

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Lékařská fakulta v Hradci Králové**

Autoreferát disertační práce

**Morfologická studie čerstvých cévních  
alogenních štěpů pro klinické využití**

Doktorský studijní program

Obor: Anatomie, histologie a embryologie

MUDr. Petr Štádler

Hradec Králové

2007

*Uchazeč:* MUDr. Petr Štádler  
Oddělení cévní chirurgie, Nemocnice Na Homolce v Praze

*Školitel:* doc. MUDr. Dáša Slížová, CSc.  
Anatomický ústav Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové

*Oponenti:*

Prof. MUDr. Vladislav Třeška, DrSc.  
Lékařská fakulta UK v Plzni

Prof. MUDr. Josef Stingl, CSc.  
3. Lékařská fakulta UK v Praze

Obhajoba se koná před komisí pro obhajoby  
disertačních prací v doktorském studijním programu  
**anatomie, histologie a embryologie**  
**v pátek 14. září 2007 ve 12.00 hodin,**  
zasedací místnost děkanátu LF, Šimkova 870,  
500 38 Hradec Králové

S obsahem disertační práce je možno se seznámit na vědeckém oddělení Lékařské fakulty  
Univerzity Karlovy v Hradci Králové.

## OBSAH

- I. Souhrn
  - 1 Souhrn
  - 2 Summary
- II. Cíle práce
- III. Přehled o současném stavu problematiky
  - 1 Historie a současnost cévních náhrad
  - 2 Transplantace
  - 3 Antigenita
  - 4 Média pro tkáňové kultury
  - 5 Současný stav transplantačního programu
  - 6 Cévní endotel
    - 6.1 Viabilita endotelu
    - 6.2 Vliv inkubačního média na endotel
    - 6.3 Intimální hyperplazie a možnosti jejího ovlivnění
  - 7 Uchovávání cévních štěpů před transplantací
    - 7.1 Čerstvý štěp
    - 7.2 Kryoprezervovaný štěp
  - 8 Antigenita alograftů a možnosti jejího ovlivnění
  - 9 Odolnost alograftů k infekci
  - 10 Současné možnosti použití cévních alograftů
- IV. Zvolené metody zpracování, materiál a metodika experimentů
  - 1 Výsledky – experimentální část
  - 2 Diskuze – experimentální část
- V. Klinická aplikace
  - 1 Výsledky – klinická aplikace
  - 2 Diskuze – klinická aplikace
- VI. Závěr
- VII. Seznam nejdůležitější použité literatury
- VIII. Seznam publikací a vybraných přednášek autora

## I. Souhrn

### 1 Souhrn

V důsledku mohutného rozvoje použití protéz v cévní chirurgii narůstá i počet komplikací včetně infekcí cévních protéz. Právě v této souvislosti se objevuje i určitá renesance zájmu o cévní alografty, která byla jistě podložena i úspěchy v transplantační chirurgii.

V rámci multiorgánového odběru byly získány tepenné a žilní vzorky alograftů, které byly konzervovány a ve stanovených časových intervalech vyšetřeny. Tyto série vzorků lidských tepen a žil byly uloženy v hypotermních nebo kombinovaných podmínkách po dobu 1 - 30 dnů v nutritivním médiu E-199 a Custodiol® suplementovaných antibiotiky (ATB).

Vývoj morfologických změn lidských tepen a žil po hypotermní a kombinované normo/hypotermní konzervaci v roztoku E-199 a Custodiol® suplementovaných ATB byl sledován v obou případech po dobu 30 dnů. Nálezy v rastrovacím elektronovém mikroskopu (REM) i ve světelném mikroskopu ukázaly, že tepenné štěpy jsou v prvních dnech odolnější vůči změnám než žilní štěpy při obou teplotních režimech, výrazněji při hypotermii +4 °C.

Cévní alografty dnes mají díky některým specifickým indikacím své jisté místo v klinické cévní chirurgii. Podmínkou jejich širšího uplatnění je především další snížení četnosti komplikací vázaných na implantaci cizorodého biologického materiálu. Slibné výsledky lze očekávat od zlepšování technologických postupů konzervace štěpů i od vývoje moderních imunosupresiv. Nejdůležitější podmínkou úspěchu a profitu pro nemocného však zůstává správná indikační rozvaha s precizním provedením operačního výkonu.

**Klíčová slova:** infekce cévní protézy, cévní alograft, normo/hypotermní konzervace, roztok E-199, Custodiol®

### 2 Summary

The massive development in the use of prostheses in vascular surgery has resulted in a rise in the number of associated complications, including infections of the vascular prostheses. This situation has now given rise to a certain revival of interest in vascular allografts, which has certainly been supported by recent successes in transplant surgery.

Samples of arterial and venous allografts were removed from a number of organs and were preserved and then treated at set intervals of time. This series of human arteries and veins were stored in hypothermal or combined conditions for a period of 1 - 30 days in a nutritive medium of E-199 and Custodiol<sup>®</sup> supplemented with antibiotics.

The progress of morphological changes to human arteries and veins during hypothermal and combined normal/hypothermal preservation in a solution of E-199 and Custodiol<sup>®</sup> supplemented by antibiotics was followed in both cases for a period of 30 days. The findings by scanning electron microscope and light microscope showed that the arterial grafts treated in both heat regimes were more resistant to change than the venous grafts during the first few days, although those kept in hypothermic +4 °C conditions were more so.

For certain specific indications, vascular allografts still maintain a place in clinical vascular surgery. Their increased application is primarily dependent on further reduction in the number of complications associated with the implantation of foreign biological material. Promising results can be expected from improvements in technical procedures for preserving grafts and developments in modern immunosuppressive drugs. However, the most important conditions for success and benefits for patients remain accurate indications and the precise performance of the surgical procedure.

**Key words:** infection of the vascular prosthesis, vascular allograft, normal/hypothermal preservation, solution of E-199, Custodiol<sup>®</sup>

## **II. Cíle práce**

Hlavním cílem práce bylo stanovení optimálního postupu odběru a bezpečného skladování čerstvých cévních transplantátů před jejich transplantací. V této práci byl kladen hlavní důraz na sledování morfologických změn endotelu.

1. Cílem první fáze projektu bylo vytvoření optimálního protokolu pro zpracování a uchování čerstvých cévních transplantátů s ohledem na délku studené ischemie. Vzhledem k tomu, že endotel představuje velice citlivou část cévní stěny, zaměřil se autor právě na morfologické sledování cévního endotelu.

2. Cílem druhé fáze bylo ověření experimentálních výsledků v klinické praxi a stanovení přesných indikačních kritérií pro použití těchto štěpů v cévní chirurgii.

3. Ve třetí závěrečné fázi následovalo vyhodnocení klinických výsledků a jejich konfrontace s výstupy morfologické experimentální práce a závěrečné zhodnocení významu těchto operací pro pacienty.

### **III. Přehled o současném stavu problematiky**

Mezi jednu z nejzávažnějších komplikací v cévní chirurgii patří infekce cévních protéz, která se vyskytuje v 1-5 % operovaných cévních pacientů. Někteří autoři uvádějí souvislost mezi infekcí a narůstajícím trendem multirezistentních nosokomiálních kmenů. Mortalita při léčení infekce cévních protéz v aortoiliacké oblasti je na renomovaných pracovištích 20-50 %.

#### **1 Historie a současnost cévních náhrad**

V klinice bylo cévní transplantace poprvé použito v roce 1906 (Goyanes). Ve stejné době byly zkoušeny i čerstvé tepenné alotransplantáty, ale nedosáhly širšího klinického využití. K opětovnému klinickému zkoušení tepenných alograftů dochází po druhé světové válce. V roce 1952 byla představena první cévní protéza a v dalším období pak došlo k intenzivnímu vývoji cévních protéz a k jejich masivnímu rozšíření v cévní chirurgii. Tak začala nová a zásadní etapa v rozvoji rekonstrukční cévní chirurgie. Cévní protézy se staly významným materiálem, hlavně ve vysokoprůtokové aortoiliacké oblasti. Používání alograftů v rutinní cévní chirurgii bylo nadále prakticky opuštěno.

V důsledku mohutného rozvoje použití protéz v cévní chirurgii dochází i k nárůstu komplikací včetně infekcí cévních protéz. Právě v této souvislosti se objevuje i určitá renesance cévních alograftů, která byla jistě podložena i úspěchy v transplantační chirurgii.

#### **2 Transplantace**

Transplantace je léčebná metoda přenosu orgánů nebo tkání, které nahradí nemocí nebo úrazem zničený orgán nebo tkáň. Součástí transplantačního programu jsou nejen dárci a příjemci neboli čekatelé, ale i transplantační týmy a koordinátoři orgánových a tkáňových transplantací.

Za začátek transplantací v České republice lze považovat rok 1961, kdy byla v tehdejší Československu provedena první transplantace ledviny ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové (23. listopadu).

### 3 Antigenita

V transplantační chirurgii je prováděna HLA (human leukocytes antigens) typizace. Buňky všech orgánů těla a zvláště pak imunitního systému nesou na svém povrchu látky – antigeny, které podmiňují tkáňovou neslučitelnost mezi nepříbuznými jedinci téhož živočišného druhu, případně brání přenosu tkání z jednoho živočišného druhu na druhý. Každý člověk má svoje typy HLA antigenů (membránových znaků, molekul účastnících se na imunitních reakcích), které jsou rozhodující pro imunitní reakce organismu na cizí orgán.

Po odběru orgánu k transplantaci dochází k jeho ischemii. Buňky v normálních poměrech získávají energii k udržení své integrity oxidativní fosforylací, redukcí kyslíku na vodu v mitochondriích, při které je tvořen adenosintrifosfát (ATP). Při nedostatku kyslíku je limitována oxidativní fosforylace a dochází k rychlé depleci ATP a vzniká porucha na ATP závislých homeostatických intracelulárních mechanismů až letální poškození buněk. Jako základ pro uchování transplantátů je využívána hypotermie, která oddaluje nástup irreverzibilního poškození tkání zpomalením buněčného metabolismu, který při teplotě +4 °C klesá pod 5 % původní aktivity.

### 4 Média pro tkáňové kultury

Ke kultivaci živočišných buněk *in vitro* se používají média složená ze základního roztoku, tj. souboru základních složek potřebných pro výživu buňky a souboru doplňků, které zabezpečují další požadavky buněk a umožňují jejich růst i proliferaci v základním médiu.

Základní médium představuje balancované chemické prostředí, ze kterého buňky čerpají složky pro biosyntézy a zabezpečují svůj energetický metabolismus. Pro úspěšné pěstování buněk se musí k syntetickým médiím přidávat vhodné doplňky, které podmiňují buněčnou proliferaci a schopnost přilnout k podkladu. Tato skupina látek zahrnuje jednak nedefinované složky médií (zvířecí séra, živočišné a rostlinné extrakty), jednak složky definované (růstové faktory, hormony aj.).

Glukóza je jedním z nejdůležitějších zdrojů energie a uhlíku pro buňky. Dalším významným zdrojem energie a uhlíku je glutamin. Zdrojem dusíku jsou aminokyseliny, stavební kameny bílkovin. Vitamíny jsou obsaženy ve všech médiích a slouží většinou jako kofaktory v enzymatických reakcích. Svůj význam mají lipidy a složky médií rozpustné v tucích. Pro některé buňky jsou esenciální kyseliny linolová, olejová, cholesterol, etanolamin a další.

Hormony a růstové faktory jsou velmi diskutovanou a velmi důležitou složkou všech kultivačních roztoků. Jejich význam enormně vzrostl zejména v souvislosti s konstrukcí bezsérových médií. Podstatnou součástí médií jsou anorganické soli, které zajišťují potřebnou osmolalitu v systému buňka-roztok.

Živočišná séra stále zůstávají obtížně nahraditelnou složkou médií pro kultivace mnohých druhů buněk.

Do médií pro kultivaci buněk se často přidávají antibiotika, třebaže jsou s tím spojeny některé problémy. Antibiotika mají někdy nepříznivý vliv na růst a proliferaci buněk.

#### 4. 1 Syntetická média

Tato média jsou sterilní a jsou dostupná většinou ve dvou koncentracích: 10x koncentrovaná a v pracovní koncentraci, tj. pro přímé použití. Média se sterilizují filtrací. Obsahují fenolčerveň i glutamin a neobsahují NaHCO<sub>3</sub> (hydrogenuhličitan sodný), HEPES (pufrací systém, N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid) ani antibiotika.

E – 199 složení roztoku ( mg / 1 000 ml )			
NaCl	6800	L-Histidin . HCl . H <sub>2</sub> O	20
KCl	400	L-Hydroxyprolin	10
CaCl <sub>2</sub> . H <sub>2</sub> O	185,5	L-Isoleucin	20
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	200	L-Leucin	60
Fe(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> . 9H <sub>2</sub> O	0,1	L-Lysin . HCl	70
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	140	L-Methionin	15
L-Alanin	25	L-Prolin	40
L-Arginin . HCl	70	L-Serin	25
L-Asparagová kyselina	30	L-Threonin	30
L-Cystein . HCl	0,1	L-Tryptophan	10
L-Cystin	20	L-Tyrosin	40
L-Phenylalanin	25	L-Valin	25
L-Glutamin	100	Glycin	50
L-Glutamová kyselina	75		



## 4. 2 Komplexní média

Obsahují růstové proteiny bovinního séra (GPBoS) a další látky. Syntetické základy těchto médií a použité růstové proteiny se předem testují podle předpisu pro syntetická média a GPBoS.

## 4. 3 Laktalbuminhydrolyzátová média

Média jsou vhodná pro přípravu primárních kultur živočišných buněk a kultivaci buněk plodové vody. Ředí se a používají podobně jako média syntetická. Obsahují fenolčerveň, neobsahují HEPES, nelze je autoklávovat, sterilizují se filtrací.

## 4. 4 Perfúzní roztoky

Metodika perfúze a složení perfúzního roztoku ze značné míry ovlivňují úspěch orgánových transplantací. Cílem perfúze a následného uložení štěpu je zajistit obnovení jeho funkce po implantaci u příjemce okamžitě a v původní kvalitě. Při orgánových odběrech je prováděna perfúze chladným konzervačním roztokem s následným uskladněním orgánu v témže roztoku. Během vývoje byla testována řada perfúzních roztoků. V klinické praxi jsou nejčastěji používány Euro-Collins, roztok University of Wisconsin (UW), histidin-tryptofan-ketoglutarátový roztok Bretschneiderův (Custodiol<sup>®</sup>) a nejnověji vyvinutý roztok Celsior.

<b>Custodiol<sup>®</sup> - složení roztoku (1 000 ml)</b>		
	<b>g</b>	<b>mmol</b>
natriumchlorid	0,8766	15
kaliumchlorid	0,671	9
magnesiumchlorid x 6 H <sub>2</sub> O	0,8132	4
histidinhydrochlorid x H <sub>2</sub> O	3,7733	18
histidin	27,9289	180
tryptofan	0,4085	2
manitol	5,4651	30
kaliumhydrogen-2-oxopentandionat	0,1842	1
kalciumchlorid x 2 H <sub>2</sub> O	0,0022	0,015

## **5 Současný stav transplantačního programu**

Přes všechny úspěchy však stále platí, že studená ischemie představuje možnost potenciálního poškození orgánové funkce a v případě přítomnosti různých rizikových faktorů ze strany dárce či příjemce je třeba usilovat o její co největší zkrácení.

Odběry cévních štěpů probíhají za sterilních podmínek. Dárci jsou vyšetřeni na přenosné choroby (AIDS, hepatitis, syphilis, TBC, Creutzfeld-Jakobovu chorobu, HIV rizikové skupiny jsou vyloučeny), dále jsou vyloučeni dárce s aktivní infekcí, sepsí, maligním onemocněním (s výjimkou primárních nádorů CNS), poškozením imunitního systému nebo léčených kortikoidy a též všichni potenciální dárce, u nichž není známa příčina úmrtí.

## **6 Cévní endotel**

Cévní endotel slouží jako funkční bariéra mezi cirkulující krví a stěnou cévy, je základním prvkem pro udržení homeostatických mechanismů. Porušení integrity endotelu je významným faktorem pro proliferaci hladkých svalových buněk a nezbytnou podmínkou pro následný rozvoj neointimální hyperplazie.

### **6.1 Viabilita endotelu**

Buněčnou viabilitu určuje řada faktorů. Endoteliální buňky hrají důležitou roli při hodnocení viability alograftů. Viabilita alograftů výrazně klesá v důsledku odběru, sterilizačního procesu i během jejich uskladnění v konzervačním médiu. Ochrana endoteliální buněčné viability je velmi důležitá, i když endotelové buňky zvyšují antigenitu alograftu. K lepší ochraně endoteliální buněčné viability je potřeba zredukovat čas odběru, teplé ischemie a optimalizovat sterilizační protokol.

### **6.2 Vliv inkubačního média na endotel**

Inkubační médium může významně ovlivnit integritu endotelu u odebraných cévních štěpů. Při krátkodobém uložení vena saphena magna (VSM) ve fyziologickém roztoku před koronární rekonstrukcí již záhy dochází k destrukci významného počtu endotelových buněk. Při sledování vlivu různých inkubačních médií na morfologii endotelu VSM je podle některých autorů zřejmé, že heparinizovaná krev je nejvhodnějším inkubačním médiem

pro uložení těchto žilních štěpů před koronární rekonstrukcí. Na druhé straně jsou v literatuře známé i práce, kde s ohledem na morfologickou a funkční integritu hladké svaloviny a endotelu je pro 24 hodinové uložení žilních autovenózních štěpů u psů před transplantací nejvhodnější UW roztok ve srovnání s krví a fyziologickým roztokem.

### **6.3 Intimální hyperplazie a možnosti jejího ovlivnění**

Intimální hyperplazie (IH) představuje odpověď na různé formy cévního poškození, včetně autovenózních rekonstrukcí koronárních i periferních tepen, angioplastik nebo implantací stentů. Jejím důsledkem jsou stenózy, které ve 20-50 % případů způsobují selhání rekonstrukce. Proces IH je způsoben proliferací a migrací hladkých svalových buněk do subintimálního prostoru a je přímo úměrný času od operace.

Mezi patologické změny, které se vyskytují po implantaci alograftů, patří jejich dilatace a ruptury, které jsou způsobeny destrukcí média. Dalším problémem bývají stenózy alograftů v důsledku myointimální hyperplazie, které mohou vést k uzavěru štěpu. Faktory vedoucí k myointimální hyperplazii arteriálních alograftů nejsou bezpečně známy. Experimentální výsledky ukazují, že mechanismus vedoucí k IH a pravděpodobně i ateroskleróze je rozdílný u alograftů a v přirozeném řečišti. U alograftů nejsou vyvolávacími faktory IH destičkový růstový faktor (PDGF) a růstový faktor fibroblastů (FGF), ale dochází k infiltraci intimy a adventicie CD4 a CD8 lymfocyty. Tyto buňky pak mohou produkovat řadu růstových faktorů (IL-1, IL-2 atd.).

Také se nabízí otázka, zda endoluminální osídlení cévních buněk hostitele u alograftů může omezit IH, která je vyvolána mechanickou deendotelizací nebo chronickou rejekcí cévních štěpů.

Restenózy komplikují významnou část (8-20 %) endovaskulárních nebo klasických cévních výkonů. Zevní nebo intravaskulární ozáření po cévní rekonstrukci redukuje IH. V porovnání s primárním ateromem je restenóza charakterizována IH hladkých svalových buněk cévní stěny.

Kryoprezervace brání výskytu IH a akceleruje úbytek buněk v tunica media. Oba tyto procesy vedou k podstatné redukci tloušťky arteriální stěny ve srovnání s autologními štěpy. Toto zeslabení nevede v krátkodobém sledování (90 dní) k aneuryzmatické dilataci kryoprezervovaných štěpů.

## **7 Uchovávání cévních štěpů před transplantací**

Jako základ pro uchovávání cévních transplantátů je využívána hypotermie, která oddaluje nástup irreverzibilního poškození tkání zpomalením buněčného metabolismu.

### **7.1 Čerstvý štěp**

Hlavní výhodou při použití čerstvého cévního štěpu je absence jeho poškození během kryoprezervace, ale na druhé straně má vyšší antigenitu. Čerstvý cévní štěp často zůstává jedinou možností pro určité indikace v případech nemožnosti použití kryoprezervovaných cév, jak je tomu dosud v České republice.

### **7.2 Kryoprezervovaný štěp**

Kryoprezervovaný cévní štěp může představovat ideální náhradu při řešení určitých urgentních stavů v cévní chirurgii. Hlavní jeho výhodou je okamžitá dostupnost a dokonalé vyšetření dárce. K používání kryoprezervovaných cévních štěpů je zapotřebí kvalitní tkáňová banka s dostatečnou nabídkou těchto štěpů.

## **8 Antigenita alograftů a možnosti jejího ovlivnění**

Arteriální i žilní alografty vyvolávají u příjemce určitou antigenní reakci. Názory na tuto problematiku nejsou jednotné a některé práce ukazují zásadně rozdílné výsledky.

Lidské čerstvé arteriální alografty vyvolávají imunitní reakci a spouští významnou specifickou anti HLA odpověď. Buněčná i humorální imunitní reakce byla zaznamenána i po implantaci alogenních srdečních chlopní.

Některé práce ukazují redukcii v antigenní odpovědi u kryoprezervovaných tepenných štěpů a naopak jiné publikace nezaznamenaly rozdíly v imunologické odpovědi čerstvých a kryoprezervovaných arteriálních štěpů.

Kryoprezervace redukuje počet T lymfocytů v intimě a působí jako prevence aneuryzmatické dilatace, která byla pozorována u čerstvých alograftů. Navíc léčba cyklosporinem A významně zlepšuje průchodnost čerstvých i kryoprezervovaných alograftů.

Otázka imunologické aktivity kryoprezervovaných cévních štěpů však není stále jednoznačně vyřešena.

## **9 Odolnost alograftů k infekci**

Čerstvé aortální alografty, které byly úspěšně použity pro léčbu infekce cévních protéz, mají omezené použití vzhledem ke krátkodobé možnosti jejich uskladnění. Kryoprezervace je optimální metoda pro dlouhodobé skladování těchto štěpů. Kryoprezervované aortální alografty jsou rezistentní k bakteriální infekci. Mechanismus této rezistence není zcela objasněn, i když antibiotika, která jsou používána k bakteriální sterilizaci štěpů při jejich přípravě mohou hrát významnou roli.

## **10 Současné možnosti použití cévních alograftů**

Čerstvé cévní transplantáty představují jednu z možností řešení infekce cévních protéz. Kryoprezervované aortální alografty jsou v experimentu více rezistentní k infekci ve srovnání s in situ umístěnými protézami při řešení infekce cévních protéz. Základní podmínkou zůstává samozřejmě souběžná antibiotická léčba.

Kryoprezervovaný aortální alograft může představovat slibný a efektivní způsob léčby mykotické výdutě břišní aorty. Také náhrada kořene aorty kryoprezervovaným alograftem má velmi dobré dlouhodobé výsledky a používá se hlavně při endokarditidě, degenerativních nebo vrozených onemocněních.

V literatuře jsou uváděny slibné výsledky při použití čerstvých arteriálních alograftů, které byly zajištěny v rámci multiorgánových odběrů, následně uloženy v konzervačním roztoku Custodiol® a ihned transplantovány u pacientů s kritickou končetinovou ischémií. Tito pacienti měli po celou dobu funkce štěpu imunosupresivní léčbu a záchrana končetiny byla až 75 % v průběhu 12 měsíců.

Kryoprezervované femorální žíly mají při použití k dialýze obdobnou průchodnost jako polytetrafluoroethylenové (PTFE) grafty. Vzhledem k jejich relativní rezistenci k infekci jsou vhodným materiálem u pacientů s opakovaným selháním arteriovenózního (AV) štěpu, zvláště po vyčerpání klasických míst pro založení AV píštělí nebo při infekci AV shuntu.

## **IV. Zvolené metody zpracování, materiál a metodika experimentů**

Ve spolupráci s Koordinačním střediskem transplantací (KST) v Praze byly v rámci multiorgánových odběrů získány žilní (VSM) a tepenné (arteria femoralis) vzorky, které byly konzervovány a ve stanovených časových intervalech vyšetřeny. Tyto série vzorků lidských

tepen a žil byly uloženy v hypotermních podmínkách po dobu 1-30 dnů v nutritivním médiu E-199 a Custodiol® suplementovaných ATB.

Celkem bylo v experimentu použito 48 vzorků lidské tepny a žíly získaných při multiorgánovém odběru od zemřelého dárce. Lidské cévy byly ostře rozděleny na úseky o délce přibližně 10 mm, rozděleny do dvou skupin a okamžitě vloženy do konzervačního média.

První skupina tepenných a žilních vzorků byla vložena do konzervačního roztoku o teplotě +4 °C a v těchto hypotermních podmínkách byla uchovávána po celou dobu experimentu.

Druhá skupina vzorků obou cév byla vystavena kombinaci normo- a hypotermních podmínek. Vzorky byly nejprve po dobu 24 hodin konzervovány při teplotě +37 °C. Následně byl roztok rychle ochlazen na +4 °C a tato teplota byla udržována do konce experimentu.

Jako kontrola byly použity vzorky těchto cév odebrané bez konzervace přímo do fixačního roztoku. Podmínky konzervace byly modelovány v souladu s běžně klinicky užívaným postupem, včetně obohacení roztoku ATB.

Vzorky obou experimentálních skupin byly uchovávány v konzervačním médiu po dobu minimálně 12 hodin a maximálně 30 dnů. Kombinace histologických metod a REM umožnily detailně zhodnotit stav těchto cévních vzorků.

## **1 Výsledky – experimentální část**

1. Po určitém časovém intervalu se na luminálním povrchu objevují dystrofické změny membrány endotelií ve formě poměrně homogenní vrstvy mikrovesikul a krátkého vláknění. I když nemáme korelaci v transmisní elektronové mikroskopii, půjde patrně o tzv. „endothelial blebs and spikes“ („bublíny a hroty“) popisované při degeneraci endotelových buněk. Tyto změny jsou nejzřetelnější při zvětšení 1500x a při bedlivém prohlédnutí snímků se zvětšením kolem 300-400x lze najít tato ložiska „sametového“ vzhledu na povrchu endotelu.
2. Na tuto iniciální dystrofii bezprostředně navazuje uvolňování mezibuněčných kontaktů a postupné rozvláknění endotelové vrstvy.
3. Postupně dochází k nabobtnávání a odlupování endotelových buněk a k obnažování lamina elastica interna.

4. Proces patomorfologických změn ve sledovaném intervalu 30 dní je zakončen kompletní denudací endotelové vrstvy a úplným obnažením povrchu lamina elastica interna pokrytým vláknitým debris pravděpodobně ze subendotelové vrstvičky vaziva.

V nejdělsích sledovaných intervalech pak dochází u některých štěpů až k devastaci lamina elastica interna a k odchlípení zbytků intimy od tunica media.

**Tab. č. 1: Přehled patomorfologických změn tepenné a žilní stěny – roztok E - 199**

Cévy/Stádium	1. Iniciální dystrofie	2. Rozvláknění endotelu	3. Počínající denudace	4. Kompletní odloučení endotelu
T-4	6. den	od 7. dne	po 10. dnu	od 22. dne
T-37/4	2. – 3. den	od 4. dne	po 10. dnu	od 18. dne
Ž-4	4. – 5. den	od 7. dne	po 8. dnu	od 18. dne
Ž-37/4	2. den	od 3. dne	5. - 7. den	od 16. dne

**Tab. č. 2: Přehled patomorfologických změn tepenné a žilní stěny – roztok Custodiol®**

Cévy/Stádium	1. Iniciální dystrofie	2. Rozvláknění endotelu	3. Počínající denudace	4. Kompletní odloučení endotelu
T-4	5. den	od 7. dne	12 – 13. den	20. - 30. den
T-37/4	3. den	od 5. dne	Od 7. dne	Od 15. dne
Ž-4	4. - 5. den	od 6. dne	8. den	Od 15. dne
Ž-37/4	2. den	3. den	5. den	Od 15. dne

(T-4: vzorky tepen konzervované při teplotě +4 °C, T-37/4: vzorky tepen konzervované v kombinovaném teplotním režimu +4 °C/+37 °C, Ž-4: vzorky žil konzervované při teplotě +4 °C, Ž-37/4: vzorky žil konzervované v kombinovaném teplotním režimu +4 °C/+37 °C)

## 2 Diskuze – experimentální část

Vývoj morfologických změn lidských tepen a žil po hypotermní a kombinované normo-/hypotermní konzervaci v roztoku E-199 a Custodiol® suplementovaných antibiotiky byl sledován v obou případech po dobu 30 dnů. Nálezy v REM i ve světelném mikroskopu ukázaly, že tepenné štěpy jsou v prvních dnech odolnější vůči změnám než žilní při obou teplotních režimech, výrazněji při hypotermii +4 °C. První dystrofické změny endotelových buněk při použití konzervačního roztoku E-199 a Custodiol® se na tepnách objevují 2.-3. den, zatímco v žilách už po 48 hodinách v kombinovaném teplotním režimu. V hypotermním režimu jsou iniciální dystrofické změny patrné 5.-6. den u tepen a 4.-5. den u žil. Subendotelové vrstvy se odhalují v tepnách po 10. dnu při obou teplotních režimech, v žilách je deendotelizace patrná již od 5. dne v kombinovaném teplotním režimu a od 7. dne při 4 °C.

Vystavení cévních vzorků iniciální normotermii (+37 °C po dobu 24 hodin) v obou konzervačních médiích přináší vždy zhoršení efektu prezervace, tepny i žíly podléhají patologickým procesům rychleji. Důvodem je pravděpodobně to, že při rychlejším buněčném metabolismu za fyziologické teploty jsou energetické zásoby buněk rychle vyčerpány, dochází k aktivaci autolytických procesů anebo snad období reperfúzního syndromu s rychlým nástupem dystrofických změn.

Na základě morfologického zhodnocení kvality prezervace cév v roztoku E-199 i v Custodiol se domníváme, že ani tato média nechrání lidské cévní štěpy před poškozením dostatečně a měla by být používána pouze ke krátkodobým konzervacím. Přidání ATB zřejmě dostatečně chrání cévy před zánětlivými změnami, ale z hlediska alespoň částečného zachování endotelové vrstvy v okamžiku transplantace či implantace jsou tepenné štěpy uchovávané v obou sledovaných roztocích za daných podmínek bezpečně použitelné asi po dobu 10 dnů, zatímco žíly pouze 5-7 dnů. Tyto údaje jsou zcela v rozporu s některými pracemi, které ukazují možnost několikaměsíčního sledování čerstvých VSM při +4° C v heparinizovaném solném roztoku s ATB. Do budoucna bude proto nezbytné konzervační roztoky upravovat na základě nejnovějších poznatků a optimalizovat jejich prezervační vlastnosti.



## **VI. Klinická aplikace**

Od října 2001 do července 2006 byl čerstvý cévní aloštěp implantován v 28 případech. Z chirurgického hlediska lze pacienty rozdělit do dvou skupin. V první skupině se jednalo o transplantaci cévního štěpu ve vysokoprůtokové aortoiliacké oblasti a do druhé skupiny byli zařazeni pacienti nízkoprůtokovou periferní rekonstrukcí. U první skupiny byl ve všech případech implantován čerstvý arteriální alograft, ve druhé skupině se pak jednalo o arteriální nebo žilní štěp.

Skladování čerstvých cévních alograftů bylo modifikováno podle vlastních experimentálních výsledků. Cévní štěpy byly uchovávány v hypotermních podmínkách +4 °C v konzervačním roztoku E-199 nebo Custodiol®. Vzhledem k tomu, že iniciální dystrofie endotelu byla v experimentální práci zaznamenána v hypotermním prostředí 5.-6. den u tepen a 4.-5. den u žil, stanovili jsme dobu uchovávání cévních štěpů v konzervačním roztoku při +4 °C maximálně 72 hodin do doby transplantace. U všech našich pacientů indikujeme imunosupresivní léčbu cyklosporinem v dávce 2x25-50 mg.

### **Aortoiliacké rekonstrukce**

V této vysokoprůtokové oblasti byl arteriální alograft transplantován u 16 pacientů. V patnácti případech se jednalo o infekci cévní protézy (10x aortobifemorální, 3x aortofemorální a 2x iliakofemorální rekonstrukce). Jednou byla důvodem pro použití cévního štěpu primární infekce v oblasti bifurkace aorty, která si vynutila transplantaci bifurkačního štěpu. Hlavní strategií léčby bylo odstranění infikovaného materiálu, důkladný débridement, zajištění náhradní revaskularizace arteriálním alogaftem a ve většině případů byla připojena omentoplastika.

### **Periferní rekonstrukce**

V periferní nízkoprůtokové oblasti byl cévní alograft použit 12x a ve všech případech chyběl použitelný autologní žilní štěp (1x femoropopliteální proximální, 3x femoropopliteální distální, 4x femoropopliteální přední a 4x femoropopliteální zadní bypass). Ve třech případech se jednalo o infekci cévní protézy, 8x hrozila amputace končetiny v důsledku ischemie při významném postižení bércevého řečiště a jednou byl aloštěp použit při léčbě nepravé výdutě stehenní tepny infikované meticilin-rezistentním zlatým stafylokokem (MRSA) po předcházejícím angiografickém vyšetření.

## **1 Výsledky – klinická aplikace**

### **Aortoiliacké rekonstrukce**

V tomto souboru byla nulová perioperační mortalita. Z časných komplikací bylo zaznamenáno 1x poranění ureteru, které bylo ošetřeno primární suturou, 1x distální embolizace a 1x uzávěr raménka bifurkačního alograftu si vynutily promptní embolektomii a trombektomii. Z pozdních komplikací se vyskytla dvakrát stenóza štěpu po třech a 6 měsících od operace, které byly ošetřeny perkutánní transluminální angioplastikou (PTA) s implantací stentu. V další době pak proběhl asymptotický uzávěr raménka bifurkačního alograftu 28 měsíců po PTA. V jednom případě si uzávěr alograftu vynutil amputaci končetiny ve stehně. Dvakrát byla zaznamenána pozdní mortalita bez souvislosti s transplantací cévního štěpu.

### **Periferní rekonstrukce**

V případě periferních rekonstrukcí došlo 6x k uzávěru rekonstrukce, ve dvou případech byl štěp úspěšně trombektomován, v ostatních případech nebyla trombektomie dlouhodobě úspěšná. U jednoho pacienta byla provedena nová rekonstrukce PTFE cévní protézou a dvakrát se přechodná kritická končetinová ischemie v důsledku uzávěru zvládla aplikací alprostadilu. Příčinou těchto uzávěrů byla třikrát aneuryzmatická degenerace štěpu 1, 2 a 7 měsíců po jeho implantaci. V jednom případě bylo přistoupeno v důsledku těžké končetinové ischemie k amputaci ve stehně.

## **2 Diskuze – klinická aplikace**

V uvedené klinické sestavě jsme postupovali podle vlastních experimentálních výsledků, které jsou v rozporu s některými zahraničními pracemi, které uvádějí časový limit pro použití čerstvých arteriálních štěpů až 30 dní.

Stanovili jsme si základní pravidla pro transplantaci cévních štěpů, ve kterých jsme přijali na základě literárních údajů uváděné indikace, kam patří infekce cévních protéz, mykotická aneuryzmata, aortitidy, periferní rekonstrukce u hrozících amputací v případě nevhodné VSM a nemožnosti použití cévní protézy, dále použití cévních alograftů v obecné transplantační chirurgii, v dialyzačním programu a ojediněle i například z důvodu maligní infiltrace aorty nebo dolní duté žíly. V našem klinickém souboru se nám podařilo použít cévní alograft jen

při léčbě infekce cévní protézy, dále primární infekci nativní tepny a při hrozící amputaci dolní končetiny u významném postižení bércevého řečiště.

Jak už bylo zmíněno, lze čerstvé tepenné alografty použít v urgentních případech k záchraně končetiny při absenci autologní VSM. Krátkodobé výsledky (do 2 let) jsou v těchto případech povzbudivé i při striktním nedodržení ABO kompatibility.

Obecně lze říci, že použití cévních alograftů bez imunoprese je možné při těžkých ischemiích (hrozící amputaci), traumatech, cévních náhradách při odstranění rozsáhlých tumorů nebo při infekci. Alografty se nedoporučují používat při primárních klaudikacích a všude tam, kde je možnost použití cévní protézy.

Řada experimentálních studií dokazuje účinnost cyklosporinu při použití žilních i tepenných alograftů. Proces denudace a regenerace endotelu arteriálních alograftů je spjat s absencí nebo přítomností imunopresivní léčby.

## **VI. Závěr**

1. V první fázi projektu byl vytvořen optimální protokol pro zpracování a uchování čerstvých cévních transplantátů s ohledem na délku studené ischemie. Vzhledem k tomu, že endotel představuje velice citlivou část cévní stěny, byl prostudován právě stav cévního endotelu v REM a provedena kontrola cévní stěny tepen a žil ve světelném mikroskopu. Z obou částí experimentu při srovnání uváděných teplotních režimů je jednoznačné, že normotermie výrazně urychluje nástup iniciálních dystrofických změn endotelu tepen i žil. Naše práce nebyla zaměřena na zkoumání různých typů konzervačních médií, použili jsme jen dva základní typy. I v tomto případě se však zdá, že konzervační roztok nehraje zásadní roli pro uchovávání čerstvých cévních aloštěpů, ale rozhodující je délka studené ischemie. V obou experimentech bylo též patrné, že tepenné alografty jsou odolnější než alografty žilní a hypotermie tento nástup dystrofických změn oddaluje. Iniciální dystrofické změny byly patrné v hypotermním režimu u žil 4.-5. den a u tepen 5.-6. den. Na základě těchto experimentálních závěrů byla stanovena doba konzervace štěpů před jejich transplantací maximálně 72 hodin.

2. V druhé fázi bylo provedeno ověření experimentálních výsledků v klinické praxi a stanovena indikační kritéria pro použití těchto štěpů v cévní chirurgii. Podle stanovených kritérií byly odebrány a následně transplantovány cévní štěpy v určených indikacích a sledována jejich funkčnost v pravidelných kontrolách.

3. Ve třetí fázi byly zhodnoceny klinické závěry v závislosti na klinickém experimentu. Je třeba zdůznanit, že výsledky uváděné klinické sestavy 28 pacientů jsou velice povzbudivé. Nebyla zaznamenána mortalita v souvislosti s transplantací cévního štěpu a amputace končetiny byla nutná jen ve dvou případech.

Nárůst počtu i spektra cévních operací přináší komplikace, kterými se musejí cévní chirurgové také zabývat a řešit je. Zdá se, že cévní alografty mohou být v přísně stanovených indikacích vhodnou alternativou léčby, hlavně při řešení infekce cévních protéz nebo u pacientů s hrozící amputací, kteří nemají vhodný autologní materiál i přes známá negativa používání cévních transplantátů.

## VII. Seznam nejdůležitější použité literatury

1. Wilson S E. New alternatives in management of the infected vascular prosthesis. *Surg Infect.* 2001, 2, 171-175.
2. Young R M, Cherry K J Jr, Davis P M, Gloviczki P, Bower T C, Panneton J M, Hallett J W Jr. The results of in situ prosthetic replacement for infected aortic grafts. *Am J Surg.* 1999, 178, 136-140.
3. De Bakey M E, Stanley E, Crawford E S. Vascular prostheses. *Transplant Bull.* 1957, 4, 2-4.
4. Liekweg W G Jr, Greenfield L J. Vascular prosthetic infections: Collected experience and results of treatment. *Surgery.* 1977, 81, 335-342.
5. Drews G, Spiegel H U. Leberkonservierung-Rückblick und aktueller Stand. *Jahrbuch der Chirurgie.* 1999, 143-157.
6. Lim Ch Y, Hong E K. Flow cytometric analysis of endothelial cell viability in arterial allograft. *Int J Angio.* 1998, 7, 6-9.
7. Hickethier T, Dammrich J, Silber R E, Finster S, Elert O. Ultrastructural investigations for reducing endothelial cell damage of vein grafts during CABG-operation and practical consequences. *J Cardiovasc Surg.* 1999, 40, 71-76.
8. Konerding M A, Knocks M, Zerkowski H R. Impact of the incubation medium on the endothelium of autologous vein grafts: Damage scoring by scanning electron microscopy. *Scanning Microscopy.* 1996, 10, 841-849.
9. Cavallari N, Abebe W, Hunter W J 3rd, Agrawal D K, Sapienza P, Mingoli A, Cavallaro A, Edwards J D. University of Wisconsin solution effects on intimal proliferation in canine autogenous vein grafts. *J Surg Res.* 1995, 59, 433-440.
10. Randone B, Sterpetti A V, Stipa F, Proietti P, Aromatario C, Guglielmi M B, Palestini M, Santoro-D'Angelo L, Cavallaro A, Cucina A. Growth factors and myointimal hyperplasia in experimental aortic allografts. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1997, 13, 66-71.
11. Gomes D, Louedec L, Plissonnier D, Dauge M Ch, Henin D, Osborne-Pellegrin M, Michel J B. Endoluminal smooth muscle cell seeding limits intimal hyperplasia. *J Vasc Surg.* 2001, 34, 707-715.
12. Pascual G, Martinez S, Rodriguez M, Serrano N, Bellon J M, Bujan J. Patency and structural changes in cryopreserved arterial grafts used as vessel substitutes in the rat. *J Surg Res.* 2005, 124, 297-304.

13. Mirelli M, Nanni-Costa A, Scolari M P, Iannelli S, Buscaroli A, Ridolfi L, Petrini F, Stella A, De Sanctis L, Borgnino L C, Stefoni S, D'Addato M, Bonomini V. Mismatch-specific anti HLA antibody production following aorta transplants. *Transpl Int.* 1998, 11, 444-447.
14. Tice D A, Zerbino V. Clinical experience with preserved human allografts for vascular reconstruction. *Surgery.* 1972, 72, 260-267.
15. Solanes N, Rigol M, Castella M, Khabiri E, Ramirez J, Segales J, Agusti E, Perez-Villa F, Roid E, Pomar J L, Sanz G, Heras M. Cryopreservation alters antigenicity of allografts in a porcine model of transplant vasculopathy. *Transplant Proc.* 2004, 36, 3288-3294.
16. Bahnini A, Ruotolo C, Kieffer E. In situ fresh allograft replacement of an infected aortic prosthetic graft: Eighteen months follow-up. *J Vasc Surg.* 1991, 14, 98-102.
17. Knosalla Ch, Weng Y, Yankah Ch, Hofmeister J, Hetzer R. Using aortic allograft material to treat mycotic aneurysms of the thoracic aorta. *Ann Thorac Surg.* 1996, 61, 1146-1152.
18. Dossche K M, de la Riviere A B, Morshuis W J, Schepens M A A M, Defauw J A M, Ernst S M. Cryopreserved aortic allografts for aortic root reconstruction: A single institution's experience. *Ann Thorac Surg.* 1999, 67, 1617-1622.
19. Štádl P, Šebesta P, Klika T, Šedivý P, Slížová D, Krs O. Alografty v cévní chirurgii. *Rozhl Chir.* 2005, 84, 350-355.
20. Prager M, Hölzenbein T, Aslim E, Domenig Ch, Mühlbacher F, Kretschmer G. Fresh arterial homograft transplantation: A novel concept for critical limb ischaemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2002, 24, 314-321.
21. Matsuura J H, Johansen K H, Rosenthal D, Clark M D, Clarke K A, Kirby L B. Cryopreserved femoral vein grafts for difficult hemodialysis access. *Ann Vasc Surg.* 2000, 14, 50-55.
22. Van Damme H, Creemers E, Limet R. Venous allografts for critical limb ischaemia. *Acta Chir Belg.* 1995, 95, 14-20.
23. Callow A D. Arterial homografts. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1996, 12, 272-281.
24. Schmitz-Rixen T, Megerman J, Colvin R B, Williams A M, Abbott W M. Immunosuppressive treatment of aortic allografts. *J Vasc Surg.* 1988, 7, 82-92.

## VIII. Seznam publikací a vybraných přednášek autora

### Kapitoly v monografiích

1. Štádlér P. Miniinvazivní výkony v cévní chirurgii. In: Krajíček M, Peregrin J H, Roček M, Šebesta P a kol. Chirurgická a intervenční léčba cévních onemocnění. Praha, Grada, 2007, 335-358.

### Původní články a statě ve sbornících

1. Štádlér P, Netuka I, Šebesta P. Komplexní chirurgická léčba smíšeného bércevého vředu femoropopliteálním distálním bypasselem s endoskopickým zrušením Cockettových perforátorů. Rozhl Chir. 1998, 8, 367-369.
2. Štádlér P, Šebesta P, Klika T, Dvořáček M. Torakoskopická hrudní sympatektomie jako metoda volby reoperace na hrudním sympatiku. Rozhl Chir. 1999, 9, 448-450.
3. Štádlér P, Šebesta P, Netuka I. Torakoskopické hrudní sympatektomie – naše zkušenosti. Rozhl Chir. 2001, 3, 107-109.
4. Štádlér P, Šebesta P, Hoffmann R, Balazs J, Janoušková L. Neobvyklý výskyt široce nasedajícího trombu v břišní aortě u mladé pacientky po opakované embolizaci do pánevního řečiště a dolní končetiny. Rozhl Chir. 2001, 6, 294-296.
5. Štádlér P, Šebesta P. Torakoskopická hrudní resympatektomie s výrazným klinickým efektem za několik let po operaci hrudního sympatiku. Slov Chir. 2003, 1, 4-6.
6. Štádlér P, Kořisková Z, Vitásek P. Komplexní léčba symptomatické nepravé výdutě distální anastomózy aorto-aortální náhrady a karcinomu pravé ledviny. Rozhl Chir. 2004, 4, 168-170.
7. Štádlér P, Špaček M, Matouš P, Kořisková Z. Laparoskopicky vedený iliakofemorální bypass. Kazuistika. Rozhl Chir. 2004, 7, 308-310.
8. Štádlér P, Vitásek P, Špaček M. Unusual treatment of bleeding from an injured common iliac vein. Cor Vasa, 2004, 10, 503-504.
9. Štádlér P, Špaček M, Matouš P, Vitásek P, Kořisková Z, Michálek P. Laparoskopické cévní rekonstrukce – úvodní zkušenosti. Rozhl Chir. 2004, 11, 549-553.
10. Štádlér P, Šebesta P, Klika T, Šedivý P, Michálek P. Minilaparotomie jako přístup k cévním rekonstrukcím v aortoiliacké oblasti. Rozhl Chir. 2004, 11, 545-548.
11. Štádlér P, Špaček M, Bělohávek O, Michálek P. Diagnosis of vascular prosthesis infection by means of the FDG-PET/CT scan. J Vasc Surg. 2004, 6, 1246-1247, (IF 3,173).

12. Štádlér P, Slížová D, Krs O, Zdráhal P, Vojáček J. Microscopic study of vascular allografts. *Cor Vasa*, 2005, 1, 10-13.
13. Štádlér P, Šebesta P, Klika T, Šedivý P, Slížová D, Krs O. Alografty v cévní chirurgii. *Rozhl Chir.* 2005, 7, 350-355.
14. Štádlér P, Vitásek P, Matouš P, Špaček M. Laparoskopická resekce výdutě břišní aorty. *Rozhl Chir.* 2005, 9, 443-447.
15. Štádlér P, Matouš P, Špaček M, Doleček L. Resekce výdutě břišní aorty s aorto-aortální náhradou, vedená plně laparoskopicky. *Cor Vasa* 2005, 11, 441-444.
16. Štádlér P, Matouš P, Vitásek P. Roboticky asistovaný aortobifemorální bypass – systém da Vinci 1200. *Cor Vasa*, 2006, 4, 155-158.
17. Štádlér P, Vitásek P, Matouš P. Úvodní zkušenosti s robotickým systémem da Vinci v cévní chirurgii. *Rozhl Chir.* 2006, 5, 228-232.
18. Štádlér P, Šebesta P, Vitásek P, Matouš P, El Samman K. A modified technique of transperitoneal direct approach for totally laparoscopic aortoiliac surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006, 3, 266-269, (IF 2,026).
19. Štádlér P, Matouš P, Vitásek P, Špaček M. Robot-assisted aortoiliac reconstruction: A review of 30 cases. *J Vasc Surg.* 2006, 5, 915-919, (IF 3,173).
20. Štádlér P, Vitásek P, Matouš P. Současné možnosti uplatnění robotického systému v cévní chirurgii. *Cor Vasa*, 2007, 2, 71-73.
21. Štádlér P. Robotika pronikla do cévní chirurgie. *Lék listy, ZN*, 2007, 7, 18-19.

#### Abstrakta

1. Štádlér P, Matouš P, Vitásek P, Špaček M. Robot-assisted aortoiliac reconstruction: A review of 30 cases. *Selected Abstracts. Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006, 5, 600-602, (IF 3,173).
2. Štádlér P. Laparoscopic transperitoneal approach and treatment of occlusive and aneurysm disease of the aorta. *Abstract. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2007, v tisku, (IF 1,086)
3. Štádlér P. The robotic anastomosis in laparoscopic vascular surgery. *Abstract. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2007, v tisku, (IF 1,086)



### Vybrané přednášky

1. Štádler P, Šebesta P, Klika T, Dvořáček M. Torakoskopická hrudní sympatektomie jako metoda volby reoperace na hrudním sympatiku. Praha, Angiologické dny s mezin. účastí, 1999.
2. Štádler P, Slížová D, Šebesta P, Krs O, Zdráhal P. Vliv časového intervalu a teploty na poškození stěny čerstvého tepenného a žilního homograftu. Plzeň, Hejhalův den, 2002.
3. Štádler P, Šebesta P, Zdráhal P, Vitásek P. Použití čerstvých tepenných alograftů při řešení infekce cévních protéz. Liberec, Inter-angio, 2003.
4. Štádler P, Špaček M, Matouš P, Koříšková Z, Šedivý P, Šebesta P. The short-term experience in the use of new technique: Total Laparoscopic Bypass Surgery and Minimal Incision Aortic Surgery. Québec City, Kanada, International Endovascular Laparoscopy Congress, 2004, (vyzvaná přednáška).
5. Štádler P, Slížová D, Krs O, Michálek P. Impact of storage conditions on structure of vascular allografts: Scanning electron microscopic study. Prague, 13<sup>th</sup> International Congress of EATB, 2004, (poster).
6. Štádler P, Dion Y M, Thaveau F, Ben El Kadi. History of laparoscopy. Québec City, Kanada, International Laparoscopic Vascular Course, 2004, (vyzvaná přednáška).
7. Štádler P, Dion Y M, Thaveau F, Ben El Kadi. The pneumoperitoneum. Québec City, Kanada, International Laparoscopic Vascular Course, 2004, (vyzvaná přednáška).
8. Štádler P, Špaček M, Matouš P, Vitásek P, Koříšková Z. Laparoscopic vascular reconstruction. Initial experience. Québec City, Kanada, International Laparoscopic Vascular Course, 2004, (vyzvaná přednáška).
9. Štádler P, Slížová D, Krs O, Šebesta P, Šedivý P. Použití čerstvých tepenných alograftů. Brno, I. sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie, 2004.
10. Štádler P, Špaček M, Matouš P, Vitásek P, Michálek P, Stern M. Roční zkušenosti s laparoskopickými rekonstrukcemi v aortoiliacké oblasti. Brno, I. sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie, 2004.
11. Štádler P, Slížová D, Krs O, Michálek P. Scanning electron microscopic study of vascular allografts. Brno, 43<sup>th</sup> Congress of the Czech Anatomical Society, 2005, (poster).
12. Štádler P, Špaček M, Vitásek P, Matouš P. Experience in the use of total laparoscopic vascular surgery. Sydney, Australia, Vascular, 2005, (poster).

13. Štádler P, Vitásek P, Matouš P, El Samman K. 52 laparoskopických výkonů v aortoiliacké oblasti, výsledky a komplikace. Liberec, Inter-angio, 2005.
14. Štádler P. Robot-assisted laparoscopic aortoiliac reconstruction: A review of 25 cases. Cairns, Australia, Vascular, 2006.
15. Štádler P. Robot and vascular surgery. Praha, XX. Annual meeting of the European Society for Vascular Surgery, 2006.
16. Štádler P. Roboticky asistované cévní rekonstrukce – výsledky a komplikace u 40 pacientů. Brno, 1. kongres robotické chirurgie s mezinárodní účastí, 2006.
17. Štádler P. Laparoscopic transperitoneal approach and treatment of occlusive and aneurysm disease of the aorta. New York, USA, The third International Endovascular and Laparoscopic Congress (IELC) and Veith Symposium, 2006, (vyzvaná přednáška).
18. Štádler P. The robotic anastomosis in laparoscopic vascular surgery. New York, USA, The third International Endovascular and Laparoscopic Congress (IELC) and Veith Symposium, 2006, (vyzvaná přednáška).
19. Štádler P, Slížová D, Krs O. Optimální postup přípravy cévního transplantátu. Brno, II.sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie, 2006.
20. Štádler P, Vitásek P, Matouš P. Roboticky asistované cévní rekonstrukce – soubor 45 pacientů. Brno, II.sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie, 2006.
21. Štádler P. Robot-assisted laparoscopic aortoiliac reconstruction: Initial experience. Puerto Rico, USA, 31<sup>st</sup> Annual meeting (SAVS), 2007.
22. Štádler P, Vitásek P, Matouš P. Robot and vascular surgery. New York, USA, MIRA, 2007.
23. Štádler P. The da Vinci robotic system, advantages and disadvantages in vascular surgery. Memphis, University of Tennessee, USA, 2007, (vyzvaná přednáška).
24. Štádler P. Nástup robotů v cévní chirurgii. Praha, XXXII. Angiologické dny s mezinárodní účastí, 2007, (vyzvaná přednáška).
25. Štádler P. Advantages and complications of using the da Vinci robotic system for vascular surgery. Orlando, USA, 35<sup>th</sup> Annual Symposium (SCVS), 2007.
26. Štádler P. Robotic in laparoscopic vascular surgery. London, UK, Charing Cross Symposium, 2007, (vyzvaná přednáška).
27. Štádler P. Laparoscopic and robotic procedures. London, UK, Charing Cross Symposium, 2007, (vyzvaná přednáška).