

Obsah:

A.1. Experiment v chirurgických oborech (Liška, Brůha, Vyčítal, Křečková)	19
A.1.1. Historie využití pokusných a laboratorních zvířat	19
A.1.1.1. Poznávání stavby těla v pravěku a starověku	19
A.1.1.2. Úpadek medicíny středověku	19
A.1.1.3. Renesance medicíny, medicína renesance	19
A.1.1.4. Zrození experimentu	20
A.1.1.5. Ustanovení moderních vědeckých přístupů	21
A.1.2. Význam experimentální práce pro současnou medicínskou praxi	22
A.1.2.1. Experiment na zvířeti	23
A.1.2.2. Buněčná a tkáňová kultura	23
A.2. Práce s experimentálními zvířaty – zákonná a etická omezení (Pitule, Brůha, Vyčítal, Liška)	24
A.2.1. Etické aspekty práce s laboratorními zvířaty	24
A.2.1.1. Úvod	24
A.2.1.2. Historický vývoj	24
A.2.1.3. Zásada tří R	24
A.2.1.4. Závěr	25
A.2.2. Právní normy související s ochranou pokusných zvířat	25
A.2.2.1. Přímá ochrana zvířat proti týrání	26
A.2.2.2. Evropské normy týkající se přímé ochrany zvířat proti týrání	26
A.2.2.3. Nepřímá ochrana zvířat	26
A.2.2.4. Formulář Etické komise Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni	27
A.3. Technika práce s experimentálními zvířaty (Brůha, Vyčítal, Beneš, Křečková, Třeška, Skalický, Liška)	29
A.3.1. Úvod, biologie a chov zvířat, pokusná a laboratorní zvířata	29
A.3.1.1. Základní potřeby laboratorních zvířat	29
A.3.1.2. Systémy chovu experimentálních zvířat	30
A.3.1.4. Výčet a charakteristiky nejznámějších experimentálně užívaných druhů	30
A.3.2. Podávání léčiv, anesteziologická péče a předoperační příprava	31
A.3.2.1. Úvod	31
A.3.2.2. Základní anesteziologické postupy a metody	31
A.3.2.2.1. Typy anesteziologické péče a možnosti jejich navození	31
A.3.2.2.2. Možné způsoby aplikace léků	32
A.3.2.3. Základní přehled látek použitelných k anestezii laboratorních zvířat	32
A.3.2.3.1. Anestetika	32
A.3.2.3.2. Analgetika	33
A.3.2.3.3. Svalová relaxancia	33
A.3.2.4. Základní zajištění laboratorního zvířete k anestezii - předoperační příprava	33
A.3.3. Monitorace a podpora vitálních funkcí v průběhu anestezie laboratorního zvířete	34
A.3.3.1. Úvod	34
A.3.3.2. Základní klinické sledování zvířete v anestezii	34
A.3.3.2.1. Monitorace ventilace a oxygenace	34
A.3.3.2.2. Monitorace kardiiovaskulárního systému	36
A.3.3.3. Hodnoty základních vitálních funkcí jednotlivých druhů zvířat	36
A.3.3.4. Možnosti ventilační podpory a monitorace plicních funkcí	37
A.3.3.5. Rozšířená monitorace hemodynamiky a perfúze jednotlivých orgánů	37
A.3.3.6. Laboratorní metody	38
A.3.3.7. Experimentální metody	38
A.3.3.7.1. Monitorace tkáňového kyslíku	38
A.3.3.7.2. Možnosti sledování mikrocirkulace	38
A.3.4. Anestezie, analgezie, pooperační péče	39
A.3.4.1. Úvod	39
A.3.4.2. Anestezie malých laboratorních zvířat	39
A.3.4.2.1. Obecné výhody a nedostatky při použití malých zvířat v laboratorním experimentu	39
A.3.4.2.2. Anesteziologické postupy u malých zvířat	39
A.3.4.3. Anestezie velkých laboratorních zvířat	40
A.3.4.3.1. Základní postup a zajištění zvířete	40

A.3.4.3.2. Intenzivní péče ve zvířecím experimentu	40
A.3.4.4. Analgezie	41
A.3.4.4.1. Bolest a její projevy u experimentálních zvířat	41
A.3.4.4.2. Léčiva použitelná k tlumení bolesti	41
A.3.4.5. Pooperační péče	43
A.3.4.6. Eutanázie	43
A.3.4.6.1. Základní etické předpoklady usmrcení experimentálního zvířete	43
A.3.4.6.2. Možné postupy	43
A.3.5. Základní pravidla chirurgické práce	44
A.3.5.1. Asepsa a antiseptika	46
A.3.5.1.1. Chirurgické mytí rukou	46
A.3.5.1.2. Příprava operačního pole	46
A.3.5.1.3. Oblékání operačního pláště a rukavic	46
A.3.5.1.4. Zarouškování operačního pole	52
A.3.5.2. Dezinfekce a sterilizace	52
A.3.5.2.1. Dezinfekce	52
A.3.5.2.2. Sterilizace	53
A.3.5.3. Základní chirurgické výkony	58
A.3.5.3.1. Příprava na operaci a uspořádání operačního sálu	58
A.3.5.3.2. Stavění krvácení	59
A.3.5.3.3. Preparace	59
A.3.5.3.4. Technika uzlení	59
A.3.5.3.5. Technika šití anastomózy	59
A.3.5.3.6. Drenáž	62
A.3.5.4. Chirurgické přístupy	62
A.3.5.4.1. Laparotomie	62
A.3.5.4.2. Torakotomie	69
A.3.5.4.3. Sternotomie	69
A.3.5.5. Pooperační péče a pooperační komplikace	69
A.3.5.5.1. Pooperační péče	69
A.3.5.5.2. Pooperační komplikace	70
A.3.5.5.2.1. CNS a metabolické komplikace	70
A.3.5.5.2.2. Oběhové komplikace	70
A.3.5.5.2.3. Respirační komplikace	70
A.3.5.5.2.4. Komplikace na GIT	70
A.3.5.5.2.5. Močové komplikace	70
A.3.5.5.2.6. Komplikace v ráně	70
A.3.6. Příklady experimentální práce	70
A.3.6.1. Experimentální model užití cytokinů v regeneraci jater po embolizaci portální žíly	70
A.3.6.1.1. Vliv cytokinů a růstových faktorů na regeneraci jater	70
A.3.6.1.2. Embolizace větve portální žíly	71
A.3.6.1.3. Metodika experimentální studie ligace pravé větve portální žíly	71
A.3.6.1.4. Výsledky studie	75
A.3.6.1.5. Závěry studie	76
A.3.6.2. Časná aplikace monoklonální protilátky proti Transforming Growth Faktor Beta-1 před rozsáhlým resekcí výkonem na játrech – experiment na velkém zvířeti	77
A.3.6.2.1. Úvod	77
A.3.6.2.2. Fáze před resekcí	77
A.3.6.2.3. Fáze resekcí a pooperační období	78
A.3.6.2.3.1. Operativa	78
A.3.6.2.3.2. Biochemie	78
A.3.6.2.3.3. Ultrasonografie	78
A.3.6.2.3.4. Ukončení experimentu	78
A.3.6.2.5. Statistická analýza	78
A.3.6.3. Experimentální model regenerace jater v toxicky poškozeném jaterním parenchymu, experiment na prasati domácím	81
A.3.6.3.1. Metabolismus aminokyselin, sacharidů a lipidů v játrech	81
A.3.6.3.2. Steatóza	82
A.3.6.3.3. Alkoholová steatóza (Alcohol fatty liver disease - AFLD)	82

A.3.6.3.4. Nealkoholová steatóza (Non - alcohol fatty liver disease – NAFLD)	82
A.3.6.3.5. Steatohepatitis	83
A.3.6.3.6. Alkoholová steatohepatitida (Alcohol Steatohepatitis - ASH)	83
A.3.6.3.7. Nealkoholová steatohepatitida (Non-alcoholic steatohepatitis - NASH)	83
A.3.6.3.8. Chemoterapií vyvolaná steatohepatitida (Chemotherapy Associated Steato – Hepatitis - CASH)	83
A.3.6.3.9. Fibróza jater	84
A.3.6.3.10. Transformující růstový faktor β (Transforming Growth Factor- β /TGF β /)	84
A.3.6.3.11. Východiska experimentální studie regenerace jater v toxicky postiženém jaterním parenchymu	84
A.3.6.3.12. Metodika experimentální studie regenerace jater v toxicky postiženém jaterním parenchymu	85
A.3.6.3.13. Výsledky experimentální studie regenerace jater v toxicky postiženém jaterním parenchymu	86
A.3.6.3.14. Závěr studie	89
A.3.6.4. Experimentální model biliární obstrukce – pilotní studie	90
A.3.6.4.1. Operativa	91
A.3.6.4.2. Pooperační období	91
A.3.6.4.3. Biochemie	91
A.3.6.4.4. Ultrasonografie	91
A.4. Náhradní modely bez použití experimentálních zvířat (Pešta, Souček)	96
A.4.1. Použití tkáňových modelů ve farmakogenetice nádorových onemocnění	96
A.4.1.1. Úvod	96
A.4.1.2. Definice farmakogenetiky a historický přehled	96
A.4.1.3. Cytostatika a jejich mechanismus účinku	96
A.4.1.4. Mechanismy resistance vůči cytostatikům	97
A.4.1.5. Buněčné a tkáňové modely používané ke studiu účinků cytostatik	99
A.4.1.6. Současnost a budoucnost klinických aplikací farmakogenetiky v onkologii	100
A.4.2. Buněčné linie – in vitro model chování nádorů	100
A.4.2.1. Historie a oblasti využití buněčných kultur	100
A.4.2.2. Typy buněčných kultur	105
A.4.2.3. Růstový cyklus buněčných kultur	106
A.4.2.4. Vybavení potřebné pro kultivaci buněk in vitro	108
A.4.2.5. Základní postupy s buňkami v buněčné kultuře	109
A.4.2.5.1. Pasážování buněk	109
A.4.2.5.2. Zamrazení buněčné kultury	109
A.4.2.6. Prostředí kultivace buněčných kultur	110
A.4.2.7. Nádorové buněčné linie	111
A.4.2.8. Kultivace buněk nádorových linií	111
A.4.2.9. Autentizace buněčných linií	112
A.4.2.10. Metody studia nádorových buněčných linií, výzkum mechanismu působení léků na cílové buňky	112
A.4.2.10.1. Stanovení exprese na úrovni RNA	113
A.4.2.10.2. Testy hodnotící buněčnou proliferaci a viabilitu	113
A.4.2.10.3. Metody detekce proliferace apoptózy a nekrózy buněk	114
A.4.2.10.4. BromDeoxyUridin (BrdU) proliferační test	114
A.4.2.10.5. Analýza buněk v reálném čase	115
A.4.2.10.6. Test buněčně zprostředkované cytotoxicity	115
A.4.2.10.7. Průtoková cytometrie	115
A.4.2.10.8. Savčí expresní systémy	116
A.5. Zobrazovací metody (Mírka, Tonar, Baxa, Tupý, Ferda)	119
A.5.1. Nové trendy v radiologickém zobrazování	119
A.5.1.1. Trojrozměrné zobrazování	119
A.5.1.1.1. Rekonstrukční algoritmy 3D zobrazení	120
A.5.1.1.2. Specifika 3D a 4D ultrasonografie	121
A.5.1.2. Počítačem asistovaná diagnostika	122
A.5.1.2.1. CAD malých plicních uzlů	122
A.5.1.2.2. CAD střevních polypů	126
A.5.1.2.3. CAD karcinomu prsu	126
A.5.1.2.4. CAD plicních embolů	127
A.5.1.3. Funkční zobrazování	127
A.5.1.3.1. Úvod	127

A.5.1.3.2. Příklady metod nukleární medicíny	127
A.5.1.3.3. Zobrazení perfuze pomocí výpočetní tomografie	128
A.5.1.3.4. Perfuzní vyšetření pomocí magnetické rezonance	137
A.5.1.3.5. Perfuzní vyšetření pomocí kontrastní ultrasonografie	139
A.5.1.4. Zobrazení metabolické a buněčné aktivity	140
A.5.1.4.1. Hybridní zobrazení PET/CT	140
A.5.1.4.2. Hybridní zobrazení SPECT/CT	141
A.5.1.4.3. Hodnocení buněčných funkcí magnetickou rezonancí	142
A.5.1.4.4. Hodnocení metabolismu spektroskopii magnetickou rezonancí	142
A.5.1.5. Současné a moderní trendy v zobrazování srdce pomocí výpočetní tomografie	143
A.5.1.5.1. Historie	143
A.5.1.5.2. Technické aspekty akvizice a rekonstrukce dat	144
A.5.1.5.3. Aplikace kontrastní látky	144
A.5.1.5.4. Statické zobrazení srdce	145
A.5.1.5.5. Dynamické a funkční zobrazení	147
A.5.1.5.6. Perfuzní (molekulární) zobrazení	147
A.5.1.5.7. CT perfuze	149
A.5.1.5.8. Zobrazení duální energií záření	151
A.5.2. Radiologické zobrazovací metody v experimentu	151
A.5.2.1. Rentgenové zobrazovací metody	152
A.5.2.2. Mikro-CT	152
A.5.2.3. Ultrasonografie	153
A.5.2.4. Magnetická rezonance	154
A.5.2.4.1. Zobrazování magnetickou rezonancí, magnetic resonance imaging (MRI)	154
A.5.2.4.2. MR spektroskopie, magnetic resonance spectroscopy (MRS)	154
A.5.2.4.3. Funkční magnetická rezonance, functional magnetic resonance imaging (fMRI)	154
A.5.2.4.4. Difuzně vážené obrazy, diffusion weighted imaging (DWI), diffusion tensor imaging (DTI)	154
A.5.2.5. Využití metod nukleární medicíny v experimentech	154
A.5.2.5.1. Úvod	154
A.5.2.5.2. Pozitronová emisní tomografie (PET)	154
A.5.2.5.3. Jednofotonová emisní tomografie (SPECT)	155
A.5.2.5.4. Hybridní systémy	155
A.5.3. Mikroskopické techniky	155
A.5.3.1. Úvod	155
A.5.3.2. Historie mikroskopie	
A.5.3.3. Základní principy a pojmy mikroskopie	156
A.5.3.4. Fyzikální základy mikroskopických metod	156
A.5.3.5. Optický mikroskop	156
A.5.3.6. Pozorovací techniky ve světelné mikroskopii	157
A.5.3.7. Transmisní elektronová mikroskopie	158
A.5.3.8. Rastrovací elektronová mikroskopie	158
A.5.3.9. Laserová mikrodisekce	158
A.5.3.10. Snímání a digitalizace obrazu v mikroskopii	158
A.5.3.11. Typy objektivů	159
A.5.3.12. Postup při výrobě histologických preparátů	159
A.5.3.13. Mikroskopická lokalizace a dynamika biologických molekul	160
A.5.3.14. Základy imunohistochemie	160
A.5.3.15. Imunohistochemický protokol	162
A.6. Statistické metody (Kormunda)	169
A.6.1. Historie statistiky, aneb „odkud přicházíme, kde stojíme a kam směřujeme“	169
A.6.2. Typy dat, grafická prezentace, Gaussova křivka, základní deskriptivní veličiny	169
A.6.3. Testování statistických hypotéz	173
A.6.4. Doplnění k testování hypotéz - „testy polohy“ a další vybrané testy	174
A.6.5. Analýza přežití, Kaplan – Meier křivky, Hazard Ratio, Cox regression hazard model	176
A.6.6. Disease Free Survival / Progression Free Survival	178
A.7. Regenerace tkání a orgánů (Králičková)	180
A.7.1. Základní pojmy v oblasti regeneračních procesů tkání a orgánů	180

A.7.2. Vztah kmenových buněk (KB) a regeneračních procesů	180
A.7.2.1. Dospělé kmenové buňky	180
A.7.2.1.1. Základní vlastnosti dospělých (adultních) kmenových buněk	180
A.7.2.1.2. Charakterizace kmenových buněk – současný stav a jeho nedostatky	180
A.7.2.1.3. Dospělé kmenové buňky s potenciálem v terapii různých onemocnění	180
A.7.2.1.4. Co všechno nevíme a proč to zatím nefunguje podle našich představ?	181
A.7.2.2. Mají i jiné než dospělé kmenové buňky přínos pro regeneraci tkání?	181
A.7.2.2.1. Embryonální kmenové buňky – definice, základní vlastnosti, přínos	181
A.7.2.2.2. Fetální kmenové buňky	181
A.7.2.2.3. Nádorové kmenové buňky	181
A.7.2.2.4. Kmenové buňky na pomezí klasifikací a jejich zdroje – plodová voda, placenta	181
A.7.2.2.5. Terapeutické klonování	181
A.7.3. Co všechno musíme pochopit a umět udělat s kmenovými buňkami, než je použijeme k terapii	182
A.7.3.1. Kultivace kmenových buněk	182
A.7.3.1.1. Historie – první kroky, přelomové okamžiky	182
A.7.3.1.2. Současné možnosti – co funguje a co naopak „neumíme“	182
A.7.3.2. Diferenciace kmenových buněk	182
A.7.3.2.1. Neurodiferenční postupy	182
A.7.3.2.2. Chondrogenní diferenciální postupy, tvorba elementů kostní tkáně	182
A.7.3.2.3. Kardiomyocyty a endotelie – jejich význam v terapii?	182
A.7.4. Modelace tkání a orgánů	182
A.7.5. Je budoucnost v tkáňové terapii nebo v návratu k definovaným působcům?	182
A.7.5.1. Argumenty pro a proti z hlediska biologického	183
A.7.5.2. Argumenty pro a proti z hlediska legislativního	183
A.7.5.3. Argumenty pro a proti z hlediska etického	183