

**Univerzita Karlova v Praze**

**1. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce



Možnosti klinického využití jednoduchých a tandemových  
rázových vln

**Mgr. Jan Zeman**

Praha, 2016

## **Doktorské studijní programy v biomedicině**

*Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky*

Obor: Lékařská biofyzika

Předseda oborové rady: Prof. MUDr., RNDr. Jiří Beneš CSc.

Školící pracoviště: Ústav biofyziky a informatiky

Školitel: Prof. MUDr., RNDr. Jiří Beneš CSc.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

# Obsah

Obsah .....	3
Abstrakt:.....	4
Abstract:.....	5
1 Úvod.....	6
2 Cíle práce.....	9
3 Materiál a metodika .....	10
4 Výsledky.....	12
4.1 Jednoduché rázové vlny .....	12
4.2 Tandemové rázové vlny.....	14
4.3 Klinický aplikátor .....	17
5 Diskuse .....	19
6 Závěry .....	22
7 Použitá literatura .....	23
8 Seznam publikací doktoranda v tomto uspořádání: .....	27

## Abstrakt:

Rázová vlna se v medicíně využívá již více jak 30 let. Na začátku se používala zejména pro litotrypsi, ale dnes nachází uplatnění i v jiných oborech medicíny, jako jsou ortopedie, revmatologie a další. Jednoduchá rázová vlna představuje jeden ráz, který se opakuje obvykle každou 1-1,5 vteřiny. Naproti tomu tandemová rázová vlna jsou dva rázy těsně po sobě (ideální interval mezi oběma rázy je 8-15  $\mu$ s), které se opakují. V této práci je zkoumána možnost klinického využití jednoduchých i tandemových rázových vln, které jsou generovány zcela novým zdrojem. Ten je založen na principu mnohokanálového výboje. Bylo zjištěno, že jednoduchá rázová vlna dokáže narušit spojení kosti a kostního cementu, tohoto efektu by bylo možné využít v ortopedii. Jednoduchá i tandemová vlna způsobují poškození nádoru *in vivo*, princip, jakým k poškození dochází, je ale odlišný. Tandemová rázová vlna je schopna způsobit poškození v hloubce v akusticky homogenním prostředí a zvyšuje účinek podávané chemoterapie. Bylo by tedy možné jednoduchou i tandemovou rázovou vlnu využít v onkologii a to buď samotné vlny, nebo jejich kombinaci s jinými chemickými látkami. Pro tyto aplikace byl zhotoven funkční vzorek klinicky použitelného aplikátoru rázových vln s novým zdrojem.

### **Klíčová slova:**

Rázové vlny, tandemové rázové vlny, kavitace, elektrický výboj, poškození nádoru

## **Abstract:**

Shock waves have been used in medicine for more than 30 year. At the beginning was mainly use for lithotripsy, but today is also applied in other fields of medicine, such as orthopedics, rheumatology and others. Single shock wave is one shock that usually is repeated every 1-1.5 seconds. By contrast tandem shock waves are two shocks consecutively (ideal interval between shocks is from 8 to 15 microseconds), that are repeated. In this work we investigated the clinical use of single and tandem shock waves that are generated entirely new source. It is based on the principle of multichannel discharge. It was found that a single shock wave can destroy the union between bone and bone cement, this effect could be used in orthopedics. Single and tandem shock wave can damage the tumor in vivo, but the principle damage is different. Tandem shockwave is able to cause damage in a depth of acoustically homogeneous medium and enhances the effect of chemotherapy. It would therefore be possible to used single and tandem shock waves in oncology either alone, or their combination with other chemicals. Functional sample of clinically usable applicator of shock waves with a new source was made for these applications.

### **Key words:**

Shock waves, tandem shock waves, cavitation, electrical discharges, tumour damage

# 1 Úvod

Rázové vlny se před 30 lety nečekaně uplatnily v lékařské praxi při léčbě konkrementů jejich fragmentací. Rázová vlna je zvláštní forma akustické vlny, která z hlediska fyziky představuje jednorázový děj vysokého výkonu v krátkém čase, tedy děj s malou energií. Dnes nachází uplatnění i v jiných oblastech medicíny, jako je ortopedie, revmatologie a další. Tato práce se zaměřuje na rázové vlny jednoduché a tandemové. Jednoduché rázové vlny mají po průchodu první vlny dlouhý časový odstup k druhé vlně a to v řádu až celých sekund. Časový odstup je dlouhý vzhledem k trvání jedné rázové vlny (v jednotkách mikrosekund). Jednoduché rázové vlny jsou tak z pohledu fyziky aplikovány do akusticky stálého prostředí. U tandemových rázových vln jsou aplikovány dva rázy tak rychle po sobě, že mezi nimi nastává interakce. Ta je dána tím, že první vlna vytvoří akustickou anizotropii a než tato změna zmizí (5 – 10 mikrosekund), přichází druhá rázová vlna, která může na této anizotropii uvolnit svoji energii a vytvořit vyšší hustotu kavitací.

Typickým průběhem rázové vlny v čase je krátký pulz, který trvá celkem okolo 5  $\mu$ s. Na začátku téměř okamžitě přechází do špičkové hodnoty pozitivního tlaku  $p+$ , tento přechod trvá asi 10 ns a nazývá se "shock". Pozitivní hodnota tlaku dosahuje 10 – 150 MPa. Následně klesá tlak k nule a následuje oblast negativního tlaku s trváním okolo 3  $\mu$ s. Negativní tlak  $p-$  dosahuje -25 MPa. Negativní tlak tak dosahuje menších hodnot než tlak pozitivní a zároveň v této fázi neprobíhá žádná prudká změna "shock". Jako rázová vlna se běžně označuje celý průběh, technicky vzato jde však pouze o ostrý přechod tlaku na začátku [1-3].

Rázové vlny, jak se podařilo prokázat, jsou schopny interagovat s tkání. V případě litotrypse je však nežádoucí, aby docházelo k poškození okolní tkáně a tak se snažíme tento účinek redukovat na minimum. Jsou ale i oblasti aplikace rázových vln, kde se dá účinků na tkáň využít.

Zájem o aplikaci rázových vln v ortopedii vznikl v době, kdy se ukázalo, že pokud je rázová vlna zaměřena na močovod, dochází k remodelaci kosti ležící v jeho blízkosti. Účinek je závislý na hustotě energie RV. Při prvních studiích se ukázalo, že dochází k osteonekróze závislé na dávce a narušení spongiózní kosti. Při

vyhodnocení, které probíhalo po dobu 12 týdnů, bylo potom možné pozorovat novotvorbu kosti. Osteogeneze je tedy závislá na hustotě energie. Rázové vlny s vyšší hustotou energie jsou například schopné zlomit kosti potkanů. Pomocí rázových vln, jak vyplynulo z několika studií, je možné napomoci hojení fraktur kostí. Sníží se doba nutná ke zhojení fraktury. Ukázalo se, že rázové vlny jsou schopny cytotstimulace. RV buňky stimuluje tím, že stimuluje uvolňování cytokinů jako je TGF- $\beta$ 1, nebo jiných mediátorů [4,5].

Další oblastí ortopedie, na kterou se zaměřuje výzkum rázových vln, je využití RV při reoperacích totálních kloubních náhrad. Zde by bylo možné pomocí RV narušit spojení kosti a kostního cementu a při samotné reoperaci by tak bylo snazší extrahovat cement spolu s dřívkem kloubní náhrady z dutiny kosti. V dnešní době je samotná extrakce velice náročná a zatěžující pro pacienta. Několik studií ukázalo, že rázová vlna je schopna narušit spojení kosti a kostního cementu a zjednodušit tak extrakce [6-8]. Také v této práci se této oblasti použití RV věnujeme.

V revmatologii se používá především rázová vlna radiální, tedy nefokusovaná s malou hustotou energie a malou maximální hodnotou tlaku. Využití nachází i vlna fokusovaná. Ve většině přístrojů používaných v revmatologii je rázová vlna generovaná odlišným způsobem, než při litotrypsi. Rázová vlna je generovaná pomocí pneumatických pulzů. Pomocí nich je vystřelován projektil, který narazí na vysílač, na jehož povrchu se tím generuje rázová vlna. Ta dosahuje tlaků okolo 5 bar a hustoty energie 0,1-0,25 mJ/mm<sup>2</sup>. Pokud je použita rázová vlna fokusovaná je hustota energie nad 0,3 mJ/mm<sup>2</sup>. S použitím se můžeme setkat v těchto indikacích: bolesti pohybového aparátu, jako například tenisový nebo golfový loket, skokanské koleno, ostruhy kosti patní, bolesti páteře, bolestivá třísla, únavové zlomeniny, kostní přestavby, nebo chronický zánět tíhových váčků [9].

Buňka je od svého okolí oddělena buněčnou membránou, kterou tvoří fosfolipidová dvojvrstva. Prostupnost membrány je řízena a je rozhodující pro přežití buněk. Pro lékařské aplikace je ale nutné někdy obejít kontrolní mechanismy tak, aby bylo možné do buňky doručit vybrané molekuly, případně geny. V současné době existuje několik systémů, jak doručit něco dovnitř buňky a volby systému pro doručení závisí na situaci. Mezi systémy fyzikální patří elektroporace a také optoporace. Lze ale také využít rázových vln,

tato metoda se nazývá sonoporace. Ta je významná vzhledem k aplikaci *in vivo*. Ukázalo se, že pomocí litotryptoru je možné usnadnit přechod přes membránu buňky molekulám, které by za normálních okolností nebyly schopné přes membránu projít. Pro doručení léčiv by tak bylo možné využít postupy známé z litotrypse [10].

V experimentech se například ukázalo, že rázové vlny jsou schopny zlepšit účinek Cisplatiny. Pokud jsou buňky v nádobě, ve které je přetlak, tak je při působení rázových vln snížena propustnost membrán oproti situaci při normálním tlaku. To vede k závěru, že póry v membráně jsou způsobeny kavitacemi. Experimentálně bylo také ověřeno, že je možné doručit do nádorové buňky ribozomy inaktivující proteiny a snížit tak dávku podávaného léku až 40 000 krát [11]. Mohou být také přeneseny plazmidy velikosti několika megadaltonů, které kódují standardní enzymy jako například galaktosidasu nebo luciferázu.

Tohoto účinku na buněčné membrány, tedy sonoporace, by bylo možné využít ve spojení s chemoterapií. Co se týče *in vivo* terapie, tak se z provedených experimentů zdá, že rázová vlna má spíše účinek na mikrocirkulaci v nádoru. Dochází tak ke snížení perfuze. V současné době se pracuje na možném klinickém využití [11-15].

Experimentálně se rázová vlna používá i pro léčbu ischemické choroby srdeční. Bylo prokázáno, že rázové vlny s nižší energií než je tomu u litotrypse, navozují koronární angiogenezi a neovaskularizaci. Výsledky experimentů prokázaly, že u pacientů dochází ke zlepšení. Byly také provedeny klinické zkoušky zmíněné metody a to úspěšně [16-21].

Další oblastí medicíny, kde se rázových vln využívá je aplikace na erektilní disfunkce. Používá se zde také rázová vlna o nízké energii. Princip je podobný jako u srdce. Jde o vyvolání neovaskularizace. V tomto případě byly provedeny experimenty s prvními pacienty a výsledek byl úspěšný [22-24].

RV mají také protizánětlivé účinky. Zde hraje významnou roli produkce NO v buňkách. RV, která se zde používá, má nízkou energii (0,03 mJ/mm<sup>2</sup>) [25]. Rázové vlny nacházejí uplatnění i ve veterinární medicíně a to při podobných obtížích jako u člověka.



## 2 Cíle práce

Cílem této disertační práce je v teoretické části shrnout dosavadní poznatky z oblasti rázových vln a jejich využití v medicíně. A dále shrnout výsledky, které jsme dosáhli pomocí nového generátoru rázových vln. Ten je založen na principu mnohokanálového výboje. Výsledky jsou prezentovány v člancích, které jsou součástí této práce. Cílem práce byl také vývoj klinicky použitelného aplikátoru rázových vln s novým zdrojem.

### 3 Materiál a metodika

Tato práce je zaměřena na využití jednoduchých a tandemových rázových vln, které jsou generovány novým zdrojem, který je založen na principu mnohokanálového výboje. Tento způsob generování rázových vln byl zcela nově vyvinutý ve spolupráci s Ústavem fyziky plazmatu AV ČR. Při vývoji tohoto zdroje bylo využito poznatků získaných při výzkumu impulsních koronových výbojů, které byly na začátku určeny k čištění vody. Způsob jakým se vytváří objemový koronový výboj, je patentově chráněn [26, 27]. Princip generace rázové vlny spočívá v tom, že prostor mezi dvěma elektrodami je zaplněn kapalinou se zvýšenou elektrickou vodivostí. Na elektrodě, která má tvar požadované vlnoplochy, potom dochází po připojení impulzního napětí k mnohokanálovému výboji. Tento elektrický výboj hoří mezi elektrodou a kapalinou. Vytváří se tak jednotlivé kvazisférické tlakové vlny, jejichž superpozicí poté vznikne jedna mohutná tlaková vlna. Ta je dále fokusována pomocí reflektoru a během cesty do ohniska se transformuje na vlnu rázovou.

K mnohokanálovému výboji dochází na povrchu kompozitní anody. Jedná se o válec z nerezové oceli, která je pokryta tenkou vrstvou (0,2 – 0,5 mm) porézní keramiky s otevřenou pórovitostí 3-5 %. Druhou elektrodu tvoří reflektor. Po připojení impulzního zdroje napětí na tuto elektrodovou soustavu jsou předvýbojové proudy soustředěny do jednotlivých pórů. Uvnitř těchto pórů vzniká elektrické pole s intenzitou blízkou k  $E=U/r$ , kde  $U$  je použité napětí a  $r$  je tloušťka keramické vrstvy. Při elektrických polích o velikosti intenzity  $E \sim 0,5-1$  MV/cm dochází v pórech k iniciaci výboje. Díky použití kapaliny se zvýšenou vodivostí jsou výboje soustředěny v jednotlivých pórech izolační vrstvy.

U tohoto generátoru je možné ovlivňovat vlastnosti rázové vlny (amplitudu, časový průběh) a to nejen nastavením parametrů obvodu, jako jsou použité napětí, kapacita kondenzátorů, indukčnost obvodu, ale také nastavením vodivosti kapaliny. Díky tomu, že je výbojový proud rozdělen do mnoha pórů, je omezena eroze kompozitní anody. Tím je prodloužena její životnost.

Generátor pro generování jednoduché rázové vlny se skládá z jedné válcové elektrody. Ta je tvořena kovovým válcem pokrytým porézni keramikou. Elektroda je umístěna v ose kovového reflektoru. Reflektor má tvar části rotačního paraboloidu, který vznikne rotací paraboly kolem osy procházející ohniskem a kolmé k její ose. Od reflektoru je kompozitní anoda izolována izolátorem. Prostor mezi elektrodami je zaplněn kapalinou se zvýšenou vodivostí, ta se většinou pohybuje kolem 18 mS/cm. Po připojení impulzního napětí 15-30 kV z impulzního zdroje dochází k mnohokanálovému výboji. Ten vytvoří tlakovou vlnu tvaru válce, které se šíří směrem od kompozitní anody a je následně odražena reflektorem do ohniska.

Generátor s jednou válcovou kompozitní elektrodou vytváří jednoduchou rázovou vlnu. Pro vytvoření tandemové rázové vlny slouží modifikovaná verze generátoru. V tomto případě se kompozitní anoda skládá ze dvou částí. Každá z částí kompozitní anody může být spínána zvlášť a díky tomu generovat tandemové rázové vlny s různým zpožděním mezi první a druhou vlnou. Časové zpoždění může být také dáno geometrií jednotlivých částí elektrody. To znamená, že pokud jsou obě části sepnuty současně, tak v důsledku rozdílných drah tlakových vln k ohnisku dochází ke konstantnímu zpoždění druhé rázové vlny a to o 5  $\mu$ s. V tomto případě je napájecí obvod jednodušší.

Pro jednoduchou rázovou vlnu generovanou výše popsaným zdrojem dosahují tlaky v ohnisku 372 MPa pozitivní a -17 MPa negativní. Při generování tandemových rázových vln dosahují tlaky druhé vlny v závislosti na geometrii až 100 MPa pozitivní a až -80 MPa negativní. Ohnisko má v průměru 0,5 mm (na poloviční hodnotě tlaku).

## 4 Výsledky

Výsledky jsou prezentovány v podobě publikací s krátkým komentářem.

### 4.1 Jednoduché rázové vlny

**ZEMAN, Jan., HACH, Jan, DIBDIAK, Lukáš., ŠUNKA, Pavel., LUKEŠ, Petr., HOFFER, Petr., SEDLÁČEK, Radek, KOCIOVÁ, Kamila. and BENEŠ, Jiří, 2012, Účinek rázové vlny na kostní cement a její potenciální využití v ortopedii. Ortopedie. 2012. Vol. 6, no. 3p. 100-102.**

Tato práce je zaměřena na využití jednoduché rázové vlny v ortopedii. Je zde zkoumáno možné využití při reoperacích kloubních náhrad. V práci je použit nový zdroj rázových vln založený na principu mnohokanálového výboje. Pro generaci jednoduché rázové vlny je zvoleno uspořádání s jednou kompozitní anodou. Dále je použito 6 femurů miniprasete, ty jsou v párech. Z femuru byly odstraněny měkké tkáně a kostní dřev, byla odříznuta proximální a distální epifyza a kost byla naplněna kostním cementem, který se běžně používá k uchycení kloubních náhrad. Dále byly femury rozřezány na disky tak, že v páru zůstal vždy jeden z levého femuru a jeden z pravého femuru. Disky z jednoho z párových femurů byly poté vystaveny působení rázových vln a disky z druhého femuru sloužily jako kontrolní. Po aplikaci jednoduchých rázových vln, které byly fokusovány do místa styku cementu s kostí, bylo provedeno měření síly nutné k vytlačení cementu z kosti. Maximální velikost síly nutné k vytlačení cementu byla zaznamenána pro experimentální i pokusné vzorky a obě skupiny byly poté porovnány.

Výsledky ukázaly, že rozdíl mezi maximální silou nutnou k vytlačení cementu z kosti je u experimentální skupiny statisticky významně nižší oproti skupině kontrolní. Ukazuje se tak, že jednoduchou rázovou vlnu by bylo možné využít při reoperacích kloubních náhrad, pro zjednodušení extrakce cementu z kosti.

**ZEMAN, Jan, Jan HACH, Wioletta MIKULAKOVÁ, Ľubica DERŇAROVÁ, Anna ELIÁŠOVÁ, Petr LUKEŠ, Lenka BALÁŽOVÁ a Jiří BENEŠ. A Model of the Action of the Shockwave Generated by a Multichannel Discharge on the Union of Bone Tissue with Bone Cement. In Vivo. 2016,30(3), 237-242.**

Tato práce je stejně jako předchozí zaměřena na využití jednoduché rázové vlny v ortopedii, pro zjednodušení extrakce kostního cementu z kosti. Jedná se o rozšíření předchozího experimentu. Je zde použit stejný zdroj a také femury miniprasat. Femurů je v tomto případě 16 a jsou v párech vždy levý a pravý. Jsou zbaveny měkkých tkání a kostní dřevě a naplněny kostním cementem. Rozřezány byly na 7 mm silné disky a označeny tak, aby bylo možné proti sobě porovnávat párové femury. Celkem bylo použito 64 experimentálních a 64 kontrolních vzorků. Aplikováno bylo u experimentální skupiny celkem 200 jednoduchých rázových vln. Následně byla měřena maximální síla nutná k vytlačení cementu z kosti a výsledky byly porovnány s kontrolní skupinou.

Bylo zjištěno, že u experimentální skupiny je maximální síla nutná k vytlačení statisticky významně menší než u skupiny kontrolní. Výsledky tak podporují dříve provedené experimenty jiných autorů.

**LUKES, Petr, Jan ZEMAN, Vratislav HORAK, et al. In vivo effects of focused shock waves on tumor tissue visualized by fluorescence staining techniques. Bioelectrochemistry [online]. 2015, 103, 103-110**

V této práci byl zkoumán účinek jednoduchých rázových vln generovaných nových zdrojem na nádorovou tkáň *in vivo*. Jednalo se o syngenní sarkom. Účinky byly sledovány jak makroskopicky, tak pomocí TUNEL techniky, imunohistochemické detekce kapsázy-3 a barvením hematoxylin-eosinem. V experimentu bylo použito osm potkanů, kterým byly inokulovány podkožně buňky sarkomu do pravého a levého stehna. Potkani byli poté ošetřeni jednoduchými rázovými vlnami. U každého potkana byl působení

rázových vln vystaven vždy jeden z nádorů, druhý sloužil jako kontrolní. Celkem bylo aplikováno 600 jednoduchých RV.

Makroskopicky bylo pozorovatelné u ošetřeného nádoru mírné kruhové poškození kůže pokrývající nádor. V místě vstupu rázové vlny do nádoru byl pozorován hematoma. Kromě toho byl zřejmý homogenní rozpad nádorové tkáně. Poškození odpovídalo průchodu rázové vlny. Kontrolní nádory nejevily žádné známky poškození. Mikroskopicky bylo odhaleno jasné rozsáhlé poškození nádorové tkáně. Jeho orientace i tvar dobře korespondovalo s šířením rázové vlny. Hranice mezi poškozenou a nepoškozenou tkání byla jasně patrná. Ukázalo se, že v místě působení dochází k nekróze a na hranicích mezi poškozenou a nepoškozenou tkání dochází k apoptóze. Na základě těchto výsledků předpokládáme, že poškození nádorové tkáně je způsobeno zejména mechanickým namáháním vysokým přetlakem.

## 4.2 Tandemové rázové vlny

**BENEŠ, J., P. POUČKOVÁ, J. ZEMAN, M. ZADINOVÁ, P. ŠUNKA, P. LUKEŠ a H. KOLÁŘOVÁ. Effects of Tandem Shock Waves Combined with Photosan and Cytostatics on the Growth of Tumours. FOLIA BIOLOGICA. 2011, 57(6), 255-260.**

V této práci bylo zkoumáno působení tandemových rázových vln na svalovou tkáň in vivo v hloubce. A v druhé části byly zkoumány účinky tandemových rázových vln in vivo v kombinaci s photosanem a cisplatinou. V experimentech byl použit laboratorní králík pro zkoumání účinků na svalovou tkáň v hloubce. Králík byl ošetřen tandemovými rázovými vlnami, které byly aplikovány do stehenního svalu. Následně bylo provedeno vyšetření na magnetické rezonanci a byly odebrány vzorky pro histologické vyšetření. V druhé části byli použiti potkani. Jednalo se o dvě skupiny, které byly rozděleny každá ještě na tři menší podskupiny. První byla exponována pouze tandemovými rázovými vlnami, v druhé byla před aplikací rázových podána intravenózně dávka Photosanu a třetí byla kontrolní. V druhé velké skupině opět první část byla exponována

pouze tandemovými rázovými vlnami, druhé byla před aplikací rázových podána dávka Cisplatiny a třetí byla kontrolní.

Výsledky prvního experimentu ukázaly, že tandemové rázové vlny jsou schopny způsobit poškození v akusticky homogenním prostředí v hloubce *in vivo*. Tkáně nad ohniskem směrem ke zdroji rázových vln jsou potom bez poškození. Výsledky druhého experimentu ukázaly, že tandemová rázová vlna je schopna způsobit zpoždění růstu nádoru oproti kontrolní skupině. Po podání Photosanu, nebo Cisplatiny se tento efekt ještě zvýší.

**LUKEŠ, Petr, Pavel ŠUNKA, Petr HOFFER, Vitaliy STELMASHUK, Jiří BENEŠ, Pavla POUČKOVÁ, Marie ZADINOVÁ a Jan ZEMAN. Generation of Focused Shock Waves in Water for Biomedical Applications [online]. s. 403-416**

**Kniha:**

**MACHALA, Zdenko., Karol. HENSEL a Yuri. AKISHEV. Plasma for bio-decontamination, medicine and food security. New York: Springer, c2012. NATO science for peace and security series. ISBN 9400728522.**

V této části knihy jsou prezentovány účinky tandemových rázových vln. Jsou zde popsány tandemové rázové vlny, její fyzikální principy a fyzikální principy zdroje tandemových rázových vln. Biologické účinky tandemové rázové vlny generované novým zdrojem zde byly prezentovány několika výsledky. *In vitro* na poškození buněk melanomu B-16, *in vivo* na poškození stehenního svalu králíka v hloubce, podobně jako v předchozí práci a také zpožděním růstu sarkomu u potkanů v porovnání s kontrolní skupinou.

**BENES, J., J. ZEMAN, P. POUCKOVA, M. ZADINOVA, P. SUNKA a P. LUKES. Biological effects of tandem shock waves demonstrated on magnetic resonance. Bratislava Medical Journal [online]. 2012, 113(06), 335-338**

V této práci byl sledován účinek tandemových rázových vln na akusticky homogenní tkáň *in vivo*. V práci bylo použito šest potkanů. Tandemová rázová vlna byla fokusována do oblasti jater, dále byl použit laboratorní králík, u kterého byla tandemová RV fokusována do oblasti stehenního svalu. Následně bylo provedeno vyšetření na magnetické rezonanci a to hned po aplikaci rázových vln a dále třetí a sedmý den po aplikaci. Sedmý den po aplikaci byla provedena pitva.

U všech pokusných zvířat došlo k poškození tkáně v místě ohniska, což se potvrdilo na snímcích z magnetické rezonance a také při následné pitvě. Tandemová rázová vlna je tedy schopna způsobit poškození hlouběji v těle pokusného zvířete v akusticky homogenním prostředí. Struktury, které leží nad ohniskem směrem ke zdroji RV, jsou bez poškození. Místo poškození je tedy dobře lokalizované a odpovídá fokusaci. Také se ukázalo, že dochází k regeneraci tkáně po aplikaci rázových vln.

**LUKES P., SUNKA P., HOFFER P., STELMASHUK V., POUCKOVA P., ZADINOVA M., ZEMAN J., DIBDIK L., KOLAROVA H., TOMANKOVA K., BINDER S., BENES J. Focused tandem shock waves in water and their potential application in cancer treatment. Shock Waves [online]. 2014, 24(1), 51-57**

V této práci byl sledován účinek tandemových rázových vln na buňkách. Konkrétně byla sledována hemolýza u erytrocytů a viabilita u buněk lidské lymfoblastické leukemie. Dále se sledoval účinek na buňky melanomu B-16, které byly exponovány tandemovou rázovou vlnou *ex vivo* a následně byly vpraveny do podkoží pokusným potkanům. Poté byl sledován jejich růst a porovnán s kontrolní skupinou. V poslední části se práce věnuje účinkům tandemové rázové vlny v kombinaci s Cisplatinou a Photosanem. V tomto případě je po aplikaci RV sledován růst a porovnáván v rámci několika pokusných skupin spolu s kontrolní skupinou.

Podařilo se prokázat biologické účinky tandemové rázové vlny *in vitro*, kdy došlo k hemolýze erytrocytů a snížení viability buněk lidské lymfoblastické leukemie. Pokud jsou buňky melanomu B-16 exponovány *ex vivo* a následně aplikovány do podkoží potkanů



je vidět, že dochází k významnému útlumu růstu nádorové tkáně oproti kontrole. A také v pokusech *in vivo* je vidět, že tandemová rázová vlna zvyšuje účinek některých chemoterapeutik, v našem případě Cisplatiny, a také fotosenzitizeru Photosan. Toto je možné vysvětlit zvýšením permeability buněčných membrán při aplikaci RV a kavitacemi indukovaným sonodynamickým účinkem RV.

## 4.3 Klinický aplikátor

Cílem práce bylo také vytvořit klinicky použitelný aplikátor rázových vln a to jednoduchých i tandemových, který by bylo možné využít jak pro litotrypsi, především k efektivnější fragmentaci endoskopicky neřešitelné a často tedy objemné litiázy v choledochu, tak pro aplikaci v oblasti onkologie, ortopedie a případně revmatologie. Výsledkem je funkční vzorek takového aplikátoru. Jeho srdcem je generátor rázových vln založený na principu mnohokanálového výboje.

Generátor je umístěn na polohovacím systému, kterým je možné pohybovat ve směru osy x,y,z a také měnit náklon. Díky tomuto polohovacímu systému je možné nastavit generátor tak, aby se ohnisko nacházelo v požadovaném místě v těle pacienta. Reflektor generátoru je překryt kovovou sítkou, aby byla zaručena elektrická bezpečnost. Celý generátor se nachází ve vaku s otevřenou hladinou, ten je naplněn kapalinou se zvýšenou vodivostí (obvykle 18 mS/cm). Celý generátor je pak zabudovaný v lůžku. Na toto lůžko je možné umístit pacienta tak, že část jeho těla je ponořena do kapaliny. Tak je zajištěn nejlepší přenos rázových vln do těla pacienta. Uvnitř kompozitní anody je potom ultrazvuková sonda. Kterou je možné zaměřit ohnisko. Ultrazvuková sonda neustále zobrazuje ohnisko, neboť se nachází v ose reflektoru. Sondou je možné otáčet a je také možné ji zcela vytáhnout. Součástí aplikátoru je také vysokonapěťový DC zdroj pro generování VN impulsu (Glassman EQ40P30-220), vysokonapěťové impulsní kondenzátory pro generování VN impulsu 0,8  $\mu\text{F}$  a spínací jiskřiště.

Na tomto aplikátoru byly provedeny testy funkčnosti a bezpečnosti s pozitivním výsledkem. Byl také podán užitečný vzor a PCT přihláška.

Výhodou tohoto aplikátoru je, že je možné jednoduše měnit kompozitní anodu a tím pádem i typ generované rázové vlny (jednoduchá x tandemová). Aplikátor je tak možné využít v několika oblastech medicíny.

V porovnání s již existujícími generátory se v našem případě jedná o zcela nový typ generátoru rázových vln, který je zabudován v aplikátoru. U tohoto typu generátoru rázových vln je možné nastavovat parametry a průběh rázové vlny, což existující generátory umožňují jen v omezené míře. Dále v porovnání s ostatními generátory dosahují tlaky v ohnisku mnohem vyšších hodnot a ohnisko má přitom malé rozměry. Díky tomu, že zaměřovací systém je v ose aplikátoru je jednodušší například kámen (litiázu) zaměřit a lze provádět kontrolu zaměření i během výkonu.

## 5 Diskuse

Rázová vlna se v medicíně využívá již více jak 30 let. Na začátku stála extrakorporální litotrypse rázovou vlnou. Její úspěch vedl k rozvoji dalších medicínských aplikací rázových vln. Také u nás byl v osmdesátých letech vyvinut litotryptor pro desintegraci konkrementů, který je do dnešní doby používán na řadě pracovišť.

Rázová vlna se v dnešní době běžně používá v revmatologii, zde se dá říci, že počet indikací je větší než v samotné urologii. Rázová vlna nachází využití také v ortopedii pro léčbu špatně se hojících zlomenin. Experimentálně se potom používá pro léčbu ischemické choroby srdeční a léčbu erektilních dysfunkcí. V neposlední řadě je možné RV využít také k doručení různých molekul do buňky.

Zájem o rázovou vlnu je i v oblasti onkologie, kde by bylo možné způsobit poškození nádorové tkáně a také napomoci účinku chemoterapeutik.

Tato práce je zaměřena na možnosti využití jednoduchých a tandemových rázových vln v klinické praxi. Rázové vlny jsou zde generovány novým typem generátoru, který je založen na principu mnohokanálového výboje na povrchu kompozitní anody. Kompozitní anoda může být rozdělena na dvě části a je tak možné generovat vlnu tandemovou.

V této práci je jako výsledek předloženo několik odborných článků a patentová přihláška, jejichž hlavním autorem, nebo spoluautorem je autor této práce.

Experimentálně jsme ověřovali využití jednoduché rázové vlny v ortopedii pro narušení spojení kostního cementu a kosti, což by bylo možné využít při reoperacích kloubních náhrad. Bylo použito femurů miniprasete a měřena byla maximální síla nutná k vytlačení cementu z kosti. Ukázalo se, že u experimentální skupiny je síla statisticky významně nižší než u skupiny kontrolní což potvrzuje závěry jiných autorů [6-8].

Otázkou zůstává účinnost této metody při uvolňování celého cementového pláště dřívku endoprotézy, zvláště pak v distální části, kde je významně zastoupen i kontakt cementu s kortikální kostí. Cementový plášť dřívku má též většinou makroskopické

nerovnosti, které mohou mechanicky bránit extrakci celého bloku cementu. Mechanické poškození samotného cementu je v tomto případě spíše výhodou, literatura uvádí nevelké snížení pevnosti cementu po expozici rázových vln [6,28]. Problém účinku rázové vlny na komplex implantát-cement-kost, jehož vlastnosti se nepochybně liší od námi zkoumaných vzorků, je patrný ze snadných extrakcí a nejspíše bude ještě výraznější než v námi zvoleném modelu skládajícího se pouze z kosti a cementu. V této souvislosti je nutno též brát v úvahu přítomnost vazivové mezivrstvy, která se kolem cementu postupně vytváří a může též působit jako akustické rozhraní. Tuto vrstvu naše vzorky samozřejmě neobsahovaly.

Dalším využitím jednoduché rázové vlny, které zkoumá tato práce, je poškození nádorové tkáně *in vivo*. Výsledky ukázaly, že jednoduchá RV je schopna způsobit poškození nádorové tkáně. Místo poškození koresponduje s tvarem ohniska a je ostře odděleno od nepoškozené tkáně. Princip, kterým dochází k poškození nádorové tkáně, je odlišný než u tandemových rázových vln. Zde hraje největší roli mechanické poškození způsobené pozitivním tlakem, který dosahuje 372 MPa. Amplituda rázové vlny je uvnitř tkáně pravděpodobně nižší, měření ukazují, že dochází k 20 – 30% snížení amplitudy oproti měření ve vodě [29,30]. Jak velkou roli zde hrají kavitace, je obtížné určit. Jejich účinek je totiž obtížné odlišit od účinku, který je způsoben mechanickým namáháním.

U tandemových rázových vln jsme zkoumali možné využití pro onkologické aplikace. Nejprve jsme prováděli experimenty s buňkami, kde bylo cílem zjistit, jestli tandemová rázová vlna dokáže interagovat s objekty buněčných rozměrů. Ukázalo se, že způsobuje hemolýzu a také poškození buněk melanomu B-16. Dále jsme zkoumali, jestli tandemová rázová vlna dokáže způsobit poškození v akusticky homogenním prostředí v hloubce *in vivo*. Ukázalo se, že ve stehenním svalu králíka i v játerní tkáni potkana dokáže tandemová RV způsobit poškození. To je ostře ohraničeno a odděleno od zdravé tkáně a tvarem odpovídá průchodu RV. Struktury, které leží nad ohniskem, jsou bez poškození. V neposlední řadě jsme se zabývali možnostmi kombinovat aplikaci tandemových RV se současným podáváním chemoterapeutik a fotosenzitizeru. Zde se prokázalo, že dochází ke snížení růstu nádorové tkáně oproti kontrole i oproti samotné tandemové RV i samotnému chemoterapeutiku či fotosenzitizeru.

Bylo zjištěno, že největšího účinku dosahují tandemové RV, pokud je zpoždění mezi jednotlivými vlnami 8-15  $\mu$ s. Druhá vlna pak dosahuje negativního tlaku pod -80 MPa a dochází tak k velké produkci kavitací.

Tandemové rázové vlny principiálně fungují tak, že v akusticky homogenním prostředí vytvoří nehomogenitu v podobě kavitací a na této nehomogenitě může druhá vlna disipovat. Významnou roli zde hrají také kavitace, které jsou schopné permeabilizovat membránu buněk a usnadnit tak prostup některých látek (chemoterapeutik a fotosenzitizeru) a také vytvářejí sekundární rázové vlny, které způsobují poškození tkáně.

Podařilo se také sestrojít funkční vzorek klinicky použitelného aplikátoru rázových vln (jednoduchých i tandemových) s novým zdrojem RV. Tento aplikátor může být využit v několika oblastech medicíny.

## 6 Závěry

V disertační práci jsem navázal na svou bakalářskou a diplomovou práci. V teoretické části byl shrnut dosavadní vývoj a uplatnění rázových vln v medicíně u nás i v zahraničí a byly popsány dosud publikované biologické účinky rázové vlny. V úvodu jsou také uvedeny popisy konstrukce přístrojů pro aplikaci rázových vln.

Výsledky zkoušek zcela nového generátoru rázové vlny jsou prezentovány v publikacích, které jsou součástí práce. K těmto publikacím je na začátku vždy krátký komentář. Výsledkem práce je experimentální ověření možností různého klinického využití jednoduché a tandemové rázové vlny. Pro jednoduchou rázovou vlnu je to oblast ortopedie, kde bylo experimentálně ověřena schopnost RV narušit spojení kosti a kostního cementu. Tento účinek by byl vhodný pro reoperace kloubních náhrad, kdy je problémem extrakce cementu z kostní dutiny. Aplikace rázových vln by usnadnila extrakci cementu a snížilo by se tak riziko, které pacientům při tomto druhu výkonu hrozí. Aplikace rázové vlny je neinvazivní metoda, pacienta by tedy zbytečně nezatěžovala. V práci jsou prezentovány výsledky předběžných experimentů, proto bude třeba provést další experimenty, než bude možné tuto metodu použít v praxi.

Dále je to oblast onkologie a to jak pro jednoduchou tak pro tandemovou rázovou vlnu. Z experimentů je patrné, že RV je schopna způsobit poškození *in vitro* i *in vivo*. Dokáže poškodit a zničit nádorovou tkáň v místě ohniska. Okolní měkké tkáně jsou bez poškození. V kombinaci s chemoterapeutiky či fotosenzitizérem zpomaluje růst nádorové tkáně. Zde se uplatňuje schopnost permeabilizovat buněčnou membránu, což je další možná oblast uplatnění.

Je tedy možné využít rázových vln v oblasti onkologie a to buď samotné vlny, nebo jejich kombinaci s jinými chemickými látkami. Za první vhodnou indikaci této léčby je považováno působení na neoperabilní metastázy jater u karcinomu pankreatu. Jednalo by se o podporu podávané chemoterapie. Na základě výsledků bude navrženo použití i u dalších indikací.

Pro tyto aplikace byl zhotoven funkční vzorek klinicky použitelného aplikátoru rázových vln s novým zdrojem.

## 7 Použitá literatura

- [1] MORNSTEIN, Vojtěch. Ultrazvuk v biologii a medicíně. Vesmír. 1995, 74(10), 566.
- [2] LOSKE, Achim M. The role of energy density and acoustic cavitation in shock wave lithotripsy. Ultrasonics [online]. 2010, 50(2), 300-305
- [3] LUKES, P., F. FERNÁNDEZ, J. GUTIÉRREZ-ACEVES, E. FERNÁNDEZ, U. M. ALVAREZ, P. SUNKA a A. M. LOSKE. Tandem shock waves in medicine and biology: a review of potential applications and successes. Shock Waves [online]. 2016, 26(1), 1-23
- [4] MCCLURE, Scott R., David VAN SICKLE a M. Randy WHITE. Effects of Extracorporeal Shock Wave Therapy on Bone. Veterinary Surgery [online]. 2004, 33(1), 40-48
- [5] ROMEO, Pietro, Vito LAVANGA, Davide PAGANI a Valerio SANSONE. Extracorporeal Shock Wave Therapy in Musculoskeletal Disorders: A Review. Medical Principles and Practice[online]. 2014, 23(1), 7-13
- [6] LEWIS, G. Effect Of Lithotripter Treatment On The Fracture-Toughness Of Acrylic Bone-Cement. Biomaterials. 1992, 13(4), 225-229.
- [7] WEINSTEIN, JN, DM OSTER, J PARK, S PARK, a S LOENING. The effect of the extracorporeal shock-wave lithotripter on the bone-cement interface in dogs. Clinical orthopaedics and related research 1988, 261-267.
- [8] STRANNE, SK et al. Would revision arthroplasty be facilitated by extracorporeal shock-wave lithotripsy - an evaluation including whole bone strength in dogs. Clinical orthopaedics and related research 1993,252-258.

- [9] ZEMAN, Jan. Biologické účinky rázových vln generovaných mnohokanálovým výbojem [Biological effects of shock waves generated by multichannel discharge]. Praha, 2011. 76 s.
- [10] WOLFRUM, B. Cavitation and shock wave effects on biological systems. Dissertation 2004
- [11] KODAMA, Tetsuya, Apostolos G. DOUKAS a Michael R. HAMBLIN. Delivery of ribosome-inactivating protein toxin into cancer cells with shock waves. *Cancer Letters* [online]. 2003, 189(1), 69-75
- [12] DELIUS, Michael. Twenty Years of Shock Wave Research at the Institute for Surgical Research. *European Surgical Research* [online]. 2002-7-1, 34(1-2), 30-36
- [13] LAUER, U, E BÜRGELET, Z SQUIRE, K MESSMER, P H HOFSCHEIDER, M GREGOR a M DELIUS. Shock wave permeabilization as a new gene transfer method. *Gene Therapy* [online]. 4(7), 710-715
- [14] OHL, Claus-Dieter, Manish ARORA, Roy IKINK, Nico DE JONG, Michel VERSLUIS, Michael DELIUS a Detlef LOHSE. Sonoporation from Jetting Cavitation Bubbles. *Biophysical Journal* [online]. 2006, 91(11), 4285-4295
- [15] OHL, Claus-Dieter a Bernhard WOLFRUM. Detachment and sonoporation of adherent HeLa-cells by shock wave-induced cavitation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* [online]. 2003, 1624(1-3), 131-138
- [16] SHIMOKAWA, Hiroaki, Kenta ITO, Yoshihiro FUKUMOTO a Satoshi YASUDA. Extracorporeal cardiac shock wave therapy for ischemic heart disease. *Shock Waves* [online]. 2008, 17(6), 449-455
- [17] ZIMPFER, Daniel, Seyedhossein AHARINEJAD, Johannes HOLFELD, et al. Direct epicardial shock wave therapy improves ventricular function and induces angiogenesis in ischemic heart failure. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* [online]. 2009, 137(4), 963-970



- [18] JARGIN, Sergei V. Shock wave therapy of ischemic heart disease in the light of general pathology. *International Journal of Cardiology* [online]. 2010, 144(1), 116-117
- [19] ITO, Kenta, Yoshihiro FUKUMOTO a Hiroaki SHIMOKAWA. Extracorporeal Shock Wave Therapy for Ischemic Cardiovascular Disorders. *American Journal Cardiovascular Drugs*[online]. 2011, 11(5), 295-302
- [20] YANG, Ping, Tao GUO, Wei WANG, et al. Randomized and double-blind controlled clinical trial of extracorporeal cardiac shock wave therapy for coronary heart disease. *Heart and Vessels*[online]. 2013, 28(3), 284-291
- [21] WANG, W., H. LIU, M. SONG, W. FANG a F. YUAN. Clinical Effect of Cardiac Shock Wave Therapy on Myocardial Ischemia in Patients With Ischemic Heart Failure. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* [online]. 2016, 21(4), 381-387
- [22] VARDI, Yoram, Boaz APPEL, Giris JACOB, Omar MASSARWI a Ilan GRUENWALD. Can Low-Intensity Extracorporeal Shockwave Therapy Improve Erectile Function? A 6-Month Follow-up Pilot Study in Patients with Organic Erectile Dysfunction. *European Urology* [online]. 2010,58(2), 243-248
- [23] PELAYO-NIETO, M., E. LINDEN-CASTRO, A. ALIAS-MELGAR, D. ESPINOSA-PÉREZ GROVAS, F. CARREÑO-DE LA ROSA, F. BERTRAND-NORIEGA a R. CORTEZ-BETANCOURT. Terapia de ondas de choque lineales en el tratamiento de la disfunción eréctil. *Actas Urológicas Españolas*[online]. 2015, 39(7), 456-459
- [24] PAN, M. M., A. RAEES a J. R. KOVAC. Low-Intensity Extracorporeal Shock Wave as a Novel Treatment for Erectile Dysfunction. *American Journal of Men's Health* [online]. 2016, 10(2), 146-148
- [25] MARIOTTO, Sofia, Elisabetta CAVALIERI, Ernesto AMELIO, Anna Rosa CIAMPA, Alessandra Carcereri DE PRATI, Ernst MARLINGHAUS, Sergio RUSSO a Hisanori SUZUKI.

- Extracorporeal shock waves: From lithotripsy to anti-inflammatory action by NO production. Nitric Oxide[online]. 2005, 12(2), 89-96
- [26] SUNKA PAVEL DOC ING CSC (CZ); BABICKY VACLAV RNDR (CZ); (+3). Generation method of focused shock wave by electric discharge in a liquid and apparatus for making the same. CZ20001513. Česká republika. Patentový spis. 2002-08-14.
- [27] SUNKA PAVEL DOC ING CSC (CZ); BABICKY VACLAV RNDR (CZ); (+2). Method of generating spacious corona discharge in water and apparatus for making the same. CZ9601596. Česká republika. Patentový spis. 1997-08-13.
- [28] SCHREURS, B. W., A. F. BIERKENS, R. HUISKES, A. J. M. HENDRIKX a T. J. J. H. SLOOFF. The effect of the extracorporeal shock wave lithotripter on bone cement. Journal of Biomedical Materials Research [online]. 1991, 25(2), 157-164
- [29] DELIUS, Michael, G. ENDERS, G. HEINE, J. STARK, K. REMBERGER a W. BRENDEL. Biological effects of shock waves: Lung hemorrhage by shock waves in dogs—pressure dependence. Ultrasound in Medicine & Biology [online]. 1987, 13(2), 61-67
- [30] CLEVELAND, Robin O., David A. LIFSHITZ, Bret A. CONNORS, Andrew P. EVAN, Lynn R. WILLIS a Lawrence A. CRUM. In Vivo Pressure Measurements of Lithotripsy Shock Waves in Pigs. Ultrasound in Medicine & Biology [online]. 1998, 24(2), 293-306

## 8 Seznam publikací doktoranda v tomto uspořádání:

### 1. publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertace

#### a) s impact factorem

1. **Zeman, J.**, Hach, J., Mikulaková, W., Derňarová, L., Eliášová, A., Lukeš, P., Balážová L., Beneš, J. (2016) A Model of the Action of the Shockwave Generated by a Multichannel Discharge on the Union of Bone Tissue with Bone Cement. *In Vivo*. 30(3), 237-242. IF 0,832
2. Lukes P., **Zeman J.**, Horak V., et al. (2015) In vivo effects of focused shock waves on tumor tissue visualized by fluorescence staining techniques. *Bioelectrochemistry* [online], 103, 103-110. IF 3,556
3. Lukes, P., Sunka, P., Hoffer, P., Stelmashuk, V., Pouckova, P., Zadinova, M., **Zeman, J.**, Dibdiak, L., Kolarova, H., Tomankova, K., Binder, S., Benes, J. (2014). Focused tandem shock waves in water and their potential application in cancer treatment. *Shock Waves*. 24(1), 51-57. IF 0,885
4. Benes J., **Zeman J.**, Pouckova P., Zadinova M., Sunka P. (2012) Biological effects of tandem shock waves demonstrated on magnetic resonance. *BRATISL MED J*, 113(6), 335–338. IF 0,472
5. Beneš J., Poučková P., **Zeman J.**, Zadinová M., Šunka P., Lukeš P., Kolářová H. (2011) Effects of tandem shock waves combined with Photosan and cytostatics on growth of tumours. *Folia Biologica*, 57(6), 255-260. IF 1,151

## b) bez IF

1. **Zeman, J.**, Hach, J., Dibdiak, L., Šunka, P., Lukeš, P., Hoffer, P., Sedláček, R., Kociová, K., Beneš, J., (2012), Účinek rázové vlny na kostní cement a její potenciální využití v ortopedii. *Ortopedie*. 6(3), 100-102. Recenzovaný časopis
2. Lukeš P., Šunka P., Hoffer P., Stelmashuk V., Beneš J., Poučková P., Zadinová M., **Zeman J.**, Dibdiak L., Kolářová H., Tománková K., Binder S. (2012) Focused tandem shock waves in water and their potential application in cancer treatment, In: 28th International Symposium on Shock Waves, (Ed. K. Kontis), Heidelberg: Springer, ISBN:978-3-642-25687-5
3. Lukeš P., Šunka P., Hoffer P., Stelmashuk V., Beneš J., Poučková P., Zadinová M., **Zeman J.** (2012) Generation of focused shock waves in water for biomedical applications, in: Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security, Series NATO Science for Peace and Security Series - A: Chemistry and Biology, (Eds. Z. Machala, K. Hensel, Y. Akishev), Springer, ISBN 978-94-007-2851-6,
4. **Zeman J.**, Beneš J., Poučková P., Zadinová M., Šunka P., Lukeš P. (2011) Biologické účinky nového zdroje rázových vln. In *Experimentální výzkum v medicíně a jeho klinická aplikace*. Plzeň: Euroverlag, s. 36. ISBN 978-80-7177-993-3.
5. Lukeš P., Šunka P., Hoffer P., Stelmashuk V., Beneš J., Poučková P., Zadinová M., **Zeman J.**, Dibdiak L., Kolářová H., Tománková K., Binder S. (2011) Focused tandem shock waves in water and their potential application in cancer treatment, In: *Proceedings of 28th International Symposium on Shock Waves*, Manchester: Springer Verlag, 2011. P-2849-P-2849. ISBN 978-3-642-25687-5.
6. **Zeman, J.**, et al. (2011) Účinky rázové vlny na spojení kosti a kostního cementu. In *Sborník abstrakt : XXXIV. Dnů*

lékařské biofyziky. Plzeň : Ústav biofyziky LF UK v Plzni. s. 60. ISBN 978-80-254-9898-9.

7. Lukeš P., Šunka P., Hoffer P., Stelmashuk V., Beneš J., Poučková P., Zadinová M., **Zeman J.**, Dibdiak L., Kolářova H., Tománková K. (2011) Generator of focused shock waves in water for biomedical applications, In: Book of Abstracts: NATO Advanced Research Workshop on Plasma for bio-decontamination, medicine and food security, (Eds. K. Hensel and Z. Machala), March 15-18, 2011, Jasna, Slovakia, p. 67-68
8. Beneš J., Poučková P., **Zeman J.**, Dibdiak L., Šunka P., Lukeš P. (2011) Tandemové rázové vlny a možnosti jejich využití v klinické praxi, In: Sborník abstrakt: 34. Dny lékařské biofyziky, Plzeň, ČR, 1.-3.6. 2011

## 2. publikace *in extenso* bez vztahu k tématu disertace

### a) s IF

1. Prochazka, A., Dammer, J., Weyda, F., Sopko, V., Benes, J., **Zeman J.**, Jandejsek, I. Biological object recognition in  $\mu$ -radiography images. Journal of Instrumentation [online]. 2015, 10(03), C03023-C03023. IF 1,31

### b) bez IF

1. Lukes, P. Sunka, P. Hoffer, P. Stelmashuk, V. Benes, J. Pouckova, P. **Zeman, J.** Targeted lesions of soft animal tissues induced by tandem shockwaves. V 2010 Abstracts IEEE International Conference on Plasma Science, 1-1, [Norfolk, VA, USA], 2010
2. Lukeš P., Šunka P., Hoffer P., Stelmashuk V., Beneš J., Poučková P., **Zeman J.**, Amler E. (2010) Focused tandem shock waves an their potential application in cancer

treatment, Book of Extended Abstracts of Potential and Application of Nanotreatment of Medical Surfaces (PANMS), (eds. Hájková P., Pazourek A.), Liberec, Czech Republic, 30.8.-1.9. 2010, p. 17-18, ISBN: 978-80-7372-631-7, Publisher: TU Liberec

3. Lukeš P., Šunka P., Hoffer P., Stelmashuk V., Beneš J., Poučková P., **Zeman J.** (2010) Interaction of focused tandem shock waves with soft animal tissue, Book of Abstracts - 3rd International Conference on Plasma Medicine (ICPM-3), (ed. K.-D. Weltmann), Greifswald, Germany, 19.9.-24.9. 2010, p. 100
4. Lukeš P., Šunka P., Hoffer P., Stelmashuk V., Beneš J., Poučková P., **Zeman J.** (2010) Vzájemná interakce dvou po sobě následujících rázových vln fokusovaných do společného ohniska, Sborník abstrakt - XXXIII. Dny lékařské biofyziky, (eds. Mornstein V., Vlk D.), Mikulov, ČR, 2.6.-4.6. 2010, p. 43, ISBN: 978-80-7399-952-9, Publisher: Tribun EU Brno
5. **Zeman J.**, Beneš J., Poučková P., Zadinová M., Šunka P., Lukeš P., Hájek M., Dezortová M., Herynek V. (2010) Účinky tandemové rázové vlny prokázané na magnetické rezonanci, Sborník abstrakt - XXXIII. Dny lékařské biofyziky, (eds. Mornstein V., Vlk D.), Mikulov, ČR, 2.6.-4.6. 2010, p. 71, ISBN: 978-80-7399-952-9, Publisher: Tribun EU Brno