

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



Využití autologního materiálu ve středoušní chirurgii

Lukáš Školoudík

Autoreferát disertační práce

Doktorský studijní program Chirurgie

Hradec Králové

2012

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu Chirurgie na Katedře Chirurgie Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Lukáš Školoudík
Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku
FN a LF UK v Hradci Králové

Školitel: doc. MUDr. Jan Vokurka, CSc.
Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku
1. LF a FN Motol, Praha

Školitel konzultant: prof. MUDr. Ivan Hybášek, DrSc.

Oponenti: doc. MUDr. Pavel Smilek, PhD.
Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku
FN U Sv. Anny v Brně

MUDr. Jiří Skřivan, CSc.
Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku
1. LF a FN Motol, Praha

Obhajoba se bude konat před Komisí pro obhajoby disertačních prací v doktorském studijním programu Chirurgie dne 20. září 2012.

Tato práce vznikla za podpory grantového projektu Roche doktorských studijních programů Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

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:

1. Souhrn	4
2. Summary	5
3. Úvod	
3.1 Autologní materiály využívané při rekonstrukci převodního systému	
3.1.1 Svalová fascie	6
3.1.2 Tuková tkáň	7
3.1.3 Perichondrium.	7
3.1.4 Chrupavka	7
3.1.5 Kost	8
3.1.6 Cévní stěna	8
3.1.7 Kůže	9
3.1.8 Svalový lalok	9
3.2 Homologní materiály využívané při rekonstrukci převodního systému	9
3.3 Syntetické materiály využívané při rekonstrukci převodního systému	10
4. Cíle disertační práce	11
5. Klinická a experimentální studie	
5.1 Klinická studie	
5.1.1 Úvod	11
5.1.2 Soubor pacientů, materiál a metodika	12
5.1.3 Výsledky	13
5.2 Experimentální studie	
5.2.1 Úvod	15
5.2.2 Materiál a metodika	16
5.2.3 Výsledky	17
6. Diskuze	
6.1 Klinická studie	20
6.2 Experimentální studie	23
7. Závěr	
7.1 Naplnění hlavních cílů studií	25
7.2 Naplnění dílčích cílů studií	26
8. Literatura	27
9. Přehled publikační a přednáškové činnosti autora	31

1. Souhrn

Využití autologního materiálu ve středoušní chirurgii

Autologní materiál je v kofochirurgii ve většině indikací upřednostňován před materiálem aloplastickým či homologním. Výjimečné postavení při volbě materiálu k rekonstrukci převodního systému mají pacienti s cholesteatomem. U těchto pacientů není doporučováno využití autologní středoušní kůstky pro riziko perzistence cholesteatomu.

V klinické části je studován vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám. Na základě histologických nálezů cholesteatomem postižených středoušních kůstek jsou navrženy a testovány metody ošetření k eliminaci zbytků cholesteatomu. První metodou je mechanické odstranění cholesteatomu s vyfrézováním povrchu kůstky diamantovou frézou pod kontrolou operačního mikroskopu. Tato metoda je účinná především u méně destruovaných kůstek, u kterých jsme tímto ošetřením vždy cholesteatom kompletně odstranili. U středoušních kůstek s těžkou destrukcí tato metoda selhala. Druhou testovanou metodou je kombinace mechanického ošetření s následným autoklávováním po dobu 4 minut při teplotě 134°C, kterou jsme ve všech případech zcela eliminovali cholesteatom z povrchu středoušní kůstky.

V experimentální části studie jsme sledovali reakci středoušní sliznice na autoklávované středoušní kůstky a změny v kůstkách s časovým odstupem po implantaci. V experimentu na zvířeti (morčeti) jsme implantovali do středouší autoklávovanou autologní kůstku i s částí bubínku fixovaného k manubriu kladívka. Po 30 dnech byla provedena explorace středouší s vynětím kovadlinkotřmínkového komplexu s histologickým vyšetřením. Nálezy prokázaly, že autoklávováním po dobu 4 minut při teplotě 134°C dochází k povrchové devitalizaci, dostatečné k eliminaci dlaždicobuněčného epitelu na povrchu středoušní kůstky. Kůstky si zachovávají svoji integritu, pevnost a lamelární strukturu. Dochází ke snížení počtu vitálních osteocytů, ale nedochází k úplné devitalizaci kosti. Povrch kůstky přerůstá středoušním epitelem. Nebyly zaznamenány nežádoucí reakce proti štěpu. U všech experimentálních zvířat byla implantace středoušní kůstky úspěšná bez známek odhojení či rozpadu autoklávované středoušní kůstky.

Mechanické ošetření středoušních kůstek frézováním pod kontrolou mikroskopu považujeme za dostatečné k eliminaci cholesteatomu pouze u lehce destruovaných kůstek. U těžce destruovaných kůstek je bezpečnou metodou kombinace mechanického ošetření s autoklávováním kůstky.

2. Summary

Use of Autologous Material in Middle Ear Surgery

The use of autologous material in kofosurgery has been preferred to that of homologous or aloplastic materials in most situations. However, the use of autologous material in patients with cholesteatoma has been limited by the risk of harbouring residual disease.

In the clinical part of the study we investigated the relationship between residual cholesteatoma and the method of reconstruction of the middle ear ossicles. Regarding the histological findings, two methods of middle ear ossicle treatment were suggested. The first method tested was mechanical clearance of the ossicles by stripping and burring their surfaces under microscopic view. The mechanical treatment was successful in all cases of mildly eroded ossicles. In cases of severely eroded ossicles, this method was unsuccessful. The second method tested was autoclaving of the ossicle for four minutes at 134 °C after mechanical cleaning. The combination of mechanical and thermal treatment eliminated the cholesteatoma entirely in all cases, including those with severely eroded ossicles.

In the experimental part of the study we investigated the reaction of the middle ear mucosa after autoclaving the ossicles and also observed any changes to the ossicles over time since implantation. In an animal experiment (guinea pig) we implanted autoclaved middle ear ossicles with the corresponding part of the tympanic membrane fixed to the manubrium of the malleus. Exploration of the middle ear was carried out 30 days after implantation. The implantation was successful in all cases with no cases of extrusion or disintegration of the ossicles. Autoclaving the ossicles for four minutes at 134 °C impacts superficial devitalisation of the bone sufficiently enough for the squamous cell epithelium on the ossicle's surface to be eliminated. However, ossicles maintained their integrity, firmness and lamellar structure. The number of vital osteocytes decreases, but the bone is not completely devitalised. Middle ear epithelium grows over the autoclaved ossicles. No adverse reactions against the autoclaved ossicles were observed.

This study suggests that the use of autologous ossicles should not necessarily be dismissed for use in the reconstruction of cholesteatomatous ears. The surgeons should be able to remove any superficial disease, if present. The author recommends the use of mechanical cleaning only in cases of mildly eroded ossicles. In cases of severely eroded ossicles, the author recommends either: the application of a combination of both mechanical and autoclaving treatment, or for the ossicles to be disregarded for use in reconstruction.

3. Úvod

3.1 Autologní materiály využívané při rekonstrukci převodního systému

Ve středoušní chirurgii je využíván následující autologní materiál:

- I. materiál používaný při rekonstrukci bubínku
 - a) svalová fascie
 - b) tuková tkáň
 - c) perichondrium
 - d) chrupavka
- II. materiál používaný při rekonstrukci stěny zvukovodu a trepanační mastoidní dutiny
 - a) chrupavka
 - b) kostní štěp
 - c) kožní štěp
 - d) svalový lalok
 - e) tuková tkáň
- III. materiál používaný při rekonstrukci řetězu kůstek
 - a) středoušní kůstka
 - b) kostní štěp
- IV. materiál používaný k překrytí okénka labyrintu
 - a) svalová fascie
 - b) tuková tkáň
 - c) perichondrium
 - d) stěna cévy

3.1.1 Svalová fascie

Ve středoušní chirurgii je využívána nejčastěji fascie m. temporalis, která je snadno dostupná z operačního pole. Anatomicky se jedná o aponeurózu svalu. Vysušení odebraného štěpu nám umožní jednodušší manipulaci při přenosu fascie na cílové místo, dochází však k resorbci intercelulárních kolagenních vláken s následným vznikem atrofických jizev v místě implantované fascie (1).

Svalová fascie je nejčastěji používaná k rekonstrukci bubínku. Úspěšnost myringoplastiky při použití svalové fascie se pohybuje mezi 70 – 90 %, její akustické vlastnosti se blíží vlastnostem blanky bubínku (2, 3-7).

Svalová fascie je také využívána ke krytí obnažené kosti trepanační dutiny po sanačních operacích, k překrytí oválného okénka po stapedektomii či k překrytí úchyty třmínkové protézy na dlouhém výběžku kovadlinky.

3.1.2 Tuková tkáň

Tuková tkáň je využívána ve středoušní chirurgii vzácně. Malé množství tukové tkáně je možno použít k zacelení drobného defektu blanky bubínku (8-11). Větší množství tukové tkáně je potřeba na obliteraci trepanační dutiny spánkové kosti. Kompletní tympanomastoidní obliterace tukem je indikována u pacientů s chronickým středoušním zánětem s těžkou sluchovou ztrátou, neúspěšně léčených konzervativními postupy (12, 13).

3.1.3 Perichondrium

Perichondrium je vrstva tuhého kolagenního vaziva nacházejícího se na povrchu chrupavky. Na rozdíl od chrupavky je bohatě prokrvené, inervované, s lymfatickou drenáží. Zajišťuje spojení chrupavky s okolními tkáněmi. Ve středoušní chirurgii se využívá perichondrium odebrané z ušního boltce, nejčastěji z tragu a z cavum conchae.

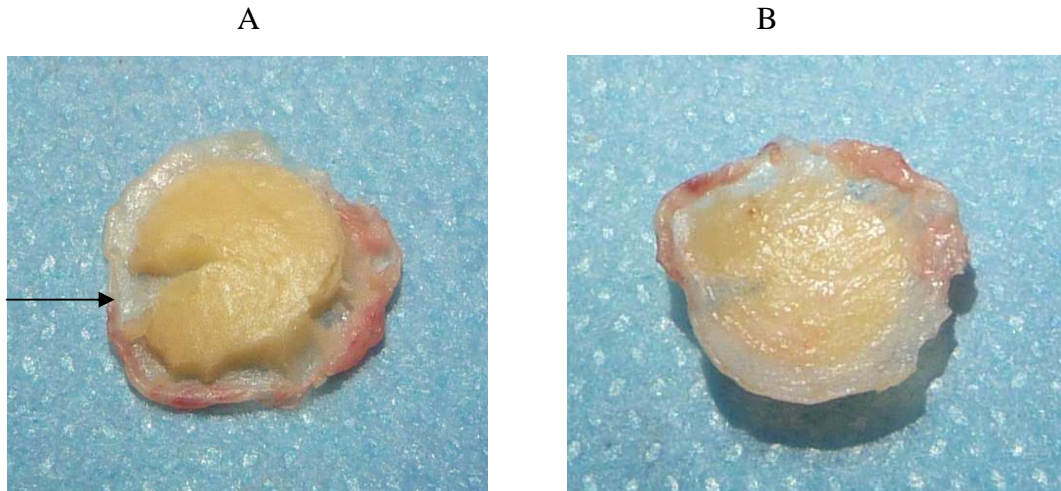
Obdobně jako fascie je i perichondrium využíváno především k myringoplastikám. Akustické vlastnosti a pooperační výsledky jsou velmi podobné svalové fascii (4, 8, 14, 15). Častěji je perichondrium používáno spolu s chrupavkou ve formě prstencových či ostrůvkových chondroperichondrálních štěpů.

3.1.4 Chrupavka

Pro účely středoušní chirurgie se využívá chrupavka elastická. Neobsahuje cévy, její výživu, růst a fixaci k okolním tkáním zajišťuje perichondrium. Chrupavčitý štěp se dnes odebírá téměř výhradně z ušního boltce, nejčastěji z tragu a z cavum conchae, méně často z crus anterior helicis či z fossa triangularis (216-23). Odebranou chrupavku je možno použít ve formě palisád či jako chondroperichondrální ostrůvkové a prstencové štěpy (Obr. 1).

Chrupavčitý štěp po replantaci mění své mechanicko – akustické vlastnosti. Chrupavka měkne a zmenší svůj objem (24-26), což je výhodné pro myringoplastiku. Pevnost chondroperichondrálního štěpu zajišťuje vyšší procento úspěšnosti myringoplastiky v porovnání s fascií. Pohybuje se v rozmezí 91 – 100 % (27-32). Zatímco 3 měsíce po operaci jsou sluchové zisky horší ve srovnání s fascií a perichondriem, s odstupem jednoho roku od operace jsou již srovnatelné, kostně-vzdušný rozdíl pod 10 dB je dosažen ve 44-87 % operovaných pacientů (3, 5, 21, 28, 29).

Biomechanické změny chrupavčitého štěpu po implantaci nejsou výhodné pro rekonstrukci řetězu kůstek. Dlouhodobé studie prokázaly nevhodnost chrupavky pro osikuloplastiky (24, 25). Chrupavka dnes zůstává materiálem užívaným především k rekonstrukci bubínku a stěny zvukovodu.



Obr. 1 Ostrůvkový chondroperichondální štěp. A - pohled na mediální část štěpu směřující do středouší, šipka ukazuje výřez v chrupavce pro manubrium kladívka, celý laterální povrch je kryt perichondriem, které přesahuje laterálně obvod chrupavčitého ostrůvku. B - Pohled na laterální část štěpu směřující do zvukovodu.

3.1.5 Kost

Kostní tkáň je používána k rekonstrukci defektu středoušních kůstek. Nejčastěji je využívána autologní středoušní kůstka, která je dostupná v operačním poli, má vhodné biomechanické vlastnosti a je dlouhodobě stabilní po transpozici či interpozici (17, 33-36). K tomuto účelu je využíváno kladívko nebo kovadlinka (obr. 8). Třmínek byl v minulosti používán k autologním stapedoplastikám (37, 38), dnes je však nahrazován aloplastickými protézami.

Méně často je interpolován kostní štěp odebraný z planum mastoideum nebo kostěné části zvukovodu. Nevýhodou těchto kostních štěpů proti středoušní kůstce je častá resorbce kosti a tím dlouhodobá nestabilita převodního systému.

3.1.6 Cévní stěna

Ve středoušní chirurgii je využívána žilní stěna, která je tenčí, má méně svalových vláken a je poddajnější než stěna tepny. Nejčastěji se odebírá venózní štěp z předloktí.

Cévní stěna je používána k zakrytí defektu oválného okénka labyrintu jako prevence perilymfatické píštěle při operaci otosklerózy. Myringoplastiky s využitím cévního štěpu mají pouze krátkodobé výsledky, tunica media cévní stěny po replantaci podléhá atrofii a během několika měsíců dochází k dehiscenci bubínku v místě štěpu (39, 40).

3.1.7 Kůže

Ve středoušní chirurgii používáme obvykle tenké epidermální štěpy, méně často meatální kožní laloky a myokutánní laloky.

Tenké kožní štěpy jsou užívány k epidermizaci mastoidní trepanační dutiny po operacích cholesteatomu otevřenou technikou. Při operacích získaných stenóz zvukovodu se tenké epidermální štěpy transplantují na zevní povrch skarifikovaného bubínku a obnažené kosti zvukovodu. Pro účely myringoplastiky byly kožní štěpy postupně nahrazeny fascií, perichondriem či chrupavkou.

Stopkaté meatální kožní laloky jsou používány k podpoře fasciálních či chrupavčitých štěpů. Jsou kladeny vždy zevně na fascii či chrupavku ke snížení rizika vzniku sekundárního cholesteatomu (41, 42).

Myokutánní laloky se využívají k obliteraci trepanační dutiny po operacích cholesteatomu otevřenou technikou (43).

3.1.8 Svalový lalok

Ve středoušní chirurgii je používán svalový lalok m. temporalis. Svalový lalok je vhodným materiálem ke zmenšení mastoidální trepanační dutiny při operaci cholesteatomu otevřenou technikou. Svalový lalok je mobilizován retroaurikulárně. Původní technika rotovaného svalového laloku se stopkou meatálně (anteriorně) publikovaná T. Palvou (44) byla následně modifikována s vytvořením stopky superiorně či inferiorně (45-47). Mimo laloky myofasciální a myoperiostální jsou používány i laloky myokutánní s orientací kůže směrem do zvukovodu (43).

3.2 Homologní materiály využívané při rekonstrukci převodního systému

Na pracovištích disponujících tkáňovou bankou byly testovány homologní středoušní kůstky a chrupavka, fasciální štěpy, dura mater, periumbilikální fascie, venózní štěpy, srdeční chlopeč, perikard a skléra (48-58). Nevýhodou těchto štěpů je jejich nižší biokompatibilita ve srovnání s autologním materiálem, vyšší náklady spojené se zpracováním materiálu a také horší dostupnost s nutností vazby na tkáňovou banku. Homologní myringoplastiky nepřinesly

lepší výsledky v porovnání s autologním materiálem. Závažným důvodem, který vedl k ústupu od homologních štěpů, bylo riziko přenosů infekčních chorob, především AIDS a prionových infekcí.

Rizika homologních štěpů byla eliminována až novými technologiemi acelulárních štěpů. Tyto materiály nejsou antigenní a nenesou riziko přenosu infekčního onemocnění. Ve středoušní chirurgii je testována acelulární lidská dermis (alloderm), acelulární sliznice, intestinální submukoza (59-61). Ani tento materiál však nepřináší vyšší operační úspěšnost při výrazně vyšší ceně materiálu. Acelulární štěpy proto nebyly zavedeny do běžné praxe.

3.3 Syntetické materiály používané při rekonstrukci převodního systému

Syntetické materiály jsou ve středoušní chirurgii využívány od padesátých let minulého století, kdy Wulstein použil protézu z vinyl-akrylátu (Palavit) k akustickému přenosu mezi bubínkem a mobilní ploténkou třmínku (62). Následovaly další materiály využívané při rekonstrukci řetězu kůstek, jak ukazuje tab. 1. Mnoho těchto materiálů bylo opuštěno pro neuspokojivé pooperační výsledky s vysokým procentem odhojení protézy. Snížení tohoto rizika umožňuje interpozice autologní tkáně (chrupavka, perichondrium, fascie) mezi protézu a bubínek. V současné době jsou pro účel středoušní chirurgie doporučeny materiály, jejichž riziko odhojení je pod 10 %.

Tab. 1 Aloplastické materiály ve středoušní chirurgii

<i>Aloplastické materiály</i>											
<i>Vinyl-acrylát</i>	<i>PTFE</i>		<i>Proplast</i>	<i>Al2O3 keramika</i>	<i>Ceravital</i>	<i>Carbon</i>					
<i>(Wullstein)</i>	<i>(Austin)</i>		<i>(Shea)</i>	<i>(Jahnke,Plester)</i>	<i>(Reck)</i>	<i>(Podoshin)</i>					
1952	1958	1962	1969	1974	1976	1979	1981	1983	1986	1988	1993
<i>Polyethylen</i>	<i>Ocel</i>		<i>Plastipore</i>	<i>Hydroxyapatit</i>	<i>Bioglass</i>	<i>Titan</i>					
<i>(Shea)</i>	<i>(Palva)</i>		<i>(Shea)</i>	<i>(Grote)</i>	<i>(Merwin)</i>						

4. Cíle dizertační práce

Autologní materiál je v kofochirurgii ve většině indikací upřednostňován před materiálem aloplastickým či homologním. Výjimečné postavení při volbě materiálu k rekonstrukci převodního systému mají pacienti s cholesteatomem. U těchto pacientů není doporučováno využití autologní středoušní kůstky v rekonstrukční fázi operace pro riziko reziduální choroby ve středoušní kůstce. Klinická a experimentální část studie řeší otázku vztahu cholesteatomu ke středoušním kůstkám a možnosti jejich ošetření k minimalizaci rizika reziduální choroby a přípravy kůstky k autologní osikuloplastice.

4.1 Hlavní cíle studie:

1. Posouzení vztahu cholesteatomu ke středoušním kůstkám.
2. Nalezení metody ošetření středoušních kůstek, která by minimalizovala riziko perzistence cholesteatomu ve středoušních kůstkách a připravila by tak kůstku pro autologní osikuloplastiku.

4.2 Dílčí cíle studie:

1. Posouzení rozdílu v destrukci kladívka a kovádky cholesteatomem.
2. Posouzení rozdílu v agresivitě juvenilního cholesteatomu a cholesteatomu dospělých ke středoušním kůstkám.
3. Posouzení změn ve středoušních kůstkách po termickém ošetření (autoklávování).

5. Klinická a experimentální studie

5.1 Klinická studie

5.1.1 Úvod

V klinické části je studován vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám. Na základě histologických nálezů cholesteatomem postižených středoušních kůstek jsou navrženy a testovány metody ošetření středoušní kůstky k eliminaci zbytků cholesteatomu.

5.1.2 Soubor pacientů, materiál a metodika

Do studie byli zařazeni pacienti splňující následující kritéria:

- chronický středoušní zánět s cholesteatomem
- klinické známky cholesteatomu na povrchu středoušních kůstek
- operace cholesteatomu na Klinice otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku FN Hradec Králové v letech 2006 až 2011.

Ve sledovaném období bylo vyšetřeno 80 středoušních kůstek získaných od 46 pacientů. Mezi operovanými pacienty převažují muži (59 %) nad ženami, věkový průměr je 37 let, median 43 let. Nejmladší pacient je pětiletý chlapec, nejstarší je 73letá žena.

Středoušní kůstky byly vyšetřeny operačním mikroskopem a byly změřeny rozměry hlavičky kladívka, těla a krátkého výběžku kovadlinky. Na základě výsledků měření byly kůstky rozděleny do dvou skupin:

- Stupeň I (lehká destrukce kůstky):
Kladívko: velikost hlavičky > 2 mm v největším rozměru.
Kovadlinka: velikost těla s krátkým výběžkem > 3 mm v největším rozměru.
- Stupeň II (těžká destrukce kůstky):
Kladívko: velikost hlavičky < 2 mm v největším rozměru.
Kovadlinka: velikost těla s krátkým výběžkem < 3 mm v největším rozměru.

Prvních 15 středoušních kůstek odstraněných při operaci cholesteatomu bylo histologicky zpracováno ke studiu hloubky invaze cholesteatomu. Středoušní kůstky byly fixovány v 10% formaldehydu a následně dekalcifikovány elektrolýzou v Sakura TDE 30 Decalcifier System. Tkáňové bloky byly standardně barveny hematoxylinem a eozinem a histologicky vyšetřeny světelným mikroskopem.

Na základě histologických nálezů byly stanoveny metody ošetření středoušních kůstek k eliminaci cholesteatomu. Pro výběr metody ošetření středoušní kůstky jsou zvolena následující kritéria:

- snadná dostupnost metody buď přímo na operačním sále, nebo v jeho blízkosti,
- nízká cena,
- rychlost ošetření umožňující jednodobou sanační i rekonstrukční část operace.

První metodou je mechanické ošetření kůstky. Měkké tkáně jsou z povrchu středoušní kůstky odstraněny studeným nástrojem (špicí). Následně je celý povrch středoušní kůstky ošetřen diamantovou frézou pod kontrolou operačního mikroskopu.

Druhou metodou je kombinace mechanického a termického ošetření. Povrch středoušní kůstky je ošetřen diamantovou frézou a následně je kůstka autoklávována po dobu 4 minut při teplotě 134 ° C.

Veškerá ošetření středoušních kůstek byla provedena jedním chirurgem.

Středoušní kůstky zbavené cholesteatomu byly decalcifikovány elektrolýzou v Sakura TDE 30 Decalcifier System a histologicky vyšetřeny světelným mikroskopem.

Studie byla schválena Etickou komisí při Fakultní nemocnici Hradec Králové.

Výsledky byly statisticky zpracovány s použitím Fisherova přesného testu (Fisher Exact Test).

5.1.3 Výsledky

Soubor středoušních kůstek tvoří 43 kladívek a 37 kovadlinek. Destrukce II. stupně byla prokázána u 24 kůstek. Byly sledovány následující závislosti:

1. Výskyt těžké destrukce u kladívka a kovadlinky:

Těžká destrukce byla častěji pozorována u kovadlinky. Kovadlinka byla těžce destruována ve 46 % případů, zatímco kladívko jen v 16 %. Tento rozdíl ve výskytu destrukce II. stupně je statisticky významný ($p=0,0065$). Těžká destrukce kladívka se zachovalou kovadlinkou pozorována nebyla. Ve všech případech destrukci kladívka II. stupně doprovázela i destrukce kovadlinky stejného stupně či úplné chybění kovadlinky.

2. Výskyt těžké destrukce kůstek u dětí a dospělých

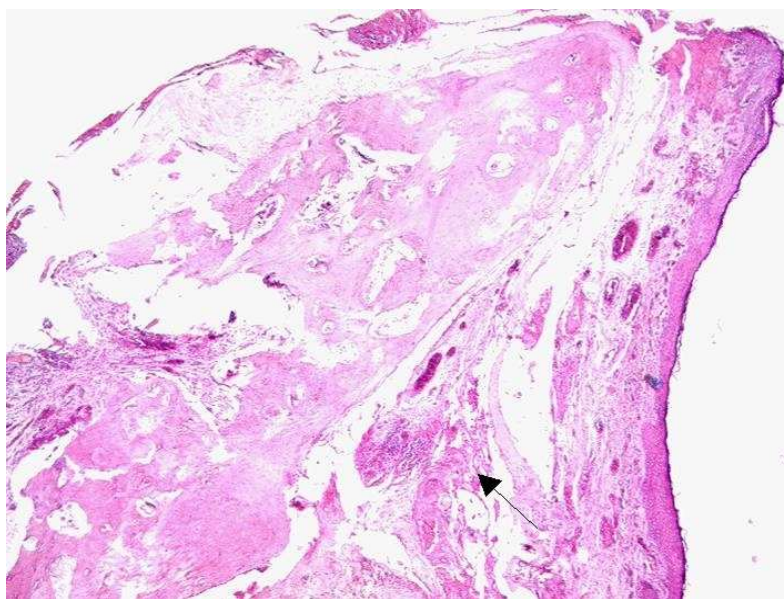
U pacientů mladších 18 let byla prokázána destrukce II. stupně ve 38 % vyšetřených kůstek, u pacientů starších 18 let ve 39 %. Rozdíl ve výskytu těžké destrukce kůstek u dětí a dospělých není statisticky významný ($p=0,303$).

3. Lymfocytární infiltrace dřevných prostor kůstky

Lymfocytární infiltrace dřevných prostor středoušních kůstek byla pozorována v pěti případech, 3krát bylo postiženo kladívko, 2krát kovadlinka. Statistické porovnání četnosti lymfocytární infiltrace kovadlinky a kladívka není uvedeno pro malý počet takto postižených kůstek.

4. Vztah cholesteatomu ke středoušní kůstce

Vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám byl studován u 15 kůstek, 7 kladívek a 8 kovádek. U šesti kůstek byla pozorována těžká destrukce II. stupně. Histologické vyšetření potvrdilo přítomnost cholesteatomu na povrchu všech 15 středoušních kůstek. Dlaždicobuněčný epitel se nachází vždy na povrchu kosti, avšak bylo prokázáno podrůstání cholesteatomu pod tenkou povrchovou kostěnou lamelu (Obr. 2). Nebyla pozorována hlubší infiltrace cholesteatomu do vaskulárních a dřevných prostor.



Obr. 2 Histologický řez tělem kovádky (dekalifikace, barvení hematoxylinem a eozinem, zvětšení 100 x). Šipka ukazuje podrůstání cholesteatomu pod tenkou kostěnou povrchovou lamelu.

Metody odstranění cholesteatomu ze středoušních kůstek byly testovány na 65 kůstkách postižených cholesteatomem.

1. Mechanické ošetření

Mechanicky bylo ošetřeno 31 středoušních kůstek, 17 kladívek a 14 kovádek. Histologickým vyšetřením takto ošetřených kůstek jsme prokázali kompletní odstranění cholesteatomu u 30 z 31 kůstek (97 %). Reziduální dlaždicobuněčný epitel byl prokázán na povrchu 1 kůstky. Jednalo se o těžce destruované kladívko.

2. Kombinace mechanického a termického ošetření

Druhou metodou je kombinace mechanického a termického ošetření. Povrch 34 středoušních kůstek, 19 kladívek a 15 kovadlinek, byl po vyfrézování diamantovou frézou termicky devitalizován autoklávováním po dobu 4 min. při teplotě 134 °C. Cholesteatom byl zcela eliminován ve všech vyšetřených kůstkách. Kůstky si zachovaly svou strukturu lamelární kosti, nebyla zaznamenána lymfocytární infiltrace dřevných prostor.

Statistickým zpracováním výskytu reziduální choroby (Tab. 3) nebyl prokázán statisticky signifikantní rozdíl mezi ošetřením mechanickým a kombinací mechanického ošetření s autoklávováním ($p=0,4769$).

Zastoupení kůstek v jednotlivých skupinách, stupeň destrukce, lymfocytární infilraci dřevných prostor a průkaz cholesteatomu po ošetření středoušních kůstek shrnuje Tab. 2.

Tab. 2 Sledované parametry v jednotlivých skupinách ošetření kůstek

Ošetření kůstek	Počet kůstek	Kladívko / kovadlinka	Destrukce I. st. / II. st.	Lymfocytární infiltrace dřevě	Cholesteatom
Žádné	15	7 / 8	9 / 6	2	15
Mechanické	31	17 / 14	24 / 7	3	1
Mechanické a termické	34	19 / 15	27 / 7	0	0

5.2 Experimentální studie

5.2.1 Úvod

V klinické části studie jsme zkoumali vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám a testovali dvě metody ošetření středoušních kůstek k eliminaci reziduálního cholesteatomu. Zatímco mechanické ošetření středoušní kůstky patří mezi standardní procesy úpravy autologního materiálu před implantací, autoklávování je metodou ve středoušní chirurgii nepoužívanou. Proto jsme se rozhodli sledovat vliv autoklávování na stabilitu středoušních kůstek a jejich integraci do středouší v experimentu na zvířeti.

5.2.2 Materiál a metodika

Pro experiment na středoušních kůstkách bylo zvoleno morče. Do projektu bylo zařazeno 18 samic váhy 380 – 420g. Dvě experimentální zvířata byla určena pro zavedení metodiky, volbu optimálního operačního přístupu, standardizaci anestezie i samotného operačního výkonu. K operačnímu výkonu s implantací autoklávovaného kladívkokovadlinkového komplexu do tympanické buly bylo určeno 16 experimentálních zvířat.

Operační výkon je proveden v celkové anestezii. Volili jsme disociativní anestezii se zachováním spontánní ventilace a reflexní činnosti operovaného zvířete. Použili jsme ketamin v dávce 0,1ml/100g váhy morčete podaný intramuskulárně v kombinaci xylazinem v dávce 0,025ml/100g váhy morčete podaným intramuskulárně.

Při zavádění metodiky na prvních 2 morčatech byla středoušní dutina otevřena ze zadního i předního přístupu. Pro experiment byl zvolen přední přístup, který je vhodnější k vizualizaci středoušních kůstek, bubínku, kochley a umožňuje manipulaci ve středouši potřebnou k odstranění a zpětné implantaci inkudomaleárního komplexu. Experimentální zvíře leží na zádech, hlava je v záklonu fixována k operační plošině, končetiny jsou fixované v extenzi, řez je veden kraniokaudálně v úrovni hmatné tympanické buly mediálně od úhlu čelisti. Měkkými tkáněmi longitudinálně mezi svaly je proniknuto na tympanickou bulu, ze které je odstraněna svalová vrstva. Bula je otevřena ručním vrtákem. Pro dostatečný přístup k bubínku a středoušním kůstkám je vytvořen otvor v dorzální stěně buly rozměru 3 x 3 mm. Tím je získán přístup do přední (bubínkové) části buly, kde je v epitympanální části uložen kladívkokovadlinkový (inkudomaleární) komplex.

Inkudomaleární komplex i s přilehlou částí bubínku byl autoklávován při teplotě 134 ° C po dobu 4 minut. Následně byl kostěný komplex implantován zpět do tympanické buly morčete. Kostěný defekt buly ani perforace bubínku nebyl kryt plastikou, kožní rána byla saturována v jedné vrstvě.

S odstupem 30 dnů (+- 2 dny) po operaci bylo experimentální zvíře usmrceno éterem a provedena explorace středoušní buly. Kostěný komplex byl fixován v 10% formaldehydu a následně dekalcifikován elektrolýzou v systému Sakura TDE 30 Decalcifier System. Tkáňové bloky byly standardně barveny hematoxylinem a eozinem a histologicky vyšetřeny světelným mikroskopem.

Studie byla schválena dle § 11 vyhlášky č. 207/2004 sb., o ochraně, chovu a využití pokusných zvířat Odbornou komisí Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové č. 19951/2009-30.

5.2.3 Výsledky

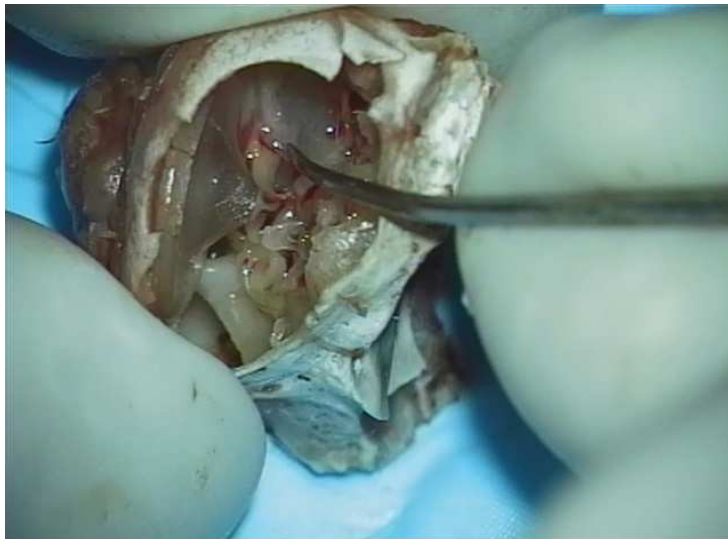
Operace všech 16 experimentálních zvířat proběhla bez komplikací. V pooperačním období se nevyskytla ranná infekce, pooperační krvácení, známky poruchy vestibulární funkce, nebyl zaznamenán ušní výtok či celkové známky infekce.

1. Reakce středoušní sliznice na autoklávované středoušní kůstky

Středouší morčete 30 dnů (± 2 dny) po implantaci autoklávované středoušní kůstky bylo bez známek hnisavého zánětu u všech experimentálních zvířat. Středoušní dutina byla vystlaná klidnou sliznicí, nebyla zaznamenána sekrece ani hypertrofie sliznice.

Inkudomaleární komplex byl přihojen u všech 16 experimentálních zvířat v místě implantace. Nebyl zaznamenán rozpad kostního štěpu či jeho zjevné odhojení.

U 12 z 16 implantovaných středoušních kůstek (75 %) bylo prokázáno přerůstání okolní středoušní sliznice na implantovanou středoušní kůstku. U 8 z 16 implantovaných kůstek došlo k pevnému srůstu kůstky k okolní kosti a k histologickému vyšetření bylo nutno inkudomaleární komplex od kostěné stěny odlomit. Pohled do otevřené tympanické buly skrz spodní stěnu ukazuje Obr. 2.



Obr. 2 Pohled do tympanické buly morčete. Hrot nástroje ukazuje na kostěné septum kryjící kladívko-kovadlinkový komplex.

2. Výskyt cholesteatomu po implantaci autoklávovaného dlaždicobuněčného epitelu bubínku

Při operačním výkonu byl implantován do středouší morčete autoklávovaný dlaždicobuněčný epitel části bubínku fixovaného k manubriu kladívka. S odstupem 30 dnů (± 2 dny) byla tympanická bula morčete systematicky vyšetřena k vyloučení známek cholesteatomu. Operačním mikroskopem byla revidována oblast implantace, následně byl odstraněn implantovaný inkudomaleární komplex a byla provedena inspekce celé tympanické buly. Znamky cholesteatomu nebyly pozorovány u žádného s vyšetřených zvířat. Inkudomaleární komplex byl pak vyšetřen histologicky k vyloučení mikroskopického zbytku vitálního dlaždicobuněčného epitelu.

3. Reparační změny bubínku a kosti tympanické buly

Při operačním výkonu byl vytvořen otvor ve spodní kostěné stěně tympanické buly o rozměru 3 x 3 mm. Za 30 dnů (± 2 dny) jsme hodnotili překrytí defektu kosti měklotkáňovou membránou či kompletní zacelení defektu novotvořenou kostí.

U 8 z 16 operovaných zvířat (50 %) byl defekt v tympanické bule překryt pouze membránou, u stejného počtu zvířat bylo prokázáno kompletní překrytí defektu novotvořenou kostí.

Při odběru inkudomaleárního komplexu byla vytvořena centrální perforace bubínku. V pooperačním období nedošlo k rozvoji akutního středoušního zánětu u žádného z operovaných zvířat. S odstupem 30 dnů (± 2 dny) od operace byla perforace zhojena u 8 z 16 operovaných zvířat (50 %) s nálezem celistvého bubínku a vzdušného středouší. U morčat s perzistující perforací bubínku bylo středouší suché, s klidnou sliznicí.

4. Histologické nálezy po implantaci středoušní kůstky

Středoušní dutina je vystlaná plochým až kubickým jednovrstevným epitelem. Neproklázali jsme řasinkový epitel ani dlaždicobuněčný epitel ve středoušní dutině vyšetřených spánkových kostí. Kladívko a kovádlíka byla u všech experimentálních zvířat srostlé sychondrozou v jeden celek (inkudomaleární komplex, Obr. 3).

Histologickým vyšetřením implantovaného autoklávovaného inkudomaleárního komplexu nebyly zjištěny změny v anorganické struktuře kosti. Kost si zachovává lamelární strukturu, jsou zachovány Haverské systémy kostní tkáně.

U všech 16 experimentálních zvířat byl autoklávováním devitalizován dlaždicobuněčný epitel na povrchu kladívka (ponechaná část bubínku fixovaného k manubriu). Histologické

vyšetření 30 dní po implantaci neprokázalo výskyt dlaždicobuněčného epitelu na povrchu středoušních kůstek. Na povrch kůstek přerůstá plochý až kubický epitel středoušní sliznice.

Autoklávováním dochází ke zjevnému úbytku vitálních osteocytů a vyprázdnění části dřevných prostor. Nedochozí však k úplné devitalizaci kosti. Část osteocytů zůstává vitálních, v jejím okolí jsou zachovány cévy. Byl zaznamenán i proces osteoneogeneze. Vitální osteocyty zaujímající více než 5 % kostní hmoty byly prokázány v 7 z 16 vyšetřených kůstek (44 %). Ve 3 případech byla prokázána na periferii kůstky novotvorba nezralé pletivové kosti. U všech 16 kůstek byly přítomny vitální chondrocyty v místě inkudomaleární sychondrózy (Obr. 3).

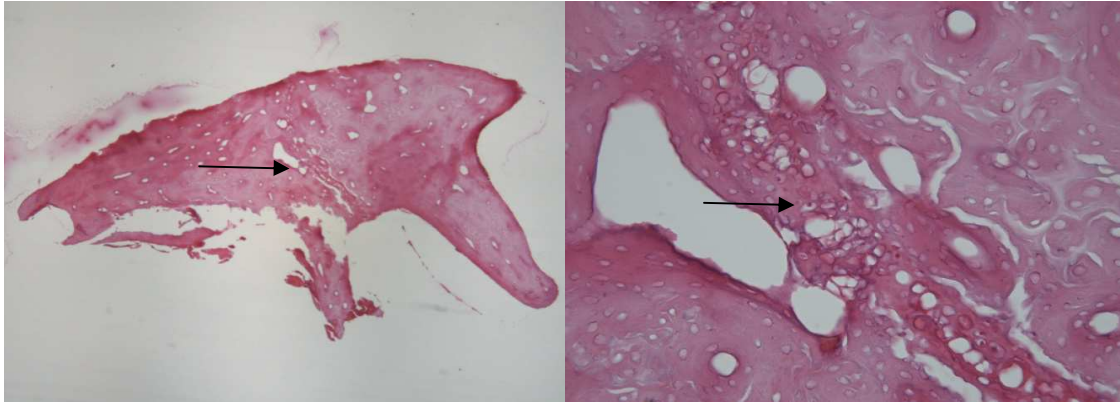
Dřevné prostory kladívka a kovádky jsou protáhlé, oválné, ve většině případů prázdné, bez hemopoetické tkáně. U 4 z 16 vyšetřených kostních komplexů (25 %) byly prokázány fibroblasty a kapiláry, nebyla však prokázána hemopoetická tkáň.

Cévní prostory kůstek jsou drobné, protáhlé či okrouhlé. U všech vyšetřených vzorků byly přítomny v cévních prostorech erytrocyty.

Histologické nálezy autoklávovaných středoušních kůstek 30 dnů po implantaci do středouší shrnuje Tab. 3.

Tab.: 3 Výskyt histologických nálezů u autoklávovaných inkudomaleárních komplexů 30 dnů po implantaci do středouší morčete

<i>Parametr</i>	<i>Počet inkudomaleárních komplexů</i>	<i>Relativní četnost výskytu (jednotky %)</i>
<i>Vitální osteocyty > 5 %</i>	7	44
<i>Vitální chondrocyty</i>	16	100
<i>Osteoneogeneze</i>	3	19
<i>Dlaždicobuněčný epitel</i>	0	0
<i>Dřevné prostory s kapilárami</i>	4	25
<i>Erytrocyty v cévních prostorech</i>	16	100
<i>Celkem</i>	16	100



Obr. 3 Histologický řez kladívko-kovadlinkovým komplexem (dekalifikace, barvení hematoxylinem a eozinem, zvětšení 200 x a 400x). Šipka ukazuje inkudomaleární synchondrózu s vitálními chondrocyty.

Statistické zpracování závislosti výskytu reparativních a adhezivních změn ve středouší

1. závislost mezi zacelením bubínku a zacelením otvoru v tympanické bule novotvořenou kostí: nebyla prokázána statisticky signifikantní závislost ($p=0,132$).
2. závislost mezi zacelením perforace bubínku a pevnou fixací inkudomaleárního komplexu ke stěně tympanické buly: nebyla prokázána statisticky signifikantní závislost ($p=0,132$).
3. závislost mezi perzistující perforací bubínku a výskytem srůstů ve středoušní dutině: nebyla prokázána statisticky signifikantní závislost ($p=1,0$).

6. Diskuze

6.1 Klinická studie

Autologní středoušní kůstky jsou využívány k rekonstrukci převodního systému pro jejich biokompatibilitu, snadnou dostupnost, dlouhodobou stabilitu a nízkou cenu v porovnání s aloplastickým materiálem. Po implantaci si kůstky zachovávají svůj tvar, velikost a strukturální integritu po dlouhou dobu po replantaci do středouší. Studie prokázali stabilitu tohoto materiálu i po době delší než 25 let (63-65). Vitalita kůstky není podmínkou dlouhodobé funkční stability. Nevitální středoušní kůstky si zachovávají svou morfológickou strukturu a přenos zvukové energie je stejný jako u kůstek vitálních (63-65).

U pacientů s cholesteatomem je však nutno brát v úvahu riziko reziduální choroby ve středoušních kůstkách. Postižení středoušních kůstek u pacientů s cholesteatomem je popsáno

v mnoha histologických studiích (66-74). U pacientů s cholesteatomem je proto dávana přednost aloplastickým protézám před autologní středoušní kůstkou.

6.1.1 Vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám

V první skupině vyšetřovaných kůstek jsme se zaměřili na vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám. Ve shodě s literaturou (66-73) jsme nenalezli případ hlubší invaze cholesteatomu. Cholesteatom aroduje středoušní kůstku od povrchu, avšak dochází také k podrůstání cholesteatomu pod tenkou povrchovou kostní lamelu. Po mechanickém ošetření povrchu takovéto kůstky pouze studenými nástroji bez použití frézy by velmi pravděpodobně zůstalo residuum cholesteatomu právě pod povrchovou kostní lamelou. Proto jsme při volbě mechanického ošetření kůstky vždy frézovali celý povrch kůstky pod kontrolou mikroskopu.

Destrukci kovadlinky a kladívka cholesteatomem jsme rozdělili do dvou stupňů dle velikosti residua kůstky. U těžkého stupně destrukce (stupeň II) je velikost hlavičky kladívka redukována pod 2 mm a velikost těla kovadlinky s krátkým výběžkem pod 3 mm v největším rozměru. Vzhledem k nutnosti další úpravy povrchu a tvaru kůstky se takto destruované kůstky již obvykle nehodí k rekonstrukci řetězu kůstek.

Ve studii jsme porovnávali výskyt destrukce I. a II. stupně u kladívka a kovadlinky. Těžká destrukce (II. stupeň) byla statisticky významně častější u kovadlinky. Těžká destrukce kladívka byla vždy doprovázena destrukcí kovadlinky stejného stupně či jejím úplným chyběním. Tyto nálezy mohou být vysvětleny menší odolností kovadlinky vůči cholesteatomu nebo lokalizací cholesteatomu.

Histologické nálezy neprokázaly významnější rozdíly ve stavbě kosti kovadlinky a kladívka. U kovadlinky mohou perzistovat větší dřevňové prostory, avšak ty by neměly mít vliv na arozi povrchu těla kovadlinky. Větší dřevňové prostory však mohou perzistovat i v oblasti dlouhého výběžku kovadlinky. U tohoto tenkého a dlouhého výběžku je odděluje od povrchu kosti poměrně tenká lamela kosti, což může být příčinou časté destrukce dlouhého výběžku u chronického středoušního zánětu.

Vyšší výskyt těžké destrukce těla kovadlinky ve srovnání s hlavičkou kladívka může být způsoben lokalizací cholesteatomu. Růst cholesteatomu sleduje fyziologické prostory ventilace atiku. Šíří se posteriorně do aditus ad antrum kolem krátkého výběžku kovadlinky, do antra laterálně, mediálně a superiorně od kladívka a kovadlinky. Predilekční šíření cholesteatomu směrem posteriorním na oblast těla a krátkého výběžku kovadlinky může vysvětlit častější destrukci kovadlinky ve srovnání s hlavičkou kladívka.

Stále kontroverzní zůstává otázka, zda se cholesteatom dětského věku chová odlišně

od cholesteatomu u dospělých. Mnoho prací dokládá častější recidivy cholesteatomu v dětském věku ve srovnání s dospělými (75-80). Důvod častějších recidiv není zcela jasný. Jedním z důvodů může být rozsah pneumatizace spánkové kosti. U dospělých dlouhotrvající chronický středoušní zánět vede ke sklerotickým změnám mastoidního výběžku s výrazným snížením pneumatizace spánkové kosti. U dětí se často šíří cholesteatom do bohatě vyvinuté pneumatizace s obtížnější eradikací choroby z periferních mastoidních sklípků (78). Některé práce podporují teorii vyšší lokální agresivity dětského cholesteatomu (79, 80). Zvýšená hladina růstových faktorů v dětském věku může stimulovat cholesteatom k vyšší proliferaci aktivitě. U dětského cholesteatomu byla prokázána zvýšená hladina protilátek MIB 1 proti nukleárnímu antigenu Ki-67, který je exprimován v aktivní části buněčného cyklu (79). Také byla popsána silnější vrstva epiteliální matrix ve srovnání s cholesteatomem dospělých pacientů (80). V naší studii jsme srovnávali četnost výskytu těžkého stupně destrukce u dětí do 18 let věku a dospělých. Nebylo prokázáno agresivnější chování cholesteatomu dětského věku ke středoušním kůstkám. Rozdíl ve výskytu těžké destrukce kůstek u dětí a dospělých není statisticky významný.

6.1.2 Metody ošetření středoušních kůstek

V literatuře jsou publikovány 3 způsoby ošetření středoušních kůstek postižených cholesteatomem (66-68, 70, 81).

První metodou je pouhé snesení měkkých tkání z povrchu kůstky studenými nástroji. Tento způsob ošetření středoušních kůstek přináší riziko persistence cholesteatomu na povrchu kůstky až v 64 % případů (66, 70). Naše histologické nálezy prokázali podrůstání cholesteatomu pod povrchovou kostní lamelu, což může vysvětlovat ponechání rezidua cholesteatomu, pokud není povrch kůstky vyfrézován. Tento způsob ošetření jsme z naší studie vyloučili.

Druhou metodou je mechanické snesení měkkých tkání s následným frézováním celého povrchu kůstky diamantovou frézou pod kontrolou mikroskopu. Tímto postupem je možno významně zredukovat riziko reziduální choroby (67, 70), nicméně rizikové zůstávají těžce destruované kůstky (66, 70, 81), které jsou obtížně frézou ošetřitelné. V naší studii jsme touto metodou úspěšně zbavili cholesteatomu 97 % středoušních kůstek. Reziduum cholesteatomu bylo prokázáno pouze v případě těžce destruované kůstky.

Třetím postupem ošetření středoušních kůstek je autoklávování. Autoklávování je možno využít k extrakorporální devitalizaci kosti a následné reimplantaci. Zatímco k hluboké devitalizaci dlouhých kostí je doporučováno autoklávování po dobu 15 min. při teplotě

134 °C, k povrchové devitalizaci je doporučována kratší doba nebo nižší teplota autoklávování (82-85). Nejčastěji jsou k povrchové devitalizaci tkání užívány následující protokoly:

- teplota 115 ° C po dobu 30 minut
- teplota 121 ° C po dobu 15 minut
- teplota 134 ° C po dobu 4 minuty.

Tyto standardní protokoly zajišťují stejnou účinnost devitalizace, liší se však vlivem na fyzikální vlastnosti kosti. Vliv autoklávování na fyzikální vlastnosti kostní tkáně byl studován v několika studiích (82-84). Tyto studie prokazují negativní vliv délky autoklávování na fyzikální vlastnosti kosti, zatímco vzestup teploty při procesu autoklávování má vliv jen minimální. Proto je doporučeno při přípravě kosti k následné reimplantaci užití vyšší teploty a kratšího času.

V naší studii jsme zvolili protokol autoklávování 4 minuty při teplotě 134 ° C. Protokol má zajistit dostatečnou povrchovou devitalizaci kosti s minimálním vlivem na její fyzikální vlastnosti. Zvolený protokol díky krátkému času umožňuje ošetření středoušních kůstek u jednodobého sanačně rekonstrukčního výkonu bez významnějšího prodloužení doby operace.

Kombinací mechanického ošetření a autoklávování středoušní kůstky jsme ve všech případech zcela eliminovali cholesteatom z povrchu středoušní kůstky. Touto metodou jsme eliminovali cholesteatom u z těžce destruovaných kůstek.

Klinická část studie však nemůže posoudit reakci středoušní sliznice na autoklávované středoušní kůstky a změny ve středoušních kůstkách s časovým odstupem po implantaci do středouší. Tyto otázky měla zodpovědět experimentální část studie, ve které jsme implantovali autoklávované kůstky do středoušní dutiny experimentálního zvířete.

6.2 Experimentální studie

V experimentální části studie jsme sledovali účinky autoklávování na inkudomaleární komplex a reakci středoušní sliznice 30 dnů po jeho implantaci. Dobu 30 dnů považujeme za dostatečnou k implantaci dlaždicobuněčného epitelu s ev. vývojem cholesteatomu. Wolfman a Chale prokázali v experimentu na hlodavci (pískomil mongolský) vývoj cholesteatomu do 4 týdnů po obstrukci sluchové trubice u 50 % experimentálních zvířat (86).

Autoklávování po dobu 4 minut při teplotě 134 ° C devitalizuje povrch kůstky, ale nedochází ke kompletní devitalizaci celé kosti. Ve všech 16 případech jsme zaznamenali vitální chondrocyty v oblasti inkudomaleární sychondrózy. Dochází k úbytku osteocytů, ale

nedochází ke kompletní devitalizaci kůstky. Vitální osteocyty zaujímající více než 5 % kostní hmoty byly prokázány u 44 % vyšetřených kůstek. Po 30 dnech po implantaci již byly pozorovány známky osteoneogeneze. Tento nálezn nabízí otázku, zda v případě vitálních osteocytů ve středoušních kůstkách se nejedná o osteoneogenezi z okolní kostní tkáně vrůstající do středoušní kůstky. Tuto možnost považujeme za nepravděpodobnou vzhledem k histologickým nálezům vitálních osteocytů uvnitř kůstky. Nález vitálních chondrocytů potvrzuje, že se nejedná o vrůstání okolních struktur, ale o zachování částečné vitality kůstky.

Pro účel rekonstrukce řetězu kůstek je důležité především zachování pevnosti kosti, jejího tvaru a integrace do středouší bez nežádoucí reakce měkkých tkání proti štěpu.

Autoklávovaná středoušní kůstka tyto předpoklady splňuje. Při exploraci středouší byl implantovaný kostní štěp vždy fixován v místě implantace, bez známek nežádoucí reakce měkkých tkání proti štěpu. Na povrch středoušní kůstky přerůstá epitel středoušní dutiny. To je znakem integrace středoušní kůstky do středouší. V literatuře byly obdobné nálezy popsány u neautoklávovaných lidských středoušních kůstek interponovaných při osikuloplastikách (63). Interponované kůstky vykazovaly dlouhodobou stabilitu přenosu zvukové energie. Všechny vyšetřené středoušní kůstky si zachovávají svoji strukturu lamelární kosti. Nebyl zaznamenán rozpad kosti či známky odhojení štěpu.

Důležitými faktory ovlivňujícími funkčnost štěpu a riziko jeho resorpce je rozvoj chronického středoušního zánětu a vzdušnost středouší po operaci. Těmto faktorům je přikládán větší význam než viabilitě středoušní kůstky. U kostěných štěpů obsahujících méně než 5 % viabilní tkáně byl prokázán obdobný přenos zvukové energie jako u kůstek viabilních se zachováním své integrity i po 25 letech po operaci (63).

Při odběru středoušní kůstky jsme vytvořili centrální perforaci bubínku. Přestože nebyla podávána experimentálním zvířatům antibiotika, nebyl zaznamenán v pooperačním období hnisavý středoušní zánět. K zacelení perforace bubínku došlo v 50 % případů. Sledovali jsme závislost reparativního procesu bubínku a kostní osteoneogeneze. Statistickým zpracováním dat jsme neprokázali závislost hojení kostěného defektu tympanické buly a perforace bubínku. Rovněž nebyla prokázána závislost mezi zacelením bubínku a pevnou fixací implantovaného inkudomaleárního komplexu ke stěně buly.

7. Závěr

7.1 Naplnění hlavních cílů studií:

7.1.1 Posouzení vztahu cholesteatomu ke středoušním kůstkám

Při studiu vztahu cholesteatomu ke středoušním kůstkám jsme prokázali, že cholesteatom se šíří po povrchu středoušní kůstky, způsobuje povrchovou osteolýzu, dochází však také k podrůstání čepů cholesteatomu pod tenkou povrchovou kostní lamelu. Nebyla prokázána hlubší invaze cholesteatomu do vaskulárních či dřevných prostor. Pouhé mechanické ošetření povrchu středoušní kůstky studenými nástroji bez použití frézy proto považujeme za nedostatečné, neeliminuje riziko perzistence rezidua cholesteatomu pod povrchovou kostní lamelou.

7.1.2 Nalezení metody ošetření středoušních kůstek, která by minimalizovala riziko perzistence cholesteatomu ve středoušních kůstkách a připravila by tak kůstku pro autologní osikuloplastiku

Na základě histologických nálezů cholesteatomu na povrchu středoušních kůstek jsme zvolili dvě metody k eliminaci cholesteatomu. Obě tyto metody splňují kritéria snadné dostupnosti, rychlosti ošetření umožňující jednodobou sanačně-rekonstrukční operaci a také kritérium nízké ceny ošetření.

První metodou je mechanické odstranění cholesteatomu s vyfrézováním povrchu kůstky diamantovou frézou pod kontrolou operačního mikroskopu. Tato metoda je účinná především u méně destruovaných kůstek, u kterých jsme tímto ošetřením vždy cholesteatom kompletně odstranili. U středoušních kůstek s těžkou destrukcí tato metoda v jednom případě selhala. Proto u těžce destruovaných kůstek pouhé mechanické ošetření považujeme za nedostatečné.

Druhou testovanou metodou je kombinace mechanického ošetření středoušní kůstky s vyfrézováním jejího povrchu a následné termické ošetření autoklávováním po dobu 4 minut při teplotě 134°C. Touto druhou metodou jsme uspěli ve všech případech. Nebyly nalezeny žádné známky perzistence cholesteatomu v ošetřených kůstkách. Metoda se jeví jako spolehlivá i u těžce destruovaných středoušních kůstek.

7.2 Naplnění dílčích cílů studií:

7.2.1 Posouzení rozdílu v destrukci kladívka a kovadlinky cholesteatomem

Byl prokázán statisticky významný rozdíl v postižení kladívka a kovadlinky cholesteatomem. Cholesteatom častěji aroduje kovadlinku. Těžká destrukce těla kovadlinky je statisticky signifikantně častější než těžká destrukce hlavičky kladívka. Destrukce kladívka II. stupně byla doprovázená vždy destrukcí kovadlinky stejného stupně či úplným chyběním kovadlinky.

7.2.2 Posouzení rozdílu v agresivitě juvenilního cholesteatomu a cholesteatomu dospělých ke středoušním kůstkám

Nebyl prokázán rozdíl v tíži postižení středoušních kůstek u juvenilního cholesteatomu v porovnání s cholesteatomem dospělých.

7.2.3 Posouzení změn ve středoušních kůstkách po termickém ošetření (autoklávování)

Změny autoklávovaných středoušních kůstek a reakce středoušní sliznice na jejich implantaci byly studovány v experimentu na zvířeti (morčeti). Pooperační nálezy prokázaly, že autoklávováním při teplotě 134°C po dobu 4 minut dochází k povrchové devitalizaci, dostatečné k eliminaci dlaždicobuněčného epitelu na povrchu středoušní kůstky. Autoklávováním nedochází ke změnám ve struktuře kosti. Kůstky si zachovávají svoji integritu, pevnost a lamelární strukturu. Dochází ke snížení počtu vitálních osteocytů, ale nedochází k úplné devitalizaci kosti. Po 30 dnech od implantace již byly pozorovány známky osteoneogeneze. Autoklávované kůstky se integrují do středouší, povrch kůstky přerůstá středoušním epitelem, nebyly zaznamenány nežádoucí reakce měkkých tkání proti štěpu. Nebyl zaznamenán případ rozpadu či odhojení středoušní kůstky ze středouší. U všech experimentálních zvířat byla implantace středoušní kůstky úspěšná bez známek odhojení či rozpadu autoklávované středoušní kůstky.

8. Literatura

1. **Hildmann, H., Sudhoff, H.:** Middle Ear Surgery, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006, s. 88-90.
2. **Goldenberg, R.A., Emmet, J.R.:** Current Use of Implants in Middle Ear Surgery. *Otol Neurotol.*, 22, 2001, s. 145–152.
3. **Ozbek, C., Ciftci, O., Tuna, E., Yazkan, O., Ozdem, C.:** A comparison of cartilage palisades and fascia in type I tympanoplasty in children: anatomic and functional results. *Otol Neurotol.*, 29, 2008, s. 679–683.
4. **Buckingham, R.A.:** Fascia and perichondrium atrophy in tympanoplasty and recurrent middle ear atelectasis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 101, 1992, s. 755–758.
5. **Milewski, C.:** Composite graft tympanoplasty in the treatment of ears with advanced middle ear pathology. *Laryngoscope*, 203, 1993, s. 1352–1356.
6. **Zhang, Z.G., Huang, Q.H., Zheng, Y.Q., Sun, W., Chen, Y.B., Si, Y.:** Three Autologous Substitutes for Myringoplasty: A Comparative Study. *Otol Neurotol.*, 32, 2011, s. 1234-1238 .
7. **Albirmawy, O.A.:** Comparison between cartilage–perichondrium composite ‘ring’ graft and temporalis fascia in type one tympanoplasty in children. *J Laryngol Otol.*, 124, 2010, s. 967–974.
8. **Dursun, E., Dogru, S., Gungor, A.:** Comparison of paper-patch, fat, and perichondrium myringoplasty in repair of small tympanic membrane perforations. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 138, 2008, s. 353–356.
9. **Fiorino, F., Barbieri, F.:** Fat graft myringoplasty after unsuccessful tympanic membrane repair. *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngol.*, 264, 2007, s. 1125–1128.
10. **Landsberg, R., Fishman, G., DeRowe, A.:** Fat graft myringoplasty: results of a long-term follow-up. *J. Otolaryngol.*, 35, 2006, s. 44–47.
11. **Ozgursoy, O.B., Yorulmaz, I.:** Fat graft myringoplasty: a cost-effective but underused procedure. *J. Laryngol. Otol*, 119, 2005, s. 277–279.
12. **Kos, M.I., Chavaillez, O., Guyot, J.P.:** Obliteration of the tympanomastoid cavity: long term results of the Rambo operation. *Kos MI, Chavaillez O, Guyot JP. J Laryngol Otol.*, 120, 2006, s. 1014-1018.
13. **Bartels, L.J., Sheehy, J.L.:** Total obliteration of the mastoid, middle ear, and external auditory canal. A review of 27 cases. *Laryngoscope*, 91, 1981s. 1100-1108.
14. **Goodhill, V.:** Tragal perichondrium and cartilage in tympanoplasty. *Arch Otolaryngol.*, 85, 1967, s. 480-491.
15. **Williamson, P.A., Thomasm D.M., Beasley, P.:** Posterior tragal perichondrium harvesting for myringoplasty. *Clin. Otolaryngol. Allied Sci.*, 24, 1999, s. 252–254.
16. **Salen, B.:** Myringoplasty using septum cartilage. *Acta Otolaryngol.*, suppl.188, 1963, s. 82–91.
17. **Heermann, J.:** Autograft tragal and conchal palisade cartilage and perichondrium in tympanomastoid reconstruction. *Ear Nose Throat J*, 71, 1992, s. 344–349.
18. **Atef, A., Talaat, N., Moseleh, M., Safwat, S.:** Effect of the thickness of the cartilage disk on the hearing results after perichondrium/cartilage island flap tympanoplasty. *ORL*, 69, 2007, s. 207–211.
19. **Page, C., Charlet, L., Strunski, V.:** Cartilage tympanoplasty: postoperative functional results. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 265, 2008, s. 1196–1198.
20. **Gamra, O.B., Mbarek, C., Khammassi, K., Methlouthi, N., Quini, H., Hariga, I.:** Cartilage graft in type I tympanoplasty: audiological and otological outcome. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 265, 2008, s. 739–742.
21. **Dornhoffer, J.:** Cartilage tympanoplasty. *Otolaryngol Clin North Am*, 39, 2006, s. 1161–1176.
22. **Dornhoffer, J.:** Cartilage tympanoplasty: indications, technique, and outcomes in a 1,000-patient series. *Laryngoscope*, 112, 2003, s. 1944–1956.
23. **Amedee, R.G., Mann, W.J., Riechelman, H.:** Cartilage palisade tympanoplasty. *Am J Otol*, 10, 1989, s. 447–450.

24. **Smyth, G.D.L., Kerr, A.G., Hassard, T.H.:** Homograft materials in tympanoplasty. *Otolaryngol Clin North Am*, 10, 1977, s. 563–580.
25. **Yung, M.:** Cartilage tympanoplasty: literature review. *J Laryngol Otol.*, 122, 2008, s. 663–672.
26. **Klačanský, J.:** Cartilage myringoplasty. *Laryngoscope*, 119, 2009, s. 2175–2177.
27. **Dornhoffer, J.:** Hearing results with cartilage tympanoplasty. *Laryngoscope*, 107, 1997, s. 1094–1099.
28. **Gerber, M.J., Mason, J.C., Lambert, R.R.:** Hearing results after primary cartilage tympanoplasty. *Laryngoscope*, 110, 2000, s. 1994–1999.
29. **Duckert, L.G., Müller, J., Mkielski, K.H., Helms, J.:** Composite autograft 'shield' reconstruction of remnant tympanic membranes. *Am J Otol*, 16, 1995, s. 21–26.
30. **Adkins, W.Y.:** Composite autograft of tympanoplasty and tympanomastoid surgery. *Laryngoscope*, 100, 1990, s. 244–247.
31. **Uzun, C., Caye-Thomasen, P., Anderson, J., Tos, M.:** A tympanometric comparison of tympanoplasty with cartilage palisades or fascia after surgery for tensa cholesteatoma in children. *Laryngoscope*, 113, 2003, s. 1751–1757.
32. **Anderson, J., Caye-Thomasen, P., Tos, M.:** A comparison of cartilage palisades and fascia in tympanoplasty after surgery for sinus or tensa retraction cholesteatoma in children. *Otol Neurotol.*, 25, 2004, s. 856–63.
33. **House, W.F., Patterson, M.E., Linthicum, F.H.:** Incus homografts in chronic ear surgery. *Arch Otolaryngol.*, 84, 1966, s. 148–153.
34. **Armstrong, B.W.:** Experiences with the ossicular chain. *Ann Otol*, 78, 1969, s. 939–950.
35. **Wehrs, R.E.:** Hearing results in tympanoplasty. *Laryngoscope*, 95, 1985, s. 1301–1306.
36. **Schuring, A.G., Lippy, W.H.:** Semibiologic middle ear prostheses: ossicular cup and ossicles columnella. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 90, 1982, s. 628–633.
37. **Sheehy, J.L.:** Ossicular problems in tympanoplasty. *Arch Otolaryngol.*, 81, 1965, s. 115–122.
38. **Guilford, F.:** Repositioning of the incus. *Laryngoscope*, 75, 1965, s. 236–242.
39. **Valenzuela, C.:** Myringoplasty. Experience with vein graft technics. *Int. Surg.*, 47, 1967, s. 87–96.
40. **Ritzer, F.M.:** Overlay Versus Underlay Tympanoplasty. Part I: Historical Review of the Literature. *Laryngoscope*, 107, 1997, s. 1–25.
41. **Raghavan, U., Malki, D.S., Mahmoud, N.A.:** Myringoplasty: update on onlay pedicle skin flap and temporalis fascia sandwich graft. *J Laryngol Otol.*, 114, 2000, s. 174–177.
42. **Hybášek, I.:** Některá pozorování pozdních degenerativních změn kožních štěpů ve středouší. *Čs. Otolaryngol.*, 17, 1968, s. 185–187.
43. **Farrrior, J.B.:** Postauricular myocutaneous flap in otologic surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 118, 1998, s. 743–736.
44. **Palva, T., Mäkinen, J.:** The meatally based musculoperiosteal flap in cavity obliteration. *Arch Otolaryngol.*, 105, 1979, s. 377–380.
45. **Singh, V., Atlas, M.:** Obliteration of the persistently discharging mastoid cavity using the middle temporal artery flap. *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 137, 2007, s. 433–438.
46. **Kim, C.W., Oh, J.I., Choi, K.Y., Park, S.M., Park, M.I.:** A technique for concurrent procedure of mastoid obliteration and meatoplasty after canal wall down mastoidectomy. *Auris Nasus Larynx*. 2012 Feb 7, /Epub akad of print/.
47. **Birzgalis, A.R., Farrington, W.T., O'Keefe, L.:** Reconstruction of discharging mastoid cavities using the temporalis myofascial flap. *Clin Otolaryngol Allied Sci.*, 19, 1994, s. 70–72.
48. **Smyth, G.D.L., Kerr, A.G., Hassard, T.H.:** Homograft materials in tympanoplasty. *Otolaryngol Clin North Am*, 10, 1977, s. 563–580.
49. **Lesinski, S.G.:** Availability of homograft otologic tissue. *Otolaryngol Clin North Am*, 10, 1977, s. 613–616.
50. **Alford, B.R., McFarlane, J.R., Neely, J.G.:** Homograft replacement of the tympanic membrane. *Laryngoscope*, 86, 1976, s. 199–208.
51. **Sarac, S., Gürsel, B.:** Use of homograft dehydrated temporal fascia in tympanoplasty. *Otol Neurotol.*, 23, 2002, s. 416–421.

52. **Supiyaphun, P., Sawetratanastien, S., Kerekanjanarong, V., Hirunwiwatkul, P.:** Homograft myringoplasty-controlled button technique: a preliminary report. *J Med Assoc Thai*, 79, 1996, s. 161-165.
53. **Hordijk, G.J., Rietema, S.J.:** Tympanic membrane grafting with fascia, pericardium and vein. *J Laryngol Otol.*, 96, 1982, s. 43-47.
54. **Yetiser, S., Tosun, F., Satar, B.:** Revision myringoplasty with solvent-dehydrated human dura mater (Tutoplast). *Otolaryngolo.Head Neck Surg.*, 124, 2001, s. 518-521.
55. **Ajulo, S.O., Myatt, H.M., Alusi, G.:** Peri-umbilical superficial fascial graft myringoplasty – a simple alternative. *Clin. Otolaryngol. Allied Sci.*, 18, 1993, s. 433-435.
56. **Mitchell, J.F.:** Myringoplasty by homogenous vein graft. *J Laryngol Otol.*, 81, 1967, s. 339-346.
57. **Cornish, C.B., Scott, P.J.:** Freeze dried heart valves as tympanic grafts. *Arch Otolaryngol.*, 88, 1968, s. 350-356.
58. **Thawley, S.E.:** Use of sclera in tympanic membrane reconstruction. *South Med J.*, 75, 1982, s. 396-398.
59. **Vos, J.D., Latev, M.D., Labadie, R.F.:** Use of AlloDerm in type I tympanoplasty: a comparison with native tissue grafts. *Laryngoscope*, 115, 2005, s. 1599-1602.
60. **Fishman, A.J., Marrinan, M.S., Huang, T.C., Kanowitz, S.J.:** Total tympanic membráně reconstruction: AlloDerm versus temporalis fascia. *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 132, 2005, s. 906-915.
61. **Fayad, J.N., Baino, T., Parisier, S.C.:** Preliminary results with the use of AlloDerm in chronic otitis media. *Laryngoscope*, 113, 2003, s. 1228-1230.
62. **Wullstein, H.L.:** Operationen am Mittelohr mit Hilfe des freien Spaltlappen-Transplantates. *Arch Otorhinolaryngol.*, 161, 1952, s. 422-435.
63. **Bahmad, F., Merchant, S.N.:** Histopathology of ossicular grafts and implants in chronic otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol.*, 116, 2007, s. 181-191.
64. **Mills, R.P., Cree, I.A.:** Histological fate of cortical bone autografts in middle ears. *Clin Otolaryngol Allied Sci.*, 20, 1995, s. 365-367.
65. **Merchant, S.N., Nadol, J.B. Jr.:** Histopathology of ossicular implants. *Otolaryngol Clin Nrth Am.*, 27, 1994, s. 813-833.
66. **Dornhoffer, J.L., Colvin, G.B., North, P.:** Evidence of residual disease in ossicles of patients undergoing cholesteatoma removal. *Acta Otolaryngol.*, 119, 1999, s. 89-92.
67. **El Seifi, A., Fouad, B.:** Autograft ossiculoplasty in cholesteatoma. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.*, 54, 1992, s. 324-327.
68. **Miman, M.C., Aydin, N.E., Oncel, S., Ozturan, O., Erdem, T.:** Autoclaving the ossicles provides safe autografts in cholesteatoma. *Auris Nasus Larynx*, 29, 2002, s. 133-139.
69. **Navratil, J., Kotrle, M.:** Morphological changes of the auditory ossicles in chronic otitis. *Čs. Otolaryng.*, 13, 1964, s. 305-308.
70. **Ng, S.K., Yip, W.W., Suen, M., Abdullah, V.J., van Hasselt, C.A.:** Autograft ossiculoplasty in cholesteatoma surgery: is it feasible? *Laryngoscope*, 113, 2003, s. 843-847.
71. **Quaranta, A., Bartoli, R., Lozupone, E., Resta, L., Iurato, S.:** Cholesteatoma in children: histopathologic findings in middle ear ossicles. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.*, 57, 1995, s. 296-298.
72. **Rupa, V., Krishnaswami, H., Job, A.:** Autograft ossicle selection in cholesteatomatous ear disease: histopathological considerations. *J Laryngol Otol.*, 111, 1997, s. 807-809.
73. **Sadé, J.:** Epithelial invasion of intraossicular spaces. *J Laryngol Otol.*, 86, 1972, s. 15-21.
74. **Školoudík, L., Vokurka, J., Šimáková, E.:** Mechanical treatment and autoclaving of middle ear ossicles from cholesteatomatous ears. *Cent. Eur. J. Med.*, 7, 2012, s. 194-197.
75. **Glasscock, M.E., Dickins, J.R., Wiet, R.:** Cholesteatoma in children. *Laryngoscope*, 91, 1981, s. 1743-1753.
76. **Sanna, M., Zini, C., Gamoletti, R.:** The surgical management of childhood cholesteatoma. *J Laryngol Otol.*, 101, 1987, s. 1221-1226.

77. **De Corso, E., Marchese, M.R., Scarano, E., Paludetti, G.:** Aural acquired cholesteatoma in children: surgical findings, recurrence and functional results. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.*, 70, 2006, s. 1269-1273.
78. **Preciado, D.A.:** Biology of cholesteatoma: special considerations in pediatric patients. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.*, 76, 2012, s. 319-321.
79. **Bujia, J., Holly, A., Antoli-Candela, F., Tapia, M.G., Kastenbauer, E.:** Immunobiological peculiarities of cholesteatoma in children: quantification of epithelial proliferation by MIB1. *Laryngoscope*, 106, 1996, s. 865–868.
80. **Dornelles, C.C., da Costa, S.S., Meurer, L., Rosito, L.P., da Silva, A.R., Alves, S.L.:** Comparison of acquired cholesteatoma between pediatric and adult patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol.*, 266, 2009, s. 1553–1561.
81. **Vartiainen, E., Karjalainen, S.:** Autologous ossicle and cortical bone in ossicular reconstruction. *Clin Otolaryngol Allied Sci.*, 10, 1985, s. 307-310.
82. **Actis, A.B., Obwegeser, J.A., Rupérez, C.:** Influence of different sterilization procedures and partial demineralization of screws made of bone on their mechanical properties. *J Biomater Appl.*, 18, 2004, s. 193-207.
83. **Inokuchi, T., Ninomiya, H., Hironaka, R., Yoshida, S., Araki, M., Sano, K.:** Studies on heat treatment for immediate reimplantation of resected bone. *J Craniomaxillofac Surg.*, 19, 1991, s. 31-39.
84. **Köhler, P., Kreicbergs, A., Strömberg, L.:** Physical properties of autoclaved bone. Torsion test of rabbit diaphyseal bone. *Acta Orthop Scand.*, 57, 1986, s. 141-145.
85. **Böhm, P., Stihler, J.:** Intraosseous temperature during autoclaving. *J Bone Joint Surg Br.*, 77, 1995, s. 649-653.
86. **Wolfman, D.E., Chole, R.A.:** Experimental retraction pocket cholesteatoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol.*, 95, 1986, s. 639-644.

Zpracováno dle ČSN ISO690, 010197.

9. Přehled publikační činnosti autora:

Původní články s IF:

1. Školoudík, L., Vokurka, J., Zborayová, K., Čelakovský, P., Kučera, M., Ryška, A.: **Cytology of the nasal mucosa after total laryngectomy. Acta Otolaryngol., 129, 2009, s. 1262 – 1265 (IF 0,984).**
2. Čelakovský, P., Vokurka, J., Školoudík, L., Růžička, J.: Optic neuritis and paranasal sinus diseases. Cent. Eur. J. Med., 6, 2011, s. 117-119 (IF 0,224).
3. Čelakovský, P., Vokurka, J., Školoudík, L., Kordač, P., Čermáková, E.: Risk factors for recurrent laryngeal nerve palsy after thyroidectomy. Cent. Eur. J. Med., 6, 2011, s. 279-283 (IF 0,224).
4. Školoudík, L., Vokurka, J., Šimáková, E.: **Mechanical treatment and autoclaving of middle ear ossicles from cholesteatomatous ears. Cent. Eur. J. Med., 7, 2012, s. 194-197 (IF 0,224).**

Původní články bez IF:

1. Školoudík, L., Dufek, Z., Vokurka, J., Čelakovský, P.: **Krvácení po tonzilektomii. Otorinolaryng. a Foniatic. /Prague/, 54, 2005, s. 42-46.**
2. Školoudík, L., Dufek, Z., Vokurka, J., Čelakovský P.: **Redukuje harmonický skalpel riziko pooperačního krvácení po tonzilektomii ? Choroby hlavy a krku, 15, 2006, s. 20 – 25.**
3. Haas, V., Čelakovský, P., Školoudík, L., Dršata, J., Vokurka, J.: Traumatické perforace ušního bubínku. Otorinolaryng. a Foniatic. /Prague/, 55, 2007, s. 189 – 192.
4. Školoudík, L., Vokurka, J., Kalfeřt, D., Rybníkář, T., Čelakovský, P.: **Adenoidní vegetace a chronická sekretorická otitida. Otorinolaryng. a Foniatic. /Prague/, 59, 2010, s. 62 - 66.**
5. Dršata, J., Školoudík, L., Zborayová, K., Vokurka, J., Čelakovský, P.: Akutní zánět středouší v ordinaci praktického lékaře. Med. Pro Praxi, 7, 2010, s. 32-34.

Kazuistiky:

1. Školoudík, L., Rešl, M., Vokurka, J., Růžička, J., Čelakovský, P., Šimáková, E.: **Ganglioneurom s maligní transformací. Otorinolaryng. a Foniatic. /Prague/, 52, 2003, s. 92-95.**
2. Dršata, J., Rešl, M., Odrážka, K., Školoudík, L., Lánský, M., Vižďa, J., Hlatký, R.: Maligní paragangliom glomus caroticum. Otorinolaryng. a Foniatic. /Prague/, 53, 2004, s. 155-158.
3. Školoudík, L.: Salzburg Weill Cornell Seminars ENT 2005. Otorinolaryng. a Foniatic. /Prague/, 55, 2, s. 128.
4. Dufek, Z., Školoudík, L., Čelakovský, P., Podhola, M., Růžička J.: Ektopická linguální štítná žláza – neobvyklý případ obstrukce polykacích a dýchacích cest a jeho řešení. Kazuistiky v alergologii, pneumologii a ORL, 5, 2008, s. 4 – 7.

5. Dufek, Z., Školoudík, L., Čelakovský, P., Podhola, M., Růžička, J.: Ektopická linguální štítná žláza – neobvyklý případ obstrukce polykacích a dýchacích cest a jeho řešení. *Kazuistiky v diabetologii*, 6, 2008, s. 27 - 30.
6. Kalfert, D., Čelakovský, P., Školoudík, L., Podhola, M., Ludvíková, M.: Periferní paréza lícního nervu při středoušní manifestaci Wegenerovy granulomatózy. *Otorinolaryng. a Foniat. /Prague/*, 58, 2009, s. 117 – 120.
7. Eimer, L., Chyba, T., Rozsival, P., Růžička, J., Školoudík, L. Oboustranná paréza hlasivkových vazů po požití baterie. *Kazuistiky v alergologii, pneumologii a ORL*, 2011, 8, s. 33-35.
8. **Školoudík, L., Kalfert, D., Růžička, J., Kopriva, J.: Branchio-oto-renální syndrom. Otorinolaryng. a Foniat. /Prague/, 60, 2011, s. 99-102.**

Statě ve sbornících:

1. Školoudík, L., Růžička, J., Lánský, M., Čelakovský, P.: Neobvyklý expanzivní proces ve VND – kauzistika“, IX. Kongres mladých otolaryngologů, 29. – 31.5.2002, Košice, Zborník abstraktov, s.19, ISBN 80-967783-4-X.
2. Školoudík, L., Vokurka, J., Čelakovský, P., Ryška, A.: Naše zkušenosti s dg. maligní branchiogenní cisty. IX. Kongres mladých otolaryngologů, 29.- 31.5.2002, Košice, Zborník abstraktov, s. 22-23, ISBN 80-967783-4-X.
3. Školoudík, L., Čelakovský, P., Vokurka, J., Dufek, Z., Dršata, J.: Vliv paracentézy a ATB terapie na průběh akutního středoušního zánětu, Sborník abstrakt, vydal Nucleus HK, s. 57, ISBN 80-86225-37-2.
4. Školoudík, L., Dufek, Z., Vokurka, J., Čelakovský P.: Faktory ovlivňující krvácení po tonzilektomii, Sborník abstrakt: 67. kongres České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, místo vydání: Ústí n. Labem, nakladatel: Masarykova nemocnice v Ústí n. Labem, s. 21, ISBN: 80-239-2882-1.
5. Dufek, Z., Školoudík, L., Vokurka, J.: Tonzilotomie na ORL klinice FN HK, Sborník abstrakt: 67. kongres České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, místo vydání: Ústí n. Labem, nakladatel: Masarykova nemocnice v Ústí n. Labem, s. 23, ISBN: 80-239-2882-1.
6. Školoudík, L., Kučera, M., Ryška, A.: Změny nosní sliznice po totální laryngektomii, 69. kongres České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku“, 1.- 3.6. 2006, Plzeň, s. 56, sborník přednášek ISBN 80-7177-926-1.
7. Školoudík, L., Kučera, M., Ryška, A.: The changes of the Nasal Mucosa After Total Laryngectomy, 6th Joint Workshop of Middle-German and Czech ENT specialists, 31. 1. – 3. 2. 2007, Jablonné nad Orlicí, s. 36 - 37, sborník abstrakt, ISBN 978-80-86472-29-4.

8. Dršata, J., Vokurka, J., Lánský, M., Čelakovský, P., Školoudík, L., Haas, V., Sila, P.: Contribution of static computed posturography to balance quantification and neurootological differential diagnosis. *Eur Arch Oto Rhino Laryngol.*, 264, 2007, Suppl. 1, s. 202, ISSN 0937-4477.
9. Haas, V., Čelakovský, P., Školoudík, L., Dršata, J., Vokurka, J.: Traumatic Perforation of Eardrum. *Eur Arch Oto Rhino Laryngol.*, 264, 2007, Suppl. 1, s. 252, ISSN 0937-4477.
10. Vokurka, J., Čelakovský, P., Školoudík, L., Haas, V., Zborayová, K., Dršata, J.: Endoscopic adenoidectomy: How we do it, *Eur Arch Oto Rhino Laryngol.*, 264, 2007, Suppl. 1, s. 267, ISSN 0937-4477.
11. Školoudík, L., Kučera, M., Vokurka, J., Ryška, A.: The changes of the nasal mucosa after total laryngectomy, *Eur Arch Oto Rhino Laryngol.*, 264, 2007, Suppl. 1, s. 295, ISSN 0937-4477.
12. Bláha, M., Dršata, J., Blažek, M., Bláha, V., Vokurka, J., Školoudík, L., Malý, J., Solichová, D., Filip, S.: Hemorheopheresis – a new chance for treatment of sensorineural hearing loss (our treatment design), XXI. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XI. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, X. Konference zdravotních laborantů v hematologii, 16. 6. – 19. 6. 2007, Olomouc, s. 78, sborník abstrakt ISBN 978-80-7346-078-5.
13. Dršata, J., Bláha, M., Školoudík, L., Lánský, M., Blažek, M., Vokurka, J.: Hemoreoferéza jako alternativa léčby u percepční nedoslýchavosti. *Cesk Slov Neurol N.*, 71/104, 2008, Supl. Neurovaskulární kongres, Ostrava, 4. – 6. března 2008, s. 27, Sborník abstrakt, ISSN 1210-7859.
14. Školoudík, L., Šimáková, E.: Středoušní kůstky v chirurgii cholesteatomu. *Otorinolaryng. a foniatr. /Prague/*, 58, 2009, s. 187.
15. Dršata, J., Školoudík, L., Lánský, M., Čelakovský, P., Vokurka, J.: Význam sluchových kmenových potenciálů pro audiotopodiagnostiku. *Otorinolaryng. A Foniatr. /Prague/*, 58, 2009, s. 165.
16. Školoudík, L., Vokurka, J., Kalfeřt, D., Rybníkář, T.: Léčba chronické sekretorické otitidy. XIX. jihočeské ORL dny, Nové Hradky, 29. – 30. 4. 2010, sborník abstrakt, s. 9.

Přednášky na odborných setkáních:

Prezentace v České republice:

1. Školoudík L., Čelakovský P., Vokurka J., Dufek Z., Dršata J. Vliv paracentézy a ATB terapie na průběh akutního středoušního zánětu, 66. kongres České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Pardubice, 21. 6. 2003.
2. Školoudík L., Vokurka J. Snižuje harmonický skalpel riziko krvácení po tonzilektomii? Odborná schůze České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Hradec Králové, 15. 4. 2004.

3. Školoudík L., Dufek Z., Vokurka J. Faktory ovlivňující krvácení po tonzilektomii. 67. kongres České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Ústí n. Labem, 5. 6. 2004.
4. Školoudík L., Vokurka J., Kučera M., Ryška A. Změny nosní sliznice po totální laryngektomii, 69. kongres České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Plzeň, 2. 6. 2006.
5. Školoudík L. Autologní osikuloplastika v chirurgii cholesteatomu, 46. Otologický den, Mikulov, 7. 12. 2006.
6. Školoudík L., Dršata J. Léčba percepční nedoslýchavosti pomocí hemoreoferézy, Diagnostika a léčba smyslových poruch, Praha, 28. 3. 2007.
7. Školoudík L., Kučera M., Ryška A. The changes of the nasal mucosa after total Laryngectomy, 6th Workshop of Middle-German and Czech ENT specialists, Jablonné nad Orlicí, 2. 2. 2007.
8. Školoudík L., Vokurka J. Léčba chronické sekretorické otitidy ve FN Hradec Králové, Otologický den, Hradec Králové, 4. 12. 2008.
9. Školoudík L. Chronická sekretorická otitida – komentář modelových případů, Otologický den, Hradec Králové, 4. 12. 2008.
10. Školoudík L., Vokurka J. Neobvyklý středoušní zánět, ORL seminář v Lázních Sedmihorky, 3. 10. 2009.
11. Školoudík L. Periferní paréza n.VII z pohledu otorinolaryngologa, Postgraduální kurz v neurochirurgii, 1. 4. 2009.
12. Školoudík L., Vokurka J. Autologní osikuloplastiky v experimentu a klinické praxi. Odborná schůze České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Hradec Králové, 16. 4. 2009.
13. Školoudík L. Adenoidní vegetace a chronická sekretorická otitida. Odborný seminář Pardubického regionu, Pardubice, 30. 5. 2009.
14. Adenoids and Otitis Media with Effusion, Czech – Polish otorhinolaryngological congress Glacensis, 12. 10. 2009.
15. Školoudík L., Šimáková E., Vokurka J. Středoušní kůstky v chirurgii cholesteatomu, poster, 72. Kongres České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, 56. Kongres Slovenské spoločnosti pre otorinolaryngológiu a chirurgiu hlavy a krku, 3. Česko-slovenský otorinolaryngologický kongres, Praha, 10. 9. 2009.
16. Školoudík L., Šimáková E. Histomorfologické změny středoušních kůstek u pacientů s cholesteatomem, 49. Otologický den, 3. 12. 2009.
17. Školoudík L., Vokurka J., Kalfeřt D., Tybníkář T. Léčba chronické sekretorické otitidy. XIX. Jihočeské ORL dny, 30. 4. 2010.
18. Středoušní kůstky v chirurgii cholesteatomu, ORL konference pardubického a královehradeckého kraje, Jablonné nad Orlicí, 14. 5. 2011.

19. Branchio – oto - renální syndrom, ORL konference pardubického a královehradeckého kraje, Jablonné nad Orlicí, 14. 5. 2011.

Zahraniční prezentace:

1. Školoudík L., Vokurka J., Čelakovský P., Ryška A. Naše zkušenosti s dg. maligní branchiogenní cysty. IX. Kongres mladých otolaryngologův, Košice, Slovensko, 30. 5. 2002.
2. Školoudík L., Růžička J., Lánský M., Čelakovský P. Neobvyklý expanzivní proces ve VND – kauzistika, IX. Kongres mladých otolaryngologův, Košice, Slovensko, 31. 5. 2002.
3. Školoudík L, Růžička J. Hematocoele in paranasal sinuses, Salzburg Weill Cornell Seminars ENT, Salzburg, Rakousko, 26. 10. 2005.
4. Školoudík L., Čelakovský P., Ryška A. Branchiogenic carcinoma, Salzburg Weill Cornell Seminars ENT, Salzburg, Rakousko, 29. 3. 2006.
5. Školoudík L., Vokurka J., Kučera M., Ryška A. The changes of the nasal mucosa after total laryngectomy, 6th European, Congress of Oto-Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery, Vídeň, Rakousko, 2. 7. 2007.
6. Školoudík L., Šimáková E., Vokurka J. Cholesteatoma and Autograft Ossiculoplasty, 1st Congress of the Confederation of the European ORL-HNS (CE-ORL-HNS), Barcelona, Španělsko, 3. 7. 2011.
7. Školoudík L. Otitis media with effusion, Maltese ENT seminar for Mater Dei Hospital and University of Malta, Malta, 26. 1. 2012.
8. Školoudík L. Cholesteatoma, Maltese ENT seminar for Mater Dei Hospital and University of Malta, Malta, 9. 2. 2012.
9. Školoudík L. Middle ear surgery, Maltese ENT seminar for Mater Dei Hospital and University of Malta, Malta, 23. 2. 2012.