Patologie 1-07 8.1.2007 13:00 Str. 9
proLékaře.cz | 27.10.2026

Využitie tkanivových kultúr pri simulovaní dekompresnej choroby

Palkovič M.[1], Novomeský F.[2], Zaviačič M.[1], Danihel Ľ.[1], Kováč P.[3], Danišovič Ľ.[4]

Ústav patologickej anatómie LF UK, Bratislava
Ústav súdneho lekárstva JLF UK, Martin
Ústav súdneho lekárstva LF UK, Bratislava
Ústav lekárskej biológie a genetiky LF UK, Bratislava

Súhrn

Športové a technické potápanie sa stali v ostatných dvadsiatich rokoch nezvyčajne populárnymi. Dovtedy bolo potápanie len prioritou polície, vojska a vedcov. Dnes sa stále viac a viac ľudí vystavuje podmienkam abnormálne zvýšeného okolitého tlaku. To nesie so sebou určité riziká. K najvážnejším patrí dekompresná choroba. Aj napriek najmodernejším výskumom, nie je mechanizmus dekompresnej choroby vo všetkých jej parametroch objasnený. Väčšina experimentov sa orientuje na simulovanie dekompresie v živých organizmoch. Zväčša dochádza k ich úmrtiu. Zásadným novým prístupom v predkladanej práci je použitie pracovného média in vitro ako prostriedku na vizualizáciu dekompresných zmien.
Cieľom predkladanej práce je objasnenie možnosti a vhodnosti využitia tkanivových kultúr na simulovanie dekompresie in vitro, vypracovanie spôsobu vizualizácie a hodnotenia plynových bublín vzniknutých in vitro, simulovanie tvorby bublín pri reálnom dekompresnom ponore s použitím vzduchu ako kompresnej a izokompresnej plynovej zmesi a s použitím EANx50 ako dekompresnej plynovej zmesi.
Ako simulované médium sme si zvolili štandardizované tkanivové kultúry z ľudských fibroblastov B-HEF-2 a tkanivové kultúry z neuroblastových buniek N2A myší. Dekompresiu sme rozdelili do dvoch profilov. „Explozívny" dekompresný profil s lineárnou kompresiou do vysokého tlaku (50 bar) a náhlou dekompresiou na atmosférický tlak (1 bar). Reálny dekompresný profil predstavuje ponor s použitím vzduchu ako kompresného a izokompresného plynu a EANx50 ako dekompresného plynu. Naplánovali sme ho s použitím VPM-B modelu dekompresie softvérom V-Planner v.3.62.
Naše najnovšie experimentálne štúdie poukazujú na možnosť fragmentácie DNA a aktiváciu apoptózy po dekompresnom šoku. Využitie tkanivových kultúr sa v tomto prípade javí ako veľmi vhodné pre ďalšie štúdium dekompresných zmien na celulárnej a subcelulárnej úrovni.

Kľúčové slová: dekompresia – dekompresná choroba – dekompresný šok – tkanivové kultúry – VPM – B-HEF-2 – N2A – fibroblast, neuroblast

Summary
The Use of Cell Cultures for in Vitro Decompression Sickness Simulation

Recreational and technical diving in the past twenty years have become extraordinary popular. Until then diving was a priority of police, army and scientists. Today more and more enthusiasts are exposed to abnormally high surrounding pressure. To the severest of all risks associated with diving, decompression sickness is the greatest threat. Even the most advanced scientific approaches yet did not reveal the complex mechanisms of decompression sickness formation. The majority of experiments use a live model for decompression sickness studies. This is associated with high fatality rate. The new approach of this scientific study is in the use of an in vitro working media as a means of visualization of gas bubbles due to decompression.
The aim of this study is to bring above new approaches in in vitro gas bubble formation during decompression. Main goals are: development of in vitro inert gas bubble visualization and evaluation techniques after a real decompression dive with air a as the diving gas and EANx50 as a decompression gas.
We selected cell cultures derived from human fibroblasts B-HEF-2 and cell cultures of mice N2A neuroblasts. We used two decompression profiles. "Explosive" decompression profile with a linear compression to overpressure of 50 bar with an rapid decompression to atmospheric pressure (1 bar). In simulation of a realistic decompression profile we used compressed air as a mean for compression and isocompression breathing gas and an EANx50 blend as a decompression breathing gas. This dive was planned with the use of a VPM-B decompression profile by V-Planner software v.3.62.
Our latest experiments show that DNA fragmentation and apoptosis is activated during decompression shock. Use of culture cells can be of great value in further studies of decompression changes in the cellular and subcellular level.

Key words: decompression – decompression sickness – decompression shock – fibroblast – neuroblast – cell cultures – VPM – B-HEF-2 – N2A

Soud Lék., 52, 2007, No. 1, p. 9–16

proLékaře.cz | 27.10.2026

Úvod

Snahy človeka o prienik pod vodu majú stáročnú históriu; potápači zostupovali do hlbín v rôznych skafandroch, poplatných technickému rozvoju tej doby, ponajprv za prácou. Neskôr možnosť krátkodobého pobytu človeka pod vodou oslovila vojsko, políciu či vedcov. Vynálezy nezávislého dýchacieho prístroja (Le Prieur, 1926, J.-Y. Cousteau, 1943) umožnili vstup do hlbín mora aj amatérskym potápačom a tak sa po 2. svetovej vojne rady nadšencov tohto nového športu začali rýchlo rozrastať. Osobitne v prímorských štátoch, no od 50. rokov aj u nás vznikla početná skupina ľudí, vystavujúcich sa z rôznych príčin – pracovných či rekreačných – vodnému prostrediu so zvýšeným tlakom. Objavili sa tak staronové patofyziologické riziká pobytu človeka v pretlaku, najmä dekompresná choroba potápačov (DCS). Táto osobitná, doposiaľ nie celkom poznaná nozologická jednotka, známa už od vynálezu ťažkého skafandra s prilbou (Siebe, 1837), zrazu prenikla ako inherentné riziko potápania aj do skupiny potápačov rekreačných, dosahujúcich taktiež značné hĺbky ponorov.

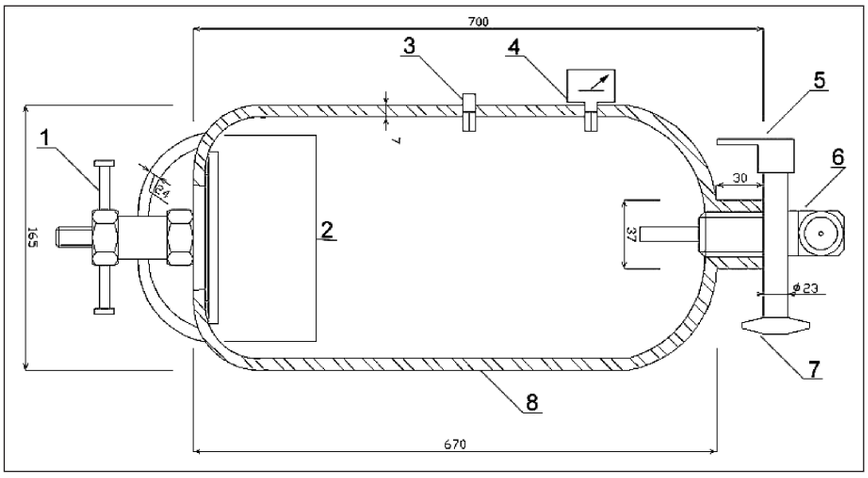
Pri rekreačnom potápaní je najčastejšie používanou dýchacou zmesou stlačený vzduch. Pri potápaní sú najpodstatnejšie jeho dve zložky – kyslík (20,98 %) a dusík (78,02 %). Pri narastajúcej hĺbke stúpa okolitý tzv. hydrostatický tlak. Pri jeho pôsobení a pod vplyvom dýchania vzduchu pod zvýšeným tlakom dochádza k postupnému nasycovaniu všetkých ľudských tkanív nemetabolizovaným dusíkom. Množstvo fyzikálne rozpusteného dusíka v ľudských štruktúrach závisí od hĺbky a času strávenom v nej. Pri náhlom poklese (napr. pri rýchlom vynorení) dochádza k uvoľneniu v tkanivách rozpusteného dusíka, pričom sa formuje plynová bublina (podobne ako pri rýchlom otvorení minerálnej vody). Takáto bublina predstavuje základ dekompresnej choroby. V ostatnom období sa na redukovanie množstva saturovaného dusíka v tkanivách používajú kyslíkom obohatené kompresné a izokompresné zmesi (EANx – Enriched Air Nitrox) s 32% (EANx32), resp. 36% (EANx36) obsahom kyslíka. Alternatívne sa tieto zmesi používajú aj ako dekompresné dýchacie zmesi (najčastejšie EANx50 obsahujúca 50 % dusíka a 50 % kyslíka).

Plynová bublina vzniknutá dekompesiou môže na ľudský organizmus pôsobiť buď primárne, alebo sekundárne. K primárnemu (mechanickému) vplyvu patrí obštrukcia ciev, deštrukcia a deformácia tkanív a orgánov. K sekundárnemu (interakčnému) vplyvu patrí aktivácia enzýmov – Hagemanovho faktoru, kinínového a komplementového systému, aktivácia trombocytov, zvýšenie viskozity krvi a podobne. Dodnes nie je patologický vplyv plynovej bubliny v ľudskom organizme v celom rozsahu objasnený.

Predkladaná práca má za cieľ priniesť nové poznatky o simulácii tvorby bublín v živočíšnych tkanivách pri dekompresii *in vitro*, bez potreby skúmania živých organizmov.

Materiál a metódy

Na vytvorenie dekompresie sme použili nami navrhnutú a skonštruovanú dekompresnú komoru (obr. 1).



Obr. 1. Schéma konštrukcie experimentálnej pretlakovej komory
1 – vonkajšia časť uzáveru s krídlovou matkou, 2 – vnútorná časť uzáveru fľaše, 3 – poistný pretlakový ventil, 4 – tlakomer, 5 – telo ventilu fľaše, 6 – INT/DIN pripojenie na ventil fľaše, 7 – regulátor napúšťania, 8 – telo komory

Podobne ako pri našich skorších štúdiách s agarovou pôdou, sme aj pri experimentoch s tkanivovými kultúrami vychádzali z nasledujúcich parametrov simulovaného média. Patrili medzi ne:

- jednoduchosť prípravy dekompresného prostredia,
- jednoduchosť vyhodnocovania zmien,
- meniteľnosť hustoty experimentálneho média a teda simulácia saturačného správania sa akéhokoľvek Haldaneho (Bühlmannovho) kompartmentu,
- miešateľnosť s inými roztokmi (farmakami),

Patologie 1-07 8.1.2007 13:00 Str. 11
proLékaře.cz | 27.10.2026

- médium musí byť ovplyvniteľné rekompresiou,
- médium musí odolať pôsobeniu kyslíka pri jeho vyšších parciálnych tlakoch.

Závery z našich predchádzajúcich štúdií s krvným agarom sa ukázali ako veľmi vhodné pre „hrubé“ štúdie dekompresie (Palkovič 2004, Palkovič 2005). Keďže nami pripravené agarové pôdy nemajú všetky vlastnosti živého média, rozhodli sme sa experimentálne použiť aj tkanivové kultúry z ľudských fibroblastov kmeňa B-HEF-2 a z buniek neuroblastovej línie N2A myší. Fibroblast predstavuje spojovaciu bunku prítomnú vo väčšine ľudských tkanív. Môžeme ju chápať samostatne aj v *in vitro* monovrstve ako kompartment.

Ľudské fibroblasty B-HEF-2

Ľudské fibroblasty sme získali kultiváciou tkanív získaných pri nekroptickom odbere z kože a štvorhlavého svalu trojmesačných plodov (Popovič 1979). Takto získané bunky sme ďalej kultivovali v Eaglovom minimálnom esenciálnom roztoku (MEM-E, GIBCO, Carlsbad, CA, USA) s 10 % fetálnym kolostrálnym sérom a gentamycínom (LEK, Ljubljana, Slovinsko) v konečnej koncentrácii 160 $\mu g.ml^{-1}$. Bunkové kultúry sme inkubovali v humidifikovanej atmosfére s 5 % CO_2 pri 37 °C. Po negatívnom výsledku mykoplazmového testu (Chen 1977), sme bunky v druhej pasáži zmrazili štandardným spôsobom (Dougherty 1962). Zmrazené bunky sme uskladnili v tekutom dusíku v plastických nádobách (SIGMA, Houston, Texas, USA). Pri našom experimente sme po rozmrazení buniek najprv vyhodnotili ich životnosť trypanovou modrou (Margulies 1991). Bunky sme potom premiestnili do Petriho misiek s priemerom 35 mm a 60 mm (SARSTEDT, Nümbrecht, Nemecko) v roztoku MEM-E (PAN BIOTECH, Aidenbach, Nemecko) s 10 % fetálnym teľacím sérom (PAN BIOTECH, Aidenbach, Nemecko) a gentamycínom v bunkovej koncentrácii 160 $\mu g.ml^{-1}$. Bunkové kultúry sme inkubovali pri 37 °C vo vlhkom prostredí s 5 % koncentráciou CO_2. Časť buniek B-HEF-2 sme kultivovali na dne Petriho misiek, časť sme kultivovali na podložných sklíčkach ponorených v Petriho miske s MEM-E roztokom. Roztok bunkových kultúr sme menili raz za dva dni.

Bunky neuroblastovej línie N2A myší

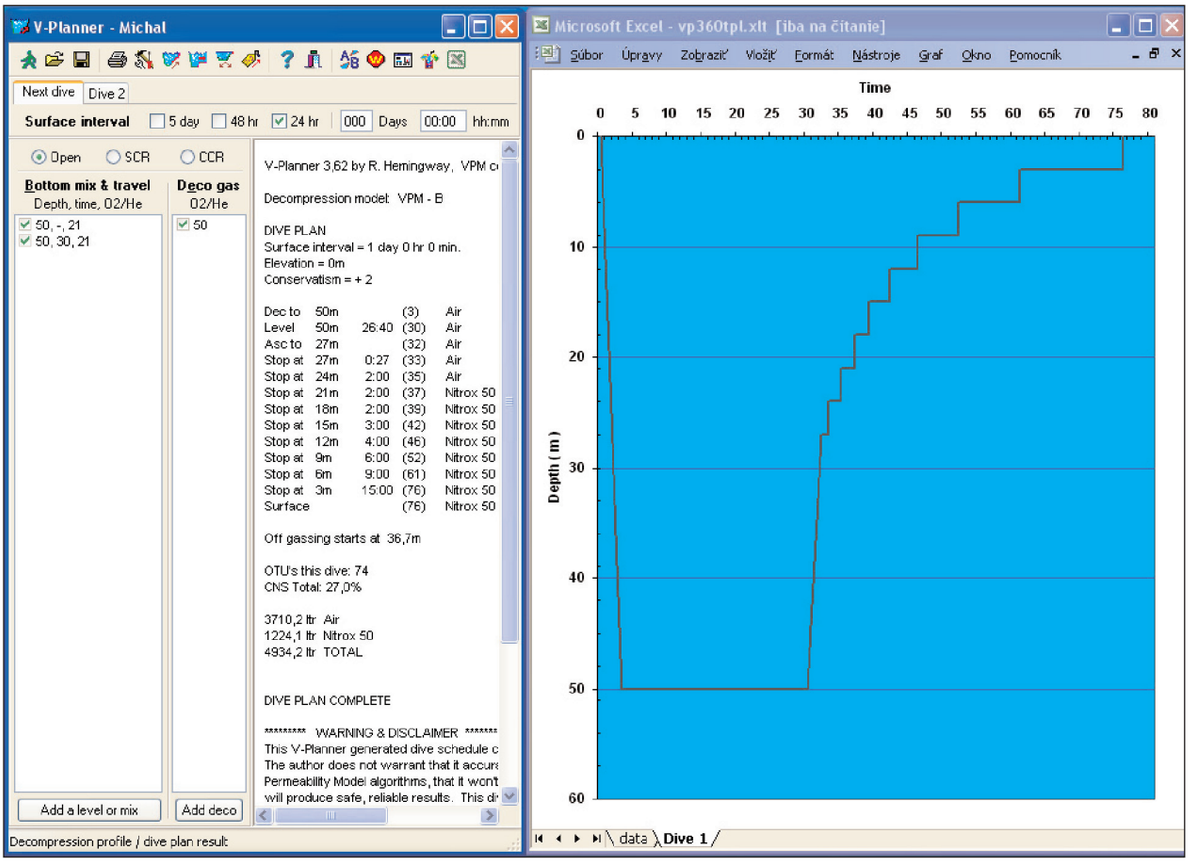
Neuroblastovú líniu buniek N2A myší sme získali z Anatomického ústavu LFUK v Bratislave. Bunkové kultúry sme inkubovali v humidifikovanej atmosfére s 5 % CO2 pri 37 °C. Bunky sme vložili do Petriho misiek s priemerom 60mm (SARSTEDT, Nümbrecht, Nemecko) s Eaglovým minimálnym esenciálnym roztokom (MEM-E, GIBCO, Carlsbad, CA, USA). Toto médium sme obohatili o neesenciálne aminokyseliny, L-glutamín a 10% fetálne teľacie sérum (PAN BIOTECH, Aidenbach, Nemecko). Na pasáž buniek sme použili 0,2% kyselinu etyléndiamín tetraoctovú (EDTA) a 0,25% trypsín (PAN BIOTECH, Aidenbach, Nemecko). Bunkové kultúry sme inkubovali pri 37 °C vo vlhkom prostredí s 5% koncentráciou CO_2. Časť buniek N2A sme kultivovali na dne Petriho misiek, časť sme kultivovali na podložných sklíčkach ponorených v Petriho miske s MEM-E (GIBCO, Carlsbad, CA, USA) roztokom. Roztok bunkových kultúr sme menili raz za dva dni.

Bez ohľadu na typ tkanivovej kultúry, na tretí deň kultivácie sme bunky odoberali pre dekompresný experiment. Po vykonaní dekompresie sme živný roztok zliali a Petriho misku nechali hodinu sušiť pri izbovej teplote. Farbili sme ju metódou podľa Giemsu a Romanovského (tab. 1). Dekompresné zmeny sme vyhodnocovali štandardným svetelným mikroskopom pri rôznych zväčšeniach (40x, 100x, 200x, 300x).

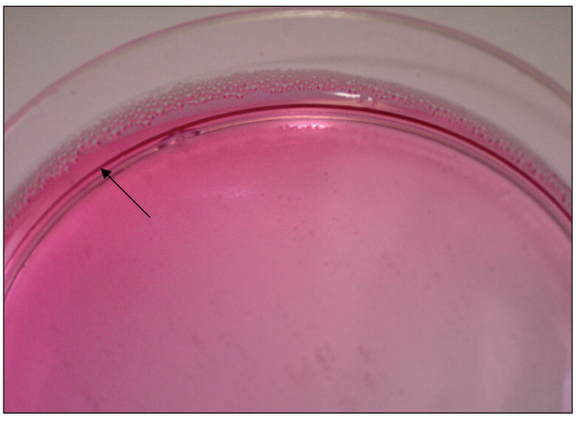
Pre štúdium dekompresných zmien sme si zvoli dva profily. Prvý ***„explozívny“ dekompresný profil*** s lineárnou kompresiou do vysokého tlaku (50 bar) a náhlou dekompresiou na barosférický tlak (1 bar). Názov „explozívny“ sme použili len v prenesenom zmysle slova, keďže v skutočnosti ide len o profil náhleho poklesu tlaku. Druhý ***reálny dekompresný profil*** predstavuje ponor s použitím vzduchu ako kompresného a izokompresného plynu s postupnou kompresiou na absolútny tlak 6 bar (50 m hĺbka), izokompresiou v dĺžke 30 minút a dekompresiou s požitím EANx50 ako dekompresného plynu. Takýto ponor robí denne množstvo potápačov. Reálny dekompresný ponor sme naplánovali použitím najmodernejšieho VPM-B modelu dekompresie pomocou softvéru V-Planner v.3.62 (HHS Software, Otava, Kanada) (Obr. 2). *Varying Permeability Model* (VPM) dekompresie je jeden z najnovších a najčastejšie používaných empiricko-matematických modelov dekompresie (Yount 1986, Yount 2000).

Na makroskopické sledovanie vzniknutých bublín v agarových pôdach sme použili stolový A4 skener 6699-OTE firmy BENQ (Taipei, Taiwan) so spätnou projekciou pripojeného k štandardnému stolovému počítaču. Softvérové spracovanie sme vykonali grafickým editorom PhotoshopCS2 v.9.0 (ADOBE SYSTEMS INCORPORATED, San Jose, CA, USA) s TWAIN modulom na skenovanie MiraScan 4.0 (BENQ, Taipei, Taiwan). Počet a veľkosť bublín sme merali pomocou Microscope Stereo STAR-24ED (CETI, LiŹge, Belgicko) pri dvoj- a štvornásobnom zväčšení. Samotnú veľkosť bublín sme s presnosťou na 0,1 mm merali gra-

proLékaře.cz | 27.10.2026



Obr. 2. Profil reálneho dekompresného ponoru podľa VPM-B modelu dekompresie (V-Planner v.3.62)



Obr. 3. Tvorba plynových bublín v živnom médiu tkanivových kultúr ľudských fibroblastov 30 minút po „explozívnej“ dekompresii. Stlačený vzduch



Obr. 4. Neprítomnosť tvorby plynových bublín v živnom médiu tkanivových kultúr ľudských fibroblastov 30 minút reálnej dekompresii. Stlačený vzduch

fickým editorom PhotoshopCS2 v.9.0 pri dvojnásobnom zväčšení.

Všetky merania a vyhodnotenia Petriho misiek sme vykonali tridsať minút po „explozívnej“ ako aj „reálnej“ dekompresii. Kontrolu sme robili vo všetkých profiloch, pri všetkých plynových zmesiach a vo všetkých simulovaných médiách.

Výsledky

Celkovo sme vykonali 32 „explozívnych“ dekompresií s analýzou 63 Petriho misiek a 5 reálnych dekompresii s analýzou 30 Petriho misiek.

proLékaře.cz | 27.10.2026

Makroskopický obraz tkanivových kultúr

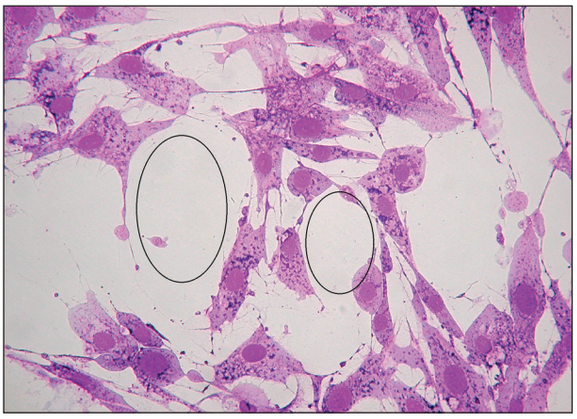
„Explozívny" dekompresný profil

Nezávisle od typu tkanivovej kultúry (ľudských fibroblastov B-HEF-2, neuroblastov N2A myší) ihneď po „explozívnej" dekompresii došlo k tvorbe bublín v živnom roztoku na okraji Petriho misky (obr. 3). Päť minút po dekompresii sme pozorovali maximum tvorby bublín, s následným pozvoľným ustávaním tvorby makroskopicky pozorovateľných bublín. Bubliny nevznikali mimo okrajov Petriho misky.

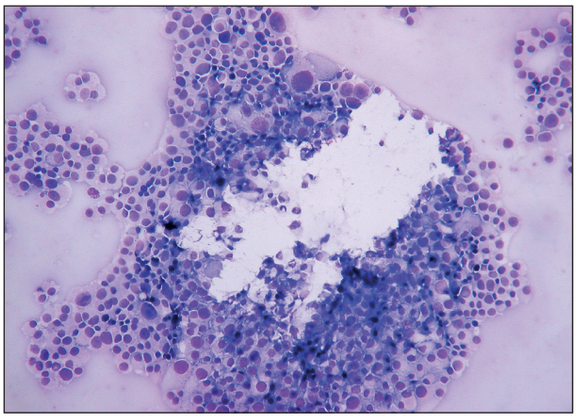
Pri sledovaní počtu plynových bublín v závislosti od ich priemeru 30 minút po „explozívnej" dekompresii bolo najviac malých plynových bublín (0,1–0,3 mm) a najmenej veľkých a veľmi veľkých plynových bublín (> 0,5 mm). Pri použití vzduchu ako dekompresnej zmesi bolo najviac

Tab. 1. Spôsob farbenia

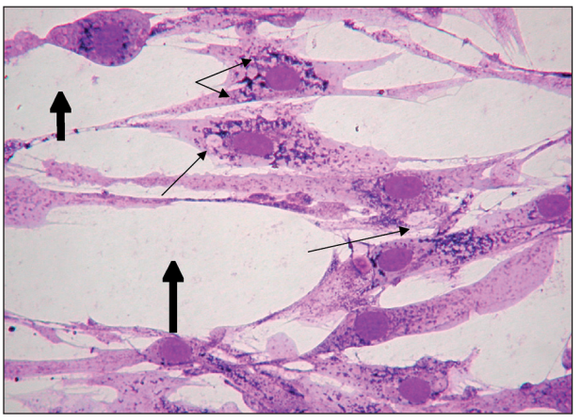
Tkanivové kultúry v Petriho miskách Dno vysušených Petriho misiek sme zaliali roztokom Giemsu a Romanovského pripraveného štandardnou metódou bežnou na našom ústave. Roztok sme nechali pôsobiť 30 minút. Diferenciáciu sme robili v mierne kyslej destilovanej vode pod svetelným mikroskopom. Petriho misky sme nezakrývali.
Tkanivové kultúry na podložných sklíčkach Suché podložné sklíčka. Formol – 5 minút. Pláchanie v destilovanej vode. Farbenie roztokom podľa Giemsu a Romanovského. Ďalší postup ako pri farbení Petriho misiek.
Mokré podložné sklíčka Koncentrovaný metanol – 30 minút. Farbenie roztokom podľa Giemsu a Romanovského. Ďalší postup ako pri farbení Petriho misiek.



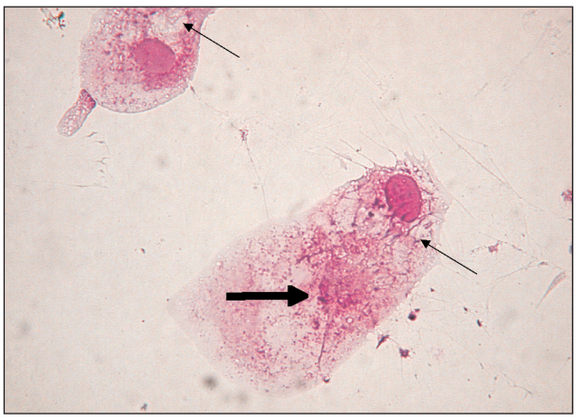
Obr. 5. Tkanivové kultúry z ľudských fibroblastov B-HEF-2 tridsať minút po „explozívnej" dekompresii so znakmi deformácie rastu vplyvom plynových bublín (kruhy). Farbenie podľa Giemsu a Romanovského. 100-krát



Obr. 6. Tkanivové kultúry z neuroblastov N2A myší tridsať minút po „explozívnej" dekompresii so znakmi deformácie rastu vplyvom plynových bublín. Farbenie podľa Giemsu a Romanovského. 100-krát

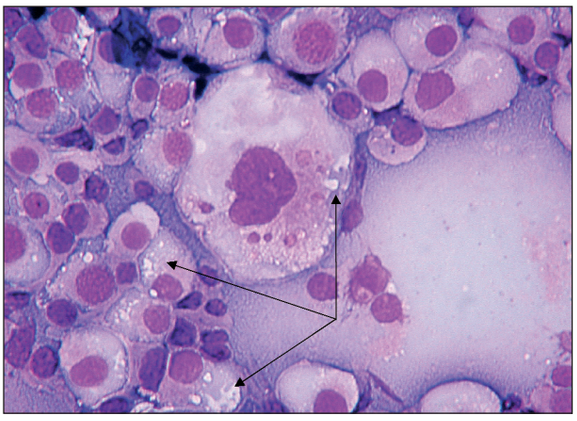


Obr. 7. Tkanivové kultúry z ľudských fibroblastov B-HEF-2 tridsať minút po „explozívnej" dekompresii s početnými plynovými bublinami extracelulárne (hrubé šípky) a intracelulárne (tenké šípky). Farbenie podľa Giemsu a Romanovského. 200-krát

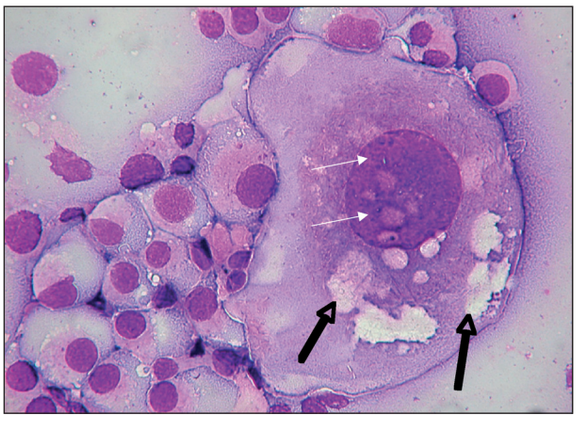


Obr. 8. Detail ľudských fibroblastov B-HEF-2 tridsať minút po „explozívnej" dekompresii s početnými intracelulárnymi plynovými bublinami (tenké šípky) a deštrukciou jadra (hrubá šípka). Farbenie podľa Giemsu a Romanovského. 200-krát

Patologie 1-07 8.1.2007 13:00 Str. 14
proLékaře.cz | 27.10.2026



Obr. 9. Detail neuroblastov N2A myší tridsať minút po „explozívnej“ dekompresii s početnými intracelulárnymi plynovými bublinami (tenké šípky). Farbenie podľa Giemsu a Romanovského. 200-krát



Obr. 10. Detail neuroblastov N2A myší tridsať minút po „explozívnej“ dekompresii s početnými intracelulárnymi (hrubé čierne šípky) a intranukleárnymi (tenké biele šípky) plynovými bublinami. Farbenie podľa Giemsu a Romanovského. 300-krát

stredne veľkých plynových bublín (0,3–0,5 mm) a najmenej veľmi veľkých a veľkých (> 0,5 mm) plynových bublín.

Reálny dekompresný profil

Nezávisle od typu tkanivovej kultúry (ľudských fibroblastov B-HEF-2, neuroblastov N2A myší) a nezávisle od času po reálnej dekompresii sme tvorbu plynových bublín v živnom roztoku Petriho misky makroskopicky nepozorovali (obr. 4).

Histologický obraz tkanivových kultúr

„Explozívny“ dekompresný profil

Vývoj a rozsah zmien boli v obidvoch typoch tkanivových kultúr v celku identické. Vzniknuté plynové bubliny odtláčali a stláčali zoskupenia buniek (obr. 5, obr. 6). Desať až pätnásť minút po dekompresii sa bubliny začali objavovať aj v cytoplazme buniek (obr. 7, obr. 8, obr. 9, obr. 10). Najvýraznejšie zmeny sme pozorovali 30 minút po dekompresii. Bubliny sa vyskytovali aj v cytoplazme a začali sa objavovať aj intranukleárne. Pokiaľ sa bubliny tvorili v cytoplazme, zväčša vznikali v okolí jadra. Zriedkavo dochádzalo k úplnej deštrukcii cytoskeletu a deštrukcii jadra (obr. 8, obr. 10). Množstvo a veľkosť intra- ako aj extracelulárnych bublín sa po 45 minútach menila len minimálne alebo sa nemenila vôbec. Rozsah a charakter zmien v prípade rastu tkanivových kultúr na dne Petriho misky bol identický s rozsahom a charakterom zmien, ktoré sme identifikovali na podložných sklíčkach.

Reálny dekompresný profil

Po reálnom profile nezávisle od použitej tkanivovej kultúry a nezávisle od času po dekompresii sme ani v Petriho miskách, ani na podložných sklíčkach mikroskopicky nevideli žiadnu tvorbu bublín. Intracelulárne ani intranukleárne plynové bubliny sme nepozorovali.

Diskusia

Väčšina autorov pri štúdiu dekompresných zmien vychádza z vlastných modelových systémov. Štúdiu dekompresnej choroby ako jednej z najvážnejších ohrození zdravia ba až života potápačov sa vedci venujú už skoro pol tisícročia. Dekompresné zmeny zväčša študujú na živých ľuďoch (Philp 1972), na psoch (Hills 1981, Harold 1966), na myšiach (Gersh 1944), v potkanoch (Novomeský 1994, Vann 1980, Philp 1972), na morčatách (Hills 1991, Gersh 1945), na husiach (Palmer 1976), v krvi (Haller 1987, Philp 1971) alebo v teoretických matematických modeloch (Van Liew 1991).

V našich experimentoch sme využili tkanivové kultúry ľudských fibroblastov B-HEF-2 a neuroblastov N2A myší. Fibroblasty predstavujú spojovaciu jednotku prítomnú vo väčšine ľudských tkanív. Dekompresná choroba so svojimi život ohrozujúcimi neurologickými prejavmi (Gorman 1987), je asi najviac skúmaná v centrálnom nervovom systéme. Dekompresné zmeny v *in vitro* podmienkach tkanivových kultúr neuroblastov N2A myší vykazujú veľmi podobné zmeny, aké sú opisované pri mnohých experimentoch (Hills 1991, Austin 1981, Hyldegaard 1991, Palmer 1992). Tvorbu bublín, intracelulárnych vakuol, fragmentáciu buniek a opuch, ktoré vyššie spomenutí autori opisujú sme našli aj v nami definovaných tkanivových kultúrach z neuroblastových buniek N2A myší.

Vhodnosť obidvoch tkanivových kultúr pre modelovanie dekompresie sme preukázali tým, že:

Patologie 1-07 8.1.2007 13:00 Str. 15
proLékaře.cz | 27.10.2026

- sa samostatne aj v *in vitro* monovrstve správajú ako kompartment,
- makroskopické ako aj mikroskopické zmeny sú ľahko pozorovateľné,
- ide o ľahko pripraviteľné a štandardizované médiá,
- ich hustota sa dá ľubovoľne meniť,
- vykazujú reprezentačné a ľahko pozorovateľné zmeny.

Pri sledovaní rastu počtu plynových bublín 30 minút po „explozívnej" dekompresii bolo najviac malých plynových bublín (0,1 – 0,3 mm) a najmenej veľkých a veľmi veľkých plynových bublín (> 0,5 mm). Pri použití vzduchu ako dekompresnej zmesi bolo najviac stredne veľkých plynových bublín (0,3 – 0,5 mm) a najmenej veľmi veľkých a veľkých (> 0,5 mm) plynových bublín. Z hľadiska hodnotenia boli tkanivové kultúry z fibroblastov jednoduchšie použiteľné.

Po ***reálnej dekompresii*** modelovanej na základe VPM-B profilu ponoru, nezávisle od použitej tkanivovej kultúry sme mikroskopicky nevideli žiadnu tvorbu bublín. To dokazuje bezpečnosť využitia VPM-B teoretického modelu pre bežnú potápačskú prax.

Záver

Naše prvé skúsenosti poukazujú na možnosti reálneho skúmania dekompresných zmien na tkanivových kultúrach pomocou elektrónovomikroskopických metód. Možnosti rozšírenia poznatkov vidíme v ďalšej analýze dekompresných zmien na subcelulárnej úrovni.

Naše ďalšie experimentálne štúdie poukazujú na možnosť fragmentácie DNA a aktivacie apoptózy po dekompresnom šoku. Nami skonštruovaná dekompresná komora a využitie tkanivových kultúr sa v tomto prípade javia ako veľmi vhodné pre ďalšie štúdium morfologických zmien v živom organizme pri dekompresnej chorobe na celulárnej a subcelulárnej úrovni.

Z praktického pohľadu liečby dekompresnej choroby je najdôležitejšie včasné ovplyvnenie vzniku plynových bublín v tkanivách a v orgánoch ľudí. Simulovanie dekompresie v *in vitro* podmienkach agarových zmesí a tkanivových kultúr predstavuje najvhodnejší spôsob analýzy ovplyvnenia vzniku plynových bublín pri núdzovej dekompresii. Využitie tkanivových kultúr sa nám javí ako ideálny prostriedok k identifikácii chemických látok alebo postupov, ktoré ovplyvnia novotvorbu, resp. dynamiku tvorby plynových bublín pri dekompresii. To by mohlo viesť k ešte bezpečnejšiemu športovému potápaniu ako aj k efektívnejšej liečbe dekompresnej choroby.

Výskum bol podporený grantom VEGA 1/4279/06.

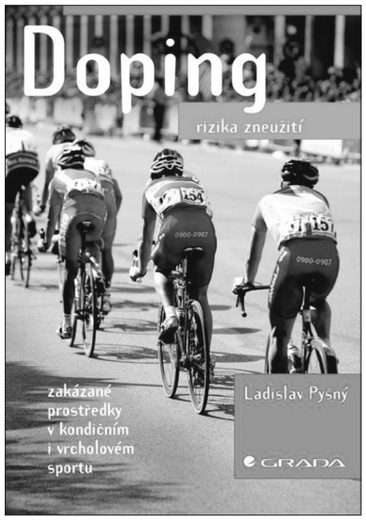
Literatúra

1. **Austin, R., M., Banhoff, M. S., Carter, B. L.:** Gas collections in the spinal canal on computer tomography. J. Comp. Asst. Tomog., 1981, 5(4), 522–524.
2. **Dougherty RM.:** Use of dimethyl sulphoxide for preservation of tissue culture cells by freezing. Nature, 1962, Feb 10, 193, s. 550–552.
3. **Gersh, I., Hawkinson, G. E., Rathbun, E. N.:** Tissue and vascular bubbles after decompression from high pressure athmospheres: Correlation of specific gravity with mophological changes. J. Cell Comp. Physiol., 24, 1944, s. 16–23.
4. **Gersh, I., Hawkinson, G. E., Jenney E. H.:** Comparison of vaskular and extravascular bubbles following decompression from high pressure athmospheres of oxygen, helium-oxygen, argon-oxygen and air. J. Cell Comp. Physiol., 26, 1945, 2, s. 63–74.
5. **Gorman, D, F., Pearce, A., Webb, R. K.:** Dysbaric illness treated at the Royal Adelaide Hospital 1987: A factorial analysis. SPUMS J., 18, 1988, s. 95–101.
6. **Haller, C., Sercombe, R., Verrechia, C, Fuitsch, H., SeyLaz, J., Kuschinsky, W.:** Effect of the muscarinic agonist carbacho! on pial arteries in vivo after endothelial damage by air embolism. J. Cereb. Blood Flow Metab., 7, 1987, s. 605–611.
7. **Harold, W, Casey, D. V. H., Bancroft, W., Cooke, J. P.:** Residual Pathologic Changes in the Central Nervous system of a Dog Following Rapid Decompression to 1mm. Hg. Aerospace Medicine. July 1966, s. 713–718.
8. **Hills, B. A., Butler B. D.:** Size distribution of intravascular air emboli produced by decompression. Undersea Biomedical Research, 1981, 8(3), s. 163–171.
9. **Hills, B. A., James P. B.:** Microbubble damage to the blood-brain barrier: relevance to decompression sickness. Undersea Biomedical Research, 1991, 18(2), s. 111–116.
10. **Hyldegaard, O., Moller, M., Madsen, J.:** Effect of He-O_2, O_2, and N_2O-O_2 breathing on injected bubbles in spinal white matter. Undersea Biomed. Res., 18, 1991, s. 361–372.
11. **Chen, T. R.:** In situ detection of mycoplasma contamination in cell cultures by fluorescent Hoechst 33258 stain. Exp Cell Res., 1977 Feb, 104(2), s. 255–262.
12. **Margulies, D.H., Shevach, E.M., Strober, W.:** Trypan blue exclusion test of cell viability. Current protocols in immunology. John Wiley, New York, 1991.
13. **Novomeský, F.:** Histopathologic Features of Severe Decompression Shock: An Animal Model. In Ochmichen M., van Laak U., Püschel K., Birkholz M.: Der Tauchunfall. Erscheinungsform - Diagnose – Verbeugung. Lübeck, Schmidt-Römhild, 1994, s. 51–59.
14. **Palmer, A. C., Blakemore, W. F., Greenwood, A. G.:** Neuropathology of experimental decompression sickness (dysbarism) in the goat. Neuropathology and Applied Neurobiology, 1976, 2, s. 145–156.
15. **Palmer, A. C., Calder, I. M., Yates, P. O.:** Cerebral vasculopathy in divers. Neuropathol. Appl. Neurobiol., 18, 1992, s. 113–124.
16. **Philp, R. B., Schacham, P., Gowdey, C. W.:** Involvement of platelets and microthrombi in experimental decompression sickness: Similarities with disseminated intravascular coagulation. Aerospace Med., 42, 1971, s. 494–502.
17. **Philp, R. B., Ackles, K. N., Inwood, M. J., Livingstone, S. D., Achimastos, A., Binns-Smith, M., Radomski, M. W.:** Changes in the hemostatic system and in blo-

Patologie 1-07 8.1.2007 13:00 Str. 16
proLékaře.cz | 27.10.2026

od and urine chemistry of human subjects following decompression from a hyperbaric environment. Aerospace Med., 43, 1972, s. 498–505.
18. **Palkovič, M., Novomestský, F., Kováč, P., Palkovičová, M.:** Model dekompresnej choroby v laboratórnych podmienkach. 12. Kongres Slovenskej a Českej spoločnosti patológov s medzinárodnou účasťou. Zborník vedeckých prác – Bratislava: [s.n.], 2004, 26.
19. **Palkovič, M.:** Patologické zmeny v biologických štruktúrach v hyperbarických podmienkach. Doktorandská dizertačná práca, Bratislava, 2005, s. 43–54.
20. **Popovic, M., Klobusicka, M., Phan Thu, A., Blasko, M.:** Comparative *in vitro* studies of human fibroblastic cells derived from fibrosarcoma, fibroma and various organs of fetus Neoplasma, 1979, 26(2), s. 185–193.
21. **Vann, R. D., Grimstad J., Nielsen C. H.:** Evidence for gas nuclei in decompressed rats. Undersea Biomedical Research, 1980, 7(2), s. 107–112.
22. **Van Liew, H. D.:** Simulation of dynamics of decompression sickness bubbles and the generation of new bubbles. Undersea Biomedical Research, 1991, 4(18), s. 333–345.
23. **Yount, D. E., Hoffman, D. C.:** On the Use of a Bubble Formation Model to Calculate Diving Tables. Aviation, Space, and Environmental Medicine, 1986, 2, s. 122–140.
24. **Yount, D. E., Maiken, E. B., Baker, E. C.:** Implications of the Varying Permeability Model for Reverse Dive Profiles. In: Lang, M. A., Lehner, C. E: Proceedings of the Reverse Dive Profiles Workshop. Smithsonian Institution, Washington, D.C. 2000, s. 29–61.

MUDr. Michal Palkovič, PhD.
Ústav patologickej anatómie LFUK
Sasinkova 4
811 08 Bratislava
e-mail: michal.palkovic@fmed.uniba.sk
tel: +421 2 59357247, + 421 2 905 602 430
fax: +421 2 59357 592
michal@palkovic.com.



DOPING – RIZIKA A ZNEUŽITÍ

Ladislav Pyšný

Doping je definován jako jev, při němž dochází k porušení jednoho nebo více antidopingových pravidel, a stále častěji bývá prezentován jako základní problém sportu. Všem kondičním, výkonnostním a vrcholovým sportovcům i dalším zájemcům, kteří se chtějí blíže seznámit s tímto novodobým „strašákem“ sportu, přináší autor, zkušený sportovní lékař a dopingový komisař, srozumitelně a účelně zpracovaného průvodce zakázanými látkami. Jednotlivé kapitoly knihy se věnují charakteristice dopingu, způsobu testování a postihu sportovců za porušení antidopingových pravidel, výčtu i popisu jednotlivých skupin dopingových látek a metod s jejich působením na organismus, možnostmi zneužití a riziky pro zdraví sportovců.

Vydalo nakladatelství Grada Publishing a.s., A5, brožovaná vazba, 96 stran, cena 119, Kč, ISBN 80-247-1702-6, kat. číslo 6284

Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz