

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Biochemie a patobiochemie



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

MUDr. Sabina Strohalmová

VÝZNAM NOVÝCH BIOMARKERŮ U POOPERAČNÍCH STAVŮ

THE SIGNIFICANCE OF NOVEL BIOMARKERS IN POSTOPERATIVE CONDITIONS

Disertační práce

Školitelka: prof. MUDr. Marta Kalousová, PhD.

Praha, 2024

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně, a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze dne

MUDr. Sabina Strohalmová

Identifikační záznam:

STROHALMOVÁ, Sabina. *Význam nových biomarkerů u pooperačních stavů. [The significance of novel biomarkers in postoperative conditions.]*. Praha, 2024. Počet stran 160, počet příloh 2. Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK v Praze. Vedoucí práce prof. MUDr. Marta Kalousová, PhD.

Poděkování

Chtěla bych poděkovat prof. MUDr. Martě Kalousové, Ph.D., Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, mé školitelce. Její profesionální přístup, vedení a podpora mi umožnily zpracovat tento projekt.

Dále bych chtěla vyjádřit své poděkování prof. MUDr. Zdeňku Krškovi, DrSc., přednostovi I. chirurgické kliniky hrudní, břišní a úrazové chirurgie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a zástupci přednosta doc. MUDr. Davidu Hoskovci, Ph.D., kteří mi poskytli příležitost provádět na uvedeném pracovišti klinický výzkum a zajistili mi k tomu vstřícné podmínky.

Děkuji také prof. MUDr. Tomáši Zimovi, DrSc., MBA, přednostovi Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze za možnost realizovat a zpracovávat výzkum na jeho pracovišti.

Moje poděkování patří i kolektivu lékařů a sester I. chirurgické kliniky hrudní, břišní a úrazové chirurgie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a pracovníkům Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze za odbornou spolupráci. Můj projev díky patří zejména RNDr. Kateřině Levové, PhD., odborníku na statistiku Mgr. Aleši Antonínu Kuběnovi, PhD. a laborantkám Ditě Hudcové a Marcele Bartákové.

Tato práce byla financována výzkumnými projekty a granty Ministerstva zdravotnictví České republiky a Karlovy univerzity (MZ ČR DRO VFN 64165, EF16_013/0001674, Progres Q25, Cooperatio Laboratory Diagnostics and Surgical Disciplines – Abdominal Surgery, SVV 260524/2020, SVV60524, SVV260630).

Obsah:

Prohlášení.....	2
Identifikační záznam.....	3
Poděkování.....	4
Obsah.....	5
Abstrakt.....	11
Abstract.....	12
Seznam zkratek.....	13

1. Úvod

1.1. Klinická problematika.....	16
1.1.1. Cholecystolitiáza.....	16
1.1.1.1 Cholecystektomie.....	24
1.1.2. Hernie.....	29
1.1.2.1. Pupeční kýla.....	33
1.1.2.2. Tříselná kýla.....	35
1.1.3. Akutní apendicitida.....	43
1.1.3.1. Apendektomie.....	47
1.2. Biomarkery.....	49
1.2.1. Matrixové metalloproteinázy a tkáňové inhibitory metalloproteináz.....	49
1.2.1.1. Matrixové metalloproteinázy.....	50
1.2.1.1.1. Matrixová metalloproteináza 1.....	53
1.2.1.1.2. Matrixová metalloproteináza 2.....	54
1.2.1.1.3. Matrixová metalloproteináza 3.....	54
1.2.1.1.4. Matrixová metalloproteináza 4, 5, 6.....	55
1.2.1.1.5. Matrixová metalloproteináza 7.....	55
1.2.1.1.6. Matrixová metalloproteináza 8.....	56
1.2.1.1.7. Matrixová metalloproteináza 9.....	56
1.2.1.1.8. Matrixová metalloproteináza 10.....	56
1.2.1.1.9. Matrixová metalloproteináza 11.....	57
1.2.1.1.10. Matrixová metalloproteináza 12.....	57
1.2.1.1.11. Matrixová metalloproteináza 13.....	57

1.2.1.1.12. Matrixová metalloproteináza 14.....	58
1.2.1.1.13. Matrixová metalloproteináza 15.....	58
1.2.1.1.14. Matrixová metalloproteináza 16.....	58
1.2.1.1.15. Matrixová metalloproteináza 17.....	58
1.2.1.1.16. Matrixová metalloproteináza 18.....	59
1.2.1.1.17. Matrixová metalloproteináza 19.....	59
1.2.1.1.18. Matrixová metalloproteináza 20.....	59
1.2.1.1.19. Matrixová metalloproteináza 21.....	59
1.2.1.1.20. Matrixová metalloproteináza 22.....	60
1.2.1.1.21. Matrixová metalloproteináza 23.....	60
1.2.1.1.22. Matrixová metalloproteináza 24.....	60
1.2.1.1.23. Matrixová metalloproteináza 25.....	60
1.2.1.1.24. Matrixová metalloproteináza 26.....	60
1.2.1.1.25. Matrixová metalloproteináza 27.....	61
1.2.1.1.26. Matrixová metalloproteináza 28.....	61
1.2.1.1.27. Matrixová metalloproteináza 29.....	61
1.2.1.2. Tkáňové inhibitory metalloproteináz.....	61
1.2.1.2.1. Tkáňový inhibitor metalloproteináz 1.....	62
1.2.1.2.2. Tkáňový inhibitor metalloproteináz 2.....	63
1.2.1.2.3. Tkáňový inhibitor metalloproteináz 3.....	63
1.2.1.2.4. Tkáňový inhibitor metalloproteináz 4.....	63
1.2.2. Alarminy a související molekuly.....	64
1.2.2.1. Soluble receptor for advanced glycation end products.....	64
1.2.2.2. Extracellular newly identified receptor for advanced glycation end products binding protein	65
1.2.2.3. Kalprotektin.....	66
1.2.2.4. High mobility group box 1	66
1.2.2.5. Interleukin-6.....	67
2. Hypotéza a cíle práce.....	69
2.1. Hypotéza.....	69
2.2. Cíle práce.....	69
2.2.1. Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz.....	69

2.2.2. Studie alarminů a souvisejících molekul.....	70
3. Metodika.....	71
3.1. Sledované skupiny.....	71
3.1.1. Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz.....	72
3.1.2. Studie alarminů a souvisejících molekul.....	73
3.2. Laboratorní metody.....	76
3.2.1. Sběr vzorků.....	76
3.2.2. Laboratorní analýza.....	76
3.2.2.2. Analýza matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz.....	77
3.2.2.1. Milliplex MAP Magnetic Bead Panel 2 Kit.....	77
3.2.2.2. Milliplex MAP Human TIMP Magnetic Bead Panel 1 Kit.....	79
3.2.3. Analýza alarminů a souvisejících molekul.....	81
3.2.3.1. Stanovení sRAGE (Soluble receptor for advanced glycation end products).....	82
3.2.3.2. Stanovení EN-RAGE (Extracellular newly identified receptor for advanced glycation end products binding protein).....	83
3.2.3.3. Stanovení HMGB1 (High mobility group box 1).....	84
3.2.3.4. Stanovení kalprotektinu.....	86
3.2.3.5. Stanovení Interleukin-6.....	87
3.3. Statistická analýza.....	88
3.3.1. Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz.....	88
3.3.2. Studie alarminů a souvisejících molekul.....	88
4. Výsledky.....	89
4.1. Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz.....	89
4.2. Studie alarminů a souvisejících molekul.....	96
5. Diskuse.....	109
5.1. Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz.....	109
5.2. Studie alarminů a souvisejících molekul	112
6. Závěr.....	115

6.1. Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů	
metalloproteináz.....	115
6.2. Studie alarminů a souvisejících molekul.....	116
Literatura.....	118
Seznam publikací autora.....	142
Přílohy.....	143

Seznam tabulek:

Tabulka č. 1: Příznaky peritoneálního dráždění u apendicitidy.

Tabulka č. 2: Procesy ovlivňované matrixovými metalloproteinázami.

Tabulka č. 3: Základní laboratorní charakteristika pacientů před elektivní plastikou tříselné kýly a kontrolní skupiny.

Tabulka č. 4: Základní laboratorní charakteristika pacientů před elektivní cholecystektomií a plastikou pupeční a tříselné kýly a kontrolní skupiny.

Tabulka č. 5: Základní laboratorní charakteristika pacientů s náhlou příhodou břišní indikovaných k akutní revizi dutiny břišní.

Tabulka č. 6: Koncentrace matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz v séru pacientů s tříselnou kýlou a kontrolní skupiny.

Tabulka č. 7: Koncentrace alarminů a souvisejících molekul v séru pacientů před elektivní cholecystektomií a plastikou pupeční a tříselné kýly a kontrolní skupiny.

Tabulka č. 8: Koncentrace alarminů a souvisejících molekul v séru pacientů s cholecystolitíázou a pupeční a tříselnou kýlou před a po výkonu ve srovnání s kontrolní skupinou podle jednotlivých diagnóz.

Tabulka č. 9: Koncentrace alarminů a souvisejících molekul v séru pacientů s náhlou příhodou břišní indikovaných k akutní revizi dutiny břišní.

Seznam grafů:

Graf č. 1: Grafické znázornění koncentrací matrixových metalloproteináz v séru pacientů s tříselnou kýlou ve srovnání s kontrolní skupinou.

Graf č. 2: Grafické znázornění koncentrací matrixových metalloproteináz v séru pacientů s tříselnou kýlou před a po hernioplastice.

Graf č. 3: Koncentrace tkáňových inhibitorů metalloproteináz v séru pacientů s tříselnou kýlou před a po výkonu.

Graf č. 4: Korelace mezi testovanými biomarkery před a po výkonu.

Graf č. 5: Grafické znázornění koncentrací jednotlivých biomarkerů v séru pacientů s cholecystolitíázou a pupeční a tříselnou kýlou před a po výkonu a kontrolní skupiny.

Graf č. 6: Srovnání koncentrací testovaných biomarkerů v séru pacientů mezi jednotlivými diagnózami.

Graf č. 7: Korelace mezi jednotlivými biomarkery u pacientů s cholecystolitíázou a pupeční a tříselnou kýlou před výkonem.

Graf č. 8: Korelace mezi jednotlivými biomarkery u pacientů s cholecystolitíázou pupeční a tříselnou kýlou po výkonu.

Graf č. 9 - Grafické znázornění koncentrací jednotlivých biomarkerů u pacientů s náhlou příhodou břišní před a po výkonu a kontrolní skupiny.

Seznam obrázků:

Obrázek č. 1: Zobrazení žlučníku při laparoskopii.

Obrázek č. 2: Rozstřížený žlučník se solitární smíšenou litiázou.

Obrázek č. 3: Sonografický snímek žlučníku s litiázou (označen modrou šipkou).

Obrázek č. 4: Žlučník s drobnou kontrastní litiázou (označeno modrou šipkou) na snímku z počítačové tomografie.

Obrázek č. 5: Magnetická retrográdní cholangiopankreatografie – objemný žlučník, v distálním choledochu nad papilou lineární defekt v náplni suspektní z drobné litiázy (označeno modrou šipkou).

Obrázek č. 6: Obraz tumoru žlučníku (označen modrou šipkou) na snímku z magnetické rezonance.

Obrázek č. 7: Sonografický snímek akutní cholecystitidy (žlučník označen modrou šipkou).

Obrázek č. 8: Endoskopická retrográdní cholangiopankreatografie.

Obrázek č. 9: Preparace struktur Calotova trojúhelníku při laparoskopické cholecystektomii.

Obrázek č. 10: Preparace ductus cysticus včetně junkce se žlučníkem.

Obrázek č. 11: Ductus cysticus (žlutá šipka) + arteria cystica (červená šipka).

Obrázek č. 12: Zaklipování ductu cysticu.

Obrázek č. 13: Subserózní oddělení žlučníku z lůžka pomocí monopolárního laparoskopického elektrokoagulačního nástroje.

Obrázek č. 14: Zavedení Redonovy drenáže do podjaterní krajiny.

Obrázek č. 15: Extrakce žlučníku v endobagu.

Obrázek č. 16: Rozstřížený žlučník.

Obrázek č. 17: Uskřinutá pupeční kýla.

Obrázek č. 18: Uskřinutá nekrotická střevní klička v pupeční kýle (označeno žlutou šipkou).

Obrázek č. 19: Objemná pupeční kýla u obézní pacientky.

Obrázek č. 20 – Vypreparovaný vak pupeční kýly při hernioplastice.

Obrázek č. 21 – Plastika pupeční kýly jednotlivými stehy nevstřebatelným šicím materiálem.

Obrázek č. 22: Otevřená plastika tříselné kýly – na modré hadičce pod hákem funiculus spermaticus.

Obrázek č. 23: Laparoskopická preparace tříselné kýly – modrou šipkou označeno ligamentum teres uteri.

Obrázek č. 24: Sonografické zobrazení tříselné kýly (průměr označen modrou šipkou).

Obrázek č. 25: Incize v třísele, protnutá aponeuróza musculus obliquus abdominis externus, na spodině funiculus spermaticus s praeperitoneálním lipomem.

Obrázek č. 26: Kýlní vak nepřímé tříselné kýly.

Obrázek č. 27: Vkládání polypropylenové sítě.

Obrázek č. 28: Uzavřená operační rána.

Obrázek č. 29: Laparoskopická hernioplastika tříselné kýly – nastřížení horního okraje peritonea.

Obrázek č. 30: Laparoskopická preparace kýlního vaku tříselné kýly.

Obrázek č. 31: Umístění polypropylenové sítě.

Obrázek č. 32: Uzávěr peritonea v oblasti třísla.

Obrázek č. 33: Závěrečný pohled na provedenou laparoskopickou plastiku tříselné kýly.

Obrázek č. 34: Laparoskopický pohled na flegmonogangrenózní apendicitidu (apendix označen špičkou nástroje).

Obrázek č. 35: Sonografický obraz akutní apendicitidy – appendix označen modrou šipkou.

Obrázek č. 36: Gangrenózní perforovaná apendicitida na snímku z počítačové tomografie.

Obrázek č. 37: Low grade mucinózní novotvar apendixu na snímku z počítačové tomografie (označeno modrou šipkou).

Obrázek č. 38: Laparoskopická revize apendixu.

Obrázek č. 39: Přestřížení skeletizovaného apendixu mezi klipem a loopem při laparoskopii.

Obrázek č. 40: Zanoření baze apendixu stehem.

Obrázek č. 41: Schéma struktury matrixových metalloproteináz.

Abstrakt

Cholecystolitiáza a pupeční a tříselná hernie patří k nejrozšířenějším onemocněním v populaci vyžadujícím elektivní operační řešení. Uvedená onemocnění a jejich chirurgická léčba vlivem tkáňové remodelace a zánětu ovlivňují koncentrace řady biomarkerů v séru pacientů.

Cílem disertační práce bylo stanovování koncentrací vybraných biomarkerů (matrixových metalloproteináz, tkáňových inhibitorů metalloproteináz, alarminů a s nimi souvisejících molekul) v séru pacientů a zdravých kontrol ozřejmit, zda a jak sledovaná onemocnění a operační výkony tyto koncentrace ovlivňují a které biomarkery jsou alterovány nejmarkantněji.

Ve studii matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz byly u 25 pacientů s tříselnými kýly pomocí multiplexové imunoanalýzy na přístroji Magpix zkoumány koncentrace MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-10, TIMP-1 a TIMP-2 před a po elektivním výkonu. Ve studii alarminů a souvisejících molekul byly u 58 pacientů s cholecystolitiázou a pupeční a tříselnou kýlou stanovovány imunochemicky metodou ELISA koncentrace sRAGE, EN-RAGE, HMGB1, kalprotektinu a IL-6. Do této studie byli pro srovnání zařazeni i pacienti s náhlou příhodou břišní indikovaní k akutní revizi dutiny břišní.

Výsledky výzkumu matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz prokázaly, že jak přítomnost inguinální hernie, tak i elektivní hernioplastika významně ovlivňují sérové koncentrace MMPs a TIMPs, a to především MMP-2, MMP-9 a TIMP-2. Ve studii alarminů a souvisejících molekul byl zjištěn významný vliv cholecystolitiázy a abdominální kýly na předoperační koncentrace kalprotektinu a sRAGE. Pooperačně byl prokázán významný vzestup koncentrací EN-RAGE, kalprotektinu, HMGB1 a IL-6 a naopak výrazný pokles koncentrace sRAGE. U skupiny pacientů s náhlými příhodami břišními byly předoperační koncentrace všech testovaných alarminů natolik alterovány, že vliv operačního výkonu byl s výjimkou IL-6 zanedbatelný.

Závěry výzkumu ilustrují klíčovou roli zkoumaných biomarkerů (MMPs, TIMPs, alarminů a souvisejících molekul) jako indikátorů tkáňové remodelace a zánětu. Prokázaly významný vliv přítomnosti zkoumaných onemocnění a chirurgických výkonů na koncentrace testovaných molekul.

Klíčová slova: matrixové metalloproteinázy, MMP, tkáňové inhibitory metalloproteináz, TIMP, inguinální hernie, umbilikální hernie, cholecystolithiáza, náhlé příhody břišní, elektivní chirurgie, alarminy, sRAGE, EN-RAGE, HMGB1, kalprotektin, IL-6

Abstract

Cholecystolithiasis and umbilical and inguinal hernia are among the most common diseases requiring elective surgery. These diseases and their surgical treatment due to tissue remodeling and inflammation affect the serum levels of several biomarkers in patients.

This thesis aimed to demonstrate to what extent these diseases and the surgical procedures influence serum levels of selected biomarkers (matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, alarmins, and related molecules) in patients and which biomarkers are affected most markedly.

In the study of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases, the serum levels of MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-10, TIMP-1, and TIMP-2 were examined in 25 patients with inguinal hernias using a multiplex immunoassay on a Magpix before and after elective surgery. In the study of alarmins and related molecules, the levels of sRAGE, EN-RAGE, HMGB1, calprotectin, and IL-6 were determined immunochemically by the ELISA method in 58 patients with cholecystolithiasis and umbilical and inguinal hernia. For comparison, patients with acute abdomen indicated for acute surgery were also included in this study.

The results of the research on matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases showed that both the presence of an inguinal hernia and hernioplasty significantly affect the serum levels of MMPs and TIMPs, especially MMP-2, MMP-9, and TIMP-2. A study of alarmins and related molecules determined a significant effect of cholecystolithiasis and abdominal hernia on preoperative calprotectin levels and sRAGE. Postoperatively, the levels of EN-RAGE, calprotectin, HMGB1, and IL-6 were increased and, conversely, the levels of sRAGE were increased. In acute patients, the preoperative levels of all tested alarmins were so altered, that the effect of the surgical procedure was negligible, except for IL-6.

The research conclusions illustrate the key role of the investigated biomarkers (MMPs, TIMPs, alarmins, and related molecules) as indicators of tissue remodeling and inflammation and confirm that the levels of investigated biomarkers are significantly involved by the presence of cholecystolithiasis or abdominal wall hernias as well as by the surgery.

Keywords: matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, inguinal hernia, umbilical hernia, cholecystolithiasis, acute abdomen, elective surgery, alarmins, sRAGE, EN-RAGE, HMGB1, Calprotectin, IL-6

Seznam zkratek

a. – arteria, tepna

ad. – a další

ADAM – A Disintegrin And Metalloproteinase domain-containing protein

ADAM-10 – A Disintegrin And Metalloproteinase domain-containing protein 10

aj. – a jiné

ALP – alkalická fosfatáza

ALT – alaninaminotransferáza

akol. – a kolektiv

aspol. – a spolupracovníci

AST – aspartátaminotransferáza

ATP – adenosintrifosfát

CKD – chronic kidney disease, chronické onemocnění ledvin

CRP – C- reaktivní protein

DAMPs – damage-associated molecular pattern molecules

DIC – diseminovaná intravaskulární koagulace

ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay, enzymová imunoanalýza

EN-RAGE – extracellular newly identified receptor for advanced glycation end products binding protein

ERCP – endoskopická retrográdní cholangiopankreatografie

GGT – gama-glutamyltransferáza

GLP-1 – glucagon-like peptide-1

HMGB1 – high mobility group box 1

IBD – Inflammatory Bowel Disease, idiopatické střevní záněty

IL-1 – interleukin-1

IL-2 – interleukin-2

IL-33 – interleukin-33

IL-6 – interleukin-6

INF- α – interferon- α

INF- β – interferon- β

IQR – interquartile range, mezikvartilové rozmezí

K⁺ – kationt draslíku

MMP(s) – matrix metalloproteinase(s), matrixová metalloproteináza(y)

MRCP – magnetic resonance cholangiopancreatography

mRNA – messenger ribonucleic acid

Na⁺ – kationt sodíku

nd – not detected, neměřitelné

ns – not significant, nevýznamné

PAMPs – Pathogen-associated molecular patterns

PINP – procollagen type I N-terminal propeptides

PIIINP – procollagen type III N-terminal propeptides

PRR – pattern recognition receptor

PTC – perkutánní transhepatální cholangiografie

PTD – perkutánní transhepatální drenáž

RAGE – Receptor for advanced glycation end products

RTG – rentgenové vyšetření

sRAGE – soluble receptor for advanced glycation end products

SIRS – systemic inflammatory response syndrome

TIMP(s) – tissue inhibitor of metalloproteinases, tkáňový inhibitor metalloproteináz

TNF α – tumor necrosis factor α

TNF β – tumor necrosis factor β

USG – ultrasonografie

VFN – Všeobecná fakultní nemocnice

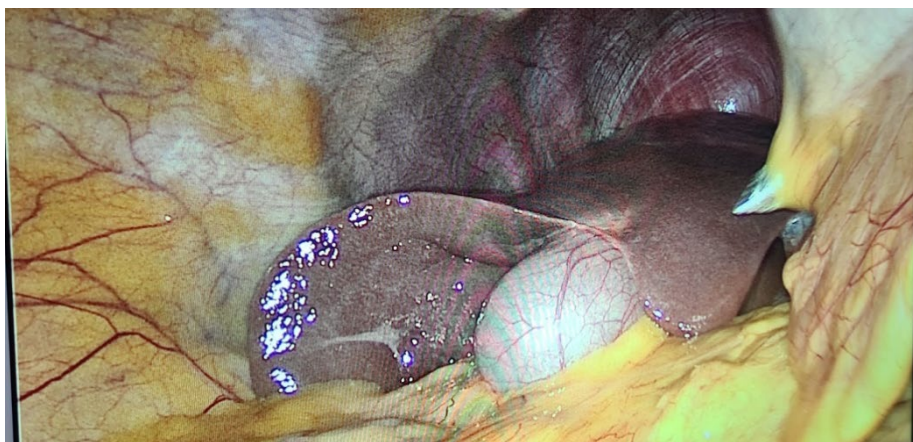
1. Úvod

1.1. Klinická problematika

1.1.1. Cholecystolitiáza

Cholecystolitiáza představuje přítomnost kamenů ve žlučníku.

Žlučník (latinsky *vesica fellea*, *vesica biliaris*) je orgán hruškovitého tvaru uložený pod játry v oblasti V. segmentu jater (**Obrázek č. 1**). Slouží jako rezervoár žluči, která je zde koncentrována (Housset et al., 2016). Anatomicky je žlučník rozdělen do čtyř částí – fundus vesicae felleae (dno žlučníku), corpus vesicae felleae (tělo žlučníku), collum vesicae felleae (krček žlučníku) a ductus cysticus (vývod žlučníku). Histologicky se stěna žlučníku skládá ze tří vrstev – první je tunica mucosa (sliznice), druhá tunica muscularis (svalová vrstva) a třetí tunica serosa (seróza). Sliznice svojí strukturou vytváří řasy, které se místy vchlipují až do svalové vrstvy a označují se jako Rokitanského-Aschoffovy sinusy (Jones et al., 2023). Na povrchu sliznice je jednovrstevný cylindrický epitel s mikrokly, jehož funkcí je resorpce vody. V oblasti collum vesicae felleae se můžeme setkat s mucinózními buňkami produkujícími hlen. Pod epitelem se nachází lamina propria mucosae tvořená řídkým kolagenním vazivem, lamina muscularis mucosae zde není vytvořena. Tunica muscularis je formována cirkulárně uspořádanou hladkou svalovinou a je nezbytná k vypuzování žluči. Tunica serosa je vazivová vrstva, která se nachází na povrchu žlučníku s výjimkou plochy v kontaktu s játry, kde je povrch tvořen adventicií (Jones et al., 2023).



Obrázek č. 1 – Zobrazení žlučníku při laparoskopii.

Žluč je tekutina žlutohnědé barvy produkovaná játry a transportovaná cestou ductus cysticus a ductus hepatocholedochus do tenkého střeva (Dave et al., 2022). Denně tělo vyprodukuje cca 0,5 až 1 litr žluči, jejímiž hlavními složkami jsou žlučové kyseliny a jejich soli, fosfolipidy, cholesterol a žlučové pigmenty (bilirubin a biliverdin). K zahušťování žluči a zvyšování její acidity dochází ve žlučníku. Proces zahušťování žluči probíhá na epitelové výstelce na podkladě aktivního transportu iontů Na^+/K^+ ATPázou, který je provázen přesunem vody adekvátně koncentračnímu gradientu. Sodíkové ionty jsou směňovány za vodíkové ionty a výsledná acidita žluči vzrůstá (Housset et al., 2016, Dave et al., 2022).

Hlavní funkcí žluči v organismu je emulgace a účast na trávení tuků v tenkém střevě. Nerovnováha mezi jednotlivými složkami žluči (tzv. litogenní žluč) může způsobit vznik žlučových kamenů (cholelitiázu) (Ibrahim et al., 2018, Di Ciaula et al., 2018, Dave et al., 2022, Lam et al., 2021). Rizikovými faktory ovlivňujícími uvedený jev jsou ženské pohlaví, těhotenství, obezita, hepatopatie, diabetes mellitus, přítomnost hemolytické anémie, užívání hormonální antikoncepce a pozitivní rodinná anamnéza (Liu et al., 2018, Di Ciaula et al., 2018, Jones et al., 2023). Na tvorbě žlučových kamenů se podílejí především tyto složky: bilirubin, žlučové kyseliny, cholesterol a kalcium. Podle převažující složky se kameny dělí na cholesterolové, pigmentové a smíšené (Liu et al., 2018, Jones et al., 2023, Lam et al., 2021). Cholesterolové kameny jsou tvořeny cholesterolovými krystaly precipitujícími kolem precipitačních jader. Precipitačními jádry mohou být např. epitelie či bakterie. Kameny mají kulovitý tvar a často bývají solitární. Vznikají např. při konzumaci diety s vysokým obsahem tuků či při poruchách metabolismu cholesterolu (Di Ciaula et al., 2018). V pigmentových kamenech převažují žlučové kyseliny. Rozlišujeme dva typy pigmentových kamenů, a to černé kameny, které jsou menší velikosti, mnohočetné, tvrdé konzistence (např. při hemolytickém ikteru) a hnědé kameny, které jsou měkké a mazlavé (při zánětlivých postiženích a při cholestáze) (Di Ciaula et al., 2018, Jones et al., 2023). Kameny smíšené, které v našich životních podmínkách převažují, jsou tvořeny kombinací všech uvedených složek (**Obrázek č. 2**). Kameny bývají mnohočetné, jsou fasetované (polyedrického tvaru) a bývají spojovány s přítomností chronického zánětu.

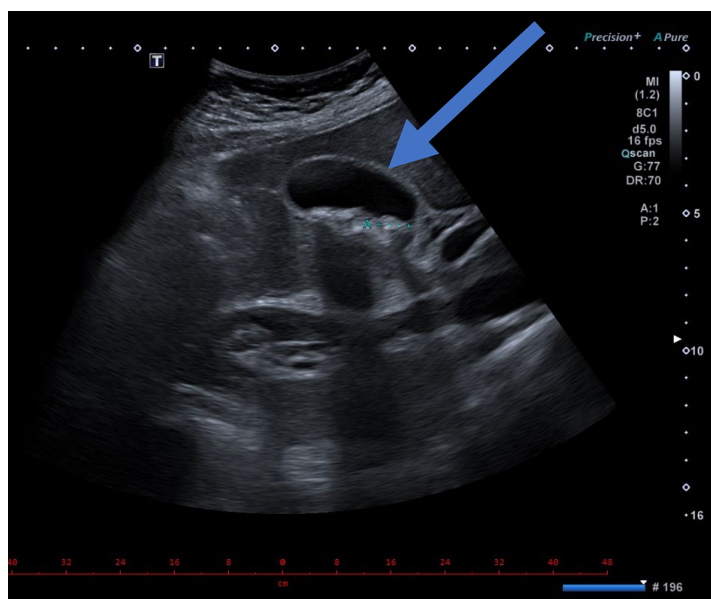


Obrázek č. 2 – Rozstřížený žlučník se solitární smíšenou litiázou.

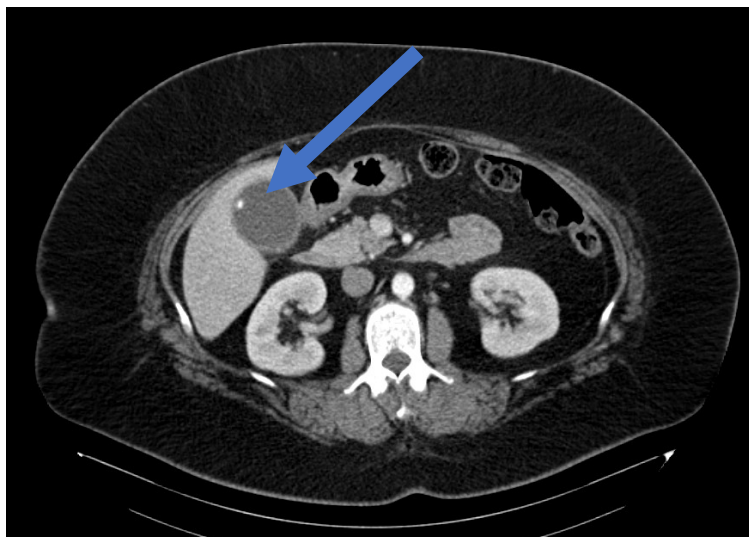
Cholecystolitiáza může být asymptomatická, případně může způsobovat několik typů obtíží. Na jejich základě rozlišujeme formu asymptomatickou, dyspeptickou a kolikovitou. Typickým projevem cholecystolitiázy je biliární kolika (Gutt et al., 2020, Lam et al., 2021). K biliární kolice dochází v případě, že žlučové kameny obstruují ductus cysticus. Tato obstrukce vyvolává spazmy hladké svaloviny žlučového traktu a cholestázu. Provokujícím faktorem je zpravidla dietní exces – požití tučných či smažených jídel, papriky a česneku (Doherty et al., 2022). Pacienti trpí intenzivními bolestmi a křečemi kolikovitého charakteru v pravém podžebří. Ty mohou vystřelovat pod pravou lopatku, případně do prekordia a imitovat příznaky ischemické choroby srdeční. Pacient je neklidný a hledá úlevovou polohu (Lam et al., 2021). Žlučnicková kolika obvykle spontánně odezní během několika hodin (Doherty et al., 2022). Dyspeptická forma obtíží může být provázena i variabilní gastroenterologickou symptomatologií, např. nechutenstvím, dyspepsií, zvracením a průjmy po tučném jídle, říháním, flatulencí či diskomfortem v pravém podžebří. Při klinickém vyšetření se často setkáváme s pozitivním Murphyho znamením (tj. bolestí při nádechu během hluboké palpce v pravém podžebří) (Doherty et al., 2022, Lam et al., 2021).

Diagnostika cholecystolitiázy spočívá v kombinaci anamnézy, klinického a laboratorního vyšetření a zobrazovacích metod (Doherty et al., 2022). Z rutinních biochemických vyšetření je vhodná zejména analýza jaterních testů, markerů zánětu, nejčastěji CRP a v případě závažného klinického stavu i prokalcitoninu a amyláz či lipáz (Jones et al., 2023, Dave et al., 2023, Doherty et al., 2022). V případě nekomplikované cholecystolitiázy zůstávají uvedené parametry zpravidla v referenčním rozmezí, jejich elevace je suspektní z možných komplikací. Z jaterních testů se rutinně vyšetřují bilirubin, AST, ALT, GGT a ALP, přičemž elevace bilirubinu, GGT a ALP může značit obstrukci žlučových cest, zvýšené AST a

ALT svědčí o poškození hepatocytů (Jones et al., 2023, Dave et al., 2022). Zvýšené CRP ukazuje na možný rozvoj akutní cholecystitidy či na přítomnost jiného zánětlivého fokusu v organismu. Na iritaci pankreatu či akutní pankreatitidu upozorňuje elevace pankreatické amylázy. Zobrazovací metodou volby s vysokou senzitivitou a specificitou je transkutánní ultrazvukové vyšetření (Gutt et al., 2020, Hartwig et Büchler, 2014, Jones et al., 2023) – viz **Obrázek č. 3**. Kalciové kameny jsou viditelné na RTG snímku břicha, ostatní typy litiázy nejsou RTG kontrastní. Na RTG lze zobrazit i „porcelánový žlučník“, případně ozřejmit přítomnost plynu ve žlučových cestách a ve stěně žlučníku u zánětů či biliodigestivních píštělí. Žlučníkové kameny jsou spolehlivě detekovatelné rovněž počítačovou tomografií (Hartwig et Büchler, 2014), i když je tato metoda běžněji užívána až při diagnostice komplikací (**Obrázek č. 4**). Pro ozřejmění přítomnosti kamenů nejen ve žlučníku, ale i ve žlučových cestách je možno použít i magnetickou rezonanci – MRCP (magnetic resonance cholangiopancreatography, **Obrázek č. 5**) či ERCP (endoskopická retrográdní cholangiopancreatografie, **Obrázek č. 8**), s níž lze choledocholitiázu zároveň vyřešit (Lam et al., 2021). Vzácněji se provádí perkutánní transhepatální cholangiografie (PTC) s nástříkem žlučododů kanylou zavedenou přes játra. Na PTC můžeme navázat i perkutánní transhepatální drenáží žlučových cest (PTD).



Obrázek č. 3 – Sonografický snímek žlučníku s litiázou (označen modrou šipkou).



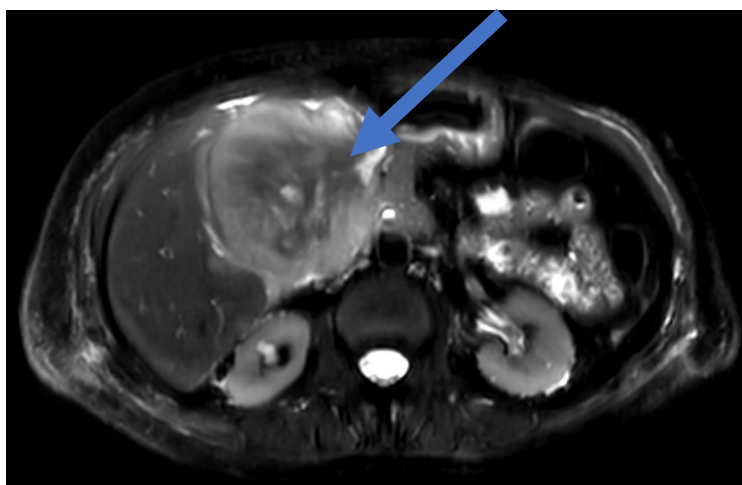
Obrázek č. 4 – Žlučník s drobnou kontrastní litiázou (označeno modrou šipkou) na snímku z počítačové tomografie.



Obrázek 5 – Magnetická retrográdní cholangiopankreatografie – objemný žlučník, v distálním choledochu nad papilou lineární defekt v náplni suspektní z drobné litiázy (označeno modrou šipkou)

S obdobnými obtížemi jako u cholecystolitiázy se setkáváme i u jiných onemocnění – diferenciatně diagnosticky je třeba odlišit např. vředovou chorobu gastroduodenální, akutní či chronickou pankreatitidu, z onkologických onemocnění karcinom žlučníku (**Obrázek č. 6**) a žlučových cest, karcinom pankreatu (Avegno et Carlisle, 2016). Bolestmi v pravém podžebří se projevuje také akutní apendicitida při pozici appendixu laterocékální a praecékální s apexem appendixu směřujícím kraniálně a zejména akutní apendicitida v těhotenství, kdy je appendix postupně vytlačován dělohou kraniálně. Podobný charakter obtíží pozorujeme i u pravostranné

renální koliky, dráždivého tračníku či infarktu myokardu v oblasti spodní stěny (Avegno et Carlisle, 2016).

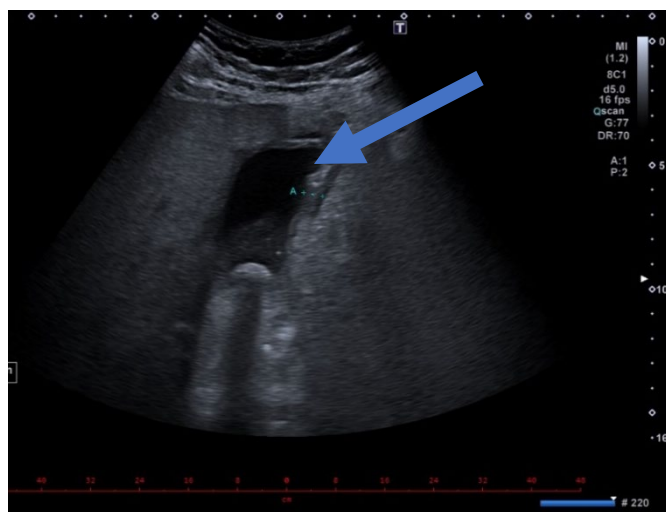


Obrázek č. 6 – Obraz tumoru žlučníku (označen modrou šipkou) na snímku z magnetické rezonance.

K nejčastějším komplikacím cholecystolitiázy patří např. rozvoj akutního zánětu (**Obrázek č. 7**), a to jak žlučníku (akutní cholecystitida), tak žlučových cest (akutní cholangitida) (Liu et al., 2018, Jones et al., 2023). Akutní cholecystitida se projevuje neustávající bolestí v pravém podžebří a subfebrilií až febrilií. Pacient si může stěžovat na ztrátu chuti k jídlu, nevolnost a zvracení (Gutt et al., 2020, Hartwig et Büchler, 2014). U zánětu žlučových cest se k uvedeným příznakům přidává i ikterus (tzv. Charcotova trias) (Jones et al., 2023, Lam et al., 2021). Laboratorně nacházíme elevaci zánětlivých parametrů, a to leukocytózu a zvýšené CRP, event. prokalcitonin (Díez Ares et al., 2021, Dave et al., 2022, Amini et al., 2019). Vlivem zánětu dochází v organismu k spuštění reakce akutní fáze (Sista et al., 2013). Reakce akutní fáze je systémová reakce organismu vyvolaná stresovým podnětem (např. infekcí, tkáňovým poškozením, traumatem, nádorovým procesem). Prozánětlivé buňky (neutrofily a makrofágy) v místě zánětu produkují prozánětlivé cytokiny (např. $\text{TNF}\alpha$, $\text{TNF}\beta$, IL-1, IL-6, $\text{INF-}\alpha$ a $\text{INF-}\gamma$), které regulují reakci akutní fáze a způsobují produkci proteinů akutní fáze v játrech. Aktivací hypotalamu dochází k horečce, anorexii a katabolismu svalových buněk, odpověď organismu je komplexní a zahrnuje metabolické, endokrinní a neurologické změny. Základním cílem reakce akutní fáze je obnova homeostázy v organismu (Baumann et Gauldie, 1994).

Při déletrvajícím zánětu žlučníku dochází k přechodu zánětlivých změn na okolní měkké tkáně a k rozvoji pericholecystitidy. Pericholecystitida se postupně ohraničuje

v pericholecystický infiltrát a může se formovat i pericholecystický absces. Chronický zánět žlučníku se projevuje dyspeptickými obtížemi.



Obrázek č. 7 – Sonografický snímek akutní cholecystitidy (žlučník označen modrou šipkou).

V případě obstrukce výtokové části žlučníku litiázou dochází k rozvoji hydrupsu žlučníku. Žlučník je zvětšený, vyplněný tekutinou, klinicky jej hmatáme jako ohrazenou rezistenci v pravém podžebří (Lam et al., 2021). Při bakteriální infekci bývá žlučník vyplněn hnisem – empyémem. Pokud dojde k uvolnění žlučnickových kamenů ze žlučníku do žlučových cest, vzniká choledocholitiáza. Choledocholitiáza může způsobit obstrukci ductus choledochus a obstrukční ikterus, v případě drobných kaménků obstrukci pankreatického vývodu (zpravidla při zaklínění litiázy na Vaterské papile) s rozvíjející se akutní pankreatitidou (Jones et al., 2023). Zánět slinivky břišní je život ohrožující onemocnění, projevující se krutými bolestmi pruhovitě v epigastriu, zvracením, zástavou odchodu plynů a stolice. Obstrukce pravého hepatiku či choledochu objemným žlučníkem s litiázou se nazývá Mirrizziho syndrom (Lam et al., 2021). V případě porušení stěny žlučníku může dojít ke vzniku biliodigestivní píštěle, tedy k propojení lumen žlučníku s okolními orgány, např. s duodenem, colon transversum či choledochem, v případě komunikace s břišní stěnou i ke vzniku cholecystokutánní píštěle. Biliodigestivní spojkou mohou kameny vycestovat do trávicí trubice a způsobit její obstrukci (biliární ileus) (Lam et al., 2021). V literatuře je popsáno i riziko vzniku karcinomu žlučníku. Toto relativně vzácné onemocnění má nepříznivou prognózu (Jones et al., 2023, Dave et al., 2022).

Preferovanou metodou léčby symptomatické cholecystolitiázy je cholecystektomie, v naprosté většině případů laparoskopická cholecystektomie (Hartwig et Büchler, 2014, Ibrahim et al., 2018, Lam et al., 2021), provádí se i robotická cholecystektomie (Rifai et al., 2015). U

menšího počtu pacientů s drobnými cholesterolovými konkrémenty je možná léčba podáváním preparátů s ursodeoxycholovou kyselinou, nicméně i v těchto případech je metodou volby laparoskopická cholecystektomie, a to s ohledem k častým recidivám (Gutt et al., 2020). Metoda extrakorporální litotrypse se nepoužívá (Gutt et al., 2020). Symptomaticky můžeme při biliární kolice podat analgetika a spasmolytika a nasadit přísnou dietu – v prvních dnech pouze čaj, po zklidnění žlučnickovou dietu.

Při léčbě akutní cholecystitidy se řídíme celkovým stavem pacienta a přesným timingem (Ibrahim et al., 2018). Primární cholecystektomie se provádí zpravidla do 72 hodin od prvních příznaků (Gutt et al., 2020, Hartwig et Büchler, 2014, Seshadri et Peitzman, 2024). Pokud zánět trvá déle, případně je již rozvinut pericholecystický infiltrát, volíme antibiotickou terapii, klid na lůžku a dietní režim ke zklidnění nálezu, cholecystektomie se realizuje odloženě až za 6 týdnů. Stejnou taktiku léčby volíme u rizikových polymorbidních pacientů, u nichž riziko akutního výkonu převažuje nad benefitem (Ibrahim et al., 2018). Při nedostatečném efektu konzervativní léčby můžeme pod navigací CT či USG zavést punkční cholecystostomii (Doherty et al., 2022). Tato metoda je pro pacienta méně zatěžující než chirurgická cholecystostomie, která se již téměř neprovádí. Choledocholitiázu je možno diagnostikovat a současně i efektivně vyřešit cestou ERCP (Gutt et al., 2020, Lam et al., 2021). Při ERCP extrahujeme kameny Dormia košíčkem. Zavést můžeme i stent k udržení průchodnosti žlučových cest (**Obrázek č. 8**). Při stenóze Vaterské papily doplňujeme papilosfinkterotomii (Doherty et al., 2022).

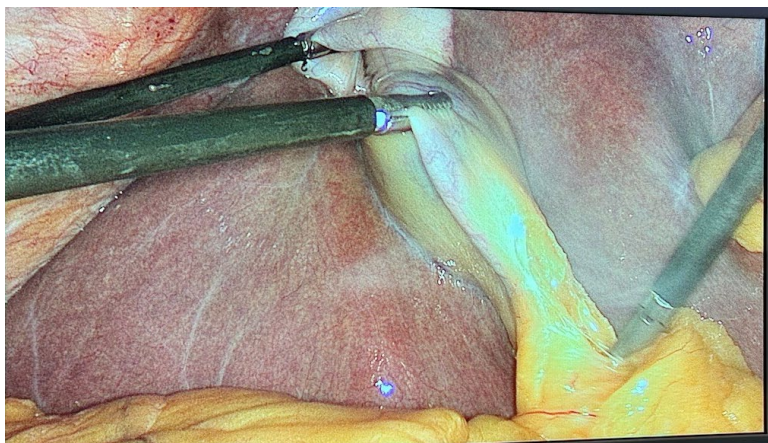


Obrázek č. 8 – Endoskopická retrográdní cholangiopankreatografie.

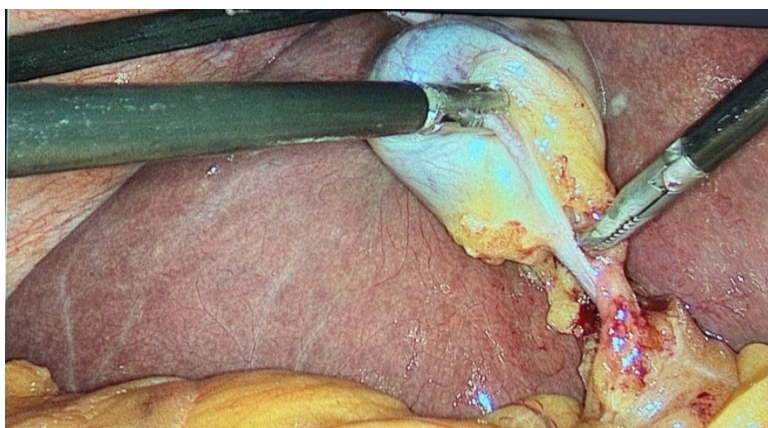
Drenáž žlučových cest lze provést i perkutánně metodou PTD (perkutánní transhepatická drenáž) (Doherty et al., 2022), kdy punkčně přes játra nasondujeme žlučovod a zavedeme do něj drenáž, a to buď zevní (skrz stěnu břišní do sběrného sáčku), anebo zevně-vnitřní (přes zúžené místo žlučovodem do tenkého střeva). Extrakci choledocholitiázy můžeme provést i chirurgicky s pooperačním zajištěním drenáže žlučových cest T drénem. Při těžkých stenózách či obstrukcích žlučových cest přistupujeme k chirurgickému založení biliodigestivní spojky. Biliární ileus patří mezi náhlé příhody břišní a je indikován k urgentní chirurgické revizi s extrakcí konkrementu včetně provedení cholecystektomie (Lam et al., 2021).

1.1.1.1. Cholecystektomie

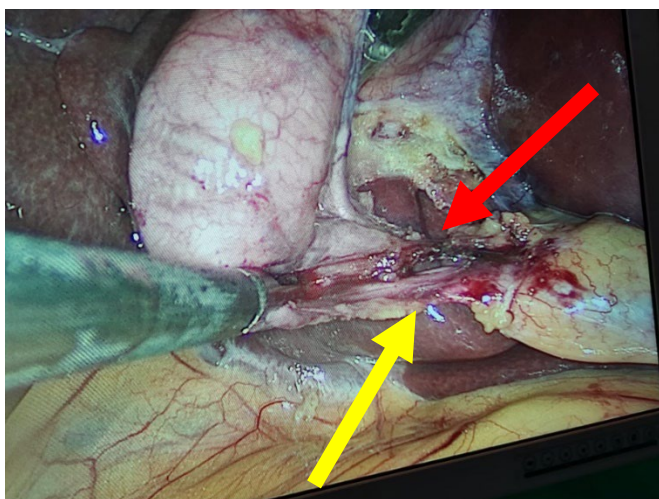
Při chirurgickém odstranění žlučníku je zlatým standardem metoda laparoskopické cholecystektomie (Gutt et al., 2020, Hartwig et Büchler, 2014, Warchałowski et al., 2013). Technika se na různých pracovištích v detailech liší (např. v počtu a umístění portů, v zavedení drénu, či v místě extrakce žlučníku z dutiny břišní), princip a základní postupy jsou však vždy stejné. Operační výkon probíhá v celkové anestezii. Nejprve se zakládá kapnoperitoneum, kdy do dutiny břišní insuflujeme oxid uhličitý o celkovém tlaku 12 mmHg. Přístup do dutiny břišní můžeme provést otevřeně či zavřeně pomocí Veressovy jehly (Warchałowski et al., 2013). Do oblasti pupku zavádíme 10mm port pro optiku a revidujeme dutinu břišní. Pod zrakovou kontrolou zavádíme další 10mm port pod mečíkem a dva 5mm porty v pravém mesogastriu pod obloukem žeberním laterálně. Následně preparujeme struktury Calotova trojúhelníku (topografický prostor, jehož obsahem je vasa cystica) (Abdalla et al., 2013, Alius et al., 2023), ductus cysticus včetně junkce se žlučníkem – tzv. technika retrográdní preparace (**Obrázek č. 9**) (Seshadri et Peitzman, 2024). Ductus cysticus i arterii cysticu zaklipujeme třemi titanovými klipy (dvěma proximálně a jedním distálně) a mezi klipy je přerušíme (**Obrázek č. 10, č. 11 a č. 12**).



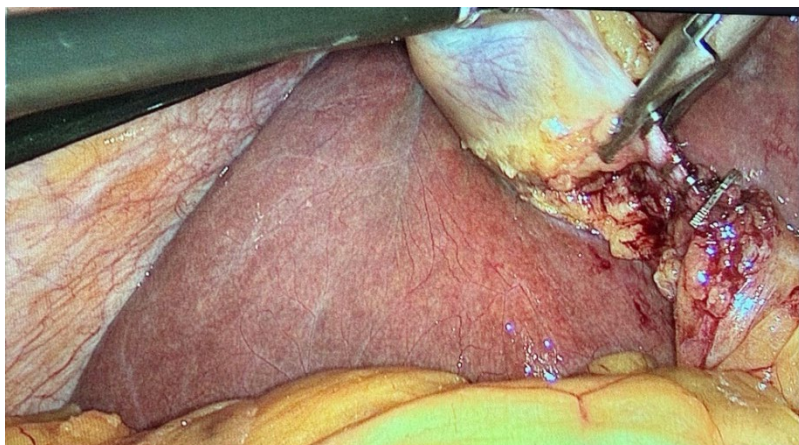
Obrázek č. 9 – Preparace struktur Calotova trojúhelníku při laparoskopické cholecystektomii.



Obrázek č. 10 – Preparace ductus cysticus včetně junkce se žlučníkem.

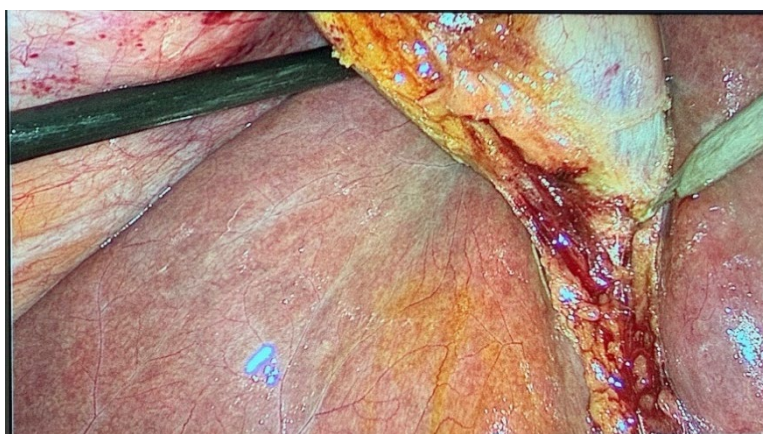


Obrázek č. 11 – Ductus cysticus (žlutá šipka) + arteria cystica (červená šipka).

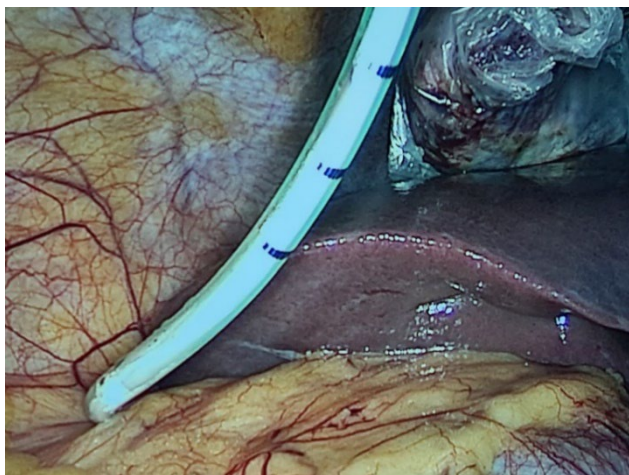


Obrázek č. 12 – Zaklipování ductu cysticu.

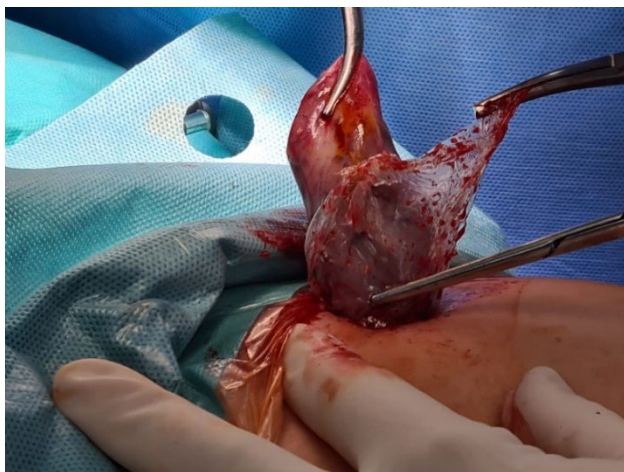
Subserózně uvolňujeme žlučník z lůžka (**Obrázek č. 13**). Použít můžeme i techniku anterográdní preparace, při níž žlučník uvolníme nejprve z lůžka a teprve poté zaklipujeme a přerušíme ductus cysticus a arterii cysticu (Seshadri et Peitzman, 2024, Alius et al., 2023). Uvedený postup se užívá méně často. Zpravidla do pravého podžebří pod játra zavádíme Redonův drén (**Obrázek č. 14**) (Warchałowski et al., 2013). Žlučník v endobagu extrahujeme incizí pod mečíkem (**Obrázek č. 15**) a operační vstupy uzavíráme po jednotlivých vrstvách. Žlučník vždy odesíláme k histologickému vyšetření (**Obrázek č. 16**).



Obrázek č. 13 – Subserózní oddělení žlučníku z lůžka pomocí monopolárního laparoskopického elektrokoagulačního nástroje.



Obrázek č. 14 – Zavedení Redonovy drenáže do podjaterní krajiny.



Obrázek č. 15 – Extrakce žlučníku v endobagu.



Obrázek č. 16 - Rozstřižený žlučník.

Pokud výkon nemůžeme vzhledem k perioperačnímu nálezu dokončit laparoskopicky, přistoupíme ke konverzi na klasickou otevřenou cholecystektomii (Doherty et al., 2022, Warchałowski et al., 2013, Visser et al., 2008).

Primárně otevřený výkon indikujeme u pacientů po rozsáhlých operacích v epigastriu (např. po gastrektomii), u nichž předpokládáme přítomnost adhezí až obliteraci dutiny břišní (Seshadri et Peitzman, 2024). Stejně tak postupujeme u onkologických pacientů s karcinomem žlučníku či žlučových cest, zejména při prorůstání nádoru do jater nebo při metastatickém postižení (Visser et al., 2008). Klasickou cholecystektomii provádíme i v případě nutnosti otevřené revize žlučových cest, např. u endoskopicky neřešitelné choledocholitíazy (Visser et al., 2008). Operační přístup do dutiny břišní je zpravidla subkostálním řezem vpravo, který u onkologických diagnóz můžeme prodloužit doleva až do bilaterálního subkostálního řezu. Na některých pracovištích je upřednostňována horní střední laparotomie. Vlastní technika preparace žlučníku je stejná jako při laparoskopii (Visser et al., 2008).

Stejně jako každý chirurgický výkon, tak i cholecystektomie s sebou nese riziko vzniku komplikací. K nejzávažnějším patří poranění žlučových cest, kdy může dojít k částečnému či úplnému přerušení ductus choledochus, ductus hepaticus communis či ductus hepaticus dexter (Gutt et al., 2020, Hartwig et Büchler, 2014, Seshadri et Peitzman, 2024, Visser et al., 2008). Uvedené komplikace se projevují rozvojem biliární peritonitidy, cholestázy či cholangitidy. Laboratorně je zaznamenán vzestup hladiny bilirubinu a jaterních testů (zejména obstrukčních enzymů GGT a ALP). Pacient je ikterický a jeho stav vyžaduje operační řešení. Typ výkonu závisí na rozsahu a lokalizaci léze a pohybuje se od prosté sutury na T drénu, přes založení choledocho– či hepatikojejunoanastomózy až po transplantaci jater (Seshadri et Peitzman, 2024). Při nešetrné manipulaci s ductem choledochem či jeho termickém poranění dochází s odstupem ke stenóze ductus choledochus vyžadující stentáž či chirurgické řešení. Další závažnou komplikací představuje krvácení, kdy v průběhu krátké doby dochází k rozvoji masivního hemoperitonea a k rozvoji hemoragického šoku (Hartwig et Büchler, 2014, Seshadri et Peitzman, 2024). Krvácení může nastat při spadnutí titanového klipu z a. cystica, z poranění a. hepatica propria, či vena portae. K závažnému krvácení může dojít i z jaterního lůžka při prorůstání žlučníku do jater či při poranění lůžka při preparaci (Seshadri et Peitzman, 2024). Vážnou komplikací představuje i perforace dutých orgánů s rozvojem peritonitidy (zejména žaludku a duodena). Raritní komplikací představuje poranění bránice s pneumo či hemothoraxem. Pozdní komplikací může být např. kýla v jizvě. K obecným rizikům chirurgického výkonu řadíme hlubokou žilní trombózu, plicní embolii, pneumonii, uroinfekci a další rizika spojená s hospitalizací a anestezií.

1.1.2. Hernie

Hernie (česky kýla) je patologický proces, při němž dochází k přesunu tkáně či orgánů mimo jejich fyziologické umístění (Dabbas et al., 2011, Larsen et al., 2019). Kýly dělíme do několika typů. Mohou být kongenitální (vrozené) nebo získané, dále zevní, vnitřní nebo brániční.

Nejčastějšími kýlami břišní stěny jsou kýly tříselné a pupeční (Sigley et al., 2020). U tohoto typu kýl dochází k oslabení a následně ke vzniku defektu břišní stěny (tzv. kýlní branky), kterou se orgány vysouvají z peritoneální dutiny před břišní stěnu. Kýla se klinicky projevuje jako hmatná rezistence, která promínuje v oblasti pupku (pupeční kýla) či v třísele (tříselná kýla). Může být vrozená či získaná v průběhu života. Abdominální kýly se vyskytují u 3-5 % populace, přičemž nejčastějším typem kýl jsou kýly tříselné (75 %), pupeční (10 %) a femorální (8 %) (Dabbas et al., 2011, Ramanan et al., 2014, Zöller et al., 2013).

Kýla je tvořena kýlní brankou (fasciálním defektem), kýlním vakem a obsahem kýly (Henriksen et al., 2011). Kýlní vak je část parietálního peritonea v okolí kýlní branky, která je vysunuta z dutiny břišní a obaluje kýlní obsah. Kýlní obsah může tvořit kterýkoli orgán či tkáň z peritoneální dutiny (nejčastěji omentum, tenké či tlusté střevo, appendix či adnexa). Jestliže je obsahem kýly orgán, který je primárně srostlý s peritoneem a tvoří tak stěnu kýlního vaku, hovoříme o kýle skluzné, např. v případě céka, sigmoidea či močového měchýře (Andresen et al., 2015). Pokud můžeme obsah kýly volně reponovat zpět do dutiny břišní, označujeme kýlu jako volnou (hernia libera). Je-li obsah nereponovatelný, jde o hernii irreponibilis (např. kýla akretní při vzniku srůstů v kýlním vaku či v případě uskřínutí kýly).

Mezi rizikové faktory rozvoje kýly řadíme všechny stavy spojené s vzestupem intraabdominálního tlaku, např. kašel, excesivní námahu, zácpu, retenci moči, hyperplazii prostaty, přítomnost ascitu a další (Holzheimer, 2005, Jiang et al., 2015, Zöller et al., 2013). Vrozené hernie jsou preformovány v oslabených místech břišní stěny na podkladě vývojových odchylek, např. při neuzavřeném processus vaginalis testis (Zöller et al., 2013).

Kýly břišní stěny jsou provázány změnou poměrů kolagenů (Antoniou et al., 2011, Li et al., 2018). Kolagen patří k nejvýznamnějším proteinům v extracelulární matrix, celkem jich existuje více než 30 typů. V patogenezi kýl břišní stěny jsou nejdůležitějšími zejména kolagen typu I (zralá stabilnější forma) a kolagen typu III (nezralá izoforma) (Rosch et al., 2002). Nižší poměr kolagenu typu I/typu III může být zapříčiněn primární poruchou syntézy kolagenu nebo nadměrnou degradací extracelulární matrix (Henriksen et al., 2015, Klinge et al., 1999). K hlavním enzymům s kolagenolytickou aktivitou patří matrixové metalloproteinázy, jejichž

zvýšené exprese hrají významnou roli v patogenezi kýl břišní stěny (Antoniou et al., 2009, Henriksen et al., 2011, Henriksen et al., 2015, Bellón et al., 2001, Bracale et al., 2023, Isik et al., 2017, Li et al., 2018, Peeter et al., 2014).

Diagnostika pupečních a tříselných kýl je založena na klinickém obraze (Shakil et al., 2020). Kýly se projevují jako elastické rezistence v třísle či pupku. V případě volné kýly se rezistence objevuje ve stoje či při námaze, a to vlivem zvýšení nitrobřišního tlaku. Vleže při relaxaci břišní stěny může dojít ke spontánní repozici, při níž rezistence vymizí. U akretní kýly není spontánní ani manuální repozice možná. Pacient si stěžuje na tlak a bolestivost v uvedené oblasti, a to zejména při větší námaze, v klidu tyto obtíže zpravidla zcela vymizí. V případě diagnostických rozpaků (zejména u obézních pacientů), či při nutnosti přesné identifikace rozsahu kýly, je třeba doplnit zobrazovací vyšetření. Metodou volby je transkutánní USG břišní stěny, u rozsáhlých nálezů či morbidně obézních pacientů indikujeme CT, případně MRI (Shakil et al., 2020).

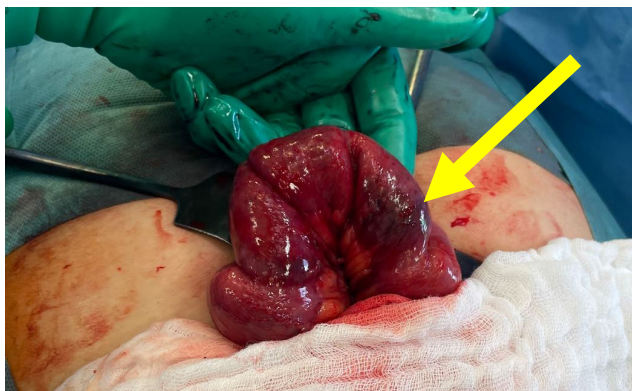
Nejzávažnější komplikací kýly je její uskřínutí (inkarcerace) (**Obrázek č. 17**). Inkarcerace představuje život ohrožující stav, kdy vlivem mechanického stlačení cév dochází k omezení krevního zásobení obsahu kýly vedoucímu k ischemii a následné nekróze tkáně či orgánu (**Obrázek č. 18**), přičemž dochází k zástavě střevní pasáže. Kýla je tvrdá, pohmatově bolestivá, může se objevit i zarudnutí. Pacient, který trpí silnou bolestivostí kýly, zvrací a neodchází mu větry ani stolice (Bittner, 2016).



Obrázek č. 17 – Uskřínutá pupeční kýla.

Preferovanou léčbou je urgentní hernioplastika s revizí kýlního obsahu (Bittner, 2016). Možnou terapií je i šetrná repozice (taxis) kýly, na niž v druhé době navazuje plastika. Repozice nesmí být násilná, levou rukou obepneme krček kýlního vaku a pravou rukou se snažíme šetrně plošným tlakem dostat kýlní obsah skrz branku zpět do břišní dutiny (Harissis et al., 2009).

Pokud není repozice provedena včas nebo kýla je již nereponibilní, nekrotická tkáň či perforace nekrotické stěny orgánu vedou k rozvoji zánětu pobřišnice (peritonitidě).



Obrázek č. 18 – Uskřinutá nekrotická střevní klička v pupeční kýle (označeno žlutou šipkou).

Peritonitida je zpočátku lokalizovaná (cirkumskriptní), později se může rozvinout v difúzní a v organismu dochází k septické reakci. Jde o tzv. náhlou příhodu břišní, při níž je pacient indikován k urgentnímu chirurgickému řešení. Inkarceraci rozdělujeme na incarceration elastica (vlivem stažení okrajů kýlní branky po námaze) a incarceration stercoracea (vlivem přeplnění kličky střevním obsahem). Zvláštním typem inkarcerace je tzv. nástěnné uskřínutí střeva (kýla Richter-Littre), při němž v kýlní brance dochází k uskřínutí pouze části střevní stěny. Pasáž může být několik dní zachována, uskřínutí se projeví až příznaky peritonitidy z perforace střeva (Yumen et al., 2024). Speciálním typem je retrográdní inkarcerace neboli „hernia in W“, kdy se jedná o závažný stav s vysokým rizikem rozvoje komplikací. V kýlním vaku se nacházejí dvě uskřínuté kličky, zatímco část střeva mezi nimi je v dutině břišní. Mezenterium tohoto střevního úseku bývá stlačeno nejvíce a úsek propadá nekróze jako první. Dojít může k perforaci střeva do volné dutiny břišní a k rozvoji difúzní peritonitidy. Tento typ uskřínutí kýly je třeba mít na paměti, protože nekrotický úsek střeva v dutině břišní může být při operační revizi snadno přehlédnut (Weledji et al., 2014).

Při násilném pokusu o repozici uskřínuté kýly může dojít k tzv. „Reposition en bloc“. Uskřínuté střevo se reponuje do dutiny břišní i s kýlním vakem, kdy zúžená část kýlního vaku z oblasti branky i nadále zaškrcuje cévní zásobení střeva. Inkarcerace trvá a pokud nedojde k urgentní operaci, dochází k ischemii a perforaci střeva s rozvojem difúzní peritonitidy.

Jedinou možnou terapií kýly je operační řešení – hernioplastika. Princip výkonu spočívá v repozici obsahu kýly do dutiny břišní a v uzavěru defektu v břišní stěně. Operační výkon lze provádět v celkové anestezii, spinální anestezii, svodné anestezii či méně často u

polymorbidních rizikových pacientů v lokální anestezii, a to různými typy metod – klasicky otevřeně, laparoskopicky peritoneálním i extraperitoneálním přístupem pomocí 3D laparoskopie nebo roboticky. Nejdříve vypreparujeme kýlní vak a očistíme okraje kýlní branky, následně od nich kýlní vak oddělíme. Kýlní vak zrevidujeme a na základě zjištění, co je obsahem kýly, můžeme kýlní obsah reponovat zpět do dutiny břišní nebo jej zresekovat. Kýlní vak je možno ponechat in situ nebo jej uzavřít u krčku a odstranit. Nakonec provedeme plastiku břišní stěny, a to dle typu a velikosti kýly. Kýlní branku můžeme např. klasicky uzavřít sešitím fasciálních okrajů nevstřebatelným materiálem, u větších defektů či při laparoskopii zpevňujeme břišní stěnu polypropylenovou sítkou bez napětí. Konzervativní léčba ve formě nošení kýlních pásů je zcela bez efektu (Earle et McLellan, 2013, Shakil et al., 2020, Zöller et al., 2013, Holzheimer, 2005, Stylianides et Slade, 2016).

Následnými komplikacemi operačního výkonu mohou být poranění obsahu kýly. V případě poranění omenta či solidního orgánu (např. ovaria, funiculus spermaticus), tkáň či cévy dochází ke krvácení do dutiny břišní, ke vzniku hemoperitonea a k rozvoji hemorrahgického šoku. V případě poranění dutého orgánu (tenkého a tlustého střeva, žaludku, appendixu) dochází k purulentní nebo sterkorální peritonitidě, k septickému šoku a k poruše funkce daného orgánu (např. paralytickému či obstrukčnímu ileu při poranění střevní kličky, k poruše plodnosti při poranění ovaria či chámovodu a k ischemii varlete při přerušení cévního zásobení varlete) (Holzheimer, 2005, Lindmark et al., 2018, Chowbey et al., 2006). K pooperačním komplikacím v raně patří krvácení a zánět. Masivní krvácení vyžaduje urgentní chirurgickou revizi a pečlivou hemostázu, menší hematomy lze léčit konzervativně klidovým režimem, ledováním či aplikací masti s obsahem heparinoidu. K zánětlivým komplikacím patří flegmóna břišní stěny, fasciitida či absces v operační ráně (Lindmark et al., 2018). Léčba se liší dle rozsahu zánětu a závažnosti lokálního nálezu. Zahrnuje ledování a antibiotickou terapii, evakuaci hnisu, laváž a drenáž, otevřené sekundární hojení rány a při rozsáhlém nálezu kompletní rozpuštění rány a nasazení podtlakové terapie. V okolí rány dochází vlivem přerušení senzitivních nervů k dočasnému porušení až ztrátě senzitivity. Stav pacienta se zpravidla v řádu týdnů až měsíců zlepšuje a citlivost se postupně obnovuje, vzácně může dojít k trvalé ztrátě citlivosti. Pozdní komplikace zahrnují hypertrofickou nebo keloidní jizvu, chronické bolesti v třísle či pupku, tvorbu adhezí v dutině břišní s rizikem vzniku poruchy pasáže a recidivu kýly v jizvě (Chowbey et al., 2006, Scheuermann et al., 2017). Obecná rizika operačního výkonu představují tromboembolické komplikace (hluboká žilní trombóza, plicní embolie), zánětlivá onemocnění (pneumonie, močová infekce, kanylová seps), rizika spojená s typem anestezie a hospitalizační rizika.

1.1.2.1. Pupeční kýla

Pupeční kýla se projevuje vyklenutím v oblasti pupku (**Obrázek č. 19**). Může být vrozená (pokud nedojde k uzávěru defektu břišní stěny po průchodu pupečního provazce po porodu) či získaná. Zatímco u dospělých pacientů je nutná chirurgická léčba, u dětí v prvních letech života dochází často ke spontánnímu uzávěru defektu a k regresi kýly. K operačnímu řešení přistupujeme u dětí starších dvou let s defektem ve fascii širším než 1,5cm (Troullioud Lucas et al., 2023).



Obrázek č. 19 – Objemná pupeční kýla u obézní pacientky.

Během prenatalního vývoje se objem orgánů dutiny břišní zvětšuje rychleji než objem břišní dutiny, délka střeva se postupně prodlužuje. V 6. týdnu embryonálního vývoje dochází kvůli tomu k přesunu střevní kličky do extraembryonálního coelomu pupečního provazce, k tzv. fyziologické kýle. Presentovaná kýla se zpravidla spontánně uzavře do 16. měsíce věku dítěte (Troullioud Lucas et al., 2023). Pokud se defekt neuzavře, řešíme ho konzervativní léčbou. Ta zahrnuje náplast'ovou fixaci či kompresní krytí, případně nošení kýlního pásu. Operační léčba přichází v úvahu až při neúspěchu konzervativního postupu.

Diagnostika pupeční kýly je založena na posouzení klinického obrazu a na fyzikálním vyšetření, paraklinická vyšetření nejsou zpravidla nutná. Ve výjimečných případech můžeme doplnit USG či CT břicha, a to zejména u obézních pacientů či při komplikacích.

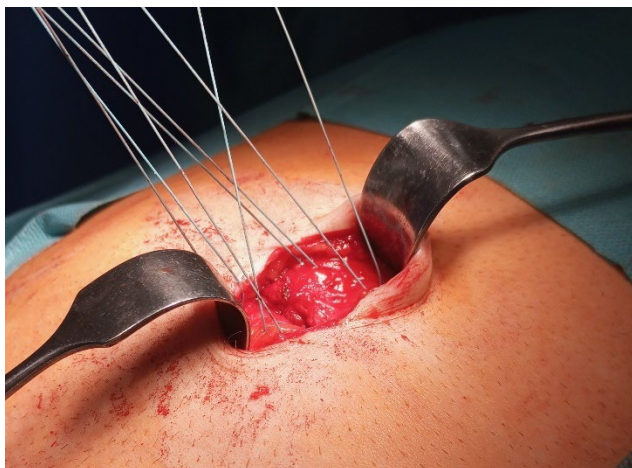
Léčba u dospělých pacientů je pouze operační (Liang et al., 2017). Plastika pupeční kýly se provádí v celkové anestezii, možné je i užití anestezie spinální či lokální. V naprosté většině operačních výkonů převládá klasická otevřená plastika, možná je i laparoskopická plastika či roboticky asistovaná plastika pupeční kýly (Appleby et al., 2018, Earle et McLellan, 2013).

Kožní incize je vedena semicirkulárně pod pupkem, u větších kýl může být incize vedena příčně nad pupkem či ve střední čáře. Poté je nutné od kýlního vaku opatrně oddělit kožní pupek, vypreparovat kýlní vak až ke krčku a očistit fasciální okraje v dostatečném rozsahu potřebném k provedení plastiky (**Obrázek č. 20**). Obsah kýly i samotný kýlní vak lze podle nálezu reponovat do dutiny břišní či je zresekovat.



Obrázek č. 20 – Vypreparovaný vak pupeční kýly při hernioplastice.

Plastiku provádíme klasicky pod napětím suturou nevstřebatelným šicím materiálem napříč (**Obrázek č. 21**), u větších defektů upřednostňujeme použití plastiky pomocí sítěky bez napětí (Appleby et al., 2018). Síťku lze aplikovat nad fascii, případně mezi přední a zadní list pochvy přímého břišního svalu či mezi fasciální vrstvu a peritoneum. Pupeční kýlu lze operovat rovněž laparoskopicky peritoneálním nebo častěji extraperitoneálním způsobem, např. technikou MILOS/eMILOS (Earle et McLellan, 2013). Robotické plastiky nejsou v současnosti rutinně prováděny.

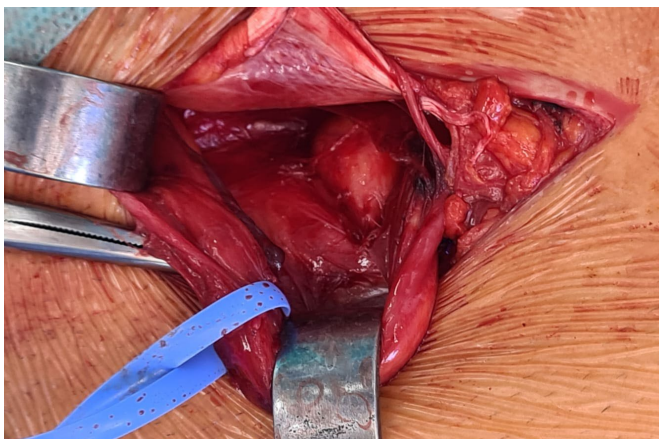


Obrázek č. 21 – Plastika pupeční kýly jednotlivými stehy nevstřebatelným šicím materiálem.

1.1.2.2. Tříselná kýla

U tříselné kýly dochází k přesunu tkání či orgánů skrze oslabené okrsky stěny břišní v oblasti tříselného kanálu projevující se vyklenutím v oblasti třísla. Tříselné kýly mohou být jak vrozené, tak i získané v průběhu života. U dospělých pacientů jsou nejčastějším typem abdominální kýly, které se běžněji vyskytují u mužů (Dabbas et al., 2011, Ramanan et al., 2014, Zöller et al., 2013).

Tříselný kanál tvoří štěrbina v břišní stěně délky cca 4-5 cm nad tříselným vazem. Kraniálně je ohraničen snopci musculus obliquus abdominis internus a musculus transversus abdominis, jeho přední stěnu představuje aponeuróza musculus obliquus abdominis externus a zadní fascie transversalis (Bellón et al., 2001). U mužů prochází tříselným kanálem funikulus spermaticus (**Obrázek č. 22**). V průběhu embryonálního vývoje touto cestou sestupují varlata do skrota spolu s processus vaginalis peritonei (výchlípkou peritonea). U žen tříselným kanálem prochází ligamentum teres uteri (**Obrázek č. 23**).



Obrázek č. 22 – Otevřená plastika tříselné kýly – na modré hadičce pod hákem funiculus spermaticus.



Obrázek č. 23 – Laparoskopická preparace tříselné kýly – modrou šipkou označeno ligamentum teres uteri.

Na základě průchodu kýlního vaku tříselným kanálem dělíme tříselné kýly na přímé a nepřímé (Holzheimer, 2005). Nepřímá tříselná kýla může být vrozená (při perzistujícím processus vaginalis peritonei) i získaná, zatímco přímá kýla je pouze získaná (Jiang et al., 2015). Přímá kýla prochází skrz fossu inguinalis medialis do Trigonum inguinale Hesselbachi a vystupuje v anulus inguinalis superficialis (Holzheimer, 2005, Bellón et al., 2001). Tento typ kýly se častěji vyskytuje u mužů s hyperplazií prostaty nebo po excesivní zátěži. Riziko inkarcerace je oproti nepřímé tříselné kýle minimální (Park et al., 2016).

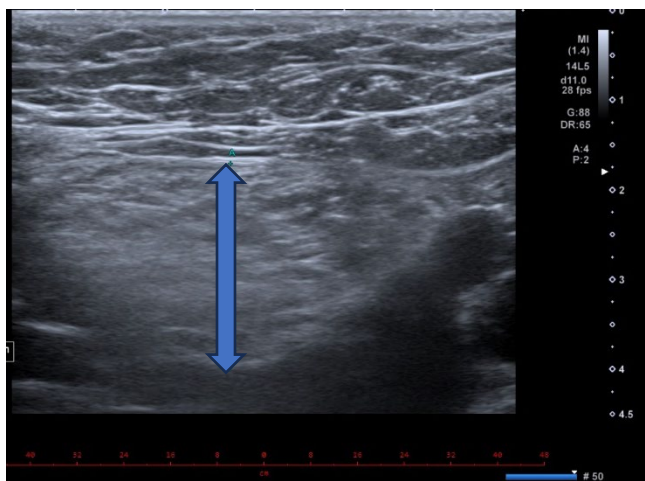
Nepřímá tříselná kýla prochází tříselným kanálem spolu se semenným provazcem u mužů a ligamentum teres uteri u žen – vstupuje ve fossa inguinalis lateralis (anulus inguinalis profundus) a vystupuje v anulus inguinalis superficialis (Park et al., 2016). Podle lokalizace

kýlního vaku v tříselném kanále dělíme nepřímou tříselnou kýlu na hernia interstitialis (končí v průběhu tříselného kanálu) a hernia completa (kýlní vak vychází anulem ven). V případě, že se kýlní vak dostane až do skrota, jedná se o kýlu skrotální. U žen můžeme pozorovat kýlu labiální v oblasti velkého stydkého pysku. Pantalónskou hernií označujeme stav, kdy je u pacientů přítomna současně jak přímá, tak i nepřímá tříselná hernie (Esposito et al., 2014).

Tříselná kýla se projevuje bolestivostí, pálením, řezáním či diskomfortem a tlakem v třísle, které se mohou propagovat do šourku či velkého stydkého pysku. Obtíže se objevují ve stoje i při námaze, vleže zpravidla vymizí. Větší kýly mohou způsobovat dysurické obtíže a retenci moči (Jiang et al., 2015).

Při fyzikálním vyšetření pozorujeme vyklenutí a hmatáme elastickou rezistenci v třísle nad tříselným vazem. Nepřímá tříselná kýla se nejvýhodněji vyšetřuje u stojícího pacienta, kdy přes skrotum či velký stydký pysk nahmatáme anulus inguinalis superficialis, jímž prochází kýlní vak. U rozsahem menších kýl vyzveme pacienta ke kašli, čímž zvýšíme nitrobřišní tlak a rezistenci tímto manévrem zvýrazníme. (LeBlanc et al., 2013, Shakil et al., 2020, Bax et al., 1999). Pomocí klinického vyšetření můžeme rozlišit přímou a nepřímou tříselnou kýlu. Vyhmatáme pulzaci arteria femoralis – u přímé tříselné kýly je pulzace a. femoralis hmatná laterálně od kýlního vaku, u nepřímé kýly mediálně. Diferenciálně diagnosticky musíme odlišit stehenní kýlu a supravezikální kýlu. Femorální kýla se častěji vyskytuje u žen. Kýlní vak stehenní kýly hmatáme pod tříselným vazem v lacuna vasorum, přes fossu iliopectineu se může propagovat až na stehno. U tohoto typu kýly je úzká kýlní branka a riziko inkarcerace je vysoké. Supravezikální kýla je velice vzácná, vstupuje do fossa supravessicalis a vystupuje v anulus inguinalis superficialis.

Nejběžněji používaným paraklinickým vyšetřením je USG (**Obrázek č. 24**). Tříselná oblast je pro USG zpravidla velmi dobře přístupná a přehledná. Vyšetřit a bezpečně rozlišit lze i drobné defekty a jednotlivé typy kýl či rezistence jiného původu (např. lymphadenopatie, nebo aneurysma v oblasti a. iliaca externa či a. femoralis) (Park et al., 2016). CT či MRI indikujeme při nejasných nálezech, komplikacích či u jinak nevyšetřitelných pacientů.



Obrázek č. 24 – Sonografické zobrazení tříselné kýly (průměr označen modrou šipkou).

Léčba tříselné kýly je výlučně operační. Existuje mnoho různých operačních technik, a to jak klasických, tak laparoskopických i roboticky asistovaných (Holzheimer, 2005). Klasické plastiky pod napětím lze provádět prefunikulárně (plastika dle Maydla a Kukuly či Girardova plastika, plastika dle Wölflera) nebo retrofunikulárně (plastika dle Bassiniho-Lotheissena, plastika dle McVaye). Častěji je indikována klasická plastika bez napětí s implantací sítě dle Lichtensteina nebo laparoskopická plastika (Bax et al., 1999). Obě uvedené techniky patří mezi nejpoužívanější.

U plastiky dle Lichtensteina provádíme šikmou incizi asi dva prsty nad tříselným vazem. Postupně protínáme podkoží a Camperovu a Scarpeovu fascii až obnažíme aponeurózu musculus obliquus abdominis externus. Aponeurózu protneme až do anulus inguinalis superficialis, přičemž šetříme nervus ilioinguinalis a ramus genitalis nervi genitofemoralis (**Obrázek č. 25**) (Messias et al., 2024).



Obrázek č. 25 – Incize v třísle, protnutá aponeuróza musculus obliquus abdominis externus, na spodině funiculus spermaticus s praeperitoneálním lipomem.

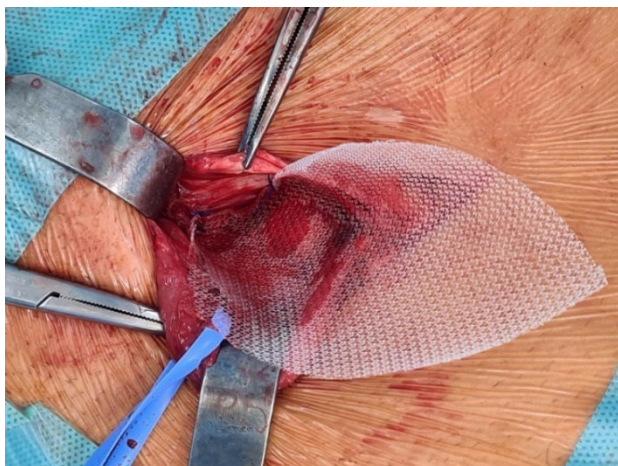
Tupě odpreparujeme či přerušíme musculus cremaster a uvolníme a zrevidujeme funiculus spermaticus, zda je přítomen vak nepřímé tříselné kýly (**Obrázek č. 26**). Struktury funiculu maximálně šetříme a ponecháváme in situ. Ženy mají v tříselném kanále ligamentum teres uteri, které můžeme bez obav resekovat. U nepřímé kýly vypreparujeme kýlní vak a zrevidujeme jeho obsah. V naprosté většině případů obsah vrátíme zpět do dutiny břišní, kýlní vak uzavřeme u krčku stehem a odstraníme jej. Pokud jsou ve spermatickém funiklu přítomny praeperitoneální lipomy, na peánech je také resekujeme. U přímé kýly vak v naprosté většině ponecháváme, k resekci přistupujeme pouze v případě objemných kýl.



Obrázek č. 26 – Kýlní vak nepřímé tříselné kýly.

Následně vložíme do třísla polypropylenovou síťku (**Obrázek č. 27**), laterální část síťky rozstříhneme, abychom vzniklým otvorem mohli volně protáhnout funiculus spermaticus. Síťku ukotvíme nevstřebatelným stehem mediálně k raménku kosti stydké a ve spodní části

k inguinálnímu ligamentu. Horní část sítě fixujeme stehy k transverzální fascii a snopcům musculus obliquus abdominis internus. Důležitá je dostatečně velká plocha sítě zabráňující recidivě kýly (standardní velikost je 10x15cm) a rovněž patřičně velký otvor pro funiculus (neoanulus inguinalis profundus), aby nezpůsobil zaškrcení cév pro varle a zároveň aby nebyl otvor příliš široký a nevznikla v tomto místě opět kýla. Ránu uzavíráme po jednotlivých anatomických vrstvách (**Obrázek č. 28**) (Messias et al., 2024).



Obrázek č. 27 – Vkládání polypropylenové sítě.



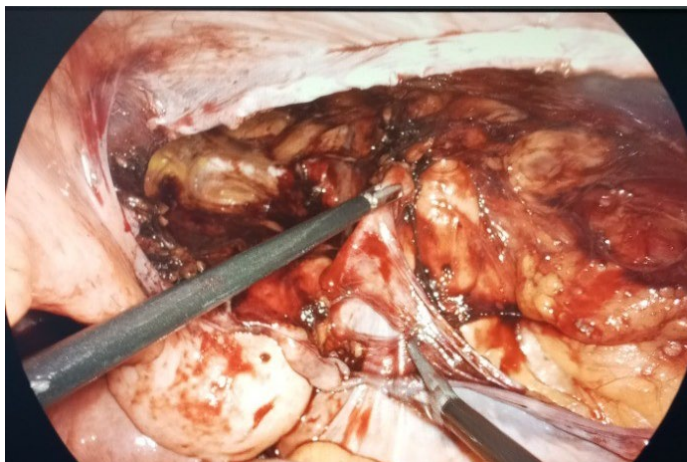
Obrázek č. 28 – Uzavřená operační rána.

Laparoskopickou hernioplastiku provádíme v celkové anestezii. Jednou z nejrozšířenějších metod je metoda TAPP (transabdominální preperitoneální plastika). Spočívá v tom, že nejprve založíme kapnoperitoneum (do dutiny břišní insuflujeme oxid uhličitý o celkovém tlaku 12 mmHg), zavedeme 10 mm port pro optiku do pupku a dva 5 mm

pracovní porty vpravo a vlevo od pupku. Poté nastříhneme peritoneum v třísle od oblasti spina iliaca anterior superior mediálně až k raménku kosti stydké (**Obrázek č. 29**).



Obrázek č. 29 – Laparoskopická hernioplastika tříselné kýly – nastřížení horního okraje peritonea.



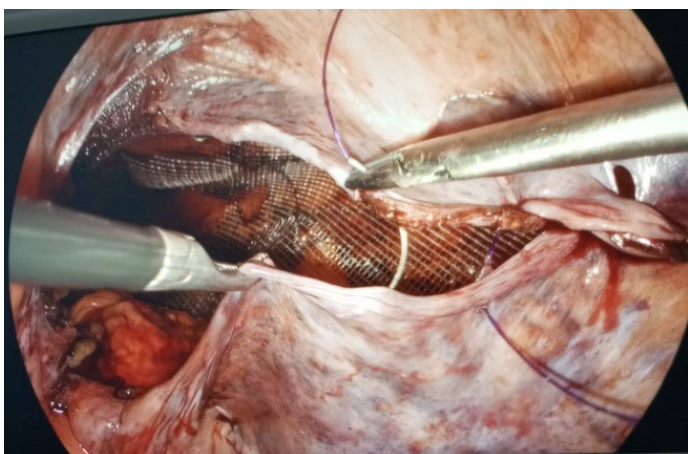
Obrázek č. 30 – Laparoskopická preparace kýlního vaku tříselné kýly.

Okraje peritonea uvolníme a šetrně vypreparujeme kýlní vak z tříselného kanálu. (**Obrázek č. 30**). Za oslabenou zadní část břišní stěny vložíme polypropylenovou síťku o velikosti 10x15cm a zafixujeme ji (např. kovovými spirálami, **Obrázek č. 31**).



Obrázek č. 31 – Umístění polypropylenové síťky.

Peritoneum přešijeme a uzavřeme stehem (**Obrázek č. 32 a č. 33**). Můžeme použít i jiné techniky plastiky – např. použít speciální nesmáčivou síťku, kterou je možno aplikovat na peritoneum, případně zvolit i přístup extraperitoneální (Wake et al., 2005).



Obrázek č. 32 – Uzávěr peritonea v oblasti třísla.

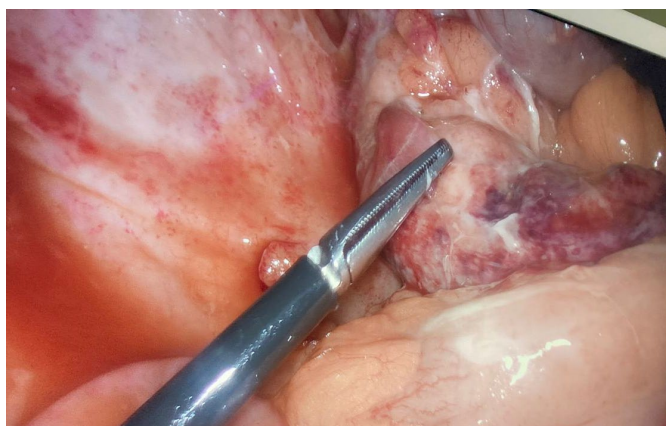


Obrázek č. 33 – Závěrečný pohled na provedenou laparoskopickou plastiku tříselné kýly.

1.1.3. Akutní apendicitida

Akutní apendicitida (**Obrázek č. 34**) je jednou z nejčastějších náhlých příhod břišních vyžadujících akutní revizi dutiny břišní (Téoule et al., 2020, Walter, 2021). Hlavní příčiny onemocnění nejsou přesně známy (Bhangu et al., 2015). Rizikovými faktory jsou především městnání střevního obsahu a vnik koprolitu (D'Souza et Nugent, 2016), útlak zvenčí (např. na podkladě adheze), obstrukce appendixu cizím tělesem či parazitem, nadměrná délka appendixu, stavy spojené s poruchami výživy či poruchy rovnováhy střevní mikroflóry (Bhangu et al., 2015).

Na základě histologického charakteru zánětu rozlišujeme katarální apendicitidu (zánět je lokalizován na sliznici), flegmonózní apendicitidu (zánět stěny), ulcerózní apendicitidu s vředovitými lézemi, gangrenózní apendicitidu a perforovanou apendicitidu, případně kombinaci všech uvedených typů (Bhangu et al., 2015). Zánět bývá zpočátku lokalizovaný, při progresi může dojít ke vzniku periapendikulárního infiltrátu a cirkumskriptní peritonitidy, později difúzní peritonitidy (Gomes et al., 2020).



Obrázek č. 34: Laparoskopický pohled na flegmonogangrenózní apendicitidu (appendix označen špičkou nástroje).

Klinické příznaky u akutní apendicitidy začínají náhle z pocitu plného zdraví a liší se podle lokalizace appendixu v dutině břišní či na základě celkového stavu pacienta. Tupé a neurčité bolesti se objevují nejprve v nadbřišku, poté se přesouvají do pravého podbřišku (Wagner et al., 2018). Typickými místy bolestivosti jsou Lanzův bod (spojnice mezi pravou a levou spina iliaca anterior superior ve vzdálenosti 1/3 od pravé spiny) a McBurneyův bod (nachází se na spojnici pupku a spina iliaca anterior superior ve vzdálenosti 2/3 od pupku) (Téoule et al., 2020). Dalšími symptomy akutní apendicitidy jsou nauzea a zvracení,

nechutenství, plynatost, spíše zácpa než průjem, tachykardie, subfebrilie (kolem 37,5 °C) (Walter, 2021, Benabbas et al., 2017). Při měření teploty se projevuje Lennanderův příznak – rozdíl mezi teplotou v axile a v rektu je více než 1 °C (Grafteo et Counselman, 1996). Při retrocékální pozici apendixu mohou být bolesti v bedrech a imitovat renální koliku, u pelvické pozice bývá bolest za sponou stydkou a dráždění rekta může způsobovat průjem (Zacharzewska-Gondek et al., 2019). Při mesocoeliakální poloze apendix směřuje mezi kličky střevní a imituje tak ileózní stav, příznaky peritoneálního dráždění se objevují později (Zacharzewska-Gondek et al., 2019). Klinický obraz bývá atypický u těhotných žen, kdy dochází k vytlačení céka rostoucí dělohou a bolesti se objevují v pravém podžebří (Guttman et al., 2004). U dětí do dvou let je akutní apendicitida vzácná, průběh je však závažný s vysokým rizikem perforace apendixu z důvodu menší schopnosti peritonea a omenta zánět ohraničit (Téoule et al., 2020, Becker et Kharbanda, 2019, Almaramhy, 2017). U geriatrických pacientů jsou naopak tendence zánět ohraničit zvýšené a klinický nález je chudý (Emektar et al., 2022).

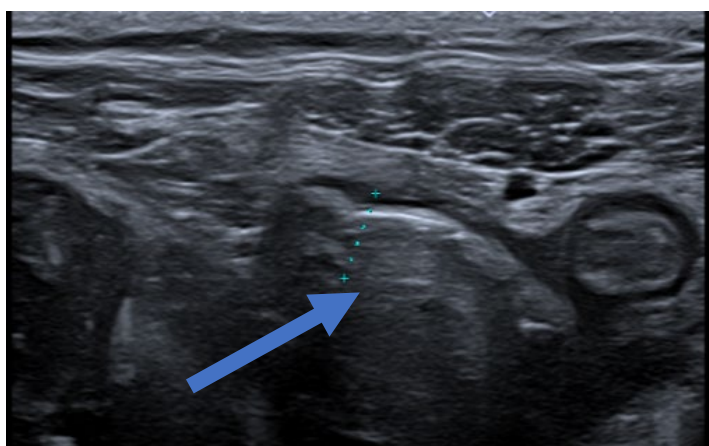
Diagnózu stanovujeme na základě kombinace anamnézy, klinického a paraklinického vyšetření (Snyder et al., 2018). Při fyzikálním vyšetření jsou přítomny příznaky peritoneálního dráždění (Benabbas et al., 2017)– viz **Tabulka č. 1**.

Tabulka č. 1: Příznaky peritoneálního dráždění u apendicitidy

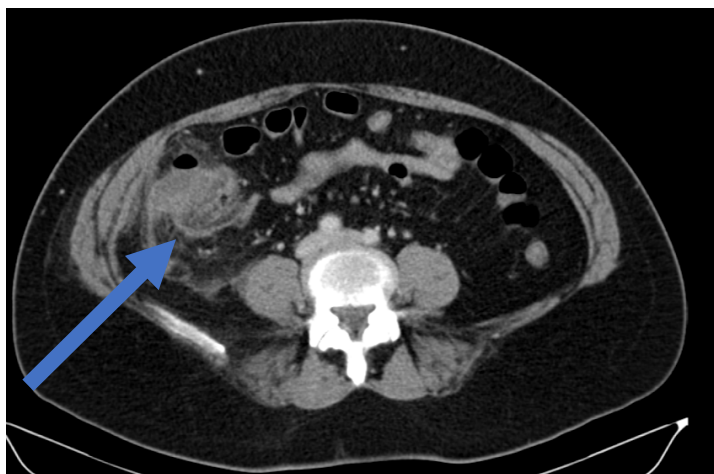
Příznak	Klinické projevy
Defense musculaire	Prknovité stažení stěny břišní – pozdní příznak při difúzní peritonitidě
Blumbergův příznak	Bolest břicha po uvolnění tlaku na břicho v místě pravého podbřišku
Rovsingův příznak	Při tlaku na levý podbřišek a následném oddálení nemocný pociťuje bolesti v pravém podbřišku
Pléniesovo znamení	Poklepová bolestivost v pravém podbřišku
Obturátorový příznak	Abdukce, flexe a vnitřní rotace v kyčli vyvolá bolest v pravém podbřišku (u pelvické pozice apendixu)
Psoatový příznak	Při hyperextenzi nebo flexi v kyčli proti odporu bolest v pravém podbřišku (u retrocékální pozice apendixu)
Döhlerův příznak	Distančně slyšitelné nebolestivé škroukavé zvuky céka při hluboké palpaci v pravém podbřišku
Procházekův příznak	Bolestivý blefarospasmus při hluboké palpaci v pravém podbřišku

Copeův příznak	Bolest v pravém podbřišku v poloze vleže na levém boku s nataženou pravou dolní končetinou
----------------	--

Laboratorní výsledky potvrzují elevaci zánětlivých parametrů, která nemusí být zpočátku výrazná (Bhangu et al., 2015). V první fázi pozorujeme leukocytózu, následně dochází k elevaci CRP (Benabbas et al., 2017). Ze zobrazovacích vyšetření je nejužívanější a nejdostupnější metodou USG břicha (**Obrázek č. 35**), v případě diagnostických rozpaků doplněnou o CT břicha (**Obrázek č. 36**) (Borrue Nacenta et al., 2023).



Obrázek č. 35: Sonografický obraz akutní apendicitidy – appendix označen modrou šipkou.



Obrázek č. 36: Gangrenózní perforovaná apendicitida na snímku z počítačové tomografie.

Diferenciálně diagnosticky musíme odlišit onemocnění projevující se bolestmi v pravém podbřišku. Z gynekologických diagnóz se jedná např. o akutní pravostrannou adnexitidu, prasklou ovariální cystu, torzi ovaria či extrauterinní graviditu (Téoule et al., 2020). Z urologických onemocnění se bolestmi v pravém podbřišku projevuje např. renální kolika,

akutní cystitida či pyelonefritida. Podobnými příznaky se může projevit i akutní gastroenteritida, mezenterální lymfadenitida, perforovaný gastroduodenální vřed, akutní cholecystitida, Crohnova choroba, zánět Meckelova divertiklu (Graffeo et Counselman, 1996), karcinom či karcinoid apendixu, low grade mucinózní novotvar apendixu (LAMN, **Obrázek č. 37**) či karcinom céka (Téoule et al., 2020, Skendelas et al., 2021). Stažení svalů a klinický obraz imitující dráždění peritonea se může vyskytovat i u pneumonie.



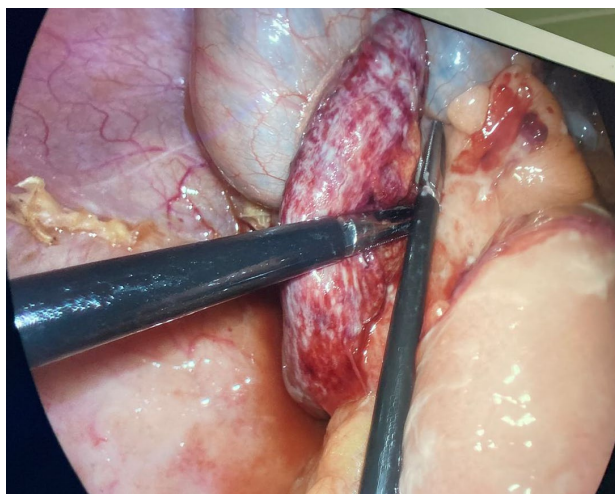
Obrázek č. 37: Low grade mucinózní novotvar apendixu na snímku z počítačové tomografie (označeno modrou šipkou).

Léčba akutní apendicitidy je chirurgická a spočívá v provedení apendektomie (Shiihara et al., 2023). Standardem je laparoskopická apendektomie a provádí se i single port laparoskopická apendektomie, a to dle závažnosti postižení a zánětlivých změn v kombinaci s cílenou antibiotickou léčbou (Walter, 2021, Bhangu et al., 2015).

K možným komplikacím patří vznik periapendikulárního infiltrátu, kdy jsou omentum a tenké kličky přitaženy do místa zánětu a slepeny fibrinem. Dalším rizikem je periapendikulární absces, tedy ohraničená kolekce hnisu projevující se hmatnou bolestivou rezistencí v pravém podbřišku (Bhangu et al., 2015, Walter, 2021). V případě, že dojde k rozvinutí periapendikulárního infiltrátu, je postup léčby v první fázi konzervativní s nasazením antibiotické terapie, klidového režimu, ledování pravého podbřišku a dietních opatření. V případě, že je přítomen periapendikulární absces, provádíme punkci a drenáž pod navigací CT (Borrueel Nacenta et al., 2023). Apendektomii zvolíme odloženě za 6 až 8 týdnů po залечení pacienta (Walter, 2021). Při neléčeném akutním lokalizovaném zánětu dochází k rozvoji difúzní peritonitidy a sepsi.

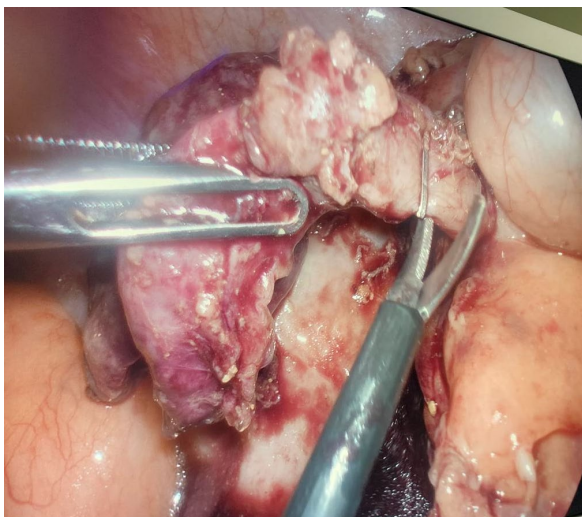
1.1.3.1. Apendektomie

Standardem chirurgického odstranění slepého střeva je metoda laparoskopické apendektomie, která se provádí v celkové anestezii (Walter, 2021, Snyder et al., 2018, Téoule et al., 2020, Domene et al., 2014)). Nejdříve zakládáme kapnoperitoneum, kdy do dutiny břišní insuflujeme oxid uhličitý o celkovém tlaku 12 mmHg (Veziant et Slim, 2014, Delibegović, 2012). Přístup do dutiny břišní provádíme otevřeně či zavřeně pomocí Veressovy jehly. Do oblasti pupku zavedeme 10mm port pro optiku a zrevidujeme dutinu břišní. Pod kontrolou zraku přidáme další 10mm port v levém hypogastriu a 5mm port ve střední čáře nad sponou stydkou (Veziant et Slim, 2014). Zrevidujeme ileocékální přechod a distálních 100cm ilea k zjištění přítomnosti jiné patologie nebo Meckelova divertiklu (**Obrázek č. 38**).

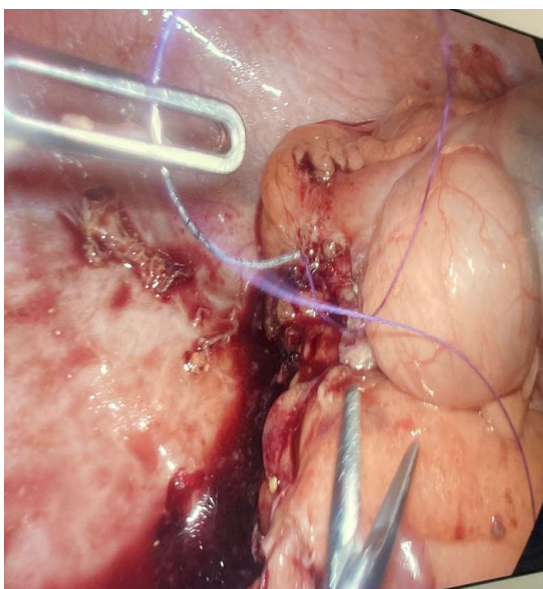


Obrázek č. 38: Laparoskopická revize apendixu.

Pomocí harmonického skalpelu či jiného laparoskopického nástroje využívajícího ultrazvukovou a bipolární energii skeletizujeme appendix (včetně ošetření a. appendicularis) a očistíme jeho bazi (Domene et al., 2014). Pomocí endoloopu appendix při bazi podvážeme a distálně uzavřeme titanovým klipem (**Obrázek č. 39**). Mezi nimi appendix přerušíme, vložíme do endobagu a extrahujeme z dutiny břišní (Veziant et Slim, 2014). Na některých pracovištích pahýl apendixu následně zanořují cirkulárním či „Z“ stehem (**Obrázek č. 40**).



Obrázek č. 39: Přestřížení skeletizovaného apendixu mezi klipem a loopem při laparoskopii.



Obrázek č. 40: Zanoření baze apendixu stehem.

Při pokročilejším nálezu či přítomnosti výpotku v dutině břišní vkládáme do malé pánve incizi nad sponou Redonův drén. Vstupy do dutiny břišní uzavíráme po vrstvách. Pokud je apendix laparoskopicky neošetřitelný, přistupujeme ke klasické otevřené apendektomii (Gomes et al., 2020). Přístup do dutiny břišní může být proveden střídavým řezem, pararektálním řezem či dolní střední laparotomií, a to při nejasném nálezu či extenzivním postižení. Skeletizujeme apendix a podvážeme jej, pahýl zanoříme nejprve cirkulárním stehem a poté přeshijeme „Z stehem“. Pokud zánětlivé změny postihují i bazi apendixu a cékum, musíme provést ileocékální resekci s ileotransverzoanastomózou.

Možnými komplikacemi operačního výkonu jsou např. krvácení z a. appendicularis či poranění cév v mesenteriu tenkého střeva, případně perforace terminálního ilea či céka při nešetrné manipulaci (Delibegović, 2012). Při perforaci střevní kličky se rozvine sterkorální peritonitida. Při retrocékální pozici apendixu může být vzácně poraněn pravý močovod s nutností jeho sutury či se zavedením ureterálního stentu až po reimplantaci močovodu. K infekčním komplikacím řadíme např. absces v dutině břišní či surgical site infections (ranné infekce) (Delibegović, 2012, Gomes et al., 2020). K pozdním komplikacím patří kýla v jizvě či vznik mnohočetných adhezí v dutině břišní. Adheze mohou způsobovat recidivující ileózní stavy a u žen mohou být jednou z příčin neplodnosti. Jako u každého chirurgického výkonu hrozí i obecná rizika operace a celkové anestezie (hluboká žilní trombóza, plicní embolie, pneumonie, uroinfekce).

1.2. Biomarkery

Biomarker je objektivně měřitelný a hodnotitelný indikátor určitého stavu či podmínek. Může se využívat např. k posouzení fyziologických nebo patologických procesů, k hodnocení terapeutické odpovědi, k predikci vzniku či progresu onemocnění, diferenciální diagnostice a řadě dalších faktorů. Ideální biomarker by měl být bezpečně a snadno stanovitelný, využitelný v celé populaci, náklady na jeho využití by měly být efektivní a jeho koncentrace by měly být ovlivnitelné léčbou sledovaného onemocnění (Califf, 2018). K významným markerům zánětu a tkáňové remodelace řadíme např. matrixové metalloproteinázy, tkáňové inhibitory metalloproteináz, alarminy a s nimi související molekuly.

1.2.1. Matrixové metalloproteinázy a tkáňové inhibitory metalloproteináz

Matrixové metalloproteinázy a tkáňové inhibitory metalloproteináz jsou látky bílkovinné povahy s katalytickou aktivitou, jejichž funkce spočívá v regulaci, organizaci a degradaci složek extracelulární matrix (Cui et al., 2017, Hey et Linder, 2024). Extracelulární matrix (česky mezibuněčná hmota) je nebuněčný skelet bohatý na bílkoviny tvořící trojrozměrné prostředí pro jednotlivé buňky a tkáně (Frantz et al., 2010). Poskytuje buňkám oporu a vytváří dynamické funkční prostředí regulující homeostázu a buněčnou diferenciaci a morfogenezi (Karamanos et al., 2021).

Extracelulární matrix je tvořena dvěma hlavními typy makromolekul, a to proteoglykany a vláknitými proteiny (Frantz et al., 2010). Proteoglykany obsahují dlouhé

disacharidové řetězce glykosaminoglykanů a vytvářejí gelovitou kompozici zajišťující odolnost vůči mechanickému poškození. Mezi vláknité proteiny řadíme kolageny, fibronektiny, tenascin, elastiny a laminin. Kolagen je hlavním proteinem extracelulární matrix, může tvořit až 30 % její celkové hmoty. Existuje více než 30 typů kolagenů, které jsou produkovány fibroblasty, endoteliálními a epiteliálními buňkami (Jabłońska-Trypuć et al., 2016). Hlavní funkce kolagenu je biomechanická, zajišťující pevnost tkáně v tahu a podílející se na buněčné adhezi, migraci a chemotaxi. Dalšími složkami extracelulární matrix jsou např. trombospondiny, cystatiny a proteiny bohaté na cystein (Frantz et al., 2010). Interakci mezi buňkami a extracelulární matrix zajišťují chemokiny, cytokiny a růstové faktory reagující s receptory na buněčném povrchu (Karamanos et al., 2021).

1.2.1.1. Matrixové metalloproteinázy

Matrixové metalloproteinázy (matrixiny) jsou extracelulární, či membránové proteinázy sloužící k degradaci a organizaci proteinů extracelulární matrix, které mají prozánětlivé a proteolytické účinky (Cauwe et al., 2007, Lee et al., 2004). Metalloproteinázy jsou bílkovinné látky obsahující jeden nebo více kovových prvků. Základním kovem obsaženým v matrixových metalloproteinázách je zinek (Cui et al., 2017).

MMPs patří do širší skupiny Zn-dependentních metalloproteináz (Zakiyanov et al., 2019). Uvedená rodina metalloproteináz se podílí na regulaci procesů embryonálního vývoje, formaci kostí, reprodukci, hojení ran nebo nádorovém bujení (Gill et Parks, 2008, Jabłońska-Trypuć et al., 2016, Roy et al., 2009). Poprvé byly u člověka popsány v roce 1962 Jeromem Grossem a Charlesem Lapierem.

Metalloproteinázy dělíme na (Cui et al., 2017, Zakiyanov et al., 2019):

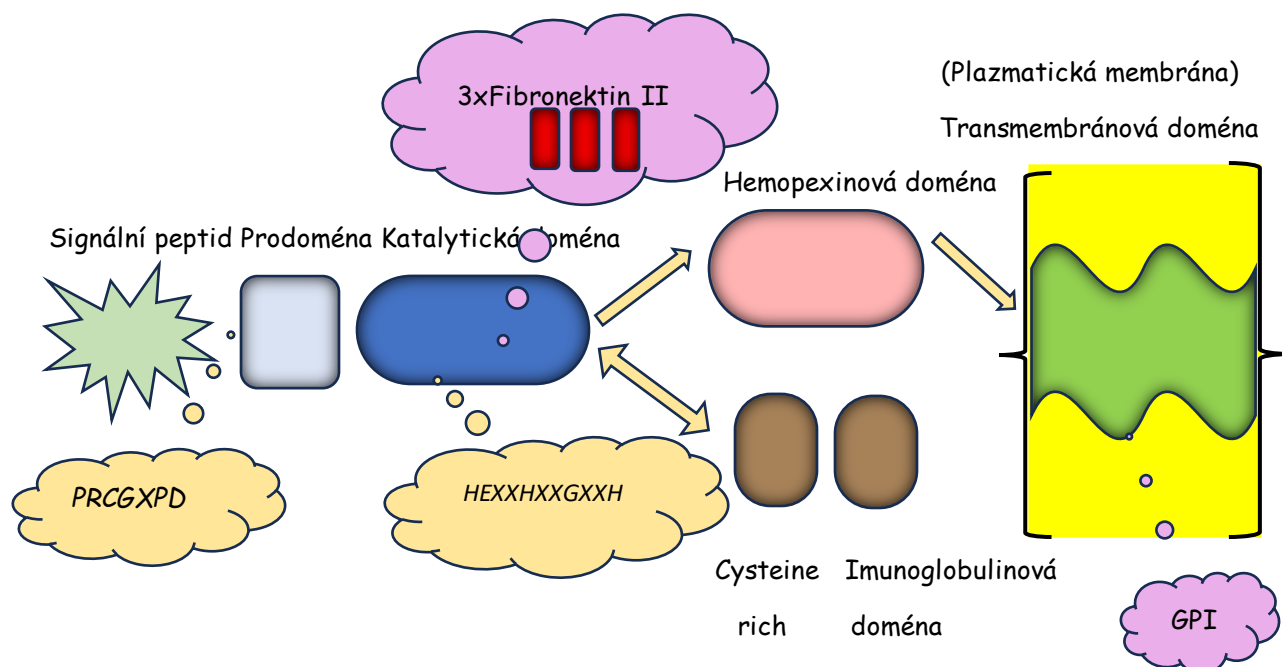
1. termolysiny
2. astakiny
3. „serratin“ enzymy
4. matrixové metalloproteinázy (matrixiny)
5. prolysin metalloproteinázy
6. metzinciny.

U lidské populace bylo zaznamenáno nejméně 24 matrixinových genů (geny pro MMP-23 jsou duplikované). V literatuře je popsáno přibližně 29 matrixových metalloproteináz a

postupně jsou popisovány další, ačkoli existence některých z nich je sporná a terminologie není vždy zcela jednoznačná. Exprese a transkripce jsou řízeny prozánětlivými cytokiny, růstovými faktory, hormony a interakcí mezi buňkami a extracelulární matrix (Zakiyanov et al., 2019). Matrixové metalloproteinázy jsou syntetizovány jako inaktivní prekurzory – zymogeny, z nichž je odštěpen propeptid (Rosenberg, 2009). MMPs mají společnou doménovou strukturu. Skládají se z propeptidu (obsahuje 80 aminokyselin), katalytické metalloproteinázové domény (obsahuje 170 aminokyselin), flexibilního peptidu variabilní délky (tzv. „hinge region“) a hemopexinové domény (obsahuje 200 aminokyselin) (Cui et al., 2017). Ke společným motivům ve struktuře MMPs patří v katalytické doméně motiv vázající zinek (*HEXXHXXGXXH*) a v propeptidu motiv „cystein switch“ neboli cysteinové sepnutí (*PRCGXPD*) (Jabłońska-Trypuć et al., 2016, Hey et Linder, 2024). Schéma struktury matrixových metalloproteináz zobrazuje **Obrázek č. 41**.

Pomocí rentgenové krystalografie a nukleární magnetické rezonanční spektroskopie byly stanoveny trojrozměrné struktury MMPs. Doménu tvoří 5-ti vláknový β -skládaný list, tři α helixy a spojovací smyčka. Uvedená doména obsahuje dva ionty zinku (katalytický a strukturní) a až tři ionty vápníku, které stabilizují její strukturu (Nagase et al., 2006).

Obrázek č. 41: Schéma struktury matrixových metalloproteináz:



Fibronectin II – fibronectin typ II
GPI – glycosylphosphatidylinositolová kotva
HEXXHXXGXXH – motiv vázající zinek
PRCGXPD – motiv „cystein switch“

Aktivita MMPs je za fyziologických podmínek v organismu velmi nízká. Endogenní regulace MMPs je kontrolována tkáňovými inhibitory metalloproteináz – TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases) a α 2-makroglobulinem (Zakiyanov et al., 2019). Lidský α 2-makroglobulin je plazmatický glykoprotein, který inhibuje proteinázy jejich zachycením do makroglobulinu. Makroglobulinový komplex je následně urychleně uklizen receptorem (TIMPs je věnována pozornost v samostatné kapitole). K syntetickým inhibitorům MMPs zařazujeme např. doxycyklin. Transkripce MMPs je regulována cytokiny a růstovými faktory, zejména IL-6, IL-1 a TNF α .

MMPs ovlivňují řadu procesů v organismu, a to jak fyziologických, tak patologických (**Tabulka č. 2**). Degradují pojivovou tkáň a podílejí se na procesech souvisejících s ontogenetickým vývojem (např. s morfogenezí, angiogenezí, růstem, hojením ran aj.), tedy na všech procesech spojených se zvýšenou syntézou, degradací, organizací či maturací extracelulární matrix (Cauwe et al., 2007, Lee et al., 2004, Cai et al., 2022, Gill et Parks, 2008). Změněná aktivita MMPs vede k zánětlivým, degenerativním a nádorovým procesům (Gill et Parks, 2008, Jabłońska-Trypuć et al., 2016, Rosenberg, 2009, Roy et al., 2009). MMPs se účastní např. procesu aterosklerózy, a to jak v tvorbě, tak i progresi a následné ruptuře aterosklerotického plátu. Ovlivňují remodelaci myokardu v reakci na ischemicko-reperfúzní poškození tkáně při ischemické chorobě srdeční, kdy vlivem fibrotické přestavby dochází k rozvoji diastolického srdečního selhání (Cui et al., 2018). Podílejí se rovněž na patogenezi renální insuficience a chronickém onemocnění ledvin. Vlivem indukce tkáňové remodelace glomerulů, tubulů a cévního řečiště dochází k narušení bazální membrány, k poruše glomerulární filtrace a k rozvoji glomerulární sklerózy (Zakiyanov et al., 2019). Změněná aktivita matrixových metalloproteináz se ovlivněním metabolismu kolagenů podílí na etiopatogenezi tříselných kýl (Antoniou et al., 2009, Henriksen et al., 2015, Klinge et al., 1999, Peeters et al., 2014).

Tabulka č. 2 – Procesy ovlivňované matrixovými metalloproteinázami.

Fyziologické procesy	Patologické procesy
Angiogeneze	Artritida, revmatoidní artritida
Apoptóza	Alzheimerova choroba
Děložní cyklus	Ateroskleróza
Poporodní involuce dělohy	Gastrický vřed
Ovulace	Emfyzém plic

Embryonální vývoj	Cirhóza jater
Cyklus vlasového váčku	Kožní ulcerace
Zánět	Nádorové bujení + metastazování
Kostní remodelace	Nefritidy
Imunitní odpověď	Renální selhání
	Roztroušená skleróza

Podle struktury a preferovaného substrátu dělíme MMPs na (Zakiyamov et al., 2019, Cui et al., 2018):

1. kolagenázy – při neutrálním pH štěpí nativní šroubovici kolagenu bez předchozí denaturace;
2. stromelysiny – štěpí nekolagenní proteiny (proteoglykany, glykoproteiny, fibronectin, laminin);
3. matrilysiny – postrádají hemopexinovou doménu;
4. gelatinázy – štěpí denaturovaný kolagen plus intaktní kolagen typu IV v bazálních membránách;
5. membránové metalloproteinázy;
6. jiné MMPs – např. makrofágová elastáza.

1.2.1.1.1. Matrixová metalloproteináza 1

MMP-1 neboli kolagenáza I štěpí intersticiální kolageny typu I, II a III na charakteristické fragmenty, přednostně štěpí kolagen typu III. Její aktivita ve zdravé tkáni je za fyziologických podmínek nízká, exprese je podporována prozánětlivými cytokiny, zejména IL-1 a TNF- α . MMP-1 se podílí na ateroskleróze, vyšší hladiny jsou přítomny zejména u nestabilních aterosklerotických plátů a u pokročilých kardiálních onemocnění. Účastní se procesů vedoucích k ruptuře aterosklerotického plátu (Hu et al., 2018). MMP-1 je studována v onkologii, studie popisují souvislost aktivity MMP-1 s agresivitou nádoru, s metastazováním a s horší prognózou, a to zejména u karcinomu štítné žlázy, spinocellulárního karcinomu jazyka, močového měchýře, karcinomu prsu a karcinomu jícnu (Cui et al., 2017, Limb et al., 2005, Du et al., 2014, Roy et al., 2009). V případě karcinomu prsu její aktivita vede k podpoře růstu a invazi nádorových buněk (Argote Camacho et al., 2021). MMP-1 se podílí i na procesech souvisejících s degradací kostní matrix, s resorpcí kostní tkáně a její remodelace (Foos et al., 2001) a hraje klíčovou roli v patogenezi periodontálních onemocnění (Natarajen et al., 2024).

Genový polymorfismus genu pro MMP-1 má negativní účinky na osteoporózu a revmatoidní artritidu. MMP-1 se účastní rovněž etiopatogeneze tříselných kýl, kdy změna aktivity MMP-1 vede k alteraci poměrů kolagenu I a kolagenu III a podporuje tak rozvoj kýly (Rosch et al., 2002, Klinge et al., 1999).

1.2.1.1.2. Matrixová metalloproteináza 2

MMP-2, která patří mezi gelatinázy, označujeme jako gelatinázu A. Tento proteolytický enzym obsahuje ve své struktuře tři sekvence domény vázající fibronectin typu II umožňující jeho vazbu na kolagen a laminin. Štěpí kolageny I, II, III, IV, V a XI, laminin, fibronectin a další proteiny extracelulární matrix, ale její kolagenolytická aktivita je slabší než u kolagenáz (Cui et al., 2017, Nagase et al., 2006). Účastní se řady fyziologických i patologických procesů včetně zánětu, tkáňové reparace a angiogeneze (Aldobryte et al., 2009). Podílí se na patogenezi tříselné kýly (Bellón et al., 2001, Isik et al., 2017, Smigielski et al., 2009, Smigielski et al., 2011, Wang et al., 2020). Její účinky se projevují zejména v ledvinách a ve vaskulárním systému. MMP-2 se podílí na tkáňové remodelaci v oblasti ledvinných glomerulů, tubulů a v krevních cévách renálního řečiště způsobující postupnou progresi chronického renálního selhání. Vlivem MMP-2 dochází k narušení bazálních membrán v ledvinných tubulech spojených s rozvojem intersticiální fibrózy a glomerulární sklerózy (Zakiyanov et al., 2019). Plazmatické koncentrace MMP-2 se zvyšují u pacientů s aterosklerózou, korelují s poškozením cévní stěny (tunica intima a media) a nestabilitou aterosklerotického plátu (Danzig et al., 2010) a u řady kardiálních onemocnění (Kwan et al., 2004). U malignit se MMP-2 podílí na nádorové invazi a metastazování, aktivita MMP-2 koreluje s lymfatickou a vaskulární invazí a metastatickým postižením lymfatických uzlin. Je zkoumána ve spojení s karcinomem jícnu, karcinomem prsu a maligními nádory centrálního nervového systému (Cui et al., 2017, Roy et al., 2009).

1.2.1.1.3. Matrixová metalloproteináza 3

MMP-3 je známá také jako stromelysin-1. Její základní funkcí je degradace kolagenů II, III, IV, IX a X, proteoglykanů, fibronectinu a lamininu. Podílí se na procesech spojených s hojením ran (Cui et al., 2017). U pacientů s chronickými nehojícími se defekty byly popsány snížené koncentrace MMP-3 (Huth et al., 2022). Světový výzkum se zaměřuje na pacienty s karcinomem prsu, u kterých zvýšené koncentrace MMP-3 podporují progresi onemocnění,

zatímco u kožních karcinomů působí protektivně (Argote Camacho et al., 2021). Zvýšená exprese MMP-3 je popsána u generalizovaného karcinomu prostaty s kostními metastázami (Frieling et al., 2020). MMP-3 se rovněž podílí na remodelaci extracelulární matrix v ledvinách. Nerovnováha mezi syntézou a degradací extracelulární matrix vede k intersticiální fibróze a glomerulární skleróze, např. u pacientů s komplikovaným diabetem. Zvýšená exprese MMP-3 je spojena s glomerulopatiemi a tubulointersticiálním zánětem (Fu et al., 2024), MMP-3 se podílí i na progresi aterosklerózy (Hu et al., 2018).

1.2.1.1.4. Matrixová metalloproteináza 4, matrixová metalloproteináza 5, matrixová metalloproteináza 6

MMP-4, MMP-5 a MMP-6 jsou řazeny do této skupiny pouze z historického hlediska. Identifikovány byly později jako jiné MMP (Hey et Linder, 2024, Parks et Shapiro, 2001). V literatuře je nicméně uvedena MMP-6 v souvislosti s degenerativními změnami meziobratlových plotének (Wen et al., 2021) a také v traumatologii, např. u zlomenin proximálního femuru u starších pacientů (Cai et al., 2022).

1.2.1.1.5. Matrixová metalloproteináza 7

MMP-7 spolu s MMP-26 patří mezi matrilysiny. Matrilysiny ve své struktuře postrádají hemopexinovou doménu (Cui et al., 2017). MMP-7 je syntetizována epiteliálními buňkami, velikostně je jednou z nejmenších MMPs. Kromě extracelulární matrix je schopna zpracovat i molekuly vyskytující se na buněčném povrchu, např. Fas-ligand, E-cadherin, pro- α -defensin a pro-tumor nekrotizující faktor α . MMP-7 exprimují normální buňky endometriální, bronchiální, duktální, kožní, urogenitální a gastrointestinální tkáně, zatímco extrémně nízké hladiny jsou fyziologicky exprimovány v plicích, žlučníku a močovém měchýři (Liao et al., 2021). U patologických procesů dochází k up-regulaci těchto hladin. MMP-7 podporuje progresi nádoru inhibicí apoptózy nádorových buněk, snížením buněčné adheze a indukcí angiogeneze (Liao et al., 2021). Zvýšenou hladinu MMP-7 můžeme pozorovat již u prekanceróz, zkoumána je i jako slibný nový biomarker maligních onemocnění či potenciální cíl k terapeutickému ovlivnění (Liao et al., 2021, Van Doren, 2022).

1.2.1.1.6. Matrixová metalloproteináza 8

Patří mezi kolagenázy (jiný název je kolagenáza 2) a je v současnosti považována za jeden z nejslibnějších biomarkerů parodontitidy (Luchian et al., 2022). Má protizánětlivé účinky a podílí se na procesech ovlivňujících hojení ran. Významnou roli hraje v patogenezi revmatoidní artritidy, astmatu, aterosklerózy a onkologických onemocnění (Foos et al., 2001).

1.2.1.1.7. Matrixová metalloproteináza 9

MMP-9 je označována jako gelatináza B a je produkována neutrofily, makrofágy, fibroblasty a endoteliálními buňkami. Ze všech MMPs má nejvyšší specifitu pro kolageny IV a V. Zvýšená koncentrace MMP-9 je spojena s přítomností zánětu v aterosklerotickém plátu (Danzig et al., 2010), ovlivňuje angiogenezi (prostřednictvím interakce s plasminogenem generuje angiostatin) a modifikuje zánětlivou odpověď. Protizánětlivě působí prostřednictvím redukce IL-2. Velký význam má pro glomerulární a tubulointersticiální remodelaci a podílí se na řadě renálních onemocnění. MMP-9 je součástí výzkumů v onkologii (Huang, 2018, Zeng et al., 2022). Vzhledem k tomu, že degraduje kolagen typu IV obsažený v bazálních membránách, podporuje nádorovou invazi a metastázování (Zeng et al., 2022). Studována je v souvislosti s karcinomem prsu (Ran et al., 2018, Roy et al., 2009), nemalobuněčným karcinomem plic (Zhang et al., 2021), karcinomem jícnu a žaludku (Liu et al., 2019), karcinomem tlustého střeva (Ruan et al., 2020), ovariálním karcinomem, osteosarkomem, karcinomem cervixu a řady dalších (Zeng et al., 2022). V otorinolaryngologii je zkoumána ve spojení s cholesteatomem a onemocněními středního ucha a sinusitidami (Cui et al., 2017).

1.2.1.1.8. Matrixová metalloproteináza 10

Dalším užívaným názvem MMP-10 je stromelysin II. Stromelysiny mají podobné uspořádání domén jako kolagenázy, ale na rozdíl od nich neštěpí intersticiální kolageny. Účastní se aktivace pro-MMPs a štěpí řadu molekul extracelulární matrix (Cui et al., 2017). Je součástí velkého množství fyziologických procesů (např. růstu kostí a hojení ran) a patologických procesů (např. vaskulárních a nádorových onemocnění). Koncentrace MMP-10 jsou ve většině tkání běžně nedetekovatelné, zvyšují se až při poraněních či zánětlivých impulzech.

MMP-10 sehrává roli např. v plicní fibróze. Její koncentrace korelují se závažností idiopatické plicní fibrózy a mohou sloužit jako užitečný biomarker spojený s prognózou a závažností onemocnění (Craig et al., 2015). MMP-10 bývá rovněž spojována s onemocněním periferních cév, zejména tepen dolních končetin u pacientů s ischemickou chorobou dolních končetin a kritickou končetinovou ischemií (Martinez-Aguilar et al., 2015). V onkologii je MMP-10 zkoumána v souvislosti s progresí nádorového onemocnění, s migrací a invazí nádorových buněk. Zvýšené koncentrace MMP-10 bývají spojovány s nepříznivou prognózou onemocnění (Zhang et al., 2014). MMP-10 je studována u karcinomu močového měchýře (Du et al., 2014), hepatocelulárního karcinomu (Scheau et al., 2019) a spinocelulárního karcinomu dutiny ústní (Kadeh et al., 2015).

1.2.1.1.9. Matrixová metalloproteináza 11

Označována bývá i jako stromelysin 3. MMP-11 se spolu s MMP-1 a MMP-2 vyskytují jak extracelulárně, tak i intracelulárně. Vůči molekulám extracelulární matrix má na rozdíl od ostatních stromelysinů nízkou aktivitu (Cui et al., 2017). Nalézt ji můžeme např. v placentě. Výzkumné práce se především zaměřují na kolorektální karcinom, karcinom dutiny ústní a karcinom prsu, u něhož je MMP-11 spojena s negativní prognózou (Gall et al., 2001, Luo et al., 2002).

1.2.1.1.10. Matrixová metalloproteináza 12

Původně se nazývala makrofágová elastáza. Není přiřazena k žádné podskupině MMPs, přestože má podobnou strukturu a umístění chromozómů jako stromelysin. Její role je analyzována v souvislosti s aneurysmatem břišní aorty. Aktivita MMP-12 vede k fragmentaci elastinu v tunica media aorty a k tvorbě výdutě (Sawada et al., 2023). Je exprimována v makrofázích, v chondrocytech a osteoklastech. Účastní se i procesu aterosklerózy a přispívá k růstu a destabilizaci aterosklerotického plátu (Hu et al., 2018). Její koncentrace se zvyšují u ischemické cévní příhody mozkové (Veeravalli, 2024).

1.2.1.1.11. Matrixová metalloproteináza 13

Řadíme ji mezi kolagenázy a je označována jako kolagenáza 3. Štěpí intersticiální kolageny I, II a III na charakteristické fragmenty, stejně jako ostatní molekuly extracelulární

matrix Klinge et al., 1999). Je zkoumána v souvislosti s patogenezí revmatoidní artritidy, osteoartritidy (Foos et al., 2001), ischemického poškození mozku (Cuadrado et al., 2009), periodontálních onemocnění (Kuchian et al., 2022) a nádorů prsu.

1.2.1.1.12. Matrixová metalloproteináza 14

Řazena je mezi transmembránové matrixové metalloproteinázy s názvem transmembránová metalloproteináza 1. Podílí se na aktivaci MMP-2, a proto vytváří komplex s MMP-2 a TIMP-2. Má kolagenolytické účinky na kolageny typu I, II a III, degraduje želatinu a má protizánětlivé účinky (Cui et al., 2017). Je exprimována u řady nádorových onemocnění, např. u mesenchymálních tumorů, maligního melanomu, tumorů mozku, karcinomu prsu a ovaria (Vos et al., 2021) a karcinomu močového měchýře (Kudelski et al., 2020), přičemž ovlivňuje invazi a metastazování tumorů.

1.2.1.1.13. Matrixová metalloproteináza 15

MMP-15 (transmembránová matrixová metalloproteináza 2) je předmětem výzkumu v urologii u karcinomu močového měchýře (Kudelski et al., 2020) a rovněž v gynekologii a porodnictví u preeklampsie (Kaitu'u-Lino et al., 2012). Důležitou roli hraje v progresi plicního adenokarcinomu a v invazi maligního melanomu (Cui et al., 2017, Pittayapruek et al., 2016).

1.2.1.1.14. Matrixová metalloproteináza 16

MMP-16, zvaná také transmembránová metalloproteináza 3, se podílí na procesech spojených s osteoartrózou a degenerací meziobratlových plotének a na řadě onkologických onemocnění (např. osteosarkomu, ovariálním karcinomu, nádorech jater, maligním melanomu) (Zhang et al., 2017, Cui et al., 2017, Pittayapruek et al., 2016).

1.2.1.1.15. Matrixová metalloproteináza 17

Je známá jako transmembránová metalloproteináza 4. Jako jediná z transmembránových metalloproteináz se neúčastní aktivace MMP-2. V průběhu embryonálního vývoje je exprimována v mozku, vaječnících, varlatech a v tlustém střevě. V uvedených tkáních ji můžeme zaznamenat i postnatálně (Cui et al., 2017). Její fyziologická

úloha není zcela jasná. MMP-17 ovlivňuje zejména procesy související s progresí nádorových onemocnění (Muñoz-Sáez et al., 2023). Poprvé byla detekována v buňkách karcinomu prsu, najít ji můžeme i u nádorů tlustého střeva a spinocelulárních karcinomů v oblasti hlavy a krku (Muñoz-Sáez et al., 2023).

1.2.1.1.16. Matrixová metalloproteináza 18

MMP-18 patří mezi kolagenázy (s názvem kolagenáza 4) a účastní se zejména procesů spojených s degradací a remodelací kolagenu (Foos et al., 2001). Popsána byla u žáby drápatky vodní (*Xenopus*).

1.2.1.1.17. Matrixová metalloproteináza 19

Degraduje bazální membránu a štěpí další molekuly extracelulární matrix. V organismu je široce exprimována, podílí se na remodelaci tkání, hojení ran a migraci epitelálních buněk. Zkoumána je i jako slibný nový biomarker v patogenezi IBD a kolorektálního karcinomu (Horak et al., 2022).

1.2.1.1.18. Matrixová metalloproteináza 20

MMP-20 zvaná též enamelysin je exprimována v zubní sklovině a štěpí amelogenin (Lu et al., 2008).

1.2.1.1.19. Matrixová metalloproteináza 21

Objevena byla u žáby drápatky vodní (*Xenopus*). Degraduje želatinu a je exprimována v kožních karcinomech, v bazocelulárním a spinocelulárním karcinomu, dále ve spinocelulárním karcinomu jícnu, dutiny ústní (Baskaran et al., 2023) a kolorektálním karcinomu (Cui et al., 2017).

1.2.1.1.20. Matrixová metalloproteináza 22

MMP-22 byla poprvé u lidské populace identifikována v tkáních varlat a srdce. Podílí se na patogenezi ischemické choroby srdeční, nalézt ji můžeme i v hladké svalovině aorty (Jin et al., 2017).

1.2.1.1.21. Matrixová metalloproteináza 23

MMP-23 má jedinečnou strukturu – místo domény hemopexinu se vyznačuje C-doménou bohatou na cystein. Je řazena mezi Cysteine array matrixové metalloproteinázy a je exprimována v tkáních reprodukčního systému (Cui et al., 2017) Je studována např. v dermatoonkologii u maligního melanomu (Moogk et al., 2014).

1.2.1.1.22. Matrixová metalloproteináza 24

MMP-24 zvaná též transmembránová metalloproteináza 5 (MT5-MMP) je multifunkční MMP se substrátovou specifitou pro N-cadherin. V dospělosti se ve vysokých koncentracích nachází v hippocampu a mozečku, významnou roli hraje u řady neurologických onemocnění, např. u Alzheimerovy choroby (Arnst et al., 2021).

1.2.1.1.23. Matrixová metalloproteináza 25

Transmembránová metalloproteináza 6 (leukolysin, MT6-MMP) patří mezi transmembránové matrixové metalloproteinázy. Je exprimována v leukocytech a některých nádorových buňkách, např. v buňkách karcinomu tlustého střeva, uroteliálním karcinomu, karcinomu prostaty a astrocytomu (Sun et al., 2007, Soria-Valles et al., 2016).

1.2.1.1.24. Matrixová metalloproteináza 26

Bývá charakterizována jako matrilysin 2. Degraduje různé druhy molekul extracelulární matrix, na rozdíl od většiny MMPs se však ukládá intracelulárně. Je exprimována v buňkách endometria a v některých karcinomech (Piskór et al., 2021).

1.2.1.1.25. Matrixová metalloproteináza 27

Byla poprvé identifikována ve fibroblastech kuřecích embryí, v nichž štěpí želatinu a kasein. Její aktivita u lidí je předmětem dalšího výzkumu, a to zejména v onkologii. Je exprimována v buňkách karcinomu štítné žlázy a maligního melanomu. Snížené koncentrace MMP-27 predikují např. invazi skvamózního karcinomu dutiny ústní do dolní čelisti (Eichberger et al., 2022).

1.2.1.1.26. Matrixová metalloproteináza 28

Je zvaná též epilysin. Je exprimována v různých typech tkání, např. v plicích, v placentě, v srdci, v gastrointestinálním traktu a ve varlatech. Spolu s MMP-21 a MMP-23 jsou aktivovány intracelulárně a secernovány jako aktivní enzymy, podílející se na procesech spojených s hojením ran a nádorovým bujením (Illman et al., 2008).

1.2.1.1.27. Matrixová metalloproteináza 29

MMP-29 je v lidském organismu široce exprimována, nalézt ji můžeme v tkáních varlat, tenkého střeva, jater, srdce, ledvin ad. Účastní se patogeneze ischemické choroby srdeční a aterosklerózy (Jin et al., 2017).

1.2.1.2. Tkáňové inhibitory metalloproteináz

Tkáňové inhibitory metalloproteináz neboli TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases) jsou proteiny difúzně exprimované v organismu, které reverzibilně inhibují a regulují MMPs (Ries, 2014, Rosenberg, 2009, Gill et Parks, 2009). Navazují se na katalytickou doménu MMP, čímž zabraňují navázání substrátu. Skládají se ze 184-194 aminokyselin a obsahují N-terminální doménu (složenou z přibližně 125 aminokyselin) a C-terminální doménu (složenou přibližně z 64 aminokyselin). Každá z domén obsahuje tři disulfidové vazby, přičemž tvar molekuly je klínovitý (Ries, 2014). Známý jsou čtyři TIMPs a nejvýznamnější z nich jsou TIMP-1 a TIMP-2. Strukturální rozdíl mezi TIMP-1 a TIMP-2 spočívá v tom, že TIMP-2 má delší AB loop.

Recentně jsou syntetické inhibitory metalloproteináz podrobovány intenzivnímu výzkumu, a to především u onkologických pacientů, u pacientů s revmatoidní artritidou, u pacientů s neurologickými onemocněními a v hojení chronických defektů. Inhibitory 1. a 2. generace batimastat a marimastat vykazují řadu nežádoucích účinků. Na podkladě inhibice nejen patologických, ale i řady fyziologických procesů způsobují např. toxické účinky na muskuloskeletální systém, variabilní gastrointestinální příznaky, hubnutí, záněty kloubů, krvácení apod. (Jabłońska-Trypuć et al., 2016). K později vyvinutým inhibitorům patří např. BAY 12-9566, AG3340, BMS-275291 či CGS-27023A (Heath et Grochow, 2020).

1.2.1.2.1. Tkáňový inhibitor metalloproteináz 1

TIMP-1 byl prvním objeveným přírodním inhibitorem kolagenáz (Ries, 2018). Je schopen se navázat s vysokou afinitou na katalytické domény několika MMPs. Všechna inhibiční místa TIMP-1 se nacházejí na jeho N-terminální doméně, zatímco C-terminální doména vykazuje prostřednictvím aktivace mitogenem aktivované proteinkinázy protumorigenní účinky (Grünwald et al., 2019).

TIMP-1 je vysoce multifunkční. Jednou z jeho nejvýznamnějších úloh je regulace procesů spojených s hojením ran (Loo et al., 2007, Grünwald et al., 2019, Sa et al., 2015). Ovlivňováním koncentrací MMPs zajišťuje organizaci extracelulární matrix a udržuje homeostázu v tkáních. Nadměrná produkce TIMP-1 aktivovanými fibroblasty vede k fibróze (Sa et al., 2015).

Součinnost TIMP-1 s MMP-9 je předmětem řady výzkumů zejména v kardiologii. Koncentrace TIMP-1 jsou analyzovány v souvislosti s prognózou srdečního selhání (Korzeń et al., 2023).

Řada klinických studií se zabývá i změnami koncentrací TIMP-1 u onkologických pacientů. I když při výzkumu na buněčných liniích a myších modelech TIMP-1 vykazoval protinádorové působení, při klinických testech in vivo naopak TIMP-1 podporoval růst nádorových buněk a měl na tyto buňky antiapoptotické účinky (Grünwald et al., 2019). Zvýšené koncentrace TIMP-1 korelují s prognózou rozličných typů diagnóz, např. s karcinomem prsu (Würtz et al., 2008), kolorektálním karcinomem (Nordgaard et al., 2019), s karcinomem prostaty (Ivanovic et al., 2018), karcinomem plic, karcinomem žaludku (Grunnet et al., 2013), glioblastomem, maligním melanomem či mnohočetným myelomem (Grünwald et al., 2019).

1.2.1.2.2. Tkáňový inhibitor metalloproteináz 2

TIMP-2 je přirozeným inhibitorem MMP-2. Projevuje se dvojí aktivitou a vedle skutečnosti, že inhibuje MMPs, potlačuje přímo aktivitu endoteliálních buněk. Tím, že ovlivňuje angiogenezi, podporuje růst nádoru a prostřednictvím apoptózy inhibuje proliferaci nádorových buněk (Chowdhury et al., 2017, Stetler-Stevenson et al., 2005). Studován je v souvislosti s rezistencí maligního nádoru na chemoterapii (Zhang et al., 2022), zejména u maligních nádorů jater (Bjørnland et al., 1998), karcinomu prsu (Waleh et al., 2010) a u maligního melanomu (Tavakoli et al., 2018). Vyšší koncentrace TIMP-2 se vyskytují u pacientů s generalizovaným kolorektálním karcinomem a u kolorektálního karcinomu s nepříznivou odpovědí na léčbu (Zhang et al., 2022, Li et al., 2023). TIMP-2 se projevuje také jako slibný marker akutního renálního selhání (Fan et al., 2019, Li et al., 2023). Je studován v patogenezi kýly břišní stěny a tříselných kýl (Wang et al., 2020, Isik et al., 2017, Smigielski et al., 2011).

1.2.1.2.3. Tkáňový inhibitor metalloproteináz 3

Tkáňový inhibitor metalloproteináz 3 se vyskytuje převážně extracelulárně. Nalézt jej můžeme v tkáních srdce, ledvin a v thymu. Ze všech inhibitorů metalloproteináz má nejširší inhibiční spektrum zahrnující všechny MMPs a některé ADAM. Podílí se na podpoře buněčné proliferace a ovlivňuje angiogenezi a apoptózu (Dewing et al., 2019), je předmětem výzkumu u řady onkologických onemocnění (Gu et al., 2014), účastní se procesů hojení ran (Gil et al., 2008).

1.2.1.2.4. Tkáňový inhibitor metalloproteináz 4

Tkáňový inhibitor metalloproteináz 4 je predominantně exprimován v tukové tkáni. Nalézt jej můžeme i v mozku a v srdci. Zvýšené koncentrace TIMP-4 zaznamenáváme u řady malignit, např. u karcinomu prsu, prostaty, pankreatu a děložního čípku. Projevují se zvýšenou agresivitou tumorů (Lizarraga et al., 2016). Podílí se na patogenezi degenerativních onemocnění mozku a neuroonkologických onemocnění (Rorive et al., 2010).

1.2.2. Alarminy a související molekuly

Alarminy patří mezi DAMPs – damage-associated molecular pattern molecules. Jde o bílkoviny sehrávající klíčovou roli v zánětlivých procesech a podílející se na buněčné smrti či aktivaci imunitní reakce (Yang et al., 2017).

Exogenní specifické mikrobiální patogeny obsahují tzv. PAMPs (Pathogen-associated molecular pattern molecules), tedy vysoce konzervované nespecifické molekulární vzory rozpoznávané buňkami imunitního systému (Tang et al., 2012). Navázání PAMP na PRR (Pattern recognition receptor) imunitních buněk vyvolává zánětlivou odpověď (Jiang et al., 2020). Při stresovém podnětu uvolňují poškozené či aktivované buňky organismu určité endogenní bílkoviny schopné vázat se na PRR a vyvolávat tak nepříznivou zánětlivou reakci. Uvedené proteiny nazýváme DAMPs či alarminy a řadíme k nim např. HMGB1, defensiny, antimikrobiální peptidy, eosinofilní neurotoxiny, proteiny tepelného šoku a některé cytokiny (IL-1 α , IL-33) (Yang et al., 2017). Mohou mít extra i intracelulární účinky podílející se na vzniku a rozvoji celé řady patologických stavů a onemocnění. Mohou být i prospěšné, a to při tkáňové remodelaci (Jiang et al., 2010).

K alarminům a s nimi souvisejícím molekulám patří např. sRAGE (soluble receptor for advanced glycation end products), EN-RAGE (extracellular newly identified receptor for advanced glycation end products binding protein), kalprotektin, HMGB1 (high mobility group box 1) a IL-6 (Interleukin-6).

1.2.2.1. Soluble receptor for advanced glycation end products

Soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) je extracelulární forma RAGE (receptor for advanced glycation end products). Advanced glycation end products (AGE) jsou produkty pokročilé glykace vznikající za nepříznivých podmínek v organismu neenzymatickou glykací proteinů (Danzig et al., 2010). Poškozují tkáň několika způsoby, např. změnou funkce proteinů, zesílením řetězců proteinů (crosslinking), podporou tvorby volných radikálů nebo aktivací zánětlivé reakce (Delrue et al., 2023). Konkrétním receptorem pro AGE je RAGE (Kalousová et al., 2005).

RAGE je multiligandový receptor zajišťující syntézu zánětlivých faktorů a podporující zánětlivou odpověď (Creagh-Brown et al., 2013). Skládá se z extracelulární části obsahující doménu vázající ligandy, z hydrofobního transmembránového α -helixu a z krátkého cytosolového konce nezbytného pro signalizaci (Erusalimsky, 2021). RAGE a jeho ligandy se

podílejí na velkém množství různorodých onemocnění souvisejících se zvýšeným oxidačním stresem a na alterovaných imunitních a zánětlivých odpovědích (Danzig et al., 2010, Horak et al., 2022). Jde o multiligandový receptor, který váže např. proteiny rodiny S100 (kalgranuliny), HMGB1, amyloid β -peptid ad. (Delrue et al., 2023). Interakce mezi RAGE a jeho ligandy působí aktivaci prozánětlivých genů vedoucí k patogenezi široké škály onemocnění, např. ke komplikacím diabetu mellitu, k ateroskleróze, k autoimunitním onemocněním, nádorovým a neurodegenerativním onemocněním (Danzig et al., 2010, Horak et al., 2022, Moser et al., 2012, Stoetzer et al., 2013, Tesarova et al., 2016). RAGE se vyskytuje v několika variantách, přičemž sRAGE je rozpustná cirkulující forma tohoto receptoru, která postrádá transmembránovou doménu. sRAGE vzniká alternativním sestřihem mRNA nebo odštěpením z plné délky RAGE na povrchu buňky (Delrue et al., 2023). Na syntéze sRAGE se podílí ADAM-10 (A Disintegrin And Metalloproteinase domain-containing protein 10) a MMP-9. Koncentrace sRAGE nepřímo odráží koncentrace RAGE. sRAGE může kompetitivně inhibovat vazbu ligandů na RAGE a tím zeslabovat příslušnou zánětlivou reakci. Koncentrace sRAGE v séru mohou působit i jako biomarker u onemocnění ledvin, subklinického zánětu či aterosklerotických změn. Sérové koncentrace sRAGE jsou zkoumány u diabetu mellitu (Yamagishi et al., 2007, Skrha et al., 2012), v onkologii (Stoetzer et al., 2013, Garrido et al., 2021, Tesarova et al., 2016), u kardiovaskulárních (Danzig et al., 2010, Delrue et al., 2023) a renálních onemocnění (Kalousová et al., 2006), vaskulárního zánětu, aterosklerózy či autoimunitních a neurodegenerativních onemocnění (Moser et al., 2012, Wu et al., 2020), v intenzivní medicíně zejména u sepse a septického šoku (Hamasaki et al., 2014). V pneumologii jsou studovány jako nové slibné biomarkery poškození plicní tkáně.

1.2.2.2. Extracellular newly identified receptor for advanced glycation end products binding protein

EN-RAGE (extracellular newly identified receptor for advanced glycation end products binding protein) označovaný jako kalgranulin C nebo S100A12 patří do rodiny proteinů S100. Skládá se z 91 aminokyselin a má sekundární a terciární strukturu typickou pro proteiny rodiny S100, je přirozeným prozánětlivým ligandem pro RAGE. Exprese EN-RAGE je stimulována aktivovanými granulocyty, makrofágy a lymfocyty při zánětlivých onemocněních (Carvalho et al., 2020). Je exprimován v neutrofilech, kde tvoří až 5 % všech cytosolových proteinů. Má přímé chemotaktické účinky na fagocytární buňky a způsobuje, že fagocyty (monocyty a granulocyty) jsou přitahovány do oblasti zánětlivého fokusu (Carvalho et al., 2020). Vlivem

EN-RAGE dochází k expresi prozánětlivých cytokinů jako např. $\text{TNF}\alpha$ a $\text{IL-1}\beta$ nebo IL-2 . Vyskytuje se jak extracelulárně, tak i intracelulárně. Jde o prozánětlivý protein ovlivňující četná zánětlivá a imunologická onemocnění, např. nespecifické záněty střevní, revmatoidní artritidu, aterosklerózu (Zakiyanov et al., 2011, Wu et al., 2020). Jeho efekt je studován i v patogenezi arteriální hypertenze, diabetu mellitu (Skrha et al., 2012) či preeklampsii. Zvýšené koncentrace EN-RAGE pozorujeme i u pacientů s CKD-4 a CKD-5, u nichž jsou popisovány jako možné prediktory mortality. EN-RAGE je v současné době zkoumán jako nový slibný marker onkologických onemocnění, např. papilárního karcinomu štítné žlázy (Wang et al., 2020) a také onemocnění gastrointestinálního traktu, zejména IBD (Witarto et al., 2023).

1.2.2.3. Kalprotektin

Kalprotektin neboli S100A8/S100A9 je bílkovina produkovaná neutrofily a aktivovanými monocyty, která má antimikrobiální účinky, inhibuje mikrobiální růst a moduluje imunitní odpověď (Sejersen et al., 2022). Jedná se o heterodimer z rodiny S100 proteinů, který se skládá ze dvou proteinů S100A8 a S100A9 (Jukic et al., 2021). Uvedené proteiny se mohou vyskytovat samostatně, přičemž heterodimer je stabilnější formou. Sérové koncentrace kalprotektinu stoupají u bakteriálních infekcí a autoimunitních onemocnění. Řada studií se věnuje popisu změn sérových koncentrací kalprotektinu při diagnostice rakoviny, např. laryngeálního karcinomu (Topuz et al., 2017), papilárního karcinomu štítné žlázy (Tabur et al., 2015) či karcinomu pankreatu (Holub et al., 2019). Je zkoumán rovněž u řady onemocnění dýchacího traktu (Kotsiou et al., 2021) a v revmatologii (Chen et al., 2009, Ometto et al., 2017). Fekální kalprotektin v diagnostice idiopatických střevních zánětů (IBD) je charakterizován jako marker střevního zánětu (Jukic et al., 2021, Khaki-Khatibi et al., 2020). Využívá se k rozlišení IBD od nezánnětlivého střevního onemocnění (např. dráždivého tračníku apod.) a může sloužit jako biomarker progresu IBD.

1.2.2.4. High mobility group box 1

HMGB1 (high mobility group box 1) je označován jako amphoterin. Byl objeven v roce 1973 a název HMGB1 odkazuje na jeho pohyblivost při elektroforéze. Patří do rodiny HMG (high mobility group), skupiny nehistonových proteinů asociovaných s chromatinem, které jsou zapojeny v organizaci DNA a regulaci transkripce. Skládá se z 215 aminokyselin s vysoce konzervativní strukturou. Obsahuje dvě DNA vazebné domény box A a B a C-terminální

doménu. Vyskytuje se ve všech eukaryotických buňkách. HMGB1 patří mezi DAMPs (damage-associated molecular pattern molecules) s vlastním širokým spektrem prozánětlivých účinků (Liu et al., 2023).

Uvedený protein můžeme najít ve všech buňkách intracelulárně v jádru, případně extracelulárně po translokaci či buněčné smrti (Tesarova et al., 2016). Má schopnost měnit DNA, podílí se na regulaci struktury chromatinu, transkripci, opravách poškozené DNA a rekombinaci. Extracelulární význam HMGB1 spočívá v jeho vlivu na přirozenou imunitu. Stimuluje maturaci imunitních buněk (zejména dendritických buněk a T lymfocytů) a jejich migraci do místa poškození, přičemž podporuje uvolňování cytokinů a prozánětlivých mediátorů. Stimuluje i produkci reaktivních forem kyslíku neutrofilů.

Sérové koncentrace HMGB1 stoupají rychle na začátku zánětu. Pozorovat můžeme i korelaci mezi koncentrací HMGB1 a rozsahem zánětu (Larsen et al., 2019). HMGB1 je analyzován v mnoha studiích zabývajících se změnami jeho koncentrací u sepsy (Andersson and Tracey, 2003), autoimunitních (Pilzweger and Holdenrieder, 2015) a zánětlivých onemocnění jako IBD, systémový lupus erythematosus (Liu et al., 2020) a vaskulitidy (de Souza et al., 2013), dále u roztroušené sklerózy (Bucova et al., 2020), u myasthenie gravis (Moser et al., 2012), diabetu mellitu (Skrha et al., 2012) a řady dalších. Zvýšené koncentrace HMGB1 jsou popsány u akutní cholecystitidy (Amini et al., 2019). Podílí se i na regeneraci tkání a na procesech hojení ran a vzniku hernií v jizvě (Larsen et al., 2019). V onkologii je studován ve spojitosti např. s karcinomem prsu (Stoetzer et al., 2013, Tesarova et al., 2016), kolorektálním karcinomem a karcinomem prostaty (Pilzweger and Holdenrieder, 2015, Garrido et al., 2021).

1.2.2.5. Interleukin-6

Interleukin-6 je významný prozánětlivý cytokin s pleiotrofním účinkem v organismu (Tanaka et al., 2014). Jedná se o glykoprotein o jednom řetězci, který se skládá z 212 aminokyselin. Je produkován velkým množstvím buněk ovlivněných účinkem ostatních prozánětlivých cytokinů. Produkují ho např. aktivované buňky mononocyto-makrofágového systému, endotelové buňky, tukové buňky a další. IL-6 se účastní např. imunitních reakcí (Tanaka et al., 2014), hematopoézy, reakce akutní fáze (Jawa et al., 2011, Volpin et al., 2014) a kostního metabolismu (Sims, 2021). K sekreci dochází v organismu bezprostředně po poranění či po účinku stresového faktoru (Volpin et al., 2014). Po jeho odeznění sekrece za

fyziologických podmínek ustává, zatímco přetrvávající vysoké koncentrace IL-6 vedou k závažným patologickým stavům.

Interleukin-6 spouští v játrech syntézu proteinů akutní fáze, např. syntézu CRP, komplementu C3, sérového amyloidu A, hepcidinu, fibrinogenu a trombopoetinu (Jawa et al., 2011, Volpin et al., 2014). Podporuje expresi MMPs a může narušit rovnováhu mezi MMP-9 a TIMP-1.

Produkce hepcidinu blokuje transport železa ze střeva a snižuje jeho koncentraci v séru, která se u pacientů projevuje rozvojem anémie chronických chorob. Vlivem IL-6 dochází rovněž k dozrávání megakaryocytů a k uvolňování trombocytů do krevního oběhu. Současně podporuje produkci fibrinogenu a aktivuje koagulační systém způsobující hyperkoagulační stav a zvýšené riziko tromboembolických příhod. Indukuje zvýšenou sekreci vaskulárního endoteliálního růstového faktoru a podílí se na nadměrné angiogenezi a zvýšené permeabilitě cévních stěn. Vaskulární permeabilita vede k intersticiálnímu edému a dalšímu poškození tkání (Jawa et al., 2011).

Interleukin-6 podporuje i diferenciaci imunitních buněk, např. přeměnu aktivovaných B lymfocytů v sekreční buňky produkující imunoglobuliny a diferenciaci T helper lymfocytů (Tanaka et al., 2014). Porušení rovnováhy mezi jednotlivými skupinami lymfocytů může vést k rozvoji rozličných autoimunitních a chronických zánětlivých onemocnění. Zvýšená produkce IL-6 způsobuje dysfunkci myokardu a podílí se na rozvoji kardiální insuficience, určitou roli hraje i v patologii myxomu srdce. IL-6 spouští syntézu amyloidu A v játrech, nadměrná chronická produkce amyloidu A vede k amyloidóze. Koncentrace IL-6 hrají významnou roli v závažných akutních stavech v intenzivní péči (Jawa et al., 2011), kdy dochází k tkáňové hypoxii, k hypotenzi, k poruše krevní koagulace s rozvojem DIC (diseminované intravaskulární koagulace), k orgánové dysfunkci až k rozvinutí SIRS (systemic inflammatory response syndrome) (Volpin et al., 2014).

Pro snížení koncentrace IL-6 byl vyvinut Tocilizumab – syntetický inhibitor IL-6, který se používá např. v terapii revmatoidní artritidy, juvenilní idiopatické artritidy a Castlemanovy nemoci (Sheppard et al., 2017).

2. Hypotéza a cíle práce

2.1. Hypotéza

Cholecystolitiáza a pupeční a tříselná kýla patří mezi nejrozšířenější onemocnění v populaci vyžadující plánované chirurgické řešení. Předpokladem je, že přítomnost těchto onemocnění ovlivňuje koncentrace vybraných biomarkerů v séru pacientů a tyto koncentrace jsou dále alterovány operačním výkonem.

V tříselné kýle dochází k tkáňové remodelaci, která modifikuje poměry extracelulární matrix. Ovlivňuje koncentrace MMPs a TIMPs v séru pacientů, které jsou alterovány i následnou chirurgickou léčbou.

Alarminy patří mezi nejvýznamnější markery zánětu a tkáňového poškození. Podílejí se na řadě fyziologických a patologických reakcí organismu a účastní se patogeneze závažných onemocnění. Domníváme se, že již samotná přítomnost hernie a cholecystolitiázy se může projevit změnou v koncentracích sRAGE, EN-RAGE, HMGB1, kalprotektinu a IL-6 v séru pacientů a uvedené koncentrace jsou následně ovlivněny elektivním chirurgickým výkonem. Uvažujeme rovněž, že akutní stav u pacientů s náhlou příhodou břišní se může vlivem akutního zánětu projevit rozsáhlejšími změnami sledovaných parametrů.

Analýza vybraných biomarkerů by mohla přispět k včasnému odhalení patologie a hrozících komplikací po operačním výkonu či k hodnocení úspěšnosti operační léčby.

2.2. Cíle práce

2.2.1. Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz

Cílem práce bylo stanovování koncentrací vybraných MMPs (MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9 a MMP-10) a TIMPs (TIMP-1 a TIMP-2) v séru pacientů s tříselnými kýlami před a po hernioplastice a u zdravých kontrol zjistit, zda inguinální hernie a operační výkon vyvolá změnu těchto koncentrací a které z uvedených MMPs a TIMPs jsou ovlivněny nejmarkantněji.

Konkrétní cíle výzkumu:

1. analyzovat, zda přítomnost tříselné kýly ovlivňuje koncentrace vybraných matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz,
2. prokázat, zda jsou koncentrace matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz alterovány operačním výkonem.

2.2.2. Studie alarminů a souvisejících molekul

Cílem výzkumu bylo analýzou sRAGE, EN-RAGE, HMGB1, kalprotektinu a IL-6 prokázat, zda u pacientů s cholecystolitíázou a abdominální hernií indikovaných k elektivnímu operačnímu výkonu dochází k alteraci koncentrací uvedených biomarkerů před a po operaci a zda tato alterace závisí na typu zkoumané diagnózy. Výzkum se zaměřil i na analýzu, zda a v jaké míře výsledky těchto pacientů korespondují s výsledky pacientů s náhlou příhodou břišní.

Konkrétní cíle práce:

1. zjistit, zda jsou koncentrace alarminů a souvisejících molekul ovlivňovány přítomností břišní kýly a cholecystolitíázy v neakutním stavu,
2. prozkoumat, zda se koncentrace alarminů liší u jednotlivých typů abdominálních kýl,
3. otestovat, jak jsou koncentrace sRAGE, EN-RAGE, HMGB1, kalprotektinu a IL-6 alterovány operačním výkonem,
4. analyzovat, zda se výsledky koncentrací alarminů v séru pacientů indikovaných k elektivnímu výkonu shodují s výsledky pacientů s náhlými příhodami břišními.

3. Metodika

3.1. Sledované skupiny

Studijní soubor zahrnoval celkem 58 pacientů indikovaných k elektivnímu operačnímu výkonu na I. chirurgické klinice hrudní, břišní a úrazové chirurgie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. Ze sledovaného souboru bylo 23 pacientů zařazeno do výzkumu s diagnózou cholecystolitiázy, 10 pacientů s pupeční kýlou a 25 pacientů s tříselnou kýlou. Pro srovnání výsledků bylo do souboru začleněno 21 zdravých kontrol, a to zdravých dobrovolníků netrpících závažnými interními komorbiditami, a to bez přítomnosti cholecystolitiázy či abdominální hernie.

Do studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz bylo zahrnuto 25 pacientů s tříselnými kýlami a skupina zdravých kontrol, do studie alarminů a souvisejících molekul byl zařazen celý soubor 58 pacientů před plánovaným operačním výkonem.

Výzkum, který probíhal v souladu s principy Helsinské deklarace, byl schválen 21. června 2016 etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice pod referenčním číslem 337/16 S-IV. Všichni participanti na výzkumu podepsali informovaný souhlas se zařazením do studie.

Celý soubor pacientů podstoupil před hospitalizací kompletní interní předoperační vyšetření u svého praktického lékaře. Všichni pacienti byli kardiopulmonálně kompenzováni, bez známek infekčního onemocnění a byli schopni výkonu v celkové anestezii.

První odběr krve byl proveden v rozmezí jedné až tří hodin před operačním výkonem a druhý odběr krve 24 hodin po operačním výkonu. Délka hospitalizace po operačním výkonu se pohybovala v rozmezí od dvou do tří dnů, u žádného pacienta nedošlo ke komplikacím vyžadujícím prodloužení hospitalizace či reoperaci.

Do kontrolní skupiny pro obě studie byli zahrnuti dobrovolníci bez diagnostikované cholecystolitiázy, bez přítomnosti jakéhokoli typu abdominální hernie, bez známek akutního či dekompenzovaného závažného chronického onemocnění, bez elevace zánětlivých parametrů (CRP, leukocyty) v laboratorním vyšetření krve, bez známek jaterního či renálního selhání a s hodnotami krevního obrazu v referenčním rozmezí.

3.1.1. Soubor pacientů ve studii matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz

Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz se zúčastnilo 25 pacientů s diagnózou tříselné kýly, z toho 22 mužů a 3 ženy středního věku 72 let (IQR 55-79 let). Sledovaní pacienti nejevili příznaky inkarcerace kýly, byli kardiopulmonálně kompenzováni a byli bez známek infekčního onemocnění. Všichni pacienti podstoupili elektivní hernioplastiku. Do studie nebyli zařazeni pacienti s maligními onemocněními.

U 8 pacientů byla diagnostikována přímá tříselná kýla, u 10 pacientů nepřímá tříselná kýla a 3 pacienti vykazovali kombinaci přímé a nepřímé tříselné kýly (tzv. pantalónskou hernii). Čtyři pacienti byli operováni pro recidivu tříselné kýly.

Čtrnáct pacientů bylo podrobeno léčbě arteriální hypertenze, z toho 10 pacientů mírné arteriální hypertenze v terapii jedním antihypertenzivem a 4 pacienti těžké arteriální hypertenze na kombinované léčbě. Jeden z pacientů s těžkou hypertenzí trpěl hypertenzním onemocněním ledvin se sérovou koncentrací kreatininu 140 $\mu\text{mol/l}$. Dva pacienti byli léčeni GLP1-agonisty pro diabetes mellitus, u jednoho z pacientů se vyskytly komplikace diabetu – diabetická polyneuropatie a diabetická nefropatie se sérovou koncentrací kreatininu pod 150 $\mu\text{mol/l}$. Další z pacientů trpěl chronickou renální insuficiencí s hodnotou kreatininu 109 $\mu\text{mol/l}$. U 11 pacientů bylo diagnostikováno kardiální onemocnění, z toho u 5 pacientů ischemická choroba srdeční, u 7 pacientů fibrilace síní, u jednoho pacienta insuficience aortální chlopně. Šest pacientů se neléčilo s žádným interním onemocněním a nebralo chronickou medikaci.

Výsledky rutinních předoperačních laboratorních vyšetření pacientů s tříselnými kýlami jsou prezentovány v **Tabulce č. 3**.

Tabulka 3: Základní laboratorní charakteristika pacientů s tříselnými kýlami a kontrolní skupiny.

Parametr	Pacienti	Zdravé kontroly	p hodnota
Počet	25	21	
Věk (roky)	72 (55-79)	41 (30-53)	<0,0001
Bílkoviny (g/l)	69 (66-71)	72 (67-74)	ns

CRP (mg/l)	1,8 (1,0-4,1)	3,1 (1,5-4,3)	ns
ALT (mkat/l)	0,34 (0,28-0,49)	0,40 (0,31-0,48)	ns
AST (mkat/l)	0,42 (0,36-0,48)	0,37 (0,30-0,45)	ns
GGT (mkat/l)	0,43 (0,30-1,00)	0,36 (0,30-0,56)	ns
Urea (mmol/l)	6,2 (4,9-7,2)	4,9 (3,9-6,4)	ns
Kreatinin (mmol/l)	84 (78-97)	65 (58-77)	ns
Hemoglobin (g/l)	147 (142-154)	135 (131-151)	0,026
Leukocyty (x10 ⁹ /l)	6,5 (4,8-8,2)	6,5 (5,7-8,4)	ns
Trombocyty (x10 ⁹ /l)	214 (178-252)	243 (204-305)	ns

Data jsou vyjádřena jako medián (mezikvartilové rozmezí).

Zkratky: CRP – C-reaktivní protein, ALT – alaninaminotransferáza, AST – aspartátaminotransferáza, GGT – gama-glutamyltransferáza, ns – not significant, nevýznamné
Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

3.1.2. Soubor pacientů ve studii alarminů a souvisejících molekul

Do studie alarminů a souvisejících molekul bylo zařazeno 58 pacientů, z toho 38 mužů a 20 žen středního věku 57,5 roku. S diagnózou cholecystolitiázy bylo celkem 23 pacientů (10 mužů, 13 žen středního věku 50 let), s pupeční kýlou 10 pacientů (6 mužů a 4 ženy středního věku 53 let) a s tříselnou kýlou 25 pacientů (22 mužů a 3 ženy středního věku 72 let). Pro srovnání výsledků bylo do souboru zařazeno 21 zdravých kontrol (8 mužů a 13 žen středního věku 41 let), a to zdravých dobrovolníků netrpících závažnými interními komorbiditami, bez přítomnosti cholecystolitiázy či abdominální hernie.

U 28 pacientů byla diagnostikována arteriální hypertenze, z toho u 23 pacientů lehká hypertenze v monoterapii a u 5 pacientů těžká hypertenze vyžadující kombinaci antihypertenzní medikace. Pět pacientů trpělo diabetem mellitem, 4 z nich byli léčeni GLP1-agonisty a 1 dietou. Tři pacienti trpěli chronickým renálním onemocněním se sérovými koncentracemi kreatininu pod hodnotou 150 $\mu\text{mol/l}$, u 2 z nich s prokázanou etiologií – hypertenzní a diabetickou nefropatií. Čtrnáct pacientů se léčilo se srdečním onemocněním, 5 s ischemickou chorobou

srdeční, 7 s fibrilací síní, 1 s insuficiencí aortální chlopně a 1 s insuficiencí mitrální chlopně. Dva pacienti užívali terapii levothyroxinem pro hypothyreózu. Dvě pacientky měly v anamnéze uvedeno onkologické onemocnění, kvůli němuž v minulosti podstoupily chemoterapii a operační výkon. V době probíhajícího výzkumu byly dlouhodobě v remisi – první pacientka měla rakovinu prsu (16 let remise), druhá pacientka ovariální karcinom (8 let v remisi). Ze sledovaného souboru 16 pacientů netrpělo žádnými interními komorbiditami a neužívalo trvalou medikaci.

Výsledky rutinních předoperačních laboratorních vyšetření jednotlivých skupin jsou prezentovány v **Tabulce č. 4**.

Tabulka č. 4: Základní laboratorní charakteristika pacientů před elektivní cholecystektomií a plastikou pupeční a tříselné kýly a kontrolní skupiny.

Parametr	Pacienti	Zdravé kontroly	p hodnota
Počet	58	21	
Věk (roky)	57,5 (44,5-72)	41 (30-53)	0,0001
Bílkoviny (g/l)	71 (69-74)	72 (67-74)	ns
CRP (mg/l)	1,1 (1,0-5,5)	1,5 (1,0-4,0)	ns
Bilirubin (μmol/l)	11,8 (9,2-15,5)	5,5 (4,1-8,4)	<0,0001
ALT (μkat/l)	0,41 (0,30-0,58)	0,40 (0,31-0,48)	ns
AST (μkat/l)	0,40 (0,34-0,49)	0,37 (0,30-0,45)	ns
GGT (μkat/l)	0,44 (0,30-1,00)	0,36 (0,30-0,56)	ns
Urea (mmol/l)	5,1 (4,3-6,6)	4,9 (3,9-6,4)	ns
Kreatinin (μmol/l)	81 (71-92)	65 (58-77)	0,0005
Hemoglobin (g/l)	147 (138-154)	135 (131-151)	0,0490
Leukocyty (x10 ⁹ /l)	6,4 (5,2-7,7)	6,5 (5,7-8,4)	ns
Trombocyty (x10 ⁹ /l)	234 (205-281)	243 (204-305)	ns

Data jsou vyjádřena jako medián (mezikvartilové rozmezí).

Zkratky: CRP – C-reaktivní protein, ALT – alaninaminotransferáza, AST – aspartátaminotransferáza, GGT – gama-glutamyltransferáza, ns – not significant, nevýznamné
Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

Do studie alarminů a souvisejících molekul byla pro srovnání samostatně zařazena početně malá skupina pacientů s náhlou příhodou břišní indikovaných k akutní revizi dutiny břišní. Tvořilo ji celkem 7 pacientů (6 mužů a 1 žena, střední věk 40 let) indikovaných k urgentnímu chirurgickému výkonu. Čtyři pacienti podstoupili laparoskopickou cholecystektomii pro akutní cholecystitidu, 2 pacienti laparoskopickou apendektomii pro akutní apendicitidu a 1 pacient urgentní hernioplastiku uskřínuté pupeční kýly. Předoperační hodnoty CRP se u uvedených pacientů pohybovaly v rozmezí od 1,5 do 160,2 mg/l (medián 44,1 mg/l) a leukocyty od 6,9 do 18,1 x 10⁹/l (medián 11,6 x 10⁹/l) podle závažnosti a délky trvání zánětu. Výsledky jaterních a renálních testů byly v referenčním rozmezí, 3 pacienti byli bez interních komorbidit, 2 se léčili s diabetem mellitem na terapii GLP1-agonisty, 3 pacienti se léčili s mírnou arteriální hypertenzí a 2 pacienti s hypercholesterolémií.

Předoperační výsledky skupiny pacientů s náhlou příhodou břišní jsou uvedeny v **Tabulce č. 5**.

Tabulka č. 5: Základní laboratorní charakteristika pacientů s náhlou příhodou břišní indikovaných k akutní revizi dutiny břišní.

Parametr	Pacienti	Zdravé kontroly	p hodnota
Počet	7	21	
Věk (roky)	40 (29-75)	41 (30-53)	ns
Bílkoviny (g/l)	76 (72-77)	72 (67-74)	0,0303
CRP (mg/l)	44,1 (5,7-72,9)	1,5 (1,0-4,0)	0,0004
Bilirubin (μmol/l)	14,8 (12,0-24,9)	5,5 (4,1-8,4)	0,0007
ALT (μkat/l)	0,25 (0,21-1,26)	0,40 (0,31-0,48)	ns
AST (μkat/l)	0,25 (0,20-0,51)	0,37 (0,30-0,45)	ns

GGT ($\mu\text{kat/l}$)	0,26 (0,11-0,54)	0,36 (0,30-0,56)	ns
Urea (mmol/l)	4,8 (3,9-5,0)	4,9 (3,9-6,4)	ns
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	89 (80-95)	65 (58-77)	0,0073
Hemoglobin (g/l)	153 (136-156)	135 (131-151)	ns
Leukocyty ($\times 10^9/\text{l}$)	11,6 (8,9-17,0)	6,5 (5,7-8,4)	0,0012
Trombocyty ($\times 10^9/\text{l}$)	254 (234-309)	243 (204-305)	ns

Všechna data jsou vyjádřena jako medián (mezikvartilové rozmezí).

Zkratky: CRP – C-reaktivní protein, ALT – alaninaminotransferáza, AST – aspartátaminotransferáza, GGT – gama-glutamyltransferáza, ns – not significant, nevýznamné.

Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

3.2. Laboratorní metody

3.2.1. Sběr vzorků

U každého pacienta byly provedeny dva odběry krve. První odběr krve byl proveden jednu až tři hodiny před plánovaným operačním výkonem a druhý 24 hodin po výkonu. Odběr byl uskutečněn punkcí kubitální žíly do zkumavek bez přítomnosti antikoagulans, aby bylo možno získat sérum. Zkumavky s krví byly po koagulaci centrifugovány 15 min. na 900 x g (Centrifuga EBA 20, Hettich Zentrifugen, Germany), sérum bylo zmrazeno a uskladněno při teplotě -80°C , aby mohlo být posléze přikročeno ke stanovení požadovaných markerů.

3.2.2. Laboratorní analýza

Koncentrace matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů matrixových metalloproteináz byly stanovovány za použití multiplexové immunoanalýzy na přístroji Magpix. Stanovení koncentrací alarminů a s nimi souvisejících molekul v séru bylo provedeno imunochemicky metodou ELISA (enzyme-linked immuno sorbent assay). Jde o imunochemickou metodu založenou na reakci antigenu se specifickou protilátkou (Gan et Patel, 2013).

3.2.2.2. Analýza matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz

Ke stanovení matrixových proteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz byl využit Multiplex xMAP assay. Vzorky sér byly analyzovány MILLIPLEX MAP Human Magnetic Bead Panel 2 kit pro simultánní analýzu 5 testovaných MMPs (MMP-1, -2, -7, -9, -10) spolu s MILLIPLEX MAP Human TIMP Magnetic Bead Panel 1 kit (Merck KGaA, Darmstadt, Německo) ke stanovení koncentrací inhibitorů TIMP-1 a TIMP-2. Analyty byly kvantifikovány za použití MAGPIX systému využívajícího technologii xMAP (Luminex Corp., Austin, Texas, USA). Sběr dat zajišťoval xPONENT software (Luminex Corp., Austin, Texas, USA). Data byla analyzována za pomoci MILLIPLEX Analyst 5.1 software (Merck KGaA, Darmstadt, Německo). Koncentrace analytů byly vytyčeny za použití 5PL proložené křivky. Při každém stanovení byly provedeny dvě kontroly kvality (nízká, vysoká). Revize kontroly kvality potvrdily, že závěry měření se pohybují v rozmezí očekávaných hodnot uváděných výrobcem. Výsledky všech MMPs a TIMPs jsou vyjádřeny v hodnotách ng/ml.

3.2.2.2.1. MILLIPLEX MAP Magnetic Bead Panel 2 Kit

Příprava reagensů:

Wash buffer – lahvička 60 ml, byla ředěna přidáním 540 ml destilované vody.

Assay Buffer – lahvička 30 ml, ihned k použití.

Bead diluent (ředicí roztok pro kuličky) – lahvička 3,5 ml, před použitím byla promíchána.

QC1 a QC2 – 2 lahvičky, lyofilizované, byly rozpuštěny v 250 µl destilované vody a ponechány 10 minut rozpouštět.

Standard MMP Panel 2 – lahvička s lyofilizovaným standardem, byla rozpuštěna v 250 µl destilované vody, 10 sekund vortexována a ponechána 10 min. rozpouštět. Na ředění kalibrační křivky byly použity polypropylenové zkumavky.

Detekční protilátka – 1 lahvička 3,2 ml, ihned k použití, uchovávána ve tmě.

Streptavidin-Phycoerythrin – 1 lahvička, 3,2 ml, ihned k použití, uchovávána ve tmě.

96-jamková destička – před použitím byla nastavena výška jehly u přístroje MAGPIX (Luminex xMAP Technology, Texas, USA).

Souprava dále obsahovala: 1 tmavou lahvičku na míchání kuliček (Mixing bottle), krycí folii.

Vzorky – sérum. Vzorky byly krátce centrifugovány (Centrifuga EBA 20, Hettich Zentrifugen, Germany) a dále ředěny 1:20 v Assay Bufferu v polypropylenových zkumavkách.

Příprava kuliček: byly připraveny pro každý analyt zvlášť, 30 sekund sonikovány a 1 minutu vortexovány. Poté bylo přeneseno 150 μ l kuliček od každého analytu do tmavé lahvičky Mixing bottle a nakonec doplněno do 3 ml Bead Diluentem.

Ze zásobního standardu byla naředěna kalibrační křivka:

Kalibrace – 7. standard – zásobní pracovní standardní roztok.

6. standard – 200 μ l Assay Bufferu + 100 μ l předchozího standardního pracovního roztoku.

5. standard - 200 μ l Assay Bufferu + 100 μ l předchozího standardního pracovního roztoku.

4. standard - 200 μ l Assay Bufferu + 100 μ l předchozího standardního pracovního roztoku.

3. standard - 200 μ l Assay Bufferu + 100 μ l předchozího standardního pracovního roztoku.

2. standard - 200 μ l Assay Bufferu + 100 μ l předchozího standardního pracovního roztoku.

1. standard - 200 μ l Assay Bufferu + 100 μ l předchozího standardního pracovního roztoku.

0. standard – blank = pouze Assay Buffer.

Pracovní postup:

1. 200 μ l Wash Bufferu bylo napipetováno do všech jamek, přelepeno a inkubováno 10 minut na třepačce 500-800 rpm při pokojové teplotě.
2. Wash Buffer byl odsát.
3. 25 μ l Assay Bufferu bylo napipetováno do všech jamek.
4. Dále bylo napipetováno 25 μ l standard, blanku a QC1, QC2.
5. Bylo napipetováno 25 μ l vzorků naředěných 1:20.
6. Mixing bottle (roztok kuliček) byl zvortexován a 25 μ l bylo napipetováno do všech jamek. Kuličky byly průběžně promíchávány, aby nesedly ke dnu. Při všech krocích byly kuličky chráněny před světlem.
7. Deska byla přelepena fólií, přikryta alobalem a inkubována 2 hodiny při pokojové teplotě na třepačce 500-800 rpm.

8. Poté byla odsáta a promyta na automatické promývače programem Lum Mag-flat (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA), v průběhu promývání byla položena na magnetu.
9. 25 µl Detection protilátky bylo napipetováno do všech jamek, deska byla přelepena fólií a přikryta alobalem, inkubována 1 hodinu na třepačce při pokojové teplotě, po inkubaci nebyla odsáta.
10. 25 µl Streptavidin-Phycoerythrin bylo napipetováno do všech jamek, deska byla přelepena fólií a přikryta alobalem, inkubována 30 minut na třepačce při pokojové teplotě.
11. Dále byla odsáta a 2x promyta na automatické promývače (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA), během tohoto procesu ležela na magnetu.
12. 100 µl Drive Fluid bylo napipetováno do všech jamek, rozmícháváno na třepačce 5 minut.
13. Nakonec byla změřena fluorescence na MAGPIX (Luminex xMAP Technology, Texas, USA).

3.2.2.2.2. MILLIPLEX MAP Human TIMP Magnetic Bead Panel 1 Kit

Příprava reagensií pro 1. den:

Wash Buffer – byla naředěna 1 lahvička 60 ml + 540 ml destilované vody, uchovávána v lednici.

Assay Buffer – 1 lahvička 30 ml, ihned k použití.

Bead Diluent – 1 lahvička 3,5 ml.

QC1 a QC2 – 2 lahvičky lyofilizované byly rozpuštěny v 250 µl destilované vody, promíchány a nechány 10 minut rozpouštět.

Vzorky – sérum. Vzorky byly krátce centrifugovány (centrifuga EBA 20, Hettich Zentrifugen, Germany) a ředěny 1:50 v Assay Bufferu v polypropylenových zkumavkách.

Standard TIMP panel – lahvička s lyofilizovaným standardem byla rozpuštěna v 250 µl destilované vody, 10 sekund vortexována (vortex VELP Scientifica, Italy) a nechána 10 min. rozpouštět. Na ředění kalibrační křivky byly použity polypropylenové zkumavky.

96-jamková destička – před použitím byla nastavena adekvátní výška jehly u přístroje MAGPIX (Luminex xMAP Technology, Texas, USA).

Souprava dále obsahovala 1 tmavou lahvičku na míchání kuliček (Mixing bottle) a krycí folii.

Příprava reagensií na 2. den:

Detekční protilátka – 1 lahvička 3,2 ml, ihned k použití, byla uchovávána ve tmě.

Streptavidin-Phycoerythrin – 1 lahvička, 3,2 ml, ihned k použití, uchovávána ve tmě. Příprava kuliček: byly připraveny pro každý analyt zvlášť, 30 sekund sonikovány (sonikátor Eurosonic micro, EURONDA Pro System, Italy) a 1 minutu vortexovány (vortex VELP Scientifica, Italy), poté bylo 150 μ l kuliček od každého analytu přeneseno do tmavé lahvičky Mixing bottle a nakonec doplněno do 3 ml Bead Diluentem (2 x 150 μ l kuliček + 2,7 ml Bead Diluentu).

Ze zásobního standardu byla naředěna kalibrační křivka:

Kalibrace – 6. standard – zásobní pracovní standardní roztok.

5. standard – 150 μ l Assay Bufferu + 50 μ l předchozího standardního pracovního roztoku.

4. standard - 150 μ l Assay Bufferu + 50 μ l předchozího standardního pracovního roztoku.

3. standard - 150 μ l Assay Bufferu + 50 μ l předchozího standardního pracovního roztoku.

2. standard - 150 μ l Assay Bufferu + 50 μ l předchozího standardního pracovního roztoku.

1. standard - 150 μ l Assay Bufferu + 50 μ l předchozího standardního pracovního roztoku.

0. standard – blank = pouze Assay Buffer.

Pracovní postup 1. den:

1. 200 μ l Wash Bufferu bylo napipetováno do všech jamek, přelepeno a inkubováno 10 minut na třepačce 500-800 rpm při pokojové teplotě.
2. Wash Buffer byl odsát.
3. Dále bylo napipetováno 25 μ l standard, blanku a QC1, QC2.
4. Bylo napipetováno 25 μ l Assay Bufferu do všech jamek.
5. Poté bylo napipetováno 25 μ l vzorků naředěných 1:50.

Mixing bottle (roztok kuliček) byla zvortexována (vortex VELP Scientifica, Italy) a 25 μ l bylo napipetováno do všech jamek. Kuličky byly promíchávány, aby nesedly ke dnu. Při všech krocích byly kuličky chráněny před světlem.

6. Deska byla přelepena fólií, přikryta alobalem a inkubována přes noc na třepačce 500-800 rpm při teplotě 4°C.

Pracovní postup 2. den:

7. Po vytemperování byla destička odsáta a promyta na automatické promývače (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA), v průběhu promývání byla destička položena na magnetu.
8. 25 μ l Detection protilátky bylo napipetováno do všech jamek, přelepeno fólií a přikryto alobalem, inkubováno 1 hodinu na třepače při pokojové teplotě. Po inkubaci nebyla destička odsáta.
9. 25 μ l Streptavidin-Phycoerythrin bylo napipetováno do všech jamek, přelepeno fólií a přikryto alobalem, inkubováno 30 minut na třepače při pokojové teplotě.
10. Destička byla odsáta a 2x promyta na automatické promývače (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).
11. 100 μ l Drive Fluid bylo napipetováno do všech jamek, rozmícháváno na třepače po dobu 5 minut.
12. Nakonec byla změřena fluorescence na MAGPIX (Luminex xMAP Technology, Texas, USA).

3.2.2.3. Analýza alarminů a souvisejících molekul

Ke stanovení alarminů a s nimi souvisejících molekul byla využita imunochemická metoda ELISA. ELISA je založena na reakci antigenu se specifickou protilátkou. Ve výzkumu byla využita nekompetitivní sendvičová ELISA. Tato metoda je schopna detekovat i velmi malá množství antigenu v tekutém vzorku. Na mikrotitrační destičce je navázána specifická protilátka, na kterou se váže antigen. Antigen spolu s protilátkou tvoří komplex, na který je v následujícím kroku navázána detekční protilátka značená enzymem. Po přidání substrátového roztoku enzymatickou reakcí vzniká barevný produkt. Koncentrace barevného produktu je přímo úměrná koncentraci antigenu ve směsi a můžeme ji stanovit spektrofotometricky.

Pro stanovení sRAGE, EN-RAGE, HMGB1, kalprotektinu a IL-6 byly využity komerční ELISA kity. EN-RAGE bylo měřeno pomocí Human EN-RAGE DuoSet ELISA, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA, www.RnDSystems.com v kombinaci s DuoSet ELISA Ancillary Reagent Kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA, www.RnDSystems.com. K určení IL-6 byl použit Human IL-6 Quantikine ELISA Kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA, www.RnDSystems.com. HMGB1 bylo stanoveno pomocí HMGB1 Express ELISA, IBL International GmbH, Hamburg, Německo, www.ibl-international.com. Ke stanovení sRAGE byl využit Human RAGE Quantikine ELISA kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA, www.RnDSystems.com. Změření kalprotektinu bylo realizováno kitem Human

S100A8/S100A9 Heterodimer Quantikine ELISA Kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA, www.RnDSystems.com.

Všechny kity byly zpracovány dle návodu výrobce. Výsledky sRAGE, EN-RAGE, IL-6 jsou vyjádřeny v hodnotách pg/ml, výsledky kalprotektinu a HMGB1 v hodnotách ng/ml.

3.2.2.3.1. Stanovení sRAGE (Soluble receptor for advanced glycation end products)

Příprava reagensů:

Wash buffer – byl ředěn 20 ml do 500 ml destilované vody.

Substrátový roztok – roztoky A a B byly smíchány dohromady 1:1, použity do 15 min.

Stop činidlo – ihned použitelné, 6 ml.

Assay Diluent RD1-60 – ihned k použití, 11 ml.

Calibrator Diluent RD6-10 – ihned k použití, 21 ml.

sRAGE-standard – byl rozpuštěn v destilované vodě a ponechán 10 minut jemně rozpouštět, tímto způsobem byl získán standard o koncentraci 5000 pg/ml. Kalibrační křivka byla ředěna v Calibrator Diluentu RD6-10.

Vzorky – sérum.

Kalibrace: 1. standard 5000 pg/ml, 2. standard 2500 pg/ml, 3. standard 1250 pg/ml, 4. standard 625 pg/ml, 5. standard 312 pg/ml, 6. standard 156 pg/ml, 7. standard 78 pg/ml, 8. standard 0 (jen Calibrator Diluent RD6-10).

Pracovní postup:

1. 100 µl Assay Diluentu RD1-60 bylo napipetováno do všech jamek kitu.
2. Poté bylo napipetováno 50 µl standard, kontrol a vzorků.
3. Inkubováno bylo 2 hodiny při pokojové teplotě.
4. Poté byla destička promyta celkem 4x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).
5. 200 µl RAGE konjugátu bylo napipetováno do všech jamek.
6. Inkubováno bylo 2 hodiny při pokojové teplotě.
7. Znovu byla destička promyta celkem 4x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).
8. 200 µl substrátového roztoku bylo napipetováno do všech jamek, inkubováno 30 min. při pokojové teplotě bez přístupu světla.
9. Reakce byla zastavena přidáním 50 µl STOP činidla.

10. Nakonec byla změřena absorbance při 450 nm a 570 nm (korekce) – ELISA Reader Tecan Infinite M200, Tecan Austria GmbH).

Senzitivita: 4,12 pg/ml

3.2.2.3.2. Stanovení EN-RAGE (Extracellular newly identified receptor for advanced glycation end products binding protein)

Duoset obsah:

Destičky s 12 stripy – 5 kusů.

Wash buffer – 6 lahviček po 21 ml, byly ředěny 20 ml do 500 ml destilované vody.

Reagent Diluent Concentrate 2 - (2 lahvičky po 21 ml), byl ředěn 10 x destilovanou vodou. Na 1 destičku bylo použito 8,2 ml 10 x koncentrovaného Reagent Diluent Concentrate + 73,8 ml destilované vody.

Substrátový roztok – (2 x 3 lahvičky po 12 ml), na každou destičku byly odměřeny roztoky A a B smíchané ve stejném poměru a použity do 15 min. od přípravy. Na 1 destičku bylo použito 5,5 ml roztoku A a 5,5 ml roztoku B.

STOP Solution (3 lahvičky po 11 ml) – ihned k použití.

Coating Buffer – ihned k použití.

EN-RAGE obsah:

Capture protilátka – obsah lahvičky byl rozpuštěn v 0,5 ml Coating Buffer a tak získána zásobní koncentrace 120 µg/ml, dále byl roztok ředěn na pracovní koncentraci 1 µg/ml. Na navázání 1 destičky bylo spotřebováno 85 µl zásobní Capture protilátky + 10115 µl Coating Buffer.

Detekční protilátka – obsah lahvičky byl rozpuštěn v 1ml Reagent Diluentu a tak byla získána zásobní koncentrace 15 µg/ml, roztok byl dále ředěn na pracovní koncentraci 0,25 µg/ml. Na 1 destičku bylo spotřebováno 175 µl zásobní detekční protilátky + 10325 µl Reagent Diluentu.

Streptavidin HRP – byl naředěn 40 x Reagent Diluentem. Na 1 destičku bylo spotřebováno 300 µl zásobního Streptavidinu + 11700 µl Reagent Diluentu.

EN-RAGE-standard – byl rozpuštěn v 0,5 ml Reagent Diluentu a tak získán standard o koncentraci 170 ng/ml. Pracovní koncentrace byla 500 pg/ml. Kalibrační křivka byla ředěna v Reagent Diluentu.

Vzorky – sérum bylo ředěno 200 x ve dvou krocích. 1. krok zahrnoval 10 µl vzorku + 90 µl Reagent Diluentu, 2. krok 10 µl naředěného vzorku + 190 µl Reagent Diluentu.

Kalibrace: 1. standard 1000 pg/ml, 2. standard 500 pg/ml, 3. standard 250 pg/ml, 4. standard 125 pg/ml, 5. standard 62,5 pg/ml, 6. standard 31,3 pg/ml, 7. standard 15,6 pg/ml, 8. standard 0 (jen Reagent Diluent).

Pracovní postup:

1. den

1. 100 µl Capture protilátky bylo napipetováno do všech jamek, inkubováno přes noc při pokojové teplotě.

2. den

2. Destička byla promyta celkem 3 x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).

3. 300 µl Reagent Diluentu bylo napipetováno pro blokaci, inkubováno 1,5 hodiny.

4. Destička byla poté opět promyta celkem 3 x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).

5. Do jamek bylo napipetováno 100 µl naředěných vzorků a standard.

6. Inkubováno bylo 2 hodiny při pokojové teplotě.

7. Destička byla znovu promyta celkem 3 x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).

8. 100 µl Detection protilátky bylo napipetováno do všech jamek, inkubováno 2 hodiny při pokojové teplotě.

9. Destička byla promyta celkem 3 x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).

10. 100 µl Streptavidin HRP bylo napipetováno do všech jamek a inkubováno 20 minut při pokojové teplotě bez přístupu světla.

11. Destička byla promyta celkem 3 x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).

12. 100 µl substrátového roztoku bylo napipetováno do všech jamek a bylo inkubováno 20 minut při pokojové teplotě bez přístupu světla.

13. Reakce byla zastavena přidáním 50 µl STOP činidla.

14. Nakonec byla změřena absorbance při 450 nm a 540-570 nm (korekce) - ELISA Reader Tecan Infinite M200, Tecan Austria GmbH).

3.2.2.3.3. Stanovení HMGB1 (High mobility group box 1)

Příprava reagensů:

Wash buffer – 5 x koncentrovaný roztok (2 lahvičky po 100 ml) byl ředěn 100 ml do 500 ml destilované vody.

Substrátový roztok – roztoky A a B byly smíchány dohromady 1:1 a použity do 15 min.

STOP činidlo – ihned k použití (12 ml).

Diluent Buffer – ihned k použití (20 ml).

HMGB1-standard (CAL) – byl ponechán 10 minut jemně rozpouštět v Diluent Buffer. Tímto způsobem byl získán standard o koncentraci 320 ng/ml. Kalibrační křivka byla ředěna v Diluent Bufferu.

Pozitivní kontrola – byla rozpuštěna v Diluent Buffer po dobu 10 min.

Enzyme Conjugate – lyofilizovaný, byl rozpouštěn 10 min. v celém obsahu lahvičky.

Enzyme Conjugate Diluent – ihned k použití (12 ml).

Vzorky – sérum bylo naředěno 2 x na desce.

Kalibrace: 1. standard 80 ng/ml, 2. standard 40 ng/ml, 3. standard 20 ng/ml, 4. standard 10 ng/ml, 5. standard 5 ng/ml, 6. standard 2,5 ng/ml, 7. standard 1,25 ng/ml, 8. standard 0 (jen Diluent Buffer).

Pracovní postup:

1. den

1. 100 µl Diluent Buffer bylo napipetováno do jamek pro kalibrační křivku.
2. Poté bylo napipetováno 10 µl standard.
3. 55 µl Diluent Buffer bylo napipetováno do jamek pro vzorky a kontrolu.
4. Následně bylo napipetováno 55 µl vzorků, kontroly.
5. Destička byla třepána na třepačce 1 minutu a inkubována 20-24 hodin při 37 °C.

2. den

6. Nejprve byla destička promyta celkem 5 x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).
7. Poté bylo napipetováno 100 µl Enzyme Conjugate do všech jamek.
8. Inkubováno bylo 2 hodiny při pokojové teplotě bez přístupu světla.
9. Destička byla poté promyta celkem 5 x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).
10. 100 µl substrátového roztoku bylo napipetováno do všech jamek a inkubováno 30 minut při pokojové teplotě bez přístupu světla.
11. Reakce byla zastavena přidáním 100 µl STOP činidla.

12. Nakonec byla změřena absorbance při 450 nm a 610 nm (korekce) - ELISA Reader Tecan Infinite M200, Tecan Austria GmbH). Výsledky vzorků byly vyděleny faktorem 5,5.

Senzitivita: 0,2 ng/ml

3.2.2.3.4. Stanovení kalprotektinu

Příprava reagensií:

Wash buffer – byl ředěn 20 ml do 500 ml destilované vody.

Substrátový roztok – roztoky A a B byly smíchány dohromady 1:1 a použity do 15 min.

Assay Diluent RD1-34 – ihned k použití.

S100A8/S100A9 Conjugate – ihned k použití.

S100A8/S100A9-standard – byl jemně 15 min. rozpouštěn v Calibrator Diluentu RD5-10. Tímto způsobem byl získán standard o koncentraci 40 ng/ml. Kalibrační křivka byla ředěna v Calibrator Diluentu RD5-10.

Vzorky – sérum bylo naředěno 200 x (20 µl vzorku + 180 µl Calibrator Diluentu RD5-10).

Kalibrace: 1. standard 40 ng/ml, 2. standard 20 ng/ml, 3. standard 10 ng/ml, 4. standard 5 ng/ml, 5. standard 2,5 ng/ml, 6. standard 1,25 ng/ml, 7. standard 0,625 ng/ml, 8. standard 0 (jen Calibrator Diluent RD5-10).

Pracovní postup:

1. 50 µl Assay Diluentu RD1-34 bylo napipetováno do všech jamek destičky.
2. Dále bylo napipetováno 50 µl standard, kontrol a vzorků.
3. Inkubováno bylo 2 hodiny při pokojové teplotě na třepačce 500 rpm.
4. Destička byla promyta celkem 4 x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).
5. 200 µl S100A8/S100A9 Conjugate bylo napipetováno do všech jamek.
6. Inkubováno bylo 2 hodiny při pokojové teplotě na třepačce 500 rpm.
7. Destička byla znovu promyta celkem 4 x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).
8. 200 µl substrátového roztoku bylo napipetováno do všech jamek, inkubováno 30 min. při pokojové teplotě bez přístupu světla.
9. Reakce byla zastavena přidáním 50 µl STOP činidla.

10. Nakonec byla změřena absorbance při 450 nm a 540-570 nm (korekce) - ELISA Reader Tecan Infinite M200, Tecan Austria GmbH).

Senzitivita: 0,086 ng/ml

3.2.2.3.5. Stanovení Interleukin-6

Příprava reagensií:

Wash buffer – byl ředěn 20 ml do 500 ml destilované vody.

Substrátový roztok – roztoky A a B byly smíchány dohromady 1:1 a použity do 15 min.

IL-6-standard – byl jemně 15 min. rozpouštěn v Calibrator Diluentu RD6F, tím byl získán standard o koncentraci 300 pg/ml. Kalibrační křivka byla ředěna v Calibrator Diluentu RD6F.

Vzorky – sérum.

Kalibrace: 1. standard 300 pg/ml, 2. standard 100 pg/ml, 3. standard 50 pg/ml, 4. standard 25 pg/ml, 5. standard 12,5 pg/ml, 6. standard 6,25 pg/ml, 7. standard 3,13 pg/ml, 8. standard 0 (jen Calibrator Diluent RD6F).

Pracovní postup:

1. 100 µl Assay Diluentu RD1W bylo napipetováno do všech jamek destičky.
2. Dále bylo napipetováno 100 µl standard, kontrol a vzorků.
3. Inkubováno bylo 2 hodiny při pokojové teplotě.
4. Destička byla promyta celkem 4 x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).
5. 200 µl konjugátu bylo napipetováno do všech jamek.
6. Inkubováno bylo 2 hodiny při pokojové teplotě.
7. Destička byla znovu promyta celkem 4 x (promývačka 50TS Microplate Washer, BioTEK, Vermont, USA).
8. 200 µl substrátového roztoku bylo napipetováno do všech jamek a inkubováno 20 min. při pokojové teplotě bez přístupu světla.
9. Reakce byla zastavena přidáním 50 µl STOP činidla.
10. Nakonec byla změřena absorbance při 450 nm a 540-570 nm (korekce) - ELISA Reader Tecan Infinite M200, Tecan Austria GmbH).

Senzitivita: 0,70 pg/ml

3.3. Statistická analýza

3.3.1. Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz

Výsledky výzkumu jsou prezentovány jako medián a mezikvartilové rozmezí (IQR, interquartile range). Pro porovnávání pacientů s kontrolní skupinou byl aplikován neparametrický Mann Whitney U test a u MMP a TIMP zobecněné lineární modely s gama distribucí a reciproční transformační funkcí s úpravou pro pohlaví a věk. Diference mezi hodnotami v séru pacientů před a po chirurgickém výkonu byly analyzovány za použití Wilcoxonova párového t-testu. Spearmanův korelační koeficient byl využit k demonstraci korelací mezi koncentracemi studovaných biomarkerů v séru. Všechny výsledky byly posuzovány jako statisticky významné, pokud dosáhly $p < 0,05$. Statistická analýza byla vyhodnocena za použití GraphPad Prism software 8 (San Diego, CA, USA) a pro zobecněné lineární modely Wolfram Mathematica software, verze 11.3 (Spojené království Velké Británie a Severního Irska).

3.3.2. Studie alarminů a souvisejících molekul

Statistická analýza byla prováděna pomocí softwaru Wolfram Mathematica, verze 13.2 (Spojené království Velké Británie a Severního Irska). Biochemické proměnné byly uvedeny ve formě mediánu a mezikvartilového rozmezí (horní kvartil, dolní kvartil). Některé pozorované výsledky byly pod hranicí kvantifikace, u jedné proměnné nad jejím horním limitem. Pro statistické testování a porovnávání skupin byly použity neparametrické metody, a to Mann Whitney U test pro pacienty versus kontroly a Wilcoxonův párový t-test pro pacienty před a po výkonu. Pro porovnávání koncentrací jednotlivých biomarkerů mezi diagnózami byly využity ANOVA Kruskal Wallis test a Dunn's multiple comparison test. K posouzení korelací byl aplikován Spearmanův korelační koeficient. Výsledky byly považovány za statisticky signifikantní při $p < 0,05$.

4. Výsledky

4.1. Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz

Koncentrace testovaných matrixových metalloproteináz a vybraných tkáňových inhibitorů metalloproteináz v séru pacientů s tříselnou kýlou byly testovány ve dvou fázích – před a po chirurgickém výkonu. Porovnávány byly předoperační versus pooperační hodnoty pacientů a předoperační a pooperační hodnoty pacientů se skupinou zdravých kontrol.

Koncentrace testovaných MMPs a TIMPs v séru pacientů s tříselnou kýlou ve srovnání s kontrolní skupinou jsou uvedeny v **Tabulce č. 6**. Grafické znázornění koncentrací MMPs v séru pacientů s tříselnou kýlou ve srovnání s kontrolní skupinou je znázorněno v **Grafu č. 1**, srovnání koncentrací MMPs v séru pacientů před a po elektivním výkonu v **Grafu č. 2**, koncentrace TIMPs v séru pacientů před a po výkonu jsou znázorněny v **Grafu č. 3**.

Tabulka č. 6: Koncentrace matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz v séru pacientů s tříselnou kýlou a kontrolní skupiny.

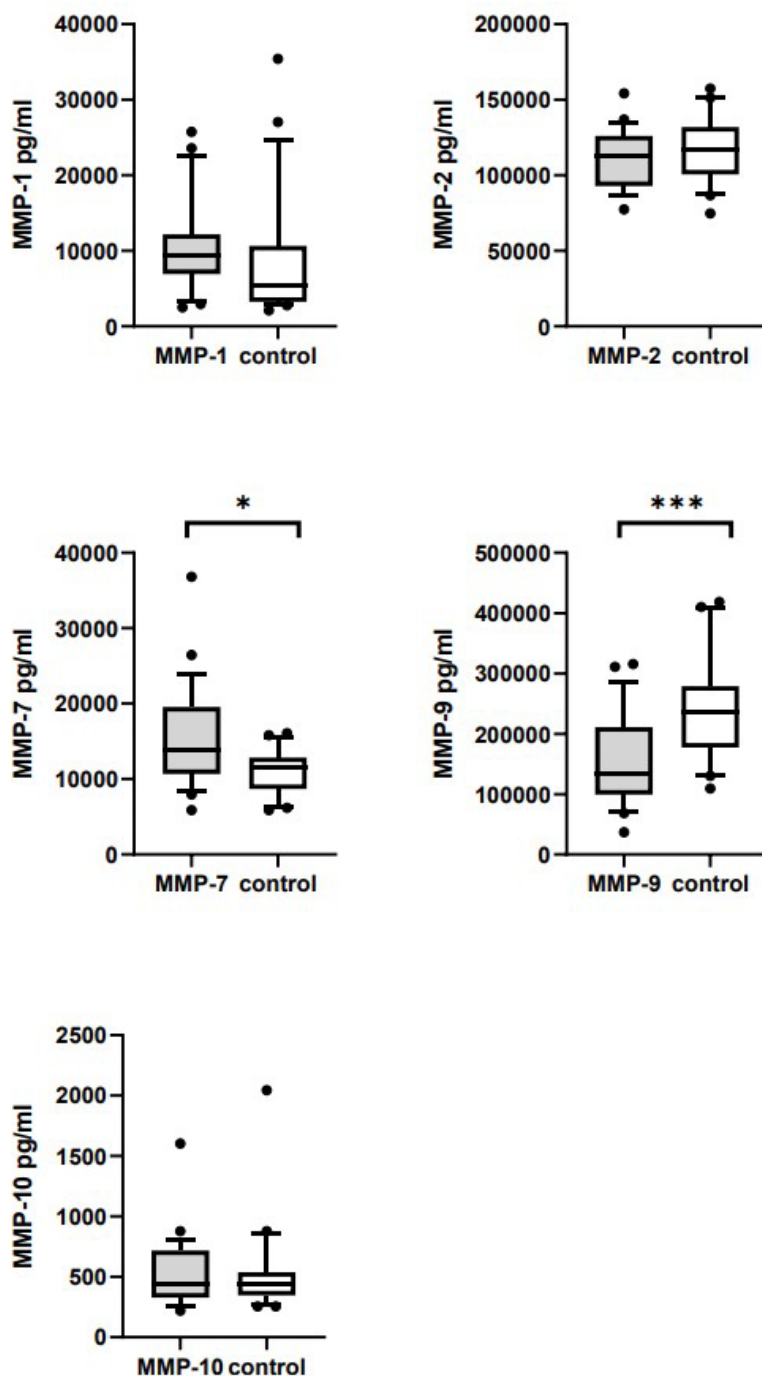
	PACIENTI		KONTROLY		
Analyty ng/ml	PŘED	PO		Hodnota p před vs po operaci	Hodnota p před vs kontroly
MMP-1	9,5 (7,0-12,2)	9,2 (6,6-12,0)	5,5 (3,3-10,7)	0,016	ns
MMP-2	112,3 (92,9 -126,0)	91,4 (80,9-103,8)	117,4 (100,7-131,9)	<0,0001	0,026
MMP-7	13,8 (10,7-19,6)	12,5 (9,7-16,3)	11,6 (8,7-12,9)	0,021	ns
MMP-9	133,5 (99,3-210,9)	345,3 (254,5-455,4)	236,4 (177,5-279,0)	<0,0001	0,018
MMP-10	0,44 (0,33-0,72)	0,44 (0,29-0,54)	0,44 (0,35-0,54)	0,014	ns
TIMP-1	103,8 (93,9-115,4)	90,9 (79,1-109,2)	100,4 (91,7-112,5)	0,0004	ns
TIMP-2	45,8 (42,4-47,8)	39,5 (37,0-41,7)	48,2 (44,3-52,3)	<0,0001	0,004

Data jsou vyjádřena jako medián (mezikvartilové rozmezí).

Zkratky: MMP-1 - matrixová metalloproteináza 1, MMP-2 – matrixová metalloproteináza 2, MMP-7 - matrixová metalloproteináza 7, MMP-9 - matrixová metalloproteináza 9, MMP-10 - matrixová metalloproteináza 10, ns - not significant, nevýznamné, TIMP-1 – tkáňový inhibitor metalloproteináz-1, TIMP-2 – tkáňový inhibitor metalloproteináz-2.

Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

Graf č. 1 – Grafické znázornění koncentrací matrixových metalloproteináz v séru pacientů s tříselnou kýlou ve srovnání s kontrolní skupinou

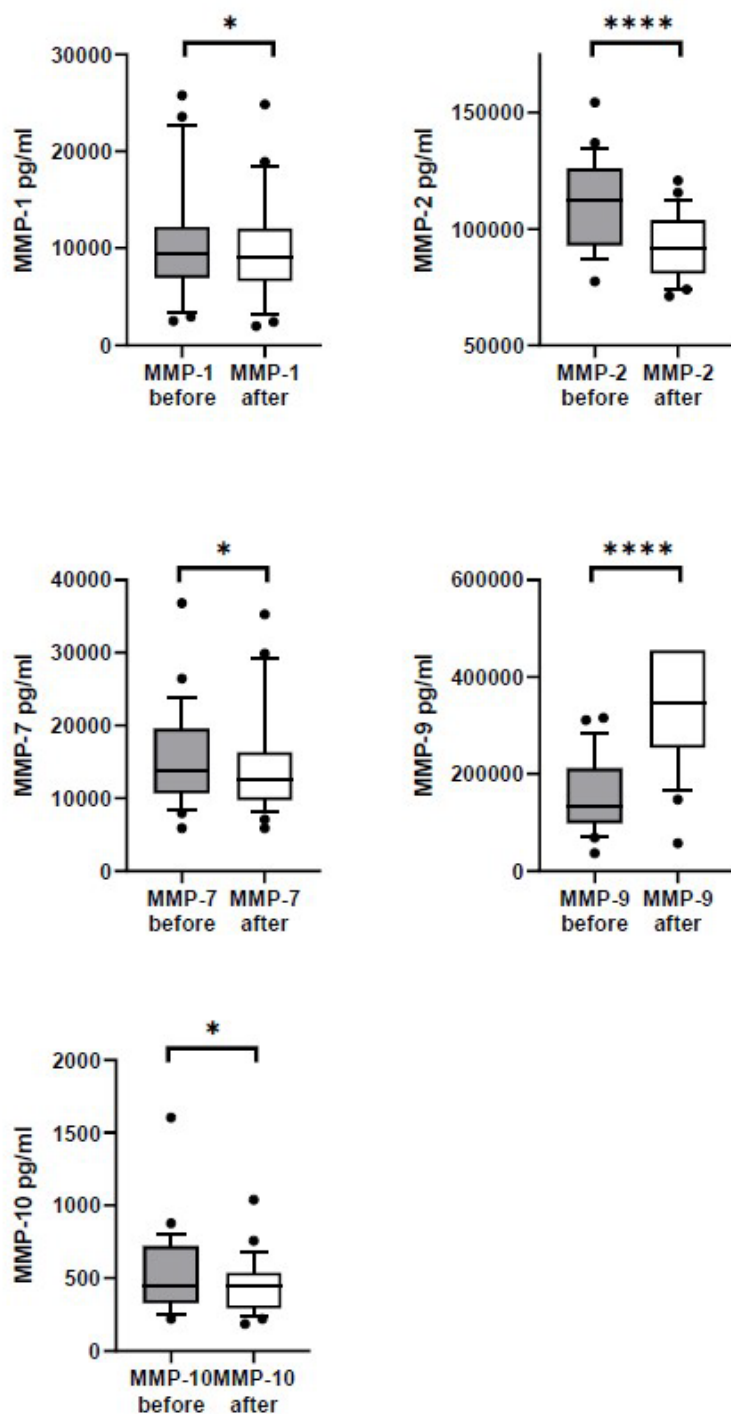


Signifikance - * - $p < 0,05$, *** - $p < 0,001$

Zkratky: control – kontrolní skupina, MMP-1 - matrixová metalloproteináza 1, MMP-2 – matrixová metalloproteináza 2, MMP-7 - matrixová metalloproteináza 7, MMP-9 - matrixová metalloproteináza 9, MMP-10 - matrixová metalloproteináza 10.

Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

Graf č. 2. - Grafické znázornění koncentrací matrixových metalloproteináz v séru pacientů s tříselnou kýlou před a po hernioplastice

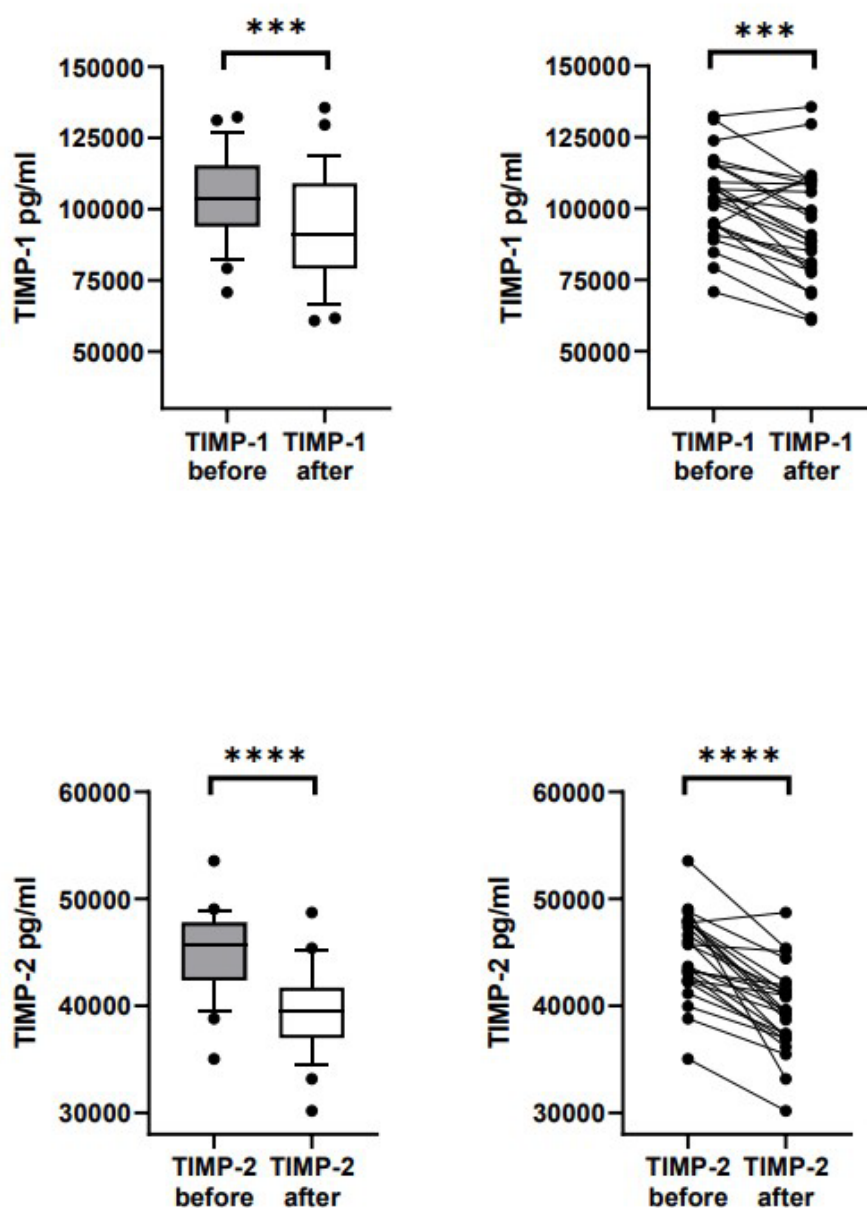


Signifikance - * - $p < 0,05$, **** - $p < 0,0001$

Zkratky: after – po výkonu, before – před výkonem, MMP-1 - matrixová metalloproteináza 1, MMP-2 – matrixová metalloproteináza 2, MMP-7 - matrixová metalloproteináza 7, MMP-9 - matrixová metalloproteináza 9, MMP-10 - matrixová metalloproteináza 10

Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

Graf č. 3 – Koncentrace tkáňových inhibitorů metalloproteináz v séru pacientů s tříselnou kýlou před a po výkonu.



Signifikance - *** - $p < 0,001$, **** - $p < 0,0001$

Zkratky: after – po výkonu, before – před výkonem, TIMP-1 – tkáňový inhibitor metalloproteináz 1, TIMP-2 – tkáňový inhibitor metalloproteináz 2.

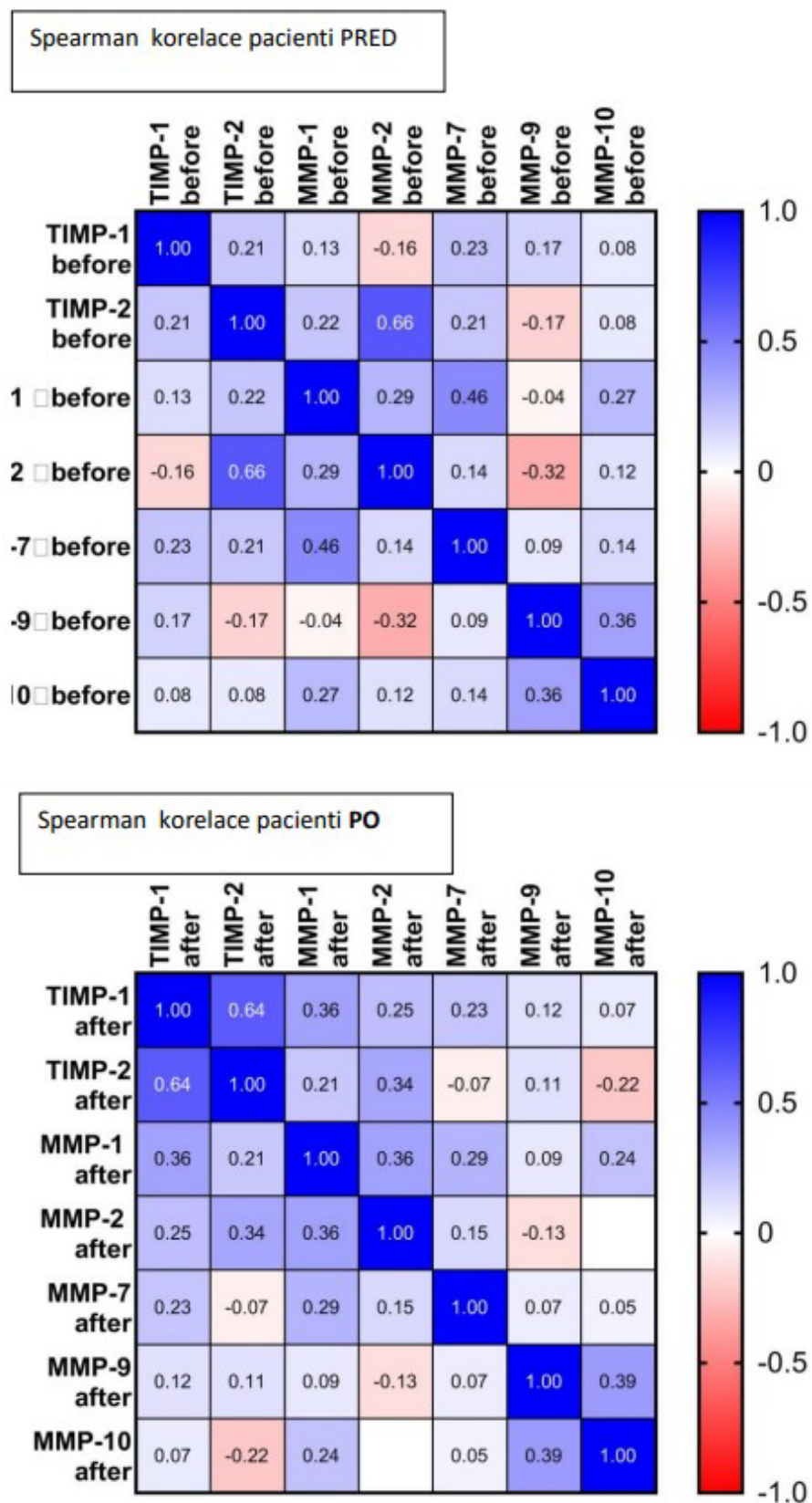
Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

Z výsledků uvedených v tabulce č. 6 je zřejmé, že pacienti s tříselnými kýly měli signifikantně nižší předoperační koncentrace MMP-2 a MMP-9 ($p=0,026$, respektive $p=0,018$) ve srovnání s kontrolní skupinou, zatímco koncentrace MMP-1, -7, -10 zůstaly beze změny. U testovaných inhibitorů byly zjištěny rozdílné trendy změn. Předoperační koncentrace TIMP-2 byly signifikantně nižší v séru pacientů s tříselnou kýlou ve srovnání se skupinou zdravých kontrol ($p=0,004$), zatímco koncentrace TIMP-1 byly s kontrolní skupinou shodné.

Koncentrace všech testovaných biomarkerů v séru pacientů s tříselnou kýlou se před a po výkonu výrazně lišily. Po chirurgickém výkonu došlo k signifikantnímu poklesu koncentrací všech MMPs kromě MMP-9 – nejvýraznější pokles byl pozorován u MMP-2 ($p < 0,0001$). U MMP-9 byl zaznamenán signifikantní vzestup koncentrace ($p < 0,0001$) až po výkonu. Oba testované TIMPs vykazovaly signifikantní pokles detekovaných koncentrací v séru (TIMP-1 $p=0,0004$, TIMP-2 $p < 0,0001$) po operačním výkonu ve srovnání s předoperačními hodnotami. Při srovnávání podskupin pacientů s různými typy tříselných kýl (přímá, nepřímá, kombinace přímé a nepřímé či recidiva) nebyly pozorovány žádné rozdíly v koncentracích MMPs a TIMPs.

V prezentované práci byly zkoumány i korelace mezi testovanými biomarkery – viz **Graf č. 4**. Zjištěna byla významná korelace mezi MMP-2 a TIMP-2, a to jak u pacientů s tříselnou kýlou před výkonem, tak u kontrol ($\rho=0,66$, $p=0,0004$, $\rho =0,64$ a $p=0,002$). Po provedeném chirurgickém výkonu nebyla tato korelace patrná. Naopak oba inhibitory TIMP-1 i TIMP-2 u pacientů po operaci významně korelovaly ($\rho =0,64$, $p=0,001$).

Graf č. 4 – Korelace mezi testovanými biomarkery před a po výkonu.



Zkratky: *after* – po výkonu, *before* – před výkonem, MMP-1 - matrixová metalloproteináza 1,

MMP-2 – matrixová metalloproteináza 2, MMP-7 - matrixová metalloproteináza 7, MMP-9 - matrixová metalloproteináza 9, MMP-10 - matrixová metalloproteináza 10, TIMP-1 – tkáňový inhibitor metalloproteináz 1, TIMP-2 – tkáňový inhibitor metalloproteináz 2.

Koncentrace MMP-2 a MMP-9 v séru byly zhodnoceny i v poměru ke korespondujícím dominantním inhibitorům. Poměr předoperačních koncentrací MMP-9/TIMP-1 byl signifikantně nižší ve srovnání s kontrolní skupinou ($p=0,026$), pooperačně naopak došlo k signifikantnímu vzestupu, a to s ohledem na předoperační koncentrace ($p < 0,0001$). Poměr MMP-9/TIMP-1 kopíroval stejný trend jako u koncentrace MMP-9 v séru.

4.2. Studie alarminů a souvisejících molekul

Sérové koncentrace alarminů a souvisejících molekul v séru pacientů s cholecystolitíázou, pupeční a tříselnou kýlou ve srovnání s kontrolní skupinou jsou prezentovány v **Tabulce č. 7**.

Grafické znázornění koncentrací jednotlivých biomarkerů v séru pacientů s cholecystolitíázou a pupeční a tříselnou kýlou před a po výkonu a u kontrolní skupiny je prezentováno v **Grafu č. 5**.

Tabulka č. 7: Koncentrace alarminů a souvisejících molekul v séru pacientů před elektivní cholecystektomií a plastikou pupeční a tříselné kýly a kontrolní skupiny.

	PACIENTI		KONTROLY			
Analyt	Před	Po		Hodnota p před vs po	Hodnota p před vs kontroly	Hodnota p po vs kontroly
sRAGE (pg/ml)	1256,0 (965,4- 1606,0)	864,6 (673,7- 1238,3)	1016,0 (813,3- 1165,0)	<0,0001	0,005	ns

EN-RAGE (pg/ml)	49,4 (38,0-87,2)	108,3 (70,1-157,3)	66,6 (44,4-90,2)	<0,0001	ns	0,001
HMGB1 (ng/ml)	10,2 (7,5-13,5)	16,3 (11,8-19,4)	11,2 (9,1-15,3)	<0,0001	ns	0,005
Kalprotektin (ng/ml)	2165 (1689-3497)	4700,2 (3250,8-6735,4)	3447 (2220-4852)	<0,0001	0,013	0,007
IL-6 (pg/ml)	nd	18,5 (8,2-36,4)	nd	<0,0001	ns	<0,0001

Data jsou vyjádřena jako medián (mezikvartilové rozmezí).

Zkratky: EN-RAGE - extracellular newly identified receptor for advanced glycation end-products binding protein, HMGB1 - high mobility group box-1, IL-6 – interleukin-6, nd – not detected, neměřitelné, ns - not significant, nevýznamné, sRAGE - soluble receptor for advanced glycation end-products.

Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

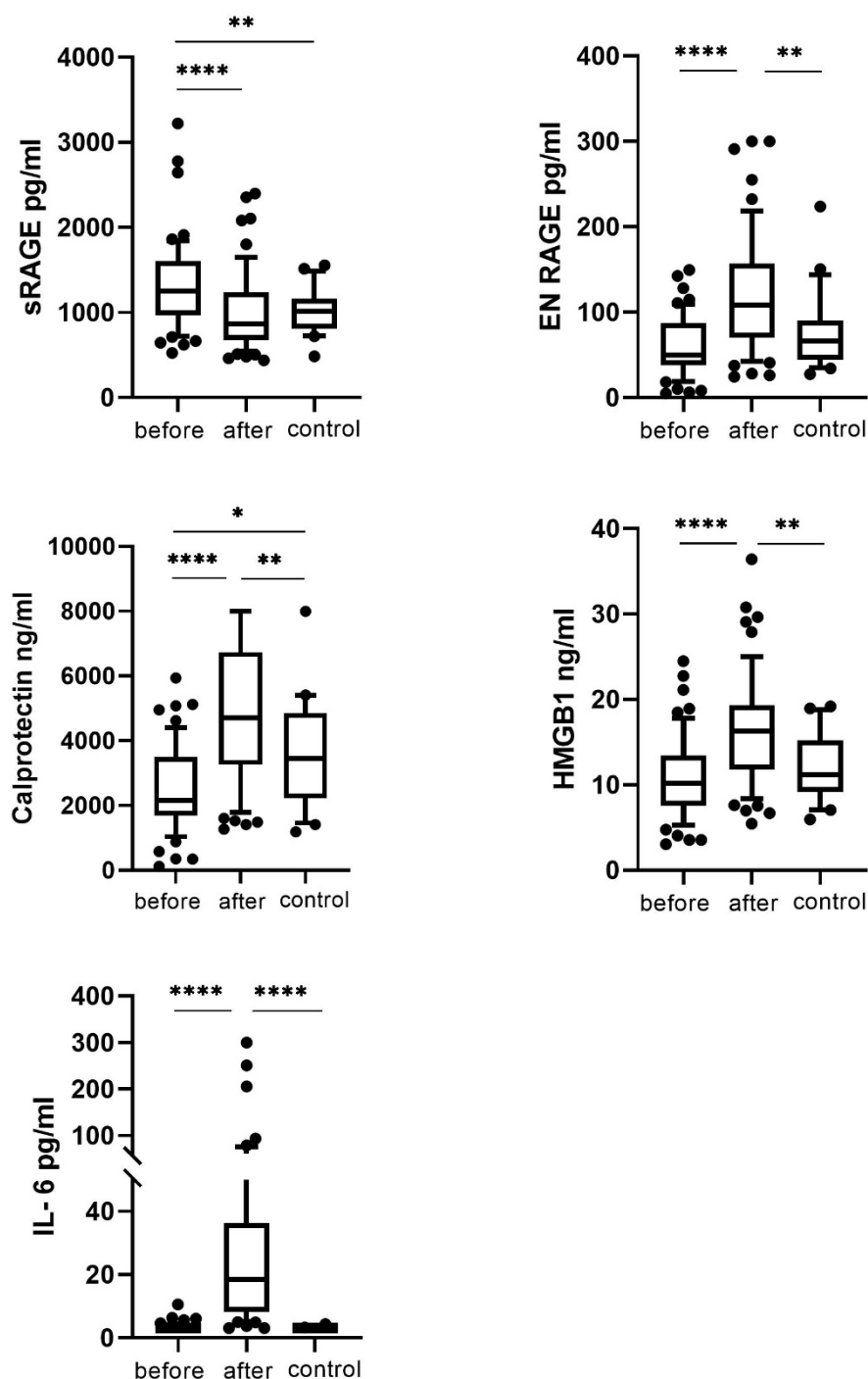
Z tabulky č. 7 a z grafu č. 5 je zřejmé, že předoperační koncentrace kalprotektinu byly signifikantně nižší ($p=0,013$) a koncentrace sRAGE signifikantně vyšší ($p=0,005$), zatímco koncentrace EN-RAGE a HMGB1 u pacientů s cholecystolitíázou a oběma typy kýl nevykazovaly signifikantní rozdíly ve srovnání se zdravými kontrolami. Předoperační koncentrace IL-6 se u pacientů bez známek akutního zánětu a u zdravých kontrol nacházely pod limitem detekce ($<3,13$ pg/ml).

Z tabulky č. 7 dále plyne, že mezi sérovými koncentracemi pacientů před a po výkonu byly pozorovány signifikantní rozdíly. Po chirurgickém výkonu došlo k signifikantnímu vzestupu EN-RAGE, HMGB1 a kalprotektinu ($p < 0,0001$) a signifikantnímu poklesu sRAGE ($p < 0,0001$).

Při srovnávání pooperačních koncentrací všech testovaných analytů v séru pacientů vůči skupině zdravých kontrol byly patrné i signifikantní rozdíly. Po výkonu došlo k signifikantnímu vzestupu EN-RAGE ($p=0,001$), HMGB1 ($p=0,005$) a kalprotektinu ($p=0,007$). U pacientů po výkonu je možné naopak pozorovat trend mírného poklesu sRAGE

ve srovnání se zdravými kontrolami. Uvedený pokles však není statisticky významný ($p=0,463$). Pohlaví ve skupině elektivních pacientů u všech testovaných molekul nemělo signifikantní vliv ani předoperačně, ani pooperačně.

Graf č. 5 - Grafické znázornění koncentrací jednotlivých biomarkerů v séru pacientů s cholecystolitiázou a pupeční a tříselnou kýlou před a po výkonu a kontrolní skupiny



Limity vyhodnocení:

EN RAGE: za 3 výsledky >Max dosazen krajní bod kalibrační křivky (tj. 300 pg/ml)

Calprotectin: za 1 výsledek <Min a 11 výsledků > Max dosazeny krajní body kalibrační křivky (tj. 125 a 8000 ng/ml)

IL-6: za výsledky <Min a > Max dosazeny krajní body kalibrační křivky (tj. 3,13 a 300 pg/ml), parametr je nehodnotitelný u všech dg.

*Signifikance: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, **** - $p < 0,0001$*

Zkratky: after – po výkonu, before – před výkonem, control – kontrolní skupina, EN-RAGE - extracellular newly identified receptor for advanced glycation end-products binding protein, HMGB1 - high mobility group box-1, IL-6 – interleukin-6, sRAGE - soluble receptor for advanced glycation end-products.

Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

Detailnější informace o koncentracích alarminů a souvisejících molekul v séru pacientů podle jednotlivých diagnóz (cholecystolitíáza, pupeční na tříselná kýla) jsou uvedeny v **Tabulce č. 8**.

Grafický záznam srovnání koncentrací testovaných biomarkerů mezi jednotlivými diagnózami je uveden v **Grafu č. 6**.

Tabulka č. 8: Koncentrace alarminů a souvisejících molekul v séru pacientů s cholecystolitíázou a pupeční a tříselnou kýlou před a po výkonu ve srovnání s kontrolní skupinou podle jednotlivých diagnóz.

Analyt	Před výkonem	Po výkonu	Hodnota p před vs po	Hodnota p před vs kontroly	Hodnota p po vs kontroly
Tříselná kýla					
sRAGE (pg/mL)	1474,7 (1188,7-1658,2)	1064,0 (789,8-1270,6)	<0,0001	0,001	ns
EN-RAGE (pg/mL)	51,4 (40,0-88,9)	112,1 (81,4-157,3)	<0,0001	ns	0,001
HMGB1 (ng/mL)	11,3 (8,5-19,9)	16,7 (11,6-19,4)	0,001	ns	0,005
Kalprotektin (ng/mL)	2227,7 (1761,0-3497,0)	4906,7 (3604,9-6944,8)	<0,0001	0,040	0,004
IL-6 (pg/mL)	<3,13 (<3,13-<3,13)	35,18 (15,52-57,12)	<0,0001	ns	<0,0001

Pupeční kýla					
sRAGE (pg/mL)	1110,2 (941,5-13936,8)	1149,3 (819,9-1602,1)	ns	ns	ns
EN-RAGE (pg/mL)	48,7 (37,5-128,2)	78,6 (64,2-172,5)	ns	ns	ns
HMGB1 (ng/mL)	11,6 (9,8-18,5)	15,3 (11,6-17,5)	ns	ns	ns
Kalprotektin (ng/mL)	2164,6 (1932,3-4955,7)	4393,7 (2915,5-6292,4)	0,032	ns	ns
IL-6 (pg/mL)	<3,13 (<3,13-<3,13)	9,99 (5,60-18,90)	0,009	ns	<0,0001
Cholecystolitiáza					
sRAGE (pg/mL)	1163,0 (915,9-1484,4)	761,3 (603,8-1047,5)	<0,0001	ns	0,026
EN-RAGE (pg/mL)	49,5 (30,0-66,4)	107,6 (73,6-138,3)	<0,0001	ns	0,023
HMGB1 (ng/mL)	8,7 (6,8-13,3)	16,8 (13,0-19,8)	<0,0001	0,032	0,031
Kalprotektin (ng/mL)	1937,1 (1473,2-2862,2)	4548,6 (3196,2-6393,7)	<0,0001	0,008	ns
IL-6 (pg/mL)	<3,13 (<3,13-<3,13)	14,9 (7,3-27,5)	<0,0001	ns	<0,0001

Data jsou vyjádřena jako medián (mezikvartilové rozmezí).

Zkratky: EN-RAGE - extracellular newly identified receptor for advanced glycation end-products binding protein, HMGB1 - high mobility group box-1, IL-6 – interleukin-6, nd – not detected, nedetekovatelné, ns - not significant, nevýznamné, sRAGE - soluble receptor for advanced glycation end-products.

Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

Při porovnávání koncentrací alarminů a souvisejících molekul v séru pacientů podle jednotlivých diagnóz se výsledky liší (viz **Tabulka č. 8** a **Graf č. 6**).

U pacientů s tříselnou kýlou byly předoperační koncentrace kalprotektinu signifikantně nižší ($p=0,040$) a koncentrace sRAGE signifikantně vyšší ($p=0,001$) ve srovnání s kontrolní skupinou, u koncentrací EN-RAGE a HMGB1 nebyly signifikantní rozdíly vůči kontrolní skupině zaznamenány. Při porovnávání koncentrací biomarkerů v séru pacientů před a po plastice tříselné kýly došlo pooperačně k signifikantnímu vzestupu koncentrací kalprotektinu ($p < 0,0001$), EN-RAGE ($p < 0,0001$) a HMGB1 ($p=0,005$) a signifikantnímu poklesu koncentrací sRAGE ($p < 0,0001$). Pokud srovnáváme pooperační koncentrace biomarkerů

s kontrolní skupinou, po hernioplastice byly koncentrace EN-RAGE ($p=0,001$), HMGB1 ($p=0,005$) a kalprotektinu ($p=0,004$) významně vyšší než u zdravých kontrol, u sRAGE naopak koncentrace nevýznamně klesly. Koncentrace IL-6 se u pacientů s tříselnou kýlou pohybovaly předoperačně pod hranicí detekce, pooperačně významně vzrostly nad hranici detekce.

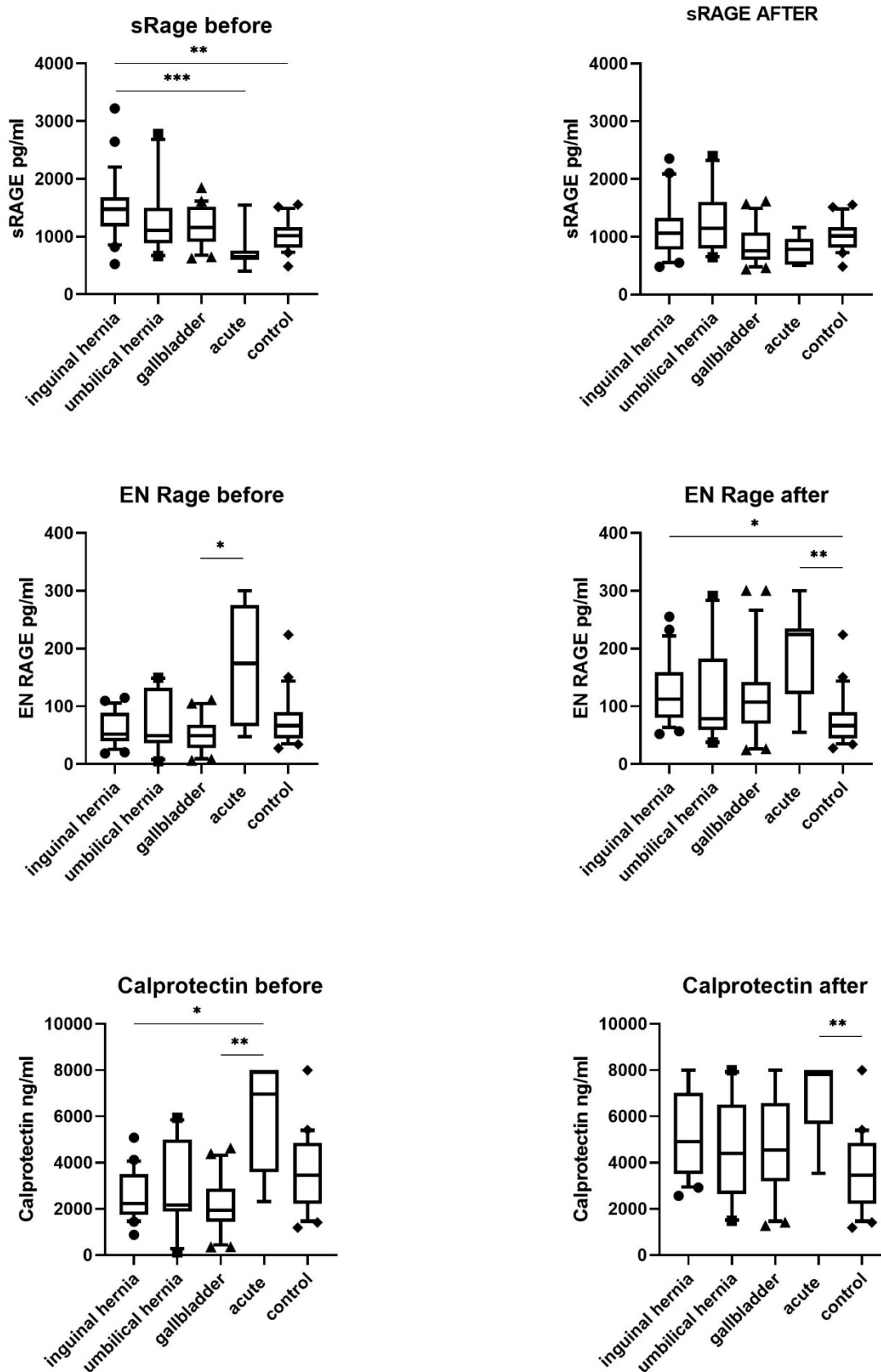
U pacientů s cholecystolitíázou byly předoperačně pozorovány signifikantně nižší koncentrace kalprotektinu ($p=0,008$) a HMGB1 ($p=0,032$) ve srovnání s kontrolní skupinou, koncentrace sRAGE a EN-RAGE se významně nelišily. Koncentrace IL-6 se v séru pacientů s cholecystolitíázou nacházely pod limitem detekce. Pooperačně došlo u pacientů k signifikantnímu zvýšení EN-RAGE ($p < 0,0001$), HMGB1 ($p < 0,0001$) a kalprotektinu ($p < 0,0001$) a signifikantnímu poklesu sRAGE ($< 0,0001$) ve srovnání s předoperačními koncentracemi. Pokud porovnáváme pooperační koncentrace biomarkerů s kontrolní skupinou, pacienti po cholecystektomii vykazovali významně vyšší koncentrace EN-RAGE ($p=0,023$) a HMGB1 ($p=0,031$) a významně nižší koncentrace sRAGE ($0,026$). Rozdíly v koncentraci kalprotektinu nebyly pooperačně vůči kontrolní skupině signifikantní.

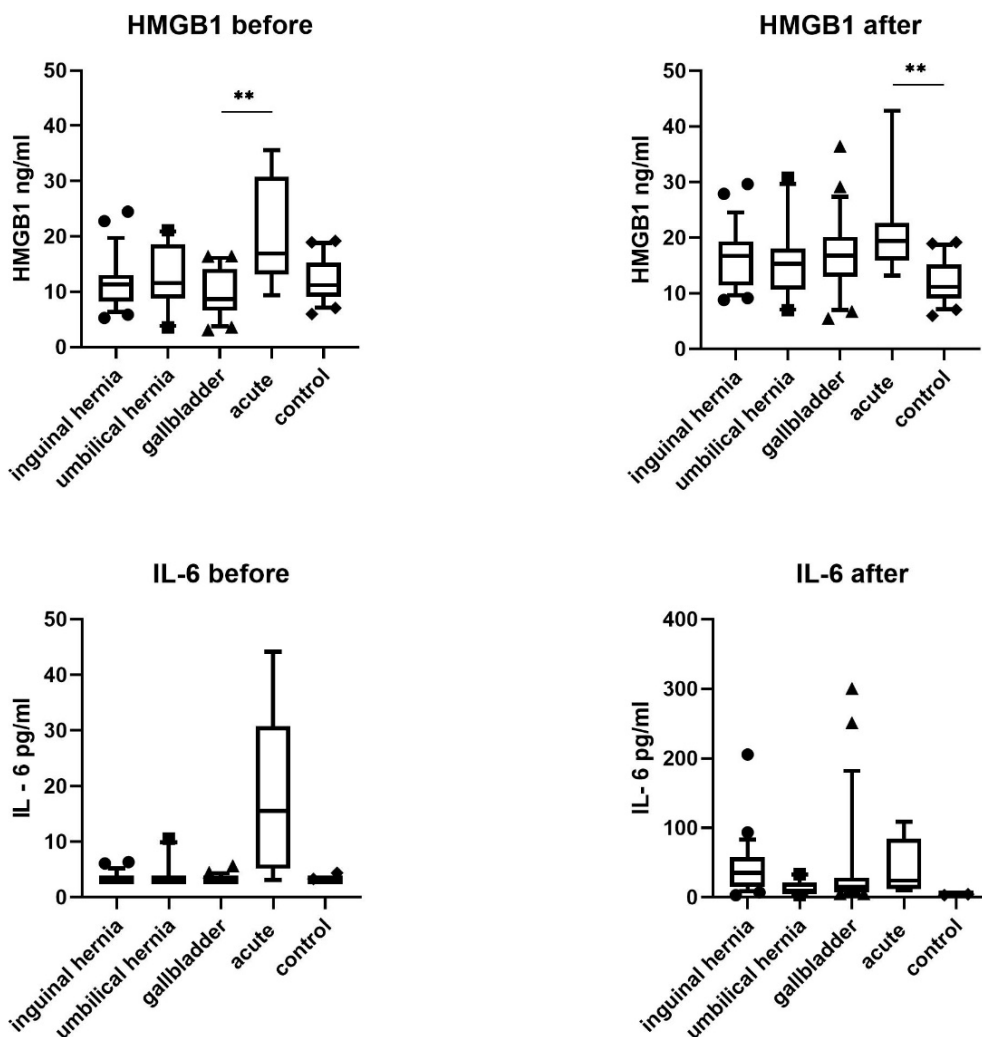
U pacientů s pupeční kýlou nebyly zaznamenány žádné významné rozdíly v koncentracích testovaných biomarkerů ve srovnání s kontrolní skupinou, a to jak předoperačně, tak i po operaci. Pouze pooperačně byl ve srovnání s předoperační koncentrací pozorován signifikantní vzestup kalprotektinu ($0,032$). Předoperační koncentrace IL-6 byly u pacientů s pupeční kýlou nedetekovatelné.

Z tabulky č. 8 je patrné, že koncentrace alarminů a souvisejících molekul u pacientů s tříselnými kýlami a cholecystolitíázou před a po operaci zaznamenávaly podobný trend jako u celého testovaného souboru. Nepatrné rozdíly byly zaznamenány pouze při porovnávání koncentrací alarminů a přidružených molekul v séru pacientů s tříselnou kýlou a cholecystolitíázou se zdravými kontrolami. U cholecystolitíázy se předoperační koncentrace sRAGE na rozdíl od pacientů s tříselnou kýlou významně nelišily ve srovnání se zdravými kontrolami, zatímco koncentrace HMGB1 byly před operací významně nižší. Po operaci uvedené rozdíly nebyly patrné a v obou skupinách došlo k významné alteraci koncentrací sRAGE a HMGB1. U obou skupin pacientů můžeme najít pooperační vzestup koncentrací kalprotektinu vůči zdravým kontrolám, po cholecystektomii rozdíl není signifikantní.

U pacientů s pupečními kýlami byly všechny rozdíly ve výsledcích měření ve srovnání se zdravými kontrolami nevýznamné. Výjimku tvořila elevace pooperačních koncentrací IL-6. Srovnání koncentrací testovaných biomarkerů v séru pacientů před a po plastice pupeční kýly se významně nelišilo s výjimkou vzestupu koncentrací kalprotektinu a IL-6 po výkonu.

Graf č. 6 – Srovnání koncentrací testovaných biomarkerů mezi jednotlivými diagnózami.





Limity vyhodnocení:

EN RAGE: za 3 výsledky >Max dosazen krajní bod kalibrační křivky (tj. 300 pg/ml)

Kalprotektin: za 1 výsledek <Min a 11 výsledků >Max dosazeny krajní body kalibrační křivky (tj. 125 a 8000 ng/ml)

IL-6: za výsledky <Min a >Max dosazeny krajní body kalibrační křivky (tj. 3.13 a 300 pg/ml).

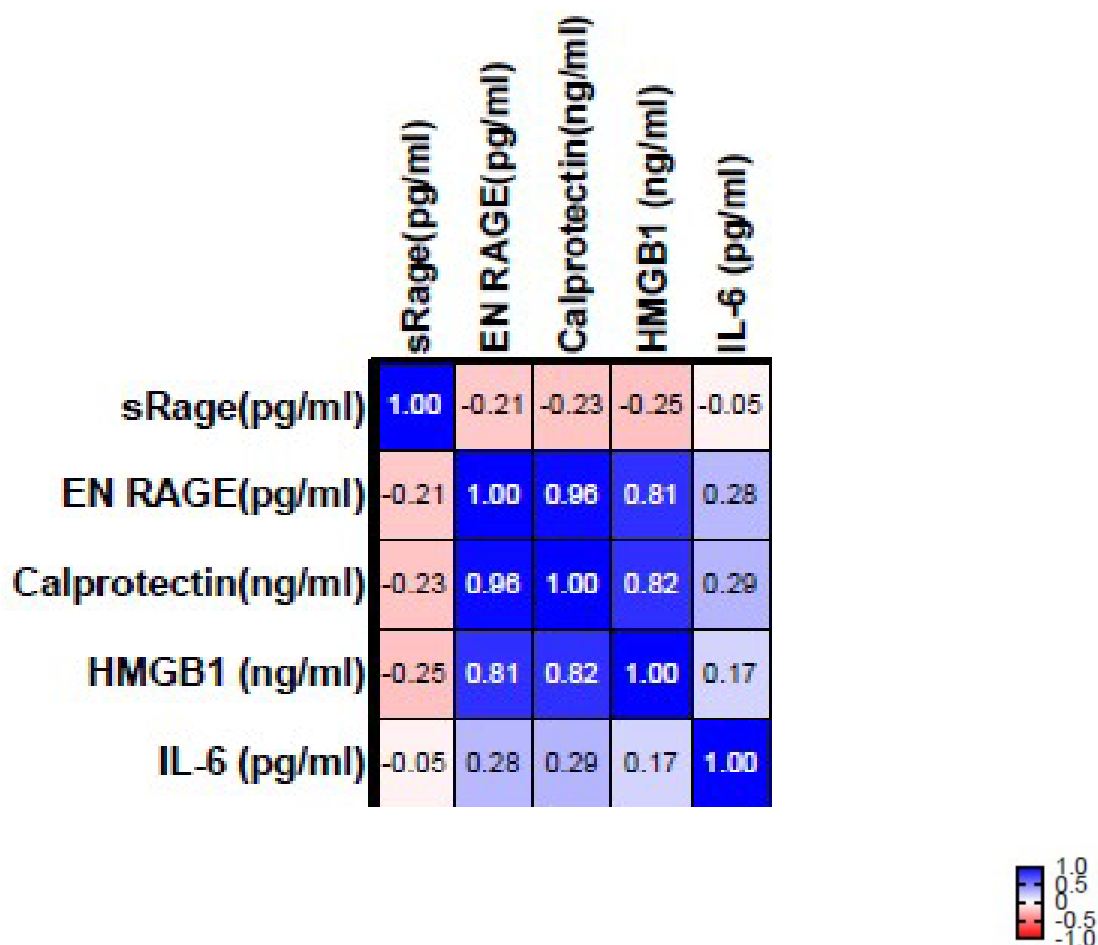
*Signifikance: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, **** - $p < 0,0001$*

Zkratky: acute – pacienti s náhlou příhodou břišní indikovaní k akutní revizi dutiny břišní, after – po výkonu, before – před výkonem, control – kontrolní skupina, Calprotectin – kalprotektin, EN-RAGE - extracellular newly identified receptor for advanced glycation end-products binding protein, gallbladder – pacienti s cholecystitídou, HMGB1 - high mobility group box-1, IL-6 – interleukin-6, inguinal hernia – pacienti s tříselnou kýlou, sRAGE - soluble receptor for advanced glycation end-products, umbilical hernia – pacienti s pupeční kýlou.

Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

V průběhu výzkumu byly vyhodnocovány i korelace mezi testovanými analyty u pacientů s cholecystolitíázou a pupeční a tříselnou kýlou před a po operačním výkonu prezentované v **Grafu č. 7** a **Grafu č. 8**. U pacientů před výkonem byla objevena silná korelace ($p < 0,0001$) mezi EN-RAGE a kalprotektinem ($\rho = 0,96$) a mezi EN-RAGE a HMGB1 ($\rho = 0,79$). Uvedená korelace ($p < 0,0001$) byla patrná i po výkonu ($\rho = 0,90$, respektive $\rho = 0,83$). Méně silná korelace byla objevena i mezi stejnými analyty u skupiny zdravých kontrol (EN-RAGE a kalprotektin $\rho = 0,59$, $p = 0,005$, EN-RAGE a HMGB1 $\rho = 0,69$, $p = 0,001$).

Graf č. 7 – Korelace mezi jednotlivými biomarkery u pacientů s cholecystolitíázou a pupeční a tříselnou kýlou před výkonem.



Zkratky: EN-RAGE - extracellular newly identified receptor for advanced glycation end-products binding protein, HMGB1 - high mobility group box-1, IL-6 – interleukin-6, sRAGE - soluble receptor for advanced glycation end-products.

Graf č. 8 – Korelace mezi jednotlivými biomarkery u pacientů s cholecystolitiázou pupeční a tříselnou kýlou po výkonu.

	sRage(pg/ml)	EN RAGE(pg/ml)	Calprotectin(ng/ml)	HMGB1 (ng/ml)	IL-6 (pg/ml)
sRage(pg/ml)	1.00	-0.14	-0.10	-0.08	-0.05
EN RAGE(pg/ml)	-0.14	1.00	0.92	0.85	0.33
Calprotectin(ng/ml)	-0.10	0.92	1.00	0.89	0.28
HMGB1 (ng/ml)	-0.08	0.85	0.89	1.00	0.27
IL-6 (pg/ml)	-0.05	0.33	0.28	0.27	1.00



Zkratky: EN-RAGE - extracellular newly identified receptor for advanced glycation end-products binding protein, HMGB1 - high mobility group box-1, IL-6 – interleukin-6, sRAGE - soluble receptor for advanced glycation end-products.

Pro další srovnání byla stanovena koncentrace alarminů a souvisejících molekul v séru u skupiny sedmi pacientů s náhlou příhodou břišní indikovaných k akutní revizi dutiny břišní – s akutní apendicitidou, akutní cholecystitidou a uskřínutou kýlou (viz **Tabulka č. 9** a **Graf č. 9**).

Tabulka č. 9: Koncentrace alarminů a souvisejících molekul v séru pacientů s náhlou příhodou břišní indikovaných k akutní revizi dutiny břišní.

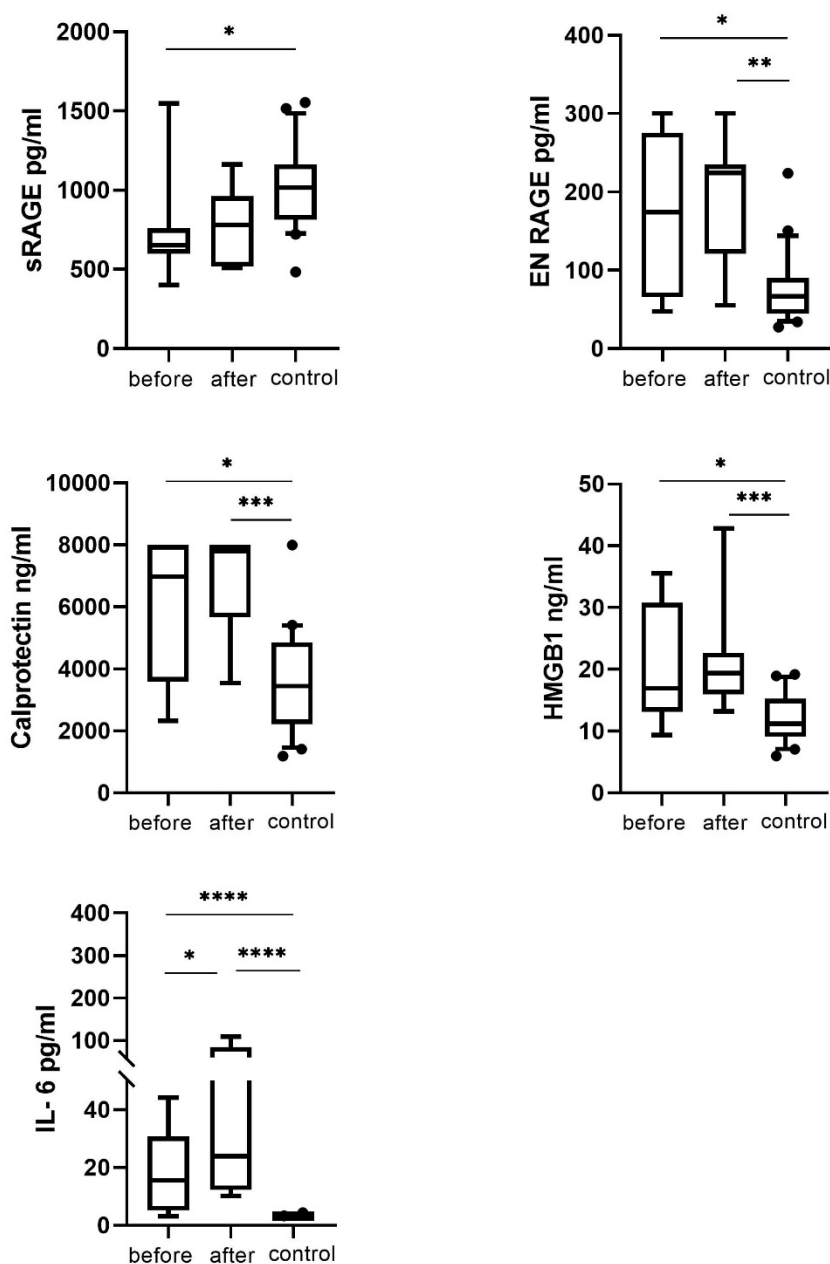
Analyt	Akutní pacienti		Kontroly	Hodnota p před vs po	Hodnota p před vs kontroly	Hodnota p po vs kontroly
	Před	Po				
sRAGE (pg/ml)	651,8 (596,7-760,4)	780,7 (518,0-964,9)	1016,0 (813,3-1165,0)	ns	0,017	ns
EN-RAGE (pg/ml)	174,3 (65,7-275,6)	224,3 (121,3-234,7)	66,55 (44,4-90,2)	ns	0,020	0,001
HMGB1 (ng/ml)	16,89 (13,13-30,75)	19,4 (15,9-22,7)	11,2 (9,1-15,3)	ns	0,032	0,001
Kalprotektin (ng/ml)	6969,0 (3588,0-8000,0)	7799,2 (5672,5-8000,0)	3447,0 (2220,0-4852,0)	ns	0,037	0,001
IL-6 (pg/ml)	15,57 (5,15-30,77)	23,79 (12,20-84,30)	nd	0,047	<0,0001	<0,0001

Data jsou vyjádřena jako medián (mezikvartilové rozmezí).

Zkratky: EN-RAGE - extracellular newly identified receptor for advanced glycation end-products binding protein, HMGB1 - high mobility group box-1, IL-6 – interleukin-6, nd – not detected, nedetekovatelné, ns - not significant, nevýznamné, sRAGE - soluble receptor for advanced glycation end-products.

Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

Graf č. 9 - Grafické znázornění koncentrací jednotlivých biomarkerů u pacientů s náhlou příhodou břišní před a po výkonu a kontrolní skupiny.



Signifikance: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, **** - $p < 0,0001$

Zkratky: after – po výkonu, before – před výkonem, control – kontrolní skupina, EN-RAGE - extracellular newly identified receptor for advanced glycation end-products binding protein, HMGB1 - high mobility group box-1, IL-6 – interleukin-6, sRAGE - soluble receptor for advanced glycation end-products.

Všechny výsledky jsou považovány za statisticky významné při $p < 0,05$.

Z Tabulky č. 9 a Grafu č. 9 je zřejmé, že předoperační koncentrace EN-RAGE ($p=0,020$), kalprotektinu ($p=0,037$), HMGB1 ($p=0,032$) a IL-6 ($p < 0,0001$) byly v séru pacientů s náhlou příhodou břišní signifikantně vyšší a koncentrace sRAGE signifikantně nižší ($p=0,017$) v porovnání s kontrolní skupinou. Srovnání koncentrací testovaných biomarkerů v séru pacientů s náhlou příhodou břišní před a po operačním výkonu s výjimkou IL-6 nevykazovalo signifikantní změny. Výsledky ilustrují klíčovou roli alarminů jako markerů zánětu a akutních stavů, předoperační koncentrace jsou natolik zvýšené, že vliv chirurgického výkonu na jejich další vývoj je s výjimkou IL-6 zanedbatelný.

5. Diskuse

5.1. Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz

U pacientů s tříselnou kýlou byly analyzovány koncentrace vybraných MMPs a TIMPs v séru před a po chirurgické léčbě a provedeno bylo srovnání předoperačních hodnot se zdravou kontrolní skupinou.

Vznik tříselné kýly souvisí s alterací tkání. Proces rozvoje tříselné kýly je spojen s poruchou regulace metabolismu kolagenu (Henriksen et al., 2011). Klíčovou roli v metabolismu extracelulární matrix během remodelace a reparace tkání sehrávají MMPs (Gill et Parks, 2008). MMPs jsou lokalizovány predominantně extracelulárně, i když některé studie prokázaly, že MMP-1 (Limb et al., 2005), MMP-2 (Aldonyte et al., 2009, Kwan et al., 2004), MMP-11 (Luo et al., 2002) a MMP-13 (Cuadrado et al., 2009) se mohou nacházet také intracelulárně a mohou ovlivňovat intracelulární proteiny.

Studie analyzující matrixové metalloproteinázy a tkáňové inhibitory metalloproteináz se zaměřovala na prokázání, jak přítomnost tříselné kýly a následný operační výkon ovlivňují koncentrace testovaných biomarkerů v séru. V séru pacientů ve srovnání se zdravými kontrolami byly nalezeny signifikantní rozdíly v předoperačních koncentracích zejména MMP-2, MMP-9 a TIMP-2. Zatímco předoperační sérové koncentrace MMP-2, MMP-9 a TIMP-2 byly sníženy ($p=0,026$, $p=0,019$ a $p=0,004$), koncentrace MMP-1, MMP-10 a TIMP-1 se shodovaly se zdravými kontrolami.

Souvislostem mezi přítomností tříselné kýly a předoperačními koncentracemi vybraných MMPs a TIMPs u pacientů s přímými, nepřímými a oboustrannými typy tříselných kýl se věnovali např. Isik aspo. (Isik et al., 2017). V jejich studii vykazovaly všechny tři skupiny pacientů ve srovnání se zdravými dobrovolníky signifikantní elevaci všech čtyř MMPs (MMP-1,2,9,13), zatímco koncentrace TIMPs byly sníženy. Uvedené biomarkery byly testovány i v tkáňových homogenátech odebraných z fascie transversalis, jejichž výsledky vykazovaly podobný trend jako v séru (Isik et al., 2017). Data prezentovaná v předložené studii matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz naopak prokazovala, že předoperační sérové koncentrace MMP-1 a TIMP-1 se signifikantně neliší vůči zdravým kontrolám a sérové koncentrace MMP-2 a MMP-9 byly signifikantně sníženy ve srovnání se zdravými kontrolami ($p=0,026$, respektive $p=0,018$). Signifikantní pokles koncentrace TIMP-2 se shodoval v obou studiích.

Snížené koncentrace MMP-2 a MMP-9 v plazmě pacientů s tříselnými kýly byly popsány např. v článku Antoniou G. A. *aspol.* (Antoniou et al., 2011). V uvedené studii byly srovnávány koncentrace v plazmě a tkáňové koncentrace MMP-2,9 a TIMP-1,2 u 91 pacientů a 35 zdravých kontrol. Zatímco výsledky testovaných biomarkerů v tkáni transversální fascie byly konsistentní s výsledky citovanými ve studii Isik *aspol.* (Isik et al., 2017), ve výsledcích předoperačních koncentrací v plazmě se obě práce lišily. Ve studii Antoniou *aspol.* bylo konstatováno, že koncentrace MMP-9 a MMP-2 v plazmě byly signifikantně snižené u pacientů s tříselnými kýly ve srovnání s kontrolní skupinou (Antoniou et al., 2011). Jím publikovaný závěr korespondoval s výsledky předložené studie věnované matrixovým metalloproteinázám a tkáňovým inhibitorům metalloproteináz. V některých výzkumných pracích jsou naopak uváděny významně vyšší koncentrace MMP-2, a to jak v séru, tak ve vzorcích tkání u pacientů s přímými i nepřímými tříselnými kýly ve srovnání se zdravými kontrolami (např. Bellón et al., 2001, Li et al., 2018, Smigielski et al., 2011, Smigielski et al., 2009, Wang et al., 2020).

Sérovým koncentracím MMP-2 a MMP-9, které byly testovány u pacientů s tříselnými kýly spolu s N-terminálními peptidy prokolagenu typu I, III (PINP, PIIINP), se věnuje studie Li *aspol.* (Li et al., 2018). Na rozdíl od výsledků prezentovaných ve studii matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz a od závěrů uváděných ve studiích Antoniou *aspol.* (Antoniou et al., 2011) a Isik *aspol.* (Isik et al., 2017) nebyly pozorovány žádné další výrazné změny v předoperačních sérových koncentracích MMP-9 u pacientů a kontrol. Ve studiích byl prokázáno, že proteolytické aktivity MMPs ovlivňují jak klíčové procesy v buňce, tak i mnoho dalších fyziologických dějů a jejich aktivity jsou regulovány především prostřednictvím TIMPs (Li et al., 2018). Výsledky analyzující plazmatické koncentrace TIMP-1 a TIMP-2 byly v citovaných studiích referovány odlišně. Výrazně vyšší koncentrace TIMP-2 a nižší koncentrace TIMP-1 v plazmě pacientů s tříselnými kýly ve srovnání s kontrolami jsou doloženy např. ve studii Antoniou *aspol.* (Antoniou et al., 2011).

V práci Smigielski *aspol.* (Smigielski et al., 2011) byly zaznamenány zvýšené hodnoty koncentrací TIMP-2, ovšem pouze u pacientů s recidivující tříselnou kýlou. Koncentrace TIMP-2 v ostatních skupinách (přímé a nepřímé tříselné kýly) byly obdobné jako u kontrolní skupiny. Naopak ve studii Isik *aspol.* (Isik et al., 2017) byly reflektovány signifikantně snižené sérové koncentrace TIMP-1,-2,-3 u pacientů ve srovnání s kontrolní skupinou. V předkládané studii matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz byly předoperační koncentrace TIMP-2 v séru pacientů signifikantně nižší ve srovnání se zdravými kontrolami ($p=0,004$), zatímco koncentrace TIMP-1 byly s kontrolami srovnatelné. Uvedené skutečnosti dokumentují, že předoperační pokles koncentrace MMP-9 v séru pacientů

s tříselnou kýlou nebyl provázen zvýšením jejího hlavního inhibitoru (TIMP-1). Při analýze výsledků byla zjištěna signifikantní korelace mezi oběma inhibitory TIMP-1 a TIMP-2 ($p=0,64$, $p=0,001$) po operačním výkonu, kdy oba inhibitory vykazovaly signifikantní pokles detekovaných koncentrací (TIMP-1 $p=0,0004$, TIMP-2 $p < 0,0001$), a to ve srovnání s předoperačními hodnotami.

Některé z uváděných studií se zaměřovaly i na rozdíly v koncentracích MMPs u různých typů kýl (Isik et al., 2017, Li et al., 2018, Smigielski et al., 2009). Analýza výsledků překládaného výzkumu matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz neprokázala žádné rozdíly v hodnotách MMPs a TIMPs u pacientů v závislosti na typu kýly (přímé, nepřímé) před ani po operaci.

Vzhledem k tomu, že každý jednotlivý TIMP vykazuje preferenční MMP-vazebnou specifitu, může poměr MMP/TIMP určovat celkovou proteolytickou aktivitu. Výsledky prezentovaného výzkumu dokládají vyšší poměr koncentrací hladin MMP-9/TIMP-1 v séru pacientů po výkonu ve srovnání s předoperačními hodnotami odpovídajícími čistému nárůstu MMP-9 u pacientů po výkonu. Ve studiích věnujících se expresi MMP-2 a TIMP-2 ve fascii pochvy přímého břišního svalu (např. Wang et al., 2020) bylo referováno významné zvýšení poměrů MMP-2/TIMP-2. Na rozdíl od nich nebyla ve studii matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz signifikantní změna poměru sérových koncentrací MMP-2/TIMP-2 mezi pacienty (odběr před a po výkonu) a kontrolní skupinou pozorována.

Ve většině publikovaných studií byla věnována pozornost sérovým koncentracím MMP a TIMP v jednom časovém bodě, a to před operací. V předložené studii matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz byly navíc popsány i změny v koncentracích biomarkerů, a to před i po chirurgickém výkonu, a prezentována skutečnost, jak chirurgické výkony tyto koncentrace ovlivňují. Výzkum prokázal, že u pacientů po operaci došlo k významnému poklesu koncentrací MMP-1, MMP-2, MMP-7 a MMP-10, zatímco koncentrace MMP-9 v jejich séru po výkonu vykazovala signifikantní vzestup ($p < 0,0001$). V rámci standardizace postupů se prezentovaný výzkum zabýval i vlivem chirurgické intervence na vybrané biomarkery. Standardně byly vzorky odebírány vždy 1-3 hodiny před plánovaným chirurgickým výkonem, protože jakýkoli případný následný odběr v jinou dobu by mohl výrazně ovlivnit výsledky. Závěry uvedené v předložené studii potvrdily, že doba odběru z hlediska načasování operačního výkonu významně ovlivňuje koncentrace studovaných parametrů. Dokládají, že standardizace doby odběru do biobanky vzhledem k timingu operace je důležitým prvkem při zajišťování srovnatelnosti odebraných vzorků.

Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz upozorňuje i na limitaci prováděného výzkumu. Jedinci zahrnutí do kontrolní skupiny byli výrazně mladší než pacienti s tříselnými kýly. Týká se to i zastoupení žen v kontrolní skupině, které je vyšší. Srovnání koncentrací MMP a TIMP mezi dílčími skupinami bylo statisticky upraveno a reflektovalo rozdíly mezi věkem a pohlavím. Statistické vyhodnocení rozdílů sérových koncentrací MMPs a TIMPs podle typu kýly má vypovídající hodnotu pouze mezi skupinami s přímým a nepřímým typem kýly, a to s ohledem na malý počet pacientů ve zbývajících dvou skupinách (kombinace přímé a nepřímé kýly a recidivující tříselná kýla).

Koncentrace MMPs (zejména MMP-2 a MMP-9) a jejich inhibitorů TIMPs (zejména TIMP-2) v séru byly signifikantně ovlivněny jak přítomností tříselné kýly, tak operačním výkonem.

5.2. Studie alarminů a souvisejících molekul

Studie věnovaná analýze alarminů a s nimi souvisejících molekul je zaměřena na testování změn koncentrací vybraných biomarkerů (sRAGE, EN-RAGE, HMGB1, kalprotektinu a IL-6) v séru pacientů s cholecystolitíázou a abdominálními herniemi před a po elektivním operačním výkonu ve srovnání se zdravými kontrolami.

Předoperační koncentrace EN-RAGE a HMGB1 u pacientů s přítomností abdominální hernie bez akutních komplikací jsou obdobné jako u zdravých kontrol, což dokládá, že výskyt cholecystolitíázy či kýly nealteruje sérové koncentrace těchto biomarkerů. U skupiny pacientů s náhlou příhodou břišní indikovaných k akutní revizi dutiny břišní byly předoperační koncentrace všech biomarkerů signifikantně elevovány. Pokud porovnáváme předoperační koncentrace kalprotektinu a sRAGE v séru pacientů s cholecystolitíázou a pupeční a tříselnou kýlou (bez skupiny pacientů s náhlou příhodou břišní) se zdravými kontrolami, zaznamenáváme rozdíly. Předoperační koncentrace sRAGE byla výrazně snižena a koncentrace kalprotektinu významně zvýšená u pacientů s cholecystolitíázou a oběma typy kýl. Zvýšené koncentrace kalprotektinu nebyly u pacientů před elektivním výkonem překvapením, a to s přihlédnutím ke schopnosti kalprotektinu reagovat na minimální známky zánětu či alterace tkáně (Ometto et al., 2017). Vzhledem k jeho roli u IBD můžeme jen spekulovat o možném významu příjmu potravy a dráždění gastrointestinálního traktu před operačním výkonem. Pacienti s cholecystolitíázou by měli dlouhodobě dodržovat dietu s omezením tuků. Před operací mají všichni pacienti ordinovanu lehčí dietu než zdravé kontroly.

Trend vývoje koncentrací sRAGE je u všech skupin pacientů odlišný vzhledem k ostatním biomarkerům. Sérové koncentrace sRAGE na rozdíl od ostatních markerů po elektivní operaci klesají v důsledku fyziologické reakce na operační výkon. U mnoha patologických stavů souvisí nízké koncentrace sRAGE např. s přítomností zánětu, případně s progresí onemocnění a horší prognózou (např. u pacientek s karcinomem prsu, Tesarova et al., 2007, Erusalimsky, 2021). Ke zvýšení sérových koncentrací sRAGE dochází u renální insuficience (Kalousová et al., 2005).

Ze srovnání sérových koncentrací alarminů a souvisejících molekul u pacientů na podkladě jednotlivých diagnóz je patrné, že koncentrace biomarkerů v séru pacientů s tříselnými kýly a cholecystolitíázou sledují obdobný trend, zatímco výsledky pacientů s pupečními kýly jsou odlišné. Srovnávání koncentrací v séru pacientů s pupečními kýly před a po chirurgickém výkonu s kontrolní skupinou se signifikantně neliší. Tato difference je pravděpodobně způsobena přítomností chronického zánětu a tkáňové remodelace, která bývá přítomna jak u cholecystolitíázy (Liu et al., 2018), tak u tříselné kýly (Antonίου et al., 2009, Henriksen et al., 2011). Pupeční kýla je zpravidla menší a její obsah tvoří často pouze tuk. Vzhledem k uvedené skutečnosti je chirurgický výkon méně rozsáhlý (Liang et al., 2017, Sigley et al., 2020).

Závěry výzkumu byly porovnávány s výsledky publikovanými v několika studiích zabývajících se ovlivňováním sérových koncentrací alarminů chirurgickým výkonem. Žádná z nich se však nevěnuje analýze tak velkého počtu alarminů u podobných diagnóz jako předložená studie alarminů a souvisejících molekul.

Creagh-Brown *aspol.* uvádějí, že sérové koncentrace sRAGE jsou významně vyšší u pacientů po kardiochirurgickém výkonu a korelují se závažností kritických stavů a s délkou hospitalizace (Creagh-Brown et al., 2013). V prezentované studii alarminů a souvisejících molekul výzkum prokázal, že v séru pacientů byly po operaci koncentrace sRAGE významně nižší. Rozdílné výsledky publikované v citované studii Creagh-Brown *aspol.* mohou být způsobeny skutečností, že jejich pacienti podstoupili rozsáhlé kardiochirurgické výkony s následnou intenzivní péčí včetně plicní ventilace a v některých případech došlo u pacientů i k orgánovým selháním (Creagh-Brown et al., 2013). Další možnou příčinou difference výsledků citovaných v uvedené práci mohla být rozdílná doba odběru krve po operaci. V předložené studii alarminů a souvisejících molekul byl vzorek krve odebírán 24 hodin po operaci, zatímco v práci Creagh-Brown *aspol.* byly odběry vzorků krve provedeny již 2 hodiny po operaci. Creagh-Brown *aspol.* popsali korelaci mezi předoperační koncentrací sRAGE, závažností kritického stavu a délkou hospitalizace (Creagh-Brown et al., 2013). U pacientů zařazených do

výzkumu v prezentované studii alarminů a souvisejících molekul nebyly zaznamenány komplikace, které by prodlužovaly dobu hospitalizace či vyžadovaly léčbu na jednotce intenzivní péče.

Pozornost se zaměřovala i na několik studií zabývajících se koncentracemi kalprotektinu v séru. Sejersen *aspol.* popsali vývoj vzestupu sérových koncentrací kalprotektinu a IL-6 u pacientů po hernioplastice v čase, přičemž zjistili, že kalprotektin je rychlým a slibným markerem signalizujícím možné pooperační komplikace (Sejersen *et al.*, 2022). Jejich výsledky korespondují s předloženou studií alarminů a souvisejících molekul, v níž je zdokumentováno, že koncentrace IL-6 v séru byly pooperačně významně vyšší a lišily se i v akutních diagnózách, a to jak předoperačně, tak i pooperačně. Předoperační koncentrace IL-6 v séru pacientů s herniemi a cholecystolitíázou zařazených do výzkumu a indikovaných k elektivnímu operačnímu řešení (tedy bez známek akutního zánětu) byly pod hranicí kvantifikace, což názorně ilustruje význam IL-6 jako markeru signalizujícího akutní zánět.

Ve studii Holub *aspol.* byly zkoumány změny sérových koncentrací kalprotektinu a EN-RAGE u pacientů s karcinomem pankreatu (Holub *et al.*, 2019). V závěru je uvedena souvislost zvýšených koncentrací kalprotektinu a EN-RAGE u pacientů s diagnózou karcinomu pankreatu před operací i po operaci, a to i v případě, že došlo k rozvoji pankreatických píštělí.

Koncentraci IL-6 se věnuje studie Jawa *aspol.* (Jawa *et al.*, 2019). Autoři sledovali změny sérových koncentrací IL-6 po operaci, traumatu a při kritickém onemocnění. Hlavní pozornost soustředili na sledování nežádoucích komplikací v intenzivní péči. Závěr, že předoperační koncentrace IL-6 byly v séru pacientů významně zvýšené, koresponduje s výsledky prezentovaného výzkumu alarminů a souvisejících molekul.

Pokud se jedná o HMGB1, nepodařilo se nám v průběhu výzkumu objevit obdobné studie zaměřující se na změny sérových koncentrací HMGB1 u pacientů podstupujících elektivní operační výkon. Předložená studie alarminů a souvisejících molekul tedy patří k prvním, které na základě výsledků výzkumu prokazují pooperační zvýšení koncentrace HMGB1 v séru.

Je třeba zmínit, že skupina pacientů zařazených do výzkumu byla o něco starší než kontrolní skupina a zastoupení žen bylo v kontrolní skupině výrazně vyšší než ve skupině pacientů.

Výsledky publikovaných studií i prezentovaného výzkumu dokládají významnou úlohu alarminů a s nimi souvisejících molekul jako markerů zánětu a poškození tkání. Prokázaly jednoznačný vliv přítomnosti zkoumaných onemocnění i chirurgických výkonů na koncentrace testovaných molekul.

6. Závěr

Disertační práce se zaměřila na stanovení koncentrací vybraných biomarkerů (matrixových metalloproteináz, tkáňových inhibitorů metalloproteináz, alarminů a s nimi souvisejících molekul) v séru pacientů s cholecystolitíázou, pupeční a tříselnou kýlou indikovaných k elektivnímu operačnímu výkonu. Pro srovnání byla do výzkumu zařazena i skupina pacientů s náhlou příhodou břišní indikovaných k akutní revizi dutiny břišní a skupina zdravých kontrol. Cílem práce bylo ozřejmit, zda a jak sledovaná onemocnění a operační výkon tyto koncentrace ovlivňují a které biomarkery jsou alterovány nejmarkantněji.

6.1. Studie matrixových metalloproteináz a tkáňových inhibitorů metalloproteináz

Výsledky provedených vyšetření prokázaly, že přítomnost inguinální hernie i elektivní hernioplastika ovlivňují sérové koncentrace matrixových metalloproteináz, a to zejména MMP-2 a MMP-9 a jejich tkáňového inhibitoru TIMP-2.

1. V séru pacientů s tříselnou kýlou se projevíly signifikantní rozdíly v předoperačních koncentracích zejména MMP-2, MMP-9 a TIMP-2 ve srovnání se zdravými kontrolami. Předoperační sérové koncentrace MMP-2, MMP-9 a TIMP-2 byly u pacientů s inguinální hernií významně sniženy, což dokumentuje jejich vliv na remodelaci extracelulární matrix a význam v patofyziologii tříselné kýly. Předoperační koncentrace MMP-1, MMP-7, MMP-10 a TIMP-1 se shodovaly se zdravými kontrolami.
2. Operační výkon vedl k významné změně koncentrací všech testovaných MMPs a TIMPs v séru pacientů s tříselnou kýlou ve srovnání s předoperačními hodnotami. Po hernioplastice došlo k signifikantnímu snížení koncentrací MMP-1, MMP-2, MMP-7 a MMP-10 (nejvýraznější pokles byl pozorován u MMP-2) a naopak k signifikantnímu zvýšení koncentrace MMP-9. Oba testované inhibitory TIMP-1 a TIMP-2 vykazovaly signifikantní pokles koncentrací.

6.2. Studie alarminů a souvisejících molekul

Závěry výzkumu ilustrují markantní vliv jak přítomnosti cholecystolitiázy a abdominální hernie, tak i elektivní chirurgie na koncentrace testovaných alarminů a s nimi souvisejících molekul v séru. Prokazují, že u akutních pacientů byly předoperační koncentrace testovaných molekul alterovány v důsledku zánětu, zatímco efekt operačního výkonu byl s výjimkou IL-6 zanedbatelný.

1. Přítomnost cholecystolitiázy a abdominální hernie vyvolává u pacientů významný pokles předoperační koncentrace kalprotektinu a významný vzestup koncentrace sRAGE ve srovnání se skupinou zdravých kontrol. Předoperační koncentrace EN-RAGE a HMGB1 se naproti tomu významně nelišily. Předoperační koncentrace IL-6 se u pacientů před elektivním výkonem i u kontrolní skupiny nacházely pod limitem detekce.
2. Vývoj koncentrací alarminů a souvisejících molekul v séru pacientů se u pupeční a tříselné kýly lišil. U pacientů s tříselnou kýlou byly předoperační koncentrace kalprotektinu signifikantně nižší a koncentrace sRAGE signifikantně vyšší ve srovnání s kontrolní skupinou. U koncentrací EN-RAGE a HMGB1 nebyly před operací shledány významné rozdíly. Pooperačně došlo k signifikantnímu vzestupu koncentrací kalprotektinu, EN-RAGE a HMGB1, přičemž koncentrace sRAGE významně poklesly. Naopak u pacientů s pupeční kýlou nebyly zaznamenány žádné signifikantní rozdíly v koncentracích testovaných biomarkerů ve srovnání s kontrolní skupinou, a to jak předoperačně, tak i po operaci, zaznamenán byl pouze pooperační vzestup kalprotektinu a IL-6. Rozdílné hodnoty souvisely s největší pravděpodobností s menší velikostí pupečních kýl, a tedy s menším rozsahem tkáňových změn a chronického zánětu.
3. Výzkum prokázal přímý vliv operačního výkonu na sérové koncentrace vybraných alarminů a s nimi souvisejících molekul. Po operaci docházelo k signifikantnímu vzestupu koncentrací EN-RAGE, HMGB1 a kalprotektinu a k signifikantnímu poklesu koncentrací sRAGE vůči předoperačním hodnotám.
4. U pacientů s náhlou příhodou břišní se předoperační koncentrace významně lišily v porovnání se zdravými kontrolami (koncentrace EN-RAGE, kalprotektinu, HMGB1

a IL-6 byly signifikantně vyšší a koncentrace sRAGE signifikantně nižší). Naopak srovnání pooperačních koncentrací testovaných biomarkerů v séru pacientů s výjimkou IL-6 nevykazovalo signifikantní změny. Presentované výsledky ilustrují klíčovou roli alarminů jako markerů zánětu a akutních stavů. Předoperační koncentrace alarminů byly natolik zvýšené, že vliv chirurgického výkonu na jejich další vývoj byl s výjimkou IL-6 málo průkazný.

Výsledky výzkumu prokazují klíčovou roli zkoumaných biomarkerů (MMPs, TIMPs, alarminů a souvisejících molekul) jako indikátorů tkáňové remodelace a zánětu. Prokázaly významný vliv přítomnosti zkoumaných onemocnění i chirurgických výkonů na koncentrace testovaných molekul.

LITERATURA:

Abdalla S, Pierre S, Ellis H: **Calot's triangle**. Clin Anat. 2013 May;26(4):493-501.

Aldonyte R, Brantly M, Block E, Patel J, Zhang J: **Nuclear localization of active matrix metalloproteinase-2 in cigarette smoke-exposed apoptotic endothelial cells**. Exp Lung Res. 2009 Feb;35: 59-75.

Alius C, Serban D, Bratu DG, Tribus LC, Vancea G, Stoica PL, Motofei I, Tudor C, Serboiu C, Costea DO, Serban B, Dascalu AM, Tanasescu C, Geavlete B, Cristea BM: **When Critical View of Safety Fails: A Practical Perspective on Difficult Laparoscopic Cholecystectomy**. Medicina (Kaunas). 2023 Aug 19;59(8):1491.

Almaramhy HH: **Acute appendicitis in young children less than 5 years: review article**. Ital J Pediatr. 2017 Jan 26;43(1):15.

Amini M, Pakdaman A, Shapoori S, Mosayebi G: **High Mobility Group box-1 (HMGB1) Protein As a Biomarker for Acute Cholecystitis**. Rep Biochem Mol Biol. 2019 Jan;7(2):204-209.

Andersson U, Tracey KJ: **HMGB1 in sepsis**. Scand J Infect Dis. 2003;35(9):577-84.

Andresen K, Bisgaard T, Rosenberg J: **Sliding inguinal hernia is a risk factor for recurrence**. Langenbecks Arch Surg. 2015 Jan;400(1):101-6.

Antoniou GA, Tentes IK, Antoniou SA, Simopoulos C, Lazarides MK: **Matrix metalloproteinase imbalance in inguinal hernia formation**. J Invest Surg. 2011;24: 145-150.

Antoniou SA, Antoniou GA, Granderath FA, Simopoulos C: **The role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of abdominal wall hernias**. Eur J Clin Invest. 2009 Nov;39: 953-9.

Appleby PW, Martin TA, Hope WW. **Umbilical Hernia Repair: Overview of Approaches and Review of Literature**. Surg Clin North Am., 98(3):561-576. 2018 Jun;98(3):561-576.

Argote Camacho AX, González Ramírez AR, Pérez Alonso AJ, Rejón García JD, Olivares Urbano MA, Torné Poyatos P, Ríos Arrabal S, Núñez MI: **Metalloproteinases 1 and 3 as Potential Biomarkers in Breast Cancer Development.** Int J Mol Sci. 2021 Aug 20;22(16):9012.

Arnst N, Belio-Mairal P, García-González L, Arnaud L, Greetham L, Nivet E, Rivera S, Dityatev A: **Deficiency in MT5-MMP Supports Branching of Human iPSCs-Derived Neurons and Reduces Expression of GLAST/S100 in iPSCs-Derived Astrocytes.** Cells. 2012 Jul 6;10(7):1705.

Avegno J, Carlisle M: **Evaluating the Patient with Right Upper Quadrant Abdominal Pain.** Emerg Med Clin North Am. 2016 May;34(2):211-28.

Baskaran A, Santhadevy A, Vezhavendhan N, Sivaramakrishnan M, Santhanam VL, Suganya R: **Expression of Matrix Metalloproteinase-21 in Oral Squamous Cell Carcinoma.** Cureus. 2023 Jan 27;15(1):e34256.

Bax T, Sheppard BC, Crass RA: **Surgical options in the management of groin hernias.** Am Fam Physician. 1999 Feb 15;59(4):893-906.

Baumann H, Gauldie J: **The acute phase response.** Immunol Today. 1994 Feb;15(2):74-80.

Becker C, Kharbanda A: **Acute appendicitis in pediatric patients: an evidence-based review.** Pediatr Emerg Med Pract. 2019 Sep;16(9):1-20.

Bellón JM, Bajo A, Ga-Honduvilla N, Gimeno MJ, Pascual G, Guerrero A, Buján J: **Fibroblasts from the transversalis fascia of young patients with direct inguinal hernias show constitutive MMP-2 overexpression.** Ann. Surg. 2001 Feb;233: 287-291.

Benabbas R, Hanna M, Shah J, Sinert R: **Diagnostic Accuracy of History, Physical Examination, Laboratory Tests, and Point-of-care Ultrasound for Pediatric Acute Appendicitis in the Emergency Department: A Systematic Review and Meta-analysis.** Acad Emerg Med. 2017 May;24(5):523-551.

Bhangu A, Søreide K, Di Saverio S, Assarsson JH, Drake FT: **Acute appendicitis: modern understanding of pathogenesis, diagnosis, and management.** Lancet. 2015 Sep 26;386(10000):1278-1287.

Bittner JG 4th: **Incarcerated/Strangulated Hernia: Open or Laparoscopic?** Adv Surg. 2016 Sep;50(1):67-78.

Bjørnland K, Lehne G, Johansen HT, Fodstad O, Rugstad HE, Aasen AO, Ree AH: **Human hepatoma cells rich in P-glycoprotein display enhanced in vitro invasive properties compared to P-glycoprotein-poor hepatoma cells.** Oncol Res. 1998;10(5):255-62.

Borrueal Nacenta S, Ibáñez Sanz L, Sanz Lucas R, Depetris MA, Martínez Chamorro E: **Update on acute appendicitis: Typical and untypical findings.** Radiologia (Engl Ed). 2023 Mar;65 Suppl 1:S81-S91.

Bracale U, Peltrini R, Iacone B, Martirani M, Sannino D, Gargiulo A, Corcione F, Serra R, Bracale UM: **A Systematic Review on the Role of Matrix Metalloproteinases in the Pathogenesis of Inguinal Hernias.** Biomolecules. 2023 Jul 14;13(7):1123.

Bucova M, Majernikova B, Durmanova V, Cudrakova D, Gmitterova K, Lisa I, Klimova E, Kluckova K, Buc M: **HMGB1 as a potential new marker of disease activity in patients with multiple sclerosis.** Neurol Sci. 2020 Mar;41(3):599-604.

Cai Y, Zhu W, Wang N, Yu Z, Chen Y, Xu S, Feng J: **Therapeutic Effects of the Proximal Femoral Nail for the Treatment of Unstable Intertrochanteric Fractures.** Evid Based Complement Alternat Med. 2022 Sep 2;2022:1001354.

Califf RM: **Biomarker definitions and their applications.** Exp Biol Med (Maywood). 2018 Feb;243(3):213-221.

Carnazzo V, Redi S, Basile V, Natali P, Gulli F, Equitani F, Marino M, Basile U: **Calprotectin: two sides of the same coin.** Rheumatology (Oxford). 2024 Jan 4;63(1):26-33.

Carvalho A, Lu J, Francis JD, Moore RE, Haley KP, Doster RS, Townsend SD, Johnson JG, Damo SM, Gaddy JA: **S100A12 in Digestive Diseases and Health: A Scoping Review.** Gastroenterol Res Pract. 2020 Feb 26;2020:2868373.

Cauwe B, Van Den Steen PE, Opdenakker G: **The biochemical, biological, and pathological kaleidoscope of cell surface substrates processed by matrix metalloproteinases.** Crit Rev Biochem Mol Biol. 2007 May-Jun;42: 113-185.

Chen YS, Yan W, Geczy CL, Brown MA, Thomas R: **Serum levels of soluble receptor for advanced glycation end products and of S100 proteins are associated with inflammatory, autoantibody, and classical risk markers of joint and vascular damage in rheumatoid arthritis.** Arthritis Res Ther. 2009;11(2):R39.

Chowbey PK, Pithawala M, Khullar R, Sharma A, Soni V, Baijal M: **Complications in groin hernia surgery and the way out.** J Minim Access Surg. 2006 Sep;2(3):174-7.

Chowdhury A, Brinson R, Wei B, Stetler-Stevenson WG: **Tissue Inhibitor of Metalloprotease-2 (TIMP-2): Bioprocess Development, Physicochemical, Biochemical, and Biological Characterization of Highly Expressed Recombinant Protein.** Biochemistry. 2017 Dec 12;56(49):6423-6433.

Craig VJ, Zhang L, Hagood JS, Owen CA: **Matrix metalloproteinases as therapeutic targets for idiopathic pulmonary fibrosis.** Am J Respir Cell Mol Biol. 2015 Nov;53(5):585-600.

Creagh-Brown BC, Quinlan GJ, Hector LR, Evans TW, Burke-Gaffney A: **Association between preoperative plasma sRAGE levels and recovery from cardiac surgery.** Mediators Inflamm. 2013;2013:496031.

Cuadrado E, Rosell A, Borrell-Pages M, Garcia-Bonilla L, Hernandez-Guillamon M, Ortega-Aznar A, Montaner J: **Matrix metalloproteinase-13 is activated and is found in the nucleus of neural cells after cerebral ischemia.** J Cereb Blood Flow Metab. 2009 Feb;29: 398-410.

Cui N, Hu M, Khalil RA: **Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases.** Prog Mol Biol Transl Sci. 2017;147:1-73.

Dabbas N, Adams K, Pearson K, Royle G: **Frequency of abdominal wall hernias: is classical teaching out of date?** JRSM Short Rep. 2011 Jan 19;2(1):5.

Danzig V, Míková B, Kuchynka P, Benáková H, Zima T, Kittnar O, Skrha J, Linhart A, Kalousová M: **Levels of Circulating Biomarkers at Rest and after Exercise in Coronary Artery Disease Patients.** Physiol. Res. 2010;59:385-392.

Dave HD, Shumway KR, Al Obaidi NM: **Physiology, Biliary.** 2022 Dec 15. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-.

De Souza A, Westra J, Bijzet J, Limburg PC, Stegeman CA, Bijl M, Kallenberg CG: **Is serum HMGB1 a biomarker in ANCA-associated vasculitis?** Arthritis Res Ther. 2013;15(5):R104.

Delibegović S: **Basic principles of laparoscopic appendectomy.** Med Pregl. 2012 Sep-Oct;65(9-10):383-7.

Delrue C, Delanghe JR, Speeckaert MM: **The role of sRAGE in cardiovascular diseases.** Adv Clin Chem. 2023;117:53-102.

Dewing JM, Carare RO, Lotery AJ, Ratnayaka JA: **The Diverse Roles of TIMP-3: Insights into Degenerative Diseases of the Senescent Retina and Brain.** Cells. 2019 Dec 21;9(1):39.

Di Ciaula A, Wang DQ, Portincasa P: **An update on the pathogenesis of cholesterol gallstone disease.** Curr Opin Gastroenterol. 2018 Mar;34(2):71-80.

Díez Ares JÁ, Martínez García R, Estellés Vidagany N, Peris Tomás N, Planells Roig M, Valenzuela Gras M, Ripollés González T: **Can inflammatory biomarkers help in the diagnosis and prognosis of gangrenous acute cholecystitis? A prospective study.** Rev Esp Enferm Dig. 2021 Jan;113(1):41-44.

Doherty G, Manktelow M, Skelly B, Gillespie P, Bjourson AJ, Watterson S: **The Need for Standardizing Diagnosis, Treatment and Clinical Care of Cholecystitis and Biliary Colic in Gallbladder Disease.** Medicina (Kaunas). 2022 Mar 5;58(3):388.

Domene CE, Volpe P, Heitor FA: **Three port laparoscopic appendectomy technique with low cost and aesthetic advantage.** Arq Bras Cir Dig. 2014;27 Suppl 1(Suppl 1):73-6.

D'Souza N, Nugent K: **Appendicitis.** Am Fam Physician. 2016 jan 15;93(2):142-3.

Du X, Lin BC, Wang QR, Li H, Ingalla E, Tien J, Rooney I, Ashkenazi A, Penuel E, Qing J: **MMP-1 and Pro-MMP-10 as potential urinary pharmacodynamic biomarkers of FGFR3-targeted therapy in patients with bladder cancer.** Clin Cancer Res. 2014 dec 15;20(24):6324-35.

Earle DB, McLellan JA: **Repair of umbilical and epigastric hernias.** Surg Clin North Am. 2013 Oct;93(5):1057-89.

Eichberger J, Weber F, Spanier G, Gerken M, Schreml S, Schulz D, Fiedler M, Ludwig N, Bauer RJ, Reichert TE, Ettl T: **Loss of MMP-27 Predicts Mandibular Bone Invasion in Oral Squamous Cell Carcinoma.** Cancers (Basel). 2022 Aug 22;14(16):4044.

Emektar E, Dağar S, Karaatlı RH, Uzunosmanoğlu H, Buluş H: **Determination of factors associated with perforation in patients with geriatric acute appendicitis.** Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2022 Jan;28(1):33-38.

Erusalimsky JD: **The use of the soluble receptor for advanced glycation-end products (sRAGE) as a potential biomarker of disease risk and adverse outcomes.** Redox Biol. 2021 Jun;42:101958.

Esposito C, St Peter SD, Escolino M, Juang D, Settimi A, Holcomb GW 3rd: **Laparoscopic versus open inguinal hernia repair in pediatric patients: a systematic review.** J Laparoendosc Adv Surg Tech A. 2014 Nov;24(11):811-8.

Fan W, Ankawi G, Zhang J, Digvijay K, Giavarina D, Yin Y, Ronco C: **Current understanding and future directions in the application of TIMP-2 and IGFBP7 in AKI clinical practice.** Clin Chem Lab Med. 2019 Apr 24;57(5):567-576.

Foos MJ, Hickox JR, Mansour PG, Slauterbeck JR, Hardy DM: **Expression of matrix metalloprotease and tissue inhibitor of metalloprotease genes in human anterior cruciate ligament.** J Orthop Res. 2001 Jul;19(4):642-9.

Frantz C, Stewart KM, Weaver VM: **The extracellular matrix at a glance.** J Cell Sci. 2010 Dec 15;123(Pt 24):4195-200.

Frieling JS, Li T, Tauro M, Lynch CC: **Prostate cancer-derived MMP-3 controls intrinsic cell growth and extrinsic angiogenesis.** Neoplasia. 2020 Oct;22(10):511-521.

Fu Y, Song C, Qin Y, Zheng T, Zhou X, Zhao X, Zou J, Huang B: **Clinical value of serum MMP-3 in chronic kidney disease.** Clin Chim Acta. 2024 Jan 15;553:117725.

Gall AL, Ruff M, Kannan R, Cuniasse P, Yiotakis A, Dive V, Rio MC, Basset P, Moras D: **Crystal structure of the stromelysin-3 (MMP-11) catalytic domain complexed with a phosphinic inhibitor mimicking the transition-state.** J Mol Biol. 2001 Mar 23;307(2):577-86.

Gan SD, Patel KR: **Enzyme immunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay.** J Invest Dermatol. 2013 Sep;133(9):e12.

Garrido MM, Ribeiro RM, Krüger K, Pinheiro LC, Guimarães JT, Holdenrieder S: **Relevance of Circulating Nucleosomes, HMGB1 and sRAGE for Prostate Cancer Diagnosis.** In Vivo. 2021 Jul-Aug;35(4):2207-2212.

Gill SE, Parks WC: **Metalloproteinases and their inhibitors: regulators of wound healing.** Int J Biochem Cell Biol. 2008;40: 1334-47.

Gomes CA, Sartelli M, Podda M, Di Saverio S, Coccolini F, Segovia-Lohse HA, De Simone B, Catena F: **Laparoscopic versus open approach for diffuse peritonitis from appendicitis etiology: a subgroup analysis from the Physiological parameters for Prognosis in Abdominal Sepsis (PIPAS) study.** Updates Surg. 2020 Mar;72(1):185-191.

Graffeo CS, Counselman FL: **Appendicitis**. Emerg Med Clin North Am. 1996 Nov;14(4):653-71.

Grunnet M, Mau-Sørensen M, Brünner N: **Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) as a biomarker in gastric cancer: a review**. Scand J Gastroenterol. 2013 Aug;48(8):899-905.

Grünwald B, Schoeps B, Krüger A.: **Recognizing the Molecular Multifunctionality and Interactome of TIMP-1**. Trends Cell Biol. 2019 Jan;29(1):6-19.

Gu X, Fu M, Ding Y, Ni H, Zhang W, Zhu Y, Tang X, Xiong L, Li J, Qiu L, Xu J, Zhu J: **TIMP-3 expression associates with malignant behaviors and predicts favorable survival in HCC**. PLoS One. 2014 Aug 29;9(8):e106161.

Gutt C, Schläffer S, Lammert F: **The Treatment of Gallstone Disease**. Dtsch Arztebl Int. 2020 Feb 28;117(9):148-158.

Guttman R, Goldman RD, Koren G: **Appendicitis during pregnancy**. Can Fam Physician. 2004 Mar;50:355-7.

Hamasaki MY, Barbeiro HV, De Souza HP, Machado MC, Da Silva FP: **sRAGE in septic shock: a potential biomarker of mortality**. Rev Bras Ter Intensiva. 2014 Oct-Dec;26(4):392-6.

Harissis HV, Douitsis E, Fatouros M: **Incarcerated hernia: to reduce or not to reduce?** Hernia. 2009 Jun;13(3):263-6.

Hartwig W, Büchler MW: **Acute cholecystitis: early versus delayed surgery**. Adv Surg. 2014;48:155-64.

Heath EI, Grochow LB: **Clinical potential of matrix metalloprotease inhibitors in cancer therapy**. Drugs. 2000 May;59(5):1043-55.

Henriksen NA, Yadete DH, Sorensen LT, Agren MS and Jorgensen LN: **Connective tissue alteration in abdominal wall hernia**. Br J Surg. 2011 Feb;98: 210-9.

Henriksen NA, Mortensen JH, Sorensen LT, Bay-Jensen AC, Agren MS, Jorgensen LN and Karsdal MA: **The collagen turnover profile is altered in patients with inguinal and incisional hernia.** Surgery. 2015 Feb;157(2):312-21.

Hey S, Linder S: **Matrix metalloproteinases at a glance.** J Cell Sci. 2024 Jan 15;137(2):jcs261898.

Holub M, Bartáková E, Stráníková A, Koblihová E, Arientová S, Blahutová M, Máca J, Ryska M: **Calprotectin and Calgranulin C as Biomarkers of Pancreatic Tumors: Baseline Levels and Level Changes after Surgery.** Mediators Inflamm. 2019 Sep 9;2019:6985703.

Holzheimer RG: **Inguinal Hernia: classification, diagnosis and treatment-classic, traumatic and Sportsman's hernia.** Eur J Med Res. 2005 Mar 29;10(3):121-34.

Horak P, Suhaj P, Matej R, Cervinkova M: **Potential novel markers in IBD and CRC diagnostics. Are MMP-19 and RAGE promising candidates?** Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2022 Dec;166(4):380-385.

Housset C, Chrétien Y, Debray D, Chignard N: **Functions of the Gallbladder.** Compr Physiol. 2016 Jun 13;6(3):1549-77.

Hu W, Wei R, Wang L, Lu J, Liu H, Zhang W: **Correlations of MMP-1, MMP-3, and MMP-12 with the degree of atherosclerosis, plaque stability and cardiovascular and cerebrovascular events.** Exp Ther Med. 2018 Feb;15(2):1994-1998.

Huang H: **Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a Cancer Biomarker and MMP-9 Biosensors: Recent Advances.** Sensors (Basel). 2018 Sep 27;18(10):3249.

Huth S, Huth L, Marquardt Y, Cheremkhina M, Heise R, Baron JM: **MMP-3 plays a major role in calcium pantothenate-promoted wound healing after fractional ablative laser treatment.** Lasers Med Sci. 2022 Mar;37(2):887-894.

Ibrahim M, Sarvepalli S, Morris-Stiff G, Rizk M, Bhatt A, Walsh RM, Hayat U, Garber A, Vargo J, Burke CA: **Gallstones: Watch and wait, or intervene?** Cleve Clin J Med. 2018 Apr;85(4):323-331.

Illman SA, Lohi J, Keski-Oja J: **Epilysin (MMP-28)–structure, expression and potential functions.** Exp Dermatol. 2008 Nov;17(11):897-907.

Isik A, Gursul C, Peker K, Aydin M, Firat D, Yilmaz I: **Metalloproteinases and Their Inhibitors in Patients with Inguinal Hernia.** World J Surg. 2017 May;41(5):1259-1266.

Ivanovic RF, Viana NI, Morais DR, Moura C, Silva IA, Leite KR, Pontes-Junior J, Nahas WC, Srougi M, Reis ST: **miR-618: possible control over TIMP-1 and its expression in localized prostate cancer.** BMC Cancer. 2018 Oct 19;18(1):992.

Jabłońska-Trypuć A, Matejczyk M, Rosochacki S: **Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs.** J Enzyme Inhib Med Chem. 2016;31(sup1):177-183.

Jawa RS, Anillo S, Huntoon K, Baumann H, Kulaylat M: **Analytic review: Interleukin-6 in surgery, trauma, and critical care: part I: basic science.** J Intensive Care Med. 2011 Jan-Feb;26(1):3-12.

Jawa RS, Anillo S, Huntoon K, Baumann H, Kulaylat M: **Interleukin-6 in surgery, trauma, and critical care part II: clinical implications.** J Intensive Care Med. 2011 Mar-Apr;26(2):73-87.

Jiang L, Shao Y, Tian Y, Ouyang C, Wang X: **Nuclear Alarmin Cytokines in Inflammation.** J Immunol Res. 2020 Dec 4;2020:7206451.

Jiang ZP, Yang B, Wen LQ, Zhang YC, Lai DM, Li YR, Chen S: **The etiology of indirect inguinal hernia in adults: congenital or acquired?** Hernia. 2015 Oct;19(5): 697-701.

Jin DY, Liu CL, Tang JN, Zhu ZZ, Xuan XX, Zhu XD, Wang YZ, Zhang TX, Shen DL, Wang XF, Shi GP, Zhang JY: **Interleukin-18, matrix metalloproteinase-22 and -29 are**

independent risk factors of human coronary heart disease. J Zhejiang Univ Sci B. 2017 Aug;18(8):685-695.

Jones MW, Small K, Kashyap S, Deppen JG: **Physiology, Gallbladder.** 2023 May 1. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-.

Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE: **Calprotectin: from biomarker to biological function.** Gut. 2021 Oct;70(10):1978-1988.

Kadeh H, Saravani S, Heydari F, Keikha M, Rigi V: **Expression of Matrix Metalloproteinase-10 at Invasive Front of Squamous Cell Carcinoma and Verrucous Carcinoma in the Oral Cavity.** Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(15):6609-13.

Kaitu'u-Lino TJ, Palmer K, Tuohey L, Ye L, Tong S: **MMP-15 is upregulated in preeclampsia, but does not cleave endoglin to produce soluble endoglin.** PLoS One. 2012;7(6):e39864.

Kalousová M, Hodková M, Kazderová M, Fialová J, Tesar V, Dusilová-Sulková S, Zima T: **Soluble receptor for advanced glycation end products in patients with decreased renal function.** Am J Kidney Dis. 2006 Mar;47(3):406-11.

Kalousová M, Zima T, Tesar V, Dusilová-Sulková S, Skrha J: **Advanced glycoxidation end products in chronic diseases – clinical chemistry and genetic background.** Mutat Res. 2005 Nov 11;579(1-2):37-46.

Karamanos NK, Theocharis AD, Piperigkou Z, Manou D, Passi A, Skandalis SS, Vynios DH, Orian-Rousseau V, Ricard-Blum S, Schmelzer CEH, Duca L, Durbeej M, Afratis NA, Troeberg L, Franchi M, Masola V, Onisto M: **A guide to the composition and functions of the extracellular matrix.** FEBS J. 2021 Dec;288(24):6850-6912.

Khaki-Khatibi F, Qujeq D, Kashifard M, Moein S, Maniati M, Vaghari-Tabari M: **Calprotectin in inflammatory bowel disease.** Clin Chim Acta. 2020 Nov;510:556-565.

Klinge U, Zheng H, Si Z, Schumpelick V, Bhardwaj RS, Muys L, Klosterhalfen B: **Expression of the extracellular matrix proteins collagen I, collagen III and fibronectin and matrix**

metalloproteinase-1 and -13 in the skin of patients with inguinal hernia. Eur Surg Res. 1999;31(6):480-90.

Korzeń D, Sierka O, Dąbek J: **Transcriptional Activity of Metalloproteinase 9 (MMP-9) and Tissue Metalloproteinase 1 (TIMP-1) Genes as a Diagnostic and Prognostic Marker of Heart Failure Due to Ischemic Heart Disease.** Biomedicines. 2023 Oct 13;11(10):2776.

Kotsiou OS, Papagiannis D, Papadopoulou R, Gourgoulisanis KI: **Calprotectin in Lung Diseases.** Int J Mol Sci. 2021 Feb 8;22(4):1706.

Kudelski J, Młynarczyk G, Darewicz B, Bruczko-Goralewska M, Romanowicz L: **Dominative role of MMP-14 over MMP-15 in human urinary bladder carcinoma on the basis of its enhanced specific activity.** Medicine (Baltimore). 2020 Feb;99(7):e19224.

Kwan JA, Schulze CJ, Wang W, Leon H, Sariahmetoglu M, Sung M, Sawicka J, Sims DE, Sawicki G, Schulz R: **Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) is present in the nucleus of cardiac myocytes and is capable of cleaving poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) in vitro.** FASEB J. 2004 Apr;18(6):690-2.

Lam R, Zakko A, Petrov JC, Kumar P, Duffy AJ, Muniraj T: **Gallbladder Disorders: A Comprehensive Review.** Dis Mon. 2021 Jul;67(7):101130.

Laronha H, Caldeira J: **Structure and Function of Human Matrix Metalloproteinases.** Cells. 2020 Apr 26;9(5):1076.

Larsen NK, Reilly MJ, Thankam FG, Fitzgibbons RJ, Agrawal DK: **Novel understanding of high mobility group box-1 in the immunopathogenesis of incisional hernias.** Expert Rev Clin Immunol. 2019 Jul;15(7):791-800.

LeBlanc KE, LeBlanc LL, LeBlanc KA: **Inguinal hernias: diagnosis and management.** Am Fam Physician. 2013 Jun 15;87(12):844-8.

Lee MH, Murphy G: **Matrix metalloproteinases at a glance.** J Cell Sci. 2004 Aug 15;117(Pt18):4015-6.

Li J, Zhang X, Sun Q, Li W, Yu A, Fu H, Chen K: **Circulating matrix metalloproteinases and procollagen propeptides in inguinal hernia.** *Hernia*. 2018 Jun;22(3):541-547.

Li S, Ren S, Long L, Zhao H, Shen L: **Evaluation of the Efficiency of TIMP-2 as a Biomarker for Acute Kidney Injury in Sepsis.** *Bull Exp Biol Med*. 2023 Apr;174(6):790-796.

Li Y, Xu C, Zhu R, Shen L, Hu G, Tao K, Tao F, Lu Z, Zhang G: **TIMP-2 as a predictive biomarker in 5-Fu-resistant colorectal cancer.** *J Cancer Res Clin Oncol*. 2023 Aug;149(10):7235-7246.

Liang MK, Holihan JL, Itani K, Alawadi ZM, Gonzalez JR, Askenasy EP, Ballecer C, Chong HS, Goldblatt MI, Greenberg JA, Harvin JA, Keith JN, Martindale RG, Orenstein S, Richmond B, Roth JS, Szotek P, Towfigh S, Tsuda S, Vaziri K, Berger DH: **Ventral Hernia Management: Expert Consensus Guided by Systematic Review.** *Ann Surg*. 2017 Jan;265(1):80-89.

Liao HY, Da CM, Liao B, Zhang HH: **Roles of matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) in cancer.** *Clin Biochem*. 2021 Jun;92:9-18.

Limb GA, Matter K, Murphy G, Cambrey AD, Bishop PN, Morris GE, Khaw PT: **Matrix Metalloproteinase-1 Associates with Intracellular Organelles and Confers Resistance to Lamin A/C Degradation during Apoptosis.** *Am J Pathol*. 2005 May;166(5):1555-63.

Lindmark M, Strigård K, Löwenmark T, Dahlstrand U, Gunnarsson U: **Risk Factors for Surgical Complications in Ventral Hernia Repair.** *World J Surg*. 2018 Nov;42(11):3528-3536.

Liu L, Ye Y, Zhu X: **MMP-9 secreted by tumor associated macrophages promoted gastric cancer metastasis through a PI3K/AKT/Snail pathway.** *Biomed Pharmacother*. 2019 Sep;117:109096.

Liu T, Li Q, Jin Q, Yang L, Mao H, Qu P, Guo J, Zhang B, Ma F, Wang Y, Peng L, Li P, Zhan Y: **Targeting HMGB1: A Potential Therapeutic Strategy for Chronic Kidney Disease.** *Int J Biol Sci*. 2023 Sep 25;9(15):5020-5035.

Liu T, Son M, Diamond B: **HMGB1 in Systemic Lupus Erythematosus**. Front Immunol. 2020 May 27;11:1057.

Liu Z, Kemp TJ, Gao YT, Corbel A, McGee EE, Wang B, Shen MC, Rashid A, Hsing AW, Hildesheim A, Pfeiffer RM, Pinto LA, Koshiol J: **Association of circulating inflammation proteins and gallstone disease**. J Gastroenterol Hepatol. 2018 Nov;33(11):1920-1924.

Lizarraga F, Espinosa M, Ceballos-Cancino G, Vazquez-Santillan K, Bahena-Ocampo I, Schwarz-Cruz Y Celis A, Vega-Gordillo M, Garcia Lopez P, Maldonado V, Melendez-Zajgla J: **Tissue inhibitor of metalloproteinases-4 (TIMP-4) regulates stemness in cervical cancer cells**. Mol Carcinog. 2016 Dec;55(12):1952-1961.

Loo WT, Sasano H, Chow LW: **Pro-inflammatory cytokine, matrix metalloproteinases and TIMP-1 are involved in wound healing after mastectomy in invasive breast cancer patients**. Biomed Pharmacother. 2007 Oct;61(9):548-52.

Lu Y, Papagerakis P, Yamakoshi Y, Hu JC, Bartlett JD, Simmer JP: **Functions of KLK4 and MMP-20 in dental enamel formation**. Biol Chem. 2008 Jun;389(6):695-700.

Luchian I, Goriuc A, Sandu D, Covasa M: **The Role of Matrix Metalloproteinases (MMP-8, MMP-9, MMP-13) in Periodontal and Peri-Implant Pathological Processes**. Int J Mol Sci. 2022 Feb 4;23(3):1806.

Luo D, Mari B, Stoll I, Anglard P: **Alternative splicing and promoter usage generates an intracellular stromelysin 3 isoform directly translated as an active matrix metalloproteinase**. J Biol Chem. 2002 Jul 12;277(28): 25527-36.

Martinez-Aguilar E, Gomez-Rodriguez V, Orbe J, Rodriguez JA, Fernández-Alonso L, Roncal C, Páramo JA: **Matrix metalloproteinase 10 is associated with disease severity and mortality in patients with peripheral arterial disease**. J Vasc Surg. 2015 Feb;61(2):428-35.

Messias BA, Nicastro RG, Mocchetti ER, Waisberg J, Roll S, Junior MAFR: **Lichtenstein technique for inguinal hernia repair: ten recommendations to optimize surgical outcomes.** Hernia. 2024 Aug;28(4):1467-1476.

Moogk D, da Silva IP, Ma MW, Friedman EB, de Miera EV, Darvishian F, Scanlon P, Perez-Garcia A, Pavlick AC, Bhardwaj N, Christos PJ, Osman I, Krogsgaard M: **Melanoma expression of matrix metalloproteinase-23 is associated with blunted tumor immunity and poor responses to immunotherapy.** J Transl Med. 2014 Dec 10;12:342.

Moser B, Bekos C, Zimprich F, Nickl S, Klepetko W, Ankersmit J: **The receptor for advanced glycation endproducts and its ligands in patients with myasthenia gravis.** Biochem Biophys Res Commun. 2012 Mar 30;420(1):96-101.

Muñoz-Sáez E, Moracho N, Learte AIR, Collignon A, Arroyo AG, Noel A, Sounni NE, Sánchez-Camacho C: **Molecular Mechanisms Driven by MT4-MMP in Cancer Progression.** Int J Mol Sci. 2023 Jun 9;24(12):9944.

Murphy G, Nagase H: **Progress in matrix metalloproteinase research.** Mol Aspects Med. 2008 Oct;29(5):290-308.

Nagase H, Visse R, Murphy G: **Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs.** Cardiovasc Res. 2006 Feb 15;69(3):562-73.

Natarajan PM, Ganesan A, Varma SR, Shetty NY: **Delving into Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) and its Significance in Periodontal Diseases.** J Pharm Bioallied Sci. 2024 Apr;16(Suppl 2):S1080-S1083.

Nordgaard C, Doll S, Matos ALSA, Høeberg M, Kazi JU, Friis S, Stenvang J, Rønnstrand L, Mann M, Manuel Afonso Moreira J: **Metallopeptidase inhibitor 1 (TIMP-1) promotes receptor tyrosine kinase c-Kit signaling in colorectal cancer.** Mol Oncol. 2019 Dec;13(12):2646-2662.

Ometto F, Friso L, Astorri D, Botsios C, Raffener B, Punzi L, Doria A: **Calprotectin in rheumatic diseases.** Exp Biol Med (Maywood). 2017 Apr;242(8):859-873.

Park HR, Park SB, Lee ES, Park HJ: **Sonographic evaluation of inguinal lesions.** Clin Imaging. 2016 Sep-Oct;40(5):949-55.

Parks WC, Shapiro SD: **Matrix metalloproteinases in lung biology.** Respir Res. 2001;2(1):10-9.

Peeters E, De Hertogh G, Junge K, Klinge U, Miserez M: **Skin as marker for collagen type I/III ratio in abdominal wall fascia.** Hernia. 2014 Aug;18(4):519-25.

Pilzweiger C, Holdenrieder S: **Circulating HMGB1 and RAGE as clinical biomarkers in malignant and autoimmune diseases.** Diagnostics (Basel). 2015 Jun 16;5(2):219-53.

Piskór BM, Przyłipiak A, Dąbrowska E, Sidorkiewicz I, Niczyporuk M, Szmitkowski M, Ławicki S: **Plasma Concentrations of Matrilysins MMP-7 and MMP-26 as Diagnostic Biomarkers in Breast Cancer.** J Clin Med. 2021 Apr 1;10(7):1436.

Pittayapruek P, Meephanan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M: **Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis.** Int J Mol Sci. 2016 Jun 2;17(6):868.

Ramanan B, Maloley BJ, Fitzgibbons RJ, Jr.: **Inguinal hernia: follow or repair?** Adv Surg. 2014;48:1-11.

Ran Z, Hou L, Guo H, Wang K, Li X: **Expression of VEGF, COX-2 and MMP-9 in breast cancer and their relationship with ultrasound findings.** Int J Clin Exp Pathol. 2018 Sep 1;11(9):4264-4269.

Ries C: **Cytokine functions of TIMP-1.** Cell Mol Life Sci. 2014 Feb;71(4):659-72.

Rifai AO, Rembetski EM, Stutts LC, Mazurek ZD, Yeh JL, Rifai K, Bear RA, Maquiera AJ, Rydell D: **Retrospective analysis of operative time and time to discharge for laparoscopic**

vs robotic approaches to appendectomy and cholecystectomy. J Robot Surg. 2023 Oct;17(5):2187-2193.

Rorive S, Lopez XM, Maris C, Trepant AL, Sauvage S, Sadeghi N, Roland I, Decaestecker C, Salmon I: **TIMP-4 and CD63: new prognostic biomarkers in human astrocytomas.** Mod Pathol. 2010 Oct;23(10):1418-28.

Rosch R, Klinge U, Si Z, Junge K, Klosterhalfen B, Schumpelick V: **A role for the collagen I/III and MMP-1/-13 genes in primary inguinal hernia?** BMC Med Genet. 2002;3:2.

Rosenberg GA: **Matrix metalloproteinases and their multiple roles in neurodegenerative diseases.** Lancet Neurol. 2009 Feb;8(2):205-16.

Roy R, Yang J, Moses MA: **Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer.** J Clin Oncol. 2009 Nov 1;27(31):5287-97.

Ruan P, Gu Y, Zhou H, Zhang W, Wang D, Liang J, Li C: **Expression and clinical significance of CD74 and MMP-9 in colon adenocarcinomas.** J BUON. 2020 Mar-Apr;25(2):927-932.

Sa Y, Li C, Li H, Guo H: **TIMP-1 Induces α -Smooth Muscle Actin in Fibroblasts to Promote Urethral Scar Formation.** Cell Physiol Biochem. 2015;35(6):2233-43.

Sawada H, Daugherty A, Lu HS: **Divergent Roles of Matrix Metalloproteinase 12 in Abdominal Aortic Aneurysms.** Circ Res. 2023 Feb 17;132(4):449-451.

Scheau C, Badarau IA, Costache R, Caruntu C, Mihai GL, Didilescu AC, Constantin C, Neagu M: **The Role of Matrix Metalloproteinases in the Epithelial-Mesenchymal Transition of Hepatocellular Carcinoma.** Anal Cell Pathol (Amst). 2019 Nov 26;2019:9423907.

Scheuermann U, Niebisch S, Lyros O, Jansen-Winkel B, Gockel I: **Transabdominal Preperitoneal (TAPP) versus Lichtenstein operation for primary inguinal hernia repair - A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.** BMC Surg. 2017 May 10;17(1):55.

Sejersen K, Havelka A, Sanchez Salaz P, Larsson A: **Early kinetics of calprotectin in plasma following inguinal hernia surgery.** *Innate Immun.* 2022 Jan;28(1):49-54.

Seshadri A, Peitzman AB: **The difficult cholecystectomy: What you need to know.** *J Trauma Acute Care Surg.* 2024 Sep 1;97(3):325-336.

Shakil A, Aparicio K, Barta E, Munez K: **Inguinal Hernias: Diagnosis and Management.** *Am Fam Physician.* 2020 Oct 15;102(8):487-492.

Sheppard M, Laskou F, Stapleton PP, Hadavi S, Dasgupta B: **Tocilizumab (Actemra).** *Hum Vaccin Immunother.* 2017 Sep 2;13(9):1972-1988.

Shiihara M, Sudo Y, Matsushita N, Kubota T, Hibi Y, Osugi H, Inoue T: **Therapeutic strategy for acute appendicitis based on laparoscopic surgery.** *BMC Surg.* 2023 Jun 13; 23(1):161.

Sigley K, Russo T, Welch S: **Umbilical Hernia Containing Appendicitis.** *Cureus.* 2020 May 12;12(5):e8075.

Sims NA: **Influences of the IL-6 cytokine family on bone structure and function.** *Cytokine.* 2021 Oct;146:155655.

Sista F, Schietroma M, Santis GD, Mattei A, Cecilia EM, Piccione F, Leardi S, Carlei F, Amicucci G: **Systemic inflammation and immune response after laparotomy vs laparoscopy in patients with acute cholecystitis, complicated by peritonitis.** *World J Gastrointest Surg.* 2013 Apr 27;5(4):73-82.

Skendelas JP, Alemany VS, Au V, Rao D, McNelis J, Kim PK: **Appendiceal adenocarcinoma found by surgery for acute appendicitis is associated with older age.** *BMC Surg.* 2021 May 2;21(1):228.

Skrha J JR, Kalousova M, Svarcova J, Muravská A, Kvasnička J, Landová L, Zima T, Skrha J: **Relationship of soluble RAGE and RAGE ligands HMGB 1 and EN-RAGE to endothelial dysfunction in type 1 and type 2 diabetes mellitus.** *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2012 May;120(5):277-81.

Smigielski J, Brocki M, Kuzdak K, Kołomecki K: **Serum MMP 2 and TIMP 2 in patients with inguinal hernias.** Eur J Clin Invest. 2011 Jun;41:584-8.

Smigielski J, Kołomecki K, Ziemniak P, Drozda R, Amsolik M, Kuzdak K: **Degradation of collagen by metalloproteinase 2 in patients with abdominal hernias.** Eur Surg Res. 2009;42(2):118-21.

Snyder MJ, Guthrie M, Cagle S: **Acute Appendicitis: Efficient Diagnosis and Management.** Am Fam Physician. 2018 Jul 1;98(1):25-33.

Soria-Valles C, Gutiérrez-Fernández A, Osorio FG, Carrero D, Ferrando AA, Colado E, Fernández-García MS, Bonzon-Kulichenko E, Vázquez J, Fueyo A, López-Otín C: **MMP-25 Metalloprotease Regulates Innate Immune Response through NF- κ B Signaling.** J Immunol. 2016 Jul 1;197(1):296-302.

Stetler-Stevenson WG, Seo DW: **TIMP-2: an endogenous inhibitor of angiogenesis.** Trends Mol Med. 2005 Mar;11(3):97-103.

Stoetzer OJ, Fersching DMI, Salat C, Steinkohl O, Gabka CJ, Hamann U, Braun M, Feller AM, Heinemann V, Siegele B, Nagel D, Holdenrieder S: **Circulating immunogenetic cell death biomarkers HMGB1 and RAGE in breast cancer patients during neoadjuvant chemotherapy.** Tumour Biol. 2013 Feb;34(1):81-90.

Strohalmová S, Levová K, Kuběna AA, Krška Z, Hoskovec D, Zima T, Kalousová M: **The effect of surgery on the levels of matrix metalloproteinases in patients with inguinal hernia.** Physiol Res. 2021 Aug 31;70(4):627-634.

Strohalmová S, Levová K, Kuběna AA, Hoskovec D, Krška Z, Zima T, Kalousová M: **Alarmins and Related Molecules in Elective Surgery.** Folia Biol (Praha). 2023;69(2):50-58.

Stylianides N, Slade DA: **Abdominal wall reconstruction.** Br J Hosp Med (Lond). 2016 Mar;77(3):151-6.

Sun Q, Weber CR, Sohail A, Bernardo MM, Toth M, Zhao H, Turner JR, Fridman R: **MMP25 (MT6-MMP) is highly expressed in human colon cancer, promotes tumor growth, and exhibits unique biochemical properties.** J Biol Chem. 2007 Jul 27;282(30):21998-2010.

Tabur S, Korkmaz H, Özkaya M, Elboğa U, Tarakçıoglu M, Aksoy N, Akarsu E: **Serum calprotectin: a new potential biomarker for thyroid papillary carcinoma.** Tumour Biol. 2015 Sep;36(10):7549-56.

Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T: **IL-6 in inflammation, immunity, and disease.** Cold Spring Harb Perspect Biol. 2014 Sep 4;6(10):a016295.

Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T: **Interleukin (IL-6) Immunotherapy.** Cold Spring Harb Perspect Biol. 2018 Aug 1;10(8):a028456.

Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, Lotze MT: **PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and immunity.** Immunol Rev. 2012 Sep;249(1):158-75.

Tavakoli F, Jahanban-Esfahlan R, Seidi K, Jabbari M, Behzadi R, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Zarghami N: **Effects of nano-encapsulated curcumin-chrysin on telomerase, MMPs and TIMPs gene expression in mouse B16F10 melanoma tumour model.** Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2018;46(sup2):75-86.

Téoule P, Laffolie J, Rolle U, Reissfelder C: **Acute Appendicitis in Childhood and Adulthood.** Dtsch Arztebl Int. 2020 Nov 6;117(45):764-774.

Tesarová P, Kalousová M, Zima T, Tesar V: **HMGB1, S100 proteins and other RAGE ligands in cancer – markers, mediators and putative therapeutic targets.** Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2016 Mar;160(1):1-10.

Tesarová P, Kalousová M, Jáchymová M, Mestek O, Petruzelka L, Zima T: **Receptor for advanced glycation end products (RAGE) – soluble form (sRAGE) and gene polymorphisms in patients with breast cancer.** Cancer Invest. 2007 Dec;25(8):720-5.

Topuz MF, Binnetoglu A, Yumusakhuylu AC, Sari M, Baglam T, Gerin F: **Circulating calprotectin as a biomarker of laryngeal carcinoma.** Eur Arch Otorhinolaryngol. 2017 Jun;274(6):2499-2504.

Troullioud Lucas AG, Bamarni S, Panda SK, Mendez MD: **Pediatric Umbilical Hernia.** 2023 Nov 18. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan—.

Van Doren SR: **MMP-7 marks severe pancreatic cancer and alters tumor cell signaling by proteolytic release of ectodomains.** Biochem Soc Trans. 2022 Apr 29;50(2):839-851.

Veeravalli KK: **Implications of MMP-12 in the pathophysiology of ischaemic stroke.** Stroke Vasc Neurol. 2024 Apr 30;9(2):97-107.

Veiziant J, Slim K: **Laparoscopic appendectomy.** J Visc Surg. 2014 Jun;151(3):223-8.

Visser BC, Parks RW, Garden OJ: **Open cholecystectomy in the laparoendoscopic era.** Am J Surg. 2008 Jan;195(1):108-14.

Volpin G, Cohen M, Assaf M, Meir T, Katz R, Pollack S: **Cytokine Levels (IL-4, IL-6, IL-8 and TGFβ) as potential biomarkers of systemic inflammatory response in trauma patients.** Int Orthop. 2014 Jun;38(6):1303-9.

Vos MC, van der Wurff AAM, van Kuppevelt TH, Massuger LFAG: **The role of MMP-14 in ovarian cancer: a systematic review.** J Ovarian Res. 2021 Aug 3;14(1):101.

Wagner M, Tubre DJ, Asensio JA: **Evolution and Current Trends in the Management of Acute Appendicitis.** Surg Clin North Am. 2018 Oct;98(5):1005-1023.

Wake BL, McCormack K, Fraser C, Vale L, Perez J, Grant AM: **Transabdominal pre-peritoneal (TAPP) vs totally extraperitoneal (TEP) laparoscopic techniques for inguinal hernia repair.** Cochrane Database Syst Rev. 2005 Jan 25;2005(1):CD004703.

Waleh NS, Murphy BJ, Zaveri NT: **Increase in tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) levels and inhibition of MMP-2 activity in a metastatic breast cancer cell line by an anti-invasive small molecule SR13179.** Cancer Lett. 2010 Mar 1;289(1):111-8.

Walter K: **Acute Appendicitis.** JAMA. 2021 Dec 14;326(22):2339.

Wang D, Han Y, Xu X, Chen J, Chen Y: **Matrix Metalloproteinases (MMP-2) and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMP-2) in Patients with Inguinal Hernias.** World J Surg. 2020 Nov;44(11):3679-3686.

Wang X, Sun Z, Tian W, Piao C, Xie X, Zang J, Peng S, Yu X, Wang Y: **S100A12 is a promising biomarker in papillary thyroid cancer.** Sci Rep. 2020 Feb 3;10(1):1724.

Warchałowski Ł, Łuszczki E, Bartosiewicz A, Dereń K, Warchałowska M, Oleksy Ł, Stolarczyk A, Podlasek R: **The Analysis of Risk Factors in the Conversion from Laparoscopic to Open Cholecystectomy.** Int J Environ Res Public Health. 2020 Oct 18;17(20):7571.

Weledji EP, Mokake M, Ngowe MN: **A Rare Presentation of Maydl's Hernia.** Case Rep Surg. 2014;2014:184873.

Wen T, Wang H, Li Y, Lin Y, Zhao S, Liu J, Chen B: **Bone mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles promote the repair of intervertebral disc degeneration by transferring microRNA-199a.** Cell Cycle. 2021 Feb;20(3):256-270.

Witarto BS, Visuddho V, Witarto AP, Sampurna MTA, Irzaldy A: **Performance of fecal S100A12 as a novel non-invasive diagnostic biomarker for pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis.** J Pediatr (Rio J). 2023 Sep-Oct;99(5):432-442.

Wu R, Liu Y, Yan R, Liu X, Duan L: **Assessment of EN-RAGE, sRAGE and EN-RAGE/sRAGE as potential biomarkers in patients with autoimmune hepatitis.** J Transl Med. 2020 Oct 9;18(1):384.

Würtz SO, Schrohl AS, Mouridsen H, Brünner N: **TIMP-1 as a tumor marker in breast cancer—an update.** Acta Oncol. 2008;47(4):580-90.

Xia P, Ji X, Yan L, Lian S, Chen Z, Luo Y: **Roles of S100A8, S100A9 and S100A12 in infection, inflammation and immunity.** Immunology. 2024 Mar;171(3):365-376.

Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K: **Kinetics, role and therapeutic implications of endogenous soluble form of receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in diabetes.** Curr Drug Targets. 2007 Oct;8(10):1138-43.

Yang D, Han Z, Oppenheim JJ: **Alarmins and immunity.** Immunol Rev. 2017 Nov;280(1):41-56.

Yumen AV, Wright AK, Moses HP, Douthit NT: **Richter's Hernia Unveiled: The Danger of High Pain Tolerance and Lack of Systemic Symptoms.** Cureus. 2024 Sep 22;16(9):e69943.

Zacharzewska-Gondek A, Szczurowska A, Guziński M, Sasiadek M, Bladowska J: **A pictorial essay of the most atypical variants of the vermiform appendix position in computed tomography with their possible clinical implications.** Pol J Radiol. 2019 Jan 4;84:e1-e8.

Zakiyanov O, Kalousová M, Kříha V, Zima T, Tesař V: **Serum S100A12 (EN-RAGE) levels in patients with decreased renal function and subclinical inflammatory disease.** Kidney Blood Press Res. 2011;34(6):457-64.

Zakiyanov O, Kalousová M, Zima T, Tesař V: **Matrix Metalloproteinases in Renal Diseases: A Critical Appraisal.** Kidney Blood Press Res. 2019;44(3):298-330.

Zeng Y, Gao M, Lin D, Du G, Cai Y: **Prognostic and Immunological Roles of MMP-9 in Pan-Cancer.** Biomed Res Int. 2022 Feb 7;2022:2592962.

Zhang G, Miyake M, Lawton A, Goodison S, Rosser CJ: **Matrix metalloproteinase-10 promotes tumor progression through regulation of angiogenic and apoptotic pathways in cervical tumors.** BMC Cancer. 2014 May 3;14:310.

Zhang G, Luo X, Wang Z, Xu J, Zhang W, Chen E, Meng Q, Wang D, Huang X, Zhou W, Song Z: **TIMP-2 regulates 5-Fu resistance via the ERK/MAPK signaling pathway in colorectal cancer.** Aging (Albany NY). 2022 Jan 12;14(1):297-315.

Zhang H, Zhao B, Zhai ZG, Zheng JD, Wang YK, Zhao YY: **Expression and clinical significance of MMP-9 and P53 in lung cancer.** Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2021 Feb;25(3):1358-1365.

Zhang WL, Chen YF, Meng HZ, Du JJ, Luan GN, Wang HQ, Yang MW, Luo ZJ: **Role of miR-155 in the regulation of MMP-16 expression in intervertebral disc degeneration.** J Orthop Res. 2017 Jun;35(6):1323-1334.

Zöller B, Ji J, Sundquist J, Sundquist K: **Shared and nonshared familial susceptibility to surgically treated inguinal hernia, femoral hernia, incisional hernia, epigastric hernia, and umbilical hernia.** J Am Coll Surg. 2013 Aug;217(2):289-99.e1.

Seznam publikací autora

Publikace, které jsou podkladem disertační práce

Strohalmová S, Levová K, Kuběna AA, Krška Z, Hoskovec D, Zima T, Kalousová M. The effect of surgery on the levels of matrix metalloproteinases in patients with inguinal hernia. *Physiol Res*. 2021 Aug 31;70(4):627-634. doi: 10.33549/physiolres.934625. Epub 2021 Jun 1. PMID: 34062071; PMCID: PMC8820539.

IF 2,14 (2021) Q4

Strohalmová S, Levová K, Kuběna AA, Hoskovec D, Krška Z, Zima T, Kalousová M. Alarmins and Related Molecules in Elective Surgery. *Folia Biol (Praha)*. 2023;69(2):50-58. doi: 10.14712/fb2023069020050. PMID: 38063001.

IF 1,1 (2023) Q3

Publikace, které nejsou podkladem disertační práce

Hoskovec D, Krška Z, Pudlač A, Lochman M, **Strohalmová S**, Bocán A, Koželský P, Dytrych P. Natural History from Appendiceal Mucocele to Jelly Belly. *Diagnostics (Basel)*. 2024 Nov 12;14(22):2532. doi: 10.3390/diagnostics14222532. PMID: 39594198; PMCID: PMC11592960.

IF 3,0 (2023) Q1

Přílohy

Strohalmová S, Levová K, Kuběna AA, Krška Z, Hoskovec D, Zima T, Kalousová M. The effect of surgery on the levels of matrix metalloproteinases in patients with inguinal hernia. *Physiol Res*. 2021 Aug 31;70(4):627-634. doi: 10.33549/physiolres.934625. Epub 2021 Jun 1. PMID: 34062071; PMCID: PMC8820539.

Strohalmová S, Levová K, Kuběna AA, Hoskovec D, Krška Z, Zima T, Kalousová M. Alarmins and Related Molecules in Elective Surgery. *Folia Biol (Praha)*. 2023;69(2):50-58. doi: 10.14712/fb2023069020050. PMID: 38063001.