

SBORNÍK ABSTRAKTŮ



XLV. DNY LÉKAŘSKÉ BIOFYZIKY

29.5. — 1.6.2024

PLZEŇ, ČESKÁ REPUBLIKA

Ústav biofyziky, Lékařská fakulta v Plzni Univerzita Karlova

a

Česká společnost lékařské fyziky ČLS JEP

Sborník příspěvků

Konference XLV. Dny lékařské biofyziky

pod záštitou

prof. MUDr. Jindřicha Fínka, Ph.D.

děkana Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni

29. 5. — 1.6 2024

Plzeň, Česká republika

Organizační tým:

MUDr. Lukáš Bolek, Ph.D.

MUDr. et MUDr. Jiří Beneš, Ph.D.

MUDr. Jiří Růžička, Ph.D.

Ing. Bc. Milan Dvořák

Mgr. Michaela Marešová

Bc. Zdeněk Kubeš

Pavλίna Rottenbornová

Jakub Vondraš

Bohumila Černá

Vydání 1., Plzeň, 5/2024

Copyright 2024 © Lékařská fakulta v Plzni Univerzita Karlova

ISBN 978-80-88120-34-6

Tato publikace neprošla redakční ani jazykovou úpravou

Veškerá práva vyhrazena. Je zakázáno tuto publikaci kopírovat a šířit v celku nebo po částech, v jakékoli podobě a jakýmikoli prostředky, ať už elektronickými nebo mechanickými, včetně fotokopírování, zaznamenávání nebo uložení na datová úložiště či do archivačních systémů.

Obsah:

PŘEHLED TECHNICKÝCH KOMPETENCÍ ČMI V OBLASTI METROLOGIE.....	6
INFRAČERVENÁ TERMOGRAFICKÁ DIAGNOSTIKA OBLIČEJE - PŘEDSTAVENÍ PROJEKTU	7
MODERNÍ ARCHITEKTURY NEURONOVÝCH SÍTÍ A JEJICH VYUŽITÍ V BIOMEDICINSKÉM VÝZKUMU.....	8
SPONTANEOUS IN VIVO RECELLULARIZATION OF DECELLULARIZED PORCINE LIVER.....	9
NANOTHERAGNOSTIKA V PERSONALIZOVANÉ MEDICÍNĚ A ČASNÁ DIAGNÓZA.....	10
MODERNÍ TECHNIKY VÝPOČETNÍ TOMOGRAFIE V PRAXI – DUAL-ENERGY CT, ŠIROKÉ MNOHOŘADÉ DETEKTORY, ITERATIVNÍ REKONSTRUKCE	11
ZLEPŠENÍ KOROZNÍ ODOLNOSTI JÍCNOVÝCH NITINOLOVÝCH STENTŮ	12
ZAŘÍZENÍ PRO PŘÍPRAVU PERSONALIZOVANÝCH KRYTŮ RAN A OVĚŘENÍ BEZPEČNOSTI A ÚČINNOSTI.....	13
OPEN-SOURCE PŘÍSTUP K LOW-FIELD MRI A ZAJIŠTĚNÍ BEZPEČNOSTI A ÚČINNOSTI DLE MDR.....	14
LIEČBA BENÍGNÝCH REFRAKTERNÝCH STRIKTŮR PAŽERÁKA BIODEGRADABILNÝM STENTOM: SYSTEMATICKÝ PREHLAD A METAANALÝZA.....	15
STUDIUM FOTODYNAMICKÉHO TERAPEUTICKÉHO POTENCIÁLU KOMPOZITU CGQDS-PEG-CURCUMIN NA DNA	16
ZKOUMÁNÍ KINETIKY DISOLUCE INTRAMUSKULÁRNĚ PODANÝCH TERMORESPONSIVNÍCH POLYMERŮ	17
NEW WAYS TOWARD LIVER TISSUE ENGINEERING: HOW TO TURN A FALCON TUBE INTO A BIOREACTOR?	18
CÍLENÁ IN VITRO LIPOZOMÁLNÍ PROTINÁDOROVÁ TERAPIE.....	19
STUDIUM MECHANISMU SYNERGICKÉHO ÚČINKU NANOČÁSTIC STŘÍBRA S VANKOMYCINEM NA BAKTERIÍCH RODU ENTEROCOCCUS.....	20
OPTICKÉ A ELEKTRICKÉ BIONANOSENZORY PRO TELEMEDICINSKOU DETEKCI STANDARDNÍCH A NÍZKOKONCENTROVANÝCH DIAGNOSTICKÝCH BIOMARKERŮ ČASNÝCH STADIÍ ONEMOCNĚNÍ	21
NOVĚ V REGULACI ZDRAVOTNICKÝCH PROSTŘEDKŮ	22
3D TISK V MEDICÍNĚ–KLINICKÉ APLIKACE, 15 LET ZKUŠENOSTÍ A VÝHLED DO BUDOUCNOSTI	23
NOVÉ MOŽNOSTI SOUVISEJÍCÍ S PRAKTICKÝM UPLATNĚNÍM NORMY EN ISO 10993	24
ÚVAHY BIOFYZIKÁLNÍ ČÁST 1, VÝUKA FYZIKY, LÉKAŘSKÉ FYZIKY, BIOFYZIKY A PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY NA LF A OTÁZKY S TÍM SOUVISEJÍCÍ	25
ÚVAHY BIOFYZIKÁLNÍ ČÁST 2, OBSAH VÝUKY FYZIKY, LÉKAŘSKÉ FYZIKY, BIOFYZIKY A PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY NA LF DNES A ZÍTRA ANEB „CO“ UČIT	26
POST-MARKET SURVEILLANCE: ZÁTĚŽ NEBO PŘÍNOS?	27
REGULÁCIA RHO GTPÁZ V METASTÁZOVANÍ BUNKOVEJ LÍNIE KARCINÓMU PRSNÍKA MCF-7 PO TERAPII DOXORUBICÍNOM.....	28
EFEKTIVNÍ VÝUKA BIOFYZIKY NA LÉKAŘSKÝCH FAKULTÁCH: STRATEGIE KE SNÍŽENÍ STUDIJNÍ NEÚSPĚŠNOSTI	29
VYUŽITÍ KURKUMINU VÁZANÉHO NA KVANTOVÉ TEČKY V ANTIMIKROBIÁLNÍ FOTODYNAMICKÉ TERAPII.....	30
OVĚŘENÍ BEZPEČNOSTI ANTIMIKROBIÁLNÍ FOTODYNAMICKÉ TERAPIE V MODELOVÉM SYSTÉMU REKONSTRUOVANÉ LIDSKÉ KŮŽE	31
EFEKT IN VITRO PROTINÁDOROVÉ TERAPIE NA ZÁKLADNÍ BUNĚČNÉ PROCESY HELA BUNĚK.....	32
AUTOMATICKÁ SEGMENTACE UZLŮ VE ŠTÍTNÉ ŽLÁZE V ULTRAZVUKOVÝCH OBRAZECH: SROVNÁNÍ SOUČASNÝCH METOD HLUBOKÉHO UČENÍ	33

VYUŽITÍ NANOMEBRÁN JAKO NÁHRADY UŠNÍHO BUBÍNKU.....	34
HODNOCENÍ STABILITY DETEKTORU A KVALITY OBRAZU TERMOKAMER PRO CHYTRÉ TELEFONY	35
PŘESNOST A REPRODUKOVATELNOST 3D TISKU TRANSPARENTNÍCH ENDODONTICKÝCH BLOKŮ	36
BIOFYZIKÁLNÍ APLIKACE MIKROSKOPIE ATOMÁRNÍCH SIL	37
OPTIMALIZACE ARCHITEKTUR UMĚLÉ INTELIGENCE PRO DETEKCI ZVUKŮ GASTROINTESTINÁLNÍHO TRAKTU	38
FMRI POPULAČNÍ RECEPTIVNÍ POLE U VĚKEM PODMÍNĚNÉ MAKULÁRNÍ DEGENERACE: METODIKA VYŠETŘENÍ	39
INOVOVANÉ PREDNÁŠKY POVINNE VOLITELNÉHO PREDMETU „ZOBRAZOVACIE METÓDY V MEDICÍNE“	40
PLAZMOU AKTIVOVANÁ KVAPALINA V LIEČBE INFEKCIÍ MOČOVÝCH CIEST	41
IRON-OXIDE NANOPARTICLES ON AXONS IN HUMAN BRAIN AND THEIR POSSIBLE EFFECT	42
MEDICÍNSKÉ APLIKACE MAKROFOTOGRAFIE V BLÍZKÉ INFRAČERVENÉ A ULTRAFIALOVÉ OBLASTI SPEKTRA.....	43
BLÍZKÉ POLE PŘI OZVUČOVACÍCH EXPERIMENTECH IN VITRO	44
GEOGEBRA AND ITS APPLICATIONS, ESPECIALLY FOR TEACHING OF GEOMETRICAL OPTICS	45
POROVNÁNÍ RŮZNÝCH DISKRÉTNÍCH ALGORITMŮ PRO TVORBU PODVÝBĚRŮ: PŘÍPADOVÁ STUDIE NA COVID-19 DATECH S CHYBĚJÍCÍ ZÁVISLE PROMĚNNOU	46
DIFERENCIACE TUMORŮ MOZKU POMOCI MAGNETICKÉ REZONANCE.....	47
UMĚLÁ INTELIGENCE A MONITOR ŽIVOTNÍCH FUNKCÍ	48
BIO SIGNALS PLUX HYBRID-8	49
UPLATNĚNÍ NEINVAZIVNÍHO ULTRA ZVUKOVÉHO KATETRU PRO DODÁVÁNÍ ENKAPSULOVANÝCH LÉČIV A BIOAKTIVNÍCH FAKTORŮ ZÍSKÁVANÝCH Z KMENOVÝCH BUNĚK.....	51
PROTECTU: ZVÝŠENÍ BEZPEČNOSTI A NEZÁVISLOSTI DÍKY 24HODINOVÉ VZDÁLENÉ ASISTENCI	52
TELEMEDICÍNSKÝ NÁSTROJ PRO AUTOMATIZOVANÉ GENEROVÁNÍ DIABETICKÝCH DENÍKŮ.....	53
TELEREHABILITAČNÍ TECHNOLOGIE PRO INTERAKTIVNÍ TERAPII	54

PŘEHLED TECHNICKÝCH KOMPETENCÍ ČMI V OBLASTI METROLOGIE

Jiří Šuráň

Český metrologický institut

Přednáška představuje ČMI jako špičkový institut v mnoha oblastech metrologie fyzikálních veličin. Popisuje odbornou kompetenci a vybavení v jednotlivých fyzikálních oborech. Cílem je seznámit posluchače s možnostmi ČMI využitelnými pro případnou spolupráci zejména s akademickou sférou.

INFRAČERVENÁ TERMOGRAFICKÁ DIAGNOSTIKA OBLIČEJE - PŘEDSTAVENÍ PROJEKTU

Milan Honner

Západočeská univerzita v Plzni / Nové technologie - výzkumné centrum

Cílem příspěvku je představit záměr projektu předaplikačního výzkumu ve výzvě OP JAK MeS ITI a pozvat zájemce ke spolupráci. Úvodní část příspěvku ukazuje východiska v podobě potřeb zdravotnické, bezpečnostní a vzdělávací sféry na úrovni uživatelů i národních strategií. Definováno je dvacet dva aplikačních témat - různých způsobů využití výsledků.

Metodicky projekt využívá a rozvíjí termografické zobrazovací metody. Objektem bezkontaktní diagnostiky je obličej měřené osoby. Přestože jsou infračervené měřicí a zobrazovací metody v podobě termokamerových přístrojů již desítky let široce využívány v praxi v řadě aplikačních oborů, stále jsou zde technické, fyziologické a aplikační výzvy. Technické výzvy pro infračervené měřicí a zobrazovací metody vycházejí z požadavků některých aplikací na přesnost určení teploty. Standardní přesnost stanovení teploty se u termografických kamer pohybuje v rozmezí $\pm 2^\circ\text{C}$. Výzvou je zajistit přesnost měření v řádu desetin $^\circ\text{C}$. Což je příklad použití pro termodiagnostiku osob.

Fyziologické výzvy jsou spojené s požadavky termodiagnostiky lidského těla. Cílem zde není pouze korektně změřit povrchové teplotní pole. Výzvou je, jak z něho získat informaci o fyziologických procesech, které v těle probíhají, a pomocí těchto charakteristik diagnostikovat tepelný, zdravotní, fyzický, mentální nebo emocionální stav měřené osoby. Aplikační výzvy pak přicházejí s požadavky používat měřicí přístroje za podmínek, které jsou dány konkrétním praktickým použitím v terénu mimo možnosti zajistit ideální laboratorní podmínky.

Záměrem projektu je rozvoj platformy pro efektivní dlouhodobou mezisektorovou spolupráci výzkumného a aplikačního sektoru v tématech infračervených měřicích a zobrazovacích systémů pro použití ve zdravotnické, bezpečnostní a vzdělávací sféře. Technicko-fyzikální výzkum bude zaměřený především na objasnění nových možností vytvoření infračervených měřicích a zobrazovacích systémů s tepelnými/ kvantovými detektory, prvky přirozené/umělé inteligence a vzdálené komunikace pro blízkou i vzdálenou diagnostiku teplotních polí lidského těla (zejména obličeje), pro měření opticko-tepelných vlastností povrchů a pro analýzu tepelných vlivů okolí na lidské tělo. Zdravotnický výzkum bude zaměřený na termografické zobrazení fyziologických projevů lidského těla zejména v oblasti obličeje a na objasnění vlivu vnitřních a vnějších stimulací. Z aplikačního pohledu budou aktivity modelového a aplikačního ověření zaměřeny na proof-of-concept ověření použitelnosti výsledků zdravotnickými pracovišti v rámci přednemocniční či nemocniční péče, využití bezpečnostními složkami pro efektivní zásah i plnění úkolů prevence, využití jako funkcionalit chytrého města nebo domácnosti a konečně i využití v inovativním vzdělávání.

Projekt LabIR-PAV-2 organizuje spolupráci fyziků, lékařů a bezpečnostních složek. Žadatelem je Západočeská univerzita v Plzni / Nové technologie - výzkumné centrum. Partnerem s finančním příspěvkem je Univerzita Karlova / Lékařská fakulta v Plzni. Partnery bez finančního příspěvku jsou dále Fakultní nemocnice Plzeň, Zdravotnická záchranná služba Plzeňského kraje, Hasičský záchranný sbor Plzeňského kraje, Krajské ředitelství policie Plzeňského kraje, SPRÁVA INFORMAČNÍCH TECHNOLOGIÍ MĚSTA PLZNĚ, příspěvková organizace, Techmania Science Center o. p. s.

Řešení startuje od 1. 6. 2024. Vítejte spolupráce na definici budoucích výsledků na začátku projektu i na aplikačním ověření vytvořených měřicích a zobrazovacích systémů v dalším průběhu řešení.

LABIR-PAV-2 / Předaplikační výzkum infračervených měřicích a zobrazovacích systémů

MODERNÍ ARCHITEKTURY NEURONOVÝCH SÍTÍ A JEJICH VYUŽITÍ V BIOMEDICÍNSKÉM VÝZKUMU

Miroslav Jiřík

Václav Liška

Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Biomedicínské Centrum, Západočeská univerzita, Fakulta aplikovaných věd, Katedra kybernetiky

Metody strojového učení procházejí bouřlivým obdobím díky prudkému rozvoji v oblasti umělých neuronových sítí. Tato technologie prokazuje svou schopnost řešit široké spektrum úloh napříč mnoha obory. Cílem této práce je seznámit čtenáře s aktuálními trendy v oboru a dát mu přehled o závislostech mezi velikostí datasetu, zvolené architektuře, strategii trénování a výslednou kvalitou rozhodování sítě.

Základní architekturou používanou v oblasti neuronových sítí představují plně propojené (fully connected) vrstvy, někdy označované jako perceptronové sítě (MLP - Multi Layer Perceptron). V nich jsou neurony uspořádány do vrstev, ve kterých každý neuron zpracovává informaci od všech neuronů z předchozí vrstvy.

V oblasti zpracování obrazu došlo před lety k průlomům, který byl z části zapříčiněn využitím konvolučních neuronových sítí. Jejich předností byla extrakce informace, která byla nezávislá na poloze objektu v obrazu. To přineslo významné zlepšení oproti sítím typu MLP, avšak částečně se tím vytrácí informace o vzájemném kontextu více objektů.

Dalším významným pokrokem je proto architektura typu Transformer, která vznikla za účelem zpracování řeči. V ní je vytvořen mechanismus, který umožňuje selektivní zaměření pozornosti sítě na důležité oblasti. Díky tomu dochází k dalšímu posunu kvalit rozhodování. Cenou za to je pak potřeba velkého datasetu.

Výsledná kvalita rozhodnutí neuronové sítě se v klasifikačních úlohách zpravidla měří metrikou Accuracy, Precision, nebo Recall (někdy označované také jako Sensitivity). Velkým vlivem na výsledné rozhodnutí má velikost datasetu, zvolená architektura a strategie trénování. Ač mají rozsáhlejší sítě potenciál dosahovat lepších výsledků, je tento potenciál omezen na případy, kdy máme k dispozici dostatečně rozsáhlý dataset. Dá se očekávat, že méně rozsáhlé architektury (konvoluční neuronové sítě) mohou dosahovat lepších výsledků v případě omezeně velkého datasetu. Pro ověření této myšlenky jsme využili veřejně dostupný dataset RTG snímků hrudníků, který obsahoval obrázky s virovým a bakteriálním zápalem plic a obrázky bez postižení. Naše experimenty prokazují, že při trénování architektury Vision Transformer na nedostatečně velkém datasetu má tato architektura horší výsledky, než architektury konvoluční (ResNet50).

Naše studie demonstruje klíčové aspekty výběru a implementace různých architektur neuronových sítí pro klasifikaci medicínských obrazových dat, konkrétně RTG snímků hrudníku. Analýza a porovnání výkonu konvolučních neuronových sítí (ResNet) a Transformerů (ViT) ukázala, že výběr vhodné architektury a strategie trénování zásadně ovlivňuje kvalitu rozhodování sítě, což má přímý dopad na praktické využití v biomedicínském výzkumu.

Tento výstup vznikl v rámci programu Cooperatio, vědní oblasti SURG.

SPONTANEOUS IN VIVO RECELLULARIZATION OF DECELLULARIZED PORCINE LIVER

Vladimíra Moulisová

Marek Brousil, Maria Stefania Massaro, Richard Pálek, Jáchym Rosendorf, Sima Šarčević, Jan Ševčík, Martina Grajciarová, Anna Malečková, Miroslav Jiřík, Lenka Červenková, Lukáš Bolek, Václav Liška

Biomedical Center, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Czech Republic, Department of Surgery, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Czech Republic, Institute of Histology and Embryology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles

The lack of donors for liver transplantation stimulates the efforts of tissue engineers to reconstruct this organ or at least its part to obtain a functional liver tissue. Different approaches exist with the use of decellularized porcine liver tissue as a matrix for repopulation with human cells representing a highly promising direction. Our group developed an efficient method for high quality pig liver scaffold preparation [1], however, its immunogenicity as well as its repopulation potential still needs to be verified. This study aims to assess the interaction of decellularized pig liver scaffold with the porcine omentum after allogeneic implantation.

Small pieces of decellularized pig liver scaffold were implanted in porcine omentum of the recipient pig in 2-week survival experiment. Samples were processed and different types of IF stainings applied to assess selected parameters. Quantitative analysis was done on slide scans using QuPath software.

In the explanted tissue no inflammatory changes were observed either in the scaffold or in surroundings. Cells of the recipient were present in the scaffold; their numbers were decreasing toward the central zone. Some of these cells expressed mitotic activity. Recreated small vessels were merging with the circulatory system of the recipient (Figure 1), some of them with clearly presented muscular layer.

It was confirmed the scaffold is biocompatible as no immune reaction was present. Implanted scaffold proved also as a favourable environment for cell migration, division, and growth. Partial revascularisation serves as an indirect proof of preserved signal molecules in the matrix.

The work was funded by projects UNCE/MED006 Center of Excellence, Charles University, COOPERATIO-207043, Charles University, and NUVR – NICR (No. LX22NPO5102), Next Generation EU.

NANOTHERAGNOSTIKA V PERSONALIZOVANÉ MEDICÍNĚ A ČASNÁ DIAGNÓZA

Evžen Amler, Aleksei Pashchenko, Radek Divín, Petr Novotný, Petr Heřman, Gracian Tejral, Jana Holacká

Ústav biofyziky 2. LF UK

Časná diagnóza je zásadním aspektem pro úspěšnou léčbu. V současné době, která je charakteristická rozevírajícími se nůžkami mezi možnostmi moderní medicíny na straně jedné a kapacitami nemocnic a možnostmi zdravotních pojišťoven na straně druhé, se jeví pre-screening populace pro selekci potenciálních pacientů a jejich efektivní postoperační monitoring pacientů jako jeden z pilířů pro udržitelnost funkčního zdravotního systému. Tento přístup je zásadní zejména pro centra lokalizovaná mimo nemocniční systém, jako jsou například domy seniorů či centra následné péče, ale i pro domácí péči.

Kombinace moderních neinvazivních měření s využitím IR detektorů se specifickými nanobiosenzory pro rychlé stanovení klíčových markerů z tělních tekutin, navíc se získanými daty distančně přímo napojenými do monitorujícího lékařského centra, je moderním nadějným přístupem, který má potenciál přispět k řešení tohoto problému.

V prezentaci bude představena kombinace IR detekčního přístupu neinvazivního měření vybraných biochemických a fyziologických parametrů se specifickými mikrofluidickými detektory, které jsou vyvíjeny na našem pracovišti. Pozornost bude též věnována nezbytným změnám ve výuce budoucích lékařů, které povedou k jejich lepší přípravě a také stimulovat jejich podíl na dalším cílování systému.

Modernizace léčebných postupů a diagnostických přístupů je nezbytná pro prolongaci udržitelného fungování postmoderní společnosti, a to nejen na úrovni péče o pacienta, ale též v jeho vzdělávání. Lékařská biofyzika by se měla v tomto směru hlásit o významnější roli při aplikaci moderních systémů i při výchově nových lékařů.

MODERNÍ TECHNIKY VÝPOČETNÍ TOMOGRAFIE V PRAXI – DUAL-ENERGY CT, ŠIROKÉ MNOHOŘADÉ DETEKTORY, ITERATIVNÍ REKONSTRUKCE

Tomáš Jůza (1,2)

Marek Dostál (1, 2), Daniel Vlk (1)

(1) Biofyzikální ústav, Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Brno, (2) Klinika radiologie a nukleární medicíny, Fakultní nemocnice Brno

S rozvojem výpočetní techniky a metod detekce elektromagnetického záření stále pokračuje i vývoj rentgenové výpočetní tomografie. Vzhledem k nutným obnovám těchto přístrojů ve zdravotnických zařízeních se nám nezadržitelně do praxe dostávají i tyto nové technologie.

Zásadním fundamentálním technologickým pokrokem je tzv. spektrální CT, které oproti klasickému CT využívá k náběru informací o útlumu více konkrétních energií RTG záření. Nejjednodušší konstrukční variantou spektrálního CT je dual-energy CT (DECT), které využívá rozdílných útlumů dvou spekter energií rentgenového záření. Vlastního DECT existuje několik konstrukčních variant. Vyšším stupněm stratifikace procházejícího záření je pak tzv. photon-counting detektor. Tímto způsobem získaná data o struktuře skenovaného objektu umožňují komplexnější techniky rekonstrukce obrazu a možnosti kvantifikace jednotlivých substancí. V praxi nejčastěji využíváme posílení kontrastu, kvantifikací či potlačení jodové kontrastní látky.

Další vylepšení tomografů, postavené na hardwaru, představují široké víceřadé detektory. V současné době jsou již běžně k dispozici 128řadé detektory umožňující na jednu rotaci náběr informací o bloku tkáně šíře až 8 cm. V kombinaci s rychlostí rotace v desetinách sekund nachází jasné uplatnění v prospektivně EKG trigovaném vyšetření srdce a dále např. v perfuzním vyšetření mozku.

Obecný nárůst výkonu výpočetní techniky nám dále umožňuje i zhotovení matematicky komplikovanějších obrazových rekonstrukcí založených čistě na iteracích. Aktuálně máme k dispozici tzv. IMR (iterative model reconstruction), který zcela vynechává přepočítání pomocí filtrované zpětné projekce. Vzniklý obraz vyniká sníženou úrovní šumu a artefaktů z utvrzení a může dále přispět k redukci dávky ozáření. V praxi se nám tento způsob zobrazení osvědčil především u vyšetření mozku.

ZLEPŠENÍ KOROZNÍ ODOLNOSTI JÍCNÝCH NITINOLOVÝCH STENTŮ

Dino Alferi

Josef Hanuš, Jaroslav Fojt

Univerzita Karlova Lékařská fakulta v Hradci Králové, VŠCHT Praha

Kovové jícnové stenty jsou velmi často vyráběny ze slitiny nitinol. Pro správné fungování je nutné, aby byl výchozí materiál homogenní. Přítomnost dalších fází a nečistot může nepříznivě ovlivnit výše zmíněné vlastnosti. Korozní odolnost nitinolu je založena na tvorbě uniformní tenké vrstvy TiO_2 . Tato vrstva se na materiálu tvoří samovolně. Aby se stentu vnesl finální tvar, je nutné další tepelné zpracování. Při tepelném zpracování se mění tloušťka TiO_2 . Pokud je tloušťka vrstvy příliš velká, může vykazovat zvýšené množství defektů. Takto defektní vrstva nemá dostatečné ochranné účinky. Tloušťka oxidační vrstvy může být změněna následnou povrchovou úpravou, kdy dochází k redukci oxidické vrstvy vzniklé tepelnou úpravou.

Předchozí výzkum byl zaměřen na volbu relevantního prostředí pro testování jícnových nitinolových stentů. Zároveň byl ověřen vliv výrobní technologie na korozní odolnost. Z tohoto výzkumu bylo zjištěno, že je nutné zvolit takovou výrobní technologii, která zajistí nízký obsah niklu v oxidické vrstvě a zároveň zredukuje i její tloušťku. V rámci výzkumu byly hledány vhodné technologie povrchové úpravy, které mají potenciální přesah do praxe. Mezi tyto povrchové úpravy bylo zařazeno elektrochemické leštění a chemické leptání. V rámci výzkumu byly hledány optimální parametry, které podávají stabilní výsledky. Následně byl zjišťován vliv těchto povrchových úprav na korozní odolnost jícnových nitinolových stentů. Pro ověření korozní odolnosti bylo použito měření dle normy ASTM F2129 – cyklická potenciodynamická polarizace, kdy byla hledána hodnota průřazového potenciálu. Jako vhodné prostředí bylo na základě předchozího výzkumu zvolena simulovaná žaludeční tekutina (SGF).

Z výsledků lze konstatovat, že výše zmiňované techniky vedou ke zlepšení korozní odolnosti, jelikož došlo ke zvýšení hodnoty průřazového potenciálu, což značí vyšší korozní odolnost nitinolových stentů. Vzhledem ke komplexnímu složení těchto stentů, nepodávalo elektrochemické leštění konstantní výsledky. Tato technika se tedy jevila jako nepřiměřeně složitá pro uvedení do praxe. Nejvhodnější se jeví kombinace chemického leptání s následnou hydrotermální úpravou. Takto upravené stenty vykazovaly nejvyšší korozní odolnost v SGF. Dále bylo prokázáno, že historie tepelného zpracování, která definuje tloušťku a chemické složení oxidické vrstvy, má zanedbatelný vliv na funkčnost této úpravy. Také bylo zjištěno, že lze opticky detekovat, zda byla úprava úspěšně dokončena. Toto lze tvrdit na základě odlišného zbarvení povrchu upravených stentů oproti neupraveným stentům. V neposlední řadě má tato technologie potenciál být vzhledem ke své jednoduchosti přenesena do praxe.

V rámci současného výzkumu byly zkoumány techniky zlepšení korozní odolnosti jícnových nitinolových stentů. Pro samotné testování korozní odolnosti byly použity informace získané z předchozího výzkumu. Z výsledků testování bylo zjištěno, že navržené techniky zlepšují korozní odolnost. Jako nejvhodnější se jeví technologie chemického leptání s následnou hydrotermální úpravou, která způsobila nejznatelnější nárůst korozní odolnosti. Vzhledem k tomu, že tato povrchová úprava vede ke zvýšení korozní odolnosti, dochází tím i ke zvýšení bezpečnosti stentu. V neposlední řadě má tato technologie potenciál pro uvedení do praxe, a to zejména pro svou jednoduchost.

ZAŘÍZENÍ PRO PŘÍPRAVU PERSONALIZOVANÝCH KRYTŮ RAN A OVĚŘENÍ BEZPEČNOSTI A ÚČINNOSTI

Petr Bratřka

Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva, Fakulta biomedicínského inženýrství, České vysoké učení technické v Praze

Disertační práce řeší výzkum a vývoj zařízení pro přípravu personalizovaných krytů ran s doplňkovým účinnkem, který je zajištěn prodlouženým uvolňováním účinných látek. Provádí jednu iteraci ověření návrhu zařízení s využitím předklinického testování bezpečnosti a účinnosti zařízením připraveného krytu rány. Testovaná varianta krytu je tvořena nanovlákněným substrátem z polykaprolaktonu s deponovaným drug delivery systémem, tvořeným gentamycinem a a-tokoferolem imobilizovanými v pevných lipidických částicích (SLP) z myristilalkoholu. Práce demonstruje posloupnost jednotlivých kroků přípravy, realizace a vyhodnocení předklinického testování, až po in vivo experiment na myším modelu, a to se zaměřením na syntézu zásadních technických a regulatorních požadavků.

Po popisu technického řešení byla provedena kvalifikace a identifikovány požadavky na předklinické hodnocení zdravotnických prostředků dle regulatorní úpravy (MDR). Akcentováno bylo biologické hodnocení a řešení návrh in vivo experimentu pro ověření potenciálu plnit vybrané požadavky z této oblasti. Byla vyhodnocena publikovaná literatura použitelná na prostředek a existujících experimentální data. Byla analyzována vhodnost metod pro testování, zejména relevantních koncových bodů dle ČSN EN ISO 10993-1:2021 a také specifických postupů pro testování předklinické účinnosti. Morfologie nanovlákněného nosiče byla charakterizována pomocí SEM, formulované SLP s využitím SEM a SLS. Kinetika uvolnění byla analyzována pomocí HPLC-FLD. Pro in vitro testování cytotoxicity byla volena MTS esej a loužení na fibroblastech 3T3. Antibakteriální účinnost byla ověřována diskovým difúzním testem. Na základě výsledků úvodních testování byla zvolena varianta krytu pro in vivo experiment (50 samic myši BALB/c). Na hřbetech zvířat byl do indukovaných ran přišit silikonový kruh pro simulaci nehojící se rány a následně po dobu 14 dní aplikováno krytí ve skupinách s kombinacemi bakteriální infekce či neinfikovaných a nosiče samotného i s účinnými látkami. Odebrané vzorky byly histologicky vyšetřeny.

In vitro testování potvrdilo antibakteriální účinnost krytů proti planktonním bakteriím i biofilmu (*S. Aureus* a *P. Aeruginosa*) a neindikovalo cytotoxicitu. V in vivo experimentu hojení rány bez infektu nebylo negativně ovlivněno aplikací samotného nosiče ani nosiče obohaceného. Výsledky byly podobné ve všech skupinách, lze tedy usuzovat na biokompatibilitu. Histologické vyhodnocení ran léčených krytem s oběma účinnými látkami ukázalo lepší tvorbu všech tří vrstev kůže a pozitivní vliv na granulaci tkáně i organizaci dermis. Antibakteriální účinnost krytu se pro úplné potlačení infektu ukázala jako nedostatečná a také předpoklad příspěvku antioxidantu k hojení se nepotvrdil. Výsledky naznačily, že aplikace antioxidantu ve fázi probíhající bakteriální infekce k lepšímu hojení nepřispívá. Ve vztahu k primárně řešenému návrhu zařízení provedená testování ovšem neindikovala problém s kvalitou výstupu nebo jeho opakovatelností, ani nedostatky návrhu zařízení ve smyslu např. kontaminace vzorků krytu. Byla identifikována potřeba zvýšení robustnosti metodiky formulace SLP, která určitý dopad do konstrukce zařízení má a bude řešena modifikací nebo doplněním příslušných prvků (aktivní chlazení).

Řešená tematika byla specifická mj. zaměřením na předklinické testování zdravotnického prostředku připraveného zařízením, které se jako prostředek nekvalifikovalo. Byla demonstrována posloupnost kroků přípravy, realizace a vyhodnocení předklinického testování v rámci návrhu a vývoje. V in vivo experimentu se podařilo simulovat chronickou ránu a vytvořit řadu dále využitelných poznatků. Dílčí negativní výsledky ve vztahu k řešené variantě krytu lze řešit zejména parametrickými úpravami nastavení jeho přípravy, bez dopadu na jeho celkovou konstrukci nebo konstrukci zařízení. Práce tak zejména přispěla k prokázání proveditelnosti koncepce přípravy krytů ran v ambulantních podmínkách pomocí vhodného zařízení.

FV20422, FV30086, FV40186

OPEN-SOURCE PŘÍSTUP K LOW-FIELD MRI A ZAJIŠTĚNÍ BEZPEČNOSTI A ÚČINNOSTI DLE MDR

Jitka Hanusová

Jan Kavalírek, Helena Kolářová, Karel Hána

KAR BioTech s.r.o., Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT

Příspěvek se na příkladu low-field magnetické rezonance (MRI) zaměřuje na integraci nejmodernější lékařské technologie, dodržování bezpečnostních standardů a plnění požadavků legislativy MDR, při současném zohlednění cenové dostupnosti a zachování účinnosti. Příspěvek se dále zaměřuje na možnost využití a poskytnutí open-source zdrojů pro hardware, software i technickou dokumentaci dle MDR jako potenciálního řešení pro zajištění ekonomického a technologického přínosu.

Pro dosažení cílů byly použita metoda analýzy se zaměřením na aktuální trendy v medicínských technologiích, příslušné bezpečnostní standardy a požadavky legislativy MDR.

Výsledkem projektu bude mobilní low-field magnetická rezonance s váhou menší než 300 kg a cenou nižší než 50 000 EUR, navržená a vyvinutá v souladu s požadavky MDR a příslušných technických norem, aby ji bylo možné jakýmkoliv subjektem plně replikovat a využívat i ve znevýhodněných regionech či rozvojích zemích při zachování kvality zobrazování jako u plnohodnotného zdravotnického prostředku tohoto typu (snímat bude možné hlavu, končetiny).

Všech materiály k hotové low-field MRI budou poskytnuty jako open-source k dalšímu využití jakémukoli subjektu. Tato strategie umožňuje širší a rychlejší šíření znalostí a inovací v medicíně, což může vést k rychlejšímu pokroku a zlepšení dostupnosti zdravotnických prostředků. Otevřený přístup k technologickým zdrojům tak může být nápomocný v dalším vědeckém výzkumu i implementaci inovací v nejen oblasti low-field magnetické rezonance. Využití tohoto přístupu má potenciál urychlit a zjednodušit nasazení cenově efektivních a zároveň bezpečných zdravotnických prostředků a zajištění ekonomického a technologického přínosu pro společnost.

Podpořeno projekty: A4IM, EURAMET

LIEČBA BENÍGNÝCH REFRAKTERNÝCH STRIKTÚR PAŽERÁKA BIODEGRADABILNÝM STENTOM: SYSTEMATICKÝ PREHLAD A METAANALÝZA

Daniel Tyč

Iva Selke Krulichová, Josef Hanuš

Ústav lékařské biofyziky, Lékářská fakulta, Univerzita Karlova v Hradci Králové

Liečba benígnych refraktrných striktúr pažeráka je zložitou výzvou s vysokou mierou recidívy a komplikácií. Na trhu existuje biodegradabilný stent (BD stent), ktorý by mal znížiť počet intervencií u pacientov s touto chorobou. Dôkazy o klinických účinkoch týchto stentov sú však často založené na štúdiách s retrospektívnym dizajnom alebo štúdiách s malou vzorkou pacientov. Cieľom tejto práce bolo vyhotoviť metaanalýzu publikovaných štúdií a poskytnúť tak silnejší dôkaz o klinických účinkoch BD stentu.

Pri vyhľadávaní štúdií podľa PRISMA metódy bolo identifikovaných celkom 22 publikácií, ktoré popisujú použitie BD stentov. Po kritickom posúdení bolo do analýzy zahrnutých 15 zdrojov. Riziko skreslenia štúdií bolo posúdené prostredníctvom metódy MINORS. Z prijatých štúdií boli extrahované klinické údaje týkajúce sa času do vzniku restenózy, počtu a závažnosti komplikácií súvisiacich so stentom. Údaje týkajúce sa klinickej úspešnosti boli syntetizované pomocou Kaplanovej-Meierovej analýzy. Miera výskytu komplikácií bola analyzovaná prostredníctvom Proportional Single Group Forrest Plot.

Celkovo bolo analyzovaných 241 implantácií s technickou úspešnosťou zavedenia stentu 97 % (95% CI: 95 %, 99 %). Klinický úspech, meraný ako neprítomnosť restenózy a opätovnej intervencie, bol po 6 mesiacoch u 38,4 % (95% CI: 32,0 %, 46,1 %) a po 1 roku u 27,0 % (95% CI: 20,9 %, 34,9 %) pacientov. Medzi najčastejšie komplikácie, ktoré vyžadovali intervenciu patrila bolesť s mierou výskytu 9 % (95% CI: 4,2%, 13,3%) a hyperplázia sliznice s mierou výskytu 16 % (95% CI: 6,6 %, 26,1%). Analýza taktiež odhalila významnú heterogenitu pri výskyte slizničnej hyperplázie. Ďalšie komplikácie, ktoré vyžadovali intervenciu (migrácia stentu, krvácanie, obštrukcia jedlom, fistula, reflux, nevoľnosť a zvracanie) mali mieru výskytu okolo 3 %.

Táto metaanalýza poskytuje dôkazy o účinnosti a bezpečnosti BD stentu. Hoci sa pozorovala určitá miera komplikácií, väčšina z nich bola úspešne vyriešená farmakologicky alebo ambulantne. Naše výsledky podporujú používanie BD stentu ako účinnej alternatívy pri liečbe benígnej refrakternej striktúry pažeráka. Ďalší výskum by sa mal zamerať na porovnanie s konvenčnými terapiami a analýzu nákladovej efektivity.

STUDIUM FOTODYNAMICKÉHO TERAPEUTICKÉHO POTENCIÁLU KOMPOZITU CGQDS-PEG-CURCUMIN NA DNA

Hanna Dilenko

Kateřina Bartoň Tománková, Lucie Válková, Barbora Hořiková, Kolařiková Markéta, Lukáš Malina, Hana Kolářová

Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc, Česká republika

Fotodynamická terapie (PDT) je slibná cesta pro cílenou léčbu nádorových onemocnění, využívající sloučeniny citlivé na světlo (fotosensitizer) k selektivnímu vyvolání buněčného poškození tvorbou reaktivních kyslíkových radikálů. V této práci byl studován potenciál nového kompozitního materiálu obsahujícího karboxylované grafenové kvantové tečky (cGQD) funkcionalizované polyethylenglykolem (PEG) a kurkuminem (cGQDs-PEG-curcumin) jako fotodynamické činidlo.

Fotodynamický potenciál cGQDs-PEG-curcumin byl ověřen prostřednictvím in vitro metod na dvou buněčných liniích HeLa a NIH 3T3. Pomocí konfokální mikroskopie byla objasněna lokalizace kompozitního materiálu v buňce. Následně bylo hodnoceno poškození DNA, pomocí metody využívající počítání ložisek γ H2AX a studium mechanismu opravy DNA s využitím hodnocení buněčné transfekce a stanovení ložisek 53BP1.

Výsledky ukázaly přednostní poškození nádorových buněk ve srovnání s nenádorovými buňkami. Za podmínek PDT, cGQDs-PEG-curcumin indukuje významně vyšší úroveň poškození DNA v buněčné linii (HeLa) ve srovnání s nenádorovou linií (NIH 3T3), jak dokazuje počet ložisek γ H2AX. cGQDs-PEG-curcumin naznačuje zvýšenou cytotoxicitu vůči nádorovým buňkám ve srovnání se samotným kurkuminem. Byla ověřena biokompatibilita cGQD, kde foto-cytotoxický potenciál nebyl prokázán. Tato zjištění podtrhují potenciál GQDs-PEG-curcumin jako slibného nano-fotosensitizeru pro cílenou léčbu nádorů, překonávající účinnost konvenčních přípravků s kurkuminem v aplikacích PDT.

cGQDs-PEG-curcumin ukazuje vysoký potenciál pro fotodynamickou terapii (PDT), který vykazuje pozoruhodnou účinnost při indukci poškození DNA specificky v nádorových buňkách. Samotný kurkumin je rozpustný pouze v organických rozpouštědlech, a proto vazbou na tečky jsme vytvořili nano-fotosensitizer 3 generace, který překonává jak fyzikálně chemické, tak biologické bariery, nevykazuje cytotoxicitu bez indukce PDT, ale je vysoce efektivní po navození fotodynamického jevu.

Podpořeno Ministerstvem zdravotnictví ČR, grant č. NU21-09-00357, grant č. IGA_LF_2024_10.

ZKOUMÁNÍ KINETIKY DISOLUCE INTRAMUSKULÁRNĚ PODANÝCH TERMORESPONSIVNÍCH POLYMERŮ

Ondřej Groborz

Kristýna Kolouchová, Jan Pankrác, Peter Keša, Jan Kadlec, Tereza Krunclová, Aneta Pierzynová, Jaromír Šrámek, Mária Hovořáková, Linda Dalecká, Zuzana Pavlíková, Petr Matouš, Petr Páral, Lenka Loukotová, Pavel Švec, Hynek Beneš, Lubomír Štěpánek, David Dunlop, Carlos V. Melo, Luděk Šefc, Tomáš Slanina, Sandra Van Vlierberghe, Richard Hoogenboom, Martin Hrubý, Jiří Beneš

Ústav biofyziky a informatiky, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova

Vodné roztoky některých polymerů vykazují dolní kritickou rozpouštěcí teplotu (LCST – „lower critical solubility temperature“). To znamená, že při ohrátí těchto roztoků nad určitou kritickou teplotu (T_{CP} – „cloud point temperature“) se tyto roztoky fázově separují a vznikne nerozpustný gelovitý agregát. Polymery s T_{CP} pod teplotou lidského těla tedy lze rozpustit ve vodě a vpíchnout do těla, kde se rychle ohřejí nad své T_{CP} a vznikne tak gelovitý agregát. Tento gel může následně měnit vlastnosti tkání - může stimulovat či tlumit imunitu / růst buněk, může uvolňovat léčiva, hormony, nebo může například obsahovat radioizotop a terapeuticky ozařovat okolní tkáň. I přes tyto potenciálně užitečné vlastnosti termoresponsivních polymerů však existuje mnoho nezodpovězených otázek, což značně brání jejich využití v praxi. Kupříkladu nebylo známo, jak dlouho tyto materiály zůstávají na místě vpichu a jakým způsobem tento čas setrvání můžeme modulovat, což se ve studii snažíme objasnit.

V této studii jsme vyvinuli novou metodiku, která umožňuje dlouhodobé sledování disoluce materiálů *in vivo*. Připravili jsme 4 různé termoresponsivní polymery (poly[N-(2,2-difluoroethyl)acrylamid] (pDFEA), poly[N-(isopropyl)acrylamid] (pNIPAM), poly[N,N-(diethyl)acrylamid] (pDEA) and poly[(N-acryloyl)pyrrolidin] (pAP)), každý o 2 různých molekulárních hmotnostech. Polymery jsme kovalentně označili fluorescenční značkou Cy7, která má excitační i emisní vlnové délky v oblasti červené/infrachvěné části spektra. Tím tato značka umožňuje sledování disoluce materiálů s pomocí *in vivo* fluorescenčního zobrazování. Následně jsme polymery vpíchlí do stehenních svalů myši a sledovali jsme farmakokinetiku jejich rozpouštění. Výsledky jsme následně zpracovali fitováním distribučních modelů a statistickým vyhodnocením ve skupinách (weighted pooled variance).

Po vpíchnutí do tkáň polymerů procházejí dvěma fázemi disoluce - nejprve dochází k maturaci depa a poté k jeho pomalému vylučování. Každý polymer má svůj charakteristický biologický poločas (pDFEA okolo 150 dní, pNIPAM okolo 55 dní, pDEA a pAP okolo 17 dní), který se téměř nemění s molární hmotností. Termoresponsivní polymery (pDFEA, pNIPAM, pDEA) po vpíchnutí vytvářejí koncentrované polymerní depo, zatímco netermoresponsivní polymery (pAP) difundují a vytvářejí naředěné depo. Polymery dále lze detekovat i ve vzdálených orgánech těla, zejména játrech a ledvinách. Termoresponsivní polymery se však mimo místo vpichu vyskytovaly jen minimálně.

Ukázali jsme, že se polymery vylučují s kinetikou 1. řádu s poločasy od 2 týdnů do 5 měsíců. Tím jsme vytvořili paletu základních termoresponsivních polymerů s různými biologickými poločasy vhodné pro různé biologické aplikace. Také jsme ukázali, že termoresponsivní polymery vytvářejí densní depa, zatímco netermoresponsivní polymery vytvářejí značně zředěná depa v místě vpichu. Termoresponsivní polymery jsou tedy zvláště vhodné jako nosiče pro aplikace, kde požadujeme biologický účinek jen v oblasti vpichu. Navíc netermoresponsivní polymery (narozdíl od těch termoresponsivních) se hromadí ve vzdálených orgánech (zejm. játra a ledviny), což může způsobovat nežádoucí účinky v léčbě. Na základě našich poznatků bude možné navrhnout polymerní nosiče přesně pro potřeby dané biomedicínální aplikace.

Děkuji za podporu GAUK, projekt č. 199124

NEW WAYS TOWARD LIVER TISSUE ENGINEERING: HOW TO TURN A FALCON TUBE INTO A BIOREACTOR?

Maria Stefania Massaro (1,2)

Lukáš Bolek (2), Jiří Dejmek (2), Lenka Červenková (1, 3), Marek Brousil (1), Richard Pálek (1, 4), Jan Ševčík (1, 4), Sima Šarčević (1, 4), Ilya Matsviayonak (1), David Volák (1), Václav Liška (1, 4) and Vladimíra Moulisová (1)

(1) Biomedical Center, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic; (2) Department of Biophysics, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic; (3) Department of Pathology, 3rd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; (4) Department of Surgery, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic

Among the tissue engineering (TE) strategies for organ reconstruction, decellularization has emerged in the last two decades. Detergents, enzymes, physical methods, or a combination of them, are used to completely remove cells and DNA. This leads to the non-immunogenicity and the preservation of the native macro and microstructure. Since the scaffold loses its functionality, TE techniques are necessary to repopulate the matrix with the appropriate cells. After reaching a good decellularization of the entire porcine liver scaffold, our goal is now the functionalization with hepatocytes and endothelial cells.

The system is composed of a reservoir bottle for the media oxygenation and a distribution line to supply the nutrients in the bioreactor through a peristaltic pump. The chamber prototype was a polypropylene (PP) 50 ml Falcon tube tilted horizontally and drilled to create 4 inlets at the top and one outlet at the bottom. Luer threads inserted in the holes and sealed with rubber o-rings were used to connect the recirculating tubes. The scaffolds lie above a polymeric insert designed in Solidworks™ and 3D printed. It created 4 individual parts inside the chamber to hold 4 scaffolds independently. Our liver scaffolds were then repopulated with human cells (namely HepG2s and endothelial cells – ECs) and kept in the bioreactor for growing. Evaluation were carried out with Hematoxylin-Eosin staining (H&E) on fixed sample sections after 1, 3 and 7 days of incubation.

The bioreactor was able to sustain the media recirculation up to a week, with the potential to be stable for several more days. Although the peristaltic pump was placed outside the incubator, only a drop in the temperature of 1 degree Celsius was measured between the two extremities of the recirculation tubes. No damage resulted in the PP prototype after multiple cycles of sterilization with plasma. H&E revealed the presence of clusters of living cells, both HepG2s and ECs at all time points in the stained sample sections, thus demonstrating our ability to remove the detergents from the scaffolds after decellularization and at the same time the efficacy of the system to supply nutrients and oxygen.

The falcon tube chamber is an economic and simple prototype able to guarantee the microenvironment needed to support cell growth on our decellularized scaffold. It could potentially be applied to different decellularized organs or hydrogel structures. The importance to start the repopulation from small pieces lies in the easier reproducibility, but these results can be used for larger pieces and, in the future, the entire organ.

Authors acknowledge support from project “Surgical disciplines” (COOPERATIO-207043) of Charles University and project National Institute for Cancer Research – NICR (EXCELES, n. LX22NPO5102) - Funded by the European Union - Next Generation EU

CÍLENÁ IN VITRO LIPOZOMÁLNÍ PROTINÁDOROVÁ TERAPIE

Markéta Kolaříková

Barbora Hošíková, Hana Kolářová

Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

Fotodynamická terapie je alternativní léčbou nádorových, ale i nenádorových onemocnění. Tato léčba je založena na aplikaci fotodynamicky aktivní látky, její selektivní akumulaci v maligní tkáni a následném ozáření specifickou vlnovou délkou vedoucí k aktivaci této látky, která dále způsobí buněčnou smrt. Cílem této studie je zefektivnění léčby prostřednictvím lipozomálního dodání a zacílení léčiva pouze na maligní buňky. Jakožto biokompatibilní nanočástice se lipozomy sestávají z vnitřního vodného jádra, kde mohou být zachyceny hydrofilní molekuly, a lipidových dvojvrstev, kde se hromadí hydrofobní molekuly.

Lipozomy byly připraveny prostřednictvím extruzní metody s finální lipozomální velikostí 200 nm. Pro navození fotodynamické terapie byla do lipozomů enkapsulována látka porfyrinového charakteru (TMPyP) s absorpcí v modré oblasti viditelného spektra. Terapie byla indukována viditelným zářením 24 hodin po podání navázaného či volného léčiva k buňkám nádoru děložního hrdla (HeLa) a k buňkám myších fibroblastů (NIH3T3). Pro uvolnění léčiva z lipozomů byl využit vysokofrekvenční terapeutický ultrazvuk. K posouzení účinnosti léčby byly použity metody využívající fluorescenční mikroskopii, ale také spektrofotometrické a imunologické metody. Velikost lipozomů byla detekována pomocí měření DLS (Dynamic Light Scattering). Intracelulární lokalizace volné a navázané porfyrinové látky byla stanovena pomocí konfokální mikroskopie. Vliv terapie na úrovni poškození DNA, byly prokázány prostřednictvím imunologických metod.

Vizualizací a analýzou dvojíých zlomů bylo zjištěno, že enkapsulovaná látka stejně jako její volná forma způsobují poškození DNA u nádorových buněk po aplikaci fotodynamické terapie s danými parametry, ale na rozdíl od enkapsulované formy způsobuje volná látka poškození DNA i u nenádorových buněk. Na základě kolokalizační analýzy bylo zjištěno, že jak volná, tak i enkapsulovaná forma látky se lokalizuje v mitochondriích buněk 24 hodin po její aplikaci k nádorovým i nenádorovým buňkám. Tyto výsledky jsou také podpořeny analýzou narušení metabolismu buněk s následným uvolněním reaktivních forem kyslíku po aplikaci fotodynamické terapie jak s navázanou, tak i s volnou formou porfyrinové látky.

Prostřednictvím cílené lipozomální platformy s navázaným protinádorovým léčivem lze efektivně navodit buněčnou smrt u maligních buněk 24 hodin po aplikaci fotodynamické terapie. Účinná látka ve volné formě způsobuje větší narušení metabolismu nenádorových buněk v porovnání s lipozomální formou dané protinádorové látky. Samotná lipozomální nanoplatforma je netoxická v případě aplikace bez léčiva, a je proto vhodná pro další studie soustředící se na zefektivnění léčby a cílení léčiva v oblasti fotodynamické terapie.

Tato práce byla podpořena granty číslo NU21J-03-00062 a IGA_LF_2024_10.

STUDIUM MECHANISMU SYNERGICKÉHO ÚČINKU NANOČÁSTIC STŘÍBRA S VANKOMYCINEM NA BAKTERIÍCH RODU ENTEROCOCCUS

Lucie Válková (1), Lucie Hochvaldová (2), Renata Večeřová (3), Martin Mistrík (4), Markéta Kolaříková (1), Milan Kolář (3), Aleš Panáček (2), Hana Kolářová (1)

(1) Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

(2) Katedra fyzikální chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

(3) Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci,

(4) Ústav molekulární a translační medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého

Nanočástice stříbra (AgNPs) silně zvyšují antibakteriální aktivitu proti širokému spektru bakteriálních kmenů při kombinaci s antibiotiky. Mechanismus jejich synergického účinku není dosud plně objasněn a pro různé bakteriální kmeny a antibiotika se může lišit. Cílem této práce bylo popsat mechanismus kombinovaného antibakteriálního účinku AgNPs s vankomycinem vůči bakteriím rodu *Enterococcus*, konkrétně vůči vankomycin-senzitivnímu (*Enterococcus faecalis*) a vankomycin-rezistentnímu druhu (*Enterococcus faecium*).

Pro tyto účely byly AgNPs připravené modifikovanou Tollensovou metodou označeny fluorescenčním barvivem RBITC a byl použit komerční fluorescenční derivát Vankomycin-Bodipy. Nanočástice byly přečištěny pomocí dialýzy a charakterizovány pomocí UV-VIS absorpční spektroskopie, transmisní elektronové mikroskopie, fluorescenční spektroskopie a Ramanovy spektroskopie. Ke stanovení individuálního a společného účinku AgNPs a vankomycinu byla u bakterií druhu *E. faecalis* a *E. faecium* použita mikrodiluční šachovnicová analýza s použitím kationtově upraveného MH bujónu. Po inkubaci AgNPs a vankomycinu s bakteriemi byly bakterie naneseny na sklíčka, fixovány plamenem a pozorovány pomocí konfokální mikroskopie. Dále bylo u bakterií provedeno fluorimetrické stanovení reaktivních forem kyslíku pomocí sondy CM-H2DCFDA. Pro ověření biokompatibility AgNPs byl rovněž proveden test cytotoxicity (MTT assay) vůči lidským keratinocytům HaCaT.

Vůbec poprvé bylo možné vizualizovat a lokalizovat distribuci vankomycinu společně s AgNPs uvnitř bakteriální buňky pomocí fluorescenční mikroskopie a byl navržen mechanismus jejich společného účinku. Nanočástice stříbra se shodně u obou bakteriálních kmenů lokalizovaly uvnitř buňky, kde způsobily kondenzaci bakteriální DNA. Současně docházelo vlivem působení AgNPs k produkci reaktivních kyslíkových radikálů způsobujících oxidativní stres. Dle distribuce AgNPs a vankomycinu lze usuzovat, že jejich společný účinek spočívá především v narušení a rozpadu buněčné stěny doprovázený kondenzací bakteriální DNA, což významně přispívá k inhibici růstu bakterií. Bylo rovněž ověřeno, že použité koncentrace nanočástic stříbra jsou netoxické vůči buněčné linii lidských keratinocytů (HaCaT) a jeví se tedy jako vhodné a bezpečné pro potenciální aplikace *in vivo*.

Lze konstatovat, že synergické účinky AgNPs a antibiotika vankomycin spočívají především ve společném narušení permeability a pevnosti buněčné stěny, která se stává nestabilní a následně dochází k jejímu poškození. Tato práce může pomoci lépe porozumět mechanismu synergických účinků AgNPs s antibiotiky proti rezistentním bakteriím, což představuje důležitý poznatek pro potenciální přístup k efektivnímu boji proti nevyřešenému a zhoršujícímu se problému rezistence patogenních bakterií vůči tradičním antibiotikům.

Práce byla finančně podpořena grantem číslo IGA_LF_2024_10

OPTICKÉ A ELEKTRICKÉ BIONANOSENZORY PRO TELEMEDICINSKOU DETEKCI STANDARDNÍCH A NÍZKOKONCENTROVANÝCH DIAGNOSTICKÝCH BIOMARKERŮ ČASNÝCH STADIÍ ONEMOCNĚNÍ

Aleksei Paščenko (1, 2)

Kristian Prokupek (4, 3), Sara Martino (5), Leontýna Varvarovská (3), Sara Cruciani (2), Taťana Jarosíková (3), Margherita Maioli (2), Bruno Sopko (6), Evžen Amler (1, 4)

(1) Ústav biofyziky, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika.,

(2) Ústav biomedicínských věd, Univerzita v Sassari, Sassari, Itálie,

(3) Fakulta biomedicínského inženýrství v Praze, České vysoké učení technické v Praze, Kladno, Česká republika.,

(4) Univerzitní centrum energeticky efektivních budov, České vysoké učení technické v Praze, Buštěhrad, Česká republika.,

(5) Ústav přesné medicíny, University of Campania „Luigi Vanvitelli“, Neapol, Itálie., Neapol, Itálie.,

(6) Ústav lékařské chemie a klinické biochemie, Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta, Praha, Česká republika.

V dnešní době je identifikace a charakterizace biomarkerů pro diagnostiku onemocnění klíčovým úkolem v biomedicínském výzkumu. Tento abstrakt se zaměřuje na přínosy nových metod a technologií pro dosažení tohoto cíle. Naše práce se soustřeďuje na využití elektrochemické detekce a optických senzorů pro analýzu biomarkerů v biologických vzorcích.

Pro elektrochemickou detekci jsme využili Elektrochemickou impedanční spektroskopii (EIS) s horizontálním zařízením se dvěma elektrodami a vertikální komorou bez použití síly. Jako platforma pro optický nanosenzor jsme použili PAN-modifikovaná nanovlákná. Naše experimenty ukázaly, že FluoroMax Fluorospectrometer je schopen detekovat nízké koncentrace biomarkerů s vysokou citlivostí. Předběžné výsledky naznačují potenciál kombinace biomarkerů pro monitorování a charakterizaci onemocnění.

Naše experimenty prokázaly vysokou citlivost a schopnost detekce nízkých koncentrací biomarkerů pomocí obou metod. Elektrochemická detekce s EIS dosáhla citlivosti na úrovni pikomolárních koncentrací, zatímco optický senzor na bázi nanovláken dosáhl citlivosti až na úrovni femtomolárních koncentrací. Tyto výsledky poskytují pevný základ pro využití kombinace biomarkerů pro monitorování a charakterizaci onemocnění.

Na základě našich experimentů lze konstatovat, že oba směry: elektrochemické detekce a optických senzorů poskytuje silný nástroj pro identifikaci a charakterizaci biomarkerů v biologických vzorcích. Tyto výsledky ukazují potenciál pro využití těchto metod v klinické praxi pro diagnostiku a monitorování onemocnění. Další výzkum by měl směřovat k optimalizaci a implementaci těchto technologií pro širokou škálu diagnostických aplikací.

Hlavním směrem budoucího rozvoje v rámci diagnostických systémů náš tým se zaměřuje na telemedicinskou problematiku a zařazení získaných dat do distančního eZdravotnictví. Tato strategie umožní efektivní a přesné diagnostikování onemocnění pomocí moderních technologií a zároveň poskytne pacientům možnost sledovat své zdravotní stavu i z POC a domova.

Výzkum byl podpořen Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (projekt č. 312123).

NOVĚ V REGULACI ZDRAVOTNICKÝCH PROSTŘEDKŮ

J. Beneš

J Šuráň, H. Kolářová, L. Bolek

UBI a IV. interní klinika 1. LF UK, Český Metrologický Institut, UB LF Plzeň UK

Nařízení EK číslo 745/2017 podstatně mění pohled na schvalování zdravotnických prostředků (ZP). Přejít na regulaci MDR (Medical Device Regulation) bude mnohem komplikovanější než je zatím mezi zdravotníky v povědomí. Nařízení nejen více dozoruje proces výroby, ale následné zavedení do klinické praxe. Nejvýraznější změnou je klinická zkouška, která je podobná obdobným zkouškám ve farmakologii a sleduje průkaz efektu, jež výrobce uvádí, a dále možné vedlejší působení. Tato klinická zkouška pro lékaře a výrobce nekončí uvedením na trh, ale stále pokračuje povinným sledování efektu, bezpečnosti a možných komplikací.

I po uvedení výrobku je povinnost organizovat v klinické i ambulantní léčbě sledování výrobku. Pokračování se označuje jako Post-Market Clinical Follow-up (PMCF) kde se hodnotí trvání kvality, efektu, bezpečnosti či hlášení vedlejších účinků či reakcí. Toto logicky vede k nutnosti spolupráce výrobců a poskytovatelů zdravotní péče. Pro oblast gastroenterologie jde o širokou oblast asi 700 kódů, které zahrnují problematiku od stomických prostředků, drenáží, katetrů, i aktivních endoskopických akcesorií, dilatátorů, stentů, implantabilních prostředků až po brachyterapii.

Prokazování účinků v oblasti gastroenterologie snazší, než oborech řešících algické stavy. Jen za posledních 10 let se změnilo instrumentarium v endoskopii a toto jistě bude pokračovat. Změny povrchových vlastností stentů a dalších nástrojů až po preparáty omezující slizniční krvácení se budou měnit a vždy tato zlepšení budou předmětem nového zkoušení.

Mnoho ZP již notifikačním procesem prošlo i mimo CR a nyní lze v CR mohou výrobci notifikaci provádět na Českém metrologickém institutu, který je jedním ze dvou oznámených subjektů v CR. Je povinností v MDR, že vše má zajistit výrobce (provedení testů předklinických až po klinické zkoušky) i dokonce uvedené sledování. Je jasné, že bez nemocných a bez účasti zdravotníků nemůže výrobce této povinnosti dostát. Na straně druhé není zde zatím v povědomí u zdravotníků této nové vazby a spolupráci mezi poskytovateli zdravotnické péče a výrobcem ZP.

Literatura:

1. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) 2017/745 ze dne 5. dubna 2017 o zdravotnických prostředcích, změně směrnice 2001/83/ES, nařízení (ES) č. 178/2002 a nařízení (ES) č. 1223/2009 a o zrušení směrnic Rady 90/385/EHS a 93/42/EHS
2. Zákon č. 89/2021 Sb. Zákon o zdravotnických prostředcích a o změně zákona č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých

3D TISK V MEDICÍNĚ–KLINICKÉ APLIKACE, 15 LET ZKUŠENOSTÍ A VÝHLED DO BUDOUCNOSTI

Daniel Hrušák

Stomatologická klinika FN Plzeň

Prezentujeme výsledky našich zkušeností s využitím 3D technologií, 3D tisku a virtuální přípravy operačních výkonů v maxilofaciální chirurgii.

NOVÉ MOŽNOSTI SOUVISEJÍCÍ S PRAKTICKÝM UPLATNĚNÍM NORMY EN ISO 10993

Karel Volenec

ELLA-CS, s.r.o., Milady Horákové 504/45, 500 06 Hradec Králové

V současné době leží přede všemi evropskými výrobci zdravotnických prostředků, kteří je uvádějí na trh v podmínkách MDR 2017/745, zvláště u výrobků třídy IIb a III, povinnost splnění čím dál náročnějších požadavků na biokompatibilitu. Jedná se zvláště o nutnost splnění nároků vyplývajících z normy EN ISO 10993–17 a 10993–18.

Na úrovni buněčné a tkáňové bude nutné jednoznačně prokazovat neuvolňování reziduí, a to nejen krátkodobě, ale i z dlouhodobého hlediska. Navíc bude nutné nahradit některé v současnosti běžně používané polymery, např. polytetrafluorethylen (teflon) jinými – méně ekologicky zatěžujícími, což nutně znamená realizaci řady vysoce časově a finančně náročných testů. Zároveň bude nezbytné vyrovnat se s požadavky na materiály, které nahradí ty současně používané, které budou vyhodnoceny jako rizikové pro lidský organismus. Je vysoce pravděpodobné, že tím bude již na úrovni řízení návrhu a při výběru subdodavatelů možné mnohem lépe definovat požadavky na materiály, které jsou potenciálně v dlouhodobém kontaktu s lidským tělem.

Přednáška si klade za cíl upozornit na v současnosti a v blízké budoucnosti platné normativní požadavky, bez jejichž splnění bude velmi obtížné uvést nové zdravotnické prostředky na trh, třebaže budou splňovat požadavky na účinnost. V souvislosti s celým procesem registrace zdravotnického prostředku se stává velmi aktuální otázka, zda by deklarovaný požadavek na bezpečnost a účinnost zdravotnického prostředku měl být doplněn o jednoznačný požadavek budoucí dostupnosti, neboť v opačném případě zmiňované první dva body MDR 2017/745 ztrácejí částečně nebo zcela na významu. Zdravotnický prostředek, který nebude dostupný pro vyšší procento pacientů s odpovídající indikací, nebude mít smysl vyrábět nebo uvádět na trh.

Biofyzikální prvky analýz lze podrobněji doplnit o specificky biologické přístupy a tím nabídnout komplexnější řešení vybraných projektů s cílem urychlení následného registračního procesu, který se stává časově a finančně více náročným než vlastní předchozí etapy výzkumu a vývoje. Již od počátku celého procesu výzkumu a vývoje je nutné mít na paměti časové a finanční aspekty registrace zdravotnického prostředku.

ÚVAHY BIOFYZIKÁLNÍ ČÁST 1, VÝUKA FYZIKY, LÉKAŘSKÉ FYZIKY, BIOFYZIKY A PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY NA LF A OTÁZKY S TÍM SOUVISEJÍCÍ

Daniel Vlk

Vojtěch Mornstein, Vladan Bernard

Biofyzikální ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Jak už název naznačuje, chceme v našich příspěvcích poukázat na problémy, se kterými se v současné době potýkáme. Rozdílné názvy předmětů pro různé obory patří k těm marginálnějším záležitostem. Přesto tyto termíny nepředstavují jen pouhé názvy předmětů, ale ukazují zároveň i na velmi široký obsah naší výuky.

V první části příspěvku se věnujeme obecnější problematice, kterou můžeme rozdělit na vědeckou, personální, finanční a výukovou. Narůstají nároky na publikační činnost: „jen první dva kvartily“! Zvyšuje se průměrný věk zaměstnanců ústavu, roste obtížnost získávání nových, zejména vzhledem ke stále se rozevírajícím nůžkám v platech klinických i praktických lékařů a vyučujících teoretických oborů, nemluvě o platech ve firmách, což se týká nelékařů. Věci nepomáhá ani stále se zvyšující počet studentů a obrovské zatížení výukou a zkoušením.

V současné době se množí nejrůznější školení pro zlepšení pedagogických schopností akademických pracovníků, proto druhá část příspěvku pojednává i o tom „jak učíme“. Chceme akcentovat především „koho“, „kolik“, „jak“ a „v jaké době“ učíme. Chceme opravdu učit kvalitně? Co vlastně znamená kvalitní výuka (v univerzitním prostředí)? Které postupy výuky jsou nejefektivnější, i vzhledem k tlaku na vyšší úspěšnost studentů ve studiu? Co upřednostnit při skladbě výuky – širší záběr vědomostí, byť ne v detailech, anebo naopak méně obecných věcí ale k některým problémům přistupovat detailněji? Samostudium? Studenti se čím dál častěji ptají „jak se máme učit“, tedy nejen „co přesně se musíme naučit“! Rádi bychom i o těchto oblastech naší práce vyvolali diskusi.

Obsahové části výuky, tedy tomu „co“ učit věnujeme samostatný příspěvek.

ÚVAHY BIOFYZIKÁLNÍ ČÁST 2, OBSAH VÝUKY FYZIKY, LÉKAŘSKÉ FYZIKY, BIOFYZIKY A PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY NA LF DNES A ZÍTRA ANEB „CO“ UČIT

Vojtěch Mornstein

Vladan Bernard, Daniel Vlk

Biofyzikální ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Příspěvek volně navazuje na loňské vystoupení ve Starej Lesnej, kde jsme se pokusili přispět k úvahám o názvu a definici našeho oboru. Nyní se zaměřujeme na problémy či spíše jejich příklady, které představují kritická místa, kde narážíme na různé mantinely.

(1) Jaká je potřebná hloubka výkladu struktury hmoty - můžeme po studentech medicíny něco takového chtít? Mezi lékařem a například opravářem elektroniky by měl být určitý rozdíl v míře pochopení předmětu jejich zájmu. Bez pochopení zákonitostí mikrosvěta nelze pochopit ani nástup nanotechnologií, které ještě budou zmíněny. (2) Kde je nastavena hranice mezi biochemií, biologií a biofyzikou? Kdo poučí studenty o molekulárních vědách. Jak pochopit utváření a interakce makromolekulárních struktur, od kterých se odvíjí tzv. molekulární medicína i již zmiňované nanotechnologie? Nejspíš to zůstane na nás. (3) Jak si vlastně představují naši studenti procesy na úrovni mikrosvěta? Elektrony jsou pravděpodobnostně rozprostraněny nebo to jsou stále kuličky obíhající kolem jádra atomu. A jsme schopni vnímat interakce mezi částicemi, které se srážejí rychlostí byť jen stovek metrů za sekundu?

(4) Entropie – proč o ní hovořit? Stačí napsat, že výraz Q/T je mírou neuspořádanosti systému? Uvědomují si naši studenti to, že hlavním důvodem naší potřeby energie je snaha udržet nízkou hladinu entropie, tedy uspořádanost. Toto je dalekosáhlý poznatek pro veškeré vědy nejen o živém světě. (5) Detailům rozumíme? Rozumíme například recepci zvuku ve všech detailech a také tomu, jak vnímáme obraz vnějšího světa? (6) Rychlý progres přístrojových metod nelze stíhat v papírových učebnicích. Co s tím provedeme? Nikoliv bezdůvodně u nás mají studenti v seminárním cvičení referáty o novinkách mj. v oblasti lékařské techniky. Zkusme se podívat do moderně vybavené oční kliniky nebo na stomatologii – kdo z nás pořádně ví, jak funguje OCT nebo 3D zobrazování ve stomatologii? – a to nejsou ty poslední novinky.

(7) Něco ještě konkrétnějšího? Fyzikální terapeutické metody ve fyzioterapii – co je a není placebo? A jak se stavět k pochybným, byť neškodným přístrojům – tolerovat je či bojovat proti nim? (8) Digitalizovaný obraz a jeho analýza – proč se tím zabývat. Rozumí mladá generace VT nebo umí jen sjíždět sociální sítě a podcasty... (9) AI, přesněji to, co je jako AI označováno, už vedlo na některých fakultách k likvidaci bakalářských prací, brzy to to tak dopadne i s některými diplomkami, pokud se nebude důsledně trvat na originalitě a přínosnosti těchto prací. Generální problém!

POST-MARKET SURVEILLANCE: ZÁTĚŽ NEBO PŘÍNOS?

Jan Kavalírek

Karel Hána, Jitka Hanusová, Helena Kolářová,

Český metrologický institut, Centrum pro certifikaci zdravotnických prostředků (vedoucí oddělení zakázek),
FBMI ČVUT (doktorand)

Co to je Post-market surveillance (PMS)? Proč je PMS důležitý nejen pro výrobce zdravotnických prostředků (ZP), ale i pro zdravotnická zařízení a další zapojené subjekty? Jaké jsou cíle PMS v kontextu bezpečnosti a účinnosti ZP?

K analýze správné tvorby PMS jsou využity následující regulatorní předpisy a guidelines: Regulation (EU) 2017/745: MDR; ISO 13485: Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes; ISO/TR 20416:2020 Medical devices — Post-market surveillance for manufacturers; MDCG 2020-7: Guidance on PMCF plan template; MDCG 2020-8: Guidance on PMCF evaluation report template; MDCG 2022-21: Guidance on Periodic Safety Update Report (PSUR) according to Regulation (EU) 2017/745; MDCG 2023-3: Questions and Answers on vigilance terms and concepts as outlined in the Regulation (EU) 2017/745 on medical device; MEDDEV 2.12-1: Guidelines on a medical devices vigilance system

Konkrétní metody a zdroje pro sběr dat v PMS:

- Zpětná vazba a stížnosti
- Reklamace
- Závažné nežádoucí příhody a nežádoucí příhody
- Ohlašování trendu
- PMCF studie
- Dotazníková šetření
- Konference
- Literární rešerše
- Informace o podobných zdravotnických prostředcích

Správné plánování a realizace PMS

- Plán sledování po uvedení na trh (Post-market surveillance plan)
- Zpráva o sledování po uvedení na trh (Post-market surveillance report)
- PSUR / PMSR
- Plán PMCF
- Vigilance

Analýza sesbíraných dat

- proaktivní a systematický proces
- metody
- prahové hodnoty

Návaznost PMS na aktualizaci informací o ZP

- aktualizace poměru přínosů a rizik
- aktualizace informací o návrhu a výrobě
- aktualizace klinického hodnocení
- stanovení nutnosti preventivních a nápravných opatření

Nejčastější chyby v PMS. Nejnovější dobrá praxe při PMS a konkrétní příklady. Trendy v PMS, využití AI pro usnadnění PMS. Potřeba aktivního zapojení zdravotnických zařízení do PMS ve spolupráci s výrobcí a distributory ZP. Proaktivní vs. reaktivní přístup k PMS

PMS jako příležitost pro zlepšení zdravotnických prostředků na trhu

- etický přístup k sesbíraným údajům
- identifikace nových vedlejších účinků a kontraindikací
- zlepšení bezpečnosti a účinnosti ZP
- inovace ZP

REGULÁCIA RHO GTPÁZ V METASTÁZOVANÍ BUNKOVEJ LÍNIE KARCINÓMU PRSNÍKA MCF-7 PO TERAPII DOXORUBICÍNOM

Imrich Géci (1)

Peter Bober (1), Eva Filová (2), Evžen Amler (3), Ján Sabo (1)

(1) Ústav lekárskej a klinickej biofyziky, Lekárska fakulta, UPJŠ, Košice, SR, (2) Oddelenie tkanivového inžinierstva, Ústav experimentálnej medicíny, Akadémia vied ČR, (3) Ústav biofyziky, 2. Lekárska fakulta, Karlova Univerzita, ČR

Karcinóm prsníka je jedným z najrozšírenejších nádorových ochorení u žien, ktorý sa vyznačuje vysokou lokálnou invazívnosťou a metastázovaním do vzdialených tkanív a orgánov [1]. Tvorba metastáz je výsledkom epitelovo-mezenchymálnych zmien nádorových buniek, v ktorých významnú úlohu zohrávajú proteínové regulátory označované ako Rho GTPázy a prepínaním medzi GTP-aktívnou a hydrolizovanou GDP-neaktívnou formou ovplyvňujú bunkovú adhéziu a pohyblivosť [2,3].

Z bunkovej línie MCF-7 adenokarcinómu prsníka kultivovanej v Dulbeccovom kultivačnom médiu boli izolované proteíny technológiou multidimenzionálnej separácie a identifikácie. V prvom kroku sa proteíny odseparovali pomocou off-gel frakcionácie a následne sa uskutočnila ich digestia trypsínom. Získané peptidy sa v ďalšom kroku odseparovali nanoHPLC kvapalinovým chromatografom na reverznej fáze s využitím C18 záchytnej kolóny v kombinácii s C18 analytickou kolónou a ich analýza a identifikácia sa uskutočnila hmotnostným spektrometrom typu iónová pasca.

Kvantitatívnou proteomickou analýzou bez značenia proteómu izolovaného z buniek MCF-7 pred a po podaní 1 mM doxorubicínu bolo v MCF-7/DOX-1 identifikovaných celkovo 1803 unikátnych proteínov. Analýza obohatenia génovej sady (GSEA) odhalila 70 proteínov, ktoré boli začlenené v procesoch bunkovej mobility a 53 proteínov, ktoré boli zapojené do epitelovo-mezenchymálnej transformácie. Softvérovým nástrojom Scaffold 4.4.7 boli identifikované GTPázy RAC1, RHOA a CDC42, ktoré figurujú v signálnej dráhe transformačného rastového faktoru- α (TGF- α), a ktoré boli deaktivované prostredníctvom proteínu ARHGAP1. Na základe signifikantných proteomických zmien bolo zistené, že tieto GTPázy boli zároveň začlenené v signálnej dráhe adhezívnych spojení. V bunkovej línii MCF-7/DOX-1 po podaní vysokej dávky chemoterapeutika DOX boli už po 48 h mikroskopicky zistené abnormálne morfológické zmeny, ktoré vykazovali fenotyp tzv. ostnatých buniek. Imunoistochemické značenie buniek pomocou antiCD44-R-PE pred a po podaní vysokej dávky DOX ukázalo intenzívnejšie a diskretnejšie sfarbenie línie MCF-7/DOX-1.

Up-regulácia GTPáz RAC1, CDC42 a RHOA po podaní vysokej dávky doxorubicínu vyústila do epitelovo-mezenchymálnych zmien, výsledkom ktorých bola znížená bunková adhézia. Tieto výsledky poukazujú na kľúčovú úlohu proteínu ARHGAP1 pri narušení bunkovej adhézie s následným metastázovaním prostredníctvom inaktivácie malých GTPáz. Závěry tejto štúdie podporujú predpoklady, že chemoterapia doxorubicínom môže zvýšiť riziko metastáz v bunkách karcinómu prsníka rezistentných voči podanému liečivu.

Literatúra

1. Siegel, R. L.; Miller, K. D.; Wagle, N. S.; Jemal, A. Cancer statistics 2023. *CA Cancer J. Clin.* 2023, 73, 17 – 48. DOI: 10.3322/caac.21763.
2. Buyuk, B.; Jin, S.; Ye, K. Epithelial-to-Mesenchymal Transition Signalling Pathways Responsible for Breast Cancer Metastasis. *Cel. Mol. Bioeng.* 2022, 15, 1–13. DOI: 10.1007/s12195-021-00694-9.
3. Crosas-Molist, E.; Samain, R.; Kohlhammer, L.; Orgaz, J. L.; George, S. L.; Maiques, O.; Barcelo, J.; Sanz-Moreno, V. Rho GTPase Signaling in Cancer Preogression and Dissemination. *Physiol Rev.* 2022, 102, 455–510. DOI: 10.1152/physrev.00045.2020.

Analýza kardiovaskulárnej a imunologickej odpovede pacientov po prekonaní COVID-19 so zameraním na výskum nových diagnostických markerov a terapeutických prostriedkov AKARDIO COVID-19, Kód projektu: 313011AUB1, Kód výzvy: OPII-VA/DP/2020/9.4-01.

EFEKTIVNÍ VÝUKA BIOFYZIKY NA LÉKAŘSKÝCH FAKULTÁCH: STRATEGIE KE SNÍŽENÍ STUDIJNÍ NEÚSPĚŠNOSTI

Hana Sochorová

Lékařská fakulta, Ostravská univerzita

Lékařská biofyzika tvoří součást teoretického základu studia medicíny, protože porozumění principům je zásadní pro pochopení navazujících disciplín v dalším studiu. V posledních třech letech bohužel pozorujeme stoupající trend neúspěšnosti u zkoušek. Zdá se, že tento trend se objevuje obecně a v souvislosti s aktuálně nastupující generací studentů a fenoménem tzv. vynořující se dospělosti se na vysoké školy přenáší prvky, které jsou typické spíše pro školy střední. [1] Chceme tedy hledat efektivní strategie ke snížení neúspěšnosti při splnění nastavené a nepodkročitelné úrovni výstupů z učení.

Byl proveden sběr a analýza dat z posledních tří let zkouškových období, identifikace hlavních témat biofyziky, které studenti zvládají obtížněji, a byl zhodnocen způsob, jakým jsou tato témata prezentována ve výuce. Zkouška z biofyziky je kombinovaná, studenti píšou elektronický test v LMS Moodle, a po jeho úspěšném absolvování na hranici 70 % postupují k ústní zkoušce. Byla provedena analýza výsledků testů s pomocí nástrojů, které Moodle nabízí, a studenti vyšších ročníků byli požádáni o spolupráci při hledání způsobů a možností podpory ke snížení propadovosti. Výuka je podpořena e-learningovým kurzem, který byl výrazně inovován již v akademickém roce 2019/2020, kdy byl doplněn o průběžné sebehodnotící testy – i z jejich výsledků byly výstupy analýzy zpracovány.

V této části budou prezentovány hlavní výsledky analýzy jak zkouškových, tak sebehodnotících testů v e-learningovém kurzu. Z výsledků bylo vytipováno, která témata jsou pro studenty nejobtížnější, a to v kontextu jejich relevance pro lékařskou praxi. V analýze praktických úloh byla revidována zejména návaznost v dalším studiu, a to jak z pohledu studentů, tak zejména kolegů z Ústavu fyziologie a patofyziologie, jejichž témata biofyzikální základy rozvíjejí.

Efektivní výuka biofyziky vyžaduje nejenom správný výběr témat, ale také jejich vhodné prezentování a zapojení studentů do praktických úloh, které mají reálný význam pro jejich budoucí profesi. Na základě právě analýzy následně „užitečností“ jednotlivých témat i z pohledu studentů připravujeme pro příští rok k revizi témat jednotlivých úloh a další modifikaci e-learningového kurzu, který bude více orientován na rozšíření nabídky průběžného sebehodnocení cíleně v tématech, která se u zkoušky ukázala jako problematická. Nově také bude nastavena přímá prostupnost kurzu v závislosti na výstupech individuálních aktivit.

Zdroje:

[1] KOCUROVÁ, Lucie. Vyhazovat studenty se nám nevyplácí, říká prorektor Masarykovy univerzity. online. EDUzín - magazín o všem podstatném ve vzdělávání. 24.3.2024. Dostupné z: <https://edu-zin.cz/wp/2024/03/25/vyhazovat-studenty-se-nam-nevyplaci-rika-prorektor-masarykovy-univerzity/> [cit. 2024-04-11].

VYUŽITÍ KURKUMINU VÁZANÉHO NA KVANTOVÉ TEČKY V ANTIMIKROBIÁLNÍ FOTODYNAMICKÉ TERAPII

Kateřina Bartoň Tománková

Hanna Dilenko, Adéla Hanáková, Renata Večeřová (2), Lucie Válková, Markéta Kolaříková, Lukáš Malina, Barbora Hošíková, Hana Kolářová

Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Hněvotínská 3, Olomouc 775 00, Česká republika, (2) Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Hněvotínská 3, Olomouc 775 00, Česká republika

Kurkumin, přírodní polyfenolické barvivo získané z rostliny *Curcuma longa*, si získal významnou pozornost pro své výrazné antimikrobiální účinky. Biologickým a klinickým aplikacím kurkuminu však brání jeho špatná rozpustnost a tím i biologická distribuce. Vazbou na vhodný nanotechnologický nosič je možné tyto bariéry překonat a rozšířit jeho terapeutickou účinnost. Jako nosič této fotodynamicky aktivní látky byly zvoleny karboxylované grafenové kvantové tečky (cGQDs). cGQDs jsou malé fragmenty grafenu, funkčně upravené s karboxylovými skupinami, což zvyšuje jejich rozpustnost v polárních rozpouštědlech a biokompatibilitu.

cGQDs byly funkcionalizovány polyethylenglykolem (PEG) a kurkuminem (cGQDs-PEG-curc) za vzniku fotosensitizeru III. generace. Byly ověřovány antimikrobiální účinky takto syntetizovaného kompozitu na gram-pozitivních a gram-negativních bakteriálních kmenech, byla stanovena hodnota minimální inhibiční koncentrace (MIC), minimální baktericidní koncentrace (MBC), vyhodnocení baktericidního efektu v čase (Time-kill assay) a studováno morfologické poškození bakteriálních kmenů pomocí konfokální a elektronové mikroskopie.

cGQDs-PEG-curc vykazuje významný antibakteriální fotodynamický efekt na gram-pozitivních bakteriálních kmenech (*Enterococcus faecalis* MIC 1,5 μM , MBC 7 μM , *Staphylococcus aureus* MIC 7 μM , MBC 15 μM) i efekt na gram-negativních bakteriálních kmenech (*Escherichia coli* MIC 30 μM , MBC -) a *Pseudomonas aeruginosa* (MIC a MBC 30 μM) při ozáření 5 J/cm². Vyhodnocení baktericidního efektu v čase ukázalo čas 0 min od ozáření.

Vazbou kurkuminu na grafenové kvantové tečky došlo k překonání biologické bariery pro vodu nerozpustný kurkumin. Syntetizovaný kompozit se koncentroval v jádře bakteriální buňky a navozením fotodynamického jevu došlo ke smrti bakteriálních buněk ihned po ozáření. cGQDs-PEG-curc jako fotosensitizer III. generace, má tedy významný potenciál v aPDT.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU21-09-00357.

OVĚŘENÍ BEZPEČNOSTI ANTIMIKROBIÁLNÍ FOTODYNAMICKÉ TERAPIE V MODELOVÉM SYSTÉMU REKONSTRUOVANÉ LIDSKÉ KŮŽE

Hana Kolářová

Lada Svobodová, Lucie Válková, Markéta Kolaříková, Robert Bajgar, Dagmar Jírová, Kristýna Kejlová, Renata Večeřová, Milan Kolář, Lukáš Malina, Kateřina Bartoň Tománková

Ústav lékařské biofyziky, Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého Olomouc, Státní zdravotní ústav, Praha

Rezistence na antibiotika a biocidy je narůstající hrozbou pro léčbu a prevenci infekčních onemocnění kůže. Fotodynamická terapie (PDT) nabízí alternativní postupy v léčbě lokálních mikrobiálních infekcí na principu fotodynamického jevu. Předmětem výzkumu je vývoj a aplikace nových terapeutických strategií s využitím fotodynamické terapie s cílem omezit nezbytné používání ATB a dezinfekčních přípravků. Bezpečnost a účinnost kombinovaného použití sensitizérů různé generace a viditelného záření odpovídající vlnové délky na vybrané mikrobiální kmeny byla sledována metodami biofyziky, mikrobiologie a metodami in vitro v modelových systémech simulujících lidské tkáň.

V rámci ověření bezpečnosti a účinnosti PDT byl použitý in vitro modelový systém rekonstruované lidské kůže. Jedná se o metodu in vitro využívající rekonstruované modely lidské epidermis, která byla optimalizována a adaptována na základě validované metody fototoxicity in vitro pro chemické látky (OECD TG 498) a slouží k identifikaci fototoxického potenciálu zkoušených látek, který je vyvolán chemickými látkami po expozici světlem. Tato metoda byla rovněž využita pro stanovení fototoxicity ověřovaných sensitizérů v závislosti na jejich koncentraci a ozařovacích parametrech. S využitím 3D modelů byla provedena také zkouška kožní dráždivosti (OECD TG 439).

Pro studium antibakteriálního účinku fotodynamické terapie in vitro byl použit bakteriální kmen *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Pro zobrazení bakterií byl použitý mikroskop atomárních sil.

Z výsledků ověření bezpečnosti PDT na in vitro modelovém systému rekonstruované lidské kůže vyplývá, že u vybraných sensitizérů při zvolených koncentracích v kombinaci se zářením o vlnových délkách odpovídajících absorpčnímu maximu sensitizéru ve viditelné oblasti elektromagnetického spektra při plošné hustotě energie $2 \times 50 \text{ J/cm}^2$, nedošlo ke snížení životnosti pod 90 %.

V rámci ověřování bezpečnosti fotodynamické terapie při zvolených ozařovacích parametrech v kombinaci s vybranými sensitizéry, kdy byl na bakteriálních kmenech již prokázán antibakteriální účinek, nebyla prokázána kožní dráždivost ani fototoxicita. Na základě těchto výsledků lze všechny působící faktory považovat jako bezpečné.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU21-09-00357.

EFEKT IN VITRO PROTINÁDOROVÉ TERAPIE NA ZÁKLADNÍ BUNĚČNÉ PROCESY HELA BUNĚK

Barbora Hošíková

Markéta Kolaříková, Lukáš Malina, Martin Sněhota, Hana Kolářová

Ústav Lékařské biofyziky, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

Fotodynamická terapie (PDT) je jednou z metod léčby nádorového onemocnění. Jedná se o jednoduchou neinvazivní metodu, jež je založena na fotochemické reakci, která je iniciována světelnou aktivací fotosenzitivní látky. Tato látka následně produkuje vysoce reaktivní formy kyslíku, což vede k destrukci okolních buněk. Sonodynamická terapie (SDT) je obdobou terapie fotodynamické, avšak pro aktivaci senzitivizéru není využito světlo, ale mechanická energie ultrazvuku. Kombinace těchto dvou terapií s lipozomy může zvýšit efektivitu terapie, například snížením životnosti nádorových buněk, omezením reakcí léčiva s jinými molekulami v krevním řečišti, či možností ještě většího zacílení terapie s cílem minimalizovat poškození okolní zdravé tkáně.

Tato studie je zaměřena na in vitro analýzu účinku nově syntetizovaného zinečnatého derivátu ftalocyaninu (ZnPc) na nádorovou buněčnou linii HeLa (buňky karcinomu děložního čípku). Pro vyvolání fotodynamické reakce byl použit LED světelný zdroj s výslednou hustotou světelné energie 5 Jcm⁻². Proteinová analýza byla provedena kapilární chromatografií a tandemovou hmotnostní spektrometrií s ESI ionizací (LC-ESI-Q-TOF-MSMS). ZnPc byl následně inkorporován do lipozomálních nosičů. Ty obsahovaly další ultrazvukově senzitivní látky (např. Perfluorokarbon) pro zvýšení účinnosti narušení lipozomální membrány a vypuštění senzitivizéru. Pro uvolnění ZnPc z lipozomů byl využit běžně dostupný terapeutický ultrazvuk BTL4000.

Byla sledována změna membránového potenciálu pomocí JC 1 fluorescenční sondy. 4 hodiny po terapii u buněk ovlivněných 5 Jcm⁻² ZnPc PDT došlo ke změně membránového potenciálu v porovnání s neovlivněnými buňkami o přibližně 60 %. Hladiny napětově řízeného kanálového proteinu byly bezprostředně po terapii v porovnání s kontrolními buňkami zvýšené, avšak pravděpodobně vlivem poškození mitochondriální membrány došlo k prudkému poklesu jeho hladiny ve vzorcích. V případě dynaminu příbuzného proteinu byl bezprostředně po terapii detekován mírný pokles (přibližně 20 %) hladiny ve vzorku, přičemž v dalších časových odstupech po terapii další pokles detekován nebyl. Z výsledků AFM analýzy vyplývá, že dochází k signifikantním změnám výšky HeLa buněk po terapii. V případě proteinů aktin beta, aktin gama 1 a F aktin nedošlo v různých časových odstupech od terapie k výraznějším změnám v jejich hladinách. V případě aktin homologního proteinu došlo k prudkému poklesu hladiny tohoto proteinu ve vzorku a po 24 hodinách po terapii došlo v porovnání se vzorkem buněk sesbíraných bezprostředně po terapii ke snížení jeho hladiny o 56 %. ZnPc byl inkorporován do liposomů s přídavkem perfluorokarbonu, pro zajištění jejich citlivosti k ultrazvuku. Viabilita nádorových buněk byla po terapii o přibližně 50 % nižší než u buněk nenádorových.

Protinádorová terapie s využitím zinečnatého derivátu ftalocyaninu představuje dle in vitro výsledků potenciálně velmi perspektivní léčbu pro karcinom děložního čípku. Díky inkorporaci do lipozomů a kombinaci s ultrazvukem, lze léčbu do budoucna možné ještě více terapii zacílit a snížit riziko zasažení okolní nenádorové tkáně.

Tato práce byla podpořena grantovým projektem Ministerstva zdravotnictví České republiky, grant nr.NU21J-03-00062. Všechna práva vyhrazena

AUTOMATICKÁ SEGMENTACE UZLŮ VE ŠTÍTNÉ ŽLÁZE V ULTRAZVUKOVÝCH OBRAZECH: SROVNÁNÍ SOUČASNÝCH METOD HLUBOKÉHO UČENÍ

Antonín Procházka

Jan Zeman

Ústav biofyziky a informatiky 1. LF UK

Ultrazvukové zobrazování hraje důležitou roli v hodnocení uzlů ve štítné žláze, pomáhá odhadnout riziko malignity, sledovat změny velikosti uzlu a je také nepostradatelné při biopsiích. Systémy počítačově podporované diagnostiky (CAD) z ultrazvukových snímků slouží k tomu, aby pomohly diagnostikovat riziko uzlů z ultrazvukového obrazu štítné žlázy, snížily počet zbytečných biopsií a přispěly k celkovému zlepšení diagnostické přesnosti. Segmentační proces hraje v CAD systémech zásadní roli, protože výběr přesné oblasti zájmu zpřesňuje výslednou diagnostiku systému a posouvá CAD systémy blíže k praktickému použití.

Před nástupem hlubokého učení se automatická segmentace uzlů štítné žlázy spoléhala převážně na tradiční techniky zpracování obrazu. Ačkoliv tyto techniky ukázaly, že segmentace je možná, přesnost byla omezená. Až přístupy založené na hlubokém učení způsobily revoluci v segmentaci obrazu. Architektury neuronových sítí, které se v současné době k segmentaci používají jsou převážně typu encoder-decoder, například UNet a různé jeho varianty. Problém zůstává v tom, že většina data setů je privátních a přímé porovnání segmentačních postupů mezi sebou je obtížné. Proto jsme se rozhodli otestovat různé segmentační architektury na všech veřejně dostupných sadách dat. V současné době existují tři veřejně dostupné sady dat. Databáze TDID je tradiční, ale má svá omezení kvůli nejednoznačnostem v datech. Sada dat TN3K a sada Thyroid Ultrasound Cine-clip dataset (TUCC) jsou nové, robustnější alternativy.

Nejprve jsme trénovali různé architektury na TN3K tréninkové sadě a hodnotili na TN3K testovací sadě. Nejlépe nám vycházela architektura UNet s ResNet encoderem, kde průměrné Dice skóre bylo 83,77 %, průměrné IoU 75,09 % a průměrná přesnost 97,18%. Tuto architekturu jsme dále trénovali na sadě TDID a hodnotili s použitím pětinasobné křížové validace, kde jsme dosáhli IoU 72,81 % a Dice skóre 83,29 %. Po separátních testech na sadách TN3K a TDID jsme model dále trénovali na všech datech ze všech tří data setů, včetně TUCC, s cílem vyhodnotit výkon modelu na všech dostupných veřejných datech a porovnat ho s dříve publikovanými výsledky. Výsledky pro UNet s ResNet encoderem a byly následující: Dice skóre 84,24 %, IoU skóre 75,48 % a přesnost 97,24 %.

Z námi zkoumaných architektur vychází nejlépe UNet s ResNet encoderem, i když rozdíl mezi architekturami není tak výrazný, jak jsme předpokládali, a výrazně lepších výsledků může být dosaženo předzpracováním (především augmentací) dat či použitím souborové (ensemble) predikce.

VYUŽITÍ NANOMEBRÁN JAKO NÁHRADY UŠNÍHO BUBÍNKU

Svatopluk Binder

Kryštof Vitoul, R. Salzman, J. Hložková, P. Scheer

Pracoviště lékařské biofyziky a lékařské informatiky, Ústav laboratorní medicíny, Lékařská fakulta Ostravské univerzity v Ostravě; Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci; Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku FN Olomouc

Nanomembrána je samostatná struktura, která má podstatně větší horizontální než vertikální rozměry a velikost 1–100 nm. Výzkum této skupiny struktur je důležitý kvůli speciálním vlastnostem nanomembrán. Zajímavé vlastnosti nanovláknenných membrán, které mají širokou škálu použití, zahrnují vysoký poměr plochy povrchu k objemu, vynikající mechanické vlastnosti a obrovský povrch. Vytváření nanovláknenných membrán, které jsou snadno recyklovatelné, vykazují stabilní hierarchické nanostruktury, mají velkou fotokatalytickou aktivitu a mají vysoký specifický povrch je hlavním úkolem jejich producentů. Naším cílem bylo ověřit možnost využití nanomateriálů u myringoplastik na zvířecím modelu, konkrétně králícih.

Hydrofilní PUR nanomebrána byla vybrána jako ideální kandidát pro následnou kultivaci fibroblastických buněk NIH/3T3. Buňky byly kultivovány na nanomembránách uchycených ve speciálně vyrobených insertech umožňujících uchycení buněk na nanomembráně. Následně byly provedeny testy (kalibrace) umožňující stanovení počtu buněk na uchycených na nanomembráně MTT testem životnosti pomocí spektrometrického měření. Po zjištění faktu, že dochází k úspěšné proliferaci buněk na nanomembráně, byly provedeny experimenty s kyselinou hyaluronovou a biolamininem pro zlepšení buněčné adherence a proliferace. Následně byly nanomembrány použity pro myringoplastiku u králíků. Byly použity dva typy membrán, jedna potažená biolamininem a druhá čistá PUR nanomembrána. Celkem bylo provedeno 21 myringoplastik u 12 králíků. Po 3 týdnech hojení byla ověřena úspěšnost inkorporace nanomembrány.

PUR nanomebrána byla pro účely myringoplastiky potažena biolamininem, který vykazoval nejlepší výsledky z hlediska proliferace buněk na nanomembráně. Pro samotnou myringoplastiku byly použity dva typy nanomembrán („čistá“ a potažená proliferantem biolamininem). Provedeno bylo celkem 21 myringoplastik u 12 králíků. Po provedení iatrogení perforace následovala underlay myringoplastika s využitím nanomembrány. Bubínek byl za 3 týdny odebrán a a podroben makroskopické evaluaci. Bylo hodnoceno celkem 12 uší. Zbývající králíci měli významné pooperační komplikace či problémy s celkovou anestesií, které znemožnily odebrání membrány a následné vyhodnocení výsledků. Celkem lze konstatovat, že ve 4 případech došlo k úspěšného integraci nanomembrány.

Nanomateriály ve formě nanomembrán se jeví jako moderní, perspektivní materiály k rekonstrukci ušního bubínku. Pro zvýšení jejich efektivity je vhodné je pokrýt látkami, které podporují proliferaci buněk na nanomembráně (kyselina hyaluronová, biolaminin). Jejich využití jako náhrada ušního bubínku se jeví jako slibná alternativa, nicméně je třeba provést další baterii in vivo testů a odstranit zejména nedostatky ve formě pooperačních komplikací.

HODNOCENÍ STABILITY DETEKTORU A KVALITY OBRAZU TERMOKAMER PRO CHYTRÉ TELEFONY

Erik Staffa

Vladan Bernard, Jana Pokorná, Adam Šimo

Biofyzikální ústav LF MU

Infračervená termografie (IRT) může být využita jako nástroj pro efektivní měření povrchové teploty. Kompaktní přístroje IRT připojitelné k chytrému telefonu nabízejí jednoduché a cenově dostupné řešení pro bezkontaktní měření teploty, což vede k jejich zvýšenému počtu využití i v lékařských aplikacích. Na druhou stranu rozdíly ve výsledné kvalitě obrazu a přesnosti stanovení absolutní teploty mezi těmito zařízeními vyvolávají otázky ohledně jejich vhodné použitelnosti.

Studie porovnávala tři termokamery propojitelné s chytrým telefonem: Hikmicro, FLIR One Pro a Seek Thermal CompactPRO. Stabilita měření absolutní teploty v čase, přesnost měření hodnoty povrchové teploty a prostorová uniformita poskytovaných obrazů byly hodnoceny pomocí kalibrovaných měření modelu černého tělesa a monitorováním povrchové teploty šasi samotného přístroje.

Termokamera Hikmicro prokázala nejstabilnější měření teploty v čase, zatímco FLIR One Pro vykazoval nejvyšší nárůst teploty v průběhu času. Seek Thermal CompactPRO prokázal relativně lepší prostorovou uniformitu. Co do kvality snímků byly zaznamenány rozdíly v rozlišení, přičemž moduly FLIR One a Seek upravovaly jejich velikost prostřednictvím algoritmů pro zpracování pořizovaných obrazů.

Termokamery pro chytré telefony nabízejí cenově dostupné a kompaktní řešení, ovšem jejich přesnost měření se významně liší. Časová stabilita se ukazuje jako klíčový faktor, kdy modul Hikmicro vykazuje nejlepší výsledky. Při výběru termokamery pro chytrý telefon a následné použití v lékařských aplikacích je nutné zvážit skutečnou přesnost reálného měření a nejen vybírat dle parametrů udávaných výrobcem.

Práce podpořena projektem MUNI/A/1390/2022

PŘESNOST A REPRODUKOVATELNOST 3D TISKU TRANSPARENTNÍCH ENDODONTICKÝCH BLOKŮ

M. Smutný

M. Kopeček, A. Bezrouk

Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova

Zachování původní anatomie kořenového kanálku během preparace je jedním z cílů ošetření kořenových kanálků. Ošetření je náročné zejména v zakřivených kanálech [1]. Asi největší nevýhodou tohoto typu léčby je riziko náhlého oddělení špičky nástroje. Proto se některé studie zaměřili na použití testovacích pryskyřičných bločků s umělými kořenovými kanály [3,4]. Konvenčně vyráběné simulované modely kořenových kanálků však mají odchylky související s výrobou, takže ani tyto modely nejsou dostatečně identické a postrádají standardizaci [5, 6]. Navíc tyto umělé kořenové kanálky postrádají anatomické nepravidelnosti, trojrozměrné zakřivení a další vlastnosti klinické situace. Proto cílem této studie bylo vytvoření 3D tištěných endodontických bloků s umělými kořenovými kanálky a porovnat jejich přesnost a reprodukovatelnost s konvenčními komerčně dostupnými endodontickými bloky.

Bylo testováno 20 komerčně dostupných pryskyřičných endodontických bloků Endo-Training-Bloc-J od Dentsply Sirona. Střední hodnoty naměřených parametrů těchto bloků byly použity pro 3D CAD model jejich replik navržený v programu Fusion 360 (Autodesk Inc., San Francisco, CA, USA). 20 replik endodontických bloků bylo vytištěno na 3D tiskárně s PolyJet technologií Objet30 Pro (Stratasys, Eden Prairie, MN, USA). Klíčové rozměry komerčních a 3D tištěných bloků byly změřeny a statisticky porovnány pomocí t – testu a Levenova test na shodnost rozptylů.

Z testovaných parametrů (10 sledovaných pozic profilu kanálu, průměry širšího a užšího konce kanálu, délka a úhel vstupního konusu, výstupní a ohybový úhel kanálu) byla prokázána statisticky významně nižší rozměrová variabilita 3D tištěných bločků s výjimkou parametrů - průměr širšího ($P = 0,272$) a užšího ($P = 0,488$) konce kanálu a výstupní ($P = 0,876$) a ohybový ($P = 0,392$) úhel kanálu.

Rozměry 3D tištěných umělých kanálků vykazovaly statisticky výrazně nižší rozměrovou variabilitu ve srovnání s komerčními bloky. 3D polyjetový tisk se ukázal jako přesná a reprodukovatelná metoda výroby bloků pro testování endodontických rotačních nástrojů.

Literatura

- [1] Capar ID, Ertas H, Ok E, Arslan H, Ertas ET. Comparative study of different novel nickel-titanium rotary systems for root canal preparation in severely curved root canals. *J Endod* 2014; 40(6): 852–6.
- [2] Simon S, Machtou P, Tomson P, Adams N, Lumley P. Influence of fractured instruments on the success rate of endodontic treatment. *Dent Update* 2008; 35(3): 172–4, 176, 178–9.
- [3] Çelik G, Maden M, Savgat A, Orhan H. Shaping ability of the profile 25/0.06 and protaper F2 in rotary motion, and reciproc in simulated canals. *PeerJ* 2018;6:e6109.
- [4] Ceyhanli KT, Kamaci A, Taner M, Erdilek N, Celik D. Shaping ability of two M-wire and two traditional nickel-titanium instrumentation systems in S-shaped resin canals. *Niger J Clin Pract* 2015; 18(6): 713.
- [5] Dummer PMH, Alodeh MHA, Al-Omari MAO. A method for the construction of simulated root canals in clear resin blocks. *Int Endod J* 1991; 24(2): 63–6.
- [6] Hartmann RC, Fensterseifer M, Peters OA, de Figueiredo J a. P, Gomes MS, Rossi-Fedele G. Methods for measurement of root canal curvature: a systematic and critical review. *Int Endod J* 2019; 52(2): 169–80.

BIOFYZIKÁLNÍ APLIKACE MIKROSKOPIE ATOMÁRNÍCH SIL

Lukáš Malina

Lukáš Malina, Markéta Kolaříková, Lucie Válková, Hanna Dilenko, Hana Kolářová

Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

Mikroskopie atomárních sil (AFM) umožňuje snímání povrchu s vysokým rozlišením, které je srovnatelné s elektronovým mikroskopem. Během skenování navíc poskytuje také možnost analyzovat mechanické vlastnosti vzorků - například elastickou deformaci nebo adhezi. Základní části mikroskopu představují nosník s hrotem, laser a detektor. Pomocí AFM lze zobrazit široké spektrum vzorků, jako jsou buňky, bakterie, nanočástice, lipozomy, krystalické látky, zubní sklovina nebo fibrily, a to jak ve vzduchu, tak i v kapalině.

Snímání a analýzu různých povrchů umožňují různé nosníky s hroty, které se vzájemně liší svými vlastnostmi. Dle tvrdosti vzorku je třeba vždy správně zvolit hroty s vhodnou tuhostí.

Existují 3 režimy měření pomocí AFM – kontaktní, nek kontaktní a poklepový. Kontaktní režim je nejstarší a jeho nevýhodou bylo poškozování hrotu i samotného vzorku. V případě nek kontaktního režimu k tomuto poškození nedochází, nicméně díky absenci kontaktu se vzorkem není možné provádět analýzu mechanických vlastností. Poklepový režim spojuje výhody obou předchozích způsobů měření. Hrot se v tomto případě neposouvá přímo po povrchu vzorku, ale je s ním v kontaktu pouze v rámci analýzy každého bodu.

Výsledky snímání pomocí mikroskopu atomárních sil mohou mít podobu 2D i 3D obrazu. Nejčastější formou 2D obrazu je výstup z „Peak Force Error“. Důležité informace poskytuje také snímání výškového profilu, ze kterého lze následně generovat i 3D obraz. Díky takto získaným informacím pak lze snadno analyzovat velikost nasnímaného vzorku a sledovat změny, které nastaly v důsledku působení různých látek nebo záření. V případě měření Youngova modulu pružnosti je výsledkem obraz, který znázorňuje aplikovanou sílu, která byla potřebná pro dosažení definované deformace.

Výsledky zahrnují zobrazování a analýzu morfologie buněk, bakterií a fibril před terapií a po ní, dále pak také ověřování velikosti lipozómů po extruzi nebo skenování a analýzu Youngova modulu pružnosti krystalických látek.

Mikroskopie atomárních sil je pokročilá mikroskopická technika, která nabízí detailní pohled na morfologii vzorku, aniž by jej bylo potřeba nějakým způsobem upravovat. Díky možnosti zobrazovat povrch a současně analyzovat určité mechanické vlastnosti, je AFM schopno poskytnout velké množství informací během jednoho skenu. Tato metoda se neustále vyvíjí, což vede nejen ke zrychlení a zkvalitnění snímání, ale také k rozšiřování možností, které lze prostřednictvím mikroskopu atomárních sil provádět.

Tato práce byla podpořena grantovým projektem Ministerstva zdravotnictví České republiky, grant nr.NU21J-03-00062 a projektem Czech-BioImaging – LM2023050

OPTIMALIZACE ARCHITEKTUR UMĚLÉ INTELIGENCE PRO DETEKCI ZVUKŮ GASTROINTESTINÁLNÍHO TRAKTU

J. Zeman

S. Nevyhoštěná, A. Procházka

Ústav biofyziky a informatiky 1. LF UK

Rozpoznání a analýza zvuků gastrointestinálního traktu pomocí umělé inteligence představuje významný potenciál pro diagnostiku a monitorování onemocnění v této oblasti. Předchozí práce ukázaly, že určité akustické vzory mohou signalizovat různé gastrointestinální stavy, při jejich rozpoznání se jako efektivní nástroj uplatnila time-frequency analýza. Tato práce se zaměřuje na výběr a optimalizaci různých architektur neuronových sítí s cílem identifikovat model, který by mohl být účinně implementován v praktickém použití.

V rámci této práce jsme porovnávali výkonnost několika pokročilých architektur neuronových sítí, jako jsou například transformery a conformery, pro analýzu a klasifikaci zvukových signálů gastrointestinálního traktu. Data pro porovnání modelů byla získána z veřejně dostupných zdrojů (stránky kaggle.com, dataset - Bowel sounds) a předzpracována s použitím metod time-frequency analýzy, jako jsou spektrogramy a Mel-frequency cepstral coefficients (MFCC), které umožňují zachytit charakteristické frekvenční a časové vzory signálů. K evaluaci výkonnosti modelů byly použity metriky, jako jsou například přesnost a citlivost, které poskytují informace o schopnosti modelů správně identifikovat a klasifikovat zvuky gastrointestinálního traktu. Celková robustnost a spolehlivost modelů byla ověřena metodou křížové validace.

Výsledky našeho srovnání ukázaly, že zatímco všechny testované architektury neuronových sítí ukázaly schopnost identifikovat specifické gastrointestinální zvuky, transformery a conformery vykazovaly rozdíly ve výkonnosti při detailní analýze signálů. Conformery byly úspěšné v detekci krátkodobých akustických událostí díky své schopnosti efektivně zpracovávat časově proměnlivé signály, zatímco transformery byly dobré v kontextové analýze dlouhých zvukových sekvencí, což potvrzuje jejich výhodnost při zachytávání složitějších vzorů a trendů v datech. Metody jako spektrogramy a MFCC poskytly důležité poznatky ve frekvenčních a časových charakteristikách zvuků, což umožnilo lepší porozumění tomu, jak různé architektury reagují na různé typy zvukových dat. Tyto nástroje byly klíčové pro kvantifikaci a srovnání účinnosti jednotlivých modelů.

Tato práce poskytuje srovnání schopností různých architektur neuronových sítí v diagnostice gastrointestinálního traktu prostřednictvím analýzy zvuků. Naše zjištění naznačují perspektivní směry pro další optimalizaci architektur neuronových sítí pro diagnostiku gastrointestinálních stavů. Tato zlepšení mohou přinést vyšší přesnost a spolehlivost při detekci specifických zvukových vzorů, což je podstatné pro vývoj v oblasti monitorování gastrointestinálního traktu. V dalších krocích plánujeme rozšířit testování modelů v klinickém prostředí, aby byla ověřena jejich praktická aplikovatelnost a efektivita.

FMRI POPULAČNÍ RECEPTIVNÍ POLE U VĚKEM PODMÍNĚNÉ MAKULÁRNÍ DEGENERACE: METODIKA VYŠETŘENÍ

Jan Kremláček (1)

Nad'a Jirásková (2), Jana Nekolová (2), Jana Szanyi (3), Jana Langrová, Jakub Bochnička (1), Michal Mikl (4), Radek Mareček (4), Martin Lamoš (4)

(1) Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, (2) Oční klinika, Fakultní nemocnice v Hradci Králové, (3) Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, (4) Laboratoř multimodálního a funkčního zobrazování, CEITEC, Masarykova Univerzita

Pro sledování změn zrakového kortexu pacientů s věkem podmíněnou makulární degenerací lze využít odhadu populačních receptivních polí (pRF). Metoda pRF využívá periodické zrakové stimulační, jejíž prostorový a časový průběh určuje reakci, která je následně identifikována v BOLD (Blood Oxygen Level Dependent) signálu. Na rozdíl od klasických receptivních polí, pRF nezkušují individuální neurony, ale populaci neuronů na úrovni jednotlivých voxelů (WANDELL, Brian a. COMPUTATIONAL NEUROIMAGING OF HUMAN VISUAL CORTEX. Annual Review of Neuroscience. 1999, 22).

Existuje několik přístupů k odhadu pRF, ale zatím neexistuje standardizace. My jsme zvolili přístup, který kombinuje rotační a radiální změny při stimulaci, což zkracuje dobu vyšetření. Pro modelování pRF jsme použili dvourozměrné Gaussovy křivky s proměnnou polohou v zorném poli a s proměnlivou šířkou receptivního pole. Pro stimulaci a analýzu BOLD signálu byl použit softwarový balíček SAMsurf (VAN DIJK, Jelle A., Benjamin DE HAAS, Christina MOUTSIANA a D. Samuel SCHWARZKOPF. Intersession reliability of population receptive field estimates. NeuroImage. 2016, 143, 293–303).

V laboratoři MAFIL Ceitec Brno, v letech 2018 – 2023 bylo vyšetřeno deset pacientů s geografickou atrofií makuly vázanou na věkově podmíněnou makulární degeneraci. Vyšetření pRF bylo provedeno před a následně půl roku po implantaci Schariothovy makulární čočky. Výsledky ukazují významně sníženou odezvu pRF u pacientů a problematickou reprodukovatelnost.

I když jsme úspěšně zavedli metodu pRF, pro klinické použití bude nezbytné ji optimalizovat a standardizovat zejména pro využití u pacientů se sníženou schopností fixovat pohled v zorném poli. Nestabilita reakcí omezuje interpretaci jinak komplexního pohledu na organizaci zrakové kůry. Další limitací je omezené stimulační pole, které by bylo možné rozšířit pomocí LCD brýlí.

Podpořeno AZV MZ ČR NU22-06-00039 a LM2015062 Czech-BioImaging.

INOVOVANÉ PREDNÁŠKY POVINNE VOLITELNÉHO PREDMETU „ZOBRAZOVACIE METÓDY V MEDICÍNE“

Katarína Kozlíková

Silvia Dulanská

Ústav lekárskej fyziky a biofyziky, LF UK v Bratislave, Sasinkova 2, 813 72 Bratislava, SR

Jedným z cieľov projektu KEGA „Obsahová inovácia a digitalizácia povinného predmetu lekárska biofyzika a súvisiacich povinne voliteľných predmetov“ je aj inovácia prednášok pre povinne voliteľné predmety. Jeden z predmetov, „Zobrazovacie metódy v medicíne“, sa na LF UK v Bratislave prednáša od akademického roku 2000/2001 v slovenskom a od roku 2008/2009 aj v anglickom jazyku. Napriek tomu, že ide o študentov 4. ročníka všeobecného lekárstva, ktorí by mali zvládať sledovať prednášky a robiť si poznámky, pred štúdiom literatúry uprednostňujú mať podklady k dispozícii v elektronickej forme. Cieľom tejto práce je charakterizovať inovované prednášky z vyššie uvedeného predmetu.

Z vyššie uvedených dôvodov sme pristúpili ku komplexnej inovácii a kompletizácii prednášok uverejňovaných na portáli MEFANET LF UK v Bratislave [1]. Sú pripravené v jednotnej forme, čo zahŕňa nielen ich vzhl'ad, ale aj štruktúru. Po krátkom úvode do problematiky nasledujú jednotlivé témy, ktoré sú rozdelené do ucelených podoblastí a sú ilustrované vhodnou obrazovou dokumentáciou. Matematické a fyzikálne vzťahy sú prispôbené cieľovej skupine tak, aby boli obmedzené len na nevyhnutné minimum, ale zároveň zabezpečili dobré pochopenie učiva. Pred záverečným krátkym zhrnutím prednášky sú uvedené použité zdroje literatúry. Prednášky sa končia naznačením ďalšej témy, pretože sú koncipované tak, aby vzájomne na seba nadväzovali v maximálnej možnej miere.

Úvodná prednáška sa týka štruktúry hmoty z biofyzikálneho hľadiska - základná terminológia mikrosveta používaná v ďalších hodinách. V prvej skupine na ňu nadväzujú prednášky z rádioaktivity zaoberajúce sa fyzikálnymi princípmi žiarenia – typmi a interakciami, detekciou a dozimetriou žiarenia, ochranou pred ionizujúcim žiarením. Pokračovaním sú zobrazovacie metódy využívajúce rádionuklidy vrátane základných informácií o príprave rádionuklidov, značení rádionuklidmi, princípoch PET a SPECT. Druhú nadväzujúcu skupinu prednášok tvoria metódy zobrazenia prostredníctvom röntgenového žiarenia zaoberajúce sa zdrojmi a vlastnosťami žiarenia, jeho interakciami s prostredím, tvorbou obrazov a zobrazovacími metódami od skiografie a skioskopie cez digitálnu rádiografiu až po výpočtovú tomografiu. V tretej skupine prednášok - termometria a termografia - sa vysvetľuje žiarenie absolútne čierneho telesa, infračervené žiarenie, jeho vlastnosti a zdroje, kontaktné a bezkontaktné metódy merania a zobrazovania povrchovej teploty. Na pochopenie pre študentov je asi najnáročnejšie zobrazovanie pomocou jadrovej magnetickej rezonancie. S využitím terminológie z úvodnej prednášky sa preto len v zjednodušenej forme vysvetľuje princíp tvorby obrazov a ich základné typy.

Poslednú skupinu prednášok predstavujú ultrazvukové zobrazovacie metódy – zdroje a vlastnosti ultrazvuku, jeho interakcie s látkou, detekcia ultrazvuku, tvorba obrazov, typy sond a módy zobrazenia vrátane Dopplerovho javu a jeho použitia v medicíne.

Prednášky sú voľne dostupné v pdf formáte na študentskom portáli v sekcii Biofyzika [1]. Preto veríme, že budú vhodnou pomôckou pri štúdiu nielen uvedeného predmetu.

Literatúra

[1] *Multimediálna podpora výučby klinických a zdravotníckych odborov. Portál LF UK v Bratislave.* [cit. 11. 4. 2024]. Dostupné z: <https://portal.fmed.uniba.sk/>

Práca je podporená projektom KEGA 040UK-4/2022 MŠVVŠ SR „Obsahová inovácia a digitalizácia povinného predmetu lekárska biofyzika a súvisiacich povinne voliteľných predmetov“ (zodpovedný riešiteľ doc. RNDr. Mgr. K. Kozlíková, CSc.).

PLAZMOU AKTIVOVANÁ KVAPALINA V LIEČBE INFEKCIÍ MOČOVÝCH CIEST

Nadja Šupčíková (1)

Martin Kopáni (1), Michal Pastorek (2), Barbora Konečná (2), Slavomír Pásztor (3), Peter Celec (2), Roman Gardlík (2), Lubomíra Tóthová (2), Zdenko Machala (3)

(1) Ústav lekárskej fyziky a biofyziky LF UK, Bratislava, (2) Ústav molekulárnej biomedicíny LF UK, Bratislava, (3) Oddelenie environmentálnej fyziky FMFI UK, Bratislava

Uropatogénna *Escherichia coli* (UPEC) je najčastejší patogén pri infekciách močových ciest (IMC). Štandardná antibiotická liečba je často nasadená empiricky, čo vedie k nadužívaniu antibiotík a k rastúcej rezistencii na antibiotiká [1] a preto je potrebné skúmať inovatívne liečebné stratégie. Zdroje studenej plazmy sú schopné generovať rôzne reaktívne častice s biologickými účinkami, vrátane reaktívnych druhov kyslíka (ROS), reaktívnych druhov dusíka (RNS) a nabitých častíc. Studená plazma dokáže účinne inaktivovať rôzne typy mikroorganizmov v kvapalinách, na povrchoch a vyvolať tiež biologické reakcie v tkanivách a bunkách [2]. Použitie plazmou opracovanej kvapaliny (angl. plasma activated liquid, PAL) ukázalo, že antimikrobiálny účinok plazmy sa prenáša do vodného prostredia aj v prípade aplikácie na bunkové kultúry [3] a v *in vivo* modeli [4]. Cieľom tejto štúdie preto bolo preskúmať antimikrobiálnu účinnosť PAL na UPEC s potenciálnou aplikáciou v zvieracom modeli IMC.

Experiment prebehol v dvoch častiach. V prvej časti sa analyzoval antimikrobiálny efekt štyroch typov PAL. Roztok PBS bol opracovaný plazmou pomocou štyroch rôznych typov elektrických výbojov: Streamer Corona (SC), Transient Spark with Electrospray (TS-ES), Transient Spark Batch (TS-B) a Glow Discharge (GD). PAL alebo 1xPBS (CTRL) spolu s LB médiom boli zmiešané 3 rôznymi koncentraciami nočnej kultúry UPEC – 8×10^8 KTJ/ml (= OD 1), 8×10^6 KTJ/ml (= OD 0,01), 8×10^4 KTJ/ml (= OD 0,0001) v pomere 18:1:1 v celkovom objeme 200 ml. Optická hustota zmesi bola sledovaná spektrofotometricky v hodinových intervaloch po dobu 32 h. V časových bodoch 0, 4, 8, 12, 24 hodín sa určila bakteriálna záťaž zmesi na mikrobiologických médiách, čím sa určil počet kolónií tvoriacich jednotky (KTJ).

V druhej časti bola najúčinnější PAL aplikovaná na vzorky myšacieho moču, pričom moč buď úplne nahradil GD PAL alebo bol zmiešaný s GD PAL v pomere 1:1. Tu sa 10 μ l bakteriálnej kultúry zmiešalo s 10 μ l tekutého LB média a 180 μ l buď myšieho moču, GD PAL, alebo kombináciou myšieho moču a GD PAL v pomere 1:1. Opätovne sa hodnotila optická hustota zmesi a antimikrobiálna aktivita po dobu 24 h.

Porovnanie antibakteriálnych účinkov rôznych typov PAL ukázalo (Obr. 1 A-C), že GD PAL vykazuje najvyššiu antimikrobiálnu aktivitu v porovnaní s ostatnými typmi PAL. Najvýraznejší efekt GD PAL bol pozorovaný u baktérií s najväčšou iniciálnou koncentraciou (Obr. 1 A), kde už po 1 hodine inkubácie vzrástol počet baktérií ošetrených ostatnými PAL ako aj CTRL. Navyše, ostatné PAL nepreukázali žiadny inhibičný účinok na rast baktérií v porovnaní s CTRL.

GD PAL zmiešaný s močom vykazoval oslabený antimikrobiálny účinok v porovnaní so samotnou GD PAL (Obr. 1 D-F). Kombinácia GD PAL a moču vedie k výrazne nižšej antimikrobiálnej aktivite GD PAL a umožňuje rýchlejší rast baktérií ako samotný moč pre všetky testované koncentrácie. Pri aplikácii GD PAL na OD 1 sa zvyšuje množstvo baktérií počas 6-20 h (Obr. 1 D). V oboch častiach experimentu sa ukázalo, že antimikrobiálny účinok je slabší pri vyššej koncentrácii baktérií.

Výsledky experimentu poukazujú na GD PAL ako najsilnejší z hľadiska inaktívácie UPEC *in vitro* spektrofotometricky aj mikrobiologicky. V súlade s našimi výsledkami nedávna štúdia tiež naznačila vysokú účinnosť plazmy GD proti UPEC rezistentným na antibiotiká, pričom účinok sa pripisuje hydroxylovým radikálom (\cdot OH) [5]. Následná analýza účinku GD PAL v kombinácii s myšacím močom nepotvrdila antimikrobiálne účinky, práve naopak, bakteriálna záťaž bola vyššia ako pri samotnom myšacom moči. To môže byť vysvetlené viacerými faktormi ako napr. schopnosťou moču neutralizovať \cdot OH radikály prítomné v PAL [6] alebo interferenciou PAL s nešpecifickou imunitnou reakciou u myší [7]. Napriek potvrdeniu antimikrobiálneho účinku naše zistenia naznačujú zníženie antimikrobiálnej účinnosti, keď sa PAL kombinuje s močom myší. Je potrebný ďalší výskum na preskúmanie zložitého mechanizmu, ktorý je základom vplyvu moču na PAL.

Práca bola podporená projektami APVV-18-0287, APVV-17-0382 a VEGA 1/0234/18.

IRON-OXIDE NANOPARTICLES ON AXONS IN HUMAN BRAIN AND THEIR POSSIBLE EFFECT

Martin Kopáni (1)

Daniel Kosnáč (1), Štefan Polák (2), Pavol Gemainer (3)

(1) Comenius University, Faculty of Medicine, Institute of Medical Physics and Biophysics, Bratislava, Slovakia, (2) Comenius University, Faculty of Medicine, Institute of Anatomy, Bratislava, Slovakia, (3) Slovak University of Technology in Bratislava, Faculty of Chemical and Food Technology, Department of Wood, Pulp and Paper, Bratislava, Slovakia

Iron oxide nanoparticles such as ferrihydrite, goethite, hematite, magnetite, maghemite and wüstite can be found in human brain. Their function is not known but it is suggested that pathological processes are responsible for their formation. Iron is a naturally element in the human body important for various biological processes such as production of myelin, neurotransmitters like dopamine, mood regulation, and cognition. The aim of this study is to investigate the localization, chemical composition and possible effect of iron oxide nanoparticles on the axonal surface.

We used multimodal approach for investigation of presence and effect of iron oxide (nano)particles.

Scanning electron microscopy with energo-dispersive analysis revealed the presence of C, O, Na, Mg, Al, Si, S, Ca and Fe (Fig. 1). Raman spectroscopy shows the presence of hematite and magnetite in the samples but other phases cannot be ruled out.

Iron can produce reactive oxygen species which can significantly damage axons. The second effect of iron particles is their magnetic field, which may influence the movement of ions through ion channels and thus alter the propagation of action potential.

MEDICÍNSKÉ APLIKACE MAKROFOTOGRAFIE V BLÍZKÉ INFRAČERVENÉ A ULTRAFIALOVÉ OBLASTI SPEKTRA

Vladimír Mašín

Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova

Zobrazování v úzkých pásmech viditelného spektra i mimo viditelné spektrum se již dlouhá léta používá v mnoha vědních oborech, včetně biologických věd (Normalized Difference Vegetation Index - NDVI), v medicíně se však prozatím v běžné praxi prosadilo jenom zobrazování modrým světlem v endoskopii, používané ke zvýšení kontrastu vaskularizace sliznice při screeningu maligních lézí. V naší práci jsme se pokusili ověřit praktickou použitelnost zobrazování v blízkém infračerveném (NIR) a blízkém ultrafialovém (UV-A) spektru pro hodnocení různých typů poškození kůže.

Pro zobrazování jsme použili fotoaparát Sony a7RII upravený pro snímání plného spektra. Pro každou kombinaci filtrů bylo provedeno uživatelské nastavení vyvážení bílé barvy. Pro snímání v NIR oboru jsme fotoaparát osadili objektivem Nikon 105 mm f/2,8 G NIKKOR AF-S Micro IF-ED VR, doplněným filtry typu dolní propusti s mezními vlnovými délkami 590 nm, 665 nm, 720 nm, 760 nm, 850 nm a 950 nm of firem Hoya, Kase a Zomei. Pro snímání v UV-A bylo nutné použít objektiv propouštějící alespoň tuto část UV spektra, proto jsme zvolili EL-Nikkor 105/5,6 osazený na makroadaptéru. Pro eliminaci viditelného světla jsme otestovali filtry ZWB1, ZWB2, ZWB3 v kombinaci s filtrem TSN575, blokujícím infračervené záření propouštěné filtry ZWB (viz. <https://www.vyoptics.com/zwb3-zwb2-zwb1-mineral-fluorescence-analyzer-uv-pass-glass-filter-changchun.html>). Jako osvětlení bylo využíváno jak denní světlo, tak i UV LED svítilny Nitecore CU6 (3000mW, 365 nm) a xenonové výbojky Canon 199a, upravené pro plné spektrum.

Snímání v NIR části spektra se ukázalo být technicky méně komplikovaným. Senzory soudobých digitálních fotoaparátů jsou k NIR citlivé takřka stejně dobře jako k viditelnému světlu, takže bylo možné použít běžné hodnoty nastavení citlivosti. Bohužel ale diagnostická výtěžnost při posuzování poškození kůže nebyla zcela uspokojivá. Snímání v UV-A oblasti se ukázalo být značnou výzvou, ať už kvůli nízké citlivosti digitálních snímačů k těmto vlnovým délkám, tak i kvůli nedokonalostem dostupných filtrů. Proto bylo nutné při osvětlování pomocí LED diod používat extrémně vysoké nastavení citlivosti snímače, což se negativně projevilo na kvalitě obrazu. Teprve osvětlení výkonnými xenonovými výbojkami dovolilo snížit nastavenou citlivost, a tak zlepšit kvalitu obrazu. Potenciální diagnostická výtěžnost UV-A snímků byla ovšem oproti NIR mnohem slibnější. Vysoká absorpce UV záření melaninem zvýšila kontrast pigmentovaných lézí oproti snímání ve viditelné oblasti, dobře zřetelné byly i oblasti fotopoškození kůže a starší subkutánní hematomy, již špatně patrné na snímcích ve viditelném spektru, což rozšiřuje uplatnění této metody i do oblasti forenzní medicíny.

Naše předběžné testy potvrdily potenciální diagnostický přínos zejména UV-A makrofotografie, proto jsme iniciovali spolupráci s relevantními klinickými pracovišti. Pro rutinní použití v klinické praxi však bude třeba snížit technickou náročnost - nalézt řešení s vyšší propustností a selektivitou filtrů, lepší citlivostí snímačů a ideálně také vytipovat objektivy dobře propouštějící UV-A záření a zároveň podporující automatické zaostřování. Dalším možným směrem rozvoje je spojení výše uvedených metod s námi dříve popsáním autofluorescence, případně doplnění o multispektrální zobrazování založené na snímání v úzkých pásmech vlnových délek viditelné části spektra.

Tento výstup vznikl v rámci programu Cooperatio, vědní oblasti DIAG - „Lékařská diagnostika a základní lékařské vědy“.

BLÍZKÉ POLE PŘI OZVUČOVACÍCH EXPERIMENTECH IN VITRO

Martin Sněhota

Jaromír Vachutka, Barbora Hošíková

Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

Soudobé ozvučovací experimenty in vitro vykazují značnou variabilitu používaných metod a vybavení. Existuje celá řada faktorů, které významně ovlivňují parametry ultrazvukového pole, kterému je ozvučovaný vzorek vystaven. Mezi tyto faktory patří například vznik stojatého vlnění či interakce ultrazvukového vlnění s ozvučovací komůrkou. Naše předchozí práce ukázala, že pokud umístíme ozvučovaný vzorek do vzdáleného pole, vlivem interakce ultrazvukového vlnění s ozvučovací komůrkou dojde k tvorbě struktury blízkého pole. Cílem této práce bylo kvantifikovat interakci ultrazvukového vlnění s ozvučovací komůrkou v blízkém poli.

Všechna měření byla provedena v ozvučovací vaně, která byla naplněna destilovanou vodou. Ultrazvukové pole bylo generováno kruhovým nefokusovaným měničem o průměru 19 mm a nominální frekvenci 3,5 MHz. Ultrazvukové pole bylo měřeno pomocí kalibrovaného jehlového hydrofonu o průměru aktivního elementu 0,5 mm. Napětí generované hydrofonem bylo registrováno pomocí osciloskopu a data byla převedena do počítače pro následnou analýzu. Po změření referenčního skenu ve volném poli byly do ultrazvukového pole umísťovány jamky 96-, 48- a 24-jamkové desky ve vzdálenostech odpovídajících poslednímu maximu ($z = 207$ mm), poslednímu minimu ($z = 102$ mm), absolutnímu maximu ($z = 63$ mm) a těsně před ultrazvukovou hlavici ($z = 0$ mm). Následně byla měřena struktura ultrazvukového pole uvnitř a za jamkami příslušných desek.

Struktura ultrazvukového pole změřená ve volném poli odpovídala teoreticky popisované struktuře ultrazvukového pole. Blízké pole ($z = 0 - 207$ mm) vykazovalo výrazné výchylky lokální akustické intenzity, zatímco vzdálené pole ($z = 207 - 440$ mm) vykazovalo nejvyšší intenzitu na ose ultrazvukového paprsku, která s odklonem od osy paprsku kontinuálně klesala. Umístěním jamek kultivačních desek v různých vzdálenostech došlo k tvorbě nové struktury ultrazvukového pole, která odpovídala blízkému poli. Teoretický výpočet lokální akustické intenzity na ose ultrazvukového paprsku za příslušnou jamkou odpovídal zdroji měniče o rozměrech příslušné jamky kultivační desky. Ať už byly jamky umístěny do kterékoliv vzdálenosti od zdroje ultrazvukového vlnění, pozice nově formovaných lokálních akustických maxim a minim odpovídala teoretickému výpočtu pro příslušnou jamku. Nicméně jejich amplituda do značné míry závisela na struktuře ultrazvukového pole dopadajícího na příslušnou jamku. Nejvyšších výchylek bylo dosaženo v případě 96-jamkové desky, kdy v porovnání s referenční hodnotou (tj. hodnotou akustické intenzity v bodě absolutního maxima, která byla změřena ve volném poli) došlo k nárůstu na 522,1 % referenční hodnoty v bodě nejsilnějšího akustického maxima. Nejnižšího nárůstu bylo dosaženo v případě 24-jamkové desky, kdy došlo k nárůstu na 142,2 % referenční hodnoty v bodě nejsilnějšího akustického maxima.

Umístěním ozvučovací komůrky do ultrazvukového pole při ozvučovacích experimentech in vitro dochází vlivem interakce k tvorbě nové struktury ultrazvukového pole s výraznými lokálními akustickými maximy a minimy. Jejich pozice (nikoliv však intenzita), odpovídají teoretickému výpočtu struktury ultrazvukového pole pro zdroj o rozměru ozvučovací komůrky. Měření ultrazvukového pole v místě ozvučovaného vzorku je považováno za nejrelevantnější údaj pro korelaci biologické odpovědi vzorku a ozvučovacího protokolu.

Tato práce byla podpořena grantovým projektem Ministerstva zdravotnictví České republiky, grant nr.NU21J-03-00062. Všechna práva vyhrazena.

GEOGEBRA AND ITS APPLICATIONS, ESPECIALLY FOR TEACHING OF GEOMETRICAL OPTICS

David Kordek.

Petr Voda

Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova

In the introduction of the contribution, we get the reader familiar with our portfolio of software, which allows geometric designs, both free and paid versions. This way the reader gets a basic picture about the options when choosing this software. The programs presented will include GeoGebra, which will be used in our article.

In the theory, we focus on the presentation of geometrical optics, especially imaging on lenses, in secondary-school physics. Specifically, we limit ourselves to the usage of optics textbooks recommended for comprehensive schools. We describe what a secondary-school student should know on this topic.

In Methods, we specifically get the reader familiar with the usage of GeoGebra. We describe the basic possibilities of working with the program (both online and offline), including specific graphic demonstrations and usage possibilities. In this part of the article, the reader thus gets a specific picture about the preparation of a design, depicting an image on a thin-lens.

In Results, a specific design for a thin-lens image will be revealed. The design will include image and object distance values. These values will also include a verifying calculation for the displayed situation.

The Conclusion summarises the advantages and disadvantages of working with the application, including possible complications during the design and calculations.

POROVNÁNÍ RŮZNÝCH DISKRÉTNÍCH ALGORITMŮ PRO TVORBU PODVÝBĚRŮ: PŘÍPADOVÁ STUDIE NA COVID-19 DATECH S CHYBĚJÍCÍ ZÁVISLE PROMĚNNOU

Lubomír Štěpánek

Ludmila Maffei Svobodová, Jiří Beneš

Ústav biofyziky a informatiky, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova

Pandemie COVID-19 (SARS-CoV-2) přinesla výzvy celé řadě oborů včetně biofyziky a biostatistiky. V této studii se zabýváme tvorbou podvýběrů z předem daného datasetu, v kterých je maximalizováno zastoupení všech kategorií kategoriálních proměnných a současně dobře balancovány hodnoty spojitých proměnných. Přístupy aplikujeme na vlastní dataset, zkoumající trvání séropozitivity pacientů po očkování proti SARS-CoV-2 v čase. Je-li závisle proměnná známá, existuje dobře etablovaná metodika tvorby podvýběrů z iniciálního výběru; v naší studii je však závisle proměnná sbírána až pro výsledný podvýběr, takže tyto metody nelze použít. Současně následná analýza séropozitivity v čase proti SARS-CoV-2 vyžaduje analýzu nad pokud možno co nejrozmanitější subpopulací.

Populární metody tvořící podvýběr ze zadaného výběru s maximální možnou variabilitou proměnných, jako propensity score matching, vyžadují přítomnost závisle proměnné. Naší závisle proměnnou je vývoj sérových protilátek proti SARS-CoV-2 a jejich přetrvávání nad detekční hladinou v čase (tzv. séropozitivita). Stanovení séropozitivity u pacientů pomocí imunologických kitů je však ekonomicky náročné; cestou může být početně zredukovat rozsah původního výběru pacientů, ale zachovat pokud možno jeho původní variabilitu všech proměnných. Proto jsme navrhli některé nové přístupy pro tvorbu podvýběrů ze vstupního datasetu, který neobsahuje závisle proměnnou. Navržené metody byly aplikovány na dataset pacientů očkovaných proti SARS-CoV-2 o původním rozsahu $N = 698$ jedinců a 18 proměnných. Kvůli finančním limitacím následné analýzy séropozitivity bylo možné imunologicky vyšetřit pouze $n = 400$ pacientů. Smyslem je zachování co největšího množství iniciálně obsažených kombinací hodnot vstupních proměnných, aby byla analýza séropozitivity v čase co nejvíce informativní. Principem je tedy z datasetu vyloučit pacienty s nepříliš originálními kombinacemi vstupních hodnot, kteří málo zvyšují informativnost podvýběru.

Navrhli jsme několik metrik kvality podvýběru, podobných ukazatelům biodiverzity – Shannonově entropii, Ginnioho indexu, součtů čtverců relativních frekvencí, a dalších. Exhaustivní metoda založená na tvorbě všech možných podvýběrů o rozsahu $n = 400$ z datasetu o rozsahu $N = 698$ sloužila jako benchmark. Protože jeden náhodný podvýběr má jen malou šanci optimalizovat hodnotu metriky kvality podvýběru, jedním z přístupů je provést náhodný podvýběr opakovaně a odhadnout variabilitu metriky kvality; následně pak vybrat ten podvýběr, který je nejbližší optimu metriky kvality. Další přístupem je původní dataset o rozsahu N postupně v každém kroku zmenšovat vždy o jedno pozorování takové, které maximalizuje posun metriky kvality k jejímu optimu. Proces je zastaven, pokud má výběr rozsah roven n ; výsledkem je jeden z možných podvýběrů s balancovanými hodnotami proměnných. Rovněž jsme navrhli přístup, který je založen na shlukování – iniciální shlukování datasetu o rozsahu N do nějakého počtu shluků umožňuje pak sestavit podvýběr o rozsahu n , a to tak, že jsou volena pozorování vždy z co nejvíce shluků – ta jsou si totiž nepodobná a zvyšují variabilitu podvýběru. Všechny čtyři přístupy, tj. exhaustivní tvorba podvýběru, opakované náhodné vybírání podvýběrů, tvorba podvýběru postupnou selekcí a vyřazováním těch pozorování, které nejvíce posouvají metriku kvality k jejímu optimu, a tvorba podvýběru založená na shlukování, ukázala lepší výsledky stran zajištění dobré variability proměnných v podvýběru než prostý náhodný podvýběr. Zatímco exhaustivní tvorba podvýběru umožňuje díky prohledání všech možností nalézt ideální podvýběr maximalizující variabilitu proměnných, ostatní metody jsou pouze přibližné, ale podstatně výpočetně rychlejší. Podvýběr se zajištěnou různorodostí proměnných zajistil informativnost pro následnou analýzu – zde tedy zkoumání vývoje počkové séropozitivity protilátek proti SARS-CoV-2 v čase.

COOPERATIO programy IMMU 207032 a DIAG, Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky AZV NU22-A-150, Vysoká škola ekonomická OP VVV IGA/A, CZ.02.2.69/0.0/0.0/19_073/0016936

DIFERENCIACE TUMORŮ MOZKU POMOCI MAGNETICKÉ REZONANCE

Marek Dostál

Tomáš Jůza, Tereza Kopřivová, Miloš Keřkovský

(1) Biofyzikální ústav, Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Brno, (2) Klinika radiologie a nukleární medicíny, Fakultní nemocnice Brno

Diferenciace high-grade gliomů (HGG) a metastáz (Meta) mozku není často pomocí standardních obrazů získaných magnetickou rezonancí jednoznačně možná. Kombinací akvizičních, segmentačních a analytických metod multi-parametrického zobrazení je možné zvýšit diagnostickou přesnost vyšetření magnetickou rezonancí. Cílem této práce bylo vytvoření a ověření metodiky, která kombinuje výše uvedené metody ke zvýšení diagnostického přínosu v případě diferenciace high-grade gliomů a metastáz mozku.

MR vyšetření se skládalo z morfologických sekvencí před a po aplikaci kontrastní látky a z difusně vážené sekvence s 10 různými hodnotami difusního vážení. Morfologické obrazy byly zaregistrovány do společného prostoru, byl extrahován pouze obraz mozku a následně proběhla semiautomatická segmentace celé patologie a její separace až na tři tkáně (syťící se, nekrotické a edematická tkáň). Po nezbytných úpravách difusně váženého obrazu (korekce distorsí, vířivých proudů, potlačení šumu) byly vypočteny 4 parametrické mapy (difuse, pseudo-difuse, perfusní frakce a kurtoza) s následnou registrací s morfologickým obrazem. Následovala analýza histogramu, kde bylo vypočteno 11 parametrů, pro každou tkáň a parametrickou mapu a objemy jednotlivých tkání. Statistická analýza nejprve ověřila rozdílnost všech 135 parametrů jednotlivě pomocí Wilcoxon rank sum testu s korekcí na mnohočetná testování (false Discovery rate correction), následovala analýza pomocí receiver operating characteristic (ROC), stanovení hranice (threshold) a výpočet sensitivity a specificity. Na závěr byla provedena vícerozměrná analýza, kdy pomocí least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) byly vybrány nezávislé parametry, které následně byly použity jako vstupy pro analýzu klasifikačního stromu.

V rámci prospektivní studie bylo mezi léty 2019-2022 vyšetřeno na MR přes 300 pacientů před operací tumoru mozku, kteří splnili vstupní kritéria. Z této skupiny bylo 67 vyšetření histologicky verifikováno jako HGG, 33 jako Meta a tvořili trénovací množinu. Za rok 2023 bylo zařazeno 17 pacientů (9 HGG, 8 Meta), ti tvořili testovací množinu. Bylo nalezeno 72 resp. 58 parametrů, které se statisticky významně lišily ($p < 0,05$) mezi patologiemi před resp. po korekci na vícečetná opakování. Na základě ROC analýzy (maximalizace součtu spec. a sens.) nejlepších výsledků dosáhl 25. percentil parametru perfusní frakce (f) v edému (sens. 84,8 % a spec. 68,7 %) a 75. percentil parametru kurtozy (K) syťící se části ložiska (69,7 % resp. 77,6 %). LASSO v kombinaci s klasifikačním stromem vybralo 4 nejvhodnější parametry a jejich hraniční hodnoty pro diferenciaci se sens. 84,8 % a spec. 98,5 % na trénovacím souboru (100 subjektů) a sens. 77,8 % resp. spec. 87,5 % na testovací množině (17 subjektů).

Vícerozměrná analýza histogramu pokročilých analytických modelů difusně vážených obrazů v kombinaci s volumetrickými údaji patologií mozku může dosahovat vysoké diferenciační přesnosti.

Podpořeno MZ ČR reg. č. NU21-08-00359, práva vyhrazena

UMĚLÁ INTELIGENCE A MONITOR ŽIVOTNÍCH FUNKCÍ

Bronislav Balek

Petr Heřman

Ústav biofyziky, 2. lékařská fakulta, CUNI

Před několika desítkami let existovaly tzv. Expertní systémy, mající hlavní složky: bázi dat (BD), bázi programů (BP) a bázi znalostí – vzorů (BZ). Tento expertní systém se vývojem rozrostl na dnešní Umělou inteligenci.

Naplňovat bázi dat můžeme „**Off Line**“ např.: pomocí klávesnice, myši, USB flash paměti, SD paměťových karet atd. V medicíně v reálném čase lze bázi dat „krmit“ „**On Line**“ např. za přispění snímačů biosignálů spojených s monitory životních funkcí.

V bázi programů je inteligentní SW, který umí z velkého množství báze biosignálů získat bázi znalostí (vzorů). Měřené biosignály jsou pak srovnávány s bázi znalostí a tím se vytváří diagnostika, která je nutná pro vhodnou terapii.

Monitory životních funkcí jsou základem každé jednotky intenzivní péče (JIP) a každého operačního sálu (OS). Na JIPce se tyto monitory nazývají lůžkové (bedside) monitory a jsou propojeny Ethernetem do centrální stanice (monitoru) sesterny JIPky a ta je spojena s nemocničním informačním systémem (NIS). Podobně je tomu i na operačních sálech.

Monitorování životních funkcí je dlouhodobá kontinuální vizualizace měření a sledování specifických fenoménů základních životních funkcí nemocného. Při monitorování se sledují odvozené veličiny základních životních funkcí nemocného v určitém (předem zvoleném) tolerančním pásmu (fyziologickém rozpětí). Monitory kromě měřičů mají hlídače mezních stavů (alarmy) s optickou nebo akustickou indikací překročení mezních hodnot. Monitor hodnotí situaci sám a také sám upozorňuje (monet) obsluhující personál na mimořádné situace. Monitory mají multiúrovňové fyziologické poplachy, které upozorňují personál na závažné či méně závažné změny stavu nemocného.

Dalšími poplachy jsou poplachy technické upozorňující na nesprávné přiložení nebo zapojení snímačů biosignálů. Monitory mají také autotestování pro vlastní kontrolu správné funkce.

Monitorování životních funkcí se také využívá v telemedicině, což je dlouhodobé monitorování např. EKG, krevního tlaku, poruchy spánku, nebo snímání EKG pomocí chytrých hodinek. apod. bez návštěvy u lékaře. Pacient nosí miniaturní nahrávače dny, týdny a spojí se na dálku s ošetřujícím lékařem nebo Mezinárodním centrem telemedicíny v Brně - Zábřovicích.

BIOSIGNALSPLUX HYBRID-8

Petr Heřman

Bronislav Balek, Gracian Tejral, Aleksei Pashchenko, Jana Nečasová, Evžen Amler

Ústav biofyziky 2.LF UK

V minulých letech jsme prezentovali využití kitu *biosignalsplux-Explorer* portugalské firmy *PLUX* pro akvizici a monitoring biosignálů ve výuce biofyziky. Ke 4-kanálovému analogovému hubu jsme měli jen 5 senzorů.

Nyní jsme dostali jeho nástupce, **biosignalsplux HYBRID-8**, hub s osmi hybridními (analogo/digitálními) vstupy, vzorkovací frekvencí 3 kHz a s velkou škálou senzorů. Hub komunikuje on-line s PC či s mobilem/tabletem atd. pomocí *Bluetooth*. S interní pamětí může fungovat i off-line jako *holter*.

Základní software je volně šiřitelný open-source **OpenSignals (r)evolution** pro různé OS, umí komunikovat s více huby; tak můžeme zaznamenávat 12 kanálů v otevřených datových formátech H5, EDF či TXT.

V naší konfiguraci máme řadu senzorů pro různé metody snímání biosignálů:

Elektrické biosignály:

- ECG – Elektrokardiografie
- EEG – Elektroencefalografie
- EMG – Elektromyografie
- EGG – Elektrogastrografie
- EOG – Elektrookulografie
- EDA – Elektrodermální aktivita
- Sensor Adapter – galvanicky oddělený s konektorem Cinch pro další signály

Mechanické biosignály:

- ACC – Akcelerometr
- PZT – Piezoelektrický plethysmograf pro snímání dechu
- RIP – Induktivní plethysmograf pro snímání dechu
- GON – Goniometr
- FSR – snímače mechanického tlaku různých velikostí
- Load cell – snímač síly
- Tonometr

Optické snímače:

- LUX – Luxmetr
- SpO2 – Oxymetr
- BVP – Snímač pulsu
- FNIRS – Functional Near-Infrared Spectroscopy

Další fyzikální veličiny:

- TMP – Teplota

Výstupní:

- LED dioda

Pomocné:

- SYNC – synchrokit pro video
- různé kabely

K základnímu software *OpenSignals (r)evolution* je možno dokoupit řadu add-ons pro různá další zpracování pořízených dat. V rámci akce jsme obdrželi zdarma SW pro:

- Heart Rate Variability (HRV)
- Electromyography (EMG) Analysis
- Electrodermal Activity (EDA) Analysis
- Respiration Analysis
- Muscle Load Analysis

- Video Synchronization

HYBRID-8 jsme obdrželi letos. Za tu dobu jsme jej použili při demonstraci biosignálů prakticky u všech bakalářských oborů, které v letním semestru vyučujeme: Všeobecné i pediatrické ošetřovatelství, Fyzioterapie a Radiologická asistence.

Vyučující má na sobě během přednášky připevněny sensory různých modalit a biosignály je možno on-line promítat společně s prezentací. Na začátku hodiny se studenti pokouší zjistit, o jaké biosignály se jedná a jaké jsou mezi nimi vzájemné souvislosti. Možné varianty jsou např.:

Heart rate variability – souvislost EKG s dechem a s tělesnou aktivitou:

- EKG, PZT, RIP, BVP, ACC, GON, Load cell, Tonometr

Je možné vysvětlit různé typy plethysmografů a porovnání jejich výstupů.

Chůze:

- FSR na patě a pološpičce, ACC na kotníku, EMG na různých svalech DK, GON – ohyb kolene, BVP, Load cell

Podobně můžeme analyzovat např. *pohyby a práci HK:*

- Load cell, FSR, ACC, EMG, EDA, GON

Při akvizici různých druhů biosignálů upozorňujeme studenty na různé rozsahy jejich amplitud a použité frekvenční filtry. Zároveň demonstrujeme vznik různých artefaktů, které mohou také imitovat různé biosignály.

V letním semestru při výuce bakalářských oborů jsme si ověřili možnost a vhodnost využití *daleko širšího spektra biosignálů* než v uplynulých letech. Studenti se nakonec dokázali celkem dobře orientovat v osmikanálovém průběhu různých biosignálů a v jejich *vzájemných vztazích*.

Na konci semestru čeká studenty *fyzioterapie biofyzikální praktikum*, na kterém si budou moci sami na sobě ověřit, co jim bylo předtím demonstrováno. Bohužel vzhledem k velkému počtu studentů *všeobecného a pediatrického ošetřovatelství* jim *nelze zorganizovat výuku biofyzikálního praktika* a tak vedle dvouhodinové přednášky EKG+Biosignály zbývá už pouze další dvouhodina *demonstrací* různých praktických úloh.

UPLATNĚNÍ NEINVAZIVNÍHO ULTRAZVUKOVÉHO KATETRU PRO DODÁVÁNÍ ENKAPSULOVANÝCH LÉČIV A BIOAKTIVNÍCH FAKTORŮ ZÍSKÁVANÝCH Z KMENOVÝCH BUNĚK

Jaroslav Průcha

Josef Skopalík, Karel Hána

Fakulta biomedicínského inženýrství ČVUT v Praze

Práce se zabývá preklinickým animálním výzkumem cílené lokální distribuce léčiv do oblasti plic zasažených pneumonitidou. Pro tento cíl je využito fokusovaného ultrazvuku a rovněž vysoce echogenních mikrobublin. Výzkum byl realizován jako animální studie na potkanech. V roli léčiv se uplatnily endogenní biologicky aktivní produkty mezenchymálních stromálních buněk (MSCs), a to v podobě exozomů MSCs. Dále bylo využito synteticky připravené miRNA30 enkapsulované do lipozomů společně s endogenními produkty MSCs a rovněž metforminu, též enkapsulovaného do lipozomů. Lokální aplikaci takto připravených produktů v cílových tkáních postiženého plicního parenchymu zajišťoval fokusovaný ultrazvuk, který se potenciálně účinně uplatnil jak zvýšením permeability stěn kapilár (a tím i snazším přechodem exozomů, respektive lipozomů do intersticia), tak rovněž podporou uvolňování enkapsulovaných účinných látek v místech jejich požadovaného uplatnění.

Preklinická animální studie byla uskutečněna na souboru padesáti ZDF potkanů. U 42 z nich bylo realizováno inhalační podání bleomycinu, v jehož důsledku byla vyvolána pneumonitida následovaná postakutní patologií s fibrotizací v oblasti alveolů. Tato experimentální zvířata byla rozdělena do 3 skupin, přičemž jedna skupina byla léčena pouze exozomy obsahujícími endogenní produkty MSCs, druhá skupina metforminem enkapsulovaným v lipozomech, třetí skupině byly podávány lipozomy, ve kterých byla enkapsulována syntetická miRNA30 společně s endogenními produkty MSCs (nativní miRNA30, miRNA126, VEGF, PDGF, IL-10, ...). Každá takto farmakologicky intervenovaná skupina byla ještě rozdělena na vždy 7 jedinců, u nichž byl uplatněn ultrazvukový katetr a dalších 7 jedinců, u kterých uplatněn nebyl. Léčebné přípravky byly podávány infuzí spolu s echogenními mikrobublinami. V intervalu 10 sekund po aplikaci léčebného přípravku byla pod ultrazvukovou diagnostickou kontrolou aplikována série ultrazvukových impulzů fokusovaných do místa postižení plic. Léčebný zásah byl proveden 7. a 10. den po aplikaci bleomycinu. Vyšetření stavu zvířete bylo realizováno 7., 15. a 21. den. Neinvazivním CT plic byl zhodnocen základní profil progresu fibrotizace a míry funkčnosti plic. Post mortem byla z histologických řezů stanovena míra fibrotizace a kvantifikovány markery chronického zánětu (western-blot: IL-1 a IL-6, TGF-beta).

K signifikantnímu potlačení fibrotizace oproti kontrolní skupině došlo jen u metod spojených s aplikací ultrazvukového katetru, a to při aplikaci lipozomů, ve kterých byla enkapsulována syntetická miRNA30 společně s komplexní směsí biologicky aktivních endogenních produktů MSCs. Srovnatelný výsledek poskytl však i lipozomálně enkapsulovaný metformin. U těchto metod byl největší rovněž záchyt vezikul enkapsulovaných léčebných agens. Nejvyšší redukce IL-10 z hodnoty 0,5 pro kontrolní skupinu na hodnotu 0,1 se opět projevila při aplikaci lipozomů, ve kterých byla enkapsulována syntetická miRNA30 společně s komplexní směsí biologicky aktivních endogenních produktů MSCs. Maximální redukce IL-6 se zcela jednoznačně projevila při aplikaci lipozomů, ve kterých byla enkapsulována syntetická miRNA30 společně s komplexní směsí biologicky aktivních endogenních produktů MSCs (z hodnoty 1,9 pro kontrolní skupinu na hodnotu 0,2) a stejně tomu bylo i při kvantifikaci TGF-b (z hodnoty 2,1 pro kontrolní skupinu na hodnotu 0,6). Jednoznačně nejúčinnější je tudíž uplatnění lipozomů, ve kterých byla enkapsulována syntetická miRNA30 společně s komplexní směsí biologicky aktivních endogenních produktů MSCs, ovšem jen za přítomnosti ultrazvukové intervence. Zároveň se ukázalo, že signifikantní účinnost ve všech sledovaných parametrech mají všechny studované metody léčby, pokud jsou doprovázeny lokální fokusovanou aplikací ultrazvuku potřebného výkonu a frekvence.

V předložené pilotní animální studii se ukázalo, že bleomycinem inhalačně indukovaná pneumonitida následovaná postakutní patologií s nastartovanou fibrotizací může být účinně a bezpečně léčena infuzní aplikací lipozomů, ve kterých je enkapsulována syntetická miRNA30 společně s komplexní směsí biologicky aktivních endogenních produktů MSCs. Nezanedbatelnou míru účinnosti ovšem mohou mít rovněž vezikuly s nativními endogenními produkty MSCs nebo lipozomy s enkapsulovaným metforminem. Tyto léčebné efekty byly ohodnoceny prostřednictvím obrazové informace CT, ale především histopatologickým posouzením míry fibrotizace post mortem, jakož i kvantifikací prozánětlivých markerů IL-1, IL-6 a TGF-b. K léčebným efektům ovšem dochází pouze při lokální aplikaci léčiva uskutečňované prostřednictvím fokusovaného vysokointenzitního ultrazvuku, který se zřejmě uplatňuje jak zvýšením permeability stěn kapilár (a tím i snazším přechodem exozomů, respektive lipozomů do intersticia), tak rovněž podporou uvolňování enkapsulovaných účinných látek v místech jejich požadované utilizace.

FW01010106 "Vývoj lékařských přístrojů nové generace s využitím principu translační medicíny a fyzikálních intervencí" FV030393 „Terapeutický ultrazvuk zcela nových parametrů“

PROTECTU: ZVÝŠENÍ BEZPEČNOSTI A NEZÁVISLOSTI DÍKY 24HODINOVÉ VZDÁLENÉ ASISTENCI

L. Habiňák, L. Šedivcová, A. Buchtelová, J. Broulím, K. Hána, J. Kašpar

Společné pracoviště biomedicínského inženýrství FBMI ČVUT a 1.LF UK, Praha, ČR

Úvod: PROTECTU nabízí komplexní 24hodinovou asistenční službu na dálku, jejímž cílem je poskytnout okamžitou podporu osobám, které se ocitly v ohrožení života nebo v nouzi, zejména těm, které mají zdravotní problémy nebo problémy s pohyblivostí. Prostřednictvím chytrého zařízení vybaveného pokročilými funkcemi a ovládáním jedním dotykem udržují uživatelé neustálý kontakt se specializovaným týmem asistentů, který zajišťuje včasnou a účinnou pomoc, kdykoli je potřeba.

Cíl: Naším cílem je objasnit funkčnost a výhody služby vzdálené asistence PROTECTU s důrazem na její uživatelsky přívětivý design, pokročilé inteligentní funkce, profesionální poskytování asistence, globální dostupnost, individuální plány asistence a spolehlivost služby.

Metodika: Vývoj služby vzdálené asistence PROTECTU zahrnoval pečlivé plánování a implementaci nejmodernějších technologií, aby byla zajištěna maximální spokojenost a bezpečnost uživatelů. Chytré zařízení, které je vybaveno nouzovým tlačítkem SOS, dlouhou výdrží baterie, automatickým přijímáním hovorů a funkcí monitorování činnosti, prošlo důkladným testováním a optimalizací, aby bylo zaručeno bezproblémové fungování a účinné zvládnutí krizových situací. Tým asistenční centrály navíc tvoří vyškolení odborníci v oblasti sociálních služeb a zdravotnictví, což zajišťuje rychlou a účinnou reakci na nouzové situace uživatelů.

Výsledky: Služba vzdálené asistence PROTECTU prokázala výjimečnou účinnost a spolehlivost v reálných situacích a poskytuje uživatelům okamžitý přístup k profesionální asistenci bez ohledu na jejich umístění. Pokročilé funkce chytrého zařízení, včetně automatické detekce nepohyblivosti a nadměrného nabíjení, přispívají k proaktivnímu řízení rizik a zvýšení bezpečnosti uživatelů. Globální dostupnost služby navíc zajišťuje uživatelům a jejich rodinám klid, protože vědí, že pomoc je vždy na dosah.

Závěr: Závěrem lze říci, že služba vzdálené asistence PROTECTU představuje pokrok v oblasti technologie reakce na mimořádné události pro osoby s různými speciálními potřebami. Kombinací uživatelsky přívětivého designu, pokročilých inteligentních funkcí, profesionálního poskytování asistence, globální dostupnosti, personalizovaných asistenčních plánů a spolehlivosti služby zajišťuje PROTECTU optimální podporu a klid pro uživatele a jejich rodiny a umožňuje jim žít plnohodnotný život s důvěrou.

TELEMEDICÍNSKÝ NÁSTROJ PRO AUTOMATIZOVANÉ GENEROVÁNÍ DIABETICKÝCH DENÍKŮ

J. Mužík (1,2), A. Holubová (1), M. Doksanský (1), M. Poláček (1), D. Fiala (1), M. Mužný (2), M. Vlasáková (2), K. Hána (1), J. Kašpar (1), P. Smrčka (1), M. Kvapil (3), J. Brož (3)

(1) Katedra informačních a komunikačních technologií v lékařství, Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze (2) Centrum podpory aplikačních výstupů a spin-off firem, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze (3) Interní klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Úvod: K dosažení dobré glykemické kontroly je třeba dodržovat časté a pravidelné měření glykemií a dále si zaznamenávat mnoho údajů jako jsou inzulínové dávky, sněžené sacharidy či fyzická aktivita. Zejména v období před návštěvou lékaře je třeba všechny tyto události registrovat, aby mohl diabetolog adekvátně posoudit aktuální zdravotní stav pacienta a vhodně mu upravit léčbu v případě problémů ve stávajícím léčebném režimu. Počítače a mobilní technologie pacientům podstatně ulehčují evidenci těchto údajů, nicméně vzhledem k absenci jednotného standardu pro formát záznamů s výsledky je mnoho diabetologů stále odkázáno na papírové deníky, které si pacienti na kontroly sami přinesou. Není totiž možné v praxi od lékaře požadovat, aby disponoval veškerými dostupnými softwarovými aplikacemi a používal tu či onu podle toho, kterou zrovna daný pacient preferuje nebo je kompatibilní s jeho léčebnými pomůckami.

Cíl: Naším cílem bylo tedy zajistit sběr a zpracování dat, pokud možno co nejvíce automatizovaný, a uspořádat je do jednoduché a názorné tabulkové formy. Výhodou automatizování sběru je mimo jiné to, že pacient nemůže data úmyslně či neúmyslně modifikovat a v případě sdílení deníku online nemůže dojít k tomu, že si pacient deník nepřinese.

Metodika: Pro sběr dat jsme využili různých zdrojů, která jsou více či méně automaticky importována do centrální databáze: mobilní aplikace Diabetesdagboka s podporou chytrých hodinek Pebble, kontinuální monitory glykémie, inzulínové pumpy, Bluetooth glukometry, krokoměry, bioimpedanční váhy aj. Data mohou být zobrazena ve formě grafů či tabulek přes webovou aplikaci, ale mohou být také vytištěna ve formátu pdf a prezentována diabetologovi, popřípadě zaslána prostřednictvím emailu.

Výsledky: Vytvořili jsme webovou aplikaci, která kombinuje data o diabetikovi z různých zdrojů do jednoduché a přehledné tabulkové formy. Ta obsahuje celodenní záznamy, hodinu po hodině, které si pacient registruje pomocí zařízení, jimiž je vybaven. V tabulce se objevují hodnoty aplikovaných dávek inzulínu, zkonsumovaných sacharidů a změřených glykemií. Rovněž je zde zobrazena fyzická aktivita měřená krokoměrem ve formě součtu ušlých kroků za hodinu, pokud je překročena nastavená hraniční hodnota intenzity zátěže, případně pacientovy manuální poznámky o konkrétním druhu fyzické aktivity.

Závěr: Uvedené řešení může pomoci širší adopci informačních a komunikačních technologií v oblasti monitoringu a kompenzace diabetu v současném přechodném období, kdy se pacienti i lékaři postupně učí využívat možnosti telemedicíny. V blízké budoucnosti by již standardizace mohla umožnit automatický přenos dat ze všech patientských zařízení přímo do nemocničního informačního systému. Do té doby je však zde prezentovaná forma výstupů pro lékaře vhodným nástrojem pro intenzifikovanou terapii diabetických pacientů.

TELEREHABILITAČNÍ TECHNOLOGIE PRO INTERAKTIVNÍ TERAPII

Šedivcová L. (1), Pilatová K. (2), Kašpar J. (2), Hána K. (1), Habiňák L. (1), Buchtelová A. (1)

(1) Společné pracoviště biomedicínského inženýrství FBMI ČVUT a 1.LF UK, Praha, ČR (2) Centrum pro eHealth a telemedicínu, 1.LF UK, Kladno, ČR

Úvod: Nástup telerehabilitační technologie způsobil revoluci v oblasti terapeutických intervencí, zejména pokud jde o umožnění vzdáleného přístupu k rehabilitačním službám. V této souvislosti se náš výzkum zaměřuje na vývoj a implementaci cloudového systému přizpůsobeného pro interaktivní terapii. Tento systém je navržen tak, aby usnadňoval domácí rehabilitaci prostřednictvím uživatelsky přívětivých rozhraní, možností terapeutického plánování, funkcí pro správu dat a bezproblémové komunikace mezi pacienty a terapeuty.

Cíl: Hlavním cílem studie je vyhodnotit účinnost a proveditelnost využití našeho telerehabilitačního systému v různých klinických prostředích. Konkrétně se snažíme posoudit jeho užitečnost pro zvýšení zapojení pacientů, zlepšení terapeutických výsledků a optimalizaci poskytování rehabilitačních intervencí v různých lékařských oblastech.

Metodika: Vývoj cloudového telerehabilitačního systému zahrnoval multidisciplinární přístup kombinující odborné znalosti v oblasti softwarového inženýrství, rehabilitačních věd a designu uživatelského prostředí. Klíčové součásti systému zahrnují rozhraní na bázi tabletu vybavené terapeutickým softwarem, možnosti monitorování fyzické aktivity, integraci stabilometrické plošiny a senzory pro terapii horní končetiny. Prostřednictvím iterativních procesů návrhu a zpětné vazby od uživatelů byl systém zdokonalen, aby byla zajištěna jeho použitelnost, přístupnost a účinnost při podpoře domácí rehabilitace.

Výsledky: Předběžné výsledky pilotních studií ukazují slibné výsledky, pokud jde o účinnost a přijatelnost telerehabilitačního systému u různých skupin pacientů. V neurologii systém prokázal potenciál při zlepšování tréninku stability, koordinace pohybů a podpory kognitivních funkcí. V ortopedii usnadnil aktivaci pohybového aparátu, zlepšení fyzické kondice, rozsahu pohybu a síly. V geriatrici navíc systém přispěl k prevenci pádů, zvýšil motivaci a usnadnil sociální interakci starších pacientů.

Závěr: Závěrem lze říci, že cloudový telerehabilitační systém představuje pokrok v oblasti rehabilitačních technologií, protože nabízí terapeutické intervence na míru, možnost vzdáleného monitorování a lepší zapojení pacientů. Díky podpoře aktivního zapojení pacientů do terapie v domácím prostředí, individuálnímu plánování léčby a poskytování rozmanitého souboru cvičení má tento systém obrovský potenciál pro zlepšení výsledků rehabilitace a překonání překážek v přístupu k tradičním rehabilitačním službám. Do budoucna je třeba vyvinout další úsilí v oblasti výzkumu a implementace, aby bylo možné plně využít přínosů telerehabilitační technologie v různých prostředích klinické praxe.

Rejstřík autorů

- A**
- Alferi, 12
Amler, 10, 21, 28, 49
- B**
- Bajgar, 31
Balek, 48, 49
Beneš, 17, 22, 46
Bernard, 25, 26, 35
Bezrouk, 36
Binder, 34
Bober, 28
Bochnička, 39
Bolek, 9, 18, 22
Braška, 13
Broulím, 52
Brousil, 9, 18
Brož, 53
Buchtelová, 52, 54
- C**
- Celec, 41
Cruciani, 21
- Č**
- Červenková, 9, 18
- D**
- Dalecká, 17
Dejmek, 18
Dilenko, 16, 30, 37
Divín, 10
Doksanský, 53
Dostál, 11, 47
Dulanská, 40
Dunlop, 17
- F**
- Fiala, 53
Filová, 28
Fojt, 12
- G**
- Gardlík, 41
Géci, 28
Gemainer, 42
Grajciarová, 9
Groborz, 17
- H**
- Habiňák, 52, 54
Hána, 14, 27, 51, 52, 53, 54
Hanáková, 30
Hanusová, 14, 27
Hanuš, 12, 15
Heřman, 10, 48, 49
- Hložková, 34
Hochvaldová, 20
Holacká, 10
Holubová, 53
Honner, 7
Hoogenboom, 17
Hošíková, 16, 19, 30, 32, 44
Hovořáková, 17
Hrubý, 17
Hrušák, 23
- J**
- Jarosíková, 21
Jirásková, 39
Jírová, 31
Jiřík, 8, 9
Jůza, 11, 47
- K**
- Kadlec, 17
Kašpar, 52, 53, 54
Kavalírek, 14, 27
Kejlová, 31
Keřkovský, 47
Keša, 17
Kolář, 20, 31
Kolaříková, 16, 19, 20, 30, 31, 32, 37
Kolářová, 14, 16, 19, 20, 22, 27, 30, 31, 32, 37
Kolouchová, 17
Konečná, 41
Kopáni, 41, 42
Kopeček, 36
Kopřivová, 47
Kordek, 45
Kosnáč, 42
Kozlíková, 40
Kremláček, 39
Krucichová, 15
Krunclová, 17
Kvapil, 53
- L**
- Lamoš, 39
Langrová, 39
Liška, 8, 9, 18
Loukotová, 17
- M**
- Machala, 41
Maioli, 21
Malečková, 9
Malina, 16, 30, 31, 32, 37
Mareček, 39
Martino, 21
Massaro, 9, 18
Mašín, 43
Matouš, 17
Matsviayonak, 18
Melo, 17
Mikl, 39
Mistrík, 20
Mornstein, 25, 26

Moulisová, 9, 18
Mužík, 53
Mužný, 53

N

Nečasová, 49
Nekolová, 39
Nevyhoštěná, 38
Novotný, 10

P

Pálek, 9, 18
Panáček, 20
Pankrác, 17
Páral, 17
Pashchenko, 10, 49
Pastorek, 41
Pásztor, 41
Paščenko, 21
Pavlíková, 17
Pierzynová, 17
Pilatová, 54
Pokorná, 35
Poláček, 53
Polák, 42
Procházka, 33, 38
Prokupek, 21
Průcha, 51

R

Rosendorf, 9

S

Sabo, 28
Salzman, 34
Scheer, 34
Skopalík, 51
Slanina, 17
Smrčka, 53
Smutný, 36

Sněhota, 32, 44
Sochorová, 29
Sopko, 21
Staffa, 35
Svobodová, 31, 46
Szanyi, 39

Š

Šarčević, 9, 18
Šedivcová, 52, 54
Šefc, 17
Ševčík, 9, 18
Šimo, 35
Šrámek, 17
Štěpánek, 17, 46
Šupčíková, 41
Šuráň, 6, 22
Švec, 17

T

Tejral, 10, 49
Tománková, 16, 30, 31
Tóthová, 41
Tyč, 15

V

Vachutka, 44
Válková, 16, 20, 30, 31, 37
Varvarovská, 21
Večeřová, 20, 30, 31
Vitoul, 34
Vlasáková, 53
Vlierberghe, 17
Vlk, 11, 25, 26
Voda, 45
Volák, 18
Volenec, 24

Z

Zeman, 33, 38

Vydavatel:

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni
Alej Svobody 76, Plzeň
ISBN 978-80-88120-34-6