого поражения сопровождается общей активацией процессов свободнорадикального окисления с накоплением первичных (диеновых конъюгатов), вторичных (кетодиенов) и конечных (основания Шиффа) продуктов перекисидации фосфолипидов и нейтральных жиров в периферической крови, а также одновременной стимуляцией системы антиоксидантной защиты (увеличение активности каталазы, супероксиддисмутазы и концентрации церулоплазмينا в плазме) [7]. Среди вышеперечисленных показателей наибольший размах изменений (от 50 до 400%) и наиболее четкая связь с состоянием пациентов и особенностями течения послеоперационного периода установлена для следующих параметров: содержание кетодиенов (КД) и оснований Шиффа (ОШ) в изопропанольной фазе плазмы, а также концентрация церулоплазмينا (ЦП) в плазме.

Цель исследования — оценка возможности использования показателей содержания КД, ОШ и ЦП в плазме больных с локальными глубокими ранами как маркёров риска отторжения аутодермотрансплантата.

Материал и методы. Объектом исследования явились 90 больных (63 мужчины, 27 женщин) в возрасте от 20 до 60 лет с глубокими локальными ранами различной этиологии и сроков давности (от 3 сут до 12 лет). Среди обследованных 53 человека имели локальные ожоги тела и конечностей IIIA, B–IV степени, площадью глубокого ожога от 0,4 до 6%. У 27 человек раны носили посттравматический или постнекротический характер. 10 пациентов имели трофические язвы вследствие тромбоза глубоких вен нижних конечностей или рубцовых изменений после травмы. Всем больным была проведена некрэктомия (при наличии очага некроза или нежизнеспособных тканей) и одномоментная АДП. В качестве контрольной группы обследовано 40 доноров Гомельской областной станции переливания крови (28 мужчин и 12 женщин) сопоставимого возраста.

В соответствии с целью исследования все пациенты были разбиты на 2 группы. 1-ю группу составили 58 пациентов, у которых на 7–9-е сутки наблюдалось полное приживление аутооттрансплантата. По этиологии ран большинство пациен-

тов этой группы составили больные с локальными глубокими ожогами (у 32 человек), остальные — с ранами, полученными по другим причинам (у 22) и трофическими язвами (у 4). В сроки до 2 мес с момента получения раны прооперированы 39 человек, после 2 мес — 6, 13 — была проведена «ранняя» АДП (в срок до 7 сут от момента получения раны).

2-ю группу составили 32 пациента, у которых на 2–14-е сутки после операции, в среднем на $(7 \pm 0,6)$ -е сутки, наблюдалось осложнение в виде частичного лизиса пересаженного лоскута. Из этих больных 21 пациент был с локальными глубокими ожогами, 5 — имели посттравматические и постнекротические раны, 6 — трофические язвы. Операция была проведена в срок до 2 мес с момента травмы (острые раны) 18 больным, 10 — были прооперированы после 2 мес от получения раны, 4 — была проведена «ранняя» АДП.

Группы больных были сопоставимы между собой по физическому состоянию (степень анестезиологического риска I–II), возрасту, срокам давности раны, объему оперативного вмешательства.

Материалом для исследования явилась плазма гепаринизированной венозной крови. Оценивали содержание КД и ОШ спектрофотометрически с регистрацией липопероксидов в изопропанольной фазе [1, 5]. Результаты выражали в единицах индексов окисления (е.и.о.) — $E_{278/220}$ (уровень КД) и $E_{400/220}$ (относительное содержание ОШ). Содержание ЦП определяли методом Ревина [4].

Для статистической обработки использован пакет прикладных программ SPSS 13.0. Результат выражали в виде среднего арифметического (\bar{X}) ± стандартная ошибка среднего (m). С учетом результатов проверки на нормальность распределения использованы непараметрические методы статистики — критерий Манна–Уитни (для несвязанных выборок). Корреляционный анализ проводили по Спирмену. Для анализа связи между несколькими независимыми переменными (вышеуказанными лабораторными показателями) и зависимой бинарной переменной (отторжение лоскута или отсутствие отторжения в послеоперационном периоде) использован метод логистической регрессии [11]. Для определения пороговых значений предполагаемых лабораторных предикторов отторжения применяли построение ROC-кривой и ее анализ [13, 14].

Результаты и обсуждение. Средние значения содержания КД, ОШ и ЦП в плазме больных до операции приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, дооперационные значения ЦП, КД и ОШ в плазме больных в целом значительно превышали соответствующие показатели у здоровых ($p < 0,001$, $p < 0,01$). Обнаруживались четкие различия в значениях этих показателей между

выделенными группами больных. Так, у больных 1-й группы (неосложненный послеоперационный период) концентрация КД и ОШ и содержание ЦП до операции было достоверно выше, чем у больных 2-й группы (отторжение пересаженного кожного лоскута) ($p < 0,001$, $p < 0,01$). Необходимо также отметить, что степень повышения КД и ОШ и концентрации ЦП в плазме в дооперационном периоде коррелировала с благоприятным прогнозом операции аутодермопластики ($r = 0,51$, $p = 0,028$; $r = 0,55$, $p < 0,0001$; $r = 0,52$, $p = 0,002$ соответственно).

Различия между группами сохранялись и в динамике послеоперационного периода. У больных 1-й группы наблюдалось постепенное снижение содержания ОШ, увеличение ЦП в плазме ($p < 0,0001$ по сравнению с дооперационными значениями). На момент приживления аутодермотрансплантата (7–9-е сутки после операции) отмечалась полная нормализация ОШ, остальные показатели приближались к значениям у здоровых людей.

У больных 2-й группы на фоне клинических признаков лизиса кожного аутодермотрансплантата происходило дальнейшее увеличение концентрации ОШ, тогда как содержание ЦП оставалось на уровне дооперационных значений.

Учитывая установленную четкую связь между содержанием КД, ОШ и ЦП в плазме больных с локальными ранами и особенностями течения репаративного процесса, мы изучили клинико-диагностические характеристики этих маркеров для прогноза исходов АДП.

Клиническую информативность показателей КД, ОШ и ЦП для прогнозирования лизиса лоскута оценивали методом логистической регрессии, которая позволяет оценить вероятность наступления события (лизис лоскута) в зависимости от значений независимых переменных (предикторов). Вероятность наступления события рассчитывается с помощью уравнения регрессии:

$$y = a + b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + \dots + b_n \cdot x_n,$$

где a — константа; b — коэффициенты логистической регрессии для каждой независимой переменной (предиктора), расчет которых явля-

Таблица 1

Содержание КД, ОШ и ЦП в плазме у больных с ранами до операции и здоровых лиц ($\bar{X} \pm m$)

Наименование показателя	Значения показателей ($\bar{X} \pm m$)			
	Здоровые (n=40)	Больные (n=90)	1-я группа (n=58)	2-я группа (n=32)
ЦП, мг/л	245 ± 12	365 ± 10*	412 ± 11**	281 ± 7**
КД плазмы, е.и.о.	0,214 ± 0,007	0,370 ± 0,007*	0,393 ± 0,01**	0,331 ± 0,01**
ОШ плазмы, е.и.о.	0,022 ± 0,008	0,060 ± 0,004*	0,073 ± 0,003**	0,039 ± 0,004**

* Отмечены достоверные различия между больными и донорами ($p < 0,0001$).** Отмечены достоверные различия между 1-й и 2-й группой ($p < 0,05$, $p < 0,001$).

ется задачей метода логистической регрессии; x — значения независимых переменных [11].

Оказалось, что при определении дооперационных значений КД, ОШ и ЦП одновременно можно прогнозировать, в зависимости от полученных величин, вероятность лизиса лоскута в 94% случаев, а вероятность хорошего исхода операции — в 91% ($p=0,02$, $p=0,01$, $p<0,0001$ соответственно для КД, ОШ и ЦП). Данные показатели обладают статистической надежностью не менее 92%.

На следующем этапе работы мы провели оценку предсказательной ценности маркёров и выбор их пороговых значений (порог отсека — cut-off value) с использованием ROC-кривых [13, 14]. ROC-кривые получали в программе SPSS 13.0. с помощью математических моделей. Исследуемую выборку разбили на 2 класса: отсутствие или наступление лизиса аутодермотрансплантата в послеоперационном периоде. Предсказательную ценность каждого параметра оценивали по экспертной шкале значений площади под ROC-кривой (Area Under Curve — AUC), которая позволяет выделить отличное, очень хорошее и хорошее качество модели. Чем выше показатель AUC, тем лучшей прогностической силой обладает модель.

При этом выявлена достаточно резко выраженная изогнутость ROC-кривых для каждого изучаемого параметра, а также большая площадь под ними (0,911 — для ЦП, 0,845 — для ОШ и 0,745 — для КД) (рис. 1). Поэтому, согласно оценке качества модели, наиболее высокую предсказательную ценность имеет ЦП — его

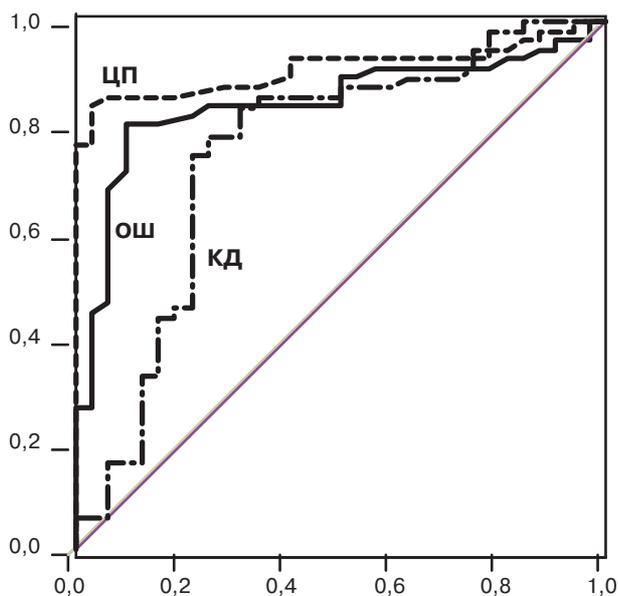


Рис. 1. ROC-кривые для ЦП, КД и ОШ плазмы.

По оси абсцисс — специфичность; по оси ординат — чувствительность. Прямая диагональная линия соответствует полной неразличимости 2 классов.

AUC соответствует отличному качеству, значение AUC для ОШ — очень хорошему качеству и AUC КД — хорошему качеству.

Для обеспечения возможности применения полученной модели в рутинной лабораторной практике мы определили пороговые значения, при которых достигается баланс специфичности и чувствительности используемого лабораторного теста [13, 14]. Установлено, что оптимальным пороговым значением для ЦП как предиктора исхода операции АДП является 350 мг/л (97% чувствительность и 83% специфичность), для ОШ — 0,05 е.и.о. (чувствительность — 91%, специфичность — 81%) и для КД — 0,35 е.и.о. (70% и 84% соответственно) (рис. 2, табл. 2).

При этом в случае дооперационных значений КД, ОШ и ЦП ниже пороговых прогнозируется отторжение аутодермотрансплантата, а при содержании КД, ОШ и ЦП до операции выше пороговых значений прогнозируется приживление пересаженного лоскута.

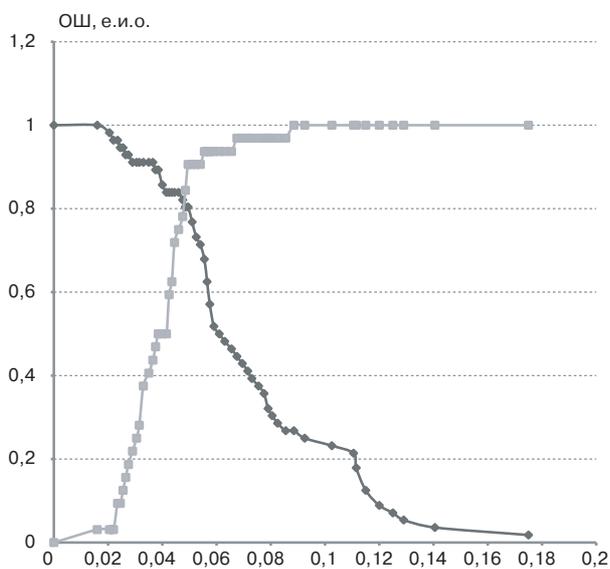
Для клинико-диагностических лабораторий не всегда имеется возможность определения всех указанных показателей, в связи с чем мы провели оценку критериев диагностической надежности отдельно для каждого из предикторов (см. табл. 2) [4].

Все результаты (Т) мы представили как положительные (Т+) и отрицательные (Т-). При (Т+) прогнозировалось наступление события (отторжение аутодермотрансплантата), и в данном случае значения концентрации ЦП, КД и ОШ были ниже пороговых. Результаты (Т-) соответствовали отсутствию события (неосложненный послеоперационный период), и значения ЦП, КД и ОШ были выше пороговых. В свою очередь, (Т+) мы подразделили на истинно положительные (ИП), которые предполагали лизис аутодермотрансплантата при значениях предикторов ниже пороговых, и ложноположительные (ЛП) результаты, когда значения ЦП, КД и ОШ были ниже пороговых, но отторжение лоскута не было. Результаты (Т-) разделили на истинно отрицательные (ИО) и ложноотрицательные (ЛО). При ИО-результатах значения концентрации ЦП, КД и ОШ были выше пороговых, и отторжение не наступало. При ЛО-результатах значения предикторов также были выше пороговых, но при этом лизис наблюдался. Положительный результат тестов определения ЦП, КД и ОШ (значения ниже пороговых) предсказывает вероятность отторжения лоскута в 76, 70 и 73% соответственно. При значениях ЦП, КД и ОШ выше пороговых вероятность хорошего исхода операции прогнозируется в 98, 82, 94% соответственно.

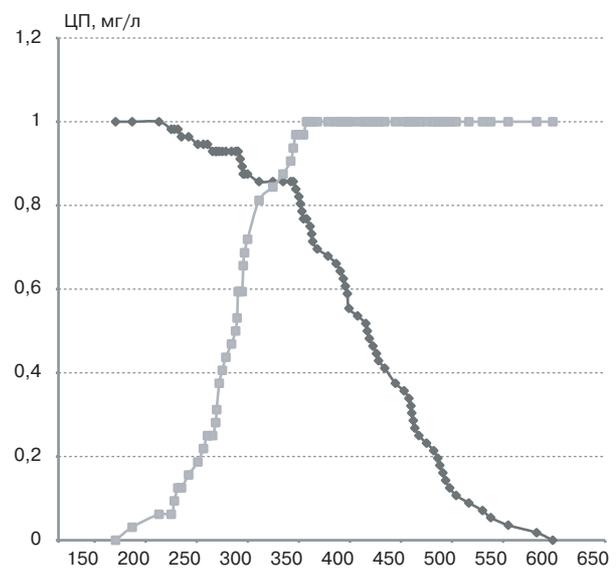
В то же время, как указывалось выше, комплексное использование этих тестов является наиболее предпочтительным.

**Параметры клинической информативности раздельного определения ЦП, КД и ОШ
в плазме больных с локальными ранами**

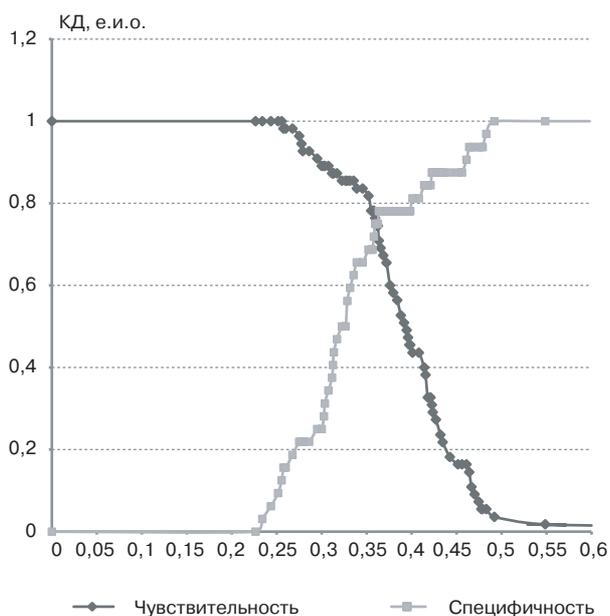
Критерий	Показатель					
	ОШ		ЦП		КД	
T (+) (значения предикторов ниже пороговых)	ИП	ЛП	ИП	ЛП	ИП	ЛП
	29	11	31	10	21	9
T (-) (значения предикторов выше пороговых)	ИО	ЛО	ИО	ЛО	ИО	ЛО
	47	3	48	1	49	11



а



б



в

Рис. 2. Пороговое значение концентрации ОШ (а), ЦП (б) и КД (в).

По оси абсцисс — значения концентрации; по оси ординат — значения чувствительности и специфичности для каждого значения с шагом 0,05 (а, в).

При использовании вышеуказанных маркёров в клинической практике вполне возможна ситуация, когда их изменения носят разнонаправленный характер. Например, один из показателей имеет значение ниже порогового, а остальные два — выше пороговых или, наоборот, содержание двух из предикторов — ниже установленных пороговых величин, тогда как один — выше порогового значения либо другие варианты изменения содержания КД, ОШ и ЦП относительно пороговых величин. Подобный характер изменений в анализируемой выборке нами был получен у 24 пациентов 1-й группы и 15 пациентов 2-й группы. Для таких ситуаций рекомендуется использование приведенного выше уравнения

регрессии. Однако, поскольку все использованные параметры имеют разную размерность, для удобства пользования формулой рекомендуется вместо значений концентраций ЦП, КД и ОШ применять коды на основании отклонений величин от пороговых значений: 1 — когда полученные значения ниже пороговых; 2 — когда значения выше пороговых. В результате формула приобретает следующий вид:

$$y=64,239-3,481 \times (\text{код для ЦП})-19,949 \times (\text{код для КД})-20,127 \times (\text{код для ОШ}).$$

Далее вероятность наступления события (p) рассчитывается по формуле:

$$p = \frac{1}{1+e^{-y}},$$

где e — основания натуральных логарифмов (2,71). При p больше 0,5 — прогнозируется лизис лоскута, p меньше 0,5 — благоприятный исход операции.

Таким образом, наши исследования и приведенные результаты продемонстрировали, что по содержанию КД, ОШ и ЦП в плазме до операции можно с высокой вероятностью (до 92%) прогнозировать риск лизиса кожного аутодермотрансплантата у больных с локальными ранами и трофическими язвами, а следовательно, правильно спланировать сроки оперативного вмешательства и необходимость дополнительной подготовки больных. Использование предлагаемых маркеров позволяет за счет предупреждения неблагоприятного исхода операции сократить сроки пребывания больного в стационаре, избежать расходов на дополнительное консервативное и оперативное лечение, которые проводятся при лизисе кожного лоскута.

Выводы. 1. Показатели содержания церулоплазмينا, кетодиенов и оснований Шиффа в плазме крови у больных с локальными ранами до операции аутодермотранспластики могут служить предикторами риска отторжения трансплантата.

2. Комбинированное использование показателей содержания церулоплазмينا, кетодиенов и оснований Шиффа повышает их предсказательную ценность и является более предпочтительным, чем раздельное их определение.

3. С помощью математических моделей (ROC-кривые) установлены оптимальные пороговые значения лабораторных предикторов отторжения: церулоплазмин — 350 мг/л, кетодиены — 0,35 е.и.о., основания Шиффа — 0,05 е.и.о. При дооперационных значениях этих показателей ниже пороговых прогнозируется лизис аутодермотрансплантата, а при значениях выше пороговых — благоприятный исход операции с вероятностью 94 и 91% соответственно.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Волчегорский И.А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан — изопропанольных экстрактах крови // *Вопр. мед. химии.*—1989.—№ 1.—С. 127–135.
2. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса // *Вопр. мед. химии.*—2001.—№ 6.—С. 561–581.
3. Евтеев А.А. К вопросу об оценке эффективности аутодермотранспластики. регрессивные метаморфозы кожных трансплантатов // *Комбустиология [Электронный ресурс].*—2000.—№ 5.—режим доступа [http // . www.burn.ru](http://www.burn.ru).
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике.—В 2 т.—Минск, 2000.
5. Львовская Е.И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов // *Вопр. мед. химии.*—1991.—№ 4.—С. 93.
6. Малютина Н.Б. Рациональное применение методов раннего хирургического лечения глубоких ожогов у пациентов старших возрастных групп // [Электронный ресурс].—2002.—№ 10.—режим доступа [http //www. www.burn.ru](http://www.burn.ru).
7. Новикова И.А., Ярец Ю.И., Рубанов Л.Н. Состояние процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты у больных с локальными глубокими ожогами на различных этапах оперативного лечения // *Пробл. здоровья и экологии.*—2007.—№ 4.—С. 48–53.
8. Парамонов Б.А. Ожоги: Руководство для врачей.—СПб., 2000.—480 с.
9. Худяков В.В., Крутиков М.Г. Сравнительная оценка эффективности различных методов подготовки ожоговых ран к аутодермотранспластике // *Комбустиология [Электронный ресурс].*—2003.—№ 16–17.—режим доступа [http//www.burn.ru](http://www.burn.ru)
10. Шанин Ю.И., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия проведения).—СПб., 2003.—128 с.
11. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований.—СПб.: ВМедА, 2002.—266 с.
12. Cochrane C.G. Mechanism of oxidant injury of cells // *Molecular Aspects Med.*—1991.—Vol. 12.—P. 137–147.
13. Davis J., Goadrich M. The Relationship Between Precision-Recall and ROC Curves // *Proc. of 23 International Conference on Machine Learning, Pittsburgh, PA, 2006.*
14. Hajian-Tilaki K.O et al. A comparison of parametric and approaches to ROC-analysis of quantitative diagnostic tests // *Med. Decision Making.*—1997.—Vol. 17, № 1.—P. 94–102.

Поступила в редакцию 15.05.2009 г.

Yu.I.Yarets, I.A.Novikova

LABORATORY PROGNOSIS OF A RISK OF REJECTION OF AUTODERMOTRANSPLANT

The authors have analyzed results of autodermplasty of wound defects of the skin obtained by burns, mechanical injuries and trophic ulcers in 90 patients. It was shown that engraftment or lysis of autodermotransplants depends on the preoperative level of lipid peroxidation indices and antioxidant defense — diene conjugates, Schiff basis and ceruloplasmin. The levels of these indices in blood plasma of patients are established which have great prognostic importance.