

Abstrakt

Navzdory rozsáhlému výzkumu a zavádění moderních chirurgických metod je výskyt anastomotické insuficience stále vysoký. Přesné patofyziologické mechanismy zodpovědné za anastomotické netěsnosti stále nejsou přesně známy, což značně ztěžuje možnosti jejich prevence. Při výzkumu střevních anastomotických netěsností se hojně využívají zvířecí modely. Literární přehled této práce proto představuje stručnou historii používání experimentálních zvířat a také hlavní rozdíly z hlediska anatomie a histologie mezi člověkem a experimentálními savci využívanými ve studiích střevního hojení. Práce je založena na čtyřech studiích popisujících možnosti využití kvantitativních histologických metod v různých aplikacích, zvířecích modelech a experimentálních chirurgických technikách při výzkumu hojení střevních anastomóz. Závěry těchto čtyř studií lze shrnout následovně:

Závěr 1: Software TeIGen je snadno dostupný vědcům, kteří zkoumají vláknité a porézní materiály pomocí mikro-CT analýzy. Tento software pomáhá při vytváření virtuálních obrazových souborů s definovanými morfometrickými atributy a může také pomoci s doladěním kvantifikačních nástrojů potřebných ke zkoumání mikro-CT skenů. Software rovněž umožňuje identifikovat morfologické vlastnosti materiálu a obrazové charakteristiky ve skenech mikro-CT, které mohou ohrozit spolehlivost výsledků kvantitativní analýzy. Schopnost softwaru TeIGen vytvářet virtuální sady snímků významně posiluje spolehlivost a průkaznost měření, čímž zvyšuje hodnotu a reprodukovatelnost výzkumu.

Závěr 2: Histologický výzkum může těžit z efektivního využití skenování konvenčních preparátů a jejich převodu do digitální podoby v kombinaci s nezkráceným vzorkováním oblastí zájmu. Dodržováním zásad nezaujatého náhodného výběru vzorků se výzkumní pracovníci řídí pravidlem "dělat více méně dobře", což vede k validnějším, etičtějším a efektivnějším výsledkům. Digitální mikroskopie se ukázala jako zvláště užitečná pro správné vzorkování na úrovni preparátů. Pro dosažení rovnoměrného rozložení lze zvolit skenování celých preparátů a pečlivý výběr zorných polí dle předem určené vzorkovací frekvence, případně použít mikroskop s motorizovaným stolcem. Tyto zásady se neomezují pouze na kvantitativní výzkum, ale mají zásadní význam i pro kvalitativní studie, protože zvyšují přesnost i opakovatelnost výzkumu. Naše zjištění naznačují, že je nezbytné, aby všechny motorizované mikroskopy a digitální skenery histologických preparátů používané pro vědecké účely obsahovaly podporu pro objektivní náhodný výběr vzorků.

Závěr 3: Navzdory nadějnému potenciálu biodegradabilních nanomateriálů zůstává jejich využití v oblasti střevních anastomóz z velké části neprobádané. Zjistili jsme, že aplikace nanomateriálů na hojící se anastomózy tenkého střeva na zvířecím modelu neovlivnila normální hojení. Byl zaveden standardizovaný postup sledování zvířat po operaci, doplněný o nový skórovací systém perianastomotických adhezí. Dále byla k hodnocení hojení použita robustní kombinace histologických a stereologických metod. Ačkoli se nanomateriály zdají být bezpečné, jejich účinnost při zlepšování hojení anastomózy vyžaduje další zkoumání.

Závěr 4: Prostřednictvím kvantitativního histologického mapování různých faktorů jsme o prasečích anastomózách tenkého a tlustého střeva zjistili následující skutečnosti: (i) anastomóza měla vyšší proliferační index, hustotu mikrocév a objemovou frakci kolagenu, ale ne objemovou frakci neutrofilů; (ii) hojení prasečích anastomóz tenkého a tlustého střeva nebylo zaměnitelné, přičemž přítomnost experimentálního defektu významně ovlivnila hojení, přestože proces hojení byl dokončen 21 dní po operaci; a (iii) blízkost anastomózy měla významnější vliv na hojení střevní stěny v tenkém střevě než v tlustém střevě.

Shrneme-li závěry přehledu literatury a prezentovaných studií, je třeba, aby automatizovaný software používaný při analýze obrazových dat prošel řádnou kalibrací. Stereologie je spolehlivá kalibrační metoda, která může pomoci s validací takových dat. Náš přehledový článek o postupech digitální mikroskopie a víceúrovňových strategiích vzorkování uvádí praktická doporučení a úvahy pro optimální kvantitativní histologické hodnocení. Projekty klinického výzkumu zahrnující operace experimentálních zvířat jsou nezbytné pro získání spolehlivých výsledků, které lze převést do humánní medicíny. Význam takových studií je ještě zvýrazněn v případě experimentálního hojení střevních anastomóz.