

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta



Studijní program: Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: Zdravotnická technika a informatika

Bc. Jan Zeman

Biologické účinky rázových vln generovaných mnohokanálovým výbojem (Diplomová práce)

Biological effects of shock waves generated by multichannel discharge

Vedoucí závěrečné práce: **Prof. MUDr., RNDr. Jiří Beneš CSc.**

Praha 2011

Poděkování:

Chtěl bych poděkovat vedoucímu své diplomové práce Prof. MUDr., RNDr. Jiřímu Benešovi, CSc. za odborné vedení a za čas, který mi věnoval při konzultacích a řešení problémů. Dále bych chtěl poděkovat doc. RNDr. Pavle Poučkové, CSc. a RNDr. Marii Zadinové z oddělení experimentální radiobiologie Ústavu biofyziky a informatiky za pomoc s experimenty. A v neposlední řadě patří můj dík doc. Ing. Pavlu Šunkovi, CSc. z Ústavu fyziky plazmatu za konzultaci technických stránek práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby tato závěrečná práce byla archivována v Ústavu vědeckých informací 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a zde užívána ke studijním účelům. Za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou přednáškovou nebo publikační aktivitu, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat. Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v Digitálním repozitáři Univerzity Karlovy v Praze (<http://repozitar.cuni.cz>). Práce je zpřístupněna pouze v rámci Univerzity Karlovy v Praze.

V Praze dne:

Bc. Jan Zeman

.....

Abstrakt:

Rázové vlny se obecně vyznačují prudkou změnou tlaku, která způsobí následné změny vlastností prostředí, ve kterém se šíří. V lékařských aplikacích se jedná o akustickou rázovou vlnu, která se již více jak 25 let využívá k léčbě konkrementů. Tento úspěch vedl samozřejmě k úvahám o možnosti využít rázovou vlnu i v jiných oblastech medicíny. Jedním z hlavních směrů, kterým se výzkum ubírá, je možnost poškození nádorové tkáně. Nádorová tkáň se, na rozdíl od konkrementu, svými akustickými vlastnostmi od okolní tkáně téměř neliší, proto se běžné litotryptory k této aplikaci příliš nehodí. Proto byl vyvinut nový zdroj rázových vln založený na principu mnohokanálového výboje na kompozitní anodě. V experimentech byl prokázován účinek nového zdroje na akusticky homogenní tkáň stehenního svalu králíka v hloubce *in vivo*. Dále bylo sledováno poškození nádorové tkáně *in vivo* na potkanech. A nakonec poškození nádorové tkáně *in vivo* na potkanech v kombinaci a Photosanem a cisplatinou. Bylo zjištěno, že nový zdroj rázových vln je schopen způsobit poškození akusticky homogenní tkáně *in vivo* v hloubce. Také dokáže poškodit nádorovou tkáň, způsobit inhibici růstu nádoru a v kombinaci s Photosanem a cisplatinou se inhibiční efekt ještě zvětšuje.

Klíčová slova:

Rázové vlny, kavitace, poškození tkáně, lithotripse, mnohokanálový výboj, růst nádoru

Identifikační záznam:

ZEMAN, Jan. *Biologické účinky rázových vln generovaných mnohokanálovým výbojem [Biological effects of shock waves generated by multichannel discharge]*. Praha, 2011. 76 s. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav biofyziky a informatiky 1. LF UK. Vedoucí bakalářské práce Jiří Beneš.

Abstract:

Shock waves are generally characterized by a sharp change of the pressure, which causes subsequent changes in properties of the surrounding in which it spreads. In medical applications, it is an acoustic shock wave which is used for the treatment of concrements for more than 25 years. This success naturally led to considerations about the possibility of using shock waves in other areas of medicine. One of the main directions of the research is the possibility of the damage to tumor tissue. In contrast to concrements the tumor tissue is not different from surrounding tissues by its acoustic attributes, so the normal lithotryptor is not appropriate for this application. Therefore, there has been developed a new source of shock waves, which is based on the principle of multichannel discharge on the composite anode. The experiments demonstrated the effect of the new source on the acoustically homogeneous tissue of the thigh muscle at a depth of rabbit *in vivo*. Then there was observed the damage to tumor tissue *in vivo* in rats. Finally, there was observed the damage to tumor tissue *in vivo* in rats in the combination with cisplatin and Photosan. It was found that the new source of shock waves can cause the damage to the acoustically homogeneous tissue *in vivo* in depth. It also can damage the tumor tissue, cause inhibition of tumor growth and in the combination with Photosan and cisplatin the inhibitory effect is enlarged.

Key words:

Shock waves, cavitation, tissue injury, lithotripsy, multichannel discharge, tumour growth

OBSAH

1	Úvod	7
1.1	Rázová vlna	7
1.2	Historie a použití	9
1.3	Historie v ČR	12
1.4	Popis rázové vlny	15
1.4.1	Lom a absorpce	18
1.5	Biologické účinky rázové vlny	18
1.5.1	Mechanismus drcení konkrementu	18
1.5.2	Účinky na tkáň	20
1.5.3	Sonoporace	23
1.5.4	Kavitace	23
1.6	Obecná konstrukce přístroje	25
1.6.1	Generátor rázových vln	25
1.6.1.1	Elektrohydraulický generátor	25
1.6.1.2	Elektromagnetický generátor	26
1.6.1.3	Piezoelektrický generátor	27
1.6.1.4	Mikroexplozivní generátor	28
1.6.2	Systém pro fokusaci	28
1.6.3	Propojení přístroje s pacientem	29
1.6.4	Zaměřovací systém	29
1.7	Nový zdroj rázových vln	31
1.7.1	Vývoj a konstrukce generátoru	31
1.7.2	Výhody nového generátoru	37
1.7.3	Dosavadní výsledky experimentů	38
2	Cíle práce	41
3	Materiál a metody	42
3.1	Generátor rázových vln	42
3.2	První experiment	44
3.3	Druhý experiment	46
3.4	Třetí experiment	46
3.5	Čtvrtý experiment	47
4	Výsledky	49
4.1	První experiment	49
4.2	Druhý experiment	54
4.3	Třetí experiment	59
4.4	Čtvrtý experiment	61
5	Diskuse	63
6	Závěr	65
7	Literatura	66
8	Seznam obrázků, tabulek a grafů	70
9	Přílohy	73

1 Úvod

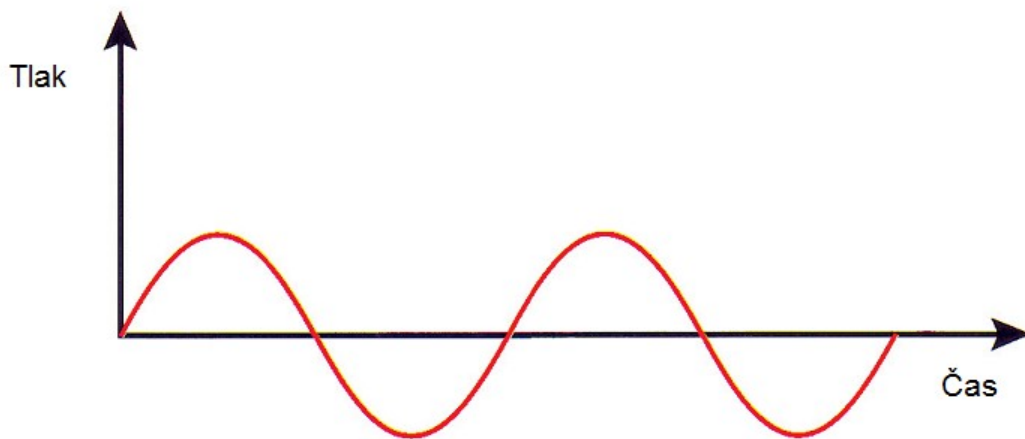
1.1 Rázová vlna

Diplomová práce je zaměřena na oblast rázových vln (RV) a jejich využití v medicíně. Medicína se dnes vyvíjí rychlým tempem a to i díky přístrojovému vybavení. Přístrojů obecně se využívá jak v diagnostice, tak v terapii. Jejich neustálý rozvoj a zdokonalování je možné i díky průniku medicíny s jinými obory jako je například elektronika nebo fyzika. Jedním z přístrojů, který vznikl díky takové mezioborové spolupráci, je i litotryptor. Ten slouží k desintegraci konkrementů. Úspěch rázových vln následně vedl k výzkumu dalších možností jejich využití v medicíně a v našem případě i vývoji nového zdroje rázových vln.

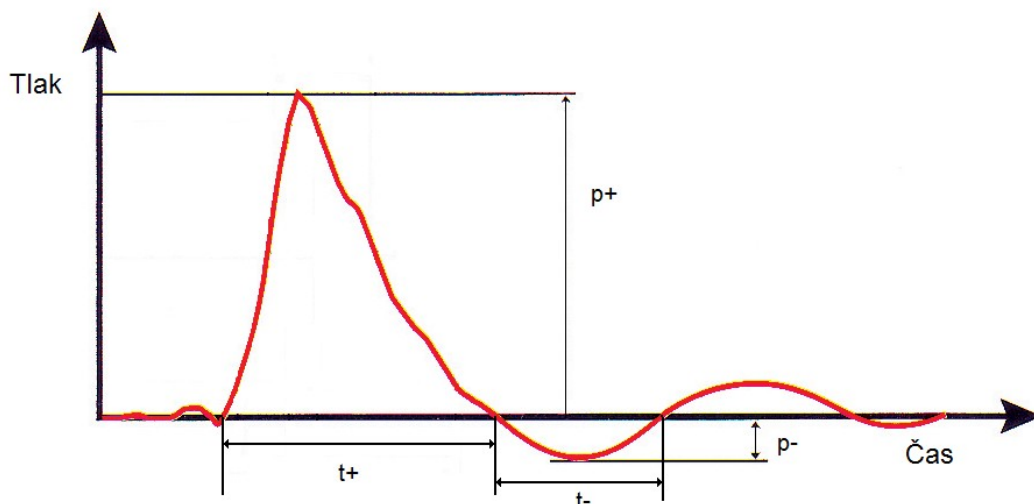
Obecně se rázové vlny vyznačují prudkou změnou tlaku, která způsobí následné změny vlastností prostředí, ve kterém se šíří. V lékařských aplikacích se jedná o akustickou rázovou vlnu. Podobně jako u ultrazvuku jde tedy o mechanické vlnění. Ultrazvuková vlna se skládá z pozitivní a negativní části tlaku a periodicky se opakuje. Negativní část tlakové vlny (p-) může být zodpovědná za nežádoucí účinky ultrazvuku, tvorbu kavitací, které vznikají při překročení kavitačního prahu. U diagnostického ultrazvuku není kavitační práh dosažen a hodnoty jsou řádově pod tímto kavitačním prahem [1]. Průběh tlaku ultrazvukové vlny v čase je naznačen na obrázku 1.

Rázová vlna se od ultrazvukového vlnění liší tím, že se prostorem šíří jako jeden mohutný tlakový kmit, jak je vidět na obrázku 2. Skládá se z počátečního ostrého nárůstu pozitivního tlaku, za kterým následuje negativní tlaková půlvlna. Zatímco pozitivní špičková hodnota tlaku p_+ dosahuje 100 MPa, negativní vlna p_- je mělká, dosahuje pouze tlaku kolem 10 MPa (je důležité zmínit, že jednotlivé parametry rázové vlny se liší podle typu generátoru a jeho nastavení). Nárůst tlaku pozitivní vlny je velice strmý, trvá přibližně 100 ns. Celá pozitivní půlvlna má trvání t_+ v řádu jednotek mikrosekund [2, 3].

Pro lepší představu si můžeme uvést pár příkladů rázových vln. Například pokud práskneme bičem, vniká rázová vlna, která je dobře slyšitelná. Nebo při bouřce, kdy je výboj blesku provázen rázovou vlnou. Také při jaderném výbuchu vzniká rázová vlna. Obecně se dá říct, že rázová vlna je výsledkem náhlého uvolnění chemické, elektrické, jaderné, nebo mechanické energie.



Obr. 1. Závislost tlaku na čase pro ultrazvukové vlnění.



Obr. 2. Závislost tlaku na čase pro rázovou vlnu

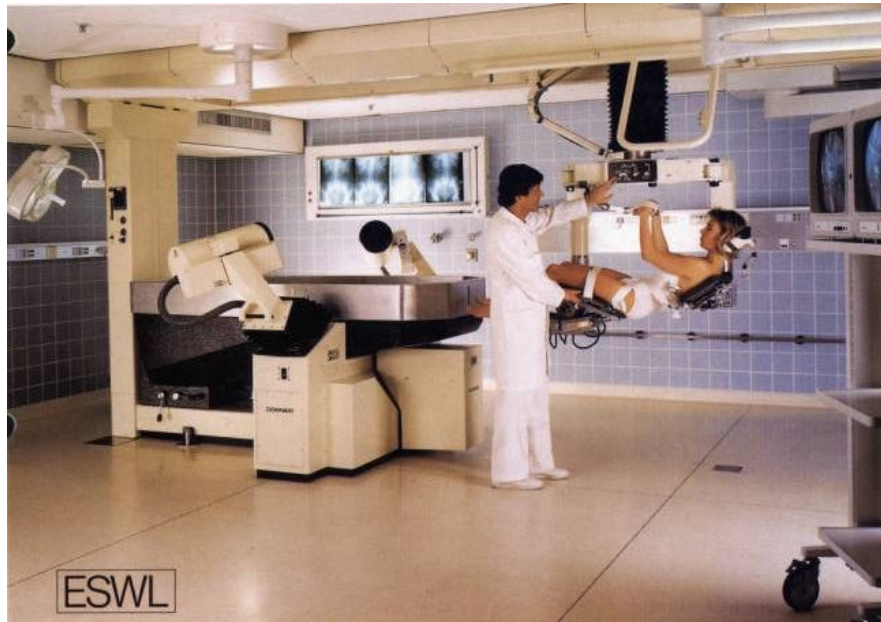
1.2 Historie a použití

Rázová vlna se v medicíně používá již přes dvacet let. Historie však sahá až do druhé světové války, kdy bylo pozorováno, že plíce trosečníků byly poškozené kvůli výbuchu podvodních bomb, ačkoliv neexistovaly žádné vnější příznaky zranění. Toto byl první případ, kdy byl vliv rázové vlny na tkáň pozorován. V roce 1950 byl proveden první systematický výzkum použití rázových vln v medicíně. Například bylo publikováno, že elektrohydraulicky generovaná rázová vlna je schopna rozdrtit keramické štítky ve vodě. V roce 1966 byl zájem o rázové vlny a jejich aplikaci na lidech povzbuzen nehodou, která se stala v německé firmě Dornier. Ta se zabývala výrobou nadzvukových letadel a při testech v jejích mnichovských laboratořích došlo k nehodě. Během experimentu, kdy byla náletová hrana křídla odstřelována vodními projektily o vysokých rychlostech, se jeden ze zaměstnanců dotkl plochy křídla právě v momentu, kdy dopadl vodní projektil. Následně si stěžoval, že cítil, jakoby ho zasáhl elektrický proud. Veškerá měření však ukázala, že tam žádný elektrický proud neproudí. Pokus byl ještě opakován s izolační rukavicí a výsledek byl stejný. Nakonec se přišlo na to, že dochází ke generování rázových vln, které přechází do těla [4, 5].

Od roku 1968 do roku 1971 byla v Německu zkoumána interakce mezi biologickými tkáněmi a rázovou vlnou na zvířatech. Byly zkoumány biologické a medicínské účinky rázové vlny na tkáň a útlum při průchodu různými tkáněmi. Také byl zkoumán průchod rázových vln do těla. Nejlepší médium pro přechod rázové vlny do těla je voda, nebo želatina a to díky jejich akustické impedanci, která se téměř shoduje s akustickou impedancí měkké nevzdušné tkáně. Tyto pokusy a spolupráce s lékaři vedly k ideji desintegrace ledvinových kamenů mimotělně generovanou rázovou vlnou.

V roce 1976 byl použit přístroj vyvinutý firmou Dornier k desintegraci lidských konkrementů voperovaných psům. V roce 1980 byl pak v Mnichově ošetřen první pacient s ledvinovými kameny na přístroji s označením Dornier Lithotripter HM1, kde HM1 znamená Human Model 1. Následoval model HM2, který měl

úspěšnost 90 % u konkrementů velikosti višně. V roce 1983 byl potom první komerční litotryptor HM3 (obrázek 3) nainstalován ve Stuttgartu [5].



Obr. 3. Dornier Lithotripter HM3

HM3 se stal prvním sériově vyráběným litotryptorem. Díky jeho dobrým parametrům se stal zlatým standardem, se kterým jsou ostatní zařízení srovnávána [6]. Litotryptor HM3 je založen na elektrohydraulickém generátoru rázových vln. Rázové vlny jsou fokusovány pomocí kovového reflektoru ve tvaru rotačního elipsoidu. Pacient i generátor jsou ponořeni ve vodní nádrži a kámen je zaměřován skiaskopicky [7].

Úspěch dosažený při litotrypsi ledvinových kamenů, kde tato metoda zcela změnila charakter urologie, povzbudil výzkum v oblasti desintegrace kamenů žlučových. V roce 1985 byl v Mnichově klinicky ošetřen první žlučový kámen pomocí rázové vlny. Když byli ošetřeni první pacienti s jednotlivými žlučovými kameny, jejich výsledky byly dobré. V 80 % opustily fragmenty žlučník. Problém byl v malé indikační šíři, kdy metoda je vhodná pro malé solitérní konkrementy. Potíže jsou pak s možným selháním následné

farmakologické disoluce. I v případech úspěšné disoluce dochází více jak u poloviny nemocných po vymizení fragmentů k recidivě. Metodou indikace je u endoskopicky neřešitelné litiázy v choledochu, vhodné k ošetření rázovou vlnou. Litotrypse žlučnickových kamenů je dnes používána jen v některých centrech [8].

Později byla rázová vlna také využita pro drcení pankreatických kamenů u pacientů s chronickou kalcifikující pankreatitidou a syndromem chronické bolesti [8]. Ale není využívána jen k léčbě různých litiáz. Používá se běžně již i v jiných oblastech. Jednou z těchto oblastí je orthopedie a revmatologie.

Zájem o účinky rázové vlny na kost byl povzbuzen pozorováním, kdy při litotrypsi došlo k zvýšení kostní hustoty pánevní kosti. Následující výzkum se pak zaměřil na účinky rázové vlny na nedotčenou kost. Když jsou rázové vlny fokusovány na kost, tak potom asi 35 % energie je odraženo a 65 % je přeneseno s 80–90 % útlumem energie uvnitř 1–2 cm kosti. Tlak přenesený skrz kost proniká celou tloušťkou kosti a energetický útlum je ovlivněn hlavně množstvím spongiózní kosti. Ve spongiózní kosti je vícenásobný přechod mezi měkkou tkání a kostí, který má za následek odraz a pohlcení energie. Díky tomu, že je energie rychle uložena ve vícenásobných akustických rozhraních, dochází k porušení spongiózní kosti a sekundární osteoblastické hojivé odpovědi [9].

Co se týče oblasti ortopedie, výzkum se například zaměřuje na využití rázové vlny při narušení spojení kosti a kostního cementu. Tohoto efektu by se dalo využít při reoperacích totálních kloubních náhrad, kterých v dnešní době přibývá [10,11,12]. Ukazuje se i použití při léčbě zlomenin, které se těžko hojí.

V revmatologii se hlavně uplatňují nefokusované (radiální) rázové vlny s malou amplitudou, ale používá se i vlna fokusovaná. Radiální rázová vlna je generována pneumatickými pulzy, kterými je vystřelován projektil. Ten naráží na vysílač a na jeho povrchu se potom generuje rázová vlna, která dosahuje obvykle tlaků 5 bar s energií 0,1–0,25 mJ/mm². Při práci s fokusovanou rázovou vlnou jsou využívány přístroje s energií nad 0,3 mJ/mm². Oba systémy se

uplatňují v těchto indikacích. Bolesti pohybového aparátu, jako například tenisový nebo golfový loket, skokanské koleno, ostruhy kosti patní, bolesti páteře, bolestivá třísla, únavové zlomeniny, kostní přestavby, nebo chronický zánět tíhových váčků.

Experimentálně je zkoumáno možné využití rázové vlny při léčbě ischemické choroby srdeční. V této oblasti je však energie nižší než u litotrypse. Navozuje koronární angiogenezi a zlepšuje myokardiální ischemii. Podle výsledků experimentů přetrvávají účinky 12 měsíců a metoda nemá žádné vedlejší účinky [13,14,15,16].

V neposlední řadě se rázová vlna používá ve veterinární medicíně, například u závodních koní.

Oblast, které se věnuji ve své diplomové práci, je oblast onkologie. Jde o možnost pomocí rázových vln poškodit nádorovou tkáň.

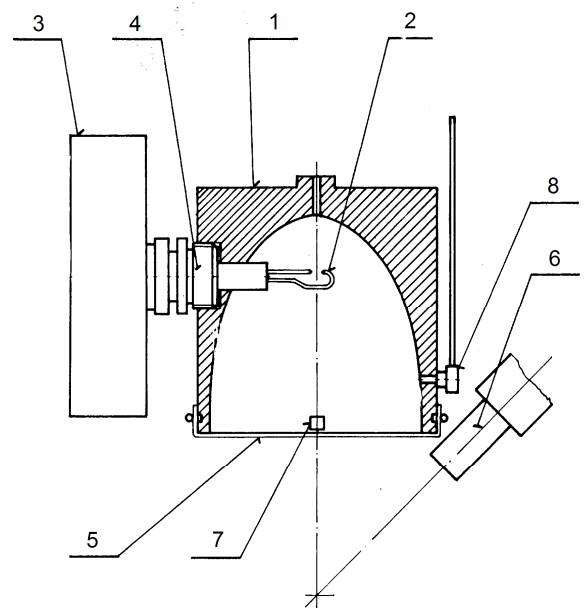
1.3 Historie v ČR

V České republice začal vývoj přístroje pro extrakorporální litotrypsi rázovou vlnou v 80. letech 20. století na 1. interní klinice VFN a 1. LF UK v Praze. Na začátku byla snaha o urychlení rozpouštění žlučnickových konkrementu narušeného ultrazvukem. Tyto pokusy však byly neúspěšné. Důvodem byl fakt, že ultrazvukové vlnění nedokázalo do organismu proniknout s dostatečnou intenzitou. Ukázalo se, že na Ústavu fyziky plazmatu AV ČR, mají s generováním rázové vlny zkušenosti, byly totiž doprovodným jevem při generování silných elektronových svazků. A tak se během roku 1986 povedlo vyvinout první zkušební generátor rázových vln. Jeho účinky byly testovány na různé tkáně pokusných zvířat a také na žlučové kameny [17].

Generátor je na obrázku 4 a je patentově chráněn (PV 40066-85). Tento generátor je tvořen nádobou reflektoru (1), ta má tvar rotačního elipsoidu, v této nádobě je umístěno jiskřiště (2), propojené s nízkoindukčním kondenzátorem

(3) a třípolohovým kondenzátorem, které jsou pomocí přechodky (4) uchyceny vně nádoby reflektoru. Na spodní straně je reflektor překryt krycí fólií, tak aby byl zamezen přímý přístup k jiskřišti. K nádobě reflektoru jsou dále připevněny ultrazvukové sondy (6,7). Osa ultrazvukových paprsků těchto sond prochází sekundárním ohniskem fokusace. Do nádoby reflektoru je přívodem (10) zavedena kapalina se sníženými parciálními tlaky rozpuštěných plynů. Generátor funguje tak, že generuje rázovou vlnu pomocí elektrického výboje ve vodě. Mezi hroty jiskřiště dochází k prudké expanzi kapaliny, která se vypaří a následnou ionizací se tvoří vodivý plazmový kanál. Expanze vytvoří tlakovou vlnu, která se šíří do okolí a její energie klesá s druhou mocninou vzdálenosti od jiskřiště a také díky absorpci energie prostředím. Rázová vlna je následně fokusována pomocí reflektoru ve tvaru části rotačního elipsoidu, kde je v jednom ohnisku umístěno jiskřiště a ve druhém, sekundárním je potom kámen [18].

Obr. 4. Provedení experimentálního reflektoru.
*1-nádoba reflektoru, 2-jiskřiště,
 3-bezindukční kondenzátor,
 4-přechodka, 5-krycí folie,
 6 a 7-ultrazvukové sondy, 8-přívod vody*

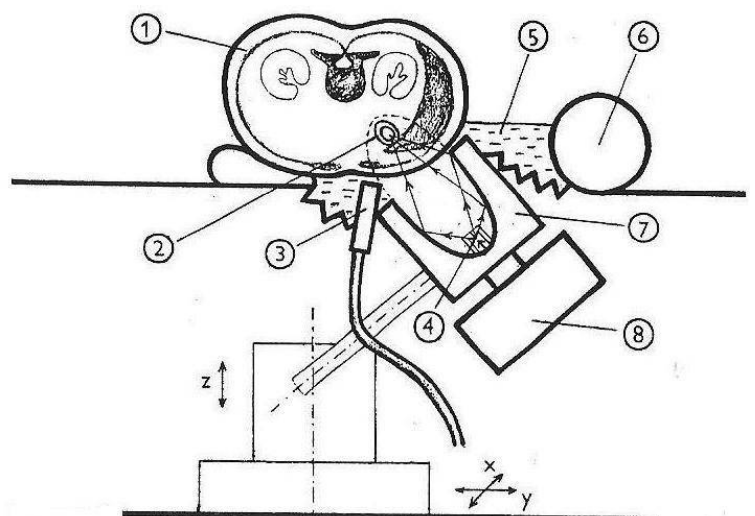


V roce 1986 byl potom s tímto generátorem proveden pokus, který potvrdil účinnost vyvíjené metody. Jako pokusné zvíře bylo použito prase. Praseti byly voperovány lidské žlučové kameny a po jejich vhojení byly

vystaveny působení rázových vln. Zároveň s exponováním kamenů byly exponovány také další tkáně (játra, ledviny, plíce a sval), aby se zjistily specifické účinky na různé tkáně. V tomto experimentu se potvrdilo, že energie rázové vlny je schopna narušit ledvinový i žlučový kámen voperovaný praseti a na nevzdušných tkáních zanechává zcela bezvýznamné účinky. Jedinou výjimkou jsou plíce, kde k poškození dochází, zde je na vině rozdílná akustická impedance [19].

Počátkem roku 1987 byl zahájen vývoj klinické verze litotryptoru a ještě v tom roce proběhla léčba prvního pacienta a do konce roku ještě dalších osmi. Na obrázku 5 je schéma přístroje, který ke generaci rázových vln používá generátor popsaný výše. Celé zařízení je patentově chráněno (PV 7789-86.D). Se zařízením se pracuje tak, že tělo pacienta (1) se uloží na lůžko. Akustický kontakt je zajištěn vodní lázní (5), nebo pomocí vodního vaku. Těsnící manžety (6) pak zamezují odtoku vody z vodní lázně. Pomocí dvourozměrné zaměřovací sondy (3) se potom provede zaměření kamene. Správná poloha reflektoru (7) se zajistí pohybem celé soustavy manipulátoru, ten má šest stupňů volnosti. Dvourozměrná zaměřovací sonda (3) je pevně fixována k reflektoru (7) tak, že zobrazovaná rovina protíná hlavní osu eliptického reflektoru právě v ohnisku. Výboj v jiskřišti (4) nastává, když ho schválí řídicí jednotka [20,21].

Obr. 5. Schéma litotryptoru se sonografickým zaměřením.
1-tělo pacienta, 2-kámen ve žlučniku, 3-sonografická sonda, 4-jiskřiště, 5-vodní lázeň, 6-vak plněný vzduchem, 7-reflektor, 8-pulzní kondenzátor



V roce 1988 byl do klinické praxe uveden litotryptor pro desintegraci ledvinových kamenů. Zaměřování kamene bylo nejprve skiaskopické a následně i sonografické. U skiaskopického zaměření se jedná o dvojici RTG projekcí, jejichž osy se protínají přesně v ohnisku rázových vln. Toto zaměřovací zařízení bylo vyvinuto ve spolupráci s Výzkumným ústavem zdravotnické techniky v Brně [22]. Jelikož skiaskopické zaměření znamená pro pacienta jistou radiální zátěž, bylo později využito sonografické zaměření, které tuto zátěž eliminuje. Má i další výhody, umožňuje léčbu kontrastních i nekontrastních konkrementů a je možné kontinuálně sledovat fragmentaci kamene [23].

Přístroj byl i v dalších letech zdokonalován a jeho poslední model v roce 1992 dosahoval srovnatelné úrovně se světovou špičkou tohoto oboru. Nejsilnějším článkem je generátor rázových vln, který tvoří základ přístroje, má totiž výborné výsledky při desintegraci konkrementů a k okolním tkáním je šetrný [4].

1.4 Popis rázové vlny

Rázová vlna, která je využívána pro medicínské aplikace, má charakteristicky krátkou dobu nárůstu tlaku v řádu jednotek nanosekund (5–10 ns). Dosahuje pozitivního tlaku až 100 MPa. Po rychlém nárůstu tlaku následuje relativně pomalejší pokles tlaku až k normálnímu tlaku, poté přichází negativní tlaková vlna. Ta obvykle dosahuje 10 % velikosti pozitivní tlakové vlny, tedy 10 MPa, a je odpovědná za efekt kavitací. Rázová vlna má velké frekvenční rozpětí (až 20 MHz) [9].

K popisu rázové vlny se používá mnoho parametrů, jako například maximální hodnoty tlaků v ohnisku p_+ a p_- , čas nárůstu prvního pozitivního půlcyklu t_r a délka trvání prvního pozitivního a negativního půlcyklu t_+ a t_- .

V tabulce 1 jsou uvedeny hodnoty těchto parametrů pro komerčně využívané litotryptory, ty jsou rozděleny do tří skupin podle principu generace rázových vln [3].

Typ generátoru	p+ [MPa]	p- [MPa]	t, [ns]	t+ [μs]	t- [μs]
Elektrohydraulický	21–78	3,6-9,5	<30	1,4-0,8	0,5-2,5
Piezoelektrický	9-114	6,2-9,9	250-<30	1,0-0,8	0,5-1,1
Elektromagnetický	8-60	2-6	641-<30	3,5-1,7	2,0-4,0

Tab. 1. Hodnoty parametrů komerčně využívaných litotryptorů (převzato z *A. J. Coleman et al., 1993*)

Dalším parametrem, který slouží k popisu rázových vln, je energie **E**, měřená v mJ. Celková energie je dána vztahem $E = (A - \rho c) \int p^2(t) dt$. Kde A je plocha vlnoplochy, ρ je hustota média, c je rychlost šíření v médiu, p je tlak a t je čas. Tento vzorec definuje celkovou energii rázové vlny, ale neříká, zda je tato energie soustředěna do malého objemu ohniska, nebo se šíří prostorem nefokusovaná.

Proto existuje další parametr a to hustota energie EFD. Je to energie na jednotku plochy a je definovaná jako energie (viz výše) dělená plochou vlnoplochy. $EFD = (A - E) = (1 - \rho c) \int p^2(t) dt$. Hustota energie dosahuje hodnot kolem 2,26 mJ/mm². Pokud bude stejné množství energie deponováno v ohnisku s menšími rozměry, bude hustota energie větší než u ohniska větších rozměrů. Celková energie aplikovaná během terapie je celková energie jednoho pulzu násobená počtem pulzů.

Tekuté vodní prostředí je svou akustickou impedancí podobné prostředí měkkých tkání. Akustickou impedanci (Z) prostředí vypočítáme tak, že násobíme hustotu tohoto prostředí s rychlostí šíření zvuku (ρc).

Rázové vlny se mohou šířit prostředím s podobnou akustickou impedancí bez významné ztráty energie. Akustická impedance tkání, jako tkáň tuková, svalová, a voda je podobná, ale liší se od akustické impedance vzduchu, plicní tkáně, kostí, nebo konkrementu. V tabulce 2 jsou uvedeny jednotlivé typy prostředí, rychlost šíření zvuku v těchto prostředích, hustota a akustická impedance [9].

	Rychlost zvuku [m/s]		Hustota [g/cm ³]	Akustická impedance [kg/s*m ²]*10 ⁻⁶	
	Min	Max		Min	Max
Plíce	650	1160	0,400	0,260	0,464
Tuk	1476		0,928	1,370	
Vzduch	330	343	0,0013	0,000429	0,000446
Voda	1492		0,998	1,489	
Ledviny	1570		1,040	1,633	
Sval	1545	1630	1,060	1,638	1,728
Kostní dřev	1700		0,970	1,649	
Kost	2700	4100	1,800	4,860	7,380
Ledvinový kámen	4000	6000	1,9-2,4	7,600	14,400
Železo	5100	5800	7,900	40,29	45,820

Tab. 2. Hodnoty rychlosti zvuku, hustoty a akustické impedance pro jednotlivé druhy medií (převzato z *McClure, Scott R, 2004*)

Pokud jsou rozdíly mezi akustickými impedancemi prostředí, kterými rázová vlna prochází, malé, potom je také malé množství energie ztraceno odrazem či absorpcí. Jestliže ale vezmeme například přechod z vody do plicní tkáně, zde je rozdíl akustických impedancí veliký, potom je velká část rázové vlny odrazena. Odražená vlna mění svoji fázi do 180°, pokud narazí na povrch s nižší akustickou impedancí, to má za následek vznik silné tahové vlny. Tahová vlna může vytvářet kavitace a má tak silný ničivý potenciál [9].

1.4.1 Lom a absorpce

Ne všechny rázové vlny dosáhnou ohniska, jsou ovlivňovány odrazem, difrakcí, disipací a absorpcí. Podobně jako šíření světla či šíření jiných vlnění (kde vlnová délka je podstatně kratší než plochy odrazu) lze analogicky použít stejné geometrie. Základní rovnice lomu, která se v optice používá je $(\sin\alpha/\sin\beta) = (n_1/n_2)$, kde α a β jsou úhel dopadu respektive úhel odrazu a n_1 a n_2 jsou indexy lomu prostředí. Tyto indexy lomu se pro lom rázové vlny nahrazují rychlostí zvuku v daném prostředí c_1 a c_2 , potom tedy platí $(\sin\alpha/\sin\beta) = (c_1/c_2)$. Zvuková vlna přecházející z vody do svalové tkáně pod úhlem dopadu 10° se bude lámat a úhel odrazu bude od $9,1^\circ$ do $9,7^\circ$, v závislosti na hustotě svalové tkáně. Odchylka však při přechodu z přístroje do těla hraje minimální roli. K jistým odchylkám dochází i uvnitř těla, jsou dány počtem přechodů dvou prostředí s různou hustotou (akustickou impedancí).

Významnější efekt, který při šíření rázové vlny prostředím na tuto vlnu působí je absorpce. K absorpci dochází v tkáních s póry a dutinami, na stěnách pórů dochází k přeměně akustické energie na teplo. Rázová vlna je například rychle absorbována v spongiózní kosti, ale v kosti kortikální se šíří dobře. Pro většinu měkkých tkání je rozptyl zanedbatelný a útlum a koeficient absorpce jsou téměř stejné [9].

1.5 *Biologické účinky rázové vlny*

1.5.1 Mechanismus drcení konkrementu

Účinky rázové vlny můžeme rozdělit na přímé a nepřímé. Mezi přímé účinky patří komprese a tenze prostředí, kterým rázová vlna proniká, a mezi nepřímé účinky patří účinky kavitací, které vznikají po průchodu negativní části vlny. Pokud se zaměříme na desintegraci kamene, můžeme popsat několik mechanismů, které se během zákroku uplatňují. Mezi ty přímé patří:

Fenomén tahové a smykové síly. Jestliže je délka pulzu menší než rozměry kamene, potom kvůli geometrii povrchu a vnitřní struktuře kamene generuje kompresní část rázové vlny tlakové gradienty. Gradienty mají za následek tahové napětí uvnitř kamene a následně vznik trhlinek, které způsobují jeho fragmentaci.

Fenomén drcení. Kompresní komponenta rázové vlny se odráží od distální části povrchu konkrementu a tím narušuje vnitřní napětí uvnitř konkrementu. Odráží se na přechodu kámen – tekutina, ty se liší svou akustickou impedancí. Amplituda tahového napětí závisí na rozdílu akustických impedancí a geometrii povrchu konkrementu.

Fenomén stlačení. Jestliže je ohnisko větší než rozměr kamene, potom se tlakové vlny šíří podél konkrementu. Odlišný tlak mezi konkrementem a tekutinou způsobí jeho narušení. Tento proces předpokládá, že rychlost rázové vlny v tekutině, která obklopuje konkrement, je mnohem nižší než rychlost uvnitř kamene.

Fenomén superfokusace. Odraz rázových vln od zakřiveného povrchu konkrementu vytváří interferenci, která produkuje lokalizované oblasti s vysokým tlakem.

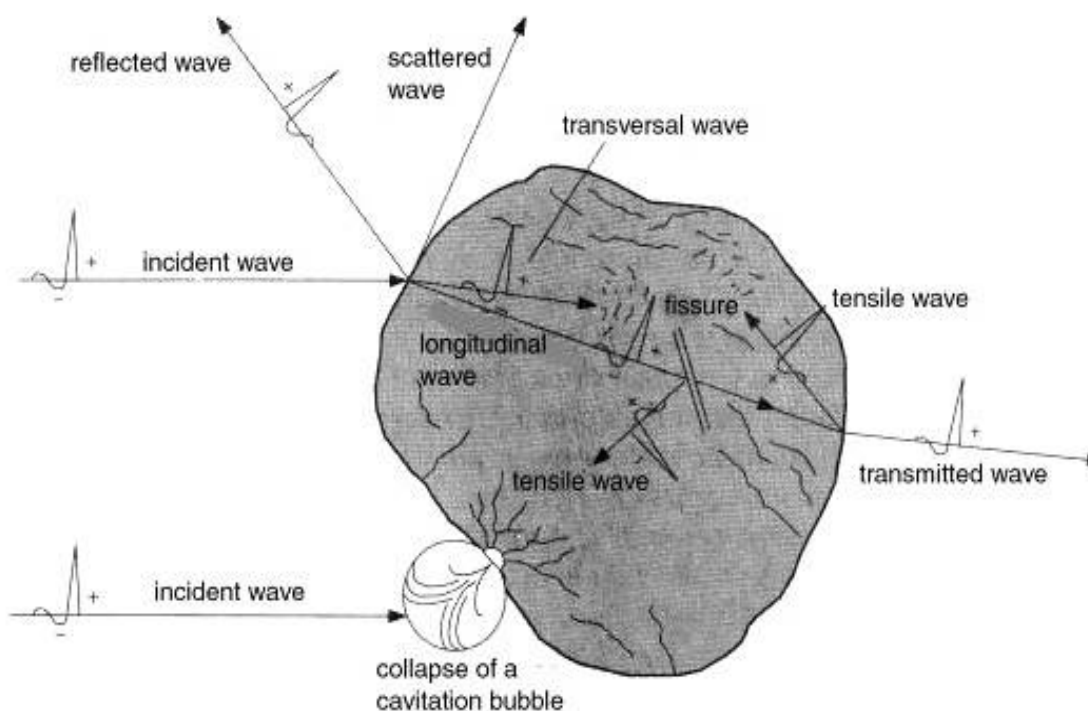
Fenomén únava. Pokud je konkrement vystaven velkému počtu rázových vln v časovém sledu, potom se již existující defekty rozšiřují. Takto dojde nakonec k narušení konkrementu

Fenomén oddělení vrstev. Uvnitř konkrementu existují slabá místa, například styčná plocha matrixové a krystalické komponenty, kde po působení rázových vln dojde k narušení vnitřního napětí [24,25].

Mezi nepřímé účinky rázových vln, které přispívají k desintegraci konkrementů, patří kavitace. Tažná komponenta rázové vlny způsobí vznik bublin, kavitací. Do kavitací může být uloženo velké množství energie. Když kavitace imploduje je uvolněno velké množství energie ve formě vysokoenergetických vodních výtrysků „water jets“ a vysoké teploty, které v ohnisku dosahuje až několik tisíc Kelvinů. Pokud kavitace přiléhají k nějakému

povrchu, jako je například konkrement, potom kolabují nesymetricky. Při takovém kolapsu vzniká tryskání tekutiny, které narušuje povrch konkrementu, a navíc při kolapsu kavitací vznikají sekundární rázové vlny, jež dále narušují dříve vytvořená oslabená místa [9,24].

Na obrázku 6 je konkrement a schematicky znázorněné jednotlivé mechanismy desintegrace.



Obr. 6. Konkrement a jednotlivé mechanismy desintegrace

1.5.2 Účinky na tkáň

Než dosáhne rázová vlna ohniska, musí projít měkkými tkáněmi a v nich může způsobit poškození. První náznak vedlejších efektů byl výskyt ledvinových hematomů během prvních ošetření ledvinového kamene rázovou vlnou. Hematurie byla dodatečně zaznamenána ve všech případech ošetření a byla přisuzována poraněním, která způsobí fragmenty kamene urychlené akustickou vlnou. Rázová vlna způsobí mechanické trauma, které je omezeno

na oblast vysokého tlaku podél centrální osy pole rázových vln. Převládající druh poškození je obecné poškození krevních cév. Co se týče ledviny, můžeme rozlišit dva druhy krvácení, rozptýlené krvácení a hematomy. Dalším význačným mikroskopickým nálezem byla tvorba krevních sraženin ve středně velkých žilách. Ledviny byly nejčastěji studovaným orgánem, ale podobné změny po aplikaci rázových vln se objevily i v jiných sledovaných orgánech. Jeden z prvních doložených biologických vedlejších účinků byla plicní hemoragie, která byla pozorována při ošetření žlučníku. Ukázalo se, že plíce jsou zdaleka nejcitlivějším orgánem. Na základě těchto zjištění se zkoumalo, jestli takové poškození plicní tkáně může způsobit i diagnostický ultrazvuk a některé případy byly pozorovány. Ještě na dva efekty rázových vln je nutné upozornit a to na účinky na kost a excitabilní tkáň.

Jak bylo očekáváno vzhledem k předchozím pokusům, tak hlavním efektem rázových vln fokusovaných na kost bylo krvácení. Hemoragie byla pozorována na vnějším povrchu, tedy okostici, a také v kostní dřeni. Kost na trauma reagovala neočekávaně a to přírůstkem kosti v místě poškození. Kortikální vrstva zde značně zesílila.

Druhým účinkem rázových vln je excitace srdce a nervové tkáně. Již při prvních ošetřeních člověka byla pozorována srdeční arytmie, řešením bylo spouštění rázové vlny mimo vulnerabilní fázi srdečního rytmu a tedy chod rázů je synchronizována s R vlnou na současně monitorovaném EKG. Dále bylo pozorování škůbání svalů při ošetření, jehož základem byla nejspíš excitace nervů. To se potvrdilo později v pokusech *ex vivo*, kdy rázové vlny skutečně navodily akční potenciál.

Pokud jsou aplikovány rázové vlny *in vivo*, v tkáních se vytváří kavitace, jak bylo zjištěno pomocí diagnostického ultrazvuku. Již v osmdesátých letech existovala hypotéza, že kavitace mohou hrát roli při poškození tkáně. Pro toto tvrzení svědčily tři skutečnosti. Jako první, při zvýšení rychlosti aplikace rázových vln dochází ke zvýšení poškození tkáně. Uvažovalo se o tom, že by se při ošetření pacienta zvýšil počet rázů podaných za sekundu, když se ale tato možnost experimentálně testovala, bylo zjištěno, že dochází k většímu

poškození tkáně. Bylo to způsobeno tím, že kavitace, vytvořená jednou vlnou, přetrvává v těle dost dlouho na to, aby se setkala s další vlnou, která přichází. Druhý efekt, pokud jsou rázové vlny aplikovány současně s podáním roztoku s obsahem mikrobublin do tepenné cévky, může dojít k poškození. Jako třetí svědčí pro účinek kavitací fakt, že poškození tkáně se nachází v místě, kde dochází ke vzniku kavitací [27].

Z těchto výsledků je vidět, že rázová vlna má účinky také na měkkou tkáň. Na začátku byly účinky studovány na buněčných strukturách, nicméně výsledky takových experimentů nemusely být platné pro celou tkáň. Cytotoxicita rázové vlny záleží na druhu buněk, na druhu média, ve kterém jsou a také na tom, jestli jsou v suspenzi či jinak. Výsledky však ukázaly, že buněčná membrána může být narušena a že je to nejcitlivější část buňky. Dochází ke zvýšení propustnosti membrány, tento stav však trvá jen pár vteřin a poté dochází k uzavření pórů.

Během terapie rázovou vlnou mohou do cytoplazmy vstoupit molekuly o velikosti až 2 miliony Daltonů díky změnám v permeabilitě membrány. Tohoto účinku se dá využít při fotodynamickém ošetření nádoru a genové terapii. Experimentálně byly například doručeny do nádorové buňky ribozomy inaktivující proteiny a přitom se snížila dávka léku užívaného na buněčnou proliferaci 40 000 krát. V jiném experimentu byl po terapii rázovou vlnou redukován růst fibrosarkomu *in vivo* u myši. Co se týče přenosu nukleových kyselin, mohou být přeneseny plazmidy velikosti několika megadaltonů, kódující standardní enzymy jako například galaktosidasu nebo luciferázu. Na druhé straně mohou být přeneseny i oligonukleotidy složené jen z několika nukleotidů.

Díky tomuto účinku na buněčné membrány by terapie rázovou vlnou mohla být například spojena s chemoterapií. Zdá se, že *in vivo* terapie má méně přímý účinek na buňky, ale více účinek na mikrocirkulaci v nádoru. Dochází ke zničení stěn cév a k dočasnému snížení perfuze nádoru. Pokud byl nádor v laboratorních studiích v prostředí vhodném pro vznik kavitací, tak se povedlo nádor úplně odstranit. V současnosti se pracuje na možném klinickém využití. Této oblasti se týká i experimentální část této práce [9,26,27,29,30].

1.5.3 Sonoporace

Sonoporace se týká výše popsaných mechanismů, tedy zvýšení propustnosti buněčné membrány. Jak už bylo uvedeno, tohoto efektu se dá využít při neinvazivním doručování (*in vivo*) velkých molekul do buněk. Důležitým zjištěním je fakt, že pokud jsou během vystavení akustickému působení přítomny bublinky, dojde ke zvýšení sonoporace. Mechanismus otevření průchodu a absorpce roztoku z okolí membrány není zatím podrobně znám. Možných kandidátů je více. Obecně můžeme rozeznávat dva přístupy k excitování aktivity bublin blízko buňky. Buď je to kontinuální ultrazvuk, nebo jednotlivá intenzivní akustická vlna. V ultrazvukových aplikacích jsou buňky vystaveny četným akustickým cyklům. Potom mají dutiny vzniklé akustickou energií dostatek času růst z velikosti malého jádra do rezonanční velikosti. Na rozdíl od toho jednotlivé vlny způsobí vytvoření zárodků a vedou k oscilacím bublin. Tohoto efektu může být dosaženo pouze při dostatečné velikosti negativního tlaku. Tuto podmínku dobře splňují generátory rázových vln. Bylo prokázáno, že při předem daných experimentálních podmínkách kavitace ne samotné rázové vlny způsobí doručení látek do vnitřní části buňky. Dochází k tomu při asférickém zhroucení kavitací blízko stěny, kdy vznikají tryskové proudy [31,32].

1.5.4 Kavítace

Kavitacemi nazýváme vznik dutin v kapalině při lokálním poklesu tlaku, následovaný jejich implozí. Formování bublin v tekutinách je jev, se kterým se můžeme setkat v mnoha situacích. Například ve vřelé polévce, v krvi potápěčů pokud se příliš rychle vynoří, u vysokorychlostních torpéd, lodních šroubů či v pivu. Obecně se změny podmínky pro rovnováhu rozpuštěných plynů tlakem v okolí – viz Henr. Zákon. Termínem kavitace popisujeme obvykle utváření bublin při prudkých změnách podmínek, jako je roztržení tekutiny, nebo silná expanze již dříve existujících jader, způsobených velkým negativním tlakem. Překročí-li vlna zředění amplitudou kavitační práh (tj. pevnost vody v tahu),

dochází ke vzniku kavitací. Kolaps bublin je velice rychlý a jedná se o adiabatický děj. Teplota při takovém kolapsu se zvedá až o čtyři řády. Další efekt, který se při kolapsu kavitací objevuje, je vznik sekundárních sférických rázových vln s krátkou vlnovou délkou, ty jsou schopné interagovat s objekty buněčných rozměrů. Při pevném povrchu dochází k nesymetrickému kolapsu bublin a vzniká tryskání kapaliny, které dosahuje rychlosti až 200 m/s. Tyto bubliny mají destruktivní charakter vzhledem ke svému okolí.

Počátky zájmu o kavitace jsou v námořním průmyslu. Na konci 19. století bylo objeveno, že rychlost parníků je limitována generováním kavitací v okolí lodních šroubů. Když se ostří vrtule pohybuje vysokou rychlostí v kapalině, snižuje se na nich tlak a vytváří se kavitace, ty zvyšují smyk vrtule a tím redukuje účinnost hnacího systému. Vlivem kolapsu kavitací dochází k erozi ostří vrtule.

Minimalizace účinků kavitací je důležitá nejen pro návrh lodního šroubu, ale i v jiných technických aplikacích. Při zhroucení kavitací je uvnitř stlačen plyn nebo pára a je dosaženo vysokých teplot a tlaků. K popisu dynamiky kavitací byly vyvinuty různé modely. Pro generování kavitací existují různé metody. Obvykle rozeznáváme tenzí indukované kavitace a jiné metody uložení energie v kapalině. Bubliny generované akustickými poli patří do skupiny akustických kavitací. I když je kavitace generována různými způsoby její dynamika může být podobná.

Jak už jsem uvedl výše, kavitace se uplatňují i při desintegraci konkrementů. Také použití kontrastů pro ultrazvukové vyšetření, snižuje práh pro tvorbu kavitací v cévách. Při operacích v očním lékařství, kde se používá laser, může dojít k tvorbě optických kavitací. Na jedné straně je důležité zkoumat efekt kavitací v lékařských aplikacích z důvodu možných vedlejších účinků na pacienta, na druhé straně výzkum interakce kavitací s biologickými systémy může vést k novým aplikacím v medicíně a lepší porozumění mechanismům interakce kavitací s buňkami by mohlo přispět ke genové terapii a doručení léků do buňky [32,33,34].

1.6 Obecná konstrukce přístroje

Obecně se dá říci, že všechny používané přístroje pro generaci rázových vln mimo tělo pacienta se skládají ze čtyř částí, které jsou dále popsány.

1.6.1 Generátor rázových vln

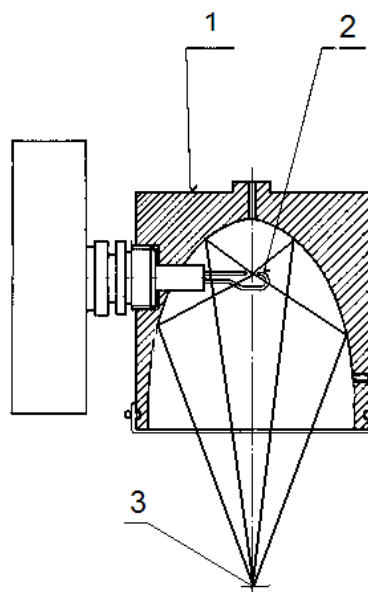
1.6.1.1 Elektrohydraulický generátor

Tento způsob generace rázových vln je nejstarší a používal se již u prvních litotryptorů od firmy Dornier (jako např. HM3). Také první český litotryptor využíval tohoto principu generace rázových vln. Mezi hrotovými elektrodami ponořenými ve vodě dochází k jiskrovému výboji. Vzdálenost hrotů a také průměr výbojového kanálu je asi 1 mm, proto můžeme jiskrový výboj považovat za bodový zdroj. Celé jiskřiště je umístěno v primárním ohnisku kovového reflektoru, který má tvar části rotačního elipsoidu. Výboj produkuje plynnou bublinu, která expanduje s nadzvukovou rychlostí a hned kolabuje. Takto dojde k vytvoření vysoko energetické sférické tlakové vlny, ta se divergentně šíří do okolí a je následně fokusována reflektorem do sekundárního ohniska.

Účinkem výbojů hrotové elektrody erodují a jejich životnost (2000–3000 výbojů) vystačí pouze na jeden zákrok, což léčbu zdržuje a prodražuje. Z tohoto důvodu byl na Ústavu fyziky plazmatu navrhnout způsob, jak kompenzovat opotřebení hrotů jiskřiště (tento způsob je patentově chráněn). Většina jiskřišť s nastavitelnými hroty je zpravidla ovládána mechanicky a způsob jejich nastavení je empirický a závislý na zkušenostech obsluhy. Většina regulačních metod však nemůže postihnout změnu geometrie povrchu elektrod. Tento nedostatek odstraňuje princip navržený výše zmíněným pracovištěm. Měří se čas od začátku nabíjení nebo od stavu nabití funkčního kondenzátoru do okamžiku průrazu vodního jiskřiště. Pomocí naměřeného času se následně provede nastavení jiskřiště generátoru. Takto je prodloužena životnost celého jiskřiště [2,3,7,34,35,36].

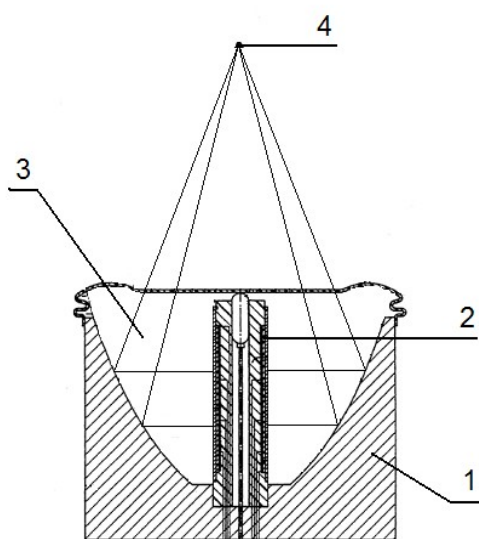
Schéma elektromagnetického generátoru je na obrázku 7.

Obr. 7. Schéma elektrohydraulického generátoru rázových vln
1-kovový reflektor, 2-primární ohnisko (místo vzniku elektrického výboje),
3-sekundární ohnisko

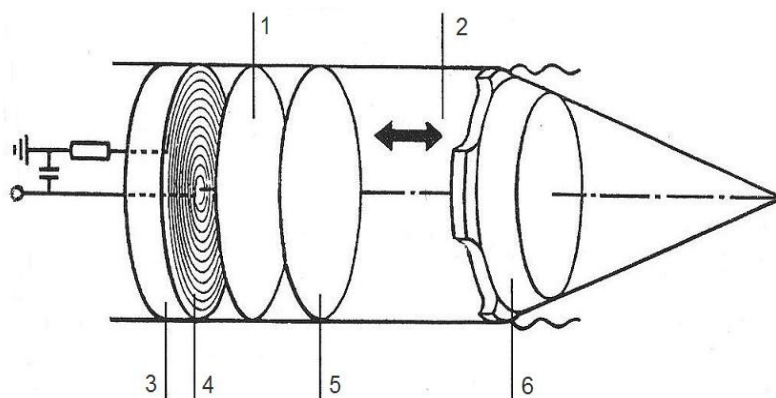


1.6.1.2 Elektromagnetický generátor

V roce 1962 byla poprvé Eisenmengerem popsána nefokusovaná elektromagnetická rázová vlna. Těchto generátorů využíval přístroj od firmy Siemens Lithostar, kde byly umístěny dva generátory založené na tomto principu po obou stranách pacienta. Jde o kovovou membránu, která má tvar rovinný nebo cylindrický a je umístěna na budící cívce. Když dojde k připojení vysokého napětí na cívku, kovová membrána je odpuzena a vzniká tak rázová vlna. Pokud jde o rovinnou membránu, vzniklá rázová vlna je fokusována pomocí akustické čočky. U cylindrické membrány se k fokusaci používá reflektor tvaru rotačního paraboloidu. Životnost tohoto typu generátoru je 100–200 tisíc impulzů. Výměna zdroje rázové vlny je však mnohonásobně dražší než u zdroje elektrohydraulického, takže náklady spojené s provozem jsou u obou zdrojů srovnatelné, dokonce u některých elektromagnetických zdrojů jsou vyšší. Na obrázku 8 a 9 jsou schémata obou popsaných typů zdroje [2,3,6,7,34,35].



Obr. 8. Schéma elektromagnetického generátoru s cylindrickou membránou
1-parabolický reflektor, 2-cívka s cylindrickou membránou,
3-voda, 4-ohnisko



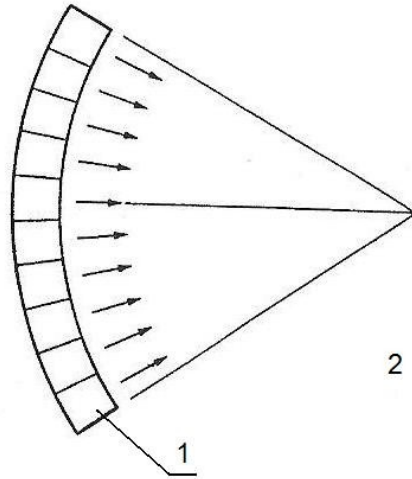
Obr. 9. Schéma elektromagnetického generátoru s rovinnou membránou
1-izolační fólie, 2-voda, 3-keramické dno, 4-elektrická cívka, 5-kovová membrána, 6-akustická čočka

1.6.1.3 Piezoelektrický generátor

Na vnitřní ploše kulového vrchlíku je umístěno několik tisíc piezoelektrických elementů. Po tom co dojde k připojení na zdroj vysokého napětí, nastává synchronní kmit všech piezoelektrických elementů, který vytvoří sféricky konvergentní rázovou vlnu. Díky tomu, že má tento zdroj velikou aperturu je ošetření téměř bezbolestné, tlak ve vstupní zóně na kůži je nízký. Piezoelektrické elementy mají omezenou mechanickou pevnost, proto se jich používá tak velký počet. Piezoelektrický zdroj generuje nižší akustickou

energii, avšak tlaky v ohnisku jsou vysoké díky tomu, že ohnisko je malé. Schéma piezoelektrického generátoru je na obrázku 10 [2,3,6,7,34,35].

Obr. 10. Schéma piezoelektrického generátoru rázových vln.
1-soustava piezoelektrických elementů,
2-ohnisko



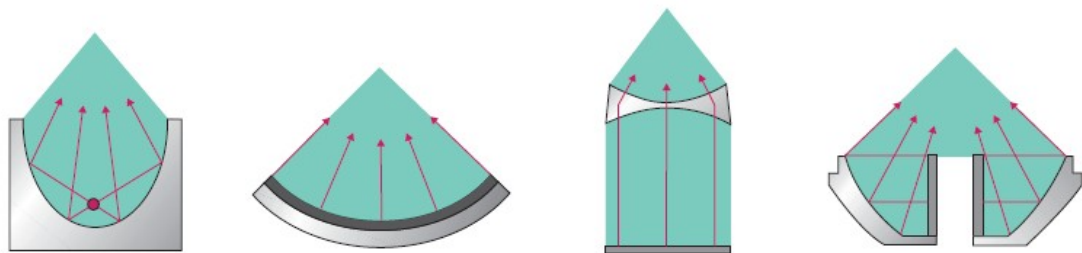
1.6.1.4 Mikroexplozivní generátor

Tento zdroj, je zde zmíněn jen pro zajímavost. V klinické praxi se nepoužívá. V primárním ohnisku reflektoru ve tvaru rotačního elipsoidu došlo k mikrovýbuchu malé kuličky. Vytvořená rázová vlna byla následně reflektorem směřována do sekundárního ohniska (podobně jako u zdroje elektrohydraulického) [2,34,35].

1.6.2 Systém pro fokusaci

Fokusace je důležitou součástí přístroje, můžeme tak docílit sbíhání rázových vln do ohniska a díky tomu potom při ošetření pacienta dosáhneme tíženého efektu v daném objemu bez větších vedlejších účinků. Metody, jak fokusovat rázové vlny, jsou různé. U piezoelektrického systému jsou elementy uspořádány na vnitřní ploše kulového vrchlíku s ohniskem ve středu koule. Plochý elektromagnetický generátor používá akustickou čočku, aby rázové vlny směřoval do ohniska. Válcový elektromagnetický zdroj používá reflektor

tvaru rotačního paraboloidu, kdy se rázové vlny od toho reflektoru odrážejí směrem do ohniska. A konečně elektrohydraulický generátor využívá reflektor tvaru části rotačního elipsoidu, kdy v primárním ohnisku je umístěn zdroj rázových vln, a vlny jsou reflektorem odráženy do ohniska sekundárního. Na obrázku 11 jsou fokusační systémy schematicky znázorněny [2,7,9].



Obr. 11. Schematické znázornění fokusačních systémů

1.6.3 Propojení přístroje s pacientem

Tato část přístroje je velice důležitá. Víme, že k největšímu pohlcení energie dochází na rozhraní dvou prostředí s rozdílnými akustickými impedancemi, proto se používá tento systém. V první generaci přístrojů (Dornier HM3) byl pacient umístěn ve vodní lázni. Druhá a třetí generace přístrojů je vybavena hlavou, která je naplněna tekutinou a má silikonovou membránu. Pro lepší přenos energie by měly být pacientovi oholeny chlupy. Akustického spojení a vazby je dosaženo použitím minerálního oleje, vody, nebo nejběžněji používaným ultrazvukovým gelem [7,9].

1.6.4 Zaměřovací systém

Zaměřovací systém slouží k zaměření místa, do kterého chceme fokusovat rázové vlny, například konkrement. Lze jím také kontrolovat průběh celé léčby. V principu se používají dvě metody skiaskopie a ultrasonografie.

U prvních litotryptorů firmy Dornier byl využíván systém skiaskopický. Zaměření je většinou prováděno pomocí dvou takovýchto rentgenových

projekcí, jejichž osy se protínají přímo v ohnisku. V dnešní době se k tomu používají C-ramena. Nevýhodou skiagrafického zaměření je radiační zátěž pro pacienta a také nemožnost zobrazit rentgen nekontrastní konkrementy či objekty (to se dá řešit podáním kontrastu). Naopak výhodou oproti lokalizaci ultrasonografické je přesnější lokalizace rentgen kontrastních konkrementů či objektů.

Ultrasonografické zaměření bývá realizováno tak, že ke generátoru připojíme ultrazvukovou sondu a v její zobrazované rovině je stále umístěné ohnisko. Výhodou systému je, že můžeme (oproti skiagrafickému) zobrazovat jak rentgen kontrastní, tak rentgen nekontrastní konkrementy či objekty a můžeme také sledovat průběh léčby, aniž bychom zatížili pacienta. Limitace je při zobrazování malých konkrementů či objektů [7,22,23]. Na obrázku 12 je litotryptor české výroby Menilit se skiagrafický a ultrasonografickým zaměřovacím zařízením.



Obr. 12. Přístroj Medilit se skiagrafickým a ultrasonografickým zaměřovacím systémem

1.7 Nový zdroj rázových vln

1.7.1 Vývoj a konstrukce generátoru

V oblasti desintegrace konkrementů zaznamenala rázová vlna veliký úspěch. Tento úspěch vedl samozřejmě k úvahám o možnosti využít rázovou vlnu i v jiných oblastech medicíny. Dnes se již běžně využívá v revmatologii či ortopedii, ale jedním z hlavních směrů, kterým se výzkum ubírá, je možnost poškození nádorové tkáně. V porovnání s desintegrací kamenů je zde však složitější problém. Kámen představuje silnou akustickou nehomogenitu, a pokud rázová vlna kámen mine, vyjde z těla, aniž by poškodila měkké

nevzdušné tkáně. Na rozdíl od konkrementu se nádorová tkáň svými akustickými vlastnostmi od okolní měkké tkáně téměř neliší. Proto je nutné použít rázovou vlnu speciálních vlastností. Pokusy k ovlivnění růstu nádoru rázovými vlnami generovanými upravenými generátory z komerčně používaných litotryptorů byly prakticky neúspěšné. Jediným pozorovaným efektem bylo mírné zlepšení při kombinaci rázových vln s cytostatiky. V posledních letech jsou však vyvíjeny generátory speciálně k tomuto účelu a také se rozvíjí aplikace vysoce intenzivního fokusovaného ultrazvuku (HIFU) [35,37,38].

U generátorů elektromagnetických a elektrohydraulických je možnost změna časového průběhu rázové vlny, jako amplitudy, tlakové a podtlakové vlny, neprincipiálně omezena. Piezoelektrické generátory toto umožňují, avšak napájecí zdroje jsou pak velice složité a také celková energie rázové vlny je limitována mechanickou pevností piezoelektrických elementů.

Z těchto výše popsaných důvodů byl na Ústavu fyziky plazmatu vyvinut zcela nový způsob generování rázových vln. Jeho hlavní myšlenkou, ze které se vycházelo, bylo, že pokud má být způsobeno lokální poškození v akusticky homogenním prostředí, potom je nutné využít buď efektu kavitací, nebo využít dvou po sobě jdoucích rázových vln, tzv. tandemových rázových vln, kdy první vlna vytvoří v ohnisku akustickou nehomogenitu a druhá vlna se pak na ní utlumí [35,37,39].

Již dříve byla zkoumána možnost dvou interagujících vln. Byla využita dvojice rázových vln generovaných krátce po sobě tak, že druhá vstupovala do nezrelaxovaného prostředí, které vytvořila v ohnisku první vlna. Zde potom uvolňuje část své energie, kterou nesou pozitivní část vlny. Jako zdroj rázových vln zde byl použit litotryptor Medilit, který má amplitudu pozitivní části $P+ = 500500$ bar a části negativní $P- = 20$ bar. Přístroj byl upraven tak, že generoval dvě po sobě jdoucí rázové vlny se zpožděním 5 ms. Jako vzorek, na kterém se účinky testovaly, byla zvolena suspenze erytrocytů a sledovala se hemolýza. V experimentu bylo prokázáno, že toxicita interagujících

rázových vln je vyšší než jednoduché rázové vlny. Jejich toxický efekt byl tedy potvrzen [40].

Nový generátor tedy vycházel z výše popsané myšlenky. Při vývoji generátoru byly využity poznatky získané při výzkumu impulsních koronových výbojů pro čištění vody. Způsob vytváření objemového koronového výboje ve vodě je patentově chráněn. Podstata spočívá v tom, že mezi elektrodami, na které je přiloženo impulsní napětí, dochází ke koronovému výboji. Intenzita elektrického pole v blízkosti alespoň jedné z elektrod se zvýší částečným pokrytím této elektrody pevným, nebo plynným dielektrikem. Na povrchu elektrody se tak vytvoří místa styku materiálu elektrody a dielektrika s rozdílnými dielektrickými konstantami. V místech styku elektrody s dielektriky s různými dielektrickými konstantami (trojné body) se po připojení napětí vytváří elektrické pole. Díky použití trojných bodů je možné dosáhnout deseti až osmdesáti násobného zvýšení elektrického pole v porovnání s elektrodou bez trojných bodů. Tyto trojné body můžeme na elektrodě vytvořit takto:

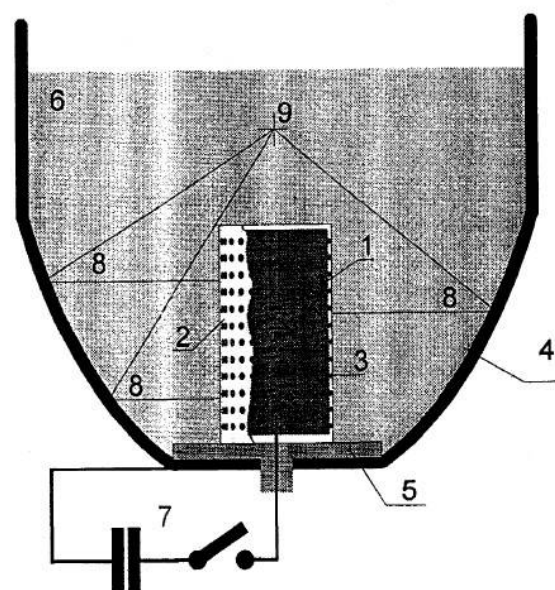
- a) elektroda je pokryta porézní vrstvou keramiky
- b) elektroda je pokryta přerušovanou vrstvou skla
- c) elektroda je vyrobena z plynopropustného materiálu a připojena k přívodu plynu
- d) elektroda vyrobená z plynopropustného materiálu je pokryta porézní keramikou a je připojena k přívodu plynu

Vlivem toho, že je elektrické pole soustředěno do okolí trojných bodů, rozšiřuje se rozsah použitelných napětí, při kterých nedochází ke vzniku nežádoucích jiskrových výbojů a zároveň se snižují energetické ztráty vlivem nenulové elektrické vodivosti vody [34,41].

Mechanismus vzniku takového koronového výboje ve vodě však není prozatím znám. Z provedených experimentů ovšem plyne, že k jeho vytvoření je nutné elektrické pole řádu 1 MV/cm. Také je známo, že výboj se lépe zapaluje z kladné elektrody.

Nový generátor byl tedy vyvinut na základě znalostí popsaných výše. Generátor je patentově chráněn. Generátor může mít více uspořádání. Jedno z nich je na obrázku 13. U tohoto typu generátoru je válcová tlaková vlna produkována mnohokanálovým výbojem, ke kterému dochází na kompozitní anodě. Kompozitní anoda je tvořena kovovým válcem (1), který je pokryt tenkou vrstvou (0,2–0,5 mm) porézní keramiky (2). Otevřená pórovitost kompozitní anody je 3–5 %. Tato elektroda je umístěna v ose kovového reflektoru (4). Reflektor má tvar části rotačního paraboloidu, který vznikne rotací paraboly kolem osy procházející ohniskem paraboly a kolmé k její ose. Kompozitní anoda je od reflektoru izolována izolátorem (5). Stěny reflektoru tvoří druhou elektrodu (katodu) výbojového obvodu. Prostor mezi oběma elektrodami (6) je zaplněn kapalinou se zvýšenou elektrickou vodivostí, vyšší než 5 mS/cm. Dojde-li k připojení impulsního napětí 15–30 kV z impulzního zdroje (7) k elektrodám, mohou se předvýbojové proudy uzavírat pouze přes jednotlivé otevřené póry. Tímto rozložením předvýbojových proudů dochází k lokálnímu zvýšení intenzity elektrického pole, která je dostatečná k tomu, aby se vytvořil mnohokanálový elektrický výboj. K výboji dochází v jednotlivých pórech izolační vrstvy, následně se v okolí pórů ohřívá voda a to vede ke vzniku mnoha kvazisférických tlakových vln. Jejich superpozicí vznikne válcová tlaková vlna (8), která se šíří od kompozitní anody směrem ke stěnám reflektoru. Reflektorem je tlaková vlna odražena do ohniska (9). Po cestě do ohniska se tlaková vlna transformuje na silnou vlnu rázovou [34,35,42].

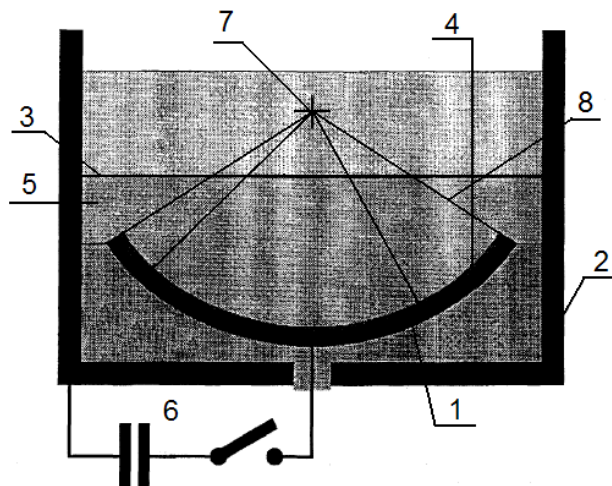
Obr. 13. Schéma nového generátoru rázových vln (válcová elektroda)
 1-kompozitní anoda, 2-izolační vrstva, 3-otevřené póry, 4-reflektor, 5-izolátor, 6-prostor mezi elektrodami, 7-impulzní zdroj, 8-tlaková vlna, 9-ohnisko



Další možné uspořádání je na obrázku 14. tento typ generátoru produkuje sféricky konvergentní tlakové vlny. Anoda je tvořena částí kulového vrchlíku (1) opět je z vnitřní strany pokryta tenkou vrstvou porézní keramiky (4). Druhou elektrodu (katodu) tvoří buď vodivé stěny nádoby (2) nebo tenká fólie (3), kterou může tlaková vlna bez útlumu procházet. Prostor mezi elektrodami (5) je vyplněn kapalinou se zvýšenou elektrickou vodivostí a po připojení impulzního zdroje (6) dochází ke vzniku sféricky konvergentní tlakové vlny (8) podobně jako v předchozím případě. Tlaková vlna je soustředěna do ohniska (9) a po cestě se transformuje na rázovou vlnu [34,35,42].

Obr. 14. Schéma nového generátoru rázových vln (elektroda tvaru části kulového vrchlíku)

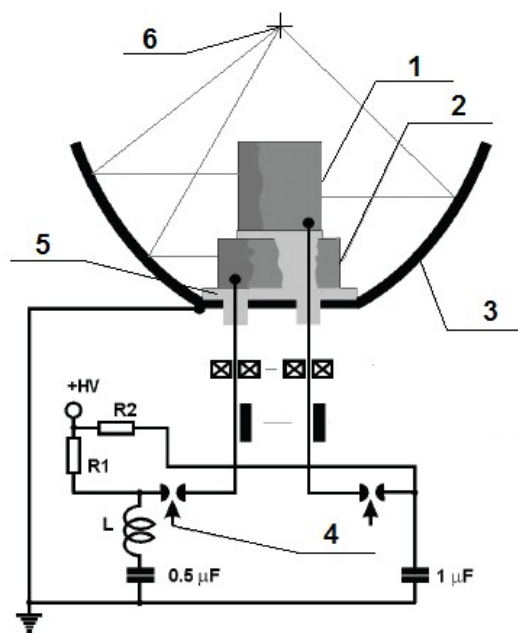
1-kompozitní anoda, 2-stěny nádoby, 3-tenká fólie, 4-izolační vrstva s otevřenými póry, 5-prostor mezi elektrodami, 6-impulzní zdroj, 7-ohnisko, 8-tlaková vlna



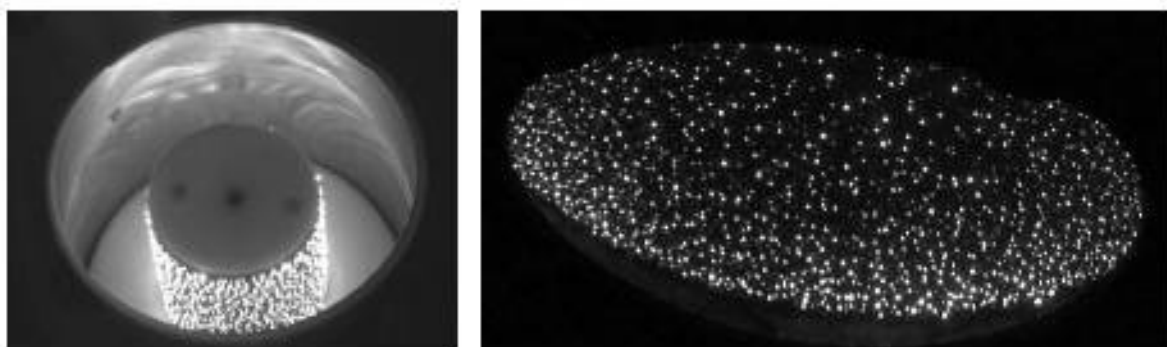
Obrázek 15 ukazuje modifikovanou verzi generátoru z obrázku 13. Zde je kompozitní anoda rozdělena na dvě izolované části. Obě části mohou být spínány zvlášť s daným časovým zpožděním a generovat tak tandemové rázové vlny. Pokud jsou sepnuty současně, potom rázová vlna vytvořená anodou o větším průměru (2) dorazí do ohniska o 5 μ s dříve než rázová vlna vytvořená anodou o menším průměru (1). Parametry rázové vlny mohou být nastaveny [43].

Obr. 15. Schéma nového generátoru rázových vln s rozdělenou válcovou kompozitní anodou.

1-část kompozitní anody s menším průměrem, 2-část kompozitní anody s větším průměrem, 3-reflektor, 4-jiskříšťa, 5-izolátor, 6-ohnisko



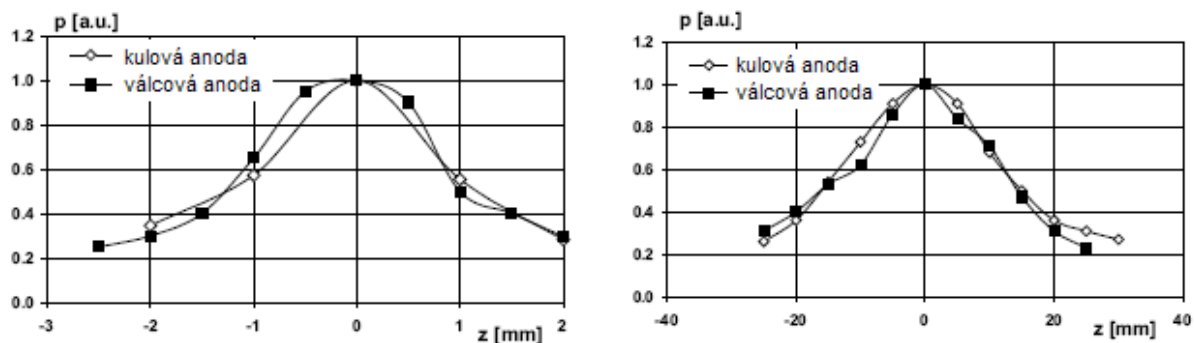
Na obrázku 16 a je zachycen okamžik, kdy na válcové a kulové kompozitní anodě dochází k mnohokanálovému výboji. Na obrázku 16 b (viz příloha) je barevná fotografie kompozitní anody také v čase výboje.



Obr. 16 a. Okamžik mnohokanálového výboje, vlevo válcové, vpravo kulové kompozitní anody.

1.7.2 Výhody nového generátoru

Na rozdíl od generátorů elektrohydraulických či elektromagnetických lze u tohoto nového generátoru ovlivňovat amplitudu i časový průběh tlakové vlny jak volbou parametrů výbojového kanálu, tak změnou vodivosti kapaliny. Pokud nový zdroj rázových vln srovnáme se zdrojem elektromagnetickým, nehrozí zde protržení kovové membrány, ke kterému u elektromagnetického zdroje po jistém počtu rázů dochází. Volbou amplitudy a časového průběhu můžeme dosáhnout stavu, kdy je vlna zředění v ohnisku potlačena, toto je vhodné pro litotrypsi, nebo naopak stavu, kdy vlna zředění je natolik velká že v ohnisku překračuje kavitační práh a dochází tak ke vzniku kavitací. Takto je možno způsobit poškození i v akusticky homogenním prostředí. Generátor dokáže vytvořit rázovou vlnu, kdy pozitivní tlak dosahuje hodnot $P^+=100$ MPa a negativní tlak $P^-=-25$ MPa, což je dostatečné k tvorbě kavitací. Co se týče tvaru a velikosti ohniska, můžeme se podívat na obrázek 17. Zde je zobrazen transverzální a longitudinální tlakový profil v ohnisku jak pro válcovou, tak pro kulovou anodu. Rozměry v polovině maximální amplitudy tlaku je $2,5 \times 32$ mm.



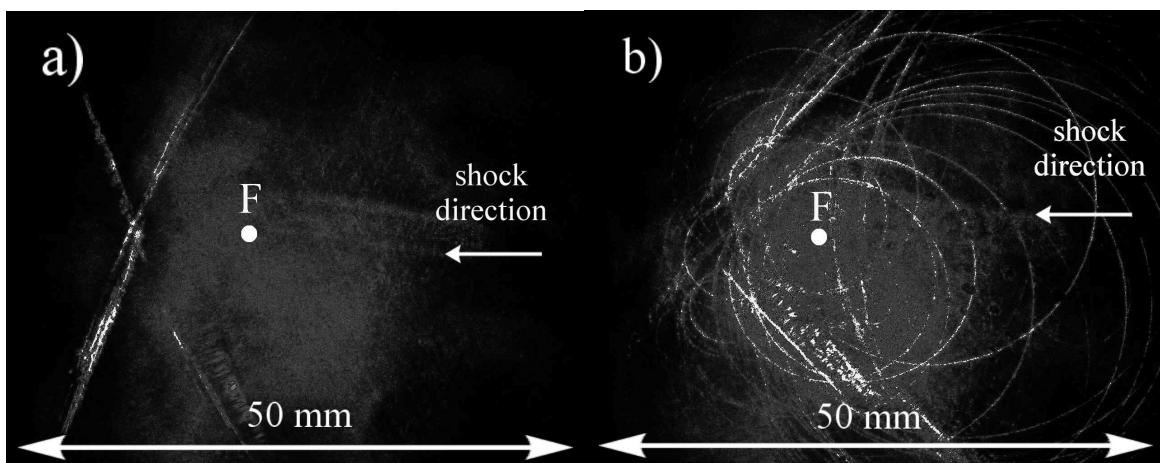
Obr. 17. Tlakový profil ohniska, vlevo příčný, vpravo podélný.

1.7.3 Dosavadní výsledky experimentů

V prvních experimentech prováděných pomocí nového zdroje rázových vln šlo o to prokázat, že rázová vlna z nového generátoru může interagovat i s objekty buněčných rozměrů. V experimentu se sledovala hemolýza erytrocytů způsobená rázovou vlnou. Stupeň hemolýzy stoupal s počtem rázů a lišil se také při připojení různého napětí na zdroj. Ukázalo se, že při 50 rázech byla hemolýza téměř úplná. Výsledky byly srovnávány s litotryptorem Medilit a zde i po 200 rázech byla hemolýza dvakrát nižší než u nového generátoru [37,44].

Dále se ověřovalo, jestli dokáže rázová vlna pronikat do tkání. K tomuto experimentu byla použita čerstvá brambora. Ta má vysoký obsah vody a při mechanickém poškození dochází v tomto místě ke změně barvy. Výsledky ukázaly, že po exponování 10 rázy dochází k poškození uvnitř brambory, aniž by byl poškozen její povrch.

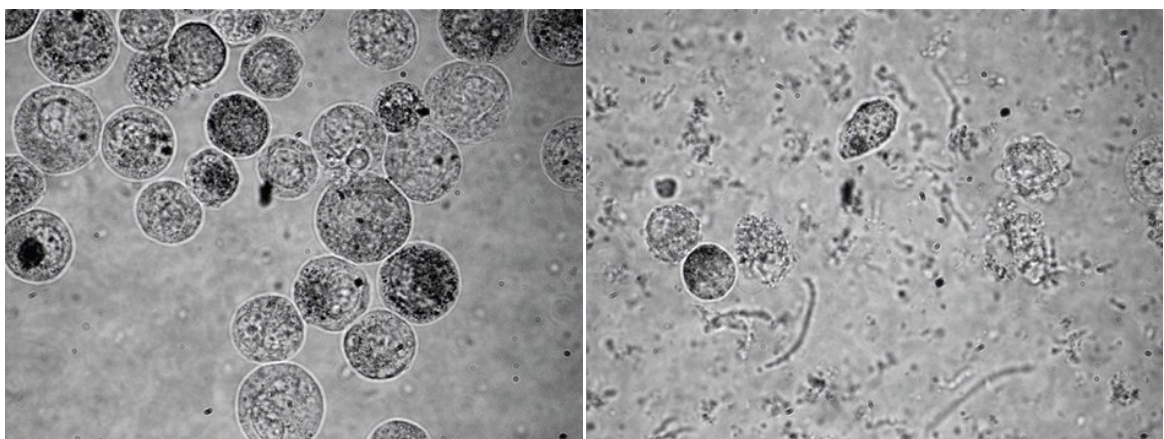
Na obrázku 18 vidíme Schlieren fotografie ohniska při průchodu tandemové rázové vlny generované novým generátorem. Rázová vlna postupuje zprava doleva. První vlna je před druhou o 25 mm. Obrázky ukazují, že pokud jsou generovány dvě vlny, druhá vlna vytváří mnohem více sekundárních rázových vln, vznikajících kolapsem kavitací, než když je generována pouze jedna vlna [43].



Obr. 18. Schlieren fotografie ohniska a) singl vlna, b) dvě vlny

Dále se zkoumalo, jestli je tandemová rázová vlny schopna způsobit poškození uvnitř akusticky homogenní tkáně *in vivo*. Jako pokusný model byl vybrán králík. Ohnisko bylo nastaveno tak, aby se nacházelo v jeho jaterní tkáni, následně mu byly aplikovány rázové vlny. Z výsledků bylo vidět, že došlo k poškození jaterní tkáně v ohnisku. Rozměry poškozené oblasti byly asi 5 x 15 mm. Histologické vyšetření ukázalo, že přechod mezi poškozenou a zdravou tkání je velmi ostrý.

Potom byla exponována suspenze nádorových buněk melanomu B16. Počet buněk na začátku byl 6 milionů, po 90 rázech se snížil na 4 miliony, po 190 rázech na 3,5 milionu, po 270 rázech na méně než 2 miliony a po 350 rázech na 0,5 milionu. Vyšší počet rázů způsobil téměř kompletní destrukci všech nádorových buněk. Na obrázku 19 vlevo jsou neexponované buňky a vpravo buňky exponované 270 rázy.



Obr. 19. Vlevo kontrolní neexponované buňky melanomu B16, vpravo buňky exponované 270 rázy

V rámci tohoto experimentu byla suspenze buněk melanomu B16 exponovaná 600 rázy subkutánně aplikovaná laboratorním myším. Ve srovnání s kontrolní skupinou byla doba přežití u skupiny pokusné prodloužena o 13 dní. A růst nádoru byl zpožděn [45].

Ve své bakalářské práci jsem ověřoval účinek rázové vlny na tkáň *in vivo*. Jako pokusné zvíře jsem zvolil laboratorní potkany. Rázové vlny jsem aplikoval do oblasti jater a poškození způsobené rázovou vlnou jsem sledoval v čase na snímcích z magnetické rezonance (MR) a následně při pitvě a z histologických řezů. Podařilo se mi zjistit, že tandemová rázová vlna generovaná novým zdrojem rázových vln je schopna způsobit poškození *in vivo* v akusticky homogenním prostředí jaterní tkáně. Struktury ležící nad ohniskem jsou bez poškození.

Dále jsem zjišťoval vliv rázové vlny na růst nádoru *in vivo*. Zde byly laboratorním potkanům intradermálně aplikovány nádorové buňky a následně byli ošetřeni rázovou vlnou. V čase se sledoval objem nádoru. Zde jsem zjistil, že růst nádoru je u pokusné skupiny o asi 3 dny zpožděn.

Ze všech výsledků je patrné, že tandemová rázová vlna je schopna způsobit poškození i v akusticky homogenním prostředí.

2 Cíle práce

Cílem této diplomové práce je v úvodu shrnout dosavadní poznatky z oblasti rázových vln a jejich aplikace v medicíně. V části experimentální je cílem potvrdit účinky tandemových rázových vln generovaných novým generátorem na tkáň *in vivo*. Ověřit, že dochází k poškození v konkrétním místě v hloubce v akusticky homogenním prostředí, přičemž povrchové struktury, kterými vlna prochází, by měly být bez poškození. Výsledky budou sledovat v čase prostřednictvím snímků z magnetické rezonance a následně při pitvě a z histologických řezů.

Dalším cílem experimentální části je zjistit, jestli rázová vlna generovaná novým zdrojem rázových vln je schopna způsobit poškození nádorové tkáně *in vivo*. V tomto experimentu budou využiti, jako zvířecí model, potkani, kterým budou aplikovány nádorové buňky, a následně budou ošetřeni rázovou vlnou. Účinek na nádorovou tkáň bude sledován jak makroskopicky, tak z histologických řezů. Zároveň bude porovnán účinek jednoduchých a tandemových rázových vln.

V další části bude sledován vliv tandemové rázové vlny na nádorovou tkáň *in vivo*, jednak samotné rázové vlny a také v kombinaci s Photosanem (jedná se o fotosenzitizátor). Bude sledován růst v čase a výsledky budou porovnány s kontrolní skupinou.

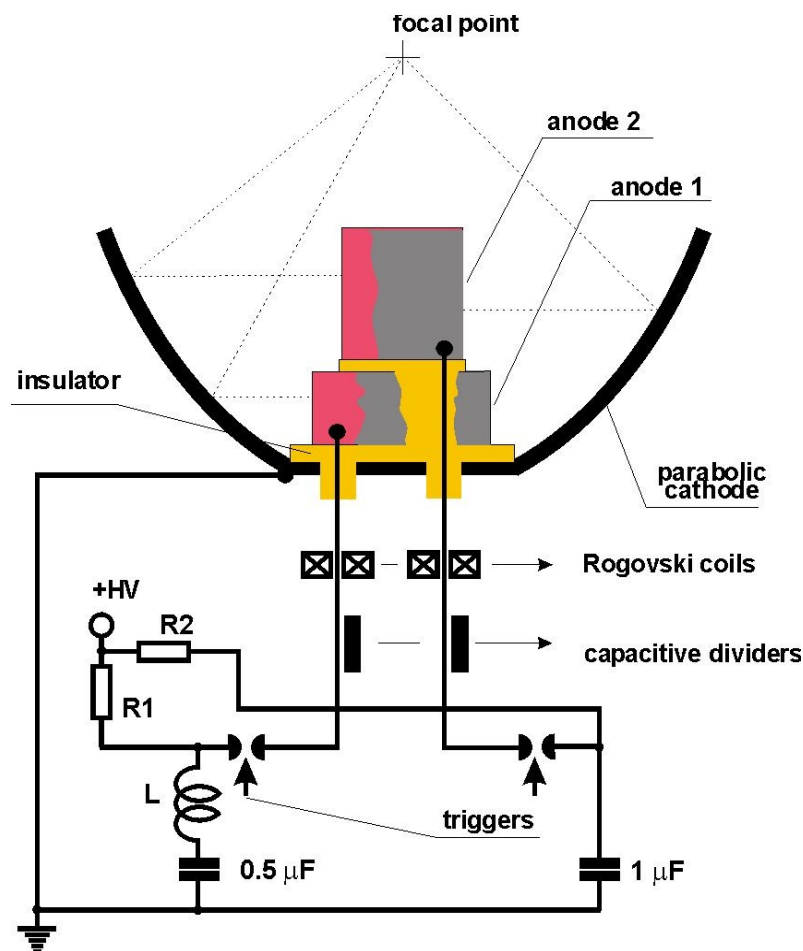
Poté budou sledovány účinky tandemové rázové vlny na nádorovou tkáň *in vivo*, tentokrát v kombinaci s cisplatinou. Růst nádoru bude opět sledován v čase.

Všechny výsledky budou vyhodnoceny.

3 Materiál a metody

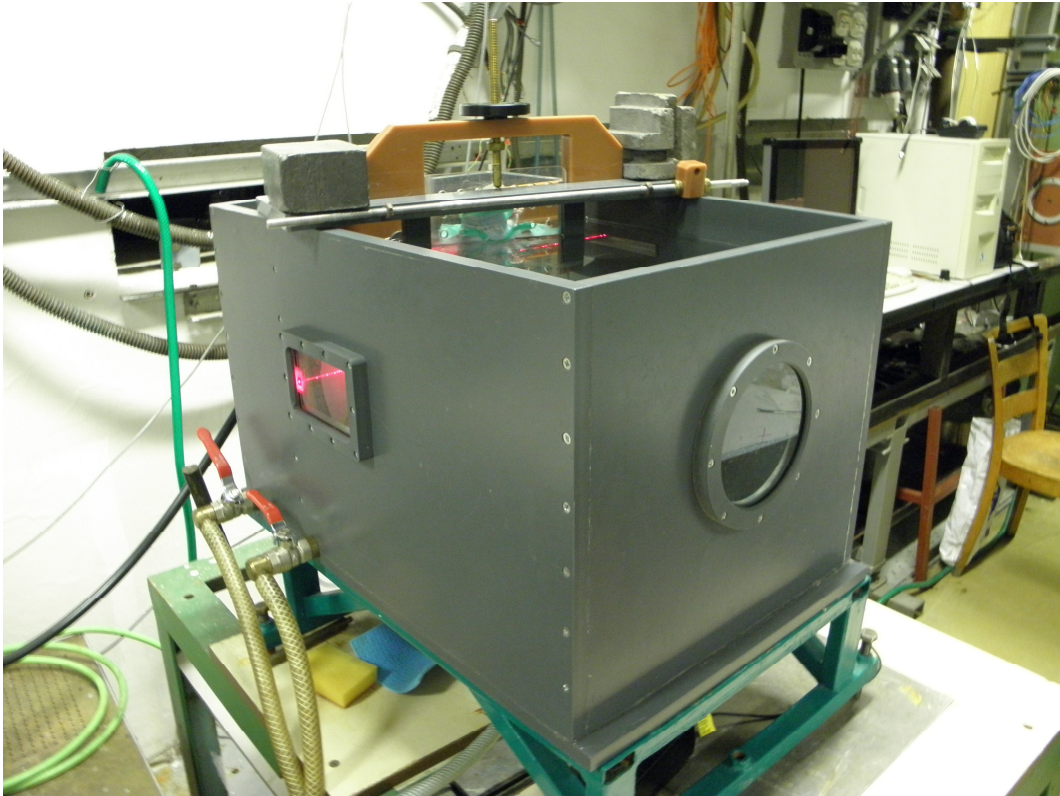
3.1 Generátor rázových vln

Ve všech experimentech byl využit stejný generátor rázových vln. Jedná se o generátor vyvinutý na Ústavu fyziky plazmatu AV ČR. Tento nový zdroj je založen na principu mnohokanálového výboje, ke kterému dochází na kompozitní anodě, jak je popsáno v úvodu. V pokusech je využito uspořádání, kdy je válcová kompozitní anoda rozdělena na dvě části, které jsou od sebe izolované. Napájené jsou tak, že lze na každé z nich generovat tlakovou vlnu separátně s nastavitelným časovým zpožděním. Schéma generátoru je na obrázku 20 a. Na obrázku 20 b, který je v příloze, je fotografie kompozitní anody i s reflektorem. Anoda je vyrobena z nerezové oceli, má rozměry A1 \varnothing 77 x 20 mm a A2 \varnothing 60 x 70 mm, a je pokryta tenkou vrstvou porézní keramiky, která je nanášena metodou plazmového stříkání. Katodu tvoří reflektor, který tlakovou vlnu odráží do ohniska. Časový interval mezi jednotlivými vlnami je 5 μ s. Při napětí 30 kV přesahuje amplituda pozitivního tlaku v ohnisku 100 MPa a tlaku negativního -25 MPa. Rozměr ohniska v poloviční amplitudě tlaku je 2,5 x 32 mm.



Obr. 20 a. Schéma generátoru

Generátor je součástí pokusného přístroje, jehož uspořádání vidíme na obrázku 21. Přístroj tvoří nádrž na vodu, která je rozdělena na dvě části. V jedné části je umístěn generátor rázových vln popsáný výše a tato část je naplněna kapalinou se zvýšenou elektrickou vodivostí ($> 5 \text{ mS/cm}$). Od druhé části je oddělena akusticky transparentní membránou, tak aby při průchodu rázových vln nedocházelo k jejich útlumu. Druhá část je naplněna odplyněnou vodou a při pokusech se zvířecími modely je ohřátá na teplotu 37°C . V této druhé části se nachází ohnisko, kam jsou pomocí reflektoru soustředěny rázové vlny. Poloha ohniska je známá a objekt, který chceme do ohniska umístit, zaměříme pomocí laserového paprsku, který ohniskem prochází. Zvířecí modely jsou při pokusu upevněny na speciální držák. Ten je potom ponořen částečně i se zvířetem do druhé části přístroje.



Obr. 21. Přístroj pro aplikaci tandemových rázových vln

Aplikován je vždy zvolený počet tandemových rázových vln. V druhé experimentu je využita jednoduchá rázová vlna. V tomto případě je pouze vyměněna kompozitní anoda. Pro generování jednoduché rázové vlny má kompozitní anoda pouze jednu část.

3.2 První experiment

Jako zvířecí model byli zvoleni laboratorní králíci. Byli použiti tři samci o váze 4600 g, 3100 g a 3800 g. Králík byl vždy nejprve narkotizován roztokem narkamonu a xylazinu, který se běžně k těmto účelům používá. Roztok byl aplikován intramuskulárně. Po narkotizování byly depilovány chlupy na pravém stehenním svalu králíka a následně byl upevněn do připraveného držáku tak, aby byl jeho pravý stehenní sval z laterální strany.

Potom byl i s držákem ponořen do pokusného zařízení. Poloha byla nastavena pomocí zaměřovacího laserového paprsku tak, že se ohnisko nacházelo v pravém stehenním svalu králíka hlouběji pod povrchem. Každému králíkovi bylo aplikováno 1800 tandemových rázových vln.

Po rázování byl králík usušen a převezen do IKEMu na snímkování magnetickou rezonancí. Pro snímkování byl použit přístroj MR tomograph Siemens Magnetom Trio 3 T v IKEM, který je na obrázku 22. Na tomto přístroji bylo provedeno vždy více snímkovacích sekvencí. Králík byl během snímkování stehna pod narkózou, opět byl podán roztok Narkamonu a Xylazinu. Snímkování bylo provedeno první, třetí a sedmý den po rázování. Sedmý den po rázování byla provedena pitvu a odebrány vzorky pro histologii. Stehenní sval byl rázován proto, že sval na pravé noze sloužil jako pokusný a sval na levé noze jako kontrolní.



Obr. 22. MR tomograph Siemens Magnetom Trio 3 T

3.3 Druhý experiment

V druhém experimentu bylo použito 8 potkanů kmene Lewis. Jejich váha se pohybovala v rozmezí 200–250 g. Na pravý a také na levý bok kaudálně jim byly aplikovány intradermálně buňky syngenního sarkomu. Potom co nádory zvětšily svoji velikost na hodnoty kolem 2,5 cm, byli převezeni na rázování. Potkani byli narkotizováni roztokem Narkamonu a Xylazinu, který jim byl aplikován intramuskulárně. Roztok byl naředěn takto:

- Na 1 kg hmotnosti - 2 ml Narkamonu
- 0,7 ml Xylazinu
- 2,3 ml vody pro injekce

Místo na boku, kde se nádorová tkáň nacházela, bylo oholeno a potkan byl upevněn do připraveného držáku. Potom byl potkan i s držákem umístěn do pokusného zařízení tak, aby ohnisko rázových vln leželo v nádorové tkáni. Zaměření bylo kontrolováno laserovým optickým paprskem.

Potkani byli rozděleni na dvě skupiny. První skupina čtyř potkanů byla ošetřena jednoduchou rázovou vlnou. Ošetřen byl vždy jen jeden nádor, druhý sloužil jako kontrolní. Druhá skupina čtyř potkanů byla ošetřena tandemovou rázovou vlnou a opět byl ošetřen jen jeden nádor. U obou skupin bylo aplikováno 600 rázů.

Po rázování byli potkani usmrceni a nádorová tkáň byla hodnocena makroskopicky a také byly odebrány vzorky pro histologii.

3.4 Třetí experiment

V tomto experimentu byli použiti outbrední pokusní potkani kmene SD/Cub. Rozdělení byli do tří skupin po 6 potkanech. Jejich váha se pohybovala mezi hodnotami 200–220 g. Nádorové buňky T-lymfomu jim byly aplikovány intradermálně do abdominální oblasti, v počtu 10^6 na potkana. Následně byli převezeni na rázování. Nejprve byli potkani narkotizováni

roztokem Narkamonu a Xylazinu (ředění stejné jako v předchozím případě) a poté jim byly depilovány chlupy v abdominální oblasti tam, kde se nacházel nádor. Potkan byl opět upevněn do držáku a i s tímto držákem umístěn do pokusného zařízení. Potkan byl umístěn tak, aby se nádorová tkáň nacházela v ohnisku rázových vln.

Jak již bylo zmíněno, potkani byli rozděleni do tří skupin.

- 1) První skupina potkanů byla vystavena pouze působení tandemových rázových vln.
- 2) Druhé skupině potkanů byl intravenózně do véna caudalis podán Photosan (391C 358, Seehof Laboratorium GmbH) v dávce 25 mg/kg. Po 48 hodinách byla zvířata vystavena působení tandemových rázových vln.
- 3) Třetí skupina potkanů sloužila jako kontrolní.

Každému potkanovi z obou ošetřovaných skupin bylo aplikováno 1200 tandemových rázových vln. Po rázování byl 3., 7., 10., 14., 17. a 21. den měřen objem nádoru.

3.5 Čtvrtý experiment

V tomto experimentu byli použiti pokusní potkani kmene Lewis. Váha se pohybovala kolem 250 g. Stejně jako v druhém experimentu jim byly intradermálně na pravý i levý bok kaudálně aplikovány nádorové buňky syngenního sarkomu. Potom, co nádory zvětšily svůj objem, byli potkani převezeni na rázování. Jako v předchozích experimentech byli nejprve narkotizováni roztokem Narkamonu a Xylazinu. Následně jim bylo na pravém boku, tam kde se nacházel nádor, depilováno ochlupení, byli upevněni do držáku a umístěni do pokusného zařízení. Potkani byli rozděleni do těchto skupin:

- 1) První skupina potkanů byla vystavena působení tandemových rázových vln

2) Druhé skupině byla před rázováním aplikována cisplatina (50 mg MO1030AC, Medac) v dávce 5 mg/kg. A poté byla rázována.

3) Třetí skupině byla aplikována pouze cisplatina v dávce 5mg/kg.

V každé skupině bylo 10 potkanů. Jako kontrolní sloužil nádor z druhého boku zvířete. Každé zvíře bylo ošetřeno nejprve 120 rázy z jednoho úhlu a následně 120 rázy z úhlu druhého. Po aplikaci tandemový rázových vln byly měřeny objem nádoru a to 1., 4., 7. a 11. den po rázování.

4 Výsledky

4.1 První experiment

V prvním experimentu byl exponován stehenní sval tří králíků. Stehenní sval na druhé noze sloužil jako kontrola. Každý z králíků byl vystaven působení 1800 tandemových rázových vln. Aplikace rázových vln proběhla bez komplikací. Králík byl snímkován magnetickou rezonancí první, třetí a sedmý den po rázování. Na obrázcích 23 a 24 vidíme snímky králíka jeden den po rázování. Časy TE a TR byly nastaveny takto, TE = 20 ms a TR = 642 ms. Tloušťka vrstvy byla nastavena na 2 mm. Stehenní sval, který se nacházel v ohnisku rázových vln, je na pravé straně. Jak vidíme na obrázcích, ve stehenním svalu v místě ohniska rázových vln došlo k poškození (bílá šipka). Vznikl zde hematoma a kolem je viditelný edém. Druhá noha kontrolní je bez viditelného poškození. Poškozené místo je zde zobrazeno ve dvou řezech. Na obrázku 23 je řez transversální a na obrázku 24 řez frontální.



Obr. 23. MR snímek první den po rázování, řez stehenním svalem králíka

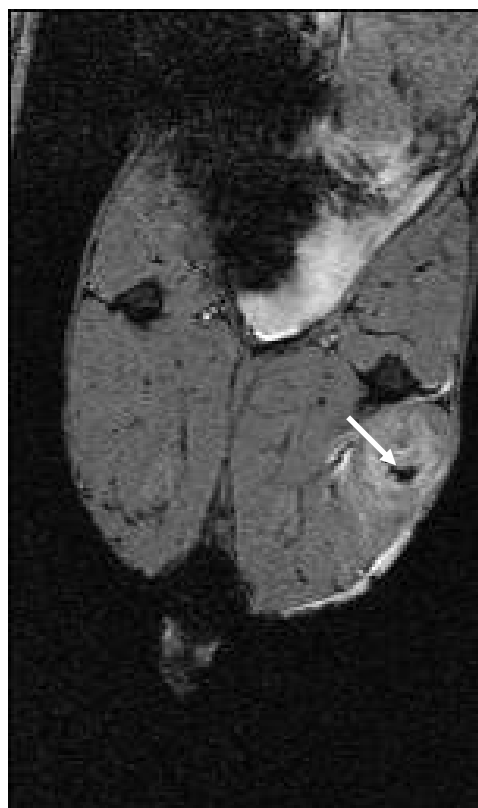


Obr. 24. MR snímek první den po rázování, řez stehenním svalem králíka

Na obrázcích 25 a 26 jsou opět dva různé řezy stehenním svalem králíka v místě, kde se nacházelo ohnisko. MR snímkování bylo provedeno třetí den po rázování. Na obou snímcích je viditelné poškození (bílá šipka). To přetrvává, jedná se o hematom obklopený edémem. Na druhém stehenním (kontrolním) svalu nejsou žádné patrné změny.



Obr. 25. MR snímek třetí den po rázování, řez stehenním svalem králíka



Obr. 26. MR snímek třetí den po rázování, řez stehenním svalem králíka

Na posledních dvou snímcích z magnetické rezonance, obrázky 27 a 28, jsou dva řezy místem ohniska rázové vlny. Snímky byly pořízeny sedmý den po aplikaci rázových vln. Je vidět, že poškozené místo není tak velké, jako v předchozích případech. Došlo k částečnému zhojení. Je zde viditelný pouze malý hematoma (bílá šipka) a edém je také menší. Druhý stehenní sval je bez poškození.



Obr. 27. MR snímek sedmý den po rázování, řez stehenním svalem králíka



Obr.28. MR snímek sedmý den po rázování, řez stehenním svalem králíka

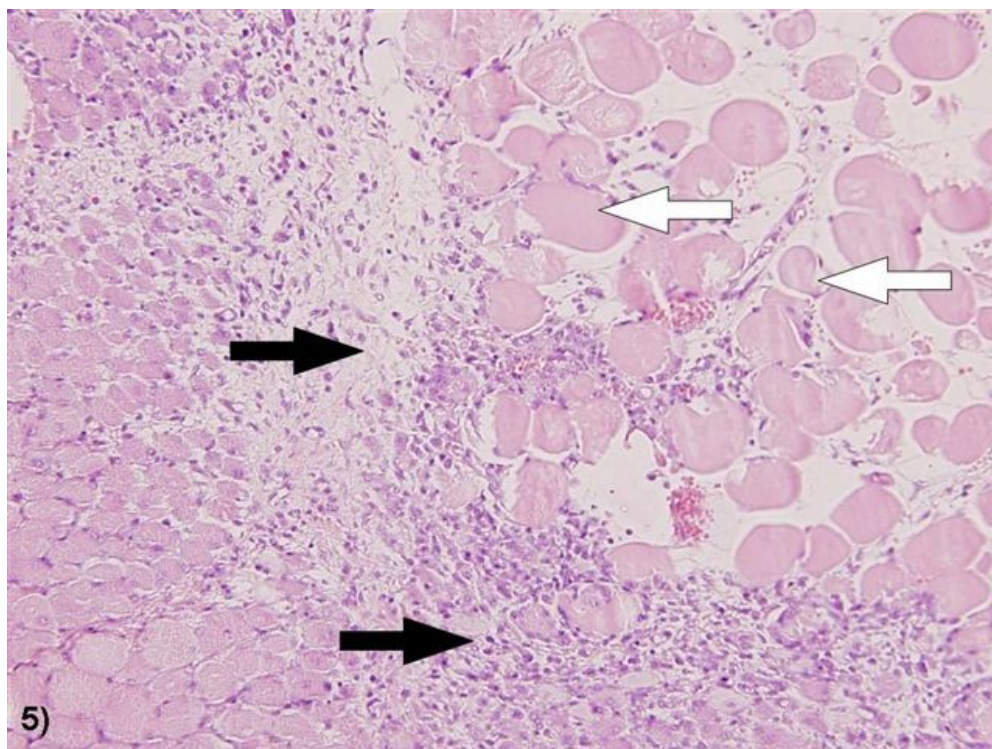
U dvou dalších králíků bylo opět provedeno snímkování první, třetí a sedmý den po aplikaci rázových vln. Výsledky byly podobné. U obou bylo v místě ohniska rázových vln ve stehenním svaly patrné poškození. Stejně jako u prvního zvířete šlo o hematom obklopený edémem. Třetí den poškození přetrvávalo a sedmý den došlo opět k částečnému zhojení. Stehenní sval, který tandemovými rázovými vlnami ošetřován nebyl, byl bez poškození.

Sedmý den po ošetření rázovými vlnami byla provedena pitva a odebrány vzorky na histologii. Na obrázku 29 je část svaly, který byl zasažen rázovou vlnou. Na obrázku 30 je potom histologický řez. Na tomto řezu je patrné rozsáhlé ložisko granulační tkáně (černě) v terénu subakutních

dystrofických změn svalových vláken (bíle). Podobné výsledky byly nalezeny i druhého a třetího králíka.



Obr. 29. Postižený sval, králík sedmý den po rázování.



Obr. 30. Histologický řez, barveno hematoxylin-eozin, zvětšení 200x

Výsledkem je tedy fakt, že tandemová rázová vlna dokázala způsobit poškození svalové tkáně (akusticky homogenní prostředí). Toto poškození se nalézalo hlouběji pod povrchem a tkáně při povrchu poškozeny nebyly, jak je vidět ze snímků magnetické rezonance. Poškozené místo bylo ohraničené. Výsledek potvrdily účinky tandemové rázové vlny v měkké tkáni.

4.2 Druhý experiment

V druhém experimentu byla exponována nádorová tkáň *in vivo*. K exponování byly použity dvě různé kompozitní anody. Kompozitní anoda, která generuje jednoduchou rázovou vlnu a anoda, která generuje tandemovou rázovou vlnu. U obou skupin bylo aplikováno 600 rázů. Po ošetření nádorové tkáně rázovými vlnami byli potkani usmrceni a výsledky hodnoceny makroskopicky a z histologických řezů. Druhý nádor, který každé zvíře mělo, sloužil jako kontrolní.

Na obrázku 31 je potkan těsně po ošetření rázovými vlnami. Na povrchu kůže v oblasti, kde se nachází nádor, jsou viditelné petechie způsobené průchodem rázové vlny.



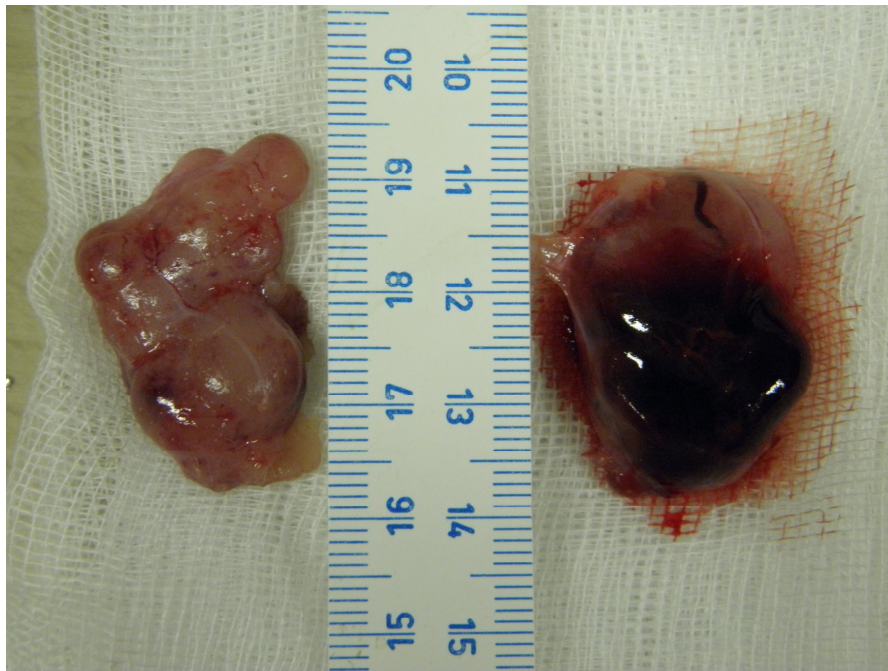
Obr. 31. Potkan těsně po rázování

Na obrázku 32 je nádor po ošetření jednoduchou rázovou vlnou. Rázová vlna přicházela ze směru, který na obrázku naznačuje skalpel. Je vidět masivní hematom a poškození nádoru. Nádor byl následně vyjmut a porovnán s kontrolním na druhém boku.



Obr. 32. Nádor po aplikaci jednoduchých rázových vln

Na obrázku 33 je potom makroskopické srovnání nádoru ošetřeného jednoduchou rázovou vlnou, ten je na obrázku vpravo, s nádorem ze stejného zvířete, který slouží jako kontrolní (ošetřen nebyl). Kontrolní je na obrázku vlevo. Na první pohled je viditelný rozdíl. Zatímco ošetřený nádor je silně poškozen, nádor kontrolní se zdá bez poškození. Po rozříznutí rázovaného nádoru byly na tkáni jasně patrné změny způsobené rázovou vlnou.



Obr. 33. Srovnání pokusného a kontrolního nádoru po rázování jednoduchou RV.

Na obrázku 34 je opět srovnání nádoru ošetřeného tentokrát tandemovými rázovými vlna napravo s nádorem kontrolním nalevo. Na první pohled je patrný rozdíl, kdy ošetřený nádor je značně poškozen. Je zde hematom a poškození samotné tkáně.



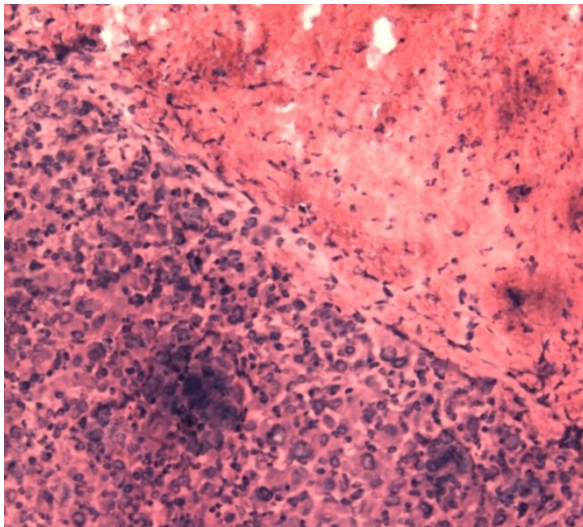
Obr. 34. Srovnání pokusného a kontrolního nádoru po rázování tandemovou
RV

Na obrázku 35 je potom nádor ošetřený tandemovou rázovou vlnou z obrázku 34, který je rozříznut. Rázová vlna přicházela ze směru, který naznačuje skalpel. Na nádoru vidíme jasné známky poškození. To je dále patrné i z histologických řezů. Pokud srovnáme makroskopicky účinky tandemové a jednoduché RV, dá se v zásadě říci, že účinky na nádorovou tkáň jsou podobné.

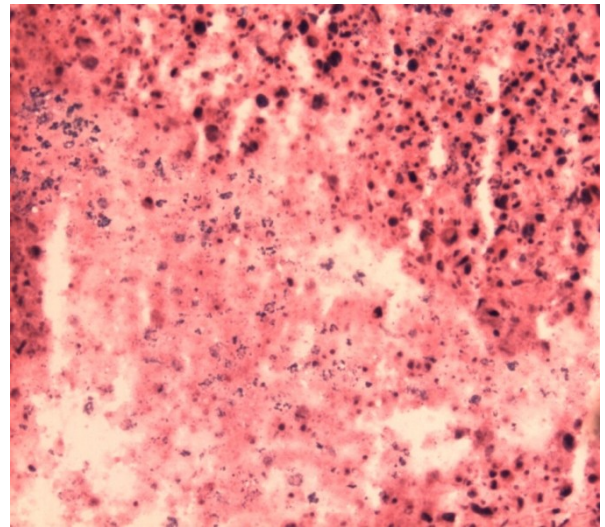


Obr. 35. Nádor ošetřený tandemovými rázovými vlnami

Na obrázcích 36 a 37 máme kryorezy barvené hematoxylin-eosinem. Jedná se o nádory ošetřené rázovou vlnou. Je zde patrný ostrý přechod mezi poškozenou (bílá šipka) a nepoškozenou tkání a také různé stupně poškození nádoru. U všech potkanů byly výsledky podobné, také rozdíl mezi skupinou ošetřenou jednoduchými RV a skupin ošetřenou tandemovými RV nebyl patrný.



Obr. 36. Nádor ošetřený rázovou vlnou
Přechod mezi nepoškozenou a poškozenou tkání

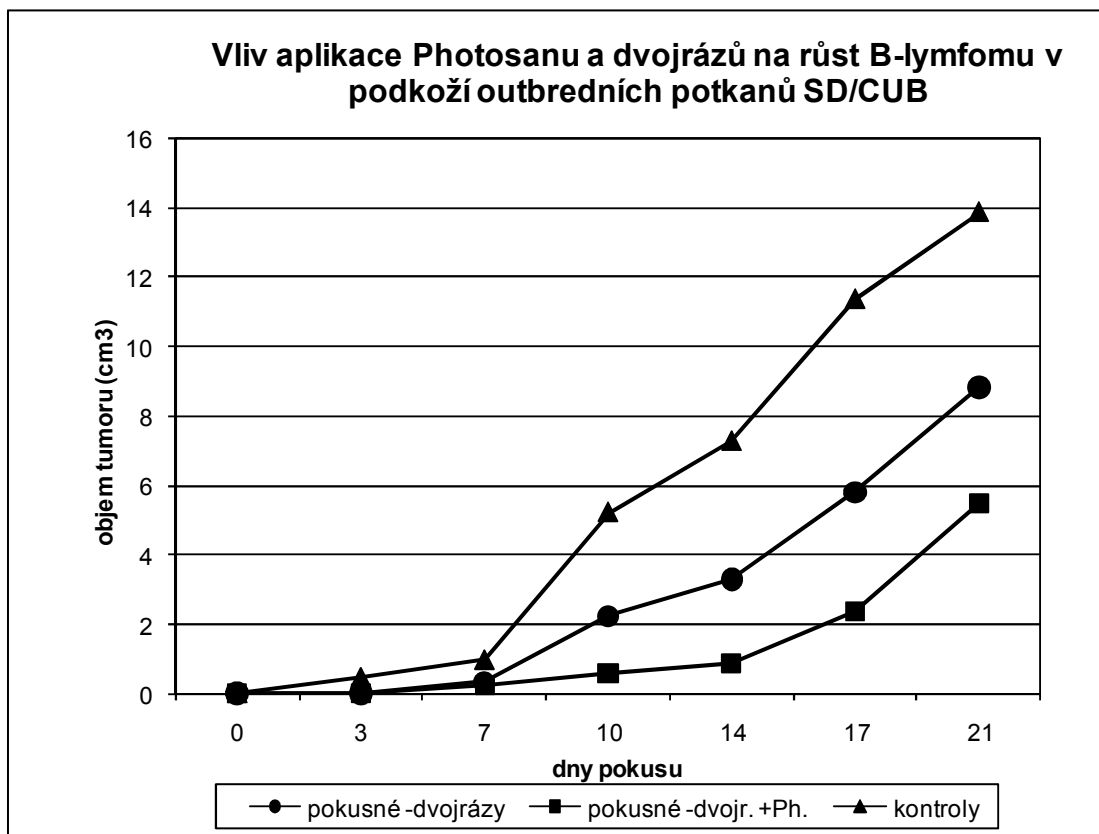


Obr. 37. Nádor ošetřený rázovou vlnou. Různé stupně poškození nádoru

Výsledky tohoto experimentu ukazují, že rázové vlny, jak tandemové tak jednoduché, jsou schopné poškodit nádorovou tkáň *in vivo*.

4.3 Třetí experiment

V tomto experimentu byly sledovány účinky tandemové rázové vlny na nádorovou tkáň *in vivo* v kombinaci s Photosanem (fotosenzitizér). Účinek byl pozorován ve třech skupinách, které byly popsány v metodice. Objem nádoru byl měřen v čase a to 3., 7., 10., 14., 17. a 21. den. Z naměřených hodnot objemu v dané skupině byl vypočítán průměr a ten byl vyneseno do grafu 1. Zároveň jsou průměrné hodnoty objemu nádoru každé skupiny uvedeny v tabulce 3.



Graf. 1. Vývoj růstu nádoru dané skupiny v čase

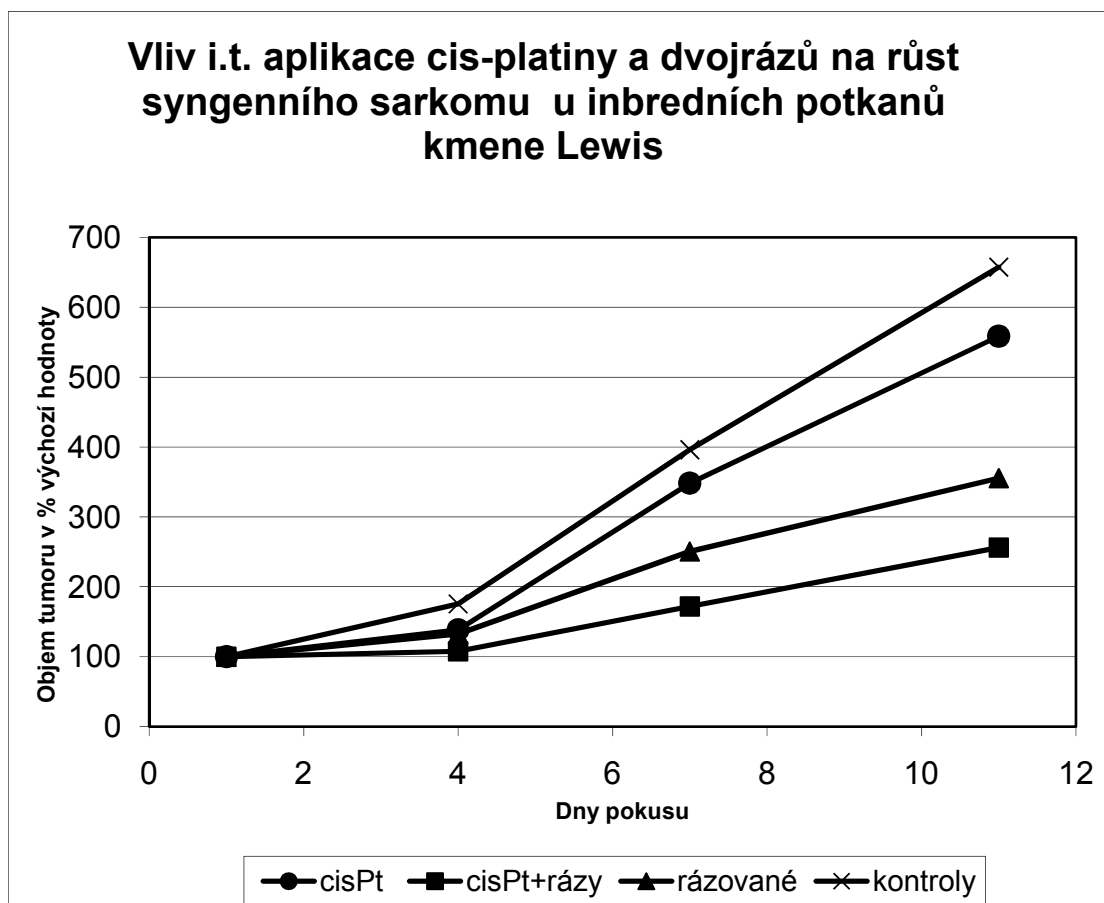
Tab. 3. Průměrné hodnoty objemu nádoru v čase v dané skupině

Skupina, objem [cm ³]	Den	0	3	7	10	14	17	21
pokusné – tandemové rázové vlny		0,02	0,02	0,342	2,242	3,299	5,81	8,8325
pokusné - tandemové rázové vlny. +Photosan		0,02	0,02	0,233	0,586	0,895	2,388	5,504
kontroly		0,02	0,467	0,976	5,231	7,279	11,3655	13,87

Po aplikaci tandemových rázových vln fokusovaných do nádoru, došlo oproti kontrolám k inhibici růstu toho nádoru, jak je vidět z grafu 1. Ještě větší míry inhibice růstu nádoru bylo dosaženo, když byl potkanovi před ošetřením rázovými vlnami aplikován Photosan. V tomto případě je růst zpomalen jak ve srovnání se samotnou rázovou vlnou tak ve srovnání s kontrolní skupinou.

4.4 Čtvrtý experiment

V posledním experimentu byly sledovány účinky tandemových rázových vln na nádorovou tkáň *in vivo*. Dále byl sledován účinek v kombinaci s cisplatinou a porovnán s kontrolní skupinou.



Graf. 2. Vývoj růstu nádoru dané skupiny v čase

Tab. 4. Průměrné hodnoty objemu nádoru v čase v dané skupině

	Den	1	4	7	11
Skupina, objem nádoru v % výchozí hodnoty	cisPt	100	138,55	348,32	558,51
	cisPt+rázy	100	107,68	171,87	256,03
	rázované	100	132,38	250,55	355,35
	kontroly	100	175,49	396,08	657,21

Růst nádoru je po podání cisplatiny zpomalen (viz graf 2 a tabulka 4) oproti kontrolní skupině. Ve srovnání se skupinou, která byla pouze ošetřena rázovými vlnami, je však růst rychlejší. Nejvyšší inhibici růstu nádoru byl zaznamenán u skupiny, které byla podána cisplatinou a následně byla ošetřena rázovými vlnami. Tandemová rázová vlna tedy interagovala s cisplatinou a zpomalila růst nádoru.

5 Diskuse

Rázová vlna se v medicíně používá již více než 25 let. Její počátky jsou spojeny s problematikou desintegrace konkrementů. Pro tento typ ošetření byly vyvíjeny první litotryptory. U nás byl ve spolupráci Ústavu fyziky plazmatu AV s 1. interní klinikou 1. LF UK v Praze vyvinut litotryptor, jehož parametry snesly srovnání s nejlepšími přístroji té doby. Úspěchy v této oblasti podnítily další výzkum a úvahy o využití rázových vln. Dnes se již běžně používají v revmatologii k léčbě úponových bolestí, nebo v orthopedii k léčbě špatně se hojících zlomenin. Nevyšší zájem je však o možnost poškodit pomocí rázové vlny nádorovou tkáň.

Problém, ve srovnání s desintegrací konkrementů, je však v tom, že nádor se od okolní tkáně akusticky téměř neliší. Je tedy potřeba zvolit jiný přístup. Je možné využít buď efektu kavitací, nebo použít dvě krátce po sobě jdoucí rázové vlny, kdy první vytvoří akustickou nehomogenitu a druhá, se na této vytvořené akustické nehomogenitě může disipovat či utlumit. Komerčně využívané litotryptory však nejsou v této oblasti příliš úspěšné. Ve svých experimentech proto pracuji s novým generátorem rázových vln, který vyvinuli pracovníci Ústavu fyziky plazmatu.

Založen je na principu mnohokanálového výboje, ke kterému dochází na kompozitní anodě. Superpozicí jednotlivých tlakových vln, vytvořených mnohokanálovým výbojem, získáme jednu mohutnou tlakovou vlnu. Ta se odráží od reflektoru a je soustředěna do ohniska. Během cesty do ohniska se transformuje na vlnu rázovou.

V této diplomové práci bylo nejprve v prvním experimentu ověřeno, že tandemová rázová vlna generovaná novým zdrojem je schopna způsobit poškození měkké akusticky homogenní tkáně v ohnisku, které se nachází hlouběji pod povrchem. U všech tří králíků na snímcích z magnetické rezonance bylo nalezeno ve stehenním svalu v místě ohniska poškození.

V druhém kontrolním svalu žádné poškození viditelné nebylo. Poškození se po týdnu částečně vstřebalo, ale na histologických vzorcích bylo i tak patrné.

Tandemová rázová vlna tedy dokáže poškodit akusticky homogenní tkáň v ohnisku, aniž by poškodila tkáň blíže při povrchu.

Cílem druhého experimentu bylo ověřit, jestli tandemová a také jednoduchá rázová vlna jsou schopné poškodit nádorovou tkáň *in vivo*. Bylo zjištěno, že obě dvě vlny nádor *in vivo* v ohnisku poškodily a poškození bylo ohraničené. Uplatnil se zde jednak efekt kavitací a u tandemové rázové vlny také efekt dvou interagujících rázových vln. Lze tedy říci, že podle výsledků tandemová i jednoduchá rázová vlna dokáže poškodit nádorovou tkáň.

Ve třetím experimentu bylo opět ověřováno působení tandemové rázové vlny na nádorovou tkáň *in vivo*, tentokrát byla však testována i možná interakce s Photosanem. Jak výsledky ukázaly, tandemová rázová vlna, ve srovnání s kontrolní skupinou, zpomalí růst nádoru. Vyšší inhibiční efekt na růst nádoru ale dosahuje v kombinaci s Photosanem. Je tedy zřejmé, že dochází k interakci RV a Photosanu a ta zvyšuje inhibiční účinek RV na růst nádoru.

Cílem posledního experimentu bylo zjistit, jestli tandemové rázové vlny mohou způsobit inhibici růstu nádoru v kombinaci s cisplatinou. Výsledky potvrdily schopnost inhibice růstu nádoru RV v kombinaci s cisplatinou. Tato inhibice je vyšší než v případě samotné cisplatiny i samotné RV. Je vysoce pravděpodobné, že se zde uplatňuje efekt kavitací, interagujících rázových vln a také zvýšení permeability buněčné membrány.

Experimentálně bylo tedy ověřeno, že tandemová rázová vlna dokáže poškodit akusticky homogenní tkáň v hloubce a dokáže poškodit nádorovou tkáň *in vivo* a to jak samotná (jednoduchá i tandemová), tak v kombinaci s dalšími chemickými látkami jako Photosan (používaný ve fotodynamické terapii nádorového onemocnění), nebo cisplatina (což je cytostatikum). Toxický efekt RV je tedy zřejmý a otevírají se i možnosti kombinace účinku s dalšími chemickými látkami.

6 Závěr

Ve své diplomové práci jsem navázal na svou bakalářskou práci s názvem „Rázové vlny generované pomocí mnohokanálového výboje a jejich účinky na tkáň“. V teoretické části jsem shrnul vývoj uplatnění rázových vln v medicíně u nás i v zahraničí. Popsal jsem biologické účinky rázové vlny. Také jsem popsal nový zdroj rázových vln založený na principu mnohokanálového výboje a výsledky, které byly doposud publikované.

V experimentální části jsem se věnoval možnosti využít efekt rázových vln v onkologii. Nejprve jsem ověřil, že tandemová rázová vlny dokáže způsobit ohraničené poškození akusticky homogenní tkáně. K poškození dochází v ohnisku a tkáň při povrchu jsou bez poškození. Poté jsem se zaměřil na účinek RV na nádorovou tkáň *in vivo*. Ve všech třech dalších experimentech jsem zjistil, že rázová vlna má toxický efekt na nádorovou tkáň, že dokáže zpomalit růst nádoru *in vivo*. Uplatňuje se zde efekt kavitací a také interakce dvou po sobě krátce jdoucích rázových vln. V posledních dvou experimentech jsem pak zkoumal možnost využít RV v kombinaci s další látkou. Použil jsem Photosan a cisplatinu. Zjistil jsem, že s oběma látkami interaguje a způsobuje zpomalení růstu nádoru, které je vyšší než u samotné RV. Je možné, že se zde uplatňuje také princip zvýšení propustnosti buněčné membrány, která je využívána při sonoporaci a v souvislosti s rázovými vlnami se zkoumá možnost doručení látek dovnitř buňky.

Rázovou vlnu by bylo možné v onkologii využít, je však ještě nutné experimentálně ověřit její účinky na různé nádorové linie a také najít optimální nastavení přístroje pro takovou terapii. Ukazuje se, že je možné ji využít samotnou, nebo ji kombinovat s jinými chemickými látkami.

7 Literatura

- [1] MORNSTEIN, Vojtěch. Ultrazvuk v biologii a medicíně. Vesmír. 1995, roč. 74, č. 10, s. 566.
- [2] WILBERT, D. M. A comparative review of extracorporeal shock wave generation.. BJU-Int. . 2002, vol. 90, no. 5, s. 507-511.
- [3] COLEMAN, A.J., SAUNDERS, J.E. A review of the physical properties and biological effects of the high amplitude acoustic fields used in extracorporeal lithotripsy. Ultrasonics. 1993, vol. 31, no. 2, s. 75-89.
- [4] BENEŠ, Jiří. Zavedení nového litotryptoru do klinické praxe a neobvyklé aplikace rázových vln. Praha, 2000. 146 s. Universita Karlova 1. lékařská fakulta. Habilitační práce.
- [5] SHRIVASTAVA, S. K.; KAILASH. Shock wave treatment in medicine. Journal of Biosciences. 2005, vol. 30, no. 2, p. 269-275.
- [6] DVOŘÁČEK, J.: Urologie I. ISV nakladatelství Praha. (1998).
- [7] GRASSO, Michael. Extracorporeal Shockwave Lithotripsy. eMedicine [online]. 2008 .
- [8] SAUERBRUCH, T. Extracorporeal shock wave lithotripsy. *Digestion*. 1997, vol. 58, no. 1, s. 98-100.
- [9] MCCLURE, S. R.; VAN SICKLE, D.; WHITE, M. R. Effects of Extracorporeal Shock Wave Therapy on Bone. *Veterinary Surgery*. 2004, vol. 33, no. 1, p. 40-48.
- [10] LEWIS, G. Effect Of Lithotripter Treatment On The Fracture-Toughness Of Acrylic Bone-Cement. *Biomaterials*. 1992, vol. 13, no. 4, p. 225-229.
- [11] WEINSTEIN, JN, DM OSTER, J PARK, S PARK, a S LOENING. The effect of the extracorporeal shock-wave lithotripter on the bone-cement interface in dogs. *Clinical orthopaedics and related research* 1988, p. 261-267.
- [12] STRANNE, SK et al. Would revision arthroplasty be facilitated by extracorporeal shock-wave lithotripsy - an evaluation including whole bone strength in dogs. *Clinical orthopaedics and related research* 1993, p. 252-258.

- [13] SHIMOKAWA, H., K. ITO, Y. FUKUMOTO, A S. YASUDA. Extracorporeal cardiac shock wave therapy for ischemic heart disease. Shock waves 2008, vol. 17, p. 449-455.
- [14] JARGIN, SV. Shock wave therapy of ischemic heart disease in the light of general pathology. International Journal Of Cardiology 2010,vol. 144, p. 116-117.
- [15] VASYUK, YURY A et al. Initial Clinical Experience With Extracorporeal Shock Wave Therapy in Treatment of Ischemic Heart Failure. Congestive Heart Failure 2010, vol. 16, p. 226-230.
- [16] ZIMPFER, D et al. Direct epicardial shock wave therapy improves ventricular function and induces angiogenesis in ischemic heart failure. JOURNAL OF THORACIC AND CARDIOVASCULAR SURGERY 2009, vol. 137, p. 963-970.
- [17] BENEŠ, Jiří, et al. První experimentální poznatky o narušování žlučových kamenů fokusovanou rázovou vlnou. Čas. Lék. čes.. 1986, roč. 125, č. 14, s. 433-435.
- [18] BENES JIRI (CS); KORDAC VACLAV (CS); (+6). Device for hepatoolithes impairment. CS251199. Česká republika. Patentový spis. 1987-06-11.
- [19] BENEŠ, Jiří, et al. Preclinical verification of possible extracorporeal lithotripsy of gall stones in experimental animals. Sborník lékařský. 1987, roč. 89, č. 5, s. 129-133.
- [20] BENEŠ, J., et al. Extracorporeal shock wave lithotripsy of gallstones with oral dissolution. Results in course of ten years in Czech Republic in correlation to indication criteria.. Sbornik lekarsky. 2001, vol. 102, no. 1, s. 17-22.
- [21] BENEŠ Jiří, Šunka Pavel, Kordač Václav, Bárta Zbyšek, Štuka Čestmír, Figura Zdeno, Jirsa Milan. Zařízení pro klinické provádění mimotělní lithotripsie žlučových kamenů. 261485. ČR. A61B17/22. 1990-01-02.
- [22] BENEŠ, Jiří, et al. První zkušenosti s ČSL. zařízením k léčbě ledvinových kamenů litotripsí rázovou vlnou. Prakt. Lék.. 1989, roč. 69, č. 23, s. 884-887.
- [23] BENEŠ, Jiří, et al. Léčba ledvinových kamenů litotripsí rázovou vlnou se sonografickým zaměřením. Sborník lékařský. 1991, roč. 93, č. 9-10, s. 293-299.

- [24] LINGEMAN, J. E. SOUČASNOST EXTRAKORPORÁLNÍ LITOTRYPSE. Urologické listy. 2004, č. 2, s. 5-11.
- [25] RASSWEILER, JENS J. et al. Shock Wave Technology and Application: An Update. European Urology 2011, vol. 59, p. 784-796.
- [26] DELIUS, MICHAEL. History of shock wave lithotripsy. AIP Conference Proceedings 2000, vol. 524, p. 23.
- [27] DELIUS, MICHAEL. Twenty Years of Shock Wave Research at the Institute for Surgical Research. European Surgical Research 2002, vol. 34, p. 30-36.
- [28] KODAMA, TETSUYA, APOSTOLOS G DOUKAS, A MICHAEL R HAMPLIN. Delivery of ribosome-inactivating protein toxin into cancer cells with shock waves. Cancer Letters 2003, vol. 189, p. 69-75.
- [29] LAUER, U et al. Shock wave permeabilization as a new gene transfer method. Gene Therapy 1997, vol. 4, p. 710-715.
- [30] DELIUS, MICHAEL, A GERHARD ADAMS. Shock Wave Permeabilization with Ribosome Inactivating Proteins: A New Approach to Tumor Therapy. Cancer Research 1999, vol. 59, p. 5227 -5232.
- [31] OHL, CLAUS-DIETER et al. Sonoporation from Jetting Cavitation Bubbles. Biophysical Journal 2006, vol. 91, p. 4285-4295.
- [32] WOLFRUM, B. Cavitation and shock wave effects on biological systems. Dissertation 2004
- [33] SHIMA, A. Studies on bubble dynamics. *Shock Waves*. 1997, no. 7, s. 33-42.
- [34] ZEMAN, Jan. Rázové vlny generované pomocí mnohokanálového výboje a jejich účinky na tkáň [Shock waves generated by multichannel discharge and their effects on tissue]. Praha, 2009. 42 s. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav biofyziky a informatiky 1. LF UK. Vedoucí bakalářské práce Jiří Beneš.
- [35] SUNKÁ PAVEL DOC ING CSC (CZ); BABICKÝ VACLAV RNDR (CZ); (+3). Generation method of focused shock wave by electric discharge in a liquid and apparatus for making the same. CZ20001513. Česká republika. Patentový spis. 2002-08-14.
- [36] UNIV KARLOVA (CS). Method and apparatus for adjusting the spark gap of a non-invasive lithotripter.. SUNKÁ PAVEL; BABICKÝ VACLAV RNDR; (+5). EP0349915. Česká republika. Patentový spis. 1990-01-10.

- [37] ŠUNKA, Pavel. Impulzní elektrické výboje ve vodě a jejich využití v ekologii a medicíně. Dostupný z WWW: <<http://www.otevrena-veda.cz/ov/users/Image/default/C1Kurzy/NH2006pdf/8.pdf>>.
- [38] ILLING, R O et al. The safety and feasibility of extracorporeal high-intensity focused ultrasound (HIFU) for the treatment of liver and kidney tumours in a Western population. *British Journal of Cancer* 2005, vol. 93, p. 890-895.
- [39] LOSKE, ACHIM M, FERNANDO E PRIETO, FRANCISCO FERN NDEZ, A JAVIER VAN CAUWELAERT. Tandem shock wave cavitation enhancement for extracorporeal lithotripsy. *Physics in Medicine and Biology* 2002, vol. 47, p. 3945-3957.
- [40] BENEŠ, J., et al. Biologické účinky interagujících rázových vln. Modelová studie účinků IRV s využitím stanovení hemolýzy erytrocytů.. *Sborník lékařský*. 1997, roč. 98, č. 4, s. 277-282.
- [41] ŠUNKA PAVEL DOC ING CSC (CZ); BABICKY VACLAV RNDR (CZ); (+2). Method of generating spacious corona discharge in water and apparatus for making the same. CZ9601596. Česká republika. Patentový spis. 1997-08-13.
- [42] ŠUNKA, P., et al. Potential applications of pulse electrical discharges in water. *Acta physica slovacica*. 2004, vol. 54, no. 2, s. 135-145.
- [43] STELMASHUK, V., ŠUNKA, P. Mutual interaction of two shock waves with a different time delay. *Czechoslovak Journal of Physics*. 2006, Vol. 56, s. B396-B400.
- [44] BENEŠ, J., ŠUNKA, P., HANI, A. B. Sledování hemolýzy po působení rázové vlny vytvořené novou metodou pomocí mnohakanálového výboje. *Sborník lékařský*. 2001, roč. 102, č. 1, s. 29-35.
- [45] BENEŠ, J., et al. Biological Effects of Two Successive Shock Waves Focused on liver tissues and melanoma cells. *PHYSIOLOGICAL RESEARCH*. 2007, Vol. 56, s. S1-S4.

8 Seznam obrázků, tabulek a grafů

- Obr. 1.** Závislost tlaku na čase pro ultrazvukové vlnění [34]. Str. 8
- Obr. 2.** Závislost tlaku na čase pro rázovou vlnu [34]. Str. 8
- Obr. 3.** Dornier Lithotripter HM3 [5]. Str. 10
- Obr. 4.** Provedení experimentálního reflektoru [18]. Str. 13
- Obr. 5** Schéma litotryptoru se sonografickým zaměřením [21]. Str. 14
- Obr. 6.** Konkrement a jednotlivé mechanismy desintegrace [5]. Str. 20
- Obr. 7.** Schéma elektrohydraulického generátoru rázových vln [18]. Str. 26
- Obr. 8.** Schéma elektromagnetického generátoru s cylindrickou membránou [34]. Str. 27
- Obr. 9.** Schéma elektromagnetického generátoru s rovinnou membránou [34]. Str. 27
- Obr. 10.** Schéma piezoelektrického generátoru rázových vln [34]. Str. 28
- Obr. 11.** Schematické znázornění fokusačních systémů [2]. Str. 29
- Obr. 12.** Přístroj Medilit se skiagrafičtým a ultrasonografičtým zaměřovací m systémem [<http://www.medipo.cz/litotryptor.htm>]. Str. 31
- Obr. 13.** Schéma nového generátoru rázových vln (válcová elektroda) [35]. Str. 34
- Obr. 14.** Schéma nového generátoru rázových vln (elektroda tvaru části kulového vrchlíku) [35]. Str. 35
- Obr. 15.** Schéma nového generátoru rázových vln s rozdělenou válcovou kompozitní anodou [45]. Str. 36
- Obr. 16 a.** Okamžik mnohokanálového výboje, vlevo válcové, vpravo kulové kompozitní anody [42]. Str. 36
- Obr. 16 b.** Kompozitní anoda v čase výboje. Str. 73
- Obr. 17.** Tlakový profil ohniska, vlevo příčný, vpravo podélný [42]. Str. 37
- Obr. 18.** Schlieren fotografie ohniska a) singl vlna, b) dvě vlny [43]. Str. 38
- Obr. 19.** Vlevo kontrolní neexponované buňky melanomu B16, vpravo buňky exponované 270 rázy [45]. Str. 39
- Obr. 20 a.** Schéma generátoru. Str. 43

- Obr. 20 b.** Kompozitní anoda skládající se ze dvou částí spolu s reflektorem. Str. 73
- Obr. 21.** Přístroj pro aplikaci tandemových rázových vln. Str. 44
- Obr. 22.** MR tomograph Siemens Magnetom Trio 3 T. Str. 45
- Obr. 23.** MR snímek první den po rázování, řez stehenním svalem králíka. Str. 50
- Obr. 24.** MR snímek první den po rázování, řez stehenním svalem králíka. Str. 50
- Obr. 25.** MR snímek třetí den po rázování, řez stehenním svalem králíka. Str. 51
- Obr. 26.** MR snímek třetí den po rázování, řez stehenním svalem králíka. Str. 51
- Obr. 27.** MR snímek sedmý den po rázování, řez stehenním svalem králíka. Str. 52
- Obr. 28.** MR snímek sedmý den po rázování, řez stehenním svalem králíka. Str. 52
- Obr. 29.** Postižený sval, králík sedmý den po rázování. Str. 53
- Obr. 30.** Histologický řez, barveno hematoxylin-eozin, zvětšení 200x. Str. 53
- Obr. 31.** Potkan těsně po rázování. Str. 55
- Obr. 32.** Nádor po aplikaci jednoduchých rázových vln. Str. 55
- Obr. 33.** Srovnání pokusného a kontrolního nádoru po rázování jednoduchou RV. Str. 56
- Obr. 34.** Srovnání pokusného a kontrolního nádoru po rázování tandemovou RV. Str. 57
- Obr. 35.** Nádor ošetřený tandemovými rázovými vlnami. Str. 58
- Obr. 36.** Nádor ošetřený rázovou vlnou Přechod mezi nepoškozenou a poškozenou tkání. Str. 59
- Obr. 37.** Nádor ošetřený rázovou vlnou. Různé stupně poškození nádoru. Str. 59
- Tab. 1.** Hodnoty parametrů komerčně využívaných litotryptorů [3]. Str. 16

Tab. 2. Hodnoty rychlosti zvuku, hustoty a akustické impedance pro jednotlivé druhy medií [9]. Str. 17

Tab. 3. Průměrné hodnoty objemu nádoru v čase v dané skupině . Str. 60

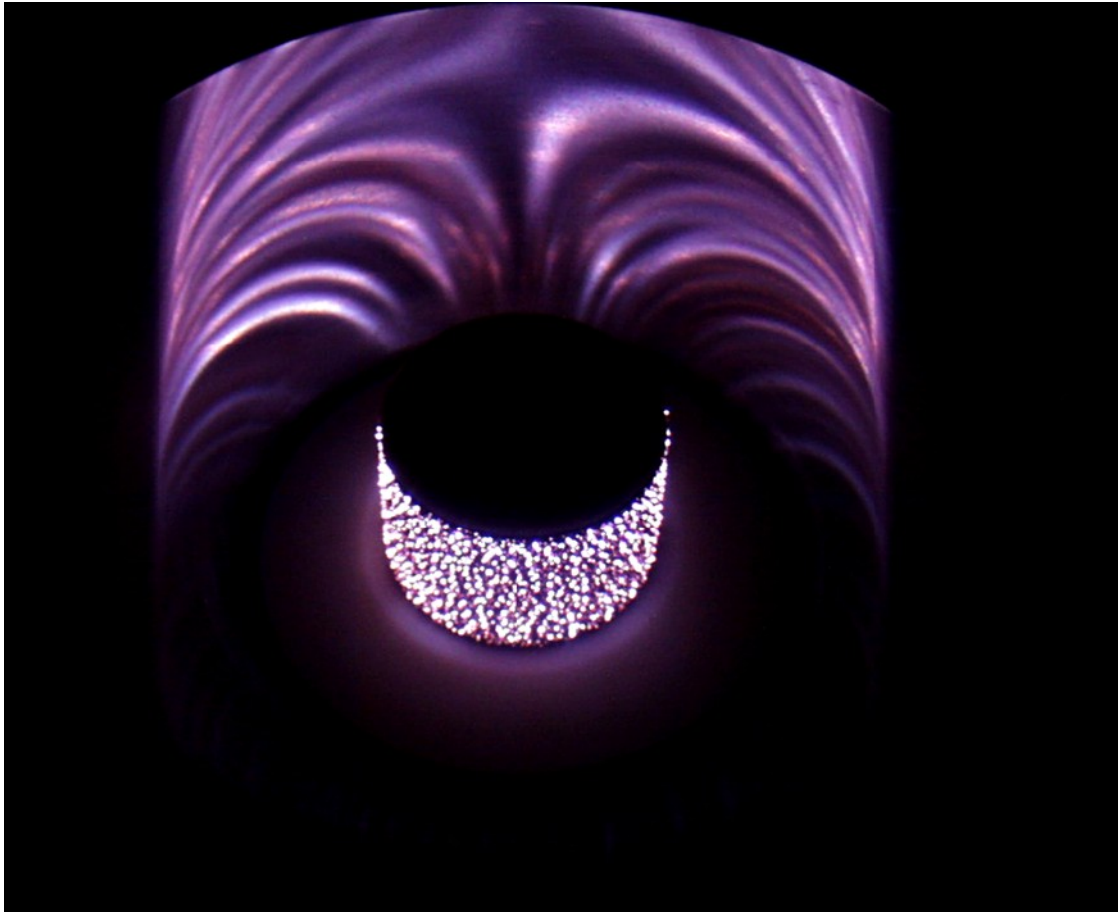
Tab. 4. Průměrné hodnoty objemu nádoru v čase v dané skupině. Str. 61

Graf. 1. Vývoj růstu nádoru dané skupiny v čase. Str. 60

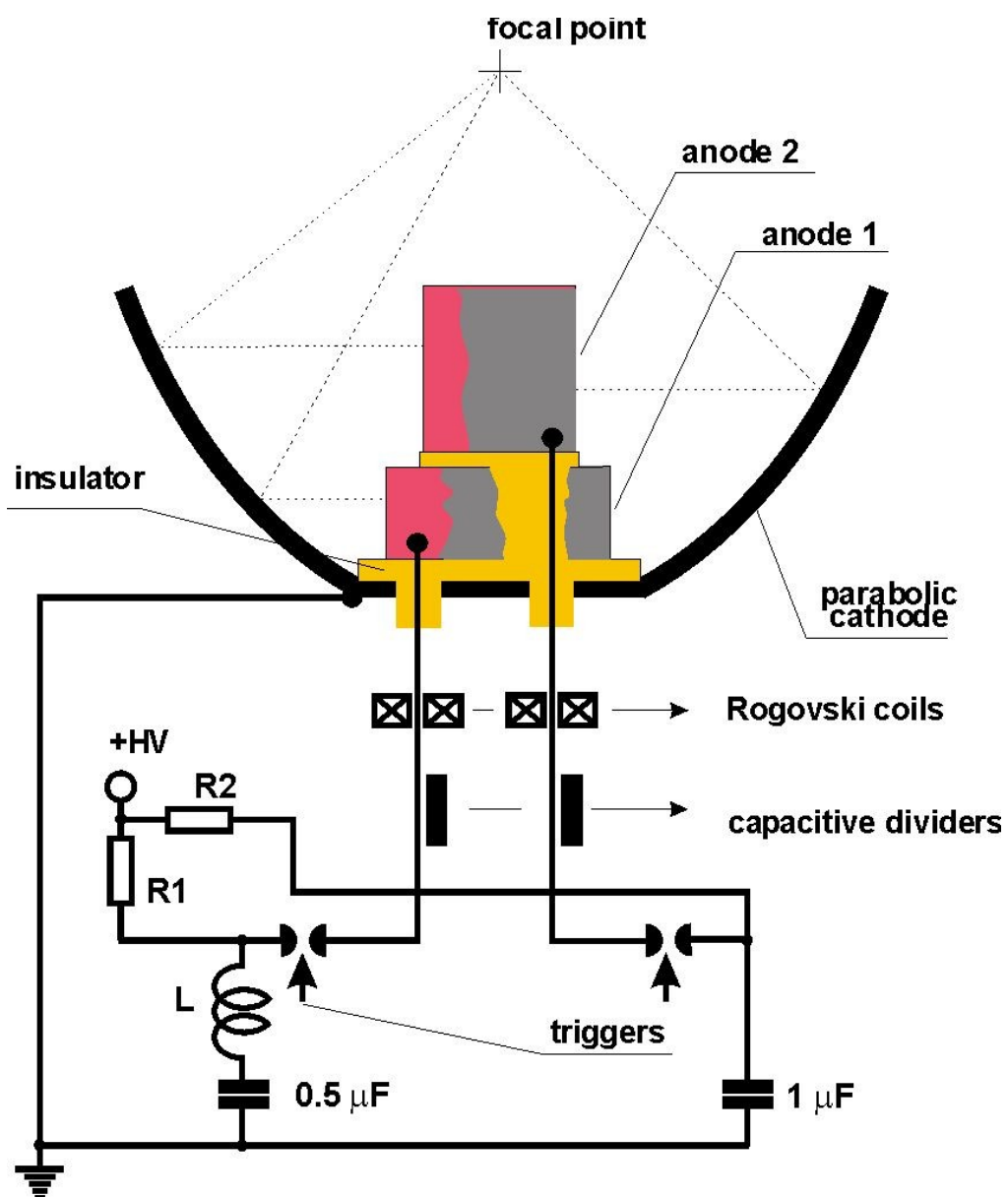
Graf. 2. Vývoj růstu nádoru dané skupiny v čase. Str. 61

9 Přílohy

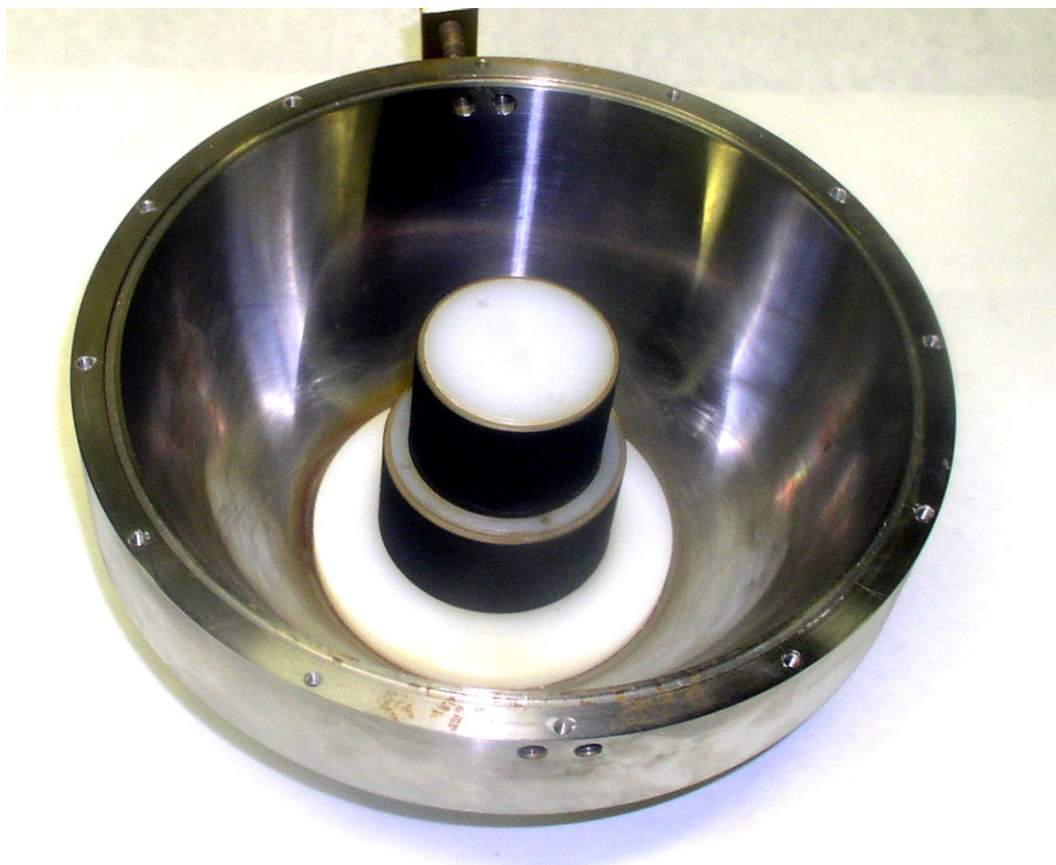
Obr. 16 b. Kompozitní anoda v čase výboje



Obr. 20 a. Schéma generátoru



Obr. 20 b. Kompozitní anoda skládající se ze dvou částí spolu s reflektorem



Obr. 30. Histologický řez, barveno hematoxylin-eozin, zvětšení 200x

