

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



**Operační léčba hlubokých popálenin kombinací dermoepidermální
autotransplantace a lokální transplantace koncentráту autologních
trombocytů**

MUDr. Hana Klosová

**Autoreferát disertační práce
Doktorský studijní program chirurgie**

Hradec Králové

2014

Disertační práce byla vypracována v rámci *kombinovaného* studia doktorského studijního programu chirurgie na Chirurgické klinice Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Hana Klosová
Popáleninové centrum FN Ostrava
17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava

Školitel: Doc. MUDr. Leo Klein, CSc.

Oponenti: Prof. MUDr. Pavel Brychta, CSc.
Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie, FN Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno

RNDr. Barbora Dvořánková, Ph.D.
Anatomický ústav, 1. lékařská fakulta UK
U nemocnice 3, 128 00 Praha 2

Obhajoba se bude konat dne _____ před komisí pro obhajoby disertačních prací OR Chirurgie.
Místo konání: FN Hradec králové, Chirurgická klinika, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
– Nový Hradec Králové.

Tato práce vznikla za podpory grantu Moravskoslezského kraje (Grant FNO-99-OVZ-09-024-Dot).

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové (tel. 495 816 131).

Doc. MUDr. RNDr. Milan Kaška, Ph.D.
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu chirurgie

Obsah

| | |
|---|-----|
| Seznam použitých zkratk | iii |
| Souhrn | 1 |
| Summary | 2 |
| 1. Úvod do problematiky | 3 |
| 1.1. Použití destičkového koncentrátu v léčbě popálenin | 3 |
| 1.2. Složení destičkového koncentrátu | 4 |
| 1.2.1. Trombocyty a jejich úloha v destičkovém koncentrátu | 4 |
| 1.2.2. Úloha leukocytů v destičkovém koncentrátu | 5 |
| 1.2.3. Úloha fibrinu v destičkovém koncentrátu | 5 |
| 1.2.4. Aktivace destičkového koncentrátu | 5 |
| 1.2.5. Způsoby aplikace destičkového koncentrátu | 6 |
| 1.2.6. Biokinetika destičkového koncentrátu | 6 |
| 1.3. Účinky trombocytárních růstových faktorů | 6 |
| 1.4. Účinky destičkového koncentrátu | 6 |
| 1.5. Bezpečnost destičkového koncentrátu | 7 |
| 2. Cíle disertační práce | 7 |
| 3. Materiál a metodika | 7 |
| 4. Výsledky | 9 |
| 4.1. Popisné charakteristiky obou souborů pacientů | 9 |
| 4.2. Laboratorní vyšetření | 9 |
| 4.3. Histopatologické vyšetření | 9 |
| 4.4. Kvalita a rychlost hojení transplantovaných ploch | 10 |
| 4.5. Hojení odběrových ploch | 10 |
| 4.6. Intenzita a léčba bolesti v průběhu hojení transplantovaných ploch | 10 |
| 4.7. Stav a vývoj jizvení dle Vancouver Scar Scale skóre | 10 |
| 4.8. LDPI perfuze transplantovaných ploch a jizev u pacientů léčených DEATR v kombinaci s APC | 11 |
| 4.9. Kutometrické měření viskoelasticity jizev | 12 |
| 5. Diskuze | 12 |
| 6. Závěry | 16 |
| 7. Výběr použité literatury | 18 |
| 8. Přehled publikační činnosti | 26 |
| 8.1. Původní články | 26 |
| 8.2. Statě ve sbornících | 26 |
| 8.3. Přehledové články | 28 |
| 8.4. Přednášky na odborných setkáních přednesené autorkou disertační práce | 28 |
| 8.5. Publikované kazuistiky | 30 |

Seznam použitých zkratk

ALT – alaninaminotransferáza
APC – koncentrát autologních krevních destiček (Autologous Platelet Concentrate)
APTT – aktivovaný parciální trombinový čas
AST – aspartátaminotransferáza
bFGF – bazický fibroblastový růstový faktor (basic Fibroblast Growth Factor)
BMI – index tělesné hmotnosti (Body Mass Index)
CRP – C-reaktivní protein
DEATR – dermoepidermální autotransplantace
DEAT – dermoepidermální autotransplantáty
DP – dizertační práce
EGF – epidermální růstový faktor (Epidermal Growth Factor)
ELISA – enzymová imunoanalýza (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)
ESPEN – Evropská společnost klinické výživy a metabolismu (European Society for Clinical Nutrition and Metabolism)
GMT – gama-glutamyltransferáza
IGF – inzulínu podobný růstový faktor (Insulin Like Growth Factor)
INR – mezinárodní normalizovaný poměr (International Normalised Ratio)
LDPI – laser dopplerometrické zobrazení perfuze (Laser Doppler Perfusion Imaging)
MPV – střední objem trombocytů (Mean Platelet Volume)
PAR – receptory aktivovatelné proteinázami (Proteinase Activated Receptors)
PDGF – destičkový růstový faktor (Platelet derived Growth Factor)
POD – pooperační den
PRP – plazma bohatá na krevní destičky (Platelet Rich Plasma)
TČ – trombinový čas
TGF- β – transformující růstový faktor β (Transforming Growth Factor β)
VEGF – cévní endoteliální růstový faktor (Vaskular Endothelial Growth Factor)
VSS – Vancouver Scar Scale

Souhrn

Úvod: Kauzální léčbou hlubokých popálenin je nekrektomie a kožní autotransplantace. V popáleninové medicíně jsou dlouhodobě hledány metody pro stimulaci hojení. Na základě příznivých výsledků klinických studií hojení ran pomocí destičkového koncentráту v širokém spektru chirurgických oborů se jeho využití jeví slibným i v popáleninové medicíně. Tato oblast dosud nebyla dostatečně prozkoumána, ověření účinků destičkového koncentráту v léčbě popálenin je velmi žádoucí.

Cíle: 1. Analýza rychlosti a kvality hojení ploch transplantovaných dermoepidermálními kožními štěpy v kombinaci s lokální transplantací koncentráту autologních krevních destiček (APC) a srovnání s hojením po prosté dermoepidermální autotransplantaci (DEATR). 2. sledování průběhu a vývoje následného jizvení a zjištění přítomnosti eventuální systémové odezvy organismu v souvislosti s lokální aplikací destičkového koncentráту.

Metody: U dvou skupin operovaných pacientů byla pooperačně sledována kvalita a rychlost hojení transplantovaných ploch a rozsah nepříhojení kožních štěpů. Hojení odběrových ploch bylo hodnoceno pro zjištění případného celkového působení lokálně aplikovaného APC. Klinické hodnocení jizvení bylo prováděno pomocí Vancouver Scar Scale (VSS) a objektivizováno kutometrickým měřením viskoelasticity jizev. Předoperačně i pooperačně byla pořizována digitální fotodokumentace. U pacientů léčených pomocí APC byla pro detekci případné systémové odezvy provedena vyšetření krevního obrazu, hemokoagulace, jaterních enzymů a CRP předoperačně, sedmý a čtrnáctý den po operaci. Pro verifikaci kvality APC byla provedena laboratorní analýza jeho vzorků. Pro verifikaci přítomnosti viabilních trombocytů a trombocytárních růstových faktorů PDGF a VEGF bylo provedeno histologické vyšetření vzorků dermoepidermálních autotransplantátů po aplikaci APC. Pooperačně byl prováděn laser dopplerometrický monitoring perfuze ploch transplantovaných v kombinaci s APC pro zmapování průběhu hojení v souvislosti s vývojem perfuze, detekci intenzity a časného ústupu zánětlivé fáze hojení, možnost predikce průběhu hojení a vývoje jizvení. Pro analýzu analgetického účinku koncentráту byla pacienty hodnocena intenzita bolesti v oblasti transplantovaných ploch pomocí Vizuelní analogové stupnice; tato byla následně objektivizována pomocí analýzy skutečně podaných analgetik.

Výsledky: Léčba pomocí APC byla spojena s rychlejším a kvalitnějším hojením transplantovaných ploch, nekomplikovanému přihojování kožních štěpů odpovídal i vývoj hladin CRP a koncentrace leukocytů. Jizvy po léčbě pomocí APC jeví rychlejší dynamiku maturace, časnější přechod do fáze regrese jizvení a významně lepší kvalitu z hlediska pliability, výšky i celkového VSS. Pomocí kutometrie byl objektivně prokázán rychlejší návrat viskoelasticity jizev k hodnotám zdravé kůže než po léčbě prostou DEATR. Lokální aplikace APC nebyla spojena se systémovou odezvou v oblasti hemokoagulace ani s elevací hodnot jaterních enzymů, rovněž hojení odběrových ploch probíhalo srovnatelně u obou skupin pacientů; tyto skutečnosti svědčí pro pouze lokální účinky topicky aplikovaného destičkového koncentráту.

Závěr: Studie potvrdila účinnost APC na urychlení hojení transplantovaných ploch a méně komplikací hojení, zejména menší rozsah nepříhojení kožních štěpů. Rychlý a převážně nekomplikovaný průběh hojení u pacientů léčených pomocí APC korespondoval se signifikantně lepším průběhem jizvení. Laboratorně ani klinicky nebyla detekována systémová odezva po topické aplikaci APC.

Klíčová slova: koncentrát autologních krevních destiček, dermoepidermální autotransplantace, rychlost a kvalita hojení, průběh jizvení, kutometrie, laser dopplerometrický monitoring perfuze, systémová odezva.

Summary

Surgical therapy of deep burns – dermoepidermal autotransplantation combined with local transplantation of the autologous platelet concentrate

Introduction: Necrectomy followed by skin grafting is the only causal therapy of 3rd degree burns and non-healing deep-dermal burns. In burn medicine, effective methods for stimulation of healing of skin grafted and donor areas have been searched for a long time. Efficacy of the autologous platelet concentrate (APC) to improve wound healing was verified in clinical studies in many range surgical disciplines. Its use seems to be promising in burn medicine as well. Verification of the APC efficacy in burn treatment is highly desirable.

Aims: 1. The analysis of speed and quality of healing process in skin grafted areas with topical transplantation of the APC compared to the healing following the skin grafting only. 2. The monitoring of changes and development of subsequent scarring, detection of potential systemic response in relation to the topical transplantation of the APC.

Methods: The speed and quality of the healing in skin grafted areas and the extent of skin graft failure were monitored in two groups of patients post-operatively. The healing of donor areas was evaluated to determine the potential systemic effect of the topically applied APC. The clinical evaluation of scarring was performed by means of the Vancouver Scar Scale (VSS) and objectified by cutometrical measuring of the scar viscoelasticity. Digital photographs were taken pre- and post-operatively. The blood count, coagulation, liver enzymes and CRP were examined pre-operatively, on the 7th and 14th days after surgery with the aim to detect a possible systemic response in the patients treated with the APC. The laboratory analysis of the APC samples was performed in order to verify its quality. Samples of dermoepidermal skin autografts with the APC were histologically examined to confirm the presence of viable platelets and platelet growth factors PDGF and VEGF. The laser doppler monitoring of perfusion in areas with skin grafts and the APC was performed post-operatively in order to map the course of healing in relation to the development of perfusion, to detect the intensity and early decline of the inflammatory phase of healing and to assess the possibility of predicting the course of healing and scarring. The analgesic effect of the APC was self-evaluated by patients using the Visual Analogue Scale, which was subsequently objectified by analysis of the actually administered analgesic therapy.

Results: The treatment with the APC was associated with improved quality and faster healing of skin grafted areas. The uncomplicated healing of skin grafts was reflected in the levels of CRP and leucocytes. Scars exhibited faster dynamics of maturation, earlier transition to the regression phase and a significantly improved quality in terms of pliability, height and the total VSS score. A more rapid return of scar viscoelasticity to the values of healthy skin was objectively demonstrated by means of cutometry. Local application of the APC was not associated with any systemic response in blood coagulation and liver enzymes and donor areas healed similarly in both groups of patients. These facts seem to indicate only a local effect of the topically applied APC.

Conclusion: The study confirmed the efficacy of the APC in accelerating the healing of skin grafted areas and improving its quality, especially in terms of smaller range of skin graft failure. The fast and largely uncomplicated course of healing in patients treated with the APC corresponded with a significantly improved course of scarring. Any systemic response following the topical transplantation of the APC was not detected in the laboratory or clinically.

Key words: autologous platelet concentrate, dermoepidermal autotransplantation, speed and quality of healing, course of scarring, cutometry, laser doppler perfusion monitoring, systemic response

1. Úvod do problematiky

Jedinou kauzální léčbou popálení hloubky stupně III a nehojícího se popálení hlubokého stupně IIb je autotransplantace kůže. Cílem chirurgické léčby hlubokých popálenin je co nejrychlejší a nejkvalitnější zhojení transplantovaných ploch. Tato léčba má svoje limity zejména u rozsáhlých popáleninových úrazů, kde je z pohledu chirurgické léčby hlavním problémem nedostatek odběrových ploch. Tento problém nám pomáhá částečně řešit tzv. mesh grafting neboli síťování dermoepidermálních autotransplantátů (DEAT). Žádoucí je, co největší bezpečná expanze autotransplantátů při jejich meshování, aniž by tím došlo ke ztrátě jejich životaschopnosti a následnému odloučení. Dalšími léčebnými metodami při nedostatku odběrových ploch jsou smíšená transplantace s použitím biologických acelulárních xenotransplantátů ke stimulaci hojení široce meshovaných kožních štěpů, mikrografting tzv. meek technikou, aplikace polosyntetických prefabrikovaných dermálních náhrad či jejich kombinace s aplikací keratinocytů, a to zejména při absolutním nedostatku vhodných odběrových ploch. Použití těchto metod je mnohdy provázáno komplikacemi při hojení a jejich použití je rovněž limitováno i jejich vysokou cenou. Proto jsou dlouhodobě hledány nové možnosti a způsoby terapie. Jednou ze slibných metod se jeví využití APC k podpoře a urychlení hojení kožních autotransplantátů.

Destičkové koncentráty jsou v klinické praxi používány ke zlepšení průběhu hojení různých typů ran přibližně 14 let. Poprvé byl destičkový koncentrát v klinické praxi použit ke zlepšení hojení zlomenin dolní a horní čelisti u deseti pacientů ve stomatochirurgii. Výsledky studie publikované v roce 1999 uváděly rychlejší hojení u pacientů léčených pomocí destičkového koncentrátu oproti kontrolní skupině^[1]. Nejvíce zkušeností je v oboru hojení chronických nehojících se ran^[17], ve stomatochirurgii^[56,70,97], plastické chirurgii^[9], v kardiouchirurgii^[58,115], sportovní medicíně^[82], traumatologii a ortopedii^[2]. V posledních letech stále narůstá frekvence použití destičkových koncentrátů v léčbě akutních ran^[51].

1.1. Použití destičkového koncentrátu v léčbě popálenin

V popáleninové medicíně, na rozdíl od ostatních chirurgických oborů, proběhlo pouze několik studií zabývajících se účinností autologního destičkového koncentrátu. V roce 2004 byly publikovány kazuistiky hojení odběrových ploch u dvou pacientů. U každého z nich byly vždy ve vzájemné blízkosti dvě odběrové plochy, které byly odděleny pruhem zdravé kůže. Jedna odběrová plocha byla léčena pomocí lokální aplikace destičkového koncentrátu, druhá odběrová plocha byla léčena zvyklým způsobem. Šest dní po operaci bylo klinicky zjevné rychlejší hojení odběrových ploch léčených pomocí destičkového koncentrátu. S odstupem šesti měsíců po operaci byla jizva v oblasti aplikace destičkového koncentrátu méně patrná a s normální pigmentací oproti výraznější a hypopigmentované jizvě v oblasti odběrové plochy léčené zvyklým způsobem. U jiného pacienta po odběru DEAT byly jizvy v oblastech léčených s využitím destičkového koncentrátu v odstupu 45 dní po operaci popisovány s menší vaskularitou a silnější vrstvou epitelu^[75].

Destičkový koncentrát je možno aplikovat též injekčně, jak bylo popsáno v roce 2007 ve studii, která se zabývala účinností subkonjunktiválně injikovaného destičkového koncentrátu v léčbě popálenin očí s postižením rohovky. Výsledky studie prokázaly rychlejší průběh hojení u pacientů léčených kombinací zvyklé léčby se subkonjunktivální aplikací destičkového koncentrátu^[77].

V roce 2008 byly publikovány výsledky randomizované studie léčby končetinových ulcerací, kdy byly odběrové plochy léčeny pomocí destičkového koncentrátu. Výsledky neprokázaly účinnost koncentrátu na rychlejší hojení odběrových ploch. Jako možný faktor neúčinnosti byla v této studii diskutována pouze jednorázová peroperační aplikace koncentrátu bez jeho dalších aplikací v pooperačním průběhu^[19].

V roce 2008 byly publikovány výsledky randomizované studie u 59 pacientů, která byla zaměřena na léčbu akutních ran a popálenin vzniklých v důsledku tření pomocí lokální aplikace autologního destičkového gelu. Výsledky ukázaly signifikantně rychlejší hojení u ran, které byly léčeny pomocí aplikace destičkového gelu oproti hojení kontrolních ploch^[57].

V roce 2011 byla publikována kazuistika léčby odběrové plochy po odběru DEAT. Výsledky ukázaly v oblasti odběrové plochy s aplikací destičkového koncentrátu rychlejší průběh hojení a menší bolestivost při převazech. Histologicky byla prokázána signifikantně hustší dermální cévní síť v oblasti aplikace koncentrátu v odstupu 13 dní po operaci^[55].

S ohledem na výsledky výše uvedených studií se možnost terapeutického využití destičkového koncentrátu v léčbě popálenin jeví velmi slibnou a současně doposud jen nedostatečně probádanou oblastí klinického výzkumu. Další studie stran účinnosti destičkového koncentrátu k urychlení hojení jsou nezbytné jak v oblasti chirurgické léčby popálenin v celém jejím spektru, tak v oblasti léčby popálenin smíšené hloubky, kde je předpoklad spontánního zhojení bez nutnosti operace.

1.2. Složení destičkového koncentrátu

Autologní destičkový koncentrát (APC, Autologous Platelet Concentrate), široce známý také jako plazma s vysokou koncentrací krevních destiček (PRP, Platelet Rich Plasma) je bioaktivní suspenze, která obsahuje vysokou koncentraci krevních destiček, leukocyty, plazmu s vysokým obsahem fibrinu, reziduální erytrocyty, růstové faktory, cytokiny a zánětlivé mediátory^[122]. Pro přípravu APC je k dispozici celá řada komerčně dostupných zařízení, které se vzájemně liší svými technickými parametry. V závislosti na použitém typu zařízení se svojí kvalitou akvancí liší i výsledné koncentráty. Důsledkem jsou obtížně srovnatelné výsledky jednotlivých klinických studií, které se zabývaly a zabývají účinností destičkového koncentrátu v klinické praxi. Jednotná metodika přípravy doposud nebyla stanovena a proto se děje vždy dle pokynů výrobce používaného systému. Vzhledem k širokému spektru zařízení a metod, které jsou používány pro přípravu destičkových koncentrátů, nebylo doposud striktně postulováno nezbytné navýšení koncentrace trombocytů. Často je používána definice destičkového koncentrátu, která říká, že jde o plazmu bohatou na krevní destičky, jejichž koncentrace je oproti výchozímu vzorku plné krve signifikantně vyšší^[90]. Nejčastěji je uváděno navýšení koncentrace trombocytů oproti výchozí krvi 3–5x^[93]. Jsou i studie, které uvádějí až osminásobné navýšení koncentrace trombocytů oproti původní krvi^[32]. V in vitro studii, publikované v roce 2006, byly nejlepší výsledky z hlediska proliferace buněk dosaženy při koncentraci trombocytů v destičkovém koncentrátu 2,5x vyšší oproti původní plné krvi^[44].

V destičkovém koncentrátu v důsledku interindividuální variability v množství uvolněných aktivních růstových faktorů není korelace mezi koncentrací trombocytů a hladinami růstových faktorů^[32].

1.2.1. Trombocyty a jejich úloha v destičkovém koncentrátu

Krevní destičky neboli trombocyty jsou bezjaderné diskoidní elementy, které vznikají v kostní dřeni jako úlomky periferních částí megakaryocytů. Vzhledem k tomu, že neobsahují buněčné jádro, jsou řazeny, podobně jako erytrocyty, mezi tzv. neúplné buňky^[91].

Trombocyty hrají zásadní a centrální roli v procesu hemostázy^[81]. Hemostáza zahrnuje mnohočetné pochody, které vedou k zástavě krvácení vznikem nejprve primárního a poté definitivního trombu s jeho následným rozpuštěním v procesu fibrinolýzy^[111].

Z pohledu účinků destičkového koncentrátu je nejvýznamnější oblast organel s trombocytárními granuly, v nichž jsou skladovány četné bioaktivní faktory, které jsou uvolňovány v průběhu aktivace trombocytů. V cytoplazmě trombocytů existuje několik typů sekrečních a skladovacích granul ohraničených membránou: denzní granula, α -granula, lysosomy a peroxisomy^[91]. Denzní delta granula trombocytů obsahují zejména malé molekuly

(ADP, ATP, GTP, GDP, histamine, serotonin, polyfosfáty a Ca^{2+})^[124]. α -granula obsahují hemostatické faktory (faktor V, f.VII, f.XI, f.XIII, VWF, fibrinogen, plasminogen, protein S), angiogenní faktory (angiogenin, VEGF), antiangiogenní faktory (angiostatin, PF4), růstové faktory (PDGF, bFGF, SDF1a, EGF, TGF- β , EGF, IGF), mitogenní faktory (PDGF, VEGF, TGF- β), proteázy (MMP2, MMP9), inhibitory proteáz (C1 inhibitor, PAI-1-Plasminogen activator inhibitor 1, TFPI – Tissue factor pathway inhibitor) a další cytokiny^[121,124]. Po aktivaci trombocytů dochází k degranulaci α -granul a uvolnění výše uvedených faktorů s mnohočetnými, mnohdy vzájemně protichůdnými účinky. Kinetika uvolnění bioaktivních působků z trombocytárních α -granul a mechanismy jejich regulace jsou předmětem intenzivního vědeckého bádání a zdrojem mnoha názorových střetů. Na základě současných poznatků se zdá, že proces uvolnění bioaktivních látek trombocytárních α -granul je fázovitý, část působků je uvolněna bezprostředně po aktivaci trombocytů a zprostředkovává okamžité účinky, část faktorů je uvolněna v pozdějších fázích po aktivaci a zprostředkovává účinky prolongované. Toto fázovité uvolňování je umožněno heterogenitou, tedy vzájemně odlišným obsahem jednotlivých α -granul^[54]. Fázová kinetika uvolnění jednotlivých bioaktivních působků α -granul zřejmě úzce souvisí s tzv. PAR (Proteinase Activated Receptors) receptory, které jsou exprimovány na povrchu trombocytů. PAR receptory tak hrají velmi významnou roli v procesu angiogeneze a v souvislosti s tím nepřímo ovlivňují i procesy hojení.

1.2.2. Úloha leukocytů v destičkovém koncentrátu

Účinky leukocytů obsažených v destičkovém koncentrátu dosud nebyly přesně objasněny. V destičkovém koncentrátu jsou leukocyty nositeli protiinfekčních vlastností^[15] a účastní se regulací v rámci imunitního systému^[23,29]. Leukocyty též vytvářejí značné množství VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)^[118]. Jak stimulatory (VEGF, bFGF), tak inhibitory (endostatin, thrombospondin) angiogeneze jsou skladovány v α granulích trombocytů a po aktivaci trombocytů uvolňovány ve vzájemně ekvivalentním množství^[54]. „Přídáté“ VEGF, tvořené leukocyty obsaženými v destičkovém koncentrátu, tak může hrát v procesu angiogeneze poměrně významnou roli. Možný synergický efekt leukocytů a trombocytů destičkového koncentrátu je zvažován a intenzivně diskutován^[29,33].

1.2.3. Úloha fibrinu v destičkovém koncentrátu

Díky obsahu fibrinu působí destičkový koncentrát mimo jiné i jako fibrinové lepidlo a prostřednictvím formace fibrinového koagula výrazně zlepšuje proces hemostázy. Polymerizací fibrinu vzniká fibrinová síť, která je matricí a oporou jednak pro trombocyty a leukocyty destičkového koncentrátu v oblastech jeho aplikace a jednak pro buňky účastnící se procesů hojení^[21]. Hustota fibrinové sítě je ponejvíce závislá na koncentraci fibrinogenu v destičkovém koncentrátu a zásadním způsobem určuje jeho biomechanické vlastnosti^[21].

1.2.4. Aktivace destičkového koncentrátu

Za účelem aktivace trombocytů koncentrátu je nejčastěji používán trombin. Lze použít i chlorid vápenatý. Použití trombinu je výhodnější, neboť se uplatňuje nejen jako mediátor aktivace trombocytů, nýbrž i jako účinné hemostatické agens. Topická aplikace trombinu za účelem hemostázy je využívána v mnoha chirurgických oborech, zejména v kardiochirurgii a neurochirurgii^[72]. Efektivita hemostázy takto aplikovaného trombinu byla prokázána v několika klinických studiích^[8,36,45,104]. V současnosti je na trhu jako hemostatické agens komerčně dostupný trombin bovinní, humánní plazmatický trombin a humánní rekombinantní trombin. Aplikace bovinního i humánního trombinu je spojena s určitým rizikem imunogenicity či alergické reakce. Při aplikaci humánního trombinu nelze zcela vyloučit, i když naprosto minimální, riziko přenosu infekcí (viry, priony)^[72]. Výše uvedená rizika zcela odpadají při

použití humánního autologního trombinu, což ho staví jednoznačně stále více do popředí zájmu^[37,105].

1.2.5. Způsoby aplikace destičkového koncentrátu

Destičkový koncentrát může být aplikován zevně, čili topicky nebo injekčně, přímo do cílové terapeutické oblasti, kde slouží jako matrice pro regenerační pochody. Jako přídatný bioaktivní materiál při implantaci bývá destičkový koncentrát často aplikován v ortopedii nebo stomatochirurgii^[30].

1.2.6. Biokinetika destičkového koncentrátu

Připravený destičkový koncentrát je stabilní po dobu cca 8 hodin^[75]. Po aktivaci destičkového koncentrátu dochází k degranulaci trombocytárních α -granul s uvolněním jejich obsahu, zejména růstových faktorů a cytokinů^[32]. Aktivací destičkového koncentrátu dochází k jeho gelifikaci za vzniku trombocytárního gelu. V průběhu první hodiny po aplikaci destičkového koncentrátu dochází, dle některých publikací, k uvolnění až 95 % trombocytárních růstových faktorů. V průběhu dalších 7 dní, tedy po dobu viability trombocytů, tyto syntetizují a uvolňují další růstové faktory^[90].

1.3. Účinky trombocytárních růstových faktorů

Degranulací α -granul při aktivaci trombocytů dochází k uvolnění bioaktivních růstových faktorů a dalších cytokinů účastnících se hojení. Růstové faktory jsou specifické bílkovinné induktory buněčné proliferace, které se na povrchu buněk specificky váží na receptory buněčných membrán^[38]. Po navázání růstových faktorů na příslušné receptory buněčné membrány dochází k fosforylaci cytoplazmatické domény receptorů růstových faktorů a následné intracelulární aktivaci proliferace a proteosyntézy (angiogeneze, migrace fibroblastů, syntéza kolagenu)^[38]. Růstové faktory hrají velmi významnou roli v regulaci buněčné proliferace a diferenciaci. Některé růstové faktory jsou zcela zásadní pro koordinaci procesů hojení^[114]. Mezi nejvýznamnější trombocytární růstové faktory, které ovlivňují procesy hojení, patří PDGF, VEGF, TGF- β , EGF a IGF.

1.4. Účinky destičkového koncentrátu

Účinnost destičkového koncentrátu ve vztahu k rychlejšímu hojení ran a dalších typů úrazů je intenzivně zkoumána, zejména v chirurgických oborech medicíny, přibližně 20 let. V průběhu této doby byly publikovány výsledky studií, které dokladují účinnost destičkového koncentrátu. Na druhé straně existují i studie, které tyto pozitivní účinky nepotvrdily^[101].

Podle dosud publikovaných poznatků destičkový koncentrát zlepšuje regeneraci tkání, redukuje riziko infekce, snižuje krevní ztráty a mírní bolest^[117].

Aktivovaný destičkový koncentrát neboli destičkový gel zlepšuje hojení ran jednak uvolněním trombocytárních růstových faktorů, které působí migraci a diferenciaci buněk účastnících se hojení a expresi proteinů nezbytných pro angiogenezi a reparaci tkání^[6,99], jednak svými antimikrobiálními účinky^[10]. Kontrola infekce je jedním ze základních předpokladů nekomplikovaného hojení^[11,28,98]. V in vitro studii byly prokázány bakteriostatické účinky jak nativního, tak aktivovaného destičkového koncentrátu^[14].

Destičkové koncentráty se při hojení uplatňují jednak jako biologicky aktivní materiál, který je zdrojem účinných mitogenních a chemotakticky působících růstových faktorů, jednak se svými biomechanickými vlastnostmi velmi podobají tkáňovému lepidlu^[6]. Tato vlastnost destičkového koncentrátu, působit jako adhezívum, je z pohledu chirurgické léčby hlubokých popálenin vysoce žádoucí, neboť zajistí pevnou fixaci DEAT v ranném lůžku a účinně zabrání jejich dislokaci a traumatizaci posuny vůči spodině. Současně je tak zajištěna i kvalitní retence aplikovaného destičkového koncentrátu. Autologní trombin, který je aplikován pro aktivaci

trombocytů, svými hemostatickými účinky snižuje krvácení z ploch po nekrektomii. Kombinací těchto výše uvedených účinků jsou již vstupně při DEATR vytvořeny příznivé podmínky pro nekomplikovaný průběh hojení.

1.5. Bezpečnost destičkového koncentrátu

Léčebné použití destičkového koncentrátu se na základě všech dosud známých skutečností jeví bezpečné a prokázané^[53,68]. Bezpečnost je dána zejména faktem, že jde o materiál autologní, čímž je eliminována možnost alergie i možnost kontaminace viry či priony^[37]. V žádné z dosud provedených četných experimentálních a klinických studiích nebyl zjištěn a prokázán vliv léčebně použitých růstových faktorů na procesy onkogenezy a vznik tumorů. Na bezpečnost použití destičkového koncentrátu odkazují četné klinické studie^[39,96,106,122], další klinické studie pro potvrzení bezpečnosti lokální léčby pomocí destičkového koncentrátu v současnosti probíhají^[123].

2. Cíle disertační práce

Hlavním cílem bylo určení kvality a rychlosti hojení ploch transplantovaných dermoepidermálními kožními štěpy v kombinaci s lokální transplantací APC v chirurgické léčbě hlubokého popálení (tj. popálení hloubky stupně III a nehojícího se popálení hlubokého stupně IIb) a srovnání s hojením ploch po prosté DEATR. Vedlejším cílem bylo sledování průběhu a vývoje jizvení v oblastech výše uvedené léčby a zjištění přítomnosti eventuální systémové odezvy organismu v souvislosti s lokální aplikací destičkového koncentrátu. Na základě cílů byla formulována vstupní hypotéza, že destičkový koncentrát má díky obsahu trombocytárních růstových faktorů, leukocytů a fibrinu a dalších složek bioaktivní účinky, které působí urychlení hojení a zlepšení jeho kvality v podobě nekomplikovaného přihojení kožních štěpů.

3. Materiál a metodika

K chirurgické léčbě byly indikovány popáleniny hloubky stupně III a nehojící se popáleniny hlubokého stupně IIb. Operační řešení je u těchto hlubokých popálenin jedinou kauzální terapií^[64]. Operační léčbu podstoupily dvě skupiny pacientů. Jedna skupina (29 pacientů) byla léčena DEATR v kombinaci s topickou transplantací APC, druhá skupina (23 pacientů) podstoupila prostou DEATR.

U pacientů léčených pomocí destičkového koncentrátu byl tento topicky aplikován ihned po přiložení kožních štěpů. Destičkový koncentrát byl připravován pracovníky Tkáňového zařízení FN Ostrava přímo na operačním sále za přísně sterilních kautel a simultánně s nekrektomií. K přípravě APC byl použit Harvest SmartPREP Platelet Concentrate System (Harvest Technologies, Plymouth, MA, USA).

Pro monitoring eventuální systémové odezvy u pacientů po DEATR v kombinaci s lokální transplantací APC byla provedena laboratorní vyšetření krevního obrazu, hemokoagulace a biochemické vyšetření krve. Krevní obraz s diferenciálním rozpočtem, hemokoagulační testy, hodnoty jaterních enzymů (ALT, AST, GMT) a CRP byly vyšetřovány předoperačně, sedmý a čtrnáctý den po operaci. Pro verifikaci správnosti přípravy destičkového koncentrátu byla provedena analýza vzorků APC a plazmy chudé na krevní destičky, přičemž byly vyšetřovány: koncentrace trombocytů, MPV, PDW, koncentrace leukocytů, koncentrace erytrocytů, fibrinogen, hemoglobin a hematokrit. Ve vzorcích APC byly pomocí metody ELISA stanoveny i koncentrace růstových faktorů, a to PDGF a VEGF (BioVendor, Laboratorní medicína, Česká Republika).

U pacientů léčených DEATR v kombinaci s APC bylo provedeno histologické vyšetření. Vzorky dermoepidermálních autotransplantátů s APC byly vyšetřovány s cílem verifikace přítomnosti viabilních trombocytů a trombocytárních růstových faktorů PDGF a VEGF.

Vzorky DEAT bez přítomnosti APC sloužily jako kontrolní vzorek. Vzorky termicky destruované tkáně byly vyšetřovány pro ověření hloubky termické detrukcce. Příprava histologických preparátů probíhala obvyklým způsobem. Všechny preparáty byly nabarveny hematoxylinem-eosinem. Vzorky DEAT s APC a autologním trombinem byly navíc podrobeny imunohistochemickému vyšetření, kdy bylo provedeno imunoznačení parafinových řezů z nativní tkáně pomocí speciálních protilátek (BioGenex, San Ramon, USA) pro PDGF (PDGF specifické polyklonální protilátky Rabbit) a pro VEGF (VEGF specifické polyklonální protilátky Mouse) s následnou vizualizací komplexů antigen-protilátka. Následně bylo provedeno dobarvení preparátů hematoxylinem-eozinem pro vizualizaci buněčných jader. Po zhotovení všech preparátů bylo patologem provedeno vyšetření světelnou mikroskopií (mikroskop Olympus, dotSlide) při zvětšení 200x a 400x.

Kvalita hojení byla sledována 2., 4., 6., 8., 10., 12. a 14. den po operaci (dále POD2, POD4, POD6, POD8, POD10, POD12, POD14). Pro hodnocení kvality hojení byla sledována vitalita DEAT. Jako indikátory vitality DEAT byly pomocí skórovací numerické škály hodnoceny barva DEAT, přítomnost či nepřítomnost ranné sekrece a její charakter a dále adheze (fixace) DEAT ke spodině.

Rychlost hojení transplantovaných ploch byla hodnocena během převazů v POD4, POD6, POD8, POD10, POD12, POD14, POD16 a v POD18, a dále až do úplného zhojení transplantovaných ploch. Jako nástroj pro hodnocení byl použit 7stupňový skórovací systém, v němž jednotlivé stupně kvantifikovali míru zhojení transplantované plochy v daný pooperační den. Celý rozsah transplantované plochy byl považován za 100 %. V průběhu převazů se klinické hodnocení opíralo o následující skórovací stupnici: 6 – zhojeno < 60 % transplantované plochy, 5 – zhojeno > 60 % a ≤ 80 % transplantované plochy, 4 – zhojeno > 80 % a ≤ 90 % transplantované plochy, 3 – zhojeno > 90 % a ≤ 95 % transplantované plochy, 2 – zhojeno > 95 % a ≤ 99 % transplantované plochy, 1 – zhojeno > 99 % a ≤ 100 % transplantované plochy čili téměř kompletně zhojeno, 0 – zhojeno 100 % transplantované plochy (plně zhojeno). Desátý pooperační den bylo vyhodnoceno, jaká procentuální část kožních štěpů z celkového rozsahu transplantované plochy se nepřihojila.

V rámci hodnocení průběhu hojení probíhalo v průběhu převazů samostatně i klinické hodnocení hojení odběrových ploch, a to na čtyřstupňové hodnotící škále: odběrová plocha v celém rozsahu mokvá (3), počínající epitelizace v oblasti odběrové plochy (2), pokračující epitelizace odběrové plochy (1), kompletní epitelizace v celém rozsahu odběrové plochy (0). Hojení odběrové plochy bylo hodnoceno pro možnost provedení korelační analýzy mezi rychlostí hojení transplantovaných ploch a rychlostí hojení ploch po odběru DEAT. Cílem bylo zjistit, zda u pacientů léčených DEATR v kombinaci s APC existuje statisticky signifikantní korelace mezi aplikací APC a hojením odběrových ploch pro detekci případného celkového působení lokálně aplikovaného APC.

Pro analýzu lokálního analgetického účinku destičkového koncentrátu byla hodnocena intenzita bolesti v oblasti transplantovaných ploch, a to sebehodnocením pacienty pomocí Vizualní analogové stupnice (VAS 1–10). Intenzita bolestí v oblasti transplantovaných ploch byla následně objektivizována pomocí analýzy skutečně podaných analgetik.

Vstupní nutriční stav pacientů byl v obou skupinách hodnocen pomocí protokolu vycházejícího z doporučených postupů ESPEN (European Society for Parenteral and Enteral Nutrition) z roku 2003 a nazývaného Nutritional Risk Screening 2002 (NRS 2002).

Pro vyšetření ranné perfuze transplantovaných ploch v pooperačním průběhu a následné monitoraci prokrvení jizev v průběhu jejich maturace byl použit Laser Doppler Imager (LDI) PIM III (Perimed AB company, Jarfalla, Švédsko).

Klinické hodnocení průběhu a vývoje jizvení během měsíců následujících po zhojení bylo prováděno pomocí Vancouver Scar Scale (VSS), které je v popáleninové medicíně všeobecně akceptovanou a nejčastěji používanou hodnotící škálou^[35]. VSS sestává z klinického hodnocení

pigmentace, cévnatosti, poddajnosti a výšky jizev. Každá z těchto kvalit jizvy je přitom hodnocena pomocí zvláštní skórovací škály, výsledné VSS je součtem hodnot jednotlivých skórovacích kategorií.

Viskoelasticita jizev byla u obou skupin pacientů objektivně monitorována pomocí kutometrie přístrojem Cutometer MPA 580 (Courage & Khazaka Electronic GmbH, Germany). Kutometrie je neinvazivní kontaktní sukční metoda, díky níž je možno objektivně měřit viskoelasticitu jizev a tak monitorovat stav a vývoj jizvení^[25].

Předoperačně, peroperačně i v pooperačním průběhu hojení a zrání jizev byla pořizována digitální fotodokumentace.

4. Výsledky

4.1. Popisné charakteristiky obou souborů pacientů

Mezi oběma skupinami pacientů nebyly shledány statisticky signifikantní rozdíly z pohledu věkového složení, zastoupení pohlaví, etiologie termického traumatu, rozsahu popálení, časování operace, rozsahu nekrektomie a dermoepidermální autotransplantace, použité mesh expanzi kožních štěpů, prevalenci komorbidit (diabetes, hyperlipidémie, kardiovaskulární onemocnění, kožní onemocnění, renální onemocnění, malignity), prevalenci kouření, délce hospitalizace a její finanční nákladnosti. Z pohledu vstupních nutričních charakteristik nebyly mezi oběma soubory pacientů nalezeny statisticky signifikantní rozdíly hodnot BMI jako základního somatometrického ukazatele, ani signifikantní rozdíly z hlediska rizika malnutrice. Obě skupiny pacientů se statisticky významně lišily délkou doby operace. Doba operace byla delší u pacientů léčených DEATR v kombinaci s APC, a to o 50 minut z pohledu hodnoty mediánu. Destičkový koncentrát byl v kombinaci s DEATR aplikován z hlediska rozsahu popálení u pacientů s lehkým anebo se středně závažným popálením. Pacienti podstupovali operační léčbu v plně stabilizovaném stavu a výše uvedené prodloužení délky operace nebylo u žádného z pacientů spojeno s rozvojem komplikací.

4.2. Laboratorní vyšetření

Připravený destičkový koncentrát měl oproti vstupní plné krvi signifikantně a/ vyšší koncentraci trombocytů (3x), b/ vyšší koncentraci leukocytů (1,8x), c/ menší střední objem trombocytů (pokles MPV na 91 %), d/ nižší koncentraci erytrocytů (6,8x), e/ nižší koncentraci hemoglobinu (9,2x), f/ nižší hodnoty hematokritu (7,5x). Nebyla zjištěna signifikantní korelace mezi koncentrací trombocytů a koncentrací růstových faktorů v destičkovém koncentrátu. Stejně tak nebyla detekována statisticky signifikantní korelace mezi koncentrací PDGF v destičkovém koncentrátu a rychlostí hojení transplantovaných ploch v celém sledovaném pooperačním průběhu, ani korelace mezi koncentrací VEGF v destičkovém koncentrátu a rychlostí hojení mezi POD4 až POD16.

Lokální aplikace APC nebyla spojena se systémovou odezvou v oblasti hemokoagulace ani jaterních enzymů. Tento fakt nepřímě svědčí pro pouze lokální účinky topicky aplikovaného APC. Vysoká pokročilost hojení v POD6 a v pozdním pooperačním průběhu byla u pacientů léčených pomocí destičkového koncentrátu doprovázena odpovídajícím ústupem systémové zánětlivé odezvy v podobě normalizace hladin CRP v POD7 a v POD14. U pacientů léčených pomocí APC byl zjevný vývoj hladin CRP, který u hlubokých popálenin po nekrektomii odpovídá nekomplikovanému přihojování kožních štěpů. Stejně tak odpovídal nekomplikovanému přihojování kožních štěpů i vývoj hodnot koncentrace leukocytů.

4.3. Histopatologické vyšetření

U všech pacientů léčených DEATR v kombinaci s APC byla histologicky potvrzena přítomnost viabilních trombocytů. PDGF pozitivita byla detekována ve všech vzorcích

dermoepidermálních štěpů, které obsahovaly dostatečný lem koria pro možnost vyšetření PDGF pozitivitu. Expres PDGF byla soustředěna v oblasti germinální vrstvy kožních štěpů, tedy v oblasti, kde se obvykle nalézá nejvíce progenitorových buněk. U naprosté většiny pacientů nebyla detekována pozitivní exprese VEGF. U 7 pacientů nebyla exprese VEGF vyšetřitelná pro příliš tenký lem koria dermoepidermálního autotransplantátu. U ostatních pacientů jsou důvody neprokázání přítomnosti VEGF ve vyšetřovaných vzorcích pouze spekulativní. Příčinou mohlo být jak pozdější uvolnění VEGF z trombocytárních α -granul po více než 24 hodinách od aktivace destičkového koncentrátu, tak selhání metody zvolené pro detekci VEGF. Nepřítomnost VEGF jako důvod jeho neprůkaznosti je sice možnou, avšak málo pravděpodobnou příčinou vzhledem k pozitivitě průkazu PDGF.

4.4. Kvalita a rychlost hojení transplantovaných ploch

Léčba pomocí APC byla spojena se signifikantně lepší kvalitou hojení danou lepší adhezí (fixací) kožních štěpů k lůžku po nekrektomii, menší a pouze serózní sekrecí mezi oky meshovaných kožních štěpů a celkově lepší vitalitou kožních štěpů. U pacientů léčených DEATR v kombinaci s APC byl zjištěn statisticky významně menší rozsah nepříhojení kožních štěpů i významná korelace mezi adhezí (fixací) kožních štěpů a rozsahem jejich nepříhojení, kdy kvalita a míra adheze DEAT byly prokazatelně jedním z prediktorů dalšího průběhu hojení. Kompletní adheze (fixace) kožních štěpů ke spodině transplantovaných ploch ve skupině pacientů léčených DEAT v kombinaci s lokální aplikací APC statisticky signifikantně korelovala jak s menším rozsahem nepříhojení kožních štěpů, tak s rychlejším průběhem hojení. U pacientů léčených pomocí APC probíhalo hojení transplantovaných ploch rychleji.

4.5. Hojení odběrových ploch

Hojení odběrových ploch probíhalo u obou skupin pacientů bez významných rozdílů v rychlosti hojení, z klinického pohledu naprosto obvyklým způsobem a bez přítomnosti neočekávaných událostí. Tento fakt nepřímo svědčí pro pouze lokální účinky topicky aplikovaného destičkového koncentrátu.

4.6. Intenzita a léčba bolesti v průběhu hojení transplantovaných ploch

Intenzita bolestí v oblasti transplantovaných ploch byla u obou skupin pacientů v jednotlivých sledovaných pooperačních dnech srovnatelná a bez signifikantních rozdílů. Stejně tak nebyl mezi oběma skupinami pacientů nalezen signifikantní rozdíl v užívání analgetik. Analgetický účinek destičkového koncentrátu udávaný některými klinickými studiemi^[31] tak na základě výše uvedených výsledků nebyl potvrzen.

4.7. Stav a vývoj jizvení dle Vancouver Scar Scale skóre

Léčba pomocí APC byla spojena se signifikantně lepší pliability jizev v odstupu jednoho měsíce po operaci. Šest měsíců po operaci byly jizvy signifikantně nižší než u pacientů léčených prostou DEATR, rovněž hodnoty celkového VSS skóre byly významně nižší. Mezi oběma skupinami pacientů nebyly shledány v odstupu jednoho, tří a šesti měsíců po operaci signifikantní rozdíly v pigmentaci ani v cévnatosti jizev.

V odstupu dvanácti měsíců po operaci byly u pacientů léčených pomocí APC nejčastější jizvy se smíšenou (46 % pacientů) nebo s normální (42 % pacientů) pigmentací, normální cévnatostí (69 % pacientů), normální pliability (73 % pacientů) a v nivó zdravého okolí (77 % pacientů). Celkové VSS skóre bylo nejčastěji rovno 2 (42 % pacientů), druhou nejčastější kategorií bylo celkové VSS ve výši 3 body. Nejvíce se na celkové hodnotě VSS podílela smíšená pigmentace jizev. Kontrolní skupina nebyla v odstupu dvanácti měsíců po operaci hodnocena v důsledku významné redukce počtu pacientů, kteří se dostavili ke kontrole jizvení.

4.8. LDPI perfuze transplantovaných ploch a jizev u pacientů léčených DEATR v kombinaci s APC

Analýzou LDPI perfuze transplantovaných ploch byl detekován statisticky signifikantní rozdíl v perfuzi mezi časným a pozdním pooperačním průběhem. Klinicky nejvýznamnější vzhledem k průběhu hojení byla signifikance rozdílu perfuze mezi POD4 a POD8 a dále mezi POD8 a POD12. Nejvyšší perfuze transplantovaných ploch byla zaznamenána ve velmi časném pooperačním průběhu, v POD2. V celém dalším sledovaném období měla perfuze setrvale klesající trend. Nejvyšší dynamika poklesu perfuze byla evidentní v průběhu prvních čtyř pooperačních dnů, poté již byl pokles pozvolnější. Vysoké hodnoty LDPI perfuze transplantovaných ploch ve velmi časném pooperačním průběhu byly dány probíhající zánětlivou fází hojení a lokální hyperémií. Výrazný pokles perfuze transplantovaných ploch v POD4 byl plně v souladu s klinicky evidentním průběhem hojení, odpovídal ústupu zánětlivé fáze hojení a jejímu přechodu do fáze proliferační.

S přechodem hojení transplantovaných ploch do fáze jizvení došlo k nesignifikantnímu nárůstu perfuze jizev s dosažením maxima v odstupu jednoho měsíce po operaci. V celém dalším průběhu jizvení byl trend perfuze jizev klesající. Jako statisticky signifikantní byl potvrzen pokles perfuze mezi POD30 a POD180 čili v odstupu jednoho a šesti měsíců po operaci (Obr 5.9.3.) a dále mezi POD90 a POD360 tedy mezi třetím a dvanáctým pooperačním měsícem. Dvanáct měsíců po operaci odpovídalo prokrvení jizev okolní zdravé kůže.

U pacientů s perfuzí transplantovaných ploch v POD2 vyšší než 200 PUs byl průběh hojení rychlejší a s vyšší pokročilostí hojení v POD8, POD10, POD12 a POD14. LDPI monitoring perfuze transplantovaných ploch se na základě výše uvedených výsledků jeví jako významný objektivní ukazatel a prediktor vývoje hojení pro běžnou klinickou praxi.

Nebyla zjištěna statisticky signifikantní korelace mezi perfuzí transplantovaných ploch (POD2, 4, 6, 8, 10, 12, 14) a jizev (POM1, POM3, POM6) vzhledem k cévnatosti a výšce jizev.

Byla zjištěna významná korelace mezi perfuzí transplantovaných ploch v POD2 a poddajností jizev v POM6 a rovněž mezi perfuzí jizev v POD6 a poddajností jizev v POM1.

Další statisticky signifikantní korelace byla detekována mezi LDPI perfuzí transplantovaných ploch v POD14 a pigmentací jizev dle VSS v POM3 a POM6. LDPI perfuze transplantovaných ploch v POD14 na základě výše provedené analýzy jeví signifikantní výpovědní hodnotu pro očekávaný vývoj pigmentace jizev v odstupu tří a šesti měsíců po operaci.

Dále byla zjištěna významná korelace mezi LDPI perfuzí transplantovaných ploch v POD2 a celkovým VSS skóre v POM6. Čím vyšší byla perfuze transplantovaných ploch v POD2, tím lepší stav jizvení byl klinicky evidentní v odstupu šesti měsíců po operaci. Tento fakt velmi přesně odpovídá prokázané korelaci mezi perfuzí transplantovaných ploch v POD2 vyšší než 200 PU a rychlejším průběhem hojení. Výše LDPI perfuze transplantovaných ploch v POD2, se tak jeví nejenom významným prediktorem z pohledu rychlosti hojení, nýbrž i jako důležitý ukazatel pro předpověď vývoje jizvení.

Další významná korelace byla zjištěna mezi LDPI perfuzí jizev v odstupu 1 měsíce po operaci a celkovým VSS skóre v odstupu tří měsíců po operaci. Čím byla v POM1 perfuze jizev vyšší, tím menší celkové VSS skóre a tedy lepší průběh jizvení byl u pacientů klinicky evidentní v odstupu tří měsíců po operaci. LDPI perfuze jizev v POM1 se tak jeví jako další klinicky významný ukazatel vzhledem k předpovědi vývoje jizvení a možnosti časného zahájení léčebných opatření ke snížení rizika nepříznivého průběhu jizvení.

Analýza LDPI dat perfuze transplantovaných ploch a jizev u pacientů léčených DEATR v kombinaci s APC ukázala klinický význam a smysl LDPI monitorace v pooperačním a následném průběhu, jakož i potřebu a směr dalšího zkoumání. Jeden z vedlejších cílů této práce, LDPI monitorace perfuze ploch transplantovaných v kombinaci s destičkovým koncentrátem pro co nejpřesnější zmapování průběhu hojení, detekci intenzity a časného ústupu zánětlivé fáze hojení, možnost predikce průběhu hojení a vývoje jizvení, tak byl naplněn.

4.9. Kutometrické měření viskoelastivity jizev

Kutometrie byla prováděna v obou skupinách pacientů, a to jednak u jizev, jednak u zdravé kůže. Jizvy v oblastech po léčbě pomocí APC jeví dřívejší návrat viskoelastivity k hodnotám zdravé kůže nežli jizvy v oblastech po léčbě prostou DEATR, a to v odstupu jednoho a tří měsíců po operaci čili v časné fázi maturace jizev. Výsledky kutometrie v odstupu jednoho měsíce po operaci, čili v časné fázi maturace jizev, jsou plně v souladu s významně lepší pliability jizev zjištěnou u pacientů léčených pomocí destičkového koncentrátu na podkladě klinického hodnocení pomocí VSS.

5. Diskuze

Destičkové koncentráty se v chirurgických oborech medicíny používají ke zlepšení průběhu hojení různých typů ran přibližně 14 let. V průběhu této doby byly publikovány klinické studie, jejichž výsledky svědčí pro účinnost destičkového koncentrátu při podpoře hojení^[2,9,58,70,82,115]. V popáleninové medicíně bylo však dosud publikováno jen několik prací, které se zabývaly léčbou pomocí destičkového koncentrátu. Autoři většiny studií se přitom zaměřili na léčbu ploch po odběru DEAT^[75,19,55]. Publikovány byly zejména kazuistiky, v nichž byly klinicky i histologicky prokázány příznivé účinky destičkového koncentrátu na urychlení hojení^[75,55]. Pouze jedna studie týkající se léčby odběrových ploch publikovaná v roce 2008 byla randomizovaná, její výsledky však účinnost koncentrátu na urychlení hojení odběrových ploch neprokázaly^[19].

Základním předpokladem pro přípravu účinného destičkového koncentrátu je použití vhodného zařízení, které je validováno a schváleno pro přípravu koncentrátu s léčebnými účinky. Zcela zásadní je použití tzv. uzavřeného systému, který zaručuje, že celý proces přípravy proběhne za sterilních podmínek. Současně je nutné, aby bylo centrifugací plné krve dosaženo separace krevních destiček od erytrocytů a navýšení koncentrace trombocytů bez poškození jejich viability a funkce. Pouze viabilní trombocyty jsou schopny aktivace s uvolněním aktivních růstových faktorů^[76]. Příliš rychlá centrifugace způsobuje mechanické porušení trombocytů a jejich předčasnou aktivaci, naopak pomalá centrifugace neoddelí zcela exaktně všechny leukocyty^[38]. V naší studii byl pro přípravu destičkového koncentrátu použit přístroj Harvest Smart PReP Platelet Concentrate System (Harvest Technologies Inc., Plymouth, MA, USA), který splňuje veškeré požadavky na přípravu destičkového koncentrátu. Jeho účinnost byla ověřena klinickými studiemi^[76] a tento přístroj je v souladu s platnou legislativou držitelem CE certifikátu (CE 61857).

Destičkový koncentrát neboli plazma bohatá na krevní destičky je bioaktivní suspenze obsahující vysokou koncentraci trombocytů v malém objemu krevní plazmy^[76]. Existuje řada typů zařízení určených pro jeho přípravu; výsledné koncentráty se podle typu použitého zařízení liší koncentrací trombocytů i obsahem dalších komponent, zejména leukocytů a strukturou fibrinu^[22]. Jednotná definice léčebného destičkového koncentrátu proto dosud nebyla stanovena. Za optimální navýšení koncentrace trombocytů je podle některých publikačních zdrojů považován trojnásobný až pětinasobný nárůst^[59]. V některých in vitro studiích byl zjištěn jako nejlépe vyhovující 2,5násobný nárůst, při kterém byla nejvíce stimulována proliferace fibroblastů^[44]. U našich pacientů byl nárůst koncentrace trombocytů oproti původním hodnotám v periferní žilní krvi trojnásobný. Koncentrace trombocytů v destičkovém koncentrátu přitom statisticky významně korelovala s koncentrací krevních destiček v periferní žilní krvi pacientů, z níž byl léčebný koncentrát připraven. Tato korelace je v souladu s dostupnými publikačními prameny^[131]. Současně je třeba zdůraznit, že účinnost destičkového koncentrátu není dána pouze koncentrací trombocytů a množstvím uvolněných růstových faktorů. Velmi významnou roli hrají i jeho další složky, zejména leukocyty a fibrin.

Aktivace destičkového koncentrátu je možná několika způsoby. Nejčastěji je používán trombin, méně často i chlorid vápenatý. Použití trombinu pro aktivaci destičkového koncentrátu je

výhodnější, neboť působí nejen aktivaci trombocytů, ale má i lokální hemostatické neboli hemostyptické účinky^[138]. Autologní trombin používaný k aktivaci trombocytů koncentrátu přispěl ke zlepšení hemostázy v oblasti nekrektomovaných a bezprostředně transplantovaných ploch. Precizní hemostáza je přitom jedním ze základních předpokladů pro nekomplikovaný průběh hojení transplantovaných ploch. Tvorbě pooperačních hematomů má zabránit i meshování kožních štěpů, které umožňuje nejenom jejich expanzi, nýbrž i volný odchod ranné sekrece eventuálně krve. Z klinické praxe však víme, že v případě krvácivých pooperačních komplikací ani rozšířování kožních štěpů mnohdy nedokáže zabránit vytvoření hematomu. Ten bývá plošný, způsobuje oddělení štěpů od spodiny a vytváří mezivrstvu, která brání styku štěpů se spodinou. Takto působí dislokaci štěpů a současně se zvyšuje riziko vzniku a rozvoje infekčních komplikací. Chirurgická revize transplantovaných ploch s poměrně komplikovanou evakuací hematomu je v těchto případech nezbytná a vždy je spojena s rizikem ohrožení vitality štěpů a jejich částečného či kompletního nepřihojení. U pacientů léčených pomocí destičkového koncentrátu tak bylo díky použití autologního trombinu nižší riziko pooperačních krvácivých komplikací ve srovnání s pacienty léčenými prostou DEATR.

Všechny druhy autotransplantátů jsou při odběru plně odděleny od svého dárcovského místa a stávají se tak volnými grafty zcela zbavenými svého původního cévního zásobení. Neovaskularizace těchto autotransplantátů následně probíhá ze spodiny a z okrajů transplantovaných oblastí^[61]. Kvalitní fixace kožních štěpů je jedním z předpokladů jejich nekomplikovaného přihojení. U pacientů léčených pomocí APC byla fixace štěpů ke spodině transplantovaných ploch signifikantně lepší než u pacientů léčených prostou DEATR. Destičkový koncentrát byl aplikován na plochy transplantované meshovanými DEAT bezprostředně po jejich přiložení na nekrektomované plochy. Oky meshovaných štěpů koncentrát v podobě hustší tekutiny pronikl na spodinu nekrektomovaných ploch a vytvořil plošnou mezivrstvu mezi lůžkem po nekrektomii a spodinou zpočátku volně posunlivých kožních štěpů. V odstupu cca 40 sekund po aplikaci APC a jeho aktivaci autologním trombinem došlo ke gelifikaci koncentrátu, která byla spojena s pevnou fixací kožních štěpů ke spodině a jejich výbornou retencí v lůžku po nekrektomii. Takto byla minimalizována traumatizace spodiny transplantovaných ploch i spodiny kožních štěpů, ke které dochází v důsledku jejich mikroposunů v pooperačním průběhu hojení.

Gelifikace koncentrátu nastává po aktivaci trombocytů, kdy dochází jednak k degranulaci α -granul s uvolněním jejich obsahu, jednak nastává agregace trombocytů a rozpustný fibrinogen koncentrátu účinkem trombinu polymeruje na nerozpustný fibrin za tvorby fibrinové sítě. Adhezivní účinky destičkového koncentrátu lze z tohoto pohledu přirovnat k účinkům fibrinového lepidla, oproti kterému se však liší vysokou koncentrací trombocytů s obsahem bioaktivních složek, zejména trombocytárních růstových faktorů, které významně podporují procesy hojení^[144].

Signifikantně lepší adheze kožních štěpů k lůžku po nekrektomii byla shledána u pacientů léčených pomocí APC ve všech sledovaných pooperačních dnech s výjimkou desátého pooperačního dne. Z pohledu klinické praxe je přitom pro nekomplikované hojení nejvýznamnější kvalitní adheze kožních štěpů v časném pooperačním průběhu (tj. v průběhu prvních 4–6 pooperačních dní), neboť zabrání dislokaci i drobným posunům autotransplantátů a umožní tak nerušený průběh neopitelizace i neoangiogeneze.

U pacientů léčených pomocí APC byla méně výrazná sekrece mezi oky DEAT. Tato menší sekrece mohla souviset s protizánětlivými účinky koncentrátu a současně s lepší adhezí kožních štěpů ke spodině transplantovaných ploch. Antimikrobiální účinky APC a jejich podstata dosud nejsou dostatečně prozkoumány. Na základě dosavadních poznatků se nositelem antimikrobiálních účinků APC jeví nikoli trombocyty, nýbrž složky plazmy, zejména plazmatický komplementový systém^[14]. Pro tento fakt svědčí mimo jiné i výsledky in vitro studie na kultivačních půdách, ve které byly prokázány antimikrobiální účinky pouze u vzorků

destičkového koncentrátu s aktivním plazmatickým komplementovým systémem, zatímco vzorky s inaktivovaným komplementovým systémem antimikrobiální účinky nevykazovaly^[14]. Nositelem významných protiinfekčních účinků jsou i leukocyty, rovněž obsažené v destičkovém koncentrátu a uplatňující se při nepřímé likvidaci bakterií^[83]. V trombocytárních α -granulech jsou taktéž obsaženy kationické peptidy, které hrají velmi významnou roli v obranné reakci hostitele proti bakteriální infekci^[146].

Signifikantně lepší adheze (fixace) a současně menší sekrece mezi oky meshovaných kožních štěpů se společně podílely na celkově lepší vitalitě kožních štěpů u pacientů léčených dermoepidermální autotransplantací v kombinaci s APC. Topickou transplantací destičkového koncentrátu na plochy transplantované meshovanými kožními štěpy byly vytvořeny optimální vstupní podmínky pro možnost uplatnění bioaktivních účinků trombocytárních růstových faktorů a dalších složek destičkového koncentrátu. Klinickým výsledkem byl nekomplikovaný a rychlý průběh hojení u naprosté většiny našich pacientů.

Výborná adheze kožních štěpů byla u pacientů léčených pomocí APC spojena též s menším rozsahem jejich nepřihojení. Na nepřihojení DEAT se vždy podílí kombinace několika faktorů. Díky lepší fixaci štěpů nedocházelo k jejich dislokaci a traumatizaci posuny vůči spodině, bylo minimalizováno riziko vzniku hematomu či seromu a s tím souviselo i menší riziko vzniku infekce transplantovaných ploch. Všechny tyto výše uvedené faktory mají kauzální vztah k nepřihojení kožních štěpů^[110].

V souladu s výše uvedenými skutečnostmi byl u pacientů léčených pomocí APC průběh hojení transplantovaných ploch rychlejší i kvalitnější. Dosažené funkční a estetické výsledky jizvení byly rovněž výrazně lepší. Rychlý a nekomplikovaný průběh hojení je předpokladem pro příznivý průběh jizvení a redukci rizika jizevnaté hypertrofie^[41,85]. Tento předpoklad byl u pacientů léčených pomocí APC naplněn.

U pacientů léčených pomocí APC byla laboratorně sledována systémová zánětlivá odezva. Při infekčních komplikacích hojení dochází typicky k leukocytóze a elevaci hladiny CRP^[94]. U pacientů léčených pomocí destičkového koncentrátu byl v pooperačním období u většiny pacientů patrný vývoj hladin CRP a koncentrace leukocytů odpovídající nekomplikovanému přihojování kožních štěpů.

Lokální aplikace destičkového koncentrátu nebyla spojena se systémovou odezvou v oblasti hemokoagulace (TČ, Quick, INR, APTT) ani s elevací hodnot jaterních enzymů (ALT, AST, GMT), což svědčí pro pouze lokální účinky topicky aplikovaného destičkového koncentrátu.

Obě skupiny pacientů se statisticky významně lišily délkou trvání operace. Operace byla významně delší u pacientů léčených DEATR v kombinaci s APC v řádu desítek minut. Příprava koncentrátu probíhala simultánně s nekrektomií hlubokých popálenin a neměla vliv na délku operace. Hlavním faktorem prodloužení operace byla vlastní aplikace koncentrátu, který byl v podobě hustší tekutiny aplikován na plochy transplantované kožními štěpy a poté velmi šetrně dvěma prsty ruky roztírán do tenké vrstvy, která následně gelifikovala. Pro zajištění řádné retence koncentrátu v cílové oblasti byla nutná velmi pečlivá aplikace. Časově nejnáročnější přitom byla aplikace koncentrátu na konvexní či svisle orientované plochy, typicky v oblastech kloubů, a dále při cirkulární transplantaci na končetinách. Délka trvání operace je velmi limitující u pacientů s rozsáhlým popáleninovým úrazem, který je spojen s rozvojem popáleninového šoku, nutností protišokové terapie a závažnou alterací celkového stavu^[64]. Zde se jeví faktor prodloužení délky doby operace spojený s aplikací destičkového koncentrátu jako velmi závažný. Na základě našich klinických zkušeností nelze doporučit aplikaci destičkového koncentrátu na rozsah ploch větší než 10 % TBSA, a to zejména vzhledem k časové náročnosti operace. Podle současných poznatků a v souladu s publikovanými údaji považujeme za nevhodné použití léčby pomocí APC u pacientů s rozsáhlým popáleninovým úrazem, u nichž dochází v časném období po traumatu k trombocytopenii a rovněž k poruchám funkce trombocytů, přičemž patofyziologie těchto poruch a jejich důsledky dosud nejsou dostatečně

probádány^[140]. Použití destičkového koncentráту v léčbě hlubokých popálenin malého rozsahu má význam zejména ve funkčně významných lokalizacích (ventrální strana krku, axily, podkolení, nártý), kde je zvýšené riziko rozvoje hypertrofického jizvení a vzniku jizevnatých kontraktur.

Nekrektomie a kožní autotransplantace je jedinou kauzální léčbou hlubokého popálení, tj. popálení hloubky stupně III a nehojícího se popálení hloubky stupně IIb^[133]. Nejméně 30 % pacientů po operační léčbě hlubokého popálení je postiženo rozvojem hypertrofického jizvení^[134]. Prevalence vzniku patologického jizvení po popálení není dosud exaktně vysvětlena^[40] a ve skutečnosti zůstává neznámá^[130]. Důvodem je zejména nejednotná klasifikace hypertrofických jizev, stejně tak jako existence velkého množství různých škál používaných pro hodnocení kvality jizev po popálení. Výsledky studií zaměřených na incidenci hypertrofického jizvení po popálení se tak značně liší a pohybují se v širokém pásmu od 30 % až do 91 %^[40,130]. U hlubokých popálenin s nutností operačního řešení je chirurgická léčba spojena s vyšším rizikem rozvoje hypertrofického jizvení nežli u popálenin s možností spontánního zhojení při konzervativní terapii^[40]. Nejčastěji jsou v běžné praxi popáleninové medicíny používány k transplantaci hlubokých ploch dermoepidermální kožní štěpy, které mohou být nemeshované nebo meshované. Meshované kožní štěpy jsou spjaty s vyšším rizikem rozvoje hypertrofického jizvení nežli štěpy nemeshované^[137], neboť novotvořený epitel uvnitř ok štěpu neobsahuje dermis, je proto mechanicky i funkčně insuficientní a má větší sklon ke kontrakci^[61]. V běžné klinické praxi popáleninové chirurgie je v případech dostatku odběrových ploch nejčastěji používána expanze 1:1,5 či 1:2. Tato expanze je při nekomplikovaném hojení spojena s rychlým průběhem epitelizace, relativně dobrými výsledky následného jizvení a byla použita i u našich pacientů. Naopak při expanzi 1:3 a vyšší probíhá epitelizace uvnitř ok pomaleji, je zde vysoké riziko vzniku hypertrofické granulační tkáně (tzv. „kočičí hlavy“, v anglické literatuře „cobble stones“) a v průběhu měsíců následujících po zhojení zde dochází v důsledku excesivní fibrózy k rozvoji hypertrofického jizvení s výraznou kontrakcí a často až ke vzniku kontraktur s nutností následného chirurgického řešení^[61]. K rozvoji hypertrofického jizvení dochází v průběhu 4 až 8 týdnů po zhojení^[119], aktivní růstová fáze jizev obvykle přetrvává 6 měsíců, poté následuje pozvolná regrese hypertrofie trvající individuálně několik měsíců až několik let^[49].

Jizvy, jako trvale zjevné následky popáleninového traumatu, významně ovlivňují kvalitu života osob po prodělaném termickém úrazu. U 13–45 % pacientů po termickém traumatu dochází k rozvoji posttraumatické stresové poruchy, přičemž viditelné následky popálení v podobě jizev jsou jednou z jejích příčin^[148]. Naopak rozsah popálení není jednoznačným prediktorem pro rozvoj posttraumatické stresové poruchy. Závažné poruchy psychického stavu byly zjištěny i u mnoha pacientů s popálením o rozsahu menším než 1 % TBSA^[147]. Výsledný vzhled a kvalita jizev přímo ovlivňují psychický stav pacienta, mohou vést ke vzniku deprese, úzkostných poruch i k rozvoji psychosomatických onemocnění. Co nejlepší funkční a estetický výsledek jizvení je tak mimořádně důležitým cílem léčby popálení.

Podle výsledků analýzy stavu a vývoje jizvení byly mezi oběma skupinami pacientů shledány statisticky významné rozdíly v kvalitě jizev v odstupu jednoho a šesti měsíců po operaci. Po šesti měsících od operace byly jizvy u pacientů léčených pomocí destičkového koncentrátu statisticky významně nižší než jizvy po léčbě prostou DEATR. Většina pacientů, 70 %, léčených pomocí destičkového koncentrátu měla jizvy půl roku po operaci v úrovni okolní zdravé kůže. Naproti tomu většina pacientů, 67 %, léčených prostou dermoepidermální autotransplantací měla jizvy vyvýšené nad úroveň zdravého okolí do výšky ≤ 2 mm. Stejně tak byly 6 měsíců po operaci u pacientů léčených pomocí destičkového koncentrátu statisticky významně nižší i hodnoty celkového VSS skóre, které je dané souhrnným hodnocením cévnatosti, pliability, výšky a pigmentace jizev.

Jizvy po léčbě pomocí APC jevíly rychlejší dynamiku maturace a časnější přechod do fáze regrese jizvení. V odstupu jednoho měsíce po operaci byla pliability jizev u pacientů léčených DEATR v kombinaci s APC signifikantně lepší.

Výsledky klinického hodnocení pliability jizev byly objektivizovány pomocí kutometrie, která je všeobecně uznávanou metodou pro hodnocení viskoelastických vlastností jizev i zdravé kůže^[25]. Jizvy v oblastech po léčbě pomocí APC jevíly při kutometrii dřívější návrat viskoelasticity k hodnotám zdravé kůže nežli jizvy v oblastech po léčbě prostou DEATR, a to v odstupu jednoho a tří měsíců od operace čili v časně fázi maturace jizev.

Lze shrnout, že u pacientů s hlubokými popáleninami indikovanými k operačnímu řešení byla léčba pomocí destičkového koncentrátu spojena s rychlejším a kvalitnějším hojením transplantovaných ploch, lepší kvalitou jizev a rychlejším návratem viskoelasticity jizev směrem k normě.

V dostupném písemnictví dosud nebyla, s výjimkou průběžných výsledků naší studie^[143,136], u popálených problematika hojení ploch transplantovaných dermoepidermálními kožními štěpy v kombinaci s topickou transplantací destičkového koncentrátu a problematika následného jizvení publikována. Z tohoto hlediska je tato práce je svým provedením a obsahem ojedinělá a inovativní. Metodika transplantace byla přihlášena do patentového řízení v USA, které v současné době probíhá.

6. Závěry

Léčba pomocí destičkového koncentrátu byla spojena s rychlejším a kvalitnějším hojením transplantovaných ploch, nekomplikovanému přihojování kožních štěpů odpovídal i vývoj hladin CRP a koncentrace leukocytů.

Jizvy po léčbě pomocí destičkového koncentrátu jevíly rychlejší dynamiku maturace, časnější přechod do fáze regrese jizvení a významně lepší kvalitu z hlediska pliability, výšky i celkového VSS. Pomocí kutometrie byl objektivně prokázán rychlejší návrat viskoelasticity jizev k hodnotám zdravé kůže než po léčbě prostou DEATR, a to v odstupu jednoho a tří měsíců od operace, tedy ještě v časně fázi maturace jizev. Lokální aplikace destičkového koncentrátu nebyla spojena se systémovou odezvou v oblasti hemokoagulace (TČ, Quick, INR, APTT) ani s elevací hodnot jaterních enzymů (ALT, AST, GMT), což svědčí pro pouze lokální účinky takto použitého destičkového koncentrátu. Rovněž hojení odběrových ploch, které probíhalo u obou skupin pacientů z hlediska rychlosti i průběhu hojení srovnatelně, svědčí pro pouze lokální účinky destičkového koncentrátu. Metoda topické transplantace destičkového koncentrátu v kombinaci s DEATR popsaná v této práci se stala předmětem patentového řízení v USA, které v současné době probíhá.

Použití destičkového koncentrátu k léčbě popálenin lze na základě našich zkušeností a výsledků provedené analýzy doporučit do rutinní klinické praxe:

1. pro léčbu hlubokých popálenin o rozsahu do 10 % tělesného povrchu,
2. pro léčbu hlubokých popálenin ve funkčně významných lokalizacích (ventrální strana krku, axily, podkolení, nártý), kde je zvýšené riziko rozvoje hypertrofického jizvení a vzniku jizevnatých kontraktur,
3. pro léčbu hlubokých popálenin v esteticky nejdůležitějších oblastech (obličej, krk, hřbety rukou a prstů, nártý), neboť jsou významné při nonverbální komunikaci každého jedince a silně ovlivňují jeho sebevnímání i postoj okolí („body image“).

Předmětem případného dalšího zkoumání by mělo být ověření účinnosti destičkového koncentrátu pro urychlení hojení meshovaných kožních štěpů s expanzí 1:3 a vyšší. Potvrzení účinnosti koncentrátu při hojení široce síťovaných štěpů by znamenalo menší velikost odběrových ploch, snížení morbiditý dárcovské oblasti a redukci trvalých následků v podobě menšího rozsahu jizev v oblasti odběrových ploch.

Pozornost by bylo vhodné zaměřit i na možnost využití destičkového koncentrátu v neoperační léčbě popálenin hloubky stupně IIb, kde je spontánní zhojení ploch možné, avšak nejisté. Stimulace spontánního hojení popálenin této hloubky by předešla nutnosti operační léčby se všemi jejími důsledky.

7. Výběr použité literatury

- [1] ANITUA, E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999, 14(4), 529-35. ISSN 2325-9671.
- [2] ALSOUSOU, J., M. THOMPSON, P. HULLEY, A. NOBLE a K. WILLETT. The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery: A REVIEW OF THE LITERATURE. *Journal of Bone and Joint Surgery - British Volume*. 2009-08-03, 91-B(8), 987-996. ISSN 2049-4394.
- [6] BARRIENTOS, S., O. STOJADINOVIC, M. S. GOLINKO, H. BREM a M. TOMIC-CANIC. PERSPECTIVE ARTICLE: Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*. 2008, 16(5), 585-601. ISSN 1067-1927.
- [8] BHANDARI, M., F. A. OFOSU, N. MACKMAN, C. JACKSON, C. DORIA, J. E. HUMPHRIES, S. C. BABU, T. L. ORTEL, D. HOFFMAN VAN THIEL, J. M. WALENGA, R. WAHL, K. H. T. TEOH a J. FAREED. Safety and Efficacy of Thrombin-JMI: A Multidisciplinary Expert Group Consensus. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2011-01-10, 17(1), 39-45. ISSN 1938-2723.
- [9] BHANOT, Sumeet a James C. ALEX. Current Applications of Platelet Gels in Facial Plastic Surgery. *Facial Plastic Surgery*. 2002, 18(1), 027-034. ISSN 0736-6825.
- [10] BIELECKI, T. M., T. S. GAZDZIK, J. ARENDT, T. SZCZEPANSKI, W. KROL a T. WIELKOSZYNSKI. Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: AN IN VITRO STUDY. *Journal of Bone and Joint Surgery - British Volume*. 2007-03-01, 89-B(3), 417-420. ISSN 2049-4394.
- [11] BJARNSHOLT, T., K. KIRKETERP-MØLLER, P. Ø. JENSEN, K. G. MADSEN, R. PHIPPS, K. KROGFELT, N. HØIBY a M. GIVSKOV. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. *Wound Repair and Regeneration*. 2008, 16(1), 2-10. ISSN 1067-1927.
- [12] BLAIR, Price a Robert FLAUMENHAFT. Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood Reviews*. 2009, 23(4), 177-189. ISSN 0268-960X.
- [14] BURNOUF, T., M.-L. CHOU, Y.-W. WU, Ch.-Y. SU a L.-W. LEE. Antimicrobial activity of platelet (PLT)-poor plasma, PLT-rich plasma, PLT gel, and solvent/detergent-treated PLT lysate biomaterials against wound bacteria. *Transfusion*. 2013, 53(1), 138-146. ISSN 1537-2995.
- [15] CIESLIK-BIELECKA, A., T. S. GAZDZIK, T. M. BIELECKI a T. CIESLIK. Why the platelet-rich gel has antimicrobial activity?. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2007, 103(3), 303-305. ISSN 2212-4403.
- [17] CROVETTI, G., G. MARTINELLI, M. ISSI, M. BARONE, M. GUIZZARDI, B. CAMPANATI, M. MORONI a A. CARABELLI. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfusion and Apheresis Science*. 2004, 30(2), 145-151. ISSN 1473-0502.
- [19] DANIELSEN, P., B. JØRGENSEN, T. KARLSMARK, L. N. JØRGENSEN a M. S. ÅGREN. Effect of Topical Autologous Platelet-Rich Fibrin versus No Intervention on Epithelialization of Donor Sites and Meshed Split-Thickness Skin Autografts: A Randomized Clinical Trial. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2008, 122(5), 1431-1440. ISSN 0032-1052.
- [21] DOHAN EHRENFEST, D. M., L. RASMUSSEN a T. ALBREKTSSON. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*. 2009, 27(3), 158-167. ISSN 0167-7799.

- [22] DOHAN EHRENFEST, D. M., T. BIELECKI, A. MISHRA, P. BORZINI, F. INCHINGOLO, G. SAMMARTINO, L. RASMUSSEN a P. A. EVERT. In search of a Consensus Terminology in the Field of Platelet Concentrates for Surgical Use: Platelet-Rich plasma (PRP), Platelet-Rich Fibrin (PRF), Fibrin Gel Polymerization and leucocytes. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012, 13(7), 1131-1137. ISSN 1873-4316.
- [23] DOHAN EHRENFEST, D. M., et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates?. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2006 Mar, roč. 101, č. 3, e51-55. ISSN 1079-2104.
- [25] DRAAIJERS, L. J, Y. A.M BOTMAN, F. R.H TEMPELMAN, R. W KREIS, E. MIDDELKOOP a P. P.M VAN ZUIJLEN. Skin elasticity meter or subjective evaluation in scars: a reliability assessment. *Burns*. 2004, 30(2), 109-114. ISSN 0305-4179.
- [28] EDWARDS, Ruth a Keith G HARDING. Bacteria and wound healing. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2004, 17(2), 91-96. ISSN 0951-7375.
- [29] EL-SHARKAWY, H., A. KANTARCI, J. DEADY, H. HASTURK, H. LIU, M. ALSHAHAT a T. E. VAN DYKE. Platelet-Rich Plasma: Growth Factors and Pro- and Anti-Inflammatory Properties. *Journal of Periodontology*. 2007, 78(4), 661-669. ISSN 0022-3492.
- [30] ENGBRETSSEN, L., K. STEFFEN, J. ALSOUSOU, E. ANITUA, N. BACHL, R. DEVILEE, P. EVERTS, B. HAMILTON, J. HUARD, P. JENOURE, F. KELBERINE, E. KON, N. MAFFULLI, G. MATHESON, O. MEI-DAN, J. MENETREY, M. PHILIPPON, P. RANDELLI, P. SCHAMASCH, M. SCHWELLNUS, A. VERNEC a G. VERRALL. IOC consensus paper on the use of platelet-rich plasma in sports medicine. *British Journal of Sports Medicine*. 2010-11-24, 44(15), 1072-1081. ISSN 0306-3674.
- [31] ENGLERT, S. J, T. H ESTEP a C. C. ELLIS-STOLL. Autologous platelet gel applications during cardiovascular surgery: effect on woundhealing. *The Journal of extracorporeal technology*. 2005, 37(2), 148-52. ISSN 0022-1058.
- [32] EPPLEY, B. L., J. E. WOODSELL a J. HIGGINS. Platelet Quantification and Growth Factor Analysis from Platelet-Rich Plasma: Implications for Wound Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2004, 114(6), 1502-1508. ISSN 0032-1052.
- [33] EVERTS, P.A., R.J.J. DEVILEE, C. BROWN MAHONEY, A. VAN ERP, C.J.M. OOSTERBOS, M. STELLENBOOM, J.T.A. KNAPE a A. VAN ZUNDERT. Exogenous Application of Platelet-Leukocyte Gel during Open Subacromial Decompression Contributes to Improved Patient Outcome. *European Surgical Research*. 2008, 40(2), 203-210. ISSN 0014-312X.
- [34] FALANGA, V., F. GRINNELL, B. GILCHREST, Y. T. MADDOX a A. MOSHELL. Workshop on the Pathogenesis of Chronic Wounds. *Journal of Investigative Dermatology*. 1994, 102(1), 125-127. ISSN 0022-202X.
- [35] FEARMONTI, R., J. BOND, D. ERDMANN a H. LEVINSON. A Review of Scar Scales and Scar Measuring Devices. *EPlasty: Open Access Journal of Plastic Surgery*. 2010, 13(10), 354-363. ISSN 1937-5719.
- [36] FOSTER, K. N., R. F. MULLINS, D. G. GREENHALGH, R. L. GAMELLI, P. GLAT, Ch. W. LENTZ, S. A. KAHN, C. BRANDIGI, P. FREDLUND a W. A. ALEXANDER. Recombinant human thrombin: safety and immunogenicity in pediatric burn wound excision. *Journal of Pediatric Surgery*. 2011, 46(10), 1992-1999. ISSN 0022-3468.

- [37] FRANCO, D., T. FRANCO, A. M. SCHETTINO, J. M. T. FILHO a F. S. VENDRAMIN. Protocol for Obtaining Platelet-Rich Plasma (PRP), Platelet-Poor Plasma (PPP), and Thrombin for Autologous Use. *Aesthetic Plastic Surgery*. 2012, 36(5), 1254-1259. ISSN 0364-216X.
- [38] FREI, R. et al The role of growth factors in the human organism and their use in medicine, especially in orthopedics and traumatology. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*. 2008, 75(4), 247-252. ISSN 0001-5415.
- [39] FROUM, S. J. et al Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*. 2002, 22(1), 45-53. ISSN 0198-7569.
- [40] GANGEMI, E N, D GREGORI, P BERCHIALLA, E ZINGARELLI, M CAIRO, D BOLLERO, J GANEM, R CAPOCELLI, F CUCCURU, P CASSANO, D RISSO a M STELLA. Epidemiology and risk factors for pathologic scarring after burn wounds. *Arch Facial Plast Surg*. 2008 Mar-Apr, roč. 10, s. 93-102. ISSN: 1521-2491
- [41] GAUGLITZ, Gerd a Hans KORTING. Hypertrophic Scarring and Keloids: Pathomechanism and Current and Emerging Treatment Strategies. *Molecular Medicine*. 2011, 17(1-2), 113-125. ISSN 1076-1551.
- [42] GIBBLE, JW a PM NESS. Fibrin glue: the perfect operative sealant?. *Transfusion*. 1990, 30(8), 741-747. ISSN 0041-1132.
- [43] GRANDE, J. P. Role of Transforming Growth Factor- in Tissue Injury and Repair. *Experimental Biology and Medicine*. 1997-01-01, 214(1), 27-40. ISSN 1535-3702.
- [44] GRAZIANI, F., S IVANOVSKI, S. CEI, F. DUCCI, M. TONETTI a M. GABRIELE. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clinical Oral Implants Research*. 2006, 17(2), 212-219. ISSN 1600-0501.
- [45] GREENHALGH, D. G., R. L. GAMELLI, J. COLLINS, R. SOOD, D. W. MOZINGO, T. E. GRAY a W A. ALEXANDER. Recombinant Thrombin: Safety and Immunogenicity in Burn Wound Excision and Grafting. *Journal of Burn Care*. 2009, 30(3), 371-379. ISSN 1559-047X.
- [49] HAWKINS, Hal K. a Clifford T. PEREIRA. Pathophysiology of the burn scar. Daid N. Herndon. Saunders Elsevier, 2007, s.608-619. ISBN 978-1-4160-3274-8.
- [51] HOM, D. B. The Healing Effects of Autologous Platelet Gel on Acute Human Skin Wounds. *Archives of Facial Plastic Surgery*. 2007-05-01, 9(3), 174-. ISSN 1521-2491.
- [52] CHENG, Ch. M., C. MEYER-MASSSETTI a S. R. KAYSER. A review of three stand-alone topical thrombins for surgical hemostasis. *Clinical Therapeutics*. 2009, 31(1), 32-41. ISSN 0149-2918.
- [53] CHING, Yiu-Hei et al. The use of growth factors and other humoral agents to accelerate and enhance burn wound healing. *Eplasty*. 2011, 11, e41. ISSN 1937-5719.
- [54] ITALIANO, J. E., J. L. RICHARDSON, S. PATEL-HETT, E. BATTINELLI, A. ZASLAVSKY, S. SHORT, S. RYEOM, J. FOLKMAN a G. L. KLEMENT. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet granules and differentially released. *Blood*. 2007-10-25, 111(3), 1227-1233. ISSN 0006-4971.

- [55] KAKUDO, N., S. KUSHIDA, T. MINAKATA, K. SUZUKI a K. KUSUMOTO. Platelet-rich plasma promotes epithelialization and angiogenesis in a splitthickness skin graft donor site. *Medical Molecular Morphology*. 2011, 44(4), 233-236. ISSN 1860-1480.
- [56] KASSOLIS, J. D., P. S. ROSEN a M. A. REYNOLDS. Alveolar Ridge and Sinus Augmentation Utilizing Platelet-Rich Plasma in Combination With Freeze-Dried Bone Allograft: Case Series. *Journal of Periodontology*. 2000, 71(10), 1654-1661. ISSN 0022-3492.
- [57] KAZAKOS, K., D. N. LYRAS, D. VERETTAS, K. TILKERIDIS a M. TRYFONIDIS. The use of autologous PRP gel as an aid in the management of acute trauma wounds. *Injury*. 2009, 40(8), 801-805. ISSN 0020-1383.
- [58] KHALAFI, R. S., D. W. BRADFORD a M. G. WILSON. Topical application of autologous blood products during surgical closure following a coronary artery bypass graft☆. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2008, 34(2), 360-364. ISSN 1010-7940.
- [59] KEVY, Sherwin V. a May S. JACOBSON. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. *The Journal of extra-corporeal technology*. 2004, 36(1), 28-35. ISSN 0022-1058.
- [61] KLOSOVÁ, Hana a Leo KLEIN. Chirurgické výkony v léčbě popáleninového traumatu. *Rozhledy v chirurgii*. 2013, 92(5), 269-74. ISSN 0035-9351.
- [64] KÖNIGOVÁ, Radana a Josef BLÁHA. *Komplexní léčba popáleninového traumatu*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2010, 430 s. ISBN 978-802-4616-704.
- [65] KRAEMER, B. F., R. A. CAMPBELL, H. SCHWERTZ, M. J. CODY, Z. FRANKS, N. D. TOLLEY, W. H. A. KAHR, S. LINDEMANN, P. SEIZER, Ch. C. YOST, G. A. ZIMMERMAN, A. S. WEYRICH a F. R. DELEO. Novel Anti-bacterial Activities of β -defensin 1 in Human Platelets: Suppression of Pathogen Growth and Signaling of Neutrophil Extracellular Trap Formation. *PLoS Pathogens*. 2011-11-10, 7(11), e1002355-. ISSN 1553-7366.
- [66] KROLL, M. H. et al Platelets and shear stress. *Blood*. 1996, 88(5), 1525-1541. ISSN 0006-4971.
- [67] KUBISZ, P. *Trombocyty a trombocytopenie*. Martin: Osveta, 1987. ISBN 80-8063-046-1.
- [68] LACCI, K. a A. DARDIK. Platelet-Rich Plasma: Support for Its Use in Wound Healing. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 2010, 83(1), 1-9. ISSN 0044-0086.
- [69] LEVY, O. Antimicrobial proteins and peptides of blood: templates for novel antimicrobial agents. *Blood*. 2000, 96(8), 2664-2672. ISSN 0006-4971.
- [70] LINDEBOOM, J. A. H., K. R. MATHURA, I. H. A. AARTMAN, F. H. M. KROON, D M. J. MILSTEIN a C. INCE. Influence of the application of platelet-enriched plasma in oral mucosal wound healing. *Clinical Oral Implants Research*. 2007, 18(1), 133-139. ISSN 1600-0501.
- [72] LOMAX, Christopher a Oren TRAUB. Topical Thrombins: Benefits and Risks. *Pharmacotherapy*. 2009, 29(7), part 2, 8S-12S. ISSN 1875-9114.

- [73] LOPEZ-FERNANDEZ, R., J. RAMIREZ-MELGOZA, N. R. MARTINEZ-AGUILAR, A. LEON-CHAVEZ, D. MARTINEZ-FONG a J. A. GONZALEZ-BARRIOS. Growth factor-enriched autologous plasma improves wound healing after surgical debridement in odontogenic necrotizing fasciitis: a case report. *Journal of Medical Case Reports*. 2011, roč. 5, č. 98.
- [74] MA, L. Proteinase-activated receptors 1 and 4 counter-regulate endostatin and VEGF release from human platelets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005-01-04, 102(1), 216-220. ISSN 0027-8424.
- [75] MARX, R. E, E. R CARLSON, R. M EICHSTAEDT, S. R SCHIMMELE, J. E STRAUSS a K. R GEORGEFF. Platelet-rich plasma. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 1998, 85(6), 638-646. ISSN 1079-2104.
- [76] MARX, Robert E. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2004, 62(4), 489-496. ISSN 0278-2391.
- [77] MÁRQUEZ-DE-ARACENA, R. et al Subconjunctival application of plasma platelet concentrate in the treatment of ocular burns. Preliminary results. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2007, 82(8). ISSN 0365-6691.
- [78] MATRAS, H. Die Wirkungen verschiedener Fibrinpräparate auf Kontinuität-störungen der Rattenhaut. *Osterr. Z. Stomatol*. 1970, 67(9), 338-59. ISSN 0029-9642.
- [79] MCKILLUP, S., *Statistics Explained. An Introductory Guide for Life Scientists*, Cambridge University Press, Cambridge, 1st edition, 2006, ISBN 0-521-54316-9.
- [81] MICHELSON, Edited by Alan. *Platelets*. 3rd ed. Oxford: Academic. ISBN 978-012-3878-373.
- [82] MISHRA, Allan a Terri. PAVELKO. Treatment of Chronic Elbow Tendinosis With Buffered Platelet-Rich Plasma. *American Journal of Sports Medicine*. 2006-07-21, 34(11), 1774-1778. ISSN 0363-5465.
- [83] MOOJEN, D. Jan F., P. A. M. EVERTS, R.-M. SCHURE, Ed P. OVERDEVEST, A. VAN ZUNDERT, J. T. A. KNAPE, R. M. CASTELEIN, L. B. CREEMERS a W. J. A. DHERT. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Orthopaedic Research*. 2008, 26(3), 404-410. ISSN 0736-0266.
- [85] MUSTOE, T. A., R. D. COOTER, M. H. GOLD, F. D. R. HOBBS, A.-A. RAMELET, P. G. SHAKESPEARE, M. STELLA, L. TÉOT, F. M. WOOD a U. E. ZIEGLER. International Clinical Recommendations on Scar Management. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2002, 110(2) 560-571. ISSN 0032-1052.
- [90] PALLUA, N., T. WOLTER a M. MARKOWICZ. Platelet-rich plasma in burns. *Burns*. 2010, 36(1), 4-8. ISSN 0305-4179.
- [91] PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu*. Český Těšín: FINIDR, 2006. ISBN 80-866-8200-5.
- [93] PIETRZAK, William S a Barry L EPPLEY. Platelet Rich Plasma: Biology and New Technology. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2005, 16(6), 1043-1054. ISSN 1049-2275.
- [94] PRUCHNIEWSKI, D., T. PAWLOWSKI, J. MORKOWSKI a S. MACKIEWICZ. C-reactive protein in management of children's burns. *Ann Clin Res*. 1987, 19(5), 334-8. ISSN 0003-4762.

- [95] RADEK, Katherine a Richard GALLO. Antimicrobial peptides: natural effectors of the innate immune system. *Seminars in Immunopathology*. 2007-4-18, 29(1), 27-43. ISSN 1863-2297.
- [96] RAGHOEBAR, G M., J. SCHORTINGHUIS, R. S. B. LIEM, J. L. RUBEN, J. E. VAN DER WAL a A. VISSINK. Does platelet-rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor?. *Clinical Oral Implants Research*. 2005, 16(3), 349-356. ISSN 1600-050.
- [97] ROBIONY, M., F. POLINI, F. COSTA a M. POLITI. Osteogenesis distraction and platelet-rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: Preliminary results. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2002, 60(6), 630-635. ISSN 0278-2391.
- [98] ROBSON, Martin C. WOUND INFECTION. *Surgical Clinics of North America*. 1997, 77(3), 637-650. ISSN 0039-6109.
- [99] ROY, S., J DRIGGS, H. ELGHARABLY, S. BISWAS, M. FINDLEY, S. KHANNA, U. GNYAWALI, V. K. BERGDALL a Ch. K. SEN. Platelet-rich fibrin matrix improves wound angiogenesis via inducing endothelial cell proliferation. *Wound Repair and Regeneration*. 2011, 19(6), 753-766. ISSN 1067-1927.
- [101] SCHEPULL, T., J. KVIST, H. NORRMAN, M. TRINKS, G. BERLIN a P. ASPENBERG. Autologous Platelets Have No Effect on the Healing of Human Achilles Tendon Ruptures: A Randomized Single-Blind Study. *The American Journal of Sports Medicine*. 2011-01-04, 39(1), 38-47. ISSN 0363-5465.
- [104] SINGLA, N. K., K. N. FOSTER, W. A. ALEXANDER a J. P. PRIBBLE. Safety and Immunogenicity of Recombinant Human Thrombin: A Pooled Analysis of Results from 10 Clinical Trials. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2012, 32(11), 998-1005. ISSN 0277-0008.
- [105] SINGLA, N. K., A. P. GASPARIS, J. L. BALLARD, J. M. BARON, M. D. BUTINE, J. P. PRIBBLE a W. A. ALEXANDER. Immunogenicity and safety of re-exposure to recombinant human trombin in surgical hemostasis. *J Am Coll Surg*. 2011 Dec., 213(6) 722-7. ISSN 1072-7515.
- [106] SMITH, Simon E. a Thomas S. ROUKIS. Bone and Wound Healing Augmentation with Platelet-Rich Plasma. *Clinics in Podiatric Medicine and Surgery*. 2009, 26(4), 559-588. ISSN 0891-8422.
- [108] STEED, D. L. et al Effect of extensive debridement and treatment on the healing of diabetic foot ulcers. Diabetic Ulcer Study Group. *Journal of the American College of Surgeons*. 1996, 183(1), 61-64. ISSN 1072-7515.
- [110] SUH Hyunsuk a Joon Pio HONG. One Stage Allogenic Acellular Dermal Matrices (ADM) and Split-Thickness Skin Graft with Negative Pressure Wound Therapy. GORE, Madhuri. *Skin Grafts*. InTech, 2013, s. 35-50. ISBN 978-953-51-0973-0.
- [111] ŠLECHTOVÁ, J. Hemostáza – jak ji možná neznáme. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2007, 15(36), 97-101. ISSN 1210-7921.
- [112] TANG, Y.-Q., M. R. YEAMAN a M. E. SELSTED. Antimicrobial Peptides from Human Platelets. *Infection and Immunity*. 2002-12-01, 70(12), 6524-6533. ISSN 0019-9567.
- [113] TRAVIS, J., J. POTEPA a H. MAEDA. Are bacterial proteinases pathogenic factors?. *Trends in Microbiology*. 1995, 3(10), 405-407. ISSN 0966-842X.

- [114] TRENGOVE, N. J, H. BIELEFELDT-OHMANN a M. C STACEY. Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers. *Wound Repair and Regeneration*. 2000, 8(1), 13-25. ISSN 1067-1927.
- [115] TROWBRIDGE, C. C. et al Use of platelet gel and its effects on infection in cardiac surgery. *The Journal of extra-corporeal technology*. 2005, 37(4), 381-6. ISSN 0022-1058.
- [117] VIVEK, G. K. a B.H. Sripathi RAO. Potential for osseous regeneration of platelet rich plasma: a comparative study in mandibular third molar sockets. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*. 2009, 8(4), 308-311. ISSN 0972-8279.
- [118] WERTHER, K., I. J. CHRISTENSEN a H. J. NIELSEN. Determination of vascular endothelial growth factor (VEGF) in circulating blood: significance of VEGF in various leucocytes and platelets. *Scandinavian Journal of Clinical*. 2002, 62(5), 343-350. ISSN 0036-5513.
- [121] WHITEHEART, S. W. Platelet granules: surprise packages. *Blood*. 2011-08-04, 118(5), 1190-1191. ISSN 0006-4971.
- [122] YANG, H. S., J. SHIN, S. H. HANG, J.-Y. SHIN, J. PARK, G.-I. IM, Ch.-S. KIM a B. S. KIM. Enhanced skin wound healing by a sustained release of growth factors contained in platelet-rich plasma. *Experimental and Molecular Medicine*. 2011, 43(11), 622-. ISSN 1226-3613.
- [123] ZAPATA et all, Efficacy and safety of the use of autologous plasma rich in platelets for tissue regeneration: a systematic review. *Transfusion*. Volume 49, January, 2009. ISSN 1537-2995.
- [124] ZARBOCK, A., R. K. POLANOWSKA-GRABOWSKA a K. LEY. Platelet-neutrophil-interactions: Linking hemostasis and inflammation. *Blood Reviews*. 2007, 21(2), 99-111. ISSN 0268-960X.
- [130] BOMBARO, K. M, L. H ENGRAV, G. J CARROUGHER, S. A. WIECHMAN, L. FAUCHER, B. A. COSTA, D. M. HEIMBACH, F. P. RIVARA a S. HONARI. What is the prevalence of hypertrophic scarring following burns?. *Burns*. 2003, vol. 29, issue 4, s. 299-302. ISSN 0305-4179.
- [131] BOSWELL, S.. G., B. J. COLE, E. A. SUNDMAN, V. KARAS a L. A. FORTIER. Platelet-Rich Plasma: A Milieu of Bioactive Factors. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery*. 2012, vol. 28, issue 3, s. 429-439. ISSN 0749-8063.
- [133] GRAHAM, J. S, K. T. SCHOMACKER, R. D. GLATTER, C. M. BRISCOE, E. H. BRAUE a K. S. SQUIBB. Efficacy of laser debridement with autologous split-thickness skin grafting in promoting improved healing of deep cutaneous sulfur mustard burns. *Burns*. 2002, vol. 28, issue 8, s. 719-730. ISSN 0305-4179.
- [134] HARRISON, Caroline. A. a Sheila MACNEIL. The mechanism of skin graft contraction: An update on current research and potential future therapies. *Burns*. 2008, vol. 34, issue 2, s. 153-163. ISSN 0305-41
- [135] HOROWITZ, Mardi Jon. *Stress response syndromes*. 2nd ed. Northvale, N.J: Aronson, 1992. ISBN 978-087-6682-982.
- [136] KLOSOVÁ, H, J ŠTĚTINSKÝ, I BRYJOVÁ, S HLEDÍK a L KLEIN. Objective evaluation of the effect of autologous platelet concentrate on post-operative scarring in deep burns. *Burns*. 2013 Sep, vol. 39, issue 6, s. 1263-76. ISSN 0305-4179. DOI:10.1016/j.burns.2013.01.020.

- [137] LAWRENCE, J. W., S. T. MASON, K. SCHOMER a M. B. KLEIN. Epidemiology and impact of scarring after burn injury: a systematic review of the literature. *J Burn Care Res.* 2012 Jan-Feb, vol. 33, issue 1, s. 136-46. ISSN 1559-047X. DOI:10.1097/BCR.0b013e318274452.
- [138] LEW, W.K. a F.A. WEAVER. Clinical use of topical thrombin as a surgical hemostat. *Biologics.* 2008, vol. 2, issue 4, s. 593-9. ISSN 1045-1056.
- [140] MARCK, R. E., H. L. MONTAGNE, W. E. TUINEBREIJER a R. S. BREEDERVELD. Time course of thrombocytes in burn patients and its predictive value for outcome. *Burns.* 2013, vol. 39, issue 4, s. 714-722. ISSN 0305-4179.
- [143] PROCHAZKA, V, H KLOSOVA, J STETINSKY, J GUMULEC, K VITKOVA, D SALOUNOVA, J DVORACKOVA, H BIELNIKOVA, P † KLEMENT, V LEVAKOVA, T OCELKA, L PAVLISKA, P KOVANIC a G.L KLEMENT. Addition of platelet concentrate to Dermo-Epidermal Skin Graft in deep burn trauma reduces scarring and need for revision surgeries. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2013 Sep 27. ISSN 1213-8118. DOI: doi: 10.5507/bp.2013.070. [Epub ahead of print].
- [144] SOFFER, E., J. P. OUHAYOUN a F. ANAGNOSTOU. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 2003, vol. 95, issue 5, s. 521-528. ISSN 10792104.
- [145] SPOTNITZ, W. D., S. G. BURKS a R. PRABHU. Fibrin-Based Adhesives and Hemostatic Agents. *Tissue Adhesives in Clinical Medicine.* James V. Quinn. PMPH-USA, 2005, s. 77-112. ISBN 9781550092820.
- [146] TANG, Y.-Q., M. R. YEAMAN a M. E. SELSTED. Antimicrobial Peptides from Human Platelets. *Infection and Immunity.* 2002-12-01, vol. 70, issue 12, s. 6524-6533. ISSN 0019-9567.
- [147] TEDSTONE, Josephine E. a Nicholas TARRIER. An investigation of the prevalence of psychological morbidity in burn-injured patients. *Burns.* 1997, vol. 23, 7-8, s. 550-554. ISSN 0305-4179.
- [148] VAN LOEY, Nancy E E a Maarten J M VAN SON. Psychopathology and Psychological Problems in Patients with Burn Scars. *American Journal of Clinical Dermatology.* 2003, vol. 4, issue 4, s. 245-272. ISSN 1175-0561.

8. Přehled publikační činnosti

8.1. Původní články

1. **KLOSOVÁ, H., J. ŠTĚTINSKÝ, I. BRYJOVÁ, S. HLEDÍK a L. KLEIN.** Objective evaluation of the effect of autologous platelet concentrate on post-operative scarring in deep burns. *Burns (Impact Factor: 1.946)*. 2013, 39(6), 1263-1276. DOI: 10.1016/j.burns.2013.01.020. ISSN 0305-4179.
2. ŠTĚTINSKÝ, J., **H. KLOSOVÁ**, Z. NĚMEČKOVÁ CRKVENJAŠ, H. KOLÁŘOVÁ, I. BRYJOVÁ, S. HLEDÍK, D. ŠALOUNOVÁ. Indikace k operační léčbě popálenin při využití metody laserdoppler imaging. *Lékař a technika*. 2013, 43(2), 23-27. ISSN 0301-5491.
3. PROCHAZKA, V., **H. KLOSOVA**, J. STETINSKY, J. GUMULEC, K. VITKOVA, D. SALOUNOVA, J. DVORACKOVA, H. BIELNIKOVA, P. KLEMENT, V. LEVAKOVA, T. OCELKA, L. PAVLISKA, P. KOVANIC a G.L. KLEMENT. Addition of platelet concentrate to Dermo-Epidermal Skin Graft in deep burn trauma reduces scarring and need for revision surgeries. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub (Impact Factor: 0.990)*. 2013 Sep 27. DOI: doi: 10.5507/bp.2013.070. ISSN 1213-8118. [Epub ah.]
4. **KLOSOVA, H., J. TYMONOVA a M. ADAMKOVA.** Burn injury in senior citizens over 75 years of age. *Acta Chiruriae Plasticae*. 2006, 47(1), 21-23. ISSN 0001-5423.
5. ADAMKOVA, M., J. TYMONOVA, I. ZAMECNIKOVA, M. KADLČIK a **H. KLOSOVA**. First experience with the use of vacuum assisted closure in the treatment of skin defects at the burn center. *Acta Chir Plast*. 2005, 47(1), 24-7. ISSN 0001-5423.
6. CRKVENJAS, Z., J. TYMONOVÁ, M. ADÁMKOVÁ, M. KADLČÍK, **H. KLOSOVÁ** a I. ZÁMEČNÍKOVÁ. Surgical treatment of electrical burns by local flap plastic surgery. *Acta Chir Plast*. 2005, roč. 47(1), 10-2. ISSN 0001-5423.
7. TYMONOVA, J., M. ADAMKOVA, **H. KLOSOVA**, M. KADLČIK a I. ZÁMECNIKOVA. Our first experience with Integra. *Acta Chir Plast*. 2005, 47(1), 5-9. ISSN 0001-5423.

8.2. Statě ve sbornících

1. **KLOSOVÁ, H., J. ŠTĚTINSKÝ, L. PETRÁŠ a Z. NĚMEČKOVÁ CRKVENJAŠ.** Laserterapie jizev po termickém traumatu. In: *Hojení ran. Sborník abstrakt z 18. Výroční konference Společnosti popáleninové medicíny*. 2013, 7(2), 13-14. ISSN 1802-6400. ISBN 978-80-86256-97-9.
2. ŠTĚTINSKÝ, J., M. KOLEK, **H. KLOSOVÁ**, Z. NĚMEČKOVÁ CRKVENJAŠ, L. PETRÁŠ. Endokarditida u rozsáhlého popáleninového traumatu. In: *Hojení ran. Sborník abstrakt z 18. Výroční konference Společnosti popáleninové medicíny*. 2013, 7(2), 15. ISSN 1802-6400. ISBN 978-80-86256-97-9.
3. NĚMEČKOVÁ CRKVENJAŠ, Z., **H. KLOSOVÁ**, D. TOMAN, R. VRÁTNÁ. Vliv XeDermu na snížení ztrát tělesných tekutin z otevřených ranných ploch u dětí. In: *Hojení ran. Sborník abstrakt z 18. Výroční konference Společnosti popáleninové medicíny*. 2013, 7(2), 8. ISSN 1802-6400. ISBN 978-80-86256-97-9.
4. VRÁTNÁ, R., **H. KLOSOVÁ**. Využití Xe-Dermu v léčbě Lyellova syndromu. In: *Hojení ran. Sborník abstrakt z 18. Výroční konference Společnosti popáleninové medicíny*. 2013, 7(2), 9. ISSN 1802-6400. ISBN 978-80-86256-97-9.

5. **KLOSOVÁ, H., Z. VÁVROVÁ, J. ŠTĚTINSKÝ.** Xe-Derma – možnosti využití v léčbě popáleninového traumatu a další indikační spektrum. In: *Hojení ran.* 2013, 7(1), 43. ISSN 1802-6400.
6. ŠTĚTINSKÝ, Jiří a **Hana KLOSOVÁ.** Využití Laser Doppler Imaging k diagnostice hloubky popálení. *Hojení ran.* 2013, 7(1), 43. ISSN 1802-6400.
7. ŠTĚTINSKÝ, J., **H. KLOSOVÁ, I. BRYJOVÁ** a L. PETRÁŠ. Možnosti LDI (Laser Doppler Imaging) při diagnostice kožního melanomu. In: *Sborník abstrakt z XXXVI. Dnů lékařské biofyziky.* Lázně Bělohrad, 2013, s.76. ISBN 978-80-87727-04-1.
8. BRYJOVÁ, I., **H. KLOSOVÁ, J. ŠTĚTINSKÝ** a S. HLEDÍK. Metodika objektivního hodnocení jizvení po popáleninách. In: *Sborník abstrakt z XXXVI. Dnů lékařské biofyziky.* Lázně Bělohrad, 2013, s.18. ISBN 978-80-87727-04-1.
9. **KLOSOVA, H., J. STETINSKY, I. BRYJOVA, S. HLEDIK** a L. KLEIN. Cutometrical monitoring of the Autologous Platelet Concentrate efficacy in surgical treatment of deep burns – evaluation of the course of scarring. In: *15th European Burn Association Congress, Vienna, Austria, August 28th-31st 2013: abstracts online.* Dostupné z <http://www.eba2013.org/images/EBA2013Abstracts.pdf>
10. KOPRIVA, J. a **H. KLOSOVA.** Retrospective observational data collection on treatment of patients with burns, in whom the biological cover Xe-Derma® have been applied. In: *15th European Burn Association Congress, Vienna, Austria, August 28th-31st 2013: abstracts online.* Dostupné z <http://www.eba2013.org/images/EBA2013Abstracts.pdf>
11. **KLOSOVA, H., J. STETINSKY, I. ZAMECNIKOVA, Z. NEMECKOVA CRKVENJAS** a Z. VAVROVA. Xe-Derma®- Possibilities of the use in the treatment of burn trauma and other therapeutic indications. In: *15th European Burn Association Congress, Vienna, Austria, August 28th-31st 2013: abstracts online.* Dostupné z <http://www.eba2013.org/images/EBA2013Abstracts.pdf>
12. STETINSKY, J., **H. KLOSOVA, S. HLEDIK, I. BRYJOVA** a H. KOLAROVA. Laser Doppler paging of capillary blood flow changes of variol burn wounds. In: *15th European Burn Association Congress, Vienna, Austria, August 28th-31st 2013: abstracts online.* Dostupné z <http://www.eba2013.org/images/EBA2013Abstracts.pdf>
13. VRATNA, R., **H. KLOSOVA** a T. MALA. Use of Xe-Derma® in the treatment of Lyell's syndrome. In: *15th European Burn Association Congress, Vienna, Austria, August 28th-31st 2013: abstracts online.* Dostupné z <http://www.eba2013.org/images/EBA2013Abstracts.pdf>
14. **KLOSOVA, H., J. STETINSKY, K. VITKOVA, D. SALOUNOVA, V. PROCHAZKA, J. DVORACKOVA, H. BIELNIKOVA, G.L. KLEMENT.** Platelet rich plasma in surgical treatment of deep burn. In: *Abstracts of 16th Congress of the International Society for Burn Injuries, Edinburgh, Scotland, 9th-13th September, 2012.* [CD]
15. **KLOSOVA, H., J. STETINSKÝ, J. GUMULEC, K. VITKOVA, D. SALOUNOVA, V. LEVAKOVA** a V. PROCHAZKA. Surgery treatment of deep burns – DE autotransplantation combined with local transplantation of APC. In: *Abstracts of 14th European Burns Association Congress, Den Hague, Netherlands.* 2011, s.107.
16. STETINSKY, J., **H. KLOSOVA, H., KOLAROVA** a ZAPLETALOVÁ, J. The blood perfusion monitoring in the burn wound area by LDI in a process of healing time and its clinical meaning. *Burns (Impact Factor: 1.946).* 2011, 37(1), S4. ISSN 0305-4179.

17. KLEIN, L., **KLOSOVÁ, H.**, KALOUDOVA, Y. a ŠUCA, H. Popáleniny v České Republice – kolik jich vlastně máme? In: *XVI.výroční konference České společnosti popáleninové medicíny ČLS JEP*. 2010. ISBN 978-80-210-5290-1.

18. KLEIN, L., **KLOSOVA, H.**, KALOUDOVA, Y. a SUCA, H. Burn injuries and burns care in the Czech Republic. In: *15th Meeting of the International Society For Burn Injuries, Istanbul, Turkey*. 2010, June 21st-25th.

19. **KLOSOVA, H.**, J. STETINSKY, R. DOLECEK, J. GUMULEC, K. VITKOVA, D. SALOUNOVA, J. DVORACKOVA, H. BIELNIKOVA, V. LEVAKOVA a V. PROCHAZKA. DE graft and Platelet Rich Plasma in deep burn trauma. In: *15th Meeting of International Society for Burn Injuries, Istanbul, Turkey*. 2010, June 21st-25th.

20. KADLČÍK, M., I. ZÁMEČNÍKOVÁ, H. KLOSOVÁ, J. TYMONOVÁ. Použití tukových emulzí v parenterální nutrici těžce popálených pacientů. In: *Sborník abstrakt – XI. Výroční konference České společnosti popáleninové medicíny ČLS JEP*. 1.vydání. Brno: Masarykova univerzita, 2005, s.17. ISBN 80-210-3842-X.

8.3. Přehledové články

KLOSOVÁ, Hana a Leo KLEIN. Chirurgické výkony v léčbě popáleninového traumatu. *Rozhl. Chir.* 2013, 92(5), 269-274. ISSN 1803-6597.

8.4. Přednášky na odborných setkáních přednesené autorkou dizertační práce

1. KLOSOVÁ, H., Z. VÁVROVÁ a J. ŠTĚTINSKÝ. Xe-Derma – možnosti využití v léčbě popáleninového traumatu a další indikační spektrum. *XI. celostátní kongres ČSLR s mezinárodní účastí na téma Mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů*. 24.–25. 1. 2013, Pardubice.

2. KLOSOVÁ, H., M. ADÁMKOVÁ a J. ŠTĚTINSKÝ. Laserová terapie jizev po popálení. *55.Purkyněv den ČLS JEP, udělení ceny J. E. Purkyně prof. MUDr. Radaně Königové, CSc. za rozvoj popáleninové medicíny*. 12. 6. 2013, zámek Libochovice.

3. KLOSOVA, H., J. STETINSKY, I. BRYJOVA, S. HLEDIK a L. KLEIN. Cutometrical monitoring of the Autologous Platelet Concentrate efficacy in surgical treatment of deep burns – evaluation of the course of scarring. *15th European Burn Association Congress*. 28.–31.8.2013, Vienna, Austria.

4. KLOSOVA, Hana a Jiri KOPRIVA. Retrospective observational data collection on treatment of patients with burns, in whom the biological cover Xe-Derma® have been applied. *15th European Burn Association Congress*. 28.–31. 8. 2013, Vienna, Austria.

5. H. KLOSOVA, J. STETINSKY, I. ZAMECNIKOVA, Z. NEMECKOVA CRKVENJAS, Z. VAVROVA. Xe-Derma®- Possibilities of the use in the treatment of burn trauma and other therapeutic indications. *15th European Burn Association Congress*. 28.–31. 8. 2013, Vienna, Austria.

6. KLOSOVÁ, H., ŠTĚTINSKÝ J., PETRÁŠ L. a Z. NĚMEČKOVÁ CRKVENJAŠ. Laserterapie jizev po termickém traumatu. *18. výroční konference popáleninové medicíny*. 3.–4. 10. 2013, Praha.

7. KLOSOVA, H., J. STETINSKY, K. VITKOVA, D. SALOUNOVA, V. PROCHAZKA, J. DVORACKOVA, H. BIELNIKOVA, G.L. KLEMENT. Platelet rich plasma in surgical treatment of deep burn. *16th Congress of the International Society for Burn Injuries*. 9.–13. 9. 2012, Edinburgh, Scotland.

8. KLOSOVA, H., J. STETINSKY, J. GUMULEC, K. VITKOVA, D. SALOUNOVA, V. LEVAKOVA a V. PROCHAZKA. Surgery treatment of deep burns – DE autotransplantation combined with local transplantation of APC. *14th European Burns Association Congress*. 14.–17. 9. 2011, Den Hague, Netherlands (poster).
9. KLOSOVA, H., J. STETINSKY, J. GUMULEC, K. VITKOVA, D. SALOUNOVÁ, H. BIELNIKOVA, P. KLEMENT, V. LEVAKOVÁ, G. L. KLEMENT a V. PROCHAZKA. An Open-label, Non Randomized, Single-Center Registry Study to Assess the Safety and Effects of Autologous Platelets Concentrate and Autologous Thrombin for the Treatment of Deep Burns Trauma. *XVII. Pařížkovy dny, mezinárodní konference*. 17. - 18. března 2011, Aula Vysoké školy Báňské – Technické univerzity Ostrava.
10. KLOSOVA, H., J. STETINSKY, R. DOLECEK, J. GUMULEC, K. VITKOVA, D. SALOUNOVA, J. DVORACKOVA, H. BIELNIKOVA, V. LEVAKOVA a V. PROCHAZKA. DE Graft and platelet rich plasma in deep burn trauma. *XVII. Pařížkovy dny, mezinárodní konference*. 17. - 18. března 2011, Aula Vysoké školy Báňské – Technické univerzity Ostrava (poster).
11. KLOSOVÁ, Hana. Operační léčba hlubokého popálení s využitím autologního koncentrátu krevních destiček. *Mezioborový seminář Ústavu patologie a Popáleninového centra FN Ostrava na téma Vyšetření dermoepidermálních štěpů u pacientů s popáleninovým traumatem*. 8. 12. 2010, FN Ostrava.
12. KLOSOVA H., V. PROCHAZKA, J. GUMULEC, Z. CRKVENJAS, J. ŠTĚTINSKY. DE graft and PRP in deep burn trauma. *15th Meeting of the International Society for Burn Injuries*. 21.–25. 6. 2010 Istanbul, Turkey (poster).
13. KLOSOVA, Hana. DE Graft and Platelet Rich Plasma in Deep Burn Trauma. *XVI. Pařížkovy dny – konference České hematologické společnosti ČLS JEP s mezinárodní účastí*. 25.–26. 3. 2010, Aula Vysoké školy Báňské – Technické univerzity Ostrava.
14. KLOSOVÁ, Hana. Operační léčba hlubokého popálení s použitím koncentrátu krevních destiček. *Konference Ministerstva zdravotnictví ČR na téma „Specializovaná péče u popáleninového traumatu*. 24. 3. 2010, FN Ostrava.
15. KLOSOVÁ, H., V. PROCHÁZKA, J. GUMULEC a Z. CRKVENJAŠ. Operační léčba hlubokých popálenin kombinací DE autotransplantace a lokální transplantace koncentrátu autologních trombocytů. *15. výroční konference popáleninové medicíny*. 5.–6. 11. 2009, Ostrava.
16. KLOSOVÁ Hana a Václav PROCHÁZKA. Využití růstových faktorů krevních destiček v léčbě kožních defektů a ran různé etiologie. *Mezioborový seminář na téma Využití autologních kmenových buněk v klinické praxi*. 29. 1. 2009, VŠB TU Ostrava.
17. KLOSOVÁ, H., J. TYMONOVÁ a M. ADÁMKOVÁ. Popáleninové trauma u seniorů nad 75 let. *Odborný večer Popáleninového centra FN Ostrava*. 3. 3. 2005, Ostrava.
18. KLOSOVÁ Hana a Iva ZÁMEČNÍKOVÁ. Naše první zkušenosti s koriotomem. *10. výroční konference Společnosti popáleninové medicíny ČLS JEP*. 15.–17. 9. 2004, Rožnov pod Radhoštěm.
19. KLOSOVÁ, H., J. TYMONOVÁ a M. ADÁMKOVÁ. Popáleninové trauma u seniorů nad 75 let. *10. výroční konference Společnosti popál. medicíny ČLS JEP*. 15.–17. 9. 2004, Rožnov pod Radhoštěm.
20. KLOSOVÁ, H., J. TYMONOVÁ a M. ADÁMKOVÁ. Popáleninové trauma u seniorů nad 75 let. *VII. Ostravské traumatologické dny*. 23.–24. 9. 2004, Rožnov pod Radhoštěm.

8.5. Publikované kazuistiky

1. KEMPNÝ, T., B. LIPOVÝ, A. HOKYNKOVÁ, L. LORENZ a **H. KLOSOVÁ**. Wrap-around flap in urgent thumb reconstruction after high-voltage electrical injury. *Burns (Impact Factor: 1.946)*. 2012 Nov, roč. 38, č. 7, e20-e23. ISSN 0305-4179.
2. **KLOSOVÁ, H.**, Z. CRKVENJAŠ NĚMĚČKOVÁ, L. PETRÁŠ, J. ŠTĚTINSKÝ. Využití acelulárních biologických xenotransplantátů v lokální léčbě Lyellova syndromu. *Rozhledy v chirurgii*. 2014, 93: xx-xx [In print].