

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD

## **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Vliv slatinných koupelí na proces hojení experimentálně  
navozené zánětlivé léze

**Vedoucí bakalářské práce: Doc. MUDr. Josef Herink, DrSc.**

**HRADEC KRÁLOVÉ, 2014**

**Rosová Valérie**

## **Zadání práce:**

Abstrakt

Úvod

Teoretická část:

Přírodní léčivé minerální vody

Peloidy a jejich rozdělení

Mechanismus účinku peloidů

Léčebné využití peloidů

Praktická část:

Cíl práce

Materiál a metoda

Výsledky

Diskuze a závěry

## **Poděkování**

Tato práce byla sponzorována Lázněmi Bohdaneč a VZ MZO 00179906.

Chtěla bych moc poděkovat mému školiteli doc. MUDr. Josefu Herinkovi, DrSc. za trpělivost a rady při psaní mé práce. Dále pak paní doc. MUDr. Heleně Živné, CSc. za poskytnuté materiály a rady. Mému otci a příteli děkuji za trpělivost, kterou se mnou po dobu celého mého studia měli.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové

# Obsah

## Obsah

Zadání práce:.....	2
Obsah .....	5
ABSTRAKT.....	7
ABSTRACT.....	8
1. Úvod.....	9
2. Přírodní léčivé minerální vody, peloidy.....	9
2.1 Přírodní minerální vody.....	10
2.1.1 Definice .....	10
2.1.2 Vznik minerálních vod .....	11
2.1.3 Způsoby aplikace přírodních minerálních vod .....	12
2.1.3.1 Zevní aplikace .....	12
2.1.3.2 Vnitřní aplikace .....	13
2.2 Peloidy .....	14
2.2.1 Peloidy a jejich rozdělení .....	14
2.2.1.1 Humolity .....	14
2.2.1.2 Bahna .....	15
2.2.2 Mechanismus účinku peloidů .....	16
2.2.2.1 Tepelné účinky peloidů .....	16
2.2.2.2 Transportní efekt peloidů .....	18

2.2.3 Klinické účinky peloidoterapie .....	19
3. Cíl práce .....	20
4. Materiál a metody.....	21
4.1 Příprava Freundova adjuvans.....	21
4.2 Inaktivace bakterií a příprava extraktu .....	21
4.3 Parametry používaného ultrazvuku .....	22
4.4 Navození artritidy.....	22
4.5 Schéma pokusu .....	24
5. VÝSLEDKY .....	27
6. Diskuze .....	40
7. Závěr .....	41
8. Použité zkratky.....	42
9. Seznam obrázků .....	43
10. Seznam grafů .....	43
11. Seznam tabulek.....	43
12. Použitá literatura .....	45

## ABSTRAKT

Název bakalářské práce: Vliv slatinných koupelí na proces hojení experimentálně navozené zánětlivé léze

Cíl práce: Cílem pokusu bylo objasnit efekt slatinných koupelí experimentálně navozeného subakutního zánětu pravé zadní tlapky u potkanů obou pohlaví. V pokuse jsme se snažili odlišit vliv samotného tepla a samotného léčebného bahna.

Materiál a metody: Smísili jsme 5 g parafínového oleje s 5 g lanolinu a s 5 ml teplem usmrcených *Streptococcus pyogenes* B stock. Suspenze byla 60 minut homogenizovaná v ultrazvukové lázni.

Navození artritidy: Artritida byla navozena dvěma podkožními injekcemi 100  $\mu$ l připravené suspenze do pravé zadní tlapky (jednotlivé podání v odstupu 8 dní).

Pokusy byly provedeny na dospělých potkanech kmene Wistar. Potkani byli rozděleni do 5 skupin po 6 samcích a samicích. Během pokusu byli 4 - 5x týdně na 20 minut (celkem 34x) umístěni do chovných nádob s různým testovacím materiálem.

Závěr: Mezi pohlavím byly zaznamenány rozdíly při hojení zánětu v různých koupelích.

Subakutní zánět vedl k poklesu koncentrací hemoglobinu i počtu leukocytů, naopak zvyšoval cirkulující imunokomplexy (CIK) v séru. U samců hojení nejlépe probíhalo v bahenní koupeli pokojové teploty (snížení CIK a nízký počet neutrofilů) a teplé bahno (malý pokles koncentrací hemoglobinu). U samic se zánět lépe hojil při zvýšené teplotě (v teplém písku i teplé slatině – menší pokles koncentrací hemoglobinu i počtu leukocytů, nízké CIK).

Klíčová slova: balneoterapie - zánět - minerální vody - peloidy

## **ABSTRACT**

Name of Bachelor's Thesis: Effect of mud baths on the healing process of experimentally induced inflammatory lesions.

Aim of the thesis: The aim of the experiment was to clarify the effect of mud baths on experimentally induced subacute inflammation of the right hind paw of rats of both sexes. In the experiment, we tried to distinguish the influence of therapeutic mud and the effect of heat itself.

Material and methods: We mixed 5 g of paraffin oil with 5 g of lanolin and 5 ml of heat-killed *Streptococcus pyogenes B stock*. The suspension is homogenized for 60 minutes in an ultrasonic bath. Induction of arthritis: Arthritis was induced by two subcutaneous injection 100 µl of the prepared suspension applied to the right hind paw (spaced by 8 days).

Experiments were conducted on adult Wistar rats. The rats were divided into 5 groups of 6 male and 6 female. During the experiment were 4 to 5 times a week for 20 minutes (total 34x) placed in rearing containers with different materials.

Conclusion: Differences were observed between the sexes in the healing of inflammation in different baths. Subacute inflammation led to a decrease in hemoglobin and leukocyte count, on the contrary, increased circulating immune complexes (CIC) in serum. In males, the most healing took place in a mud bath at room temperature (histological evaluation, low CIC a low neutrophil count) and hot bath (small decrease in hemoglobin). For females, the inflammation heal better at elevated temperature (in the warm sand and warm peat - a smaller drop in hemoglobin and leukocyte count, low CIC).

Key words: balneotherapy - inflammation - mineral waters - peloids



# 1. Úvod

Bahenní zábaly mají v některých zdravotnických zařízeních své místo v rámci nefarmakologických možností léčebné intervence u vybraných onemocnění.

Bláto mění beta-endorfiny a stresové hormony u pacientů s osteoartrózou tím, že snižují zánět a bolest, a tak snižují příčinu stresu **(1,2)**. Má blahodárné účinky na antioxidační, metabolické a zánětlivé procesy **(3)**. Mennuni **(4)** prokázal pozitivní vliv bahenní léčby u pacientů s osteoartrózou páteře. V případě pokročilé ankylozující spondylitidy bylo pozorováno zvýšení kostní denzity (BMD) páteře u sledované skupiny pacientů. Naopak procesy novotvorby kostní hmoty proximálního femuru byly ovlivněny méně **(5)**. Jiné studie sice prokázaly vliv bahenní lázně na léčbu zánětu, ale ne na kostní metabolismus. Význam v tomto směru by mohl mít aktuální obsah vápníku v minerálních jílech pocházejících např. z Maďarska a potenciální transdermální transport iontů vápníků do těla **(6)**. Bahenní koupel způsobuje pokles cytokinů, naopak teplá koupel vede k překrvení a ztrátě kostní hmoty **(7)**. Obdobně i u pacientů s artritidou dochází ke zvýšení zánětlivých cytokinů **(8,9)**, které mohou mít vliv na kostní tkáň, což vede ke změnám BMD **(10,11)**.

## 2. Přírodní léčivé minerální vody, peloidy

Přírodním zdrojem je přirozeně se vyskytující minerální voda, plyn nebo peloid. Mají vlastnosti vhodné pro léčebné využití, a o této skutečnosti bylo na základě odborných posudků vydáno Ministerstvem zdravotnictví (MZ) osvědčení. MZ ČR stanoví podle § 46 odst. 1 písm. a) až h) zákona č. 164/2001 Sb., o přírodních léčivých zdrojích, zdrojích přírodních minerálních vod, přírodních léčebných lázní a lázeňských místech a o změně některých souvisejících zákonů (tzv. lázeňský zákon) a podle Vyhlášky MZ ČR č. 423/2001 Sb. způsob a rozsah hodnocení přírodních léčivých zdrojů a zdrojů přírodních minerálních vod a další podrobnosti jejich využívání, požadavky na životní prostředí a vybavení přírodních léčebných lázní. Legislativně jsou stanoveny i náležitosti odborného posudku o využitelnosti přírodních léčivých zdrojů a klimatických

podmínek k léčebným účelům a výrobě přírodních minerálních vod včetně stavu životního prostředí přírodních léčebných lázní. **(12)**

Komplexní a příspěvková lázeňská péče je hrazena ze zdravotního pojištění. V současné době uznává Ministerstvo zdravotnictví ČR lázeňskou léčbu v 11 indikačních skupinách: nemoci onkologické, nemoci oběhového ústrojí, nemoci trávicího ústrojí, nemoci z poruchy výměny látkové a žláz s vnitřní sekrecí, netuberkulózní nemoci dýchacího ústrojí, nemoci nervové, nemoci pohybového ústrojí, nemoci močového ústrojí, duševní poruchy, nemoci kožní, nemoci ženské.

## 2.1 Přírodní minerální vody

### 2.1.1 Definice

Minerální vody jsou velmi zředěné roztoky solí, s daným chemickým složením a fyzikálními vlastnostmi. Minerální vodou pro léčebné využití se rozumí přirozeně se vyskytující podzemní voda původní čistoty s obsahem rozpuštěných látek nejméně 1g/l, nebo obsahem nejméně 1g/l rozpuštěného oxidu uhličitého, či s obsahem jiného pro zdraví významného chemického prvku, anebo která má u vývěru přirozenou teplotu vyšší než 20 °C, radioaktivitu radonu nad 1,5 kBq/l. Naše minerální vody se člení podle obsahu rozpuštěných plynů na uhličitě (hlavní složka CO<sub>2</sub>), nazýváme je také kyselky. Dále pak sulfanové (hlavní složka H<sub>2</sub>S), zvané sirné. Dalším určujícím hlediskem jsou rozpuštěné kationty a anionty. Mezi nejdůležitější a nejčastější se řadí hydrogenuhličitan (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), chloridy (Cl<sup>-</sup>), sírany (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) a z kationtů je to pak sodík (Na<sup>+</sup>), draslík (K<sup>+</sup>), vápník (Ca<sup>2+</sup>) a hořčík (Mg<sup>2+</sup>). Ze zvláště ceněných složek, které jsou přítomny jen v malých koncentracích, lze uvést např. jodidy (I<sup>-</sup>), železo (Fe<sup>2+</sup>) a plyn radon (<sup>222</sup>Rn). **(13)**

Celková mineralizace vod (tj. koncentrace anorganických složek vyjádřené v gramech na litr vody): prosté vody mají méně než 1 g/l, slabě mineralizované 1-5 g/l, středně mineralizované 5-15 g/l a silně mineralizované nad 15 g/l. **(14)**

## 2.1.2 Vznik minerálních vod

Geologické prostředí, formující zásadním způsobem tvárnost krajiny, je v České republice velice pestré. Charakter tohoto prostředí předurčuje výskyt neobyčejného množství nejrůznějších minerálních vod. Přítomnost většiny minerálních vod na našem území je především důsledkem třetihorní horotvorné činnosti a s ní prostorově a časově spojená vulkanická činnosti. Tradičně se využívají minerální vody i ve Francii, Itálii, Maďarsku, Německu a řadě dalších států. Obecně je však severní Evropa vzhledem ke svému geologickému vývoji na minerální vody velmi chudá. **(15)**

Kyselky vznikají pouze v polohách, kde zlomy v zemské kůře dosahují až do zemského pláště v hloubkách přes 25 km, ale méně než 30 km, kde mohou narazit na výskyt oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>). Oxid uhličitý nejčastěji vystupuje na místech, kde se kříží zlomy zemské kůry a vzniká zde pro něj dobrá cesta, kudy může stoupat k povrchu země. Pokud pak pronikne do míst, kde se nachází voda, začne se v ní rozpouštět. Smísením vody a oxidu uhličitého vzniká kyselina uhličitá (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), která rozpouští okolní horniny více než samotná voda. Zvláště dobře rozpouští horniny typu uhličitánů, jako je vápenec a dolomit, pak v kyselce převládá složka vápenatá nebo i hořečnatá. Když takové horniny nejsou na cestě proudící vody přítomny, pak se kyselka obohacuje o jiné složky, jako je draslík či sodík. Někdy vzniká kyselka i z vod mořských, pak má zvýšený obsah jodidů či chloridů (např. Luhačovice). Kyselky, které nepronikly na povrch, byly objeveny vrtní činností. Ostatně i termální vody. Ty jsou vázány na stejné podmínky jako kyselky. Vystupují po hlubokých zlomech (např. v lázních Teplicích). Když se propojí výstup vody z velké hloubky a současně odtud stoupá i oxid uhličitý, vznikne termální kyselka. Nejznámější příklad jsou Karlovy Vary. **(14)**

Druhý běžný typ minerální vody je sulfanový (dříve známý sirovodíkový). Vznik těchto vod vyžaduje zvláštní podmínky. Zejména vhodné utváření vrstev, poruch a podmínek pro proudění vod, přítomnost rozpuštěných síranů ve vodě uložených hluboko pod povrchem. Např. na jižní Moravě, v sedimentárních horninách, bývají často plynné uhlovodíky, které doprovází ropná hornina. Zde je běžnou součástí sulfanových vod methan. Jiná cesta k získání sulfanových vod je, když na zemském

povrchu roste les, rozkládají se jeho odumřelé části rostlin a stromů a ty dají vznik různým látkám, jako jsou např. huminové kyseliny. Ty se rozpouštějí v dešťové vodě, která se vsakuje do různých hloubek. Tato voda obsahuje aerobní bakterie, které oxidují organickou látku a tím získávají uhlík potřebný pro rozmnožování. Když se zásoba kyslíku spotřebuje, bakterie umírají. Tím vzniká sirovodík ( $H_2S$ ). Vody z hloubky s obsahem síranů se dostanou do styku s vodou, která přitekla od povrchu, a obsahuje odumřelé aerobní bakterie. Desulfurikační bakterie, tj. bakterie které odnímají kyslík ze síranů, se za nepřítomnosti kyslíku v jejich okolí živí odumřelými aerobními bakteriemi jako zdroj uhlíku a kyslík berou ze síranů. Ze síranu se potom vytvářejí molekuly  $H_2S$ . Vzniká sulfanová voda. **(14)**

## 2.1.3 Způsoby aplikace přírodních minerálních vod

### 2.1.3.1 Zevní aplikace

Doménou jsou choroby srdce a cév, stimulace autonomního nervového systému a imunitního systému.

- Koupele

Koupele se podávají vanové (částečné, celkové). Bazénové – klidové i s cvičením a plaváním, různého trvání a teploty. Působí přímo na kůži. Mají účinek sedativně-relaxační: omezení podnětu do CNS (nadnášením pohybového ústrojí, klidné prostředí koupele); hydrostatickým tlakem na cirkulaci krve i lymfy **(14)**. Sedací koupele s plynným  $CO_2$  se využívají rovněž v gynekologii a terapeutické ovlivnění oblasti celé malé pánve. Zřidelní plyn působí i na sliznice zevních rodidel a vagíny.

- Vodoléčba

Ve středověku byly oblíbené sprchy na hlavu. Stříky jsou teplé, studené, střídavé. Chozením v rose – stimulace, brodění po oblázcích – ploché nohy.

- Léčba parou

Prohřátí organismu s následným ochlazením. V 16. - 17. století sloužily parní budky k hypertermické léčbě akutní syfilis. **(14)**

- Vlhké obklady a zábaly

Horké (svalové křeče), teplé k prohřátí, studené (protizánětlivé, u horeček, dříve i u pneumonií), zapařovací (studené, s následným ohřátím tělesným teplem – Priessnitzovy, bolesti se zánětlivou složkou – žlučové koliky, záněty v hrdle). **(13)**

### 2.1.3.2 Vnitřní aplikace

- Pitné léčby

Doménou jsou onemocnění gastrointestinálního traktu (GIT).

Efekt pitné léčby závisí na množství, teplotě vody, obsahu a koncentraci minerálních látek, plynů a jejich kombinace. Nejvhodnější pití je ráno na lačno, doplněné pitím v poledne a večer. Strava následuje až po ½ až 1 hodině. Dochází ke kontaktu se sliznicemi, zvyšuje se resorpční schopnost nejen pro CO<sub>2</sub>, ale i pro minerály Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, pro natrium salicylicum, pro alkohol, sulfonamidy aj. Kyselky dráždí žaludeční sliznici k sekreci a současně zvyšují objem sekrece žaludeční šťávy.

Kontraindikace pitné léčby: poruchy průchodnosti GIT, žlučových i močových cest, retence vody ledvinami a jiné otoky, orgánové selhání, omezené dávky při portální hypertenzi.

- Výplachy

Nejčastěji střevní – jednorázové malé při zácpě, u větších výplachů se nekontrolovatelně vstřebává velké množství vody, jsou i velkým zásahem do střevní mikroflóry (předem nutná kolonoskopie). Dále pak výplach dutiny ústní (paradentopatie), výplachy vaginální u gynekologických indikací, kloktání u indikací ORL.

- Inhalační léčba

Párou s obsahem jodu i sirných látek a aerosolové inhalace mikroskopicky rozprášenými kapénkami vody. Všechna onemocnění respiračního traktu vyjma TBC.

- Injekční léčba

V Karlových Varech se v 30.-60. letech minulého století podávala při vývěru sterilně odebraná minerální voda (iontový roztok) i.v. u kožních chorob – ekzémy, recidivující alergické projevy s různým efektem. V současné době se plyn CO<sub>2</sub> insufluje do podkoží. Zavádění se provádí do podkoží v okolí artrotických kloubů, do okolí jizev, u lokálního ovlivnění trofických kožních defektů (kolem ulcus cruris, nad hranicí gangrény u diabetické nohy), proximálně od problematických míst na pahýlu amputovaných končetin se insufluje podle počtu vpichů maximálně do 25 ml do každého vpichu do 6 vpichů celkem v jedné aplikaci, opakování 2-3x týdně. **(13)**

- Zřídelní plyny

Vyvěrají samostatně nebo spolu s minerálními vodami. CO<sub>2</sub> se užívá k „suchým“ koupelím (kožní vstřebávání) jako vazodilatační léčba a ke snížení periferní cévní rezistence zejména u těžších stavů kardiopulmonální insuficience. CO<sub>2</sub> působí přímým kontaktem na stěnu cévní do 45-60 sekund vazodilataci cév kůže a podkoží za vzniku přesně ohraničené hyperémie podle toho, v jaké výšce je ponořeno tělo. Dále se využívá u nehojících se poranění kožního krytu nebo mokvavých dermatologických chorob (chronické mokvavé ekzémy a dermatitidy, gangrény, dekubity, aj.). Také se užívá v malých dávkách injekčně jako derivační léčba. **(13)**

## 2.2 Peloidy

### 2.2.1 Peloidy a jejich rozdělení

#### 2.2.1.1 Humolity

Horniny vzniklé v kyselém až subneutrálním prostředí pochodem rašelinění nebo slatinění převážně z odumřelých těl mechů a cévnatých rostlin, někdy s příměsí zemitých součástí **(16)**. Vyskytují se na území ČR a dále je dělíme na **(17)**:

1. Rašeliny – obsahují 95-99% organických látek, vznikají rozkladem rostlinné hmoty rašeliníku, suchopýru a dalších rostlin typických pro rašeliniště. Peloid se tvoří nad hladinou spodní vody v prostředí slabě mineralizované přírodní minerální vody a dělí se na:

- a) čisté – tvořené převážně zbytky rašeliníků;
- b) suchopýrové – tvořené převážně zbytky suchopýru pochvatého;
- c) blatnicové – tvořené převážně zbytky blatnice.

2. Slatiny – obsahují 50-95% organických látek, vznikají v prostředí minerální vody při anaerobních podmínkách. Slatina vzniká z rostlin typu rákos, orobinec, ostřice aj. Obsahují řadu organických komponent, z anorganických komponent jsou zastoupeny zejména síra, železo, vápník a dělí se na:

a) prosté – bez význačných příměsí neústrojných solí, se dále rozlišují:

čisté – s obsahem organických látek 85-95%;

zemité - s obsahem organických látek 50-85%;

b) slatiny sirno-železité – s obsahem  $\text{FeS}_2$  4-20% nebo více procentním.

3. Slatinné zeminy – obsahují 20-50 % organických látek, vznikají podobně jako slatiny. Mají málo organických komponent, z anorganických je výraznější zastoupení síry, železa a vápníku podle místních minerálních vod. Hlavní složka: zemité částice, zbytky trav, ostřic aj. Obsah ústrojných látek 20-50%:

a) slatinná zemina prostá – převažuje neústrojná složka silikátová;

b) slatinná zemina křídlová – s obsahem  $\text{CaCO}_3$  nad 15%.

### **2.2.1.2 Bahna**

V ČR se bahna pro léčebné použití příliš nevyskytují, hojně jsou však na Slovensku. Jedná se o převážně neústrojné sedimenty, vzniklé v neutrálním až alkalickém prostředí. Neústrojná složka je tvořena rozrušenými horninami, ústrojná

odumřelými těly vláknitých řas a sinic. Vznikají sedimentací anorganických látek v řekách, jezerech s převahou saprofikačních procesů a dělí se na:

1. bahno prosté – převládají silikátové zemité součásti, bez význačných terapeuticky důležitých látek a s obsahem ústrojných látek pod 50 %:

a) neústrojné – hlavní složka: silikáty, uhličitany. Méně než 20% organických látek,

b) sapropelové – obsahuje 20-50 % organických látek z odumřelých řas, sinic vyšších rostlin, nálevníků aj. Obsahuje hodně sirovodíku,

c) gyttjové – obsahuje 20-50 % organických látek z odumřelého planktonu rostlinného i živočišného, chitinové a vápnité skořápky.

2. bahno vřídelní - obsahuje silikáty, uhličitany, méně než 20 % organických látek.

3. bahno sirné – obsahuje silikáty, uhličitany, méně než 20 % organických látek, se zbytky termofilních sinic a sirných bakterií, síry a jejích sloučeniny:

a) termální – syceno termální vodou již v ložisku

b) termalisované – syceno teplou vodou teprve ve zracím bazénu, zde bahno zraje

4. bahno slané – obsahuje silikáty, uhličitany, méně než 20 % organických látek, slanomilné sinice a sirné bakterie, chlorid sodný:

a) mořské

b) limanové

c) solných jezer

## **2.2.2 Mechanismus účinku peloidů**

### **2.2.2.1 Tepelné účinky peloidů**

Peloidy mají mimořádné tepelné vlastnosti. Tepelná vodivost peloidů je velmi nízká. Zvětšuje se zvýšením obsahem vody při přípravě peloidní koupele. Teplodržnost (tepelná kapacita) je číslo, vyjadřující kolikrát pomaleji předává peloid teplo oproti



vodní koupeli, u rašeliny a slatiny 6-7, slatinná zemina 4-5, u bahna 3-4. V peloidní koupeli se tak lidský organismus pomalu a šetrně prohřívá. Teplo také působí i na vnitřní orgány hluboko uložené. Lokální teplota kůže v peloidním zábalu bývá až kolem 38-39 °C. Hlavním účinkem je vedení tepelné terapie, a to do hloubky organismu. Po přestupu tepla do subpapilárních cévních plexů se kombinuje vedení s přenosem krevním proudem. Hypertermie s hyperémií nastupuje pozvolna, dá se dobře dávkovat. Termoregulační mechanismy a reakce autonomního nervového systému se u peloidoterapie aktivují podle **(13)**:

- velikosti ošetřované plochy těla,
- teploty peloidu,
- doby trvání aplikace.

Hypertermie s hyperémií s sebou nese typické léčebné efekty:

- myorelaxační účinky na kosterní svalstvo,
- spazmolytické účinky na hladkou svalovinu (zábaly jsou osvědčeny i u léčby astmatiků, u chorob žlučníku, žaludku a střevních poruch, u chorob nefro-urologických a v gynekologii,
- analgetické účinky dané termickým efektem peloidů.

Podle velikosti zábalu stoupá teplota o 0,5 °C, v celkové peloidní vanové koupeli až o 2 °C. Kolem těla se vytváří obalová vrstva o šířce několika centimetrů, někdy až 8-15 cm.

U peloidů se udává vodní kapacita – vododržnost, což je množství vody, které udrží ekvivalent 1 g sušiny peloidu a udává schopnost zvětšit objem absorpcí vody. Největší vododržnost má rašelina 1:14-1:27, slatina má hodnotu vododržnosti o něco nižší. Dále je pak důležitá i schlazovací veličina, která informuje o tom, za jak dlouhý čas se peloid ochladí o 1-2 °C. Racionální konzistenci, respektující co nejmenší „pelostatický tlak“ a viskozitu celkové peloidní koupele, získáme přidáním přírodní minerální vody, ovšem jen do určité míry, aby zůstala zachována kondukční složka a

nedošlo při větším množství ke ztrátám tepla prouděním. Tepelná vodivost se podle provedených výzkumů VÚB (Výzkumný ústav balneologický Mariánské Lázně) nemění v intervalu, jehož spodní mez je daná obsahem vody rovným vodní kapacitě humolitu a horní mez je daná obsahem vody rovným objemu sedimentu humolitu ve vodním prostředí. Dodržení dolní meze je racionální konzistencí pro zábal a tampony. Horní mez je racionální konzistencí pro peloidní koupel. **(13)**

Humolity jsou vododržností a dalšími vlastnostmi vhodné pro celkové nebo částečné peloidní koupele, slatinné zeminy a bahna jsou svou konzistencí vhodné na zábaly, protože jsou ve směsi s vodou při legislativou dané hustotě výborně tvárné a dobře roztíratelné. Viskozita peloidu oproti vodě je vysoká, odpor peloidní koupele při vstupu nemocného do koupele je až 350krát větší proti vodní koupeli. Vysoká viskozita brání šíření tepla, které se předává téměř výhradně kondukcí.

### **2.2.2.2 Transportní efekt peloidů**

Na rozhraní kůže a peloidu dochází k transportnímu efektu, tzn. pochodům sorpčně-resorpčním. Probíhají vzájemné vazebné interakce, kdy se z extracelulární tekutiny kůže vymývají organické i anorganické látky, kůže vylučuje hodně potu, který se dále vstřebává do peloidu. Také se do peloidu vstřebávají olupující se epitelie. Poměrně rychle je odstraněn kožní lipidový film a kožní adnexa (potní a mazové žlázy, nehty, vlasy) jsou aktivními účastníky sorpčních dějů. Při nízkém pH 3-5 peloidů se aktivují kožní, slizniční na podkožní pufry s následnou vazodilatací. **(13)**

Chemické působení peloidů je děj látkové výměny mezi peloidy a tělem **(16)**. Ionto-výměnným mechanismem jsou absorbovány kationty. Absorpce je větší pro ionty hořčíku, méně pro vápník, ještě méně pro sodík a nejméně pro draslík. Kvantita a kvalita závisí na elektrokinetických potenciálech a příslušném elektrochemickém spádu. Elektrochemické děje mohou vysvětlit různé většinou empiricky podložené klinické efekty léčby u různých peloidů (např. procedury s prostou slatinou, slatinnou zeminou atd. **(13)**

Fyzikálně-chemické rozdíly vznikají i typem přípravy peloidu k použití. Reakce je závislá na přípravě peloidu, jestli jsou vyplněny jeho póry – prostory mezi pevnými částicemi výchozího peloidu. Rozdíly jsou dány jejich odlišným fázovým složením, v závislosti na něm může mít peloidní procedura připravena z téhož druhu rozdílné mechanické, tepelné, chemické a klinické vlastnosti. Toto platí hlavně pro zábaly a vaginální tampony.

Pro technologii přípravy peloidu k aplikaci je potřeba mít k dispozici: kvalitní peloid, správný poměr vody v aplikačním médiu, předebrátí nezávadným šetrným ohřevem, který nezmění fyzikálně-chemické vlastnosti.

### **2.2.3 Klinické účinky peloidoterapie**

Termické vlivy, analgetický účinek, popudový a protizánětlivý účinek:

Důležité u astma bronchiale, chronických bronchitid a dalších chronických respiračních onemocnění s produkcí hlenu. Zabal se dává na záda zpravidla na plochu od ramenou a šíje v rozsahu Th<sub>1</sub> až Th<sub>12</sub> páteře. Popisován je také pozitivní efekt u léčby onemocnění ledvin a urologického traktu s aplikací částečných zábalů na bederní oblast či oblast celé pánve, využití také tamponů. Celková nebo lokální peloidoterapie se dále využívá u kloubních onemocnění, posttraumatických stavů, povolení jizev, změkčení pojiva (změna viskozity a elasticity) - např. u Bechtěrovovy choroby a kolagenózy.

Lokální chemický a biologický efekt daný přítomností organických látek souvisí s huminovými kyselinami a bitumenem, které mají stahující a bakteriostatický až baktericidní účinek. Resorbují se kůžemi a sliznicemi a ovlivňují tělní povrchy, tzn. kůži a sliznice (např. vaginální tampony). Léčebné efekty jsou podloženy u sirno-železité slatiny v gynekologii. Pro organismus je důležitá schopnost peloidů absorbovat látky vylučované kůží (pot), olupování se horní vrstvy kůže a kůží uvolňovaný CO<sub>2</sub>. V horních vrstvách kůže dochází k určité mírné demineralizaci s dopadem na elektrofyziologii kůže a podkoží se změnou odporu tělesných tkání a elektrické kožní vodivosti. Dochází k elektrochemickým změnám, které ve svém důsledku vedou prostřednictvím

stimulace aferentních nervových vláken k lokálním či humorálním reflexním regulačním dějům, elektrofyziologickým dějům a ke změnám v řízení organismu centrální nervovou soustavou **(13)**.

Kombinovaný efekt peloidní léčby:

Kombinuje se efekt termofyzikální s účinkem biologickým. Při léčbě pohybového aparátu je jednoznačným efektem zvýšení rozsahu pohybu a úlevy bolestí u degenerativních kloubních onemocnění a degenerativních onemocnění páteře.

Tlakový efekt:

V celkové peloidní koupeli se uplatňuje vztlak a tlak média na lidský organismus. Humolitové koupele nemají vysokou specifickou hmotnost oproti vodním procedurám. Slatiny a bahna mají vyšší specifickou hmotnost, proto jsou vhodnější pro přípravu zábalů. Krev a lymfa se v koupeli tlakem peloidu transportuje z dolních končetin směrem k srdci, při současném stlačení břišní stěny a hrudního koše však může mít celková koupel nepříznivý dopad na oběhový i dýchací systém.

Léčebný efekt interakcí mezi peloidy a kůží je:

- hydratace kůže a sliznic;
- demineralizace kůže; lokální změna pH kůže; výměna iontů;
- baktericidní a bakteriostatický efekt huminových kyselin a dalších organických látek;
- vliv na autonomní nervový systém a imunitní děje.

### **3. Cíl práce**

Primární cíl: Ovlivňují slatinné koupele celkový průběh a příznaky experimentálně navozeného subakutního zánětu?

Sekundární cíl: Je případný pozitivní efekt léčebné procedury dán vlastním vlivem slatinné koupele, či nespécifickými faktory (především změnou teploty)?

## 4. Materiál a metody

V pokuse byli použiti dospělí potkani kmene Wistar (Biotest s.r.o. Konárovice, ČR). Zvířata (Biotest s.r.o., Konárovice, ČR) byla chována v plastových klecích za standardních podmínek. Potkani byli rozděleni do 5 skupin po 12 zvířatech (6 samců a 6 samic). Veškeré manipulace v průběhu vlastního pokusu byly prováděny v souladu s pokyny vydanými etickou komisí (č. 27139/2006-30/300). Všechny bolestivé manipulace byly prováděny v celkové anestezii etherem, podle § 11 vyhlášky č. 207/2004 Sb., o ochraně, chovu a využití pokusných zvířat.

Zvířata byla chována v Centrálním viváriu a Radioizotopových laboratořích, Lékařské fakulty Hradec Králové v klimatizovaných prostorech. Teplota vzduchu 22-24 °C, vlhkost 40-60%, 12 hodin světlo, 12 hodin tma. Zvířata chována v PVC klecích po 6 zvířatech na dřevěných hoblinách bez prachu a pilin. Dezinfekce vivária prováděna podle postupů, které odpovídají ustájení laboratorních zvířat dle platných zákonů a vyhlášek. Zvířata krmena *ad libitum* standardní laboratorní dietou ST1 (TOP Velaz, s.r.o., ČR). K pití se použila pitná voda z veřejného zdroje.

### 4.1 Příprava Freundova adjuvans

Smísilo se 5 g parafínového oleje, 5 g lanolinu s 5 ml teplem usmrcených *Streptococcus pyogenes B stock* (poskytnuty z Ústavu mikrobiologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové). Suspenze byla 60 minut homogenizována v ultrazvukové lázni. **(18)**

### 4.2 Inaktivace bakterií a příprava extraktu

Bakterie kultivované přes noc byly 3x proprány v RPMI (Roswell Park Memorial Institute medium - roztok pro kultivaci buněk – zdroj cukrů) roztoku. Následovalo naředění na koncentraci  $2 \times 10^7$  až  $2 \times 10^9$ /ml a usmrcení zahřátím na 60°C po dobu 30 minut. Inaktivace mikrobů byla potvrzena kultivací na Ismal agaru po dobu 48 hodin. Množství 5,1 g lyofilizovaných bakterií bylo resuspendováno v 25 ml roztoku PBS

(Phosphate buffered saline - fyziologický roztok fosfátového pufru) a vloženo do ultrazvukového dezintegrátoru na 90 minut (při amplitudě 8 mikronů proudu). Rozrušený materiál byl centrifugován při 3 000 g po dobu 20 minut. Supernatant byl filtrován přes filtrační membránu s velikostí pórů 5 a 0,8  $\mu\text{m}$ . Sterilita byla kontrolována kultivací 0,1 ml roztoku na Islam agaru po dobu 48 hodin. Po lyofilizaci byl extrakt naředěn na koncentraci 1 mg/ml **(18)**.

### **4.3 Parametry používaného ultrazvuku**

Ultrazvuková lázeň (EcoSon, typ U-3STH, výrobce Slovenská republika), ve které jsme připravovali suspenzi po dobu 60 minut, měla frekvenci 45 kHz.

### **4.4 Navození artritidy**

Artritida byla navozena celkem dvěma podkožními injekcemi 0,10 ml suspenze Freundova adjuvans do plantární strany hluboko do podkoží pravé tlapky první a osmý den experimentu. Potkani byli rozděleny do 5 skupin po 12 zvířatech (6 samců a 6 samic). **(18)**

Kontrolním (Intaktním) zvířatům, 6 samců a 6 samic, byl aplikován pouze fyziologický roztok.

Fáze akutní artritidy trvala 1 týden, po kterém následovalo chronické stadium s mírným otokem kloubu (srovnání tlapek v odstupu 1 týdne na obrázku 1 a obrázku 2):



Obrázek 1: 1. den: první aplikace do pravé tlapky kompletního Freundova adjuvans



Obrázek 2: 8. den: druhá aplikace do pravé tlapky kompletního Freundova adjuvans. Zde je již patrná artróza.

## 4.5 Schéma pokusu

Potkani byli rozděleni do 5 skupin po 12 zvířatech (6 samců a 6 samic). Jejich původní tělesná hmotnost na začátku pokusu skupiny samců – kontrolní  $265\pm 3$  g, teplý písek  $266\pm 5$  g, teplé bahno  $38^{\circ}\text{C}$   $265\pm 3$  g, bahno  $265\pm 5$  g; samice – kontrolní  $207\pm 2$  g, teplý písek  $211\pm 3$  g, teplé bahno  $38^{\circ}\text{C}$   $208\pm 3$  g, bahno  $214\pm 2$  g.

Všichni potkani absolvovali celkem 34 bahenních koupelí. Doba koupele 20 minut v bahenní lázni 4-5x týdně. Umístění do chovných nádob s vyhřátým pískem, vyhřátým bahnem, bahnem při pokojové teplotě  $21^{\circ}\text{C}$  a s hoblinami. Vyhřátí bahenní koupele a písku bylo zajištěno vyhřívací podložkou pro histologické preparáty. Teplota koupele ověřována teploměrem.

První den pokusu byl proveden v celkové anestezii odběr 1,5 ml krve a provedena první aplikace 0,10 ml kompletního Freundova adjuvans suspenze do tlapky s následným zhotovením fotografie obou tlapek. Z odebrané krve se získané sérum zamrazilo. Druhý den byly zahájeny koupele trvající vždy 20 minut.

Za 8 dní po první aplikaci byla provedena druhá aplikace 0,10 ml kompletního Freundova adjuvans do tlapky se zhotovením fotografií a pokračovalo se v koupelích.

30-tý den pokusu proveden další krevní odběr a sérum opět zamraženo.

Krev byla průběžně odebírána z retroorbitálního plexu.

Pokus ukončen po 50 dnech experimentu. Následně bylo provedeno usmrcení všech zvířat v etherové anestezii vykrvácením z bifurkace břišní aorty s odběrem systémové krve. Po zhotovení fotografií tlapek byly tyto odebrány do formalínu pro zhotovení mikroskopického obrazu zánětu v poškozené tlapce, zamraženy a byla jim provedena DEXA (dual-energy x-ray absorptiometry, typ Hologic Waltham, MA USA). BMD provedena v Osteocentru Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Hradec Králové, ČR. BMD byla měřena ve třech částech těla: bederní a ocasní obratle, femury. Skladovány při  $-80^{\circ}\text{C}$  až do použití.



### Rozdělení potkanů do skupin:

Označení jednotlivce barvou na vlasy – hlava, hřbet, zadek, levý bok apod.

1. skupina: samci (**M-intaktní**) a samice (**F-intaktní**) bez navozené artritidy
2. skupina: samci (**M-kontrolní**) a samice (**F-kontrolní**): s navozenou artritidou, „koupele“ na hoblinách při pokojové teplotě. Ponechání za standardních podmínek v plastové bedně s hoblinami po dobu 20 minut, pak vrácení do původní bedny.
3. skupina: samci (**M-teplý písek**) a samice (**F-teplý písek**) s navozenou artritidou, „koupele“ na vyhřátém písku. Na dobu 20 minut přemístěny do chovné plastové bedny vyplněné pískem vyhříváním na 38 °C.
4. skupina: samci (**M-teplé bahno**) a samice (**F-teplé bahno**) s navozenou artritidou, „koupele“ ve vyhřátém bahně. Na dobu 20 minut přemístěny do chovné plastové bedny vyplněné slatinným bahnem vyhříváním na 38 °C.
5. skupina: samci (**M-bahno**) a samice (**F-bahno**) s navozenou artritidou, „koupele“ v bahně s pokojovou teplotou. Na dobu 20 minut přemístěny do chovné plastové bedny vyplněné slatinným bahnem bez vyhřívání při pokojové teplotě. Viz obrázek 3 a 4:



*Obrázek 3: Bahenní koupel při laboratorní teplotě v plastových bednách, celkový náhled*



*Obrázek 4: Pohled na koupel shora*

## 5. VÝSLEDKY

Po 50ti dnech byl pokus ukončen. K histologickému vyšetření jsme použili tlapy s navozenou lézí. Speciální žiletkou byla odříznuta malá část a vložena do připraveného 4% roztoku formalínu, který by měl být 10ti násobkem objemu proti velikosti tkáně. Parafínové řezy tloušťky 3  $\mu\text{m}$  byly obarveny hematoxylin – eosinem a modrým trichromem.

Potkani byli utraceni vykrvácením z bifurkace břišní aorty s odběrem systémové krve. V odebraných vzorcích krve byl stanoven krevní obraz s diferenciací rozpočtem, v izolovaném séru byly stanoveny cirkulující imunokomplexy.

Zánět vedl k poklesu koncentrací hemoglobinu i počtu leukocytů, ale zvyšoval cirkulující imunokomplexy.

V krevním obraze s diferenciací rozpočtem jsme u samců vyhodnotili nejnižší koncentrace cirkulujících imunokomplexů u bahna při 24°C proti intaktní skupině (viz. tabulka č. 2, graf č. 3), zde se tedy léčivý efekt uplatňoval nejlépe. U neutrofilů jsme zaznamenali významnost intaktních samců proti bahně při 24°C (viz. tabulka č. 5, graf č. 7). Nejmenší rozdíl koncentrace hemoglobinu je u intaktních samců proti bahně při 38°C (viz. tabulka č. 1, graf č. 1). Koncentrace leukocytů není u samců tak významná – hodnoty jsou si podobné.

V krevním obraze u samic jsme vyhodnotili nejnižší rozdíl poklesu koncentrací hemoglobinu u bahna při 38°C proti intaktní skupině (viz. tab. č. 1, graf č. 2). Počet leukocytů u intaktních samic je nejvýznamnější proti teplému písku a teplému bahně (viz. tab. č. 4, graf č. 6). U cirkulujících imunokomplexů u intaktních samic proti teplému písku byly hodnoty nejvýznamnější, zde se léčivý efekt uplatnil nejlépe (tab. č. 3, graf č. 4). U neutrofilů byl rozdíl intaktních samic zaznamenán proti teplému písku (tab. č. 5, graf č. 8).

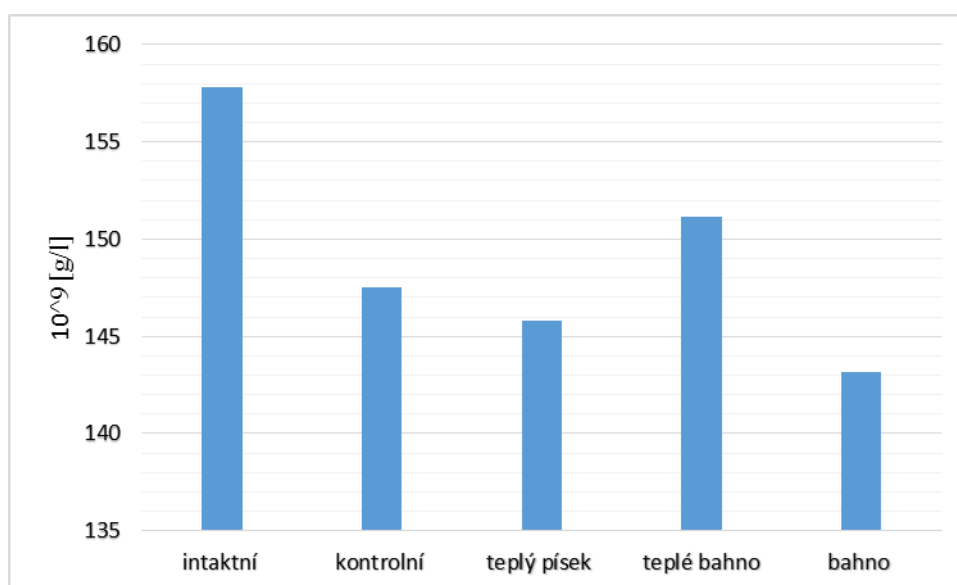
**Statistika krevního obrazu (ve skupině vždy 6 potkanů):**

**Koncentrace hemoglobinu (Hb), průměr ± střední chyba průměru (SEM):**

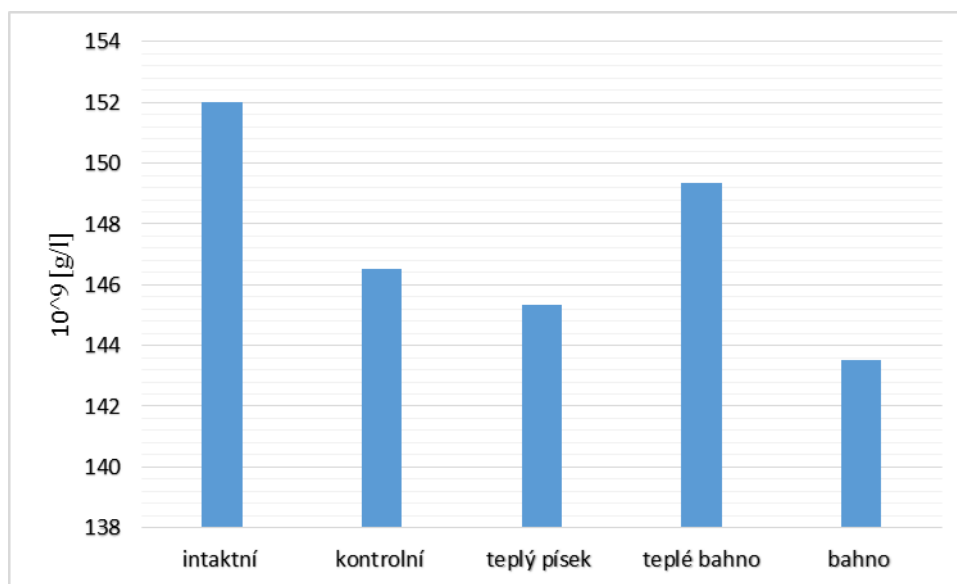
Statistická významnost je u intaktních samic proti písku, nejméně se lišila od intaktních samic skupina s bahnem při 38°C, zde se tedy léčivý efekt uplatnil nejlépe. U samců se pak léčivý efekt uplatnil nejlépe v teplém bahně proti intaktní skupině, kde byl zaznamenán jen malý pokles koncentrací hemoglobinu.

*Tabulka 1: Koncentrace hemoglobinu samci a samice*

Hemoglobin 10 <sup>9</sup> [g/l]	intaktní	kontrolní	teplý písek	teplé bahno	bahno
samci	157,8±1,9	147,50±2,61	145,83±2,44	151,17±2,45	144,17±1,57
samice	152,0±1,6	146,50±3,62	145,33±1,72	149,33±2,64	143,50±2,77



*Graf 1: Koncentrace hemoglobinu samci*



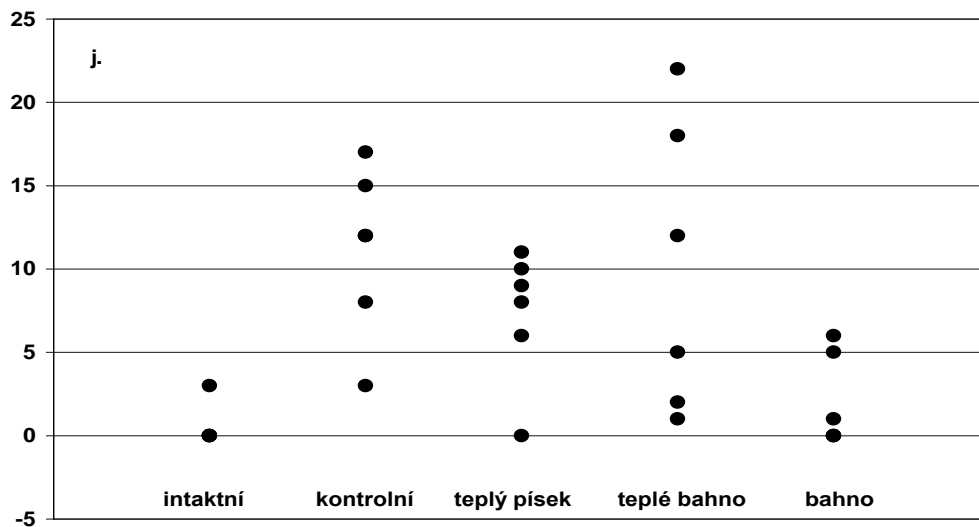
Graf 2: Koncentrace hemoglobinu samice

#### Cirkulující imunokomplexy (CIK) samci±SEM:

Statistická významnost je u intaktních samců proti bahně, nejméně se lišila od intaktních samců skupina s bahnem při 24°C, zde se tedy léčivý efekt uplatnil nejlépe.

Tabulka 2: Koncentrace cirkulujících imunokomplexů samci

samci	intaktní	kontrolní	teplý písek	teplé bahno	bahno
samec č. 1	0	12	10	22	0
samec č. 2	0	8	8	5	0
samec č. 3	0	15	9	1	1
samec č. 4	3	3	11	12	0
samec č. 5	0	12	6	18	5
samec č. 6	0	17	0	2	6
Průměr±SEM	0,50±0,46	11,17±1,88	7,33±1,41	10,0±3,26	2,0±1,03



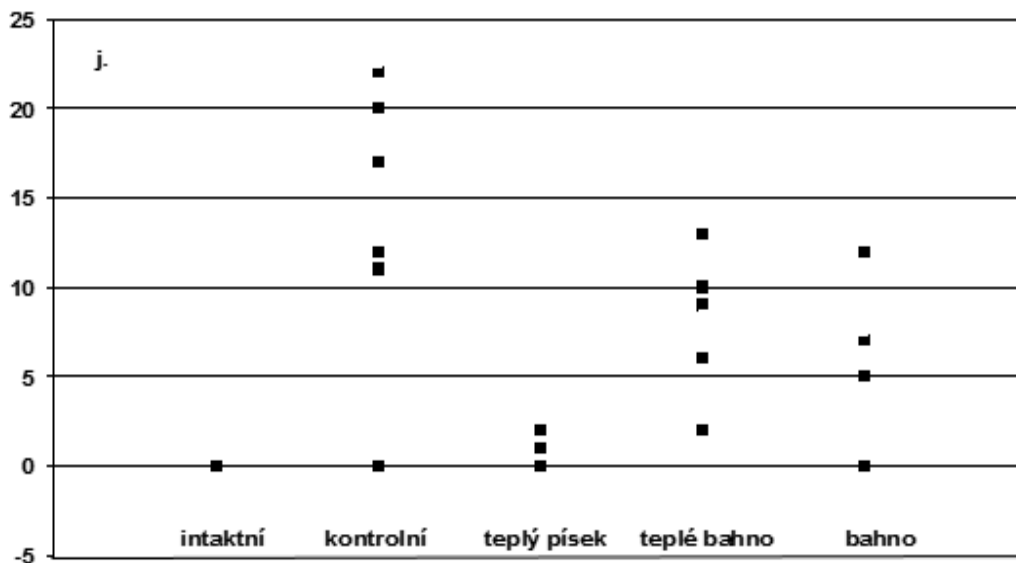
Graf 3: Koncentrace cirkulujících imunokomplexů samci

#### Cirkulující imunokomplexy (CIK) samice±SEM:

Statistická významnost je u intaktních samic proti teplému písku, nejméně se lišila od intaktních samic skupina s teplým pískem, zde se tedy léčivý efekt uplatnil nejlépe.

Tabulka 3: Koncentrace cirkulujících imunokomplexů samice

samice	intaktní	kontrolní	teplý písek	teplé bahno	bahno
samice č. 1	0	22	0	2	12
samice č. 2	0	12	2	10	0
samice č. 3	0	0	0	9	7
samice č. 4	0	20	0	6	5
samice č. 5	0	17	1	13	0
samice č. 6	0	11	0	9	0
průměr±SEM	0±0	13,67±2,97	0,50±0,31	8,17±1,40	4,0±1,84



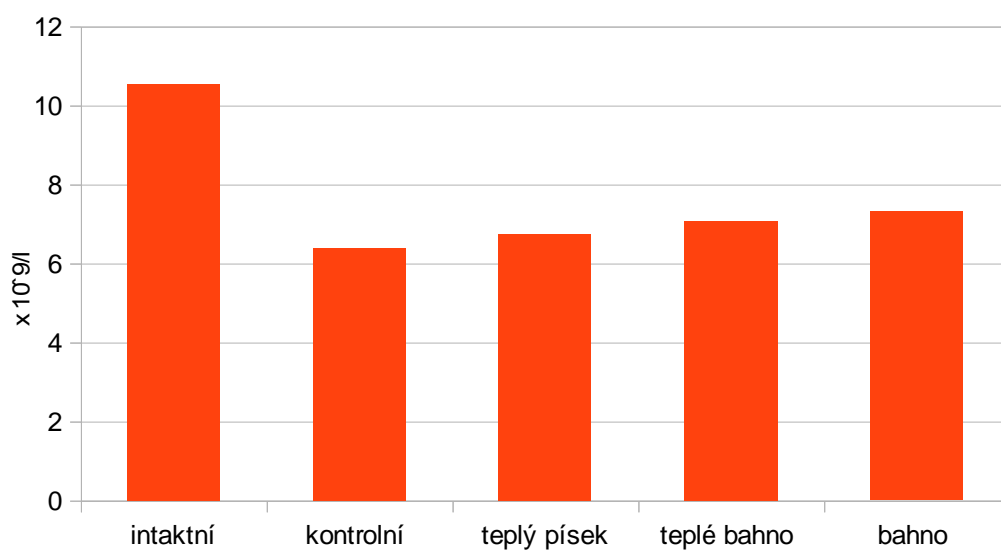
Graf 4: Koncentrace cirkulujících imunokomplexů samice

#### Koncentrace leukocytů, průměr±SEM:

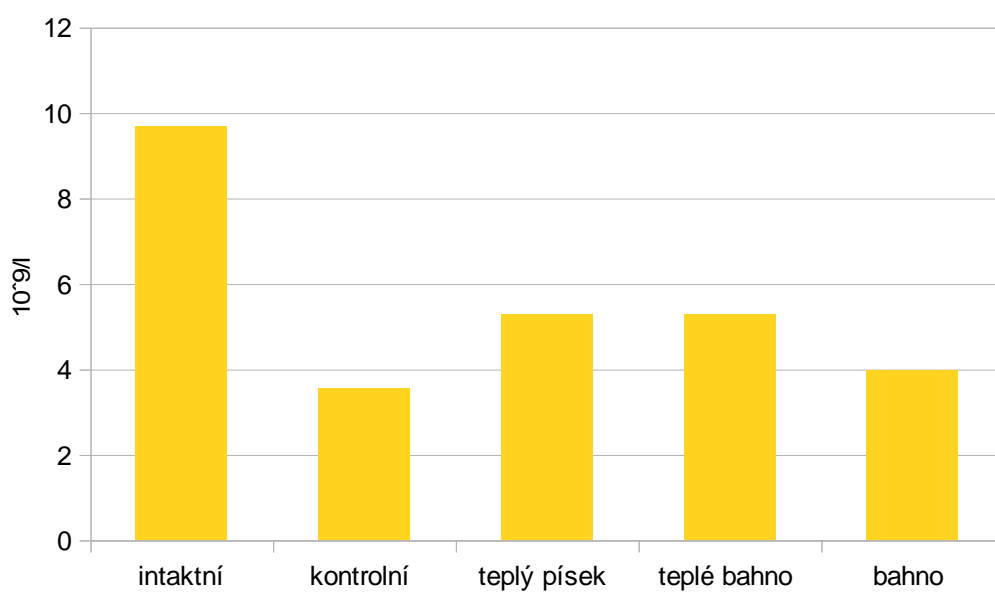
Statistická významnost je u intaktních samic proti teplému písku a teplému bahnu, nejméně se lišila od intaktních samic skupina s pískem a bahnem při 38°C, zde se tedy léčivý efekt uplatnil nejlépe.

Tabulka 4: Koncentrace leukocytů samci a samice

Leukocyty 10 <sup>9</sup> /l	intaktní	kontrolní	teplý písek	teplé bahno	bahno
samci	10,53±0,72	6,38±0,89	6,73±1,14	7,07±0,71	7,30±0,35
samice	9,68±0,93	3,55±0,61	5,28±0,86	5,28±0,80	3,97±0,26



*Graf 5: Koncentrace leukocytů samci*



*Graf 6: Koncentrace leukocytů samice*

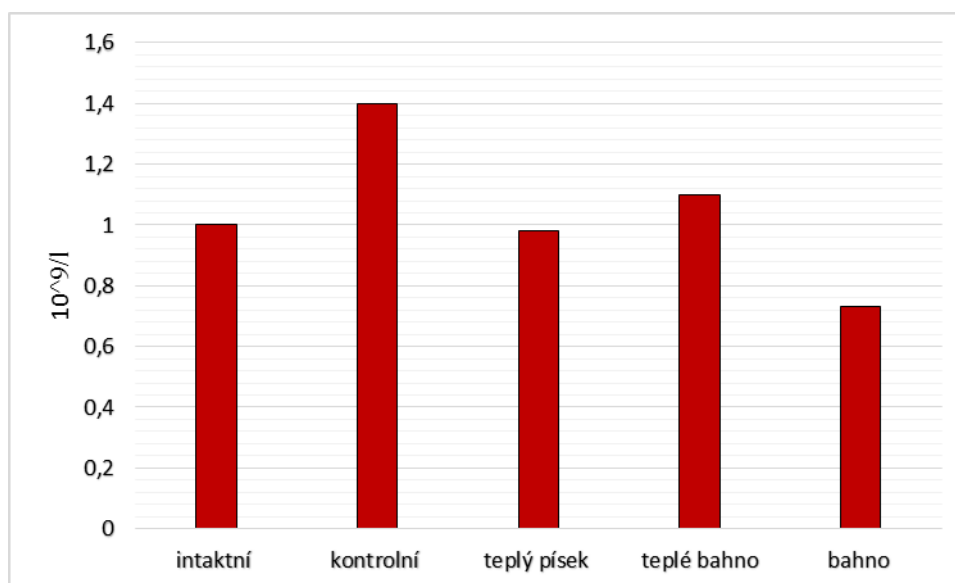


### Koncentrace neutrofilů, průměr±SEM:

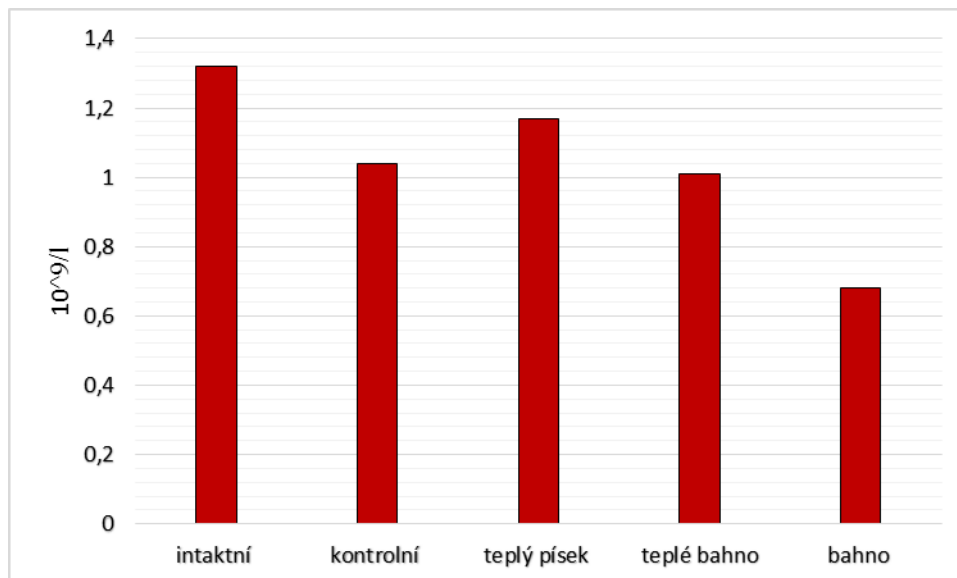
Statistická významnost je u intaktních samců proti bahně při 24°C, nejméně se lišila od intaktních samců skupina s bahnem při 24°C, zde se tedy léčivý efekt uplatnil nejlépe.

Tabulka 5: Koncentrace neutrofilů samci a samice

Neutrofilý 10 <sup>9</sup> /l	intaktní	kontrolní	teplý písek	teplé bahno	bahno
samci	1,00±0,35	1,40±0,14	0,98±0,17	1,10±0,15	0,73±0,22
samice	1,32±0,29	1,04±0,10	1,17±0,28	1,01±0,13	0,68±0,15



Graf 7: Koncentrace neutrofilů samci



*Graf 8: Koncentrace neutrofilů samice*

### **Histologické vyšetření:**

Histologické vyšetření bylo srovnáváno s intaktní skupinou (nebyla navozena artritida) a kontrolní skupinou (navozená artritida, ale koupele probíhaly pouze na hoblinách).

Histologické vyšetření prováděl a vyhodnocoval MUDr. Tomáš Soukup, Ph.D. z Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec králové - katedra histologie.

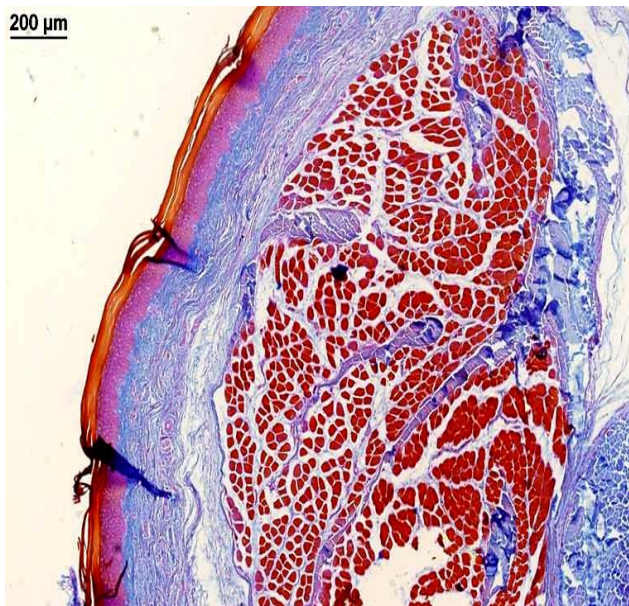
Podle histologického obrazu u samců nejlépe probíhalo hojení v bahenní koupeli pokojové teploty (obr. č. 7) ve srovnání s intaktní skupinou (obr. č. 5) a kontrolní skupinou (obr. č. 6):



Obrázek č. 5: Histologický řez pravé tlapy samce potkana, 1. skupina samců intaktní – bez navozené artritidy. 50tý den ukončení pokusu.

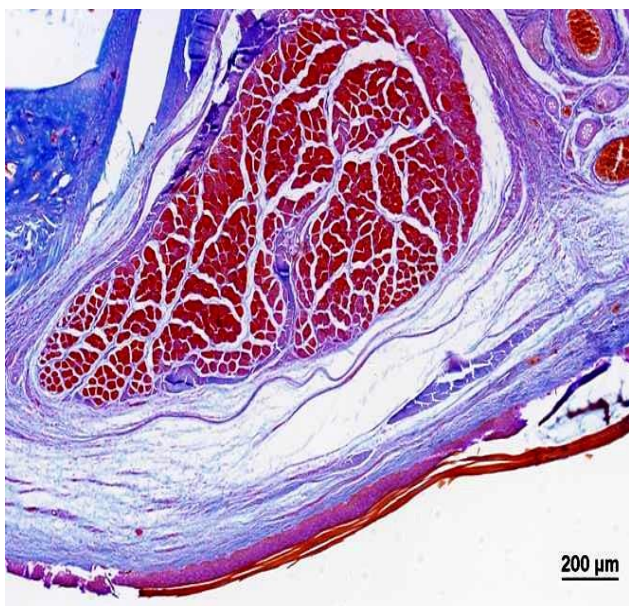


Obrázek č. 6: Histologický řez pravé tlapy samce potkana, 2. skupina kontrolní samci – s navozenou artritidou. bez léčení. 50tý den ukončení pokusu.



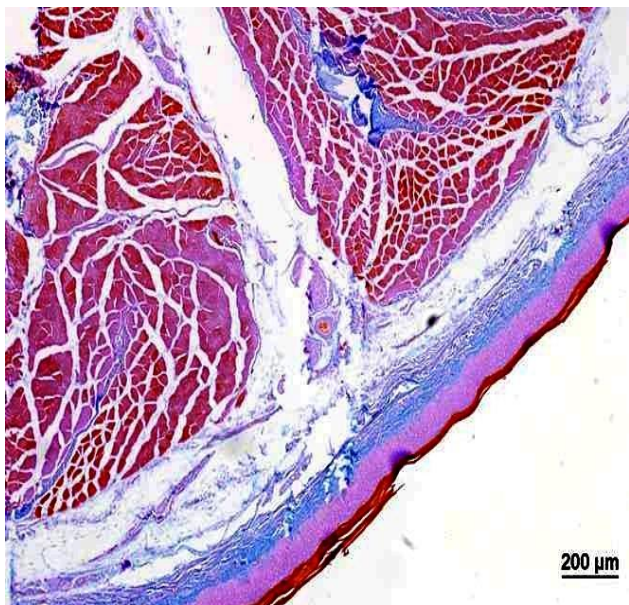
Obrázek č. 7: Histologický řez pravé tlapky samce potkana, 5. skupina samci - koupele v bahně při pokojové teplotě. 50tý den ukončení pokusu. Zde se léčivý efekt uplatnil nejlépe.

U samic se zánět lépe hojil při zvýšené teplotě jak v písku (obrázek č. 11), tak i teplé slatině (obrázek č. 10) proti intaktní skupině (obr. č. 8) a neléčené 2. kontrolní skupině (obr. č. 9), kde neprobíhala léčba.

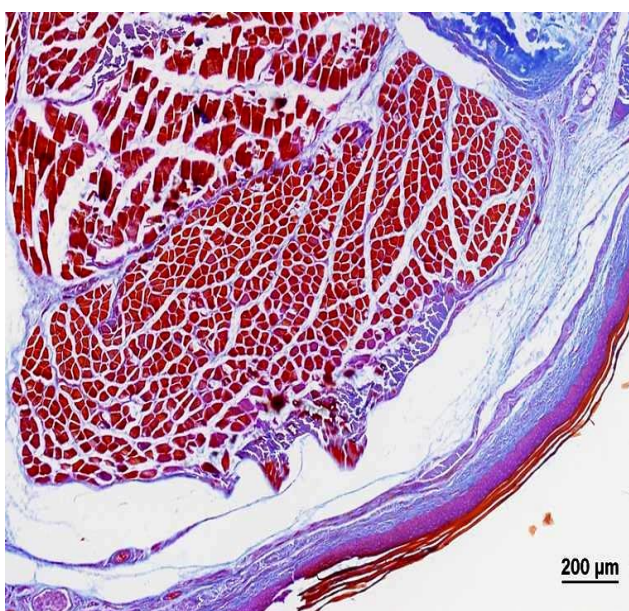


Obrázek č. 8: Histologický řez pravé tlapky samice potkana, 1. skupina samic intaktní – bez navozené artritidy. 50tý den ukončení pokusu.

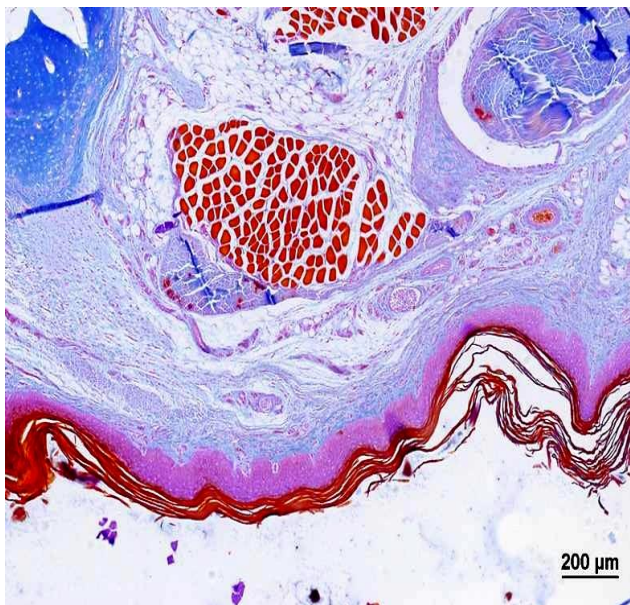




Obrázek 9: Histologický řez pravé tlapky samice potkana, 2. skupina kontrolní samice – s navozenou artritidou, bez léčení. 50tý den ukončení pokusu.



Obrázek 10: Histologický řez pravé tlapky samice potkana, 4. skupina samice - koupele v bahně při 38°C. 50tý den ukončení pokusu. Zde se léčivý efekt uplatnil nejlépe.



Obrázek 11: Histologický řez pravé tlapy samice potkana, 3. skupina samice – koupele v písku při 38°C. 50tý den ukončení pokusu. Zde se léčivý efekt uplatnil



Obrázek 12: Pravá tlapka potkana bez léčby – kontrolní skupina.





Obrázek 13: Pravá tlapka potkana s léčbou v bahně při pokojové teplotě.

## 6. Diskuze

Bahenní aplikace k léčbě revmatických chorob mají dlouholetou tradici a jsou založeny na zavedených vědeckých principech **(19)**. Mnohé studie prokázaly vliv bahenní lázně na léčbu zánětu **(7)**, ale ne na kostní metabolismus. Někteří autoři uvádějí přínos koupelí pro BMD **(11)**. Bláto má blahodárné účinky tím, že snižuje zánět a bolest **(1, 20)**, zlepšuje kloubní funkčnost a kvalitu života **(4)**. Na druhé straně tepelné namáhání vede k překrvení spojené se ztrátou kostní hmoty **(20, 21)**. Pacienti obvykle používají teplé bahenní koupele, proto jsme se snažili odlišit vliv samotné slatinné koupele od nesespecifických faktorů – změna teploty. Tímto pokusem bylo prokázáno, že bahno má blahodárné účinky jak uvádí autoři **(3)**, ale s rozdílem pohlaví a teploty, než jak uvádějí někteří autoři **(1, 20, 21)**. Cílem této studie bylo určit vliv opakovaných bahenních koupelí na průběh experimentálně navozeného zánětu u samců a samic potkanů kmene Wistar. Především jsme prokázali změny neutrofilů, cirkulujících imunokomplexů, hemoglobinu a leukocytů. U samců jsme vyhodnotili nejnížší

koncentrace cirkulujících imunokomplexů u bahna při pokojové teplotě proti intaktní skupině. U neutrofilů jsme zaznamenali významnost také u bahna při pokojové teplotě proti intaktní skupině. Nejmenší rozdíl koncentrace hemoglobinu u intaktních samců byl proti bahně při 38°C. Koncentrace leukocytů není u samců tak významná, hodnoty jsou si podobné s intaktními samci. Podle histologických řezů se léčba nejvíce uplatňovala u bahna při pokojové teplotě ve srovnání s intaktními samci, kde nebyla navozena artritida a kontrolní skupinou, kde navozená artritida byla, ale bez léčby. U samic byl nejnižší rozdíl poklesu koncentrací hemoglobinu u bahna při 38°C proti intaktní skupině. Počet leukocytů u intaktních samic je nejvýznamnější proti teplému písku a teplému bahně. U cirkulujících imunokomplexů intaktních samic proti teplému písku byly hodnoty nejvýznamnější, zde se tedy léčivý efekt uplatnil nejlépe. U koncentrace neutrofilů intaktních samic byl zaznamenán nejmenší rozdíl proti teplému písku. Podle histologických řezů se léčba nejvíce uplatnila při koupelích v teplém písku a teplém bahně v porovnání s intaktní a kontrolní skupinou.



## 7. Závěr

- Subakutní zánět vedl k poklesu koncentrací hemoglobinu a leukocytů, naopak zvyšoval cirkulující imunokomplexy v séru.
- Mezi pohlavím byly zaznamenány rozdíly při hojení zánětu v různých koupelích.
- Podle krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem u samců hojení nejlépe probíhalo v bahenní koupeli pokojové teploty (24°C), kde byl značný pokles cirkulujících imunokomplexů proti intaktní skupině. U neutrofilů byly významné hodnoty také intaktních samců proti bahnu pokojové teploty. Nejmenší rozdíl koncentrace hemoglobinu byl u intaktních samců proti bahnu při 38°C. Koncentrace leukocytů není u samců tak významná. Histologické vyšetření prokázalo nejlepší hojení v bahenní koupeli při pokojové teplotě ve srovnání s kontrolní skupinou, kde neprobíhala léčba.

Můžeme tedy říci, že u samců hojení nejlépe probíhalo v bahenní koupeli pokojové teploty (nízké cirkulující imunokomplexy, nízký počet neutrofilů, histologické vyšetření).

- V krevním obraze u samic jsme vyhodnotili nejnižší rozdíl poklesu koncentrací hemoglobinu u bahna při 38°C proti intaktní skupině. Počet leukocytů u intaktních samic je nejvýznamnější proti teplému písku a teplému bahnu. U cirkulujících imunokomplexů u intaktních samic proti teplému písku byly hodnoty nejvýznamnější, zde se léčivý efekt uplatnil nejlépe. U neutrofilů byl rozdíl intaktních samic zaznamenán proti teplému písku. Histologické vyšetření prokázalo nejlepší hojení v teplém písku i teplém bahně při 38°C ve srovnání s kontrolní skupinou.

U samic se tedy zánět lépe hojil při zvýšené teplotě (v teplém písku i teplé slatině – menší pokles koncentrací hemoglobinu i počtu leukocytů, nízké CIK, histologické vyšetření).

## 8. Použité zkratky

*ad libitum* – (latinsky), podle libosti – krmivo je podáváno neomezeně, zvíře žere podle libosti

BMD – kostní denzita

CIK – cirkulující imunokomplexy

CNS - centrální nervová soustava

DEXA – dual-energy x – ray absorptiometry – vyšetření pro zjištění hustoty (denzity) kostí

i.v. - zkratka pro intravenózní (nitrožilní) aplikaci

MZ ČR – Ministerstvo zdravotnictví České republiky

PSB - Phosphate buffered saline - fyziologický roztok fosfátového pufru

PVC – plast (polyvinylchlorid)

RPMI – Roswell Park Memorial Institute medium - roztok pro kultivaci buněk – zdroj

cukrů) roztok pro kultivaci buněk – zdroj cukrů

SEM – střední chyba průměru

## 9. Seznam obrázků

Obrázek 1: 1. den: první aplikace do pravé tlapy kompletního Freundova adjuvans .....	23
Obrázek 2: 8. den: druhá aplikace do pravé tlapy kompletního Freundova adjuvans.....	23
Obrázek 3: Bahenní koupel při laboratorní teplotě v plastových bednách .....	26
Obrázek 4: Pohled na koupel shora .....	26
Obrázek č. 5: Histologický řez pravé tlapy samce potkana, 1. skupina samců intaktní – bez navozené artritidy. 50tý den ukončení pokusu. ....	35
Obrázek č. 6: Histologický řez pravé tlapy samce potkana, 2. skupina kontrolní samci – s navozenou artritidou, bez léčení. 50tý den ukončení pokusu.....	35
Obrázek č. 7: Histologický řez pravé tlapy samce potkana, 5. skupina samci - koupele v bahně při pokojové teplotě. 50tý den ukončení pokusu.....	36
Obrázek č. 8: Histologický řez pravé tlapy samice potkana, 1. skupina samic intaktní – bez navozené artritidy. 50tý den ukončení pokusu.....	36
Obrázek 9: Histologický řez pravé tlapy samice potkana, 2. skupina kontrolní samice – s navozenou artritidou, bez léčení. 50tý den ukončení. ....	37
Obrázek 10: Histologický řez pravé tlapy samice potkana, 4. skupina samice - koupele v bahně při 38°C. 50tý den ukončení pokusu. Zde se léčivý efekt uplatnil nejlépe.....	37
Obrázek 11: Histologický řez pravé tlapy samice potkana, 3. skupina samice - koupele písku při 38°C. 50tý den ukončení pokusu. Zde se léčivý efekt uplatnil nejlépe.....	38
Obrázek 12: Pravá tlapka potkana bez léčby – kontrolní skupina.....	38
Obrázek 13: Pravá tlapka potkana s léčbou v bahně při pokojové teplotě.....	39

## 10. Seznam grafů

Graf 1: Koncentrace hemoglobinu samci .....	28
Graf 2: Koncentrace hemoglobinu samice.....	29
Graf 3: Koncentrace cirkulujících imunokomplexů samci .....	29
Graf 4: Koncentrace cirkulujících imunokomplexů samice .....	30
Graf 5: Koncentrace leukocytů samci .....	32
Graf 6: Koncentrace leukocyty samice .....	32
Graf 7: Koncentrace neutrofilů samci .....	33
Graf 8: Koncentrace neutrofilů samice .....	34

## 11. Seznam tabulek

Tabulka 1: Koncentrace hemoglobinu samci a samice .....	28
Tabulka 2: Koncentrace cirkulujících imunokomplexů samci .....	30
Tabulka 3: Koncentrace cirkulujících imunokomplexů samice .....	31
Tabulka 4: Koncentrace leukocytů samci a samice .....	31
Tabulka 5: Koncentrace neutrofilů samci a samice .....	33

## 12. Použitá literatura

- (1) Giacomino Mi, de Michele DF: *Is mud an anti-inflammatory?* An Med Interna 2007; 24(7):352-3;
- (2) Mustur D, Vesović-Potić V, Vujasinović-Stupar N, Ille T: *Beneficial effects of spa treatment on functional status and quality of life of patients with rheumatoid arthritis.* Srp Arh Celok Lek 2008; 136 (7-8): 391-6;
- (3) Bender T, Bálint G, Prohászka Z, Géher P, Tefner IK: *Evidence-based hydro - and balneotherapy in Hungary-a systematic review and meta-analysis.* Int J Biometeorol 2013; 58 (3): 311-23;
- (4) Mennuni G, Di Franco M, L Petracchia, Bietta P: *Spa therapy in osteoarthritis: experience in Cervia.* Clin Ter. 2009; 160(2):115-9;
- (5) Kaya A, Ozgocmen S, Kamanli A a Ardicoglu O: *Bone Loss in Ankylosing Spondylitis: Does Syndesmophyte Formation Have an Influence on Bone Density Changes?* Epub 2009; 18: 470-6;
- (6) Szántó Z, Papp L.: *Effect of the different factors on the iontophoretic delivery of calcium ions from bentonite.* J Control Release. 1998; 56 (1-3): 239-47;
- (7) Bellometti S, Galzigna L, Richelmi P, Gregotti C, Bertè F.: *Both serum receptors of tumor necrosis factor are influenced by mud pack treatment in osteoarthrotic patients.* Int J Tissue React 2002; 24 (2): 57-64;
- (8) Cozzi F, Carrara M, Sfriso P, Todesco S, Cima L.: *Anti-inflammatory effect of mud-bath applications on adjuvant arthritis in rats.* Clin Exp Rheumatol., 2004; 22 (6): 763-6;
- (9) Lange U, Müller-Ladner U, Schmidt KL.: *Balneotherapy in rheumatic diseases--an overview of novel and known aspects.* Rheumatol Int. 2006; 26(6): 497-9;

- (10) Mamani-Matsuda M, Kauss T, Al-Kharrat A, Rambert J, Fawaz F, Thiolat D, Moynet D, Coves S, Malvy D, Mossalayi MD: *Therapeutic and preventive properties of quercetin in experimental arthritis correlate with decreased macrophage inflammatory mediators*. *Biochem Pharmacol.* 2006; 72 (10): 1304-10;
- (11) Loi A, Lisci S, Denotti A, Cauli A: *Bone mineral density in women on long-term mud-bath therapy in a Salus per Aquam (SPA) environment*. *Reumatismo* 2013; 65(3):121-5;
- (12) Vyhláška 423/2001 Sb. zákonů ČR - vyhláška, kterou se stanovuje způsob a rozsah hodnocení přírodních léčivých zdrojů a zdrojů přírodních minerálních vod;
- (13) JANDOVÁ, Dobroslava: *Balneologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2009, xvi, 404 s., 16 s. barev. obr. příl.; ISBN 978-80-247-2820-9;
- (14) KVĚT, Radan: *Minerální vody České republiky: vznik, historie a současný stav*. Vyd. 1. Třebíč: Akcent, 2011, 150 s., [32] s. barev. obr. příl.; ISBN 978-807-2688-623;
- (15) ŠPIŠÁK, L a RUŠAVÝ Z: *Klinická balneologie*. Vyd. 1. Praha: Karolinum; ISBN 978-802-4616-544;
- (16) HADAČ, Emil: *Československé peloidy*. [Vyd. 1.]. Praha: Státní zdravotnické nakl., 1953, 245 p.;
- (17) BROŽEK, Bohumil: *Peloidy*. Praha: Balnea, t. SČT 01, 1971, 64, [1] p.
- (18) Zivná H, Maric L, Gradosová I, Svejková K, Hubená S, Zivný P: *The effect of mud-bath therapy on bone status in rats during adjuvant subchronic arthritis*. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2012; 55(3):133-7;
- (19) U Lange, Müller-Ladner U, Schmidt K: *Balneotherapy in rheumatic diseases--an overview of novel and known aspects*. *Rheumatol Int.* 2006; 26(6): 497-9
- (20) Bellometti S, Berté F, Richelmi P, Tassoni T, Galzigna L: *Bone remodelling in osteoarthrotic subjects undergoing a physical exercise program*. *Clin Chim Acta.* 2002; 325: 97-104;

(21) Pizzoferrato A, Garzia I, Cenni E, Pratelli L, Tarabusi C: *Beta-endorphin and stress hormones in patients affected by osteoarthritis undergoing thermal mud therapy*. Minerva Med. 2000; 91: 239-45;

Vyhláška 342/2012 Sb. zákonů ČR - Vyhláška o zdraví zvířat a jeho ochraně, o přemísťování a přepravě zvířat a o oprávnění a odborné způsobilosti k výkonu některých odborných veterinárních činností