

Abstrakt

Úvod: Dizertační práce je založena na šesti studiích, které se zaměřují na uplatnění kvantitativní histologie v hodnocení experimentů u zvířecích modelů. Zahrnuje představení postupů virtuální mikroskopie a strategií vzorkování obrazových polí, mapování změn mikroskopické struktury segmentů ovčích a prasečích krkavic a jejich porovnání s lidskými koronárními cévami a *arteria thoracica interna*, hodnocení vaskularizace u myšího modelu s xenografty lymfomů (PDX), vliv hyperbarické oxygenoterapie na tvorbu kolagenu typu III a na vaskularizaci v kožní ráně u Zucker Diabetic Fatty potkana.

Metody: Přehledový článek o virtuální mikroskopii byl zaměřen na ukázkou příkladu vzorkování snímků z různých oblastí kvantitativní histologie. V ostatních studiích byly histologicky zpracované řezy barvené škálou metod zaměřených na stavbu cévní stěny, a buněčné osídlení (orcein, pikosiriová červeň, Verhoeffův hematoxylin a zelený trichrom, Gillův hematoxylin, alcianová modř) a imunohistochemickým průkazem antigenů (α -hladký svalový aktin, neurofilamentový protein, CD-31, von Willebrandův faktor). Pomocí nevychýleného vzorkování a stereologických metod jsme kvantifikovali plošné podíly složek (elastin, kolagen, hladkosvalový aktin a chondroitinsulfát) použitím stereologické bodové mřížky; dvourozměrnou hustotu (jaderné profily, *nervi vasorum*, *vasa vasorum*, endotel mikrocév) pomocí počítačového rámečku; tloušťku cévní stěny jsme měřili lineárními sondami.

Výsledky: Rozdíly v mikroskopickém složení mezi levou a pravou krkavicí stejného jedince byly podstatně větší u ovce nežli obdobné rozdíly prasete. Levé ovčí krkavice měly větší plošný podíl elastinu, menší podíl hladkosvalového aktinu a menší tloušťku intima-media než párové pravostranné krkavice. Prasečí krkavice měly na levé straně menší podíl elastinu a menší hustotu *vasa vasorum* v medii. U obou zvířecích modelů se podíl elastinu a chondroitinsulfátu snižoval v proximodistálním směru, naopak podíl hladkosvalového aktinu se zvyšoval. Ovčí krkavice měly po celé své délce svalový fenotyp, ale u prasečích došlo k změně fenotypu z elastického na svalový v proximodistálním směru. Krkavice obou zvířat se lišili od lidských koronárních cév a *arteria thoracica interna* ve většině histologických parametrů.

Srovnáním použití Dopplerovy ultrasonografie a kvantitativní histologie na stanovení plošného podílu mikrocév byly u lymfomů zjištěné značné rozdíly mezi těmito metodami. U

kvantitativní histologie byl plošný podíl malých PDX modelů nižší a velkých PDX modelů vyšší než u Dopplerovy ultrasonografie.

Hustota a plošný podíl mikrocév byly v myších xenoimplantátech významně nižší než v primárních lidských lymfomech.

Hyperbarická oxygenoterapie kožních rán u diabetických potkanů II. typu zvyšovala během hojení objemový podíl kolagenu typu III v hojící se dermis.

Závěr: Pomocí kvantitativní histologie jsme zjistili, že ovčí a prasečí krkavice nejsou ekvivalentní s lidskými koronárními cévami a *arteria thoracica interna*. Levé a pravé ovčí krkavice se lišili v mikroskopickém složení, což je limitující pro jejich vzájemnou ekvivalenci s kontrolními skupinami v chirurgických experimentech. Tyto rozdíly by měly být brány v úvahu při navrhování a interpretaci experimentů.

Studie vlivu hyperbarické oxygenoterapie naznačuje, že tato doplňková terapie by mohla urychlit hojení ischemických diabetických ran.

Součástí závěrů jednotlivých studií a jejich společným jmenovatelem jsou praktická doporučení pro optimalizaci designu studií s ohledem na jejich kvantitativní histologické hodnocení.