

## Abstrakt

**Úvod:** Předkládaná dizertace je souborem sedmi studií, jejichž společným cílem byl popis funkční histologie aorty a jejích některých větví, popř. popis plicnice. Práce se zaměřuje na analýzu mikroskopického složení různých segmentů celé prasečí aorty během ontogeneze jako často užívaného experimentálního modelu, lidských kryoprezervovaných vzorků aorty, plicnice a jejích chlopní, dále na hodnocení poškození renální tepny při její katetrizační denervaci a na hodnocení osídlení umělých cévních náhrad po implantaci štěpu do myší břišní aorty. Úvod podává přehled o stavbě aorty a plicnice a jejích chlopní, o vybraných onemocněních postihující velké tepny a o histologických a biomechanických metodách používaných pro jejich charakterizaci.

**Metody:** V práci jsme využili metody parafinových řezů s histologickým barvením, imunohistochemickým průkazem antigenů ( $\alpha$ -hladký svalový aktin, desmin, vimentin, chondroitinsulfát, von Willebrandův faktor, neurofilamentový protein, tyrosin hydroxyláza) a biomechanické testy (jednoosé tahové zkoušky) k určení meze pevnosti, mezní deformace a Youngova modulu pružnosti. Ke kvantifikaci plošných podílů jednotlivých složek a k určení délkové hustoty elastinu v cévní stěně jsme použili stereologické metody založené na interakci testovacích mřížek o známých geometrických vlastnostech s mikrofotografiemi. K hodnocení míry poškození renální tepny ovčí po radiofrekvenční ablací okolních nervů jsme použili námi modifikovaný semikvantitativní skórovací systém.

**Výsledky:** Prokázali jsme, že sestupná hrudní aorta prasete měla ze všech segmentů nejvyšší podíl elastinu, který se snižoval proximálně k oblouku aorty stejně jako distálně k břišní aortě. Podíl kolagenu ve stěně se snižoval od vzestupné aorty a aortálního oblouku směrem k sestupné aortě. Segmenty břišní aorty měly nejvyšší podíl aktinu, desminu a vimentinu a všechny tyto markery hladkých svalových buněk měly v hrudních segmentech aorty nižší hodnoty. Při srovnání suprarenální s infrarenální břišní aorty nebyly zjištěny žádné kvantitativní rozdíly. Plošný podíl aktinu v medii byl srovnatelný ve všech věkových skupinách a byl úměrný postnatálnímu růstu do sedmi měsíců věku. Segmenty aorty s větší tloušťkou měly větší podíl elastinu i kolagenu a menší podíl kontraktálních buněk než segmenty s menší tloušťkou. Ve vzorcích s menším podílem elastinu a větším podílem aktin- a desmin- pozitivních hladkých svalových buněk byly šroubovice hladkých svalových buněk těsně navzájem uspořádány a byly

více soustředěné než ve vzorcích s větším podílem elastinu a s menším podílem kontraktilních hladkých svalových buněk.

Elastická vlákna v tunica media aorty a plicnice člověka zůstala i po kryoprezervaci v tkáňové bance její hodnotnou složkou. Biomechanické vlastnosti kryoprezervované aorty a plicnice, jako je Youngův modul pružnosti v oblasti velkých deformací a mezní deformace, mírně pozitivně korelovaly s tloušťkou intima-media. Mezní deformace mírně negativně korelovala s plošným podílem elastinu a plošným podílem kalcifikace v intima-media a mírně pozitivně korelovala s plošným podílem kolagenu ve stěnách aorty a plicnice. U cípů aortální a pulmonální chlopně slabě pozitivně korelovala tloušťka stěny s mezí pevnosti a Youngovým modulem v oblasti malých i velkých deformací.

Prokázali jsme, že použití vícebodového katetru při denervaci renální tepny vedlo k většímu poškození renální tepny a nervových pletení obklopující renální tepnu ve srovnání s jednobodovým katetrem. Avšak, žádný testovaný způsob denervace renální tepny nevedl k úplné ablaci nervů doprovázející renální tepnu.

Prokázali jsme, že hodnocené nanovláknenné nosiče u myši zastoupily po dobu šesti měsíců úlohu aorty, přičemž došlo k jejich postupné endotelizaci, k osídlení buňkami, ke vzniku rozvrstvení obdobnému intimě a medii skutečných elastických tepen, dále k diferenciaci buněk s kontraktilním fenotypem, k tvorbě a zrání kolagenu I a v některých případech i k tvorbě elastických lamel. Štěpy byly dobře snášeny a jejich průsvit byl průchodný.

**Diskuze:** Výsledky mechanických analýz kryoprezervovaných štěpů aorty, plicnice a jejich chlopní nemohly být zcela vysvětleny objemovými poměry hlavních tkáňových složek. Proto by měly být obě metody považovány za komplementární a měly by být použity v dalších studiích na zjištění použitelnosti kryoprezervovaných aort, plicnic a jejich chlopní a vlivu dlouhodobé kryoprezervace na jejich vlastnosti.

Účinnost a bezpečnost zkoumaných katetrů určených k denervaci renální tepny schválených pro klinické použití, se zdá být do značné míry závislá na anatomické interindividuální variabilitě stěny renální tepny a přilehlých nervových pletení.

Studie, zabývající se histologickým složením a biomechanickými vlastnostmi lidských či zvířecích velkých tepen, se prozatím soustředily na prvky mezibuněčné hmoty jako je elastin, kolagen, hladké svalové buňky nebo glykosaminoglykany, ale opomíjeli další složky např.

strukturální glykoproteiny, které zprostředkovávají vazby mezi buňkami a složkami mezibuněčné hmoty.

Kromě vlastních výsledků jednotlivých studií je v metodické části obsažena řada praktických postupů a doporučení s ohledem na způsoby víceúrovňového vzorkování při odběru a hodnocení materiálu, volbu barvicích metod a volbu mikroskopického zvětšení vhodného pro řešení konkrétních otázek.

**Závěr:** Za hlavní doménu histologických metod při studiu cévní stěny považujeme kvantitativní i kvalitativní popis mikroskopického složení přibližně v měřítku jednotek až tisíců mikrometrů, charakteristiku buněčných fenotypů, popis přestavby cévní stěny za různých podmínek a v neposlední řadě i popis rozložení a prostorových vztahů mezi buňkami a mezibuněčnou hmotou. Největší přínos histologické analýzy spočívá především v poskytnutí informací o vzájemné pozici histologických struktur oproti technikám, analyzující homogenizované tkáňové vzorky využívané v biochemii a molekulární biologii. Propojení histologické analýzy s dalšími metodami, především biomechanickými je přínosné pro porozumění funkčních adaptací cévní stěny za různých podmínek.