

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
PEDAGOGICKÁ FAKULTA  
KATEDRA BIOLOGIE GEOLOGIE A ENVIRONMENTÁLNÍCH  
STUDIÍ



DIPLOMOVÁ PRÁCE  
HISTOLOGICKÉ ŘEZY ORGÁNY MYŠI A JEJICH VYUŽITÍ VE  
VÝUCE NA STŘEDNÍ ŠKOLE  
HISTOLOGICAL SECTIONS OF MOUSE ORGANS AND THEIR USAGE  
IN SECONDARY EDUCATION

Vypracovala: Bc. Klára Maratová

Vedoucí práce: RNDr. Jan Mourek PhD.

Studijní obor: Biologie, geologie a environmentalistika se zaměřením na  
vzdělávání – Chemie se zaměřením na vzdělávání

Praha 2013

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně s vyznačením všech použitých pramenů. Souhlasím se zveřejněním diplomové práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.

V Praze dne: 30.4.2013

Podpis:

## PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych tímto poděkovala svému školiteli, RNDr. Janu Mourkovi, PhD. za trpělivé vedení a podnětné nápady, které přispěly k mému úspěšnému dokončení. Děkuji také své rodině za trpělivost a nikdy nekončící podporu, kterou mi v průběhu celého studia poskytovala.

Dále bych ráda poděkovala:

- Mgr. Tereze Odcházové za poskytnutí adresáře kontaktů na vyučující biologie na středních školách
- Mgr. Lucii Müllerové za pomoc při tvorbě videa zachycujícího pitvu, bez její pomoci by nikdy nespátrilo světlo světa
- Členům katedry Biologie, geologie a environmentálních studií za trpělivost a pochopení, které projeví v průběhu tvorby trvalých histologických preparátů
- Radě studentského grantu za poskytnutí finančních prostředků, které umožnily vytvoření interaktivní podoby histologického atlasu
- Všem pedagogům středních škol, kteří věnovali svůj čas a zaslali mnohdy nejen vyplněné dotazníky, ale i slova podpory k tvorbě diplomové práce
- Paedr. Milanu Kubiátkovi z Institutu výzkumu školního vzdělávání Pedagogické fakulty Masarykovy univerzity v Brně za poskytnutí kontingenčních tabulek

## ABSTRAKT

Tato práce se zabývá tématem výuky histologie na středních školách. Histologie je zaměřena na studium mikroskopické struktury tkání. Tvoří tak základní stavební kámen pro studium orgánů a orgánových soustav nejen u člověka, ale také u ostatních živočichů.

V práci je popsána vybraná metoda tvorby trvalých histologických preparátů, která také byla ověřena v praxi. Cílem praktické části bylo vytvořit reprezentativní soubor trvalých histologických řezů vybranými orgány myši domácí (*Mus musculus*), pořídít jeho fotodokumentaci a sestavit z ní interaktivní histologický atlas. Myš domácí byla vybrána jakožto modelový živočich, protože je hojně využívána v celé řadě laboratorních pokusů a jakožto modelový savec má stavbu tkání a orgánů podobnou člověku.

Součástí histologického atlasu je fotodokumentace řezů následujícími orgány: plíce, kůže, srdce, brzlík, slezina, nadvarle, varle, penis, semenné vajíčky, příčně pruhovaná svalovina, srdeční svalovina, hladká svalovina, játra, jazyk, slinivka, tenké střevo, tlusté střevo, žlučník, ledvina, močový měchýř, močová trubice, mozeček. Řezy jsou obarveny z použití hematoxylinu – eosinu a Massonova trichromu. Součástí atlasu je dále teoretický výklad a testové úlohy.

Součástí práce bylo dále dotazníkové šetření zaměřené na výuku histologie na středních školách. V rámci průzkumu bylo osloveno 1 069 středoškolských učitelů biologie ve všech krajích České republiky. Pro zvýšení návratnosti byl dotazník rozesílán na emailové adresy v online podobě. Ke stanovenému datu dotazník vyplnilo 260 respondentů, tedy přibližně 24,3% z celkového počtu dotazovaných. Cílem dotazníku bylo mimo jiné zjistit spokojenost vyučujících se zpracováním histologie ve středoškolských učebnicích, využívání dalších informačních zdrojů, schopnost samostatně vytvořit trvalé histologické preparáty a zájem o rozšíření těchto znalostí pod vedením externího lektora.

Interaktivní histologický atlas byl vytvářen s ohledem na jeho pozdější využití pedagogy ve výuce i žáky při samostudiu. Z tohoto důvodu byl mezi učiteli prováděn průzkum s cílem optimalizovat obsah atlasu jejich požadavkům. Zájem o tuto výukovou pomůcku projevil 90% respondentů.



## KLÍČOVÁ SLOVA

myš domácí (*Mus musculus*), histologické řezy, savčí tkáň, histologický atlas, dotazníkový průzkum, výuka, střední škola, interaktivní atlas

## ABSTRACT

This thesis is concerned with the topic of teaching histology at secondary schools. Histology is focused on the study of microscopic structure of tissue. By this it comprises the basic foundation stone for the studies of organs and organ systems not merely in humans, but also in other animals.

The method of preparing the permanent histological slides, which has also been tested in practice, is thoroughly described in this thesis. The main goal of the practical part was to prepare a representative collection of the permanent histological sections through the organs of the house mouse (*Mus musculus*), to acquire its photo documentation as a base for an interactive histological atlas. House mouse (*Mus musculus*) was chosen as the model animal, because of its frequent utilization in various laboratory experiments and because this model mammal has the structure of tissues similar to human.

The atlas consists of the photo documentation of histological sections through the following organs: lungs, skin, heart, thymus gland, spleen, epididymis, testicle, penis, spermatic sacs, striated muscle, heart muscle, smooth muscle, liver, tongue, pancreas, small intestine, large intestine, gall bladder, kidney, urinary bladder, urethra, cerebellum and hippocampus. The sections are stained with application of hematoxyline – eosine and Masson's trichrome. Another complement of the histological atlas are the theoretical exposition and tests focusing on different organ systems.

Another part of the thesis is a survey aimed at the teaching histology at secondary schools. Within the scope of the survey, 1069 secondary schools biology teachers in the Czech Republic were approached. The form was sent via e-mail in an online form, in order to increase the number of returned questionnaires. To the given date 260 respondents filled in the form, which is approximately 24,3% of the total number of respondents. The aim of the questionnaire was to, besides other things, ascertain the contentment of the teachers with the processing of histology in the textbooks, to ascertain the utilization of secondary sources, the ability of teachers to create permanent histological sections by themselves and to discover their interest in extending this knowledge under the supervision of external lecturer.

The interactive histological atlas was created with the regard of its later use by the pedagogues in their lectures, but also with the consideration that it could represent a source for self-taught students. On that account the survey was carried out between the teachers with the main goal to optimize the histological guide to their requirements. The interest in this teaching requisite manifested 90% of the respondents.

#### KEY WORDS

Mouse (*Mus musculus*), histological sections, mammalian tissue, histological atlas, survey, education, secondary school, interactive CD

<b>1. ÚVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORETICKÁ VÝCHODISKA .....</b>	<b>3</b>
2.1. BIOLOGIE MYŠI DOMÁCÍ ( <i>MUS MUSCULUS</i> ).....	3
2.1.1. <i>Systematické zařazení myši domácí a její rozšíření (Mus musculus)</i> .....	3
2.1.2. <i>Biologie myši domácí</i> .....	4
2.2. PITVA MYŠI DOMÁCÍ ( <i>MUS MUSCULUS</i> ).....	7
2.2.1. <i>Pomůcky a chemikálie</i> .....	7
2.2.2. <i>Usmrcení</i> .....	7
2.2.3. <i>Legislativa</i> .....	8
2.2.4. <i>Postup pitvy</i> .....	9
2.2.5. <i>Nákresy postupu pitvy laboratorního potkana</i> .....	13
2.3. PŘÍPRAVA HISTOLOGICKÝCH ŘEZŮ.....	19
2.3.1. <i>Mikrotomy</i> .....	19
2.3.2. <i>Odběr tkáně</i> .....	21
2.3.3. <i>Fixace tkáně</i> .....	21
2.3.4. <i>Vypírání fixačních tekutin z objektů</i> .....	26
2.3.5. <i>Zalévání objektů</i> .....	26
2.3.6. <i>Krájení řezů na mikrotomovém noži</i> .....	30
2.3.7. <i>Barvení řezových preparátů</i> .....	32
<b>3. METODIKA .....</b>	<b>36</b>
3.1. ZVOLENÁ METODIKA ZHOTOVENÍ TRVALÝCH HISTOLOGICKÝCH PREPARÁTŮ .....	36
3.1.1. <i>Odběr tkáně</i> .....	36
3.1.2. <i>Fixace tkáně</i> .....	36
3.1.3. <i>Vypírání fixáže</i> .....	36
3.1.4. <i>Zalítí do parafínu</i> .....	37
3.1.5. <i>Krájení</i> .....	38
3.1.6. <i>Barvení</i> .....	39
3.1.7. <i>Zhodnocení práce</i> .....	42
3.1.8. <i>Metodika tvorby interaktivního histologického atlasu</i> .....	45
3.1.9. <i>Metodika dotazníkového šetření</i> .....	51
<b>4. VÝSLEDKY .....</b>	<b>55</b>
4.1. DOTAZNÍKOVÝ PRŮZKUM .....	55
4.1.1. <i>Dílčí cíle dotazníkového průzkumu a formulace hypotéz</i> .....	55
4.1.2. <i>Charakteristika výběrového vzorku</i> .....	58
4.1.3. <i>Zhodnocení jednotlivých odpovědí</i> .....	62
4.2. HISTOLOGICKÝ ATLAS .....	77
4.2.1. <i>Obecná charakteristika histologického atlasu</i> .....	77
4.2.2. <i>Epitelová tkáň</i> .....	78
4.2.3. <i>Svalová soustava</i> .....	81
4.2.4. <i>Oběhová soustava</i> .....	90

4.2.5.	<i>Dýchací soustava</i> .....	93
4.2.6.	<i>Nervová soustava</i> .....	97
4.2.7.	<i>Mízní soustava</i> .....	100
4.2.8.	<i>Krycí soustava</i> .....	104
4.2.9.	<i>Trávicí soustava</i> .....	108
4.2.10.	<i>Vylučovací soustava</i> .....	118
4.2.11.	<i>Samčí pohlavní soustava</i> .....	124
<b>5.</b>	<b>DISKUZE</b> .....	<b>132</b>
5.1.	DISKUSE ZVOLENÉ METODIKY ZHOTOVENÍ TRVALÝCH HISTOLOGICKÝCH PREPARÁTŮ .....	132
5.2.	DISKUSE VÝSLEDKŮ DOTAZNÍKOVÉHO PRŮZKUMU .....	134
5.3.	DISKUSE INTERAKTIVNÍHO HISTOLOGICKÉHO ATLASU .....	136
<b>6.</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>141</b>
<b>7.</b>	<b>SEZNAMY</b> .....	<b>143</b>
7.1.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	143
7.2.	SEZNAM TABULEK .....	146
7.3.	SEZNAM GRAFŮ .....	147
7.4.	SEZNAM OBRÁZKŮ .....	148
<b>8.</b>	<b>PŘÍLOHY 1: FOTODOKUMENTACE PITVY MYŠI DOMÁCÍ</b> .....	<b>150</b>
<b>9.</b>	<b>PŘÍLOHY 2: ZADÁNÍ DOTAZNÍKU</b> .....	<b>151</b>
<b>10.</b>	<b>PŘÍLOHY 3: TESTY</b> .....	<b>155</b>
10.1.	DÝCHACÍ SOUSTAVA .....	155
10.2.	KRYCÍ SOUSTAVA .....	158
10.3.	MÍZNÍ SOUSTAVA .....	162
10.4.	SVALOVÁ SOUSTAVA.....	165
10.5.	NERVOVÁ SOUSTAVA .....	170
10.6.	OBĚHOVÁ SOUSTAVA .....	174
10.7.	ROZMNOŽOVACÍ SOUSTAVA .....	176
10.8.	TRÁVICÍ SOUSTAVA .....	181
10.9.	VYLUČOVACÍ SOUSTAVA .....	188

# 1. ÚVOD

Histologie je vědní disciplína zabývající se studiem mikroskopické stavby živočišných tkání nebo rostlinných pletiv. Název histologie pochází z řečtiny, je složen ze slov histos = tkáň a logos = slovo, nauka. Jako vědní disciplína vznikla histologie poměrně nedávno. Její počátky a rozvoj souvisí se sestrojením prvního mikroskopu na přelomu 16. a 17. století. Teprve mikroskop umožnil soustavné pozorování jednotlivých tkáňových struktur, jakožto základního stavebního kamene orgánových soustav.

Histologie a její znalost poskytuje důležitý a nezbytný základ pro další poznávání orgánových soustav živočichů. Tato práce se proto zaměřuje na problematiku tvorby trvalých histologických preparátů, které je možno dále využít ve výuce biologie, zejména pak v průběhu laboratorních cvičení. Snaží se provést učitele biologie krok za krokem tím, jak tyto preparáty samostatně zhotovit a vyhnout se přitom možným úskalím, jež tuto techniku provázejí. Současně je také vytvořena vlastní sada trvalých histologických preparátů vybraných orgánů myši domácí.

Cílem této práce je zmapovat současný stav výuky histologie na středních školách, zejména to, zda se učitelé věnují této problematice pouze v teoretických hodinách, nebo žákům umožňují i samostatné pozorování trvalých histologických preparátů. Protože ne každá škola má dostatečné materiální a finanční zázemí jak k nákupu, tak k tvorbě vlastních histologických preparátů, je účelem této práce poskytnout vyučujícím jako učební pomůcku interaktivní internetový histologický atlas, savčích tkání. Ten bude obsahovat, mimo jiné, mikroskopické fotografie histologických preparátů a testové úlohy pro žáky k opakování.

Jako modelový organismus pro tvorbu histologického atlasu byla zvolena myš domácí (*Mus musculus*), která je v praxi hojně využívána jakožto laboratorní zvíře, například při výzkumech prováděných v oblastech genetiky, onkologie nebo fyziologie. Žákům se proto při znalosti histologie tohoto modelového živočicha v případě zájmu otevírá celá řada dalších materiálů ke studiu.

Úvodní část diplomové práce je věnována literárnímu přehledu. Detailně je zde rozebrána pitva myši, její biologie a legislativa týkající se práce a experimentování s laboratorními zvířaty platná v rámci České republiky. Dále jsou zde teoreticky na

základě studia dostupné literatury rozebrány histologické techniky se zaměřením na tvorbu parafínových preparátů. V další části je vybraná histologická technika ověřena v praxi. Jsou zde obsaženy detailní postupy s časovou rozvahou pro jednotlivé kroky a zhodnocení úspěšnosti práce.

Jako součást práce bylo prováděno dotazníkové šetření mezi učiteli vybraných středních škol na území České republiky. V rámci tohoto šetření byla zjišťována spokojenost vyučujících se zpracováním histologické tematiky v používaných učebnicích. Zároveň měli možnost vyjádřit se k možné podobě interaktivního histologického atlasu a celkovému pohledu na užitečnost výuky histologie, jakožto součástí vzdělávacích programů. Dílčí cíle a hypotézy dotazníkového šetření jsou uvedeny v kapitole Výsledky část 4.1.1. Dílčí cíle dotazníkového průzkumu a formulace hypotéz.

### **Cíle diplomové práce:**

Provést literární rešerši dostupné literatury na téma histologických technik se zaměřením na parafínovou metodu a tuto metodu tvorby trvalých tkáňových preparátů orgánů myši domácí ověřit v praxi a zaznamenat jednotlivé postupy a úskalí.

Pomocí dotazníkového průzkumu mezi učiteli biologie zmapovat situaci výuky histologie v hodinách biologie na středních školách, dále pak názory a postoje učitelů na tuto problematiku.

Vytvořit interaktivní histologický atlas, který by sloužil jak učitelům jako výuková pomůcka při hodinách biologie, tak žákům jako nástroj k rozšíření znalostí a k samostudiu.

## 2. TEORETICKÁ VÝCHODISKA

### 2.1. BIOLOGIE MYŠI DOMÁCÍ (*MUS MUSCULUS*)

#### 2.1.1. Systematické zařazení myši domácí a její rozšíření (*Mus musculus*)

Říše	živočichové (Animalia)
Kmen	strunatci (Chordata)
Třída	savci (Mammalia)
Podtřída	živorodí (Theria)
Nadřád	placentálové (Eutheria)
Řád	hlodavci (Rodentia)
Čeď	myšovití (Muridae)
Rod	myš ( <i>Mus</i> )
Druh	myš domácí ( <i>Mus musculus</i> L. 1758)

Myš domácí (*Mus musculus*) je hlodavec z čeledi myšovití (Muridae), do které je v dnešní době řazeno více než 1 300 druhů a 120 poddruhů. Vnitřní systematická struktura celé skupiny je velice proměnlivá. Často je tato čeď rozdělována na několik samostatných čeledí, popřípadě podčeledí, jako například hrabošoviti (Arvicolidae) nebo křečkoviti (Cricetidae) (Gaisler a Zima, 2007).

Laboratorní myš patří mezi jedno z nejpoužívanějších laboratorních zvířat. Využívána je například při výzkumu reprodukce, ve farmacii nebo v onkologii (Jebavý, 2011). V porovnání s jinými druhy laboratorních zvířat je poměrně plachá (Nejedlý, 1965). Její původ je odvozen od myši domácí, ze které vznikla křížením různých geografických populací. Stálý bílý typ myši domácí byl pravděpodobně poprvé získán v oblasti Japonska a Číny, kde také došlo k domestikaci druhu.

Myš domácí je původně palearktický druh, jehož rozšíření zasahovalo celou Evropu, sever Afriky a Asie. Vlivem činnosti člověka došlo s výjimkou Antarktidy ke kosmopolitnímu rozšíření celého druhu (Jebavý, 2011). Svým výskytem je vázána na člověka a využívá krajinu jím pozměněnou. Jedná se tedy o druh synantropní.



### 2.1.2. Biologie myši domácí

Myš domácí (*Mus musculus*) má tělo válcovitého tvaru, které je zřetelně rozlišeno na hlavu, krk, trup a přední a zadní končetiny a ocas. Tělní pokryv je tvořen srstí, jež se skládá z jemné krátké podsady a dlouhých hrubých pesíků. V hřbetní oblasti je vytvořeno elastické podkoží, které umožňuje vytvoření kožní řasy. Tato řasa je mimo jiné využívána člověkem pro bezpečnou laboratorní manipulaci. Výjimku v souvislém tělním pokryvu tvoří velké ušní boltce, které jsou téměř lysé a řídce ochlupený ocas, jenž je pokryt šupinovitými prstenci. Délka ocasu patří mezi jeden z poznávacích znaků myši domácí (*Mus musculus*). Jeho délka by měla přesahovat celkovou délku těla, která je u jednotlivých kmenů variabilní, pohybuje se však okolo 9cm. Oblast kolem čenichu je vybavena dlouhými sinusovými chlupy, které slouží jako pomocný hmatový orgán nezbytný pro orientaci. Ve vazivové pochvě těchto chlupů jsou přítomny krevní splavy (sinusy), které hmatové chlupy zpevňují a umožňují přenos mechanických podnětů na nervová zakončení umístěná v pochvě chlupu.

Hlava myši domácí je malá a lehká, vybíhající v ostrý čenich. Na lebce je vytvořen nevýrazný temenní hřeben (*crista parietalis*), mandibula je volná, se zvětšeným kaudálním koncem (*processus angularis*) a mohutnými žvýkacími svaly. Základním znakem celého řádu jsou dva řezáky v horní i dolní čelisti, které se pro svůj charakteristický tvar, vytvořený hlodáním, nazývají hlodáky. Jedná se o jedno z přizpůsobení trávicího ústrojí jejich způsobu života. Protože se neustále obrušují, celoživotně rostou. Na přední straně jsou kryty silnou vrstvou skloviny, zatímco jejich zadní strana sklovinou kryta není. Hlodáky jsou bez kořene, obloukovitě prohnuté až ke stoličkám. Za hlodáky následuje široká mezera (*diastema*) a tři stoličky. Špičáky a třenové zuby v jejich zubním vzorci úplně chybí. Zubní vzorec myši domácí (*Mus musculus*) můžeme znázornit rovnicí:

$$\frac{3 + 001 | 100 + 3}{3 + 001 | 100 + 3}$$

Dalším znakem, který umožňuje hlodání je kolmo rozpolcený horní pysk (*philtrum*). Ten se při hryzáni odhrnuje, aby nepřekážel a nedošlo tak k jeho zbytečnému poranění.

Hlava je nesena krátkým vysoce pohyblivým krkem, který se skládá ze 7 krčních obratlů. Druhý a sedmý krční obratel dorzálně vybíhá ve vysoký hřeben a na šestém obratli jsou ventrální hrboly příčných výběžků rozšířeny v plochou destičku. Zbytek páteře je tvořen 14 hrudními, 6 bederními, 4 křížovými a 27-32 ocasními obratli. Myši mají 13 párů žeber, z nichž je 7 párů tzv. pravých, tedy spojených se sternem, a 6 párů nepravých, ukotvených ve svalovině (Suckow et al., 2000). Sternum je tvořeno manubriem a čtyřmi články včetně *processus enciformis*. Přední končetina je tvořena ramenem, předloktím, zápěstím, záprstím a čtyřmi prsty, 1. prst je zakrnělý. Zadní končetina je tvořena stehnem, bércelem, zánártím, nártem a pěti prsty. Bérce vzniká srůstem kosti holenní (*tibia*) a lýtkové (*fibula*).

Myš domácí (*Mus musculus*) patří mezi sociálně žijící hlodavce. Ve skupinách je ustanovena hierarchie jak mezi samci, tak mezi samicemi. Přestože jsou myši celkově považovány za ne příliš agresivní druh, může mezi nimi docházet k bojům. Agresivní chování je nejčastěji spojováno s obranou teritoria nebo hierarchickými boji, při kterých mohou jednotliví účastníci utrpět poměrně vážná zranění (Suckow et al., 2000). V krajním případě může dojít k usmrcení submisivního samce. Boje jsou často také doprovázeny celou řadou projevů ritualizovaného chování (Jebavý, 2011).

Myši se vykazují soumráchnou až noční aktivitou (Jebavý, 2011). U laboratorně chovaných jedinců, však byla zaznamenána určitá aktivita i v průběhu dne. Ve volné přírodě je pro myši typická tvorba nor a hnízd, v laboratorních podmínkách je proto důležité poskytnout jedincům vhodný materiál pro jejich stavbu. Jedním z důvodů tohoto chování je udržení stálé teploty těla, která se pohybuje okolo 35,4 – 37,8°C (Suckow et al., 2000).

Pohlavní dospělosti tento druh dosahuje v průběhu 4 - 7 týdnů po narození, přičemž průměrná doba gravidity je 18-22 dní. V laboratorních podmínkách můžeme často pozorovat u samic tzv. pseudograviditu, tedy nepravou březost. Pseudogravidita trvá zhruba 15 dní, během této doby dochází ke zvětšení mléčných bradavek a zvýšení tělesné hmotnosti zhruba o 10%. Tento jev nastává v případě izolace samice od samce (Jebavý, 2011).

Myš domácí patří mezi druhy s vysokou natalitou, v jednom vrhu může samice porodit až 20 mlád'at, přičemž za jeden rok může zabřeznout až 9x. Mlád'ata se rodí

holá, se srostlými očními víčky a s ušními boltci přerostlými přes ústí zvukovodu. Boltce se od zvukovodu oddělují zhruba třetí den po narození, samotný zvukovod se otevírá o den později. Teprve desátý až čtrnáctý den po narození dochází k oddělení srostlých víček a mláďata začínají aktivně vidět. Samice kojí 21 dní z pěti párů mléčných bradavek. V průběhu této doby mláďata až 10x zvýší svojí porodní váhu (Jebavý, 2011).

**Tabulka 1.:Vybraná základní anatomická a fyziologická data myši domácí (upraveno podle Jebavého, 2011).**

Počet chromozomů	40
Tělesná teplota	35,8 – 37,8°C
Hmotnost dospělého jedince (♂/♀)	20-50g/20-40g
Pohlavní dospělost	4 - 7 týdnů
Doba gravidity	18 - 22 dní
Počet mláďat ve vrhu	6 - 20
Hmotnost mláděte při narození	1,0 – 2,2g
Doba odstavu	21 dní
Hmotnost mláďat při odstavu	10 – 12g
Počet vrhů za rok	7 - 9

## **2.2. PITVA MYŠI DOMÁCÍ (*MUS MUSCULUS*)**

### **2.2.1. Pomůcky a chemikálie**

#### **Pomůcky**

Skleněná nádoba, vata nebo gáza, pitevní miska, špendlíky, skalpel, oční chirurgické nůžky, pinzeta, preparační jehla.

#### **Chemikálie**

Voda, diethylether.

### **2.2.2. Usmrcení**

V souvislosti s usmrcováním laboratorních zvířat, se zejména v cizojazyčné literatuře můžeme setkat s pojmem euthanázie. Euthanázie je slovo řeckého původu znamenající „lehkou nebo dobrou smrt“ (eu = dobrý, thanatos = smrt). Před započítím pitvy musí být myš domácí (*Mus musculus*) šetrně usmrcena. Tento krok musí být učiněn s ohledem na minimální duševní a fyzickou bolest zvířete. V ideálním případě to znamená rychlou ztrátu vědomí následovanou smrtí, aniž by došlo k opětovnému nabytí vědomí (Suckow et al., 2000).

Ke smrcení laboratorních zvířat se nám nabízejí dva základní přístupy: fyzikální a chemický. Mezi fyzikální metody patří zlomení vazy nebo dekapitace. Při chemickém postupu se používá podání injekčních nebo inhalačních anestetik, např. barbituráty, halotan, chloroform nebo diethylether (Bienertová Vašků, nedatováno). V našem případě je nezbytné, aby při usmrcení nedošlo k poškození žádných orgánů, které budou později použity k tvorbě histologických preparátů. K poškození může dojít nejen mechanicky, ale i chemicky. Vzhledem k přetnutí míchy při zlomení vazy nebo dekapitaci, zvolíme metodu chemickou, konkrétně diethylether, tedy inhalační anestetikum.

Diethyletherem napustíme vatu nebo gázu, kterou vysteleme dno dobře těsnící skleněné nádoby, např. větší širokohrdlé lahve nebo menšího akvária s dobře přiléhajícím víkem. Myš uchopíme za ocas tak, aby po něm nemohla vyšplhat nahoru a pokousat nás. Vložíme jí do akvária, které překryjeme víkem. Páry diethyletheru tak

zůstávají v nádobě a neunikají do ovzduší laboratoře. Diethylether se v laboratorních pokusech také používá jako anestetikum, proto zpočátku můžeme pozorovat, jak zvíře usíná, nystagmus (rytmický konjugovaný kmitavý pohyb očí), dilataci zornic a nepravidelné dýchání. Při pokračujícím vystavení parám narkotika dochází k vymizení víčkového reflexu, rohovkového reflexu a zúžení zornic. Posléze se zvíře dostává do stavu chirurgické narkózy, kdy dochází k zástavě pohybů hmatových chlupů na čenichu. Pokud zvíře není v této fázi vyjmuto z akvária a je nadále vystavováno parám diethyletheru, dojde k zástavě dechu. Příznakem předcházejícím smrt je opětovná dilatace zornic (Bienertová Vašků, nedatováno).

### 2.2.3. Legislativa

*Zvířata jsou stejně jako člověk živými tvory, schopnými na různém stupni pociťovat bolest a utrpení, a zasluhují si proto pozornost, péči a ochranu ze strany člověka.<sup>1</sup>*

Nakládání s laboratorními zvířaty podléhá v České republice celé řadě přísných zákonů a mezinárodních úmluv, jichž je ČR signatářem. Tyto zákony je třeba mít při práci s laboratorními zvířaty na paměti a dodržovat je. V případě potřeby mají občané České republiky možnost si příslušné zákony a vyhlášky prostudovat. Tyto informace jsou veřejnosti přístupné na Portálu veřejné správy, který spravuje Ministerstvo vnitra<sup>2</sup>.

Základním právním předpisem platným v ČR zabývajícím se ochranou zvířat je Zákon č.114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny. Tento zákon se vztahuje na všechny jedince živočišného druhu, tedy jak na bezobratlé živočichy, tak na obratlovce. Myš domácí není zvláště chráněným druhem, takže se na ni vztahuje pouze obecná ochrana.

Konkrétním právním předpisem zabývajícím se nakládáním s laboratorními zvířaty je Zákon č.246/1992Sb., České národní rady na ochranu zvířat proti týrání s pozdějšími změnami a doplňky. Účelem tohoto zákona je chránit zvířata před týráním, poškozováním jejich zdraví a jejich usmrcením bez důvodu. Zvířetem se podle tohoto zákona rozumí každý živý obratlovec vyjma člověka. Zákon se nevztahuje na embrya, plody a bezobratlé živočichy. Tento zákon stanovuje předpisy pro nakládání s laboratorními zvířaty, to znamená přípustné důvody k usmrcení zvířete nebo postupy

<sup>1</sup> Zákon na ochranu zvířat proti týrání. *Česká národní rada*, č.246/1992 Sb., pp 1.

<sup>2</sup> <http://portal.gov.cz/app/zakony/?path=/portal/obcan/>

usmrcení zvířete, jež jsou předepsány v §5. §17 pak stanovuje osoby oprávněné k řízení, provádění a kontrolování pokusů na zvířatech. Osvědčení o oprávnění provádět pokusy na zvířatech je vydáváno příslušným orgánem ochrany zvířat. Těmito orgány jsou Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně a Česká zemědělská univerzita v Praze.

S problematikou pokusných zvířat také okrajově souvisí takzvaný Veterinární zákon 166/1999.

Vyhláška č.419/2012 Sb. o ochraně pokusných zvířat se zabývá především podmínkami ochrany pokusných zvířat a požadavky na péči o zvířata, tzn., stanovuje požadavky na prostory pro zvířata, zdravotní péči, přepravu, provádění pokusů atd. Tato vyhláška také stanovuje metody smrcení povolené pro různé druhy pokusných zvířat. Pro hlodavce jsou konkrétně povoleny následující způsoby smrcení: předávkování anestetikem, použití oxidu uhličitého, zlomení vazy, tupý úder do hlavy a oddělení hlavy od trupu.

Jedním z cílů Evropské unie je ukončení pokusů na zvířatech, avšak pro neexistenci alternativních metod umožňujících výzkum tyto pokusy nezakázala, ale zpřísnila opatření pro používání laboratorních zvířat. Mezi předpisy Evropské unie zabývajícími se ochranou laboratorních zvířat patří Směrnice evropského parlamentu a rady 2010/63/EU o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely. Tato směrnice stanovuje, které druhy zvířat mohou být k laboratorním účelům používány, například omezuje používání subhumánních primátů a zcela zakazuje pokusy prováděné na lidoopích, tzn. na bonobech, šimpanzích, gorilách a orangutanech. Dále pak stanovuje podmínky péče o laboratorní zvířata, metody a oprávnění k jejich smrcení.

#### **2.2.4. Postup pitvy**

(OBR.: 1, 2, 3, 4, 5, 6,)

Pitvu myši provádíme stejně jako pitvu laboratorního potkana (Sigmund, Bajtlerová, 1970). Videozáznam vzorové pitvy myši je součástí internetové podoby histologického atlasu a k diplomové práci je přiložen na CD. Vzhledem k menší velikosti myši je ale nutné použít jemnější pitevní nástroje než v případě potkana. Usmrcenou myš položíme do pitevní misky hřbetní stranou k podkladu, natáhneme a pomocí špendlíků ji připevníme k podložce. Špendlíky zapíchneme do dlaňové části

předních končetin a do chodidel zadních končetin. Pro lepší manipulaci na břišní straně navlhčíme srst vodou a ve střední části ji uhladíme do stran (Altmann, Lišková, 1979).

(OBR.: 1A, 2)

Pomocí pinzety uchopíme myš za kůži v oblasti ústí pohlavní a vylučovací soustavy a kůži příčně nastříháme (střih A). Do vzniklého otvoru vložíme oční chirurgické nůžky a vytvoříme další střih až k ústnímu otvoru (střih B). V této fázi pitvy je nutné dbát na to, aby byla nastřížena pouze kožní vrstva, nikoliv svalovina, která bude odpitvána později. Další střih provedeme v oblasti zadních končetin, kdy kůži rozstříháme příčně na střih B (střih C). Stejný typ střihu provedeme i v oblasti předních končetin (střih D). Pomocí skalpelu, za přidržování pinzetou odpreparujeme nastříhané kusy kůže od břišní stěny. Kůži upevníme špendlíky k podkladu pitevní misky tak, abychom měli volný přístup k otevírání břišní dutiny. Špendlíky zapichujeme šikmo do stran, hlavičkami směrem od pitvaného zvířete (Sigmund, Bajtlerová, 1970).

(OBR.: 1B)

Nad vyústěním urogenitální soustavy příčně nastříháme přímý břišní sval (střih A) a pomocí chirurgických nůžek prostříháme břišní stěnu až k mečovitému výběžku sternu (střih B). Poté vedeme střih směrem laterálním v kaudální části hrudníku (střih C) a stěnou břišní v tříselné krajině (střih D). Uvolněnou stěnu břišní dutiny připevníme pomocí špendlíků stejně jako kůži k pitevní misce (Buchar, 1993).

Pomocí nůžek prostříháme stěnu hrudníku v oblasti mečovitého výběžku. Střih směřujeme před bránicí (střih E). Bránice musí zůstat upevněna na kousku hrudníku, zhruba 5mm širokém, mezi střihy C a E. „*Pak nastříháme hrudník laterálně (střih F a G), oba střihy před sternem spojíme a ventrální část hrudníku odpreparujeme*“ (Buchar, 1993, str. 240).

(OBR.: 3)

Po odpreparování ventrální stěny hrudníku se nám otevírá pohled do dutiny hrudní, kde jsou umístěny jednotlivé části několika hlavních orgánových soustav. Ve směru kaudálním vidíme uložený hrtan (*larynx*), který přechází ve chrupavkami vyztuženou průdušnici (*trachea*). Bifurkace průdušnice v průdušky (*bronchy*) je shora kryta jedním z hlavních lymfatických orgánů, brzlíkem (*thymus*). Pod brzlíkem je

v kaudálním směru umístěno srdce (*cor*), které leží po obou stranách na plicích (*pulmo*). Zpoza srdce vidíme směrem k bránici vybíhat dolní dutou žílu (*vena cava inferior*) a směrem do plic plicní žíly (vv. *pulmonales*) (Sigmund, Bajtlerová, 1970). Pro vypreparování srdce je důležité nejdříve odstranit brzlík a poté nůžkami opatrně nastříhnout perikard a srdce vyjmout. Srdce se snažíme odstříhnout pokud možno tak, aby na něm zůstaly zachovány části srdečních tepen (Buchar, 1993). Dorzálně pod průdušnicí leží jícen (*esophagus*). V hrudní dutině můžeme také vidět několik důležitých nervů, a to nerv bloudivý (*n. vagus*) a brániční (*n. phrenicus*) (Sigmund, Bajtlerová, 1970).

(OBR.: 4, 5)

Břišní dutina je od dutiny hrudní oddělena bránicí. Jako první kaudálním směrem od mečovitého výběžku leží játra (*hepar*), vlevo tenké střevo (*intestinum tenue*), slepé střevo (*caecum*) a tlusté střevo (*intestinum crassum*), vpravo žaludek (*gaster*) a slezina (*lien*). Pro vypreparování trávicí soustavy z dutiny břišní nejprve protneme jícen po průchodu bránicí, vypreparujeme játra a pomocí pinzety a skalpelu postupně odřezáváme jednotlivé střešní závěsy, které trávicí soustavu drží. Na závěr skalpelem protneme oblast konečníku a celou soustavu vyjmeme z břišní dutiny. Pro lepší přehled můžeme soustavu ponořit do pitevní misky s vodou. Vyjmutím trávicí soustavy se nám otevírá pohled na soustavu močopohlavní. Mezi nejdůležitější orgány v kaudálním směru patří nadledviny (*gl. suprarenales*), ledviny (*ren*), semenné vāčky (*vesiculae seminales*), močový měchýř (*vesica urinaria*) a varlata (*testis*). Varlata z šourku vypreparujeme jeho nastřížením v kaudálním směru. Dalšími významnými strukturami, které je možno při pitvě pozorovat jsou předstojná žláza (*prostata*), chāmovody (*ductus deferens*), penis (*penis*) nebo močovod (*uteter*) (Buchar, 1993).

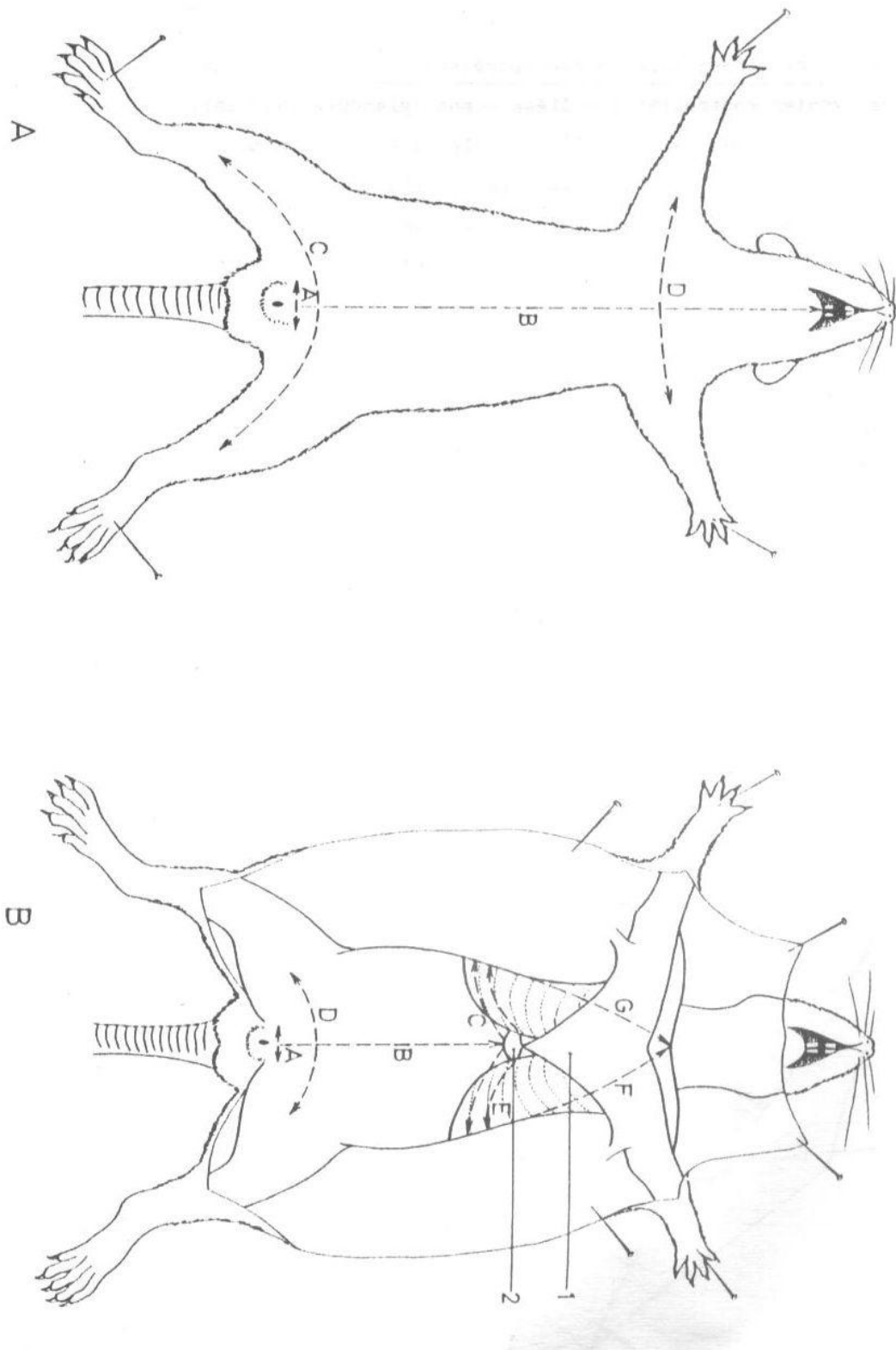
(OBR.: 6)

Samostatnou kapitolu pitvy myši domácí tvoří preparace mozku. Nejdříve je nezbytné oddělit hlavu od torza v oblasti třetího krční obratle. Následně uchopíme okraj kůže a pomocí pinzety a skalpelu ji směrem k čenichu opatrně odstraníme. Konec chirurgických nůžek vsuneme do týlního otvoru a tenké kosti lebeční klenby prostříhneme (střih A, B). Pomocí pinzety pak kosti odstraníme a následně nastříhneme

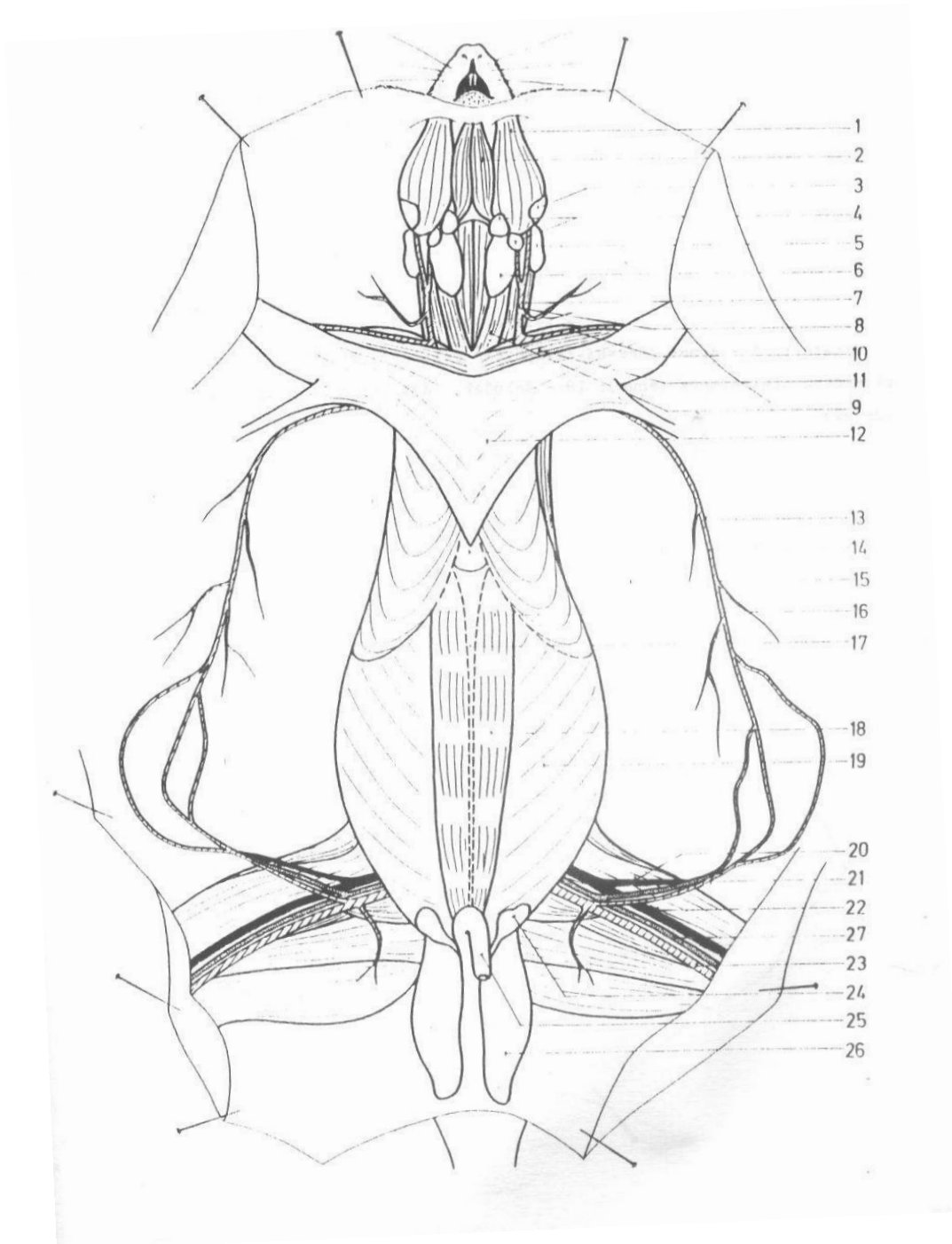


tvrdou mozkovou plenu, čímž uvolníme přístup k samotnému mozku, který opatrně vypreparujeme (Sigmund, Bajtlerová, 1970).

### 2.2.5. Nákresy postupu pitvy laboratorního potkana

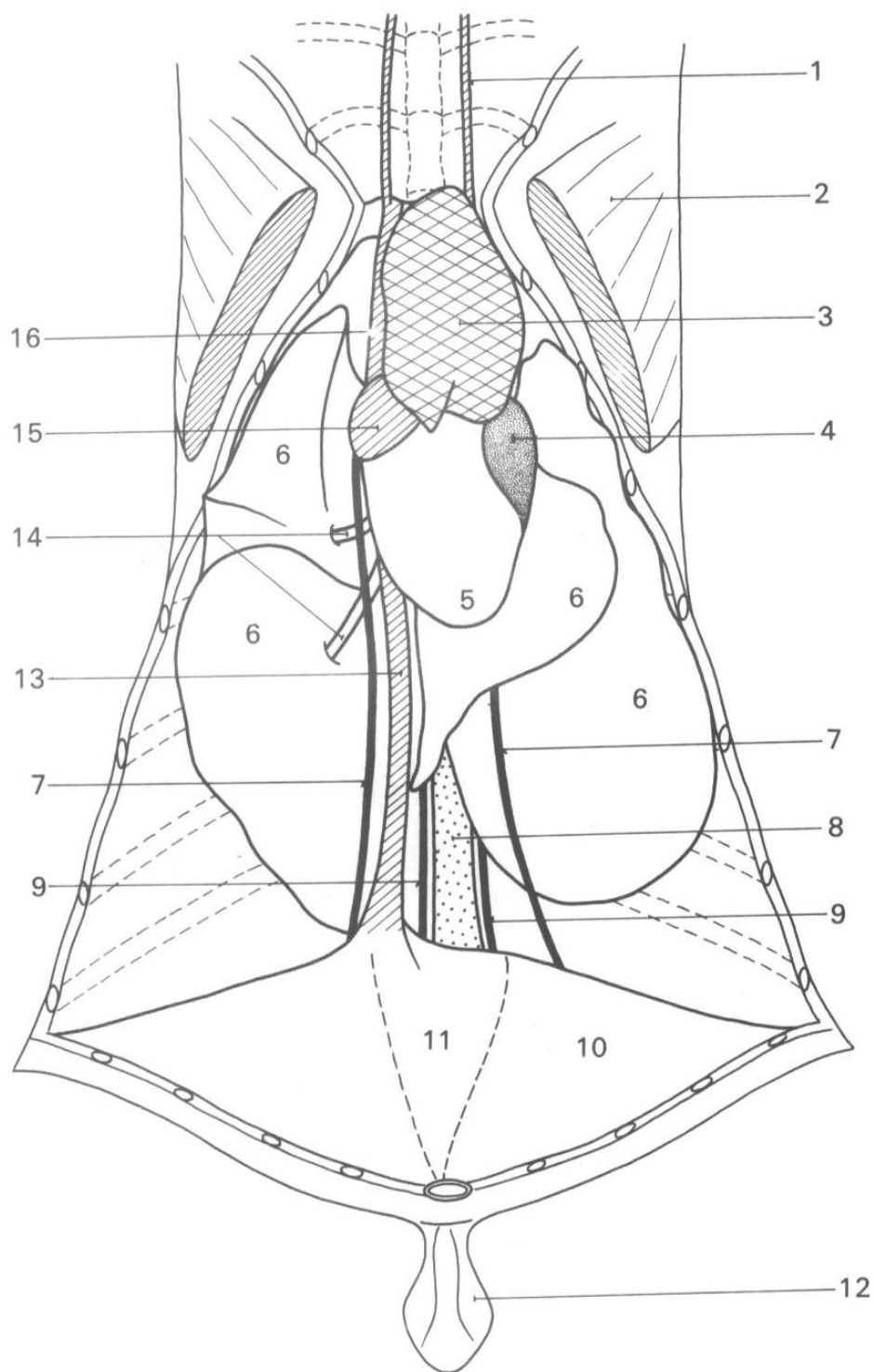


**Obrázek 1.:** A) Schéma řezů (A-D) znázorňující postup při preparaci kůže z ventrální strany těla. B) Postup (řezy A-G) při otevírání dutiny břišní a hrudní: 1 - mm. pectorales, 2 - mečovitý výběžek sternu (Buchar, 1993). Podrobný postup je vysvětlen výše v textu.

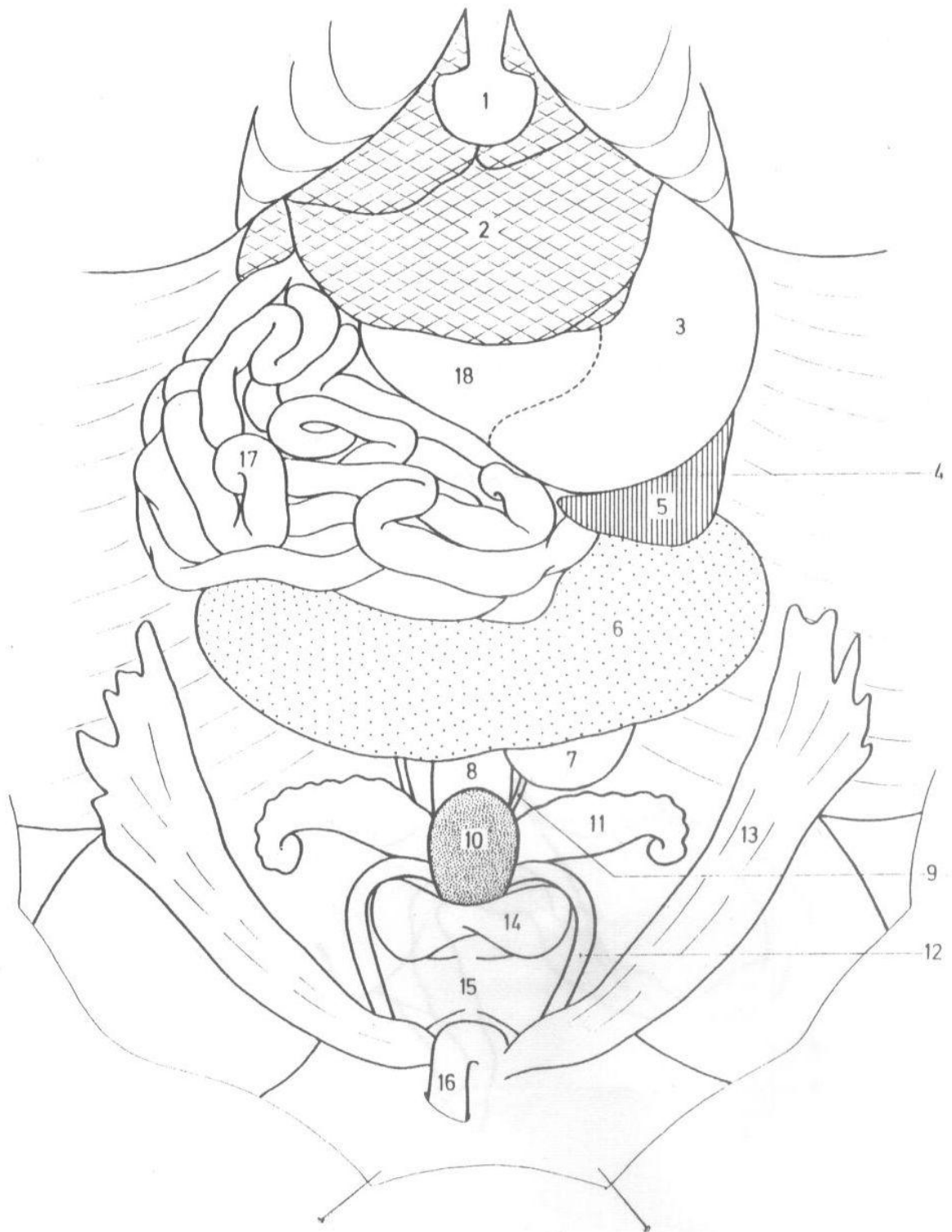


**Obrázek 2.: Útvary ventrální strany těla po odpreparování kůže (Buchar, 1993).**

1 – *m. masseter*, 2 – *m. digastricus*, 3 – slzná žláza, 4 – mízní uzliny, 5 – příušní slinná žláza, 6 – slinná žláza dolní čelisti, 7 – *m. cleidomastoideus*, 8 – *v. jugularis externa*, 9 – *m. sternomastoideus*, 10 – *v. cephalica*, 11 – *m. pectoralis descendens*, 12 – *m. pectoralis transversus*, 13 – *v. thoracica lateralis*, 14 – mečovitý výběžek, 15 – *m. cutaneus trunci*, 16 – přímý sval břišní, 17 – *linea alba*, 18 – *intersectiones tendineae*, 19 – *m. obliquus externus abdominis*, 20 – *nervus femoralis*, 21 – *v. epigastrica superficialis*, 22 – *n. saphenus*, 23 – *v. femoralis*, 24 – *glandula bulbourethalis*, 25 – *penis*, 26 – šourek s varlaty, 27 – *a.femoralis*

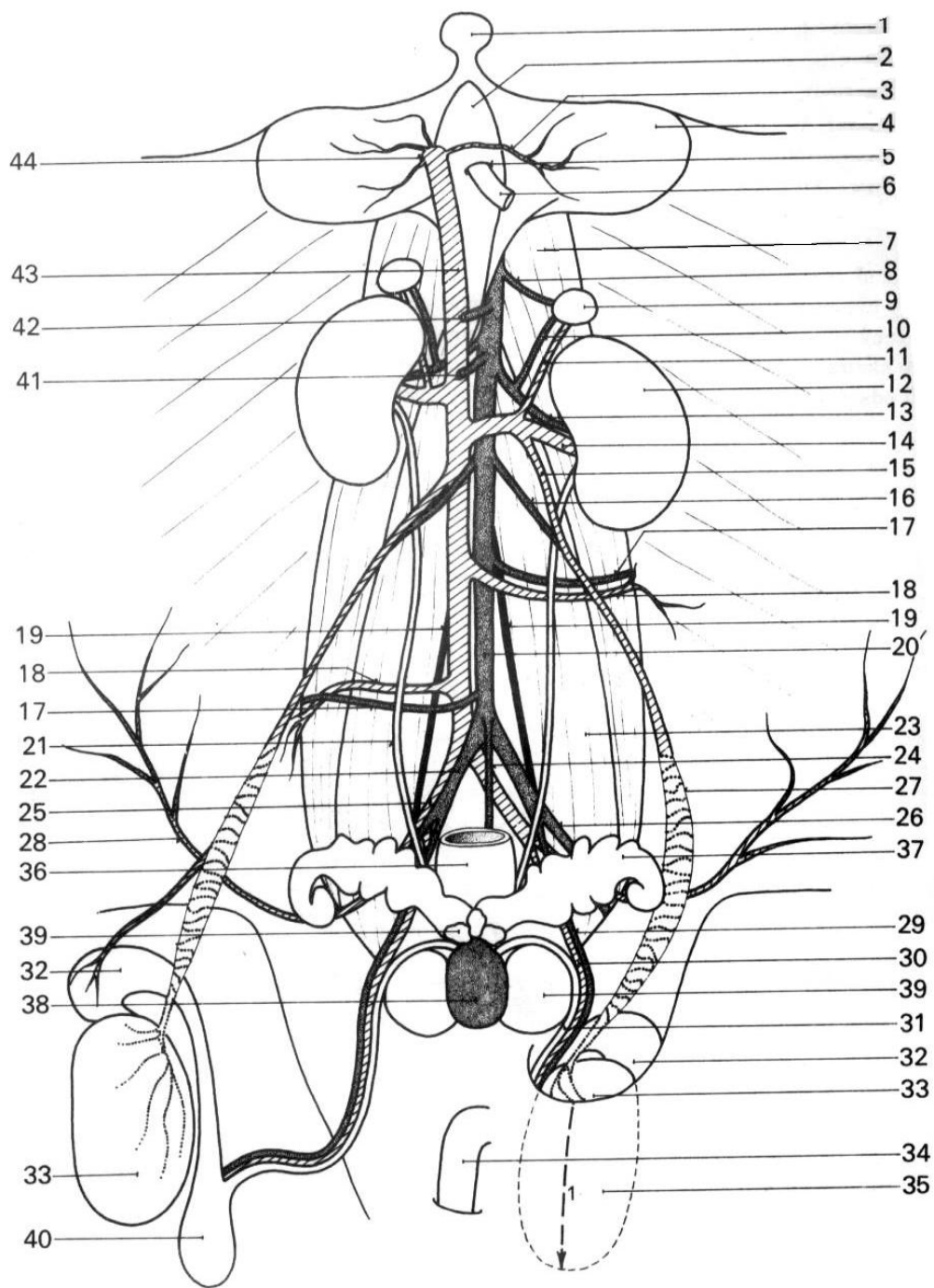


**Obrázek 3.: Pohled do dutiny hrudní po odpreparování hrudníku (Buchar, 1993).**  
 1 – *v. thoracica interna*, 2 – *mm. pectorales*, 3 – brzlík (*thymus*), 4 – levá síň (*atrium sinistrum*), 5 – hrot srdeční (*apex cordis*), 6 – plíce (*pulmo*), 7 – nerv brániční (*n.phrenicus*), 8 – jícen (*oesophagus*), 9 – nerv bloudivý (*n.vagus*), 10 – bránice (*diaphragma pars muscularis*), 11 – bránice (*diaphragma centrum tendineum*), 12 – mečovitý výběžek, 13 – zadní dutá žíla (*v.cava caudalis*), 14 – žíly plicní (*vv.pulmonales*), 15 – pravá síň (*atrium dextrum*), 16 – pravá přední dutá žíla (*v.cava cranialis dextra*)



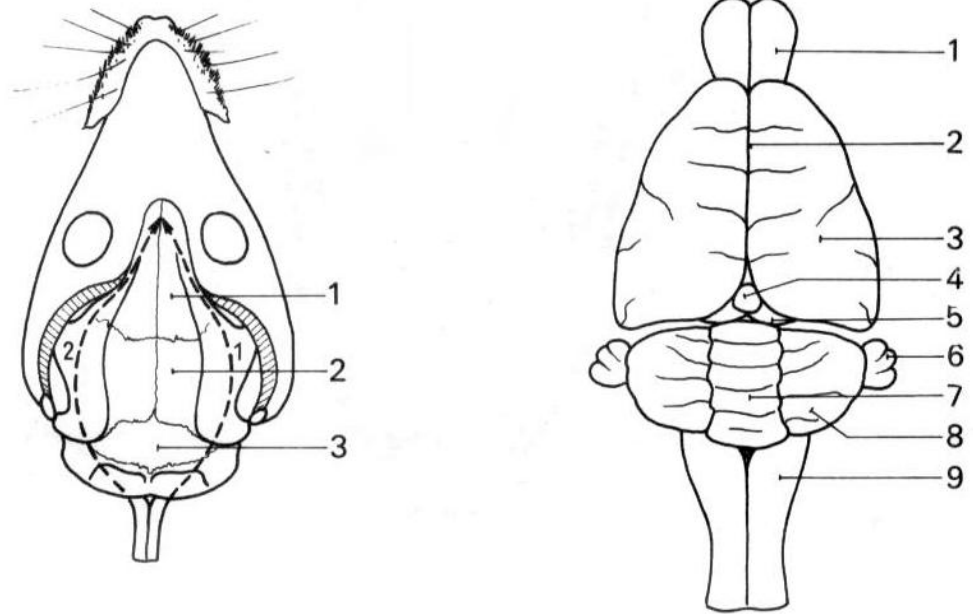
**Obrázek 4.: Orgány dutiny břišní po odpreparování kůže a svalů břišních (Buchar, 1993).**

1 – mečovitý výběžek kosti hrudní, 2 – játra, 3 – žaludek, 4 – *curvatura major*, 5 – slezina, 6 – slepé střevo, 7 – tlusté střevo, 8 – konečník, 9 – močovod, 10 – močový měchýř, 11 – semenné vaky, 12 – chámovod, 13 – tukové těleso, 14 – předstojná žláza, 15 – spona pánevní, 16 – penis, 17 – tenké střevo, 18 – vrátník



**Obrázek 5.: Pohled do dutiny břišní po vypreparování trávicí soustavy (Buchar, 1993).**

1-mečovitý výběžek, 2-aponeurotická část bránice, 3-vv.phrenicae, 4-svalnatá část bránice, 5-hiatus oesophageus, 6-jícen, 7-m.quadratus lumborum, 8-a.suprarenalis superior, 9-nadledvinka, 10-a.suprarenalis inferior, 11-v.suprarenalis sinistra, 12-ledvina, 13-a.renalis sinistra, 14-v.renalis sinistra, 15-v.testicularis sinistra, 16-a.testicularis sinistra, 17-a.iliolumbaris, 18-v.iliolumbaris, 19-n.genitofemoralis, 20-aorta abdominalis, 21-močovod, 22-a.iliaca communis dextra, 23-m.psoas, 24-a.mesenterica inferior, 25-v.iliaca communis sinistra, 26-a.iliaca externa, 27-plexus pampiniformis, 28-v.epigastrica inferior dextra, 29-a.ductus deferentis, 30-v.ductus deferentis, 31-chámovod, 32-caput epididymis, 33-varle, 34-penis, 35-šourek, 36-konečník, 37-semenné vāčky, 38-močový měchýř, 39-prostata, 40-cauda epididymis, 41-s.mesenterica superior, 42-truncus coeliacus, 43-dolní dutá žíla, 44-foramen venae cavae



**Obrázek 6.: Preparace mozku (Sigmund, 1993).** A) 1 – kost čelní (*os frontale*), 2 – kost temenní (*os parietale*), 3 – kost mezitemenní (*os interparietale*). Přerušovanou čarou jsou znázorněny stříhy lebkou. B) 1 – čichové laloky (*bulbi olfactorii*), 2 – *fissura longitudinalis cerebri*, 3 – koncový mozek (*telencephalon*), 4 – šišinka (*epiphysis*), 5 – *colliculus caudalis tecti mesencephali*, 6 – *flocculus* mozečku, 7 – červ mozečkový (*vermis*), 8 – polokoule mozečku (*hemispherica cerebelli*), 9 – prodloužená mícha (*medulla oblongata*)

## 2.3. PŘÍPRAVA HISTOLOGICKÝCH ŘEZŮ

Při studiu stavby jednotlivých živočichů můžeme nejprve pitvou určit polohu jednotlivých orgánových soustav a jejich orgánů. V dnešní době se však naše studium zde nemusí zastavit, ale můžeme pokračovat tvorbou histologických řezů. Tyto řezy nám umožňují pozorovat vnitřní stavbu orgánů a při zvolení vhodných barviv jsme schopni ve světelném mikroskopu pozorovat buněčné struktury a tvary jednotlivých buněk. Díky tvarům a seskupení buněk, které je pro každou tkáň charakteristické a unikátní, mohou histologické řezy sloužit také jako ukazatel nebo prostředek k určení jednotlivých tkání a orgánů.

Histologické řezy nejsou typické pouze pro zoologii. Velice často se s nimi můžeme setkat i v botanice. Přestože požadovaný výsledek je stejný, vytváření řezů v botanice a v zoologii se liší. Vzhledem k přítomnosti buněčné stěny u rostlin, postačí pro vytvoření řezu v botanice řezání jednotlivých částí pomocí žiletky nebo ručního mikrotomu. V zoologii je možné tímto stylem vytvořit řezy pouze z chrupavky nebo jiných kompaktních orgánů (Jírovec, 1958). Při ručním řezání však nikdy nedosáhneme takové tloušťky řezů jako při použití mikrotomů, které umožňují řezat jednotlivé tkáně o síle několika mikronů.

### 2.3.1. Mikrotomy

Na trhu je k dostání několik typů různých mikrotomů, které se liší svou stavbou a použitím. V laboratořích se můžeme nejčastěji setkat s mikrotomy sáňkovými, rotačními nebo zmrazovacími.

#### Sáňkový mikrotom

Sáňkový mikrotom se vyznačuje pohyblivým uchycením parafínového bločku, který je připevněn na dřevěné krychličce. Krychlička je do mikrotomu připevněná pomocí neapolských svorek, jež jsou otočné ve třech rovinách a umožňují tak orientaci vzorku. Mikrometrickým šroubem můžeme posouvat parafínový bloček ve vertikálním směru. Požadovanou sílu řezů si můžeme nastavit na mikrometrické stupnici, která je spojena se šroubem. Při posunu mikrotomového nože na doraz dochází k zvednutí parafínového bločku ve vertikálním směru o požadovaný počet mikronů. Tento systém zaručuje stálou sílu řezů bez nutnosti neustálého ručního posouvání parafínového



bločku. Nožem sáňkového mikrotomu je možno manipulovat ve směru řezu a v jeho rovině, můžeme tedy měnit sklon nože (Jírovec, 1958).

### **Rotační mikrotom**

U rotačního mikrotomu je na rozdíl od mikrotomu sáňkového nůž přidělán na pevnou. Jedinou pohyblivou součástí je bloček parafinu umístěný ve svorce, která se posouvá pomocí těžkého setrvačnicku. Řezy se tak krájejí v podobě nekončící pásky. K šetrnému odstranění řezů z nože se používá jemný štěteček namočený ve vodě a vytvarovaný pomocí prstů do „lopaticky“. Stejně jako u sáňkového mikrotomu i zde můžeme nastavit mocnost řezů, parafinový bloček se posouvá automaticky (Habrová, 1986).

### **Zmrazovací mikrotom**

V případě řezání měkkých tkání, které by se při zalití do klasických parafinových nebo celoidinových bločků zohybal, se používá zmrazovací mikrotom. Tkáně nejsou v takovém případě zality do výše uvedených médií, ale jsou zality do želatiny. Podstatným rozdílem je jejich zmrazení pomocí kapalného oxidu uhličitého. Ke krájení je pak použit buď speciálně sestrojený mikrotom, nebo mikrotom sáňkový s namontovaným zmrazovacím zařízením (Habrová, 1986).

### **Údržba mikrotomů**

Jako každý jiný laboratorní přístroj je nutné i mikrotom pravidelně udržovat. Pro lepší kvalitu řezů a snazší manipulaci je dobré pravidelně brousit nůž, aby byl dokonale ostrý a aby se vyhladily jakékoliv zářezy, které mohly v průběhu manipulace s ním vzniknout, například neopatrným zacházením se skalpelem nebo štětcem, kterým sundáváme z nože jednotlivé řezy. Nůž můžeme nechat odborně nabrousit ve specializovaných prodejnách s mikroskopickými potřebami, popřípadě si ho můžeme nabrousit sami. V takovém případě budeme potřebovat belgický brousek a obtahovací řemen upevněný na pevné podložce. Mikrotomový nůž upevníme do ochranné svorky, která zajišťuje správný sklon brousku k noži. Nůž pak brousíme proti ostří nože a na řemeni obtahujeme svorkou dopředu (Jírovec, 1958). Před započítím práce samotné je nutné zkontrolovat utažení všech šroubů a jejich promazání strojním olejem. Před nanesením nové vrstvy oleje je nutné očistit mikrotom od oleje starého. K tomuto účelu

nám poslouží hadřík namočený do xylenu. Při nanášení oleje musíme dbát na jeho množství. Příliš silná vrstva by mohla ovlivňovat tloušťku vyrobených řezů a příliš málo oleje by ovlivňovalo pohyblivost nože. Nožem by mělo být možno posouvat plynule a bez jakéhokoliv odporu.

### **2.3.2. Odběr tkáně**

Tkáň pro tvorbu parafinových bločků získáváme z jednotlivých orgánů. Při odběru je třeba dávat důsledně pozor, aby nedošlo k poškození tkáně. K preparaci a řezání proto používáme pinzetu, skalpel nebo žiletku. Tkáň za žádných okolností nestříháme nůžkami. Tkáň bychom se také měli pokoušet přidržovat pinzetou pokud možno vždy na jednom místě. Pro tvorbu bločků je ideální velikost odebrané tkáně okolo 0,5cm. Pokud odebereme příliš velký bloček, může dojít k nedostatečnému prosycení fixační tekutinou (Habrová, 1986).

Dalším důležitým krokem, který se při odběru tkáně silně prokrvených orgánů musí dodržovat, je její odkrvení. K odkrvení dochází perfuzí<sup>3</sup> vhodným fyziologickým roztokem. U menších zvířat, jako je například myš domácí, máme na výběr ze dvou možností provedení. Můžeme provést celkovou perfuzi, kdy kanylu s fyziologickým roztokem zavedeme do aorty nebo můžeme provést perfuzi příslušného orgánu a kanylu v takovém případě zavedeme do artérie orgánu (Habrová, 1986).

### **2.3.3. Fixace tkáně**

Dalším krokem v přípravě histologických řezů je fixace odebrané tkáně. Důvodem fixace je rychlé usmrcení buněk, čímž se zabrání denuraci bílkovin a autolytickým pochodům, ke kterým dochází po smrti organismu. Fixace probíhá za pomoci fixační tekutiny, na níž jsou kladeny nemalé požadavky. Tekutina musí dostatečně rychle pronikat do odebrané tkáně, proto je nutné odebírat poměrně malé bločky tkáně, nesmí měnit strukturu buňky a musí zachovávat barvitelnost tkání. Na výběr máme z široké škály fyzikálních a chemických fixačních prostředků, bohužel žádný z daných způsobů nikdy nedokáže dokonale splnit všechny požadavky kladené na fixační tekutinu (Habrová, 1986). Při fixaci dojde vždy alespoň k částečné změně struktury fixovaných buněk, fixace samotná je založená na trvalém srážení buněčných

---

<sup>3</sup> Perfuze je průtok tekutiny tkání, orgánem.

koloidů, hlavně bílkovin (Jírovec, 1958). Záleží proto na vhodné volbě fixace, aby se strukturální změny omezily na minimum.

### **Postup fixace**

Vzhledem k malým rozměrům fixované tkáně, zhruba 0,5cm, může fixace probíhat ve zkumavce nebo v epruvetě. Dno nádoby vysteleme chomáčkem vaty nebo gázy tak, aby vložená tkáň nebyla v kontaktu se dnem a fixační tekutina mohla k tkáni snadněji prostupovat. Pokud by fixovaná tkáň byla ve styku se skleněným dnem, místo kontaktu by bylo nedostatečně profixováno. V případě použití fixačních tekutin s obsahem alkoholu zabraňuje vata umístěná na dně ředění fixáže vodou, která se uvolňuje z tkáně a klesá ke dnu. K fixáži přistupujeme okamžitě po odběru tkáně z organismu, aby se zabránilo strukturálním změnám buněk, případně i hnilobným dějům. K fixáži je nutné dostatečné množství tekutiny, udává se spotřeba až 50x většího objemu, než je objem fixované tkáně (Habrová, 1986). V některých případech se doporučuje fixovat vzorky tkání v ledničce při teplotách 4-6°C. Chlad sice zpomalí proces fixace, ale zároveň zpomalí průběh autolytických dějů (Jírovec, 1958).

### **Fyzikální fixační prostředky**

Fyzikální fixační prostředky nejsou v histologii příliš používány. Mezi fyzikální fixační prostředky patří fixace teplem, vysycháním nebo zmrazením. Fixace vysycháním se v histologii využívá při tvorbě krevních roztěrů. V tomto případě je však samotná fyzikální fixace nedostačující a je potřeba použití i chemických fixačních prostředků.

Fixace zmrazením je pravděpodobně nejšetrnější způsob fyzikální fixace. K hlubokému zmrazení dochází za použití tekutého dusíku o teplotě -196°C. Při kontaktu tekutého dusíku s tkání dochází k jejímu rychlému zmrazení, čímž se zabrání krystalizaci vody uvnitř buněk a tak jejich roztržení. Strukturní změny, ke kterým vlivem této fixace dochází, nejsou příliš velké, proto buňky jsou i po rozmrazení nadále schopny života. Dále se používá fixace zmrazením, ale pouze několik desítek stupňů Celsia pod nulou. Tento typ fixace se používá v histochemii nebo v cytochemii enzymů, protože malé zmrazení enzymů nijak nenarušuje jejich aktivitu. Pro fixaci buněk není tento typ zmrazení ideální, protože dochází ke strukturálním změnám v buňce (Habrová, 1986).

## Chemické fixační prostředky

Chemické fixační prostředky se používají v histologii častěji, než fixační prostředky fyzikální. Celkově je možné chemické fixační látky rozdělit do pěti hlavních skupin:

- 1) Vodné roztoky oxidů
- 2) Soli kovů
- 3) Organické kyseliny
- 4) Organické redukční prostředky
- 5) Směsné fixační tekutiny

Jedná se tedy o chemické prostředky anorganického nebo organického původu. Při fixaci je možné tyto prostředky používat samostatně, ale většina z nich má vedle nezanedbatelných předností také celou řadu, v histologii nežádoucích vedlejších účinků, které znemožňují jejich samostatnému použití. Nežádoucí vedlejší efekty se snažíme potlačit vytvářením směsí, takzvaných fixačních tekutin.

### **add 1) Vodné roztoky oxidů**

**Oxid osmičelý  $\text{OsO}_4$**  je chemický fixační prostředek anorganického původu, který se používá ve formě par nebo roztoků. Tvoří bezbarvé hygroskopické krystalky, které se rozpouštějí ve dvakrát destilované vodě a uchovává se v čistých skleněných lahvích se zábrusovou zátkou (Jírovec, 1958). Tkáň dokáže fixovat bez tvorby sraženin a při dalším zpracování pomáhá tkáň udržet odolnou proti smršťování, ale jeho velkou nevýhodou je jeho nízká pronikavost a snížená barvitelnost tkání. Tato fixační látka se používá k fixaci cytoplazmy, lipidů nebo Golgiho aparátu, který se jejím vlivem obarvuje na černo (Habrová, 1986).

**Oxid chromový  $\text{CrO}_3$**  je anorganický chemický fixační prostředek většinou používaný ve směsi s  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , který umožňuje lepší pronikavost a barvitelnost fixovaných tkání (Habrová, 1986). Tvoří červené, silně hygroskopické krystalky (Jírovec, 1958).

## add 2) Soli kovů

**Chlorid rtuťnatý  $\text{HgCl}_2$**  se používá ve formě par. Přestože, stejně jako velké množství sloučenin rtuti, i chlorid rtuťnatý je jedovatý, patří mezi nejpoužívanější chemické fixační prostředky anorganického původu z řad solí těžkých kovů (Habrová, 1986). Je rozpustný ve studené vodě v poměru 7:100, jeho rozpustnost ve studeném alkoholu nebo v teplé vodě je mnohonásobně lepší. Jeho nevýhodou je nízká pronikavost do tkání, která se však kompenzuje použitím dalších činidel. Jeho výhodou je výborná fixace jádra a zachování barvitelnosti tkání. Jeho sraženiny se z tkání vypírají v 80% alkoholu obarveném Lugolovým roztokem, který způsobuje slabě hnědé zbarvení (Jírovec, 1958).

**Dichroman draselný  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$**  je fixační prostředek využívaný pouze ve směsích, např. se používá ve směsi s oxidem chromovým ( $\text{CrO}_3$ ), u kterého vylepšuje pronikavost a barvitelnost tkání. Samostatně se vyznačuje špatnou fixací jádra.

## add 3) Organické kyseliny

**Ledová kyselina octová  $\text{CH}_3\text{COOH}$**  je bezbarvá kapalina o koncentraci 100%, která již při  $17^\circ\text{C}$  krystalizuje. V koncentrovaném stavu se kyselina octová používá zředěná 4% vody. Proto se používá jako součást směsí, kde pomáhá urychlovat fixační schopnosti jiných fixačních činidel. Sama se vyznačuje výbornou pronikavostí do tkání díky své kyselé reakci, ale na druhou stranu narušuje některé buněčné organely, např. mitochondrie, sráží hlen nebo nabobtnává kolagen (Jírovec, 1958).

**Kyselina trichloroctová  $\text{CCl}_3\text{COOH}$**  stejně jako ledová kyselina octová rychle proniká do tkání, na rozdíl od ní udržuje nenarušené mitochondrie, ale kolagen v její přítomnosti bobtná stejně jako v ledové kyselině octové (Jírovec, 1958). Dále se využívá při tvorbě řezových preparátů z kostí. Používá se k jejich dekalifikaci (Habrová, 1986). Kyselina trichloroctová je silně hygroskopická, tvoří krystalky, které se při kontaktu se vzduchem roztékají a jsou dobře rozpustné ve vodě nebo v alkoholu (Jírovec, 1958).

**Kyselina pikrová  $\text{C}_6\text{H}_2(\text{NO}_2)_3.\text{OH}$**  je fixační látka srážející bílkoviny. Její nevýhodou je, že tkáň zbarvuje do žluta, ale tento efekt je možno zvrátit pomocí 10% ( $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ), který obarvenou tkáň odbarvuje (Habrová, 1986).

#### **add 4) Organické redukční prostředky**

**Ethanol**  $C_2H_5OH$  se nejčastěji využívá ve směsích. Při dlouhodobé fixaci se snižuje barvitelnost tkání a jemné buněčné struktury se v něm smršťují. Nejčastěji se využívá směs denaturovaného ethanolu s 2% benzenem nebo benzínem. Výhodou denaturovaného ethanolu je jeho větší cenová dostupnost, protože čistý ethanol je velice nákladný a pro fixaci je nutné používat minimálně roztok o koncentraci 70% (Jírovec, 1958).

**Methylalkohol**  $CH_3OH$  je jedovatý, v praxi se většinou používá hlavně k fixaci krevních roztěrů.

**Formaldehyd**  $HCHO$  se používá jako vodný roztok 35 – 40%, který se přidává do fixačních tekutin nebo také samostatně jako 4 – 10% roztok. Je jedním z nejpoužívanějších fixačních prostředků v histologii, ale také se používá při fixaci celých menších živočichů. Je možné jej používat samostatně, jinak se také vyskytuje jako součást fixačních tekutin. Jeho výhodou je dobré srážení bílkovin, zachování mitochondrií, nerozpouští tuky a tkáň je v něm možné uchovávat delší dobu (Habrová, 1986). Postupem času se na dně lahve s formaldehydem sráží nerozpustný paraldehyd, jehož přítomnost snižuje hodnotu celého obsahu lahve. Jeho nevýhodou je dále tvorba kyseliny mravenčí, která se v něm v průběhu času vytváří, především pokud je vystaven přímému slunečnímu světlu. Kyselinu mravenčí můžeme z formaldehydu odstranit přisypáním práškového uhličitanu vápenatého, kterých na sebe kyselinu naváže, a zředěním vodovodní vodou, nikoliv destilovanou vodou (Jírovec, 1958).

#### **add 5) Směsné fixační tekutiny**

Jak již bylo řečeno výše, fixační tekutiny jsou speciálně sestavené tak, aby se dosáhlo maximálního potlačení negativních efektů jednotlivých fixačních činidel za současné podpory jejich kladných vlastností. Fixačních tekutin existuje několik různých typů, ze kterých je možno vybírat podle toho jaké požadavky klademe na konečný preparát. Mezi nejčastěji používané patří Bouinova fixační tekutina, Zenkerova fixační tekutina nebo Carnoyova fixační tekutina. Jako samostatnou fixační tekutinu je možné použít i formaldehyd, který je také používán jako součást směsí jiných fixačních tekutin.

Nejčastěji používanou fixační tekutinou je Bouinova fixáž, která se připraví smícháním 150ml kyseliny pikrové, 50ml 40% formaldehydu a 10ml ledové kyseliny octové. Doba fixace závisí na velikosti objektu, pohybuje se však v rozmezí od 2 do 48 hodin (Lelláková et al., 1985)

#### **2.3.4. Vypírání fixačních tekutin z objektů**

Vypírání většiny fixačních tekutin před další úpravou preparátů je nezbytně nutné. Přítomnost fixační tekutiny v tkáních by stěžovala další úpravu vzorků. Nejčastěji způsobuje potíže při zalévání tkání do parafinu nebo snižuje pozdější barvitelnost řezů. K vypírání většinou používáme alkohol nebo vodu. Aby bylo vypírání fixáže dokonalé je nutné alkoholové i vodní lázně několikrát vyměnit a dodržovat předepsanou dobu a postup vypírání stanovený pro jednotlivé fixáže. Alkoholem většinou vypíráme fixáž v zábrusových skleněných váženkách. Vodou vypíráme v kádinkách, ve kterých jsou vzorky zavěšené v gázovém váčku nebo ve speciálních porcelánových nádobkách (Habrová, 1986).

#### **2.3.5. Zalévání objektů**

Po vyprání fixáže se objekty zalévají do médií, která umožňují pozdější práci na mikrotomu. Tkáňové bločky jsou po fixaci sami o sobě stále velmi měkké a křehké, aby získaly požadovanou konzistenci, je nutné je prosytit zalévacím médiem (Lüllmann-Rauch, 2012). Mezi nejčastěji používaná média patří parafin nebo jeho speciální úprava pro histologii zvaná paraplast, epoxidové pryskyřice, celoidin nebo želatina. Parafin se používá většinou při práci ve světelné mikroskopii, kdežto epoxidové pryskyřice jsou častější pro elektronovou mikroskopii (Junqueira et al., 1999). Zalévání do jednotlivých médií se liší jednak postupem a jednak pozdější prací na mikrotomu. Při práci na mikrotomu jsou vytvářeny většinou řezy o síle 5-8 $\mu$ m (Habrová, 1986).

#### **Zalévání do parafínu**

Nejčastěji používaným médiem ve světelné mikroskopii je parafin nebo paraplast. Jeho používání s sebou přináší celou řadu kladů a záporů. Zalévání zejména drobných objektů není nijak časově náročné, protože trvá pouze několik hodin. Na druhou stranu není vhodný pro objekty větší než 2cm, protože by jej nedokázal

dostatečně prosytit. Jeho použití je dále nevhodné zejména pro tvrdší tkáně, jako jsou kosti, chrupavky, zuby, vazivo, šlachy, ale například i kůže. Tyto tkáně při zalití do parafínu ještě více ztvrdnou a nelze je prakticky vůbec krájet (Jírovec, 1958). Další nevýhodou spojenou s parafínem jako zalévacím médiem je teplota, při které se zalití uskutečňuje. Teplota nutná pro důkladné rozpuštění parafínu je 60°C, při této teplotě však již dochází k poškození některých jemných objektů. Dále pak odvodnění a následné prosycení parafínem způsobuje smršťování tkáně o 8-20% (Jírovec, 1958). Na druhou stranu parafín umožňuje vytvářet při krájení souvislou pásku, díky čemuž můžeme získat představu o kompletní stavbě orgánu (Habrová, 1986).

Vlastnímu zalití do parafínu předchází několik dalších kroků: odvodnění objektu, projasňování, prosycení parafínem a vlastní zalití parafínem.

### **1. Odvodnění objektu**

Protože parafín je médium nemísitelné s vodou, je třeba objekty před zalitím odvodnit. Toho dosáhneme převedením tkání přes lázně se vzestupnou alkoholovou řadou. Tento postup umožňuje odvodnění tkáně při jejím co nejmenším smrštění. Habrová (1986) uvádí, že někteří autoři používají k odvodnění objektů pouze 96% alkohol, protože celá vzestupná alkoholová řada podle nich nepřináší dostatečné množství výhod a je proto nadbytečná. Pokud je však vzestupná alkoholová řada k odvodnění objektů použita, začíná se většinou na 70% koncentraci alkoholu a pokračuje se na 80% a 96% koncentraci, přičemž v některých případech je vhodné odvodňování začít na nižších koncentracích (Habrová, 1986). Doba nutná k odvodnění objektů se liší, záleží zejména na jejich velikosti čím větší objekt, tím delší doba je nutná k jeho odvodnění. Obecně lze říci, že objekty o velikosti 2 - 4mm je nutno ponechat v jednotlivých lázních 30 minut až 2 hodiny, 6 - 8mm 3 až 4 hodiny, 10 - 15mm 6 až 12 hodin (Jírovec, 1958). Pouze v případě 96% alkoholu je nutné omezit dobu odvodňování, aby nedošlo k ztvrdnutí tkáně (Habrová, 1986). V 80% alkoholu mohou být tkáňové bločky ponechány i několik týdnů, aniž by došlo k jejich poškození (Jírovec, 1958).

Důležitou roli při odvodňování objektů hraje množství alkoholu v jednotlivých lázních. K dokonalému odvodnění je preferován větší objem alkoholu a případná výměna jednotlivých lázní (Jírovec, 1958).



Habrová (1986) dále uvádí možnost použití methylbenzoátu k dokonalému odstranění veškerých zbytků vody. Případné použití methylbenzoátu může nahradit lázeň 96% alkoholu. Odvodňování v tomto případě není určeno časem, ale klesnutím objektu ke dnu nádoby a jeho projasnění.

## **2. Projasňování**

Po odstranění vody z tkáňových bločků je třeba objekty prosytit látkou mísící se současně se zalévacím médiem, tedy parafinem, i alkoholem (Junquiera et al., 1999). Nejčastěji používaným rozpouštědlem je benzen. Používá se jednak z důvodu nižších nákladů a jednak díky příznivým vlastnostem (Jírovec, 1958). Mezi další rozpouštědla patří methylbenzoát a terpineol, které je možno použít na bločky odvodněné v alkoholu o nižší koncentraci a tkáň v nich na rozdíl od xylenu netvrdne a neláme se (Habrová, 1986).

V případě prosycování benzenem jsou bločky ponořeny do 2 – 3 lánů po dobu 10 – 15 minut (Habrová, 1986). Po prosycení benzenem se tkáň projasní, až zprůsvitní (Junquiera et al., 1999). V případě špatného odvodnění objektů se v jejich středu vytvoří mléčně bílé zakalení. Pokud dojde k této situaci, je nutné odvodňování zopakovat vrácením objektu zpět do absolutního alkoholu (Habrová, 1986).

## **3. Prosycení parafinem**

K prosycení tkání parafinem se používá parafin speciálně k tomu určený. Běžný parafin je méně kvalitní a není k prosycování vhodný. Kvality potřebné pro histologii se u běžného parafinu dosáhne teprve opakovaným tavením při 70 – 80°C. Jírovec (1958) uvádí, že je vhodné takovýto parafin tavit opakovaně i několik týdnů, dokud nezíská světlehnědou barvu. Habrová (1986) k takto zbarvenému parafinu výsledně přidává ještě 5% včelího vosku. Komerčně dostupný speciální parafin pro histologii, tzv. paraplat<sup>4</sup> je připraven k okamžitému použití a není nutné jej dále upravovat.

V histologii se běžně používají 3 základní typy parafinu. Jejich pečlivý výběr má nezanedbatelný význam. Tyto parafiny se liší jednak v teplotě tání a jednak v objektech, jež je vhodné do nich zalévat. Měkký parafin taje při teplotě 40 – 45°C a je vhodný

---

<sup>4</sup> <http://www.p-lab.cz/>

k zalévání měkkých tkání. Střední parafin má bod tání v rozpětí teplot 50 – 58°C a v praxi je nejvíce využíván, protože do něj lze zalít prakticky všechny běžné tkáně. Posledním typem parafinu je parafin tvrdý, který taje při teplotách vyšších než 58°C. Je vhodný zejména pro tvrdé tkáně a práci v místnostech s vyššími teplotami (Jírovec, 1958).

Prosycování objektu parafínem se skládá z několika kroků. Nejdříve bloček vložíme na 30 minut při 35 – 40°C do nasyceného roztoku parafinu v benzenu. Benzen pomalu rozpouští parafin, který pak může dobře pronikat do tkání. Poté následuje prosycování čistým parafínem, které probíhá v termostatu nebo ve vodní lázni. První lázeň je zahřátá na teplotu o 2°C vyšší než je teplota tání parafinu, zde objekt necháme 2-3 hodiny. V druhé lázni je objekt ponechán 3-5 hodin a v poslední lázni 5-12 hodin (Habrová, 1986). Teplota parafinu by nikdy neměla překročit 60°C, v opačném případě se histologické řezy špatně barví. V čistém parafínu ponecháme tkáňové bločky až týden (Jírovec, 1958).

#### **4. Vlastní zalití parafínem**

K vlastnímu zalití objektů parafínem se používá čistý parafin. Rozehřátý parafin nakapeme do předem připravených nádobek a nahřátou pinzetou do nich přeneseme objekty z poslední parafinové lázně, v níž jsme tkáně prosycovali. Objekt zorientujeme tak, abychom při krájení na mikrotomu získali řezy v požadovaném směru. Nádobku se stále ještě rozeřhřátým parafínem vložíme až po okraj do studené vodní lázně (10–15°C). Teplotu vodní lázně je třeba dodržet, při použití příliš chladné vody dochází k rozpraskání parafinového bločku. Ve chvíli, kdy se na povrchu rozeřhřátého parafinu vytvoří tuhá vrstvička, ponoříme celou nádobku pod vodu a necháme úplně zatvrdnout (Habrová, 1986). V případě, že parafin není na povrchu dostatečně zatuhlý, hrozí proniknutí vody do bločku a tak jeho znehodnocení. Nádobky s parafínem potápíme ve studené lázni proto, že parafin musí zatvrdnout velikou rychlostí. Při pomalém tuhnutí dochází buďto k hrubé krystalizaci parafinu a bločky se poté nedají krájet (Jírovec, 1958) nebo bloček obsahuje dutinu s měkkým, bílým parafínem (Habrová, 1986).

Kromě výše zmíněných se při zalévání objektů do parafinu můžeme dopustit celé řady dalších chyb, které později způsobují problémy při krájení preparátů na mikrotomovém noži. V případě použití nekvalitního parafinu vzniká bělavý a drobný

bloček. Pokud z parafínu nebylo dostatečně odstraněno rozpouštědlo, tedy benzen, vznikne měkký a bělavý bloček. Důležité je také dbát na velikost nádoby, do které tkáňové bločky zaléváme. Pokud jsou použity příliš velké nádoby, po zatuhnutí vzniká v centru bločku hluboká proláklina. Pokud jsme tkáň nedostatečně odvodnili ve vzestupné alkoholové řadě nebo nedokonale prosytili parafínem, bude při krájení z parafínu tkáň vypadávat. Mezi další problémy, se kterými se můžeme při práci s tkání setkat, patří její křehkost a tvrdost, takovém případě došlo k nedostatečnému odstranění některého z předcházejících médií. V posledním případě může docházet ke smršťování tkáně a její špatné barvitelnosti. To je známkou použití příliš vysoké teploty při prosycování a zalévání objektu do parafínu (Habrová, 1986).

**Tabulka 2.: Jednotlivé kroky při přípravě tkání k tvorbě histologických preparátů (Junguiera et al., 1999).**

Stádium	Účel	Trvání
Fixace v jednoduchém fixativu či fixační směsi (Bouinův roztok, Zenkerův formalín)	Zachování struktury a molekulárního složení tkáně	Kolem 12 h, podle použitého fixativa a velikosti tkáňového bločku
Dehydratace ve vzestupné alkoholové řadě	Odstranění vody z tkání organickými rozpouštědly	6-24 h
Projasnění v benzenu, xylenu nebo toluenu	Prosycení tkání rozpouštědlem parafínu nebo plastické pryskyřice	1-6 h
Zalítí do roztaveného parafínu při 60°C či do plastických pryskyřic při pokojové teplotě	Parafín nebo plastická pryskyřice proniknou do mezibuněčných prostor a buněk, čímž se tkáň zpevní a je možno ji krájet	1-3 h

### 2.3.6. Krájení řezů na mikrotomovém noži

Tkáň zalitou čistým parafínem vyklepneme z nádoby a pomocí skalpelu ořežeme do požadované velikosti. Bloček poté připevníme na dřevěnou krychličku (viz kapitola 3.5. Krájení), která nám umožní uchycení preparátu pomocí svorek k mikrotomu.

Jednotlivé řezy lepíme na podložní sklo natřené glycerolbílkem nebo želatinou. Glycerolbílek připravíme smícháním vaječného bílku a stejného množství glycerolu. Připravené lepidlo natřeme prstem na předem odmaštěné podložní sklo.

Stejně jako při zalévání objektů do parafínu může i při řezání na mikrotomu docházet k chybám. Tyto chyby však mají většinou původ v některém z předchozích kroků, avšak rozpoznány byly teprve nyní.

Habrová (1986) uvádí devět základních chyb, se kterými se můžeme setkat:

1. **Řezy se na noži svinují v úzké ruličky** – tento případ může nastat ze dvou důvodů, buďto byl použit příliš tvrdý parafín nebo krájíme řezy o velké síle. Nastalou situaci můžeme vyřešit nahřátím mikrotomového nože na vyšší než pokojovou teplotu nebo snížením síly řezů.
2. **Řezy se lepí na mikrotomový nůž** – tento případ nastává, pokud byl k zalití použit příliš měkký parafín nebo je v laboratoři příliš vysoká teplota okolního vzduchu. Tuto situaci můžeme vyřešit zalitím tkáňových bločků do tvrdšího parafínu nebo přenesením mikrotomu do místnosti s nižší teplotou.
3. **Řezy se mažou** – tato situace nastává v případě, že bylo rozpouštědlo parafínu (benzen) špatně odstraněno z tkáně. V takovém případě je třeba tkáň znovu zalít.
4. **Řezy se drobí** – k tomuto případu dochází, pokud byla použita příliš studená vodní lázeň na zatvrdnutí parafinových bločků nebo byl použit nekvalitní parafín. Tkáň je proto nutné znovu zalít.
5. **Řezy ulpívají na parafinovém bločku při zpětném tahu nože** – k tomuto případu dochází, pokud je mikrotomový nůž špatně nabroušen nebo na něm ulpěly nečistoty.
6. **Příčné bílé čáry a rýhy na řezech a řezné ploše** – tato situace nastává, pokud se na noži vyskytuje nějaká nesrovnalost. Nůž je proto třeba dát znovu přebrousit nebo najít místo bez kazu.
7. **Řezy netvoří souvislou pásku** – k tomuto problému dochází, pokud bloček nebyl správně seříznut, byl použit příliš tvrdý parafín nebo vytváříme příliš silné řezy.
8. **Objekt z řezu vypadává**
9. **Řezy jsou nesterjné silné** – tento problém je způsoben příliš malým sklonem mikrotomového nože nebo silnou vrstvou oleje na sáňkách mikrotomu (Habrová, 1986).

### 2.3.7. Barvení řezových preparátů

Tkáňové histologické řezy mají tloušťku pouze několik mikrometrů, zpravidla v rozmezí 5-7 $\mu$ m. To umožňuje pozorování jednotlivých buněk a buněčných struktur. Bez použití speciálních barviv však tyto struktury nejsou ve světelném mikroskopu pozorovatelné. Základním principem barvení je odlišná afinita barviva k různým složkám tkání (Lüllmann-Rauch, 2012). Vhodně zvolenými barvivami můžeme zvýraznit například buněčné jádro, cytoplazmu a další orgány nebo různé typy mezibuněčné hmoty.

#### Rozdělení barviv

Chemické mechanismy, jejichž prostřednictvím dochází k barvení tkání, se u mnoha barviv doposud nepodařilo dostatečně objasnit. Většina barviv však tvoří elektrostatické vazby s ionizovatelnými radikály tkání (Junqueira et al., 1999). Podle povahy náboje barviva a náboje tkáně rozlišujeme dva základní typy barviv:

##### 1. Kationtová (=bazická)

Kationtová barviva mají kladný náboj a elektrostatickými silami se váží na záporně nabitě částice barvených tkání, jako například DNA nebo RNA. Kationtová barviva se řadí mezi zásadité (bazické) sloučeniny.

Mezi bazická barviva patří například hematoxylin, toluidinová modř, methylová zeleň nebo bazický fuchsin. Bazická barviva se využívají k barvení buněčných jader. Nejčastěji používaným bazickým barvivem je hematoxylin, který barví buněčná jádra a cytoplasmu bohatou na hrubé endoplasmatické retikulum (Mescher, 2010). Při barvení histologických preparátů je používána oxidační forma hematoxylinu hematein, který s trojmocnými ionty  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Cr^{3+}$  vytváří komplexní sloučeniny. Podle iontu, na který se hematoxylin váže, rozlišujeme hemalaun ( $Al^{3+}$ ), železitý hematoxylin ( $Fe^{3+}$ ) a chromový hematoxylin ( $Cr^{3+}$ ) (Lüllmann-Rauch, 2012).

## 2. Aniontová (=kyselá)

Aniontová barviva mají záporný náboj a elektrostatickými silami se váží na kladně nabitě částice barvených tkání, jako například hemoglobin, mitochondrie nebo cytoplasmatické proteiny. Na pH stupnici se aniontová barviva řadí mezi kyselé sloučeniny.

Mezi kyselá barviva patří například eozin, erytrozin, oranž G, světlá zeleň nebo kyselý fuchsin. Nejčastěji používaným kyselým barvivem je však eozin. Využívá se pro barvení cytoplasmy a bazických částí cytoplasmatických proteinů (Junqueira et al., 1999).

**Tabulka 3.: Standardní histologické barvení (Lüllmann-Rauch, 2012)**

Barvení (název, autor)	Jádro	Cytoplasma, včetně svaloviny a erytrocytů	Kolagenní vlákna	Elastická vlákna
<b>Železitý hematoxylin</b>	Černá	Šedá, svalovina: A-proužky černě, mitochondrie: černě	Šedá	Šedá
<b>H.E.</b> hematoxylin, eosin	Modrá	Červená, je-li bohatá na ribosomy modravá	Červená	Bledě červená nebo nezbarvená
<b>Azan</b> azokarmin, anilinová modř, oranž G	Červená	Červená	Modrá	Bledě modrá nebo nezbarvená
<b>Masson</b> železitý hematoxylin, kyselý fuchsin, ponceau, anilinová modř	Hnědočerná	Červená	Modrá	Bledě modrá nebo nezbarvená
<b>Goldner</b> železitý hematoxylin, kyselý fuchsin, ponceau, oranž G, světlá zeleň	Hnědočerná	Červená	Zelená	Světle zelená nebo nezbarvená
<b>van Gieson</b> železitý hematoxylin, kyselina pikrová, kyselý fuchsin	Hnědočerná	Žlutá	Červená	Světle žlutá
<b>Barvení na elastiku</b> Orcein nebo resorcin-fuchsin	Světle růžová	Světle růžová	Světle růžová	Červenohnědá nebo černofialová

Jednotlivá barviva jsou používána různými způsoby, právě podle způsobu jejich použití můžeme rozlišit různé typy barvení:

- Progresivní

Progresivní barvení je založeno na předpokladu, že na některé tkáňové struktury se jednotlivá barviva váží různou rychlostí. Preparáty se proto barví tak dlouho, dokud není dosaženo optimálního zbarvení u všech struktur (Habrová, 1986).

- Regresivní

Při regresivním barvení obarvíme rovnoměrně celý preparát tak, aby byly zvýrazněny všechny struktury. Barvíme tedy delší dobu. Přebytek barviva pak z tkáně odstraníme oplachem neboli diferenciací (Habrová, 1986).

- Sukcedánní

V průběhu sukcedánního barvení dochází k barvení histologických preparátů více barvivy po sobě, přičemž každé ze zvolených barviv barví jinou složku tkáně (Habrová, 1986).

- Simultální

Stejně jako při sukcedánním barvení dochází při simultálním barvení k barvení tkání několika barvivy, které barví rozdílné části tkání. Při simultálním barvení jsou však tkáně barveny několika barvivy najednou (Habrová, 1986).

- Substantivní

Histologický preparát je barven barvivem přímo (Habrová, 1986).

- Adjektivní

Tkáň histologického preparátu je barvena za použití mořidla (Habrová, 1986).

## Postup barvení

Histologické řezy nakrájené na mikrotomu jsou zalité v parafínu, který je třeba z řezů odstranit, protože barviva, jako například eozin, jsou rozpustná ve vodě nebo v alkoholu, a tudíž s parafínem nemísitelná. Parafín se z řezů odstraňuje za pomoci sestupné alkoholové řady, která začíná xylenem a končí destilovanou vodou.

- 1) Xylen I.
- 2) Xylen II.
- 3) Propanol 100%
- 4) Ethanol 96%
- 5) Ethanol 80%
- 6) Destilovaná voda

Převod řezů do vody se provádí v uzavřených skleněných kyvetách, na jejichž vnitřní straně jsou drážky, které umožňují uchycení preparátů v pravidelných vzdálenostech a zabraňují tak jejich slepení. V předem stanovených časových intervalech jsou jednotlivá podložní skla za pomoci pinzety převáděna z jednoho roztoku do druhého. Současně je žádoucí pokud možno co nejvíce omezit vzájemné míchání jednotlivých roztoků. To je prováděno okapáním skel nebo otřením spodní hrany buničinou. Je důležité, aby skla v každém momentě byla vlhká, protože jejich oschnutí by vedlo ke zničení celého preparátu (Habrová, 1986).

Po převodu preparátů do vody je možno započít samotné barvení v barvivech zvolených podle předem stanovených požadavků. Po obarvení jsou řezy většinou uzavírány do kanadského balzámu, který je schopen preparáty zachovat desítky let. Kanadský balzám není mísitelný s vodou, ale s xylenem, proto je nutné obarvené řezy před zamontováním převést vzestupnou alkoholovou řadou zpět do xylenu.

Do kanadského balzámu se preparát montuje po vyjmutí z poslední xylenové lázně. Balzám je kápnut na podložní sklo s řezy a přikryt dostatečně velkým krycím sklem. Pokud dojde v balzámu k vytvoření bublin vzduchu, je vhodné preparáty umístit na přehřátou ploténku nebo do termostatu nastaveného na rozmezí teplot 40 – 50°C. Zde jsou řezy ponechány, dokud nedojde k zaschnutí kanadského balzámu (Jírovec, 1958).



### 3. METODIKA

#### 3.1. ZVOLENÁ METODIKA ZHOTOVENÍ TRVALÝCH HISTOLOGICKÝCH PREPARÁTŮ

##### 3.1.1. Odběr tkáně

Jednotlivé orgány jsem vypreparovala za asistence školitele v průběhu pitvy. Použila jsem jednoho subadultního samce bílé formy myši domácí (*Mus musculus*) zakoupeného v obchodě s teraristickými potřebami. Jedná se o myši určené jako krmení pro hady. Odborné usmrcení provedl školitel. Z jednotlivých vybraných orgánů jsem vytvořila tkáňové obločky o vhodné velikosti (max. 1cm). Příliš velké bločky by se nepodařilo důkladně prosytit parafínem a špatně by se krájely. Při zhotovování bloček jsem dbala na to, abych tkáň nepoškodila a nedrtila, proto jsem používala skalpel nebo žiletku, nikoliv nůžky.

##### 3.1.2. Fixace tkáně

Jako médium při fixaci tkáňových bloček jsem používala Bouinovu tekutinu, která se připravuje smícháním 150ml nasyceného roztoku kyseliny pikrové ( $(\text{NO}_2)_3\text{C}_6\text{H}_2\text{OH}$ ), 50ml 40% formaldehydu ( $\text{HCHO}$ ) a 10ml 80% kyseliny octové ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ).

Jednotlivé tkáňové bločky jsem fixovala v uzavíratelných epruvetách naplněných Bouinovou fixační tekutinou. Jejich dno jsem vystlala gázou, aby se tkáňový bloček nepřitiskl ke stěně epruvety a fixační tekutina měla dobrý přístup ke všem částem bločku. Tkáňové bločky jednoho orgánu jsem fixovala vždy dohromady v jedné epruvetě opatřené příslušným štítkem. Minimální doba nezbytná pro důkladnou fixaci je 24 – 48 hodin, tkáňové bločky je však možné fixovat delší dobu.

Bouinova fixační tekutina

24 – 48 hodin

##### 3.1.3. Vypírání fixáže

Dalším nezbytným krokem při zhotovování řezových preparátů je důkladné vyprání fixační tekutiny. Tento krok jsem opět prováděla v uzavíratelných epruvetách, do kterých jsem z fixační tekutiny převedla tkáňové bločky. Součástí Bouinovy fixační

tekutiny je kyseliny pikrová ((NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>OH), která se vyznačuje slámově žlutým zabarvením. Tento fakt lze použít jako znak při vypírání fixáže. Pokud se z tkáňových bločků stále uvolňuje žluté zbarvení, není fixážní tekutina dostatečně odstraněna. Jako médium pro vyprání Bouinovy fixáže je vhodné použít vodný roztok 70% ethanolu (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH). Ethanol by měl být vyměněn alespoň 3x, vždy po několika hodinách, ale je možné zde tkáňové bločky ponechat delší dobu.

Ethanol 70%

24 hodin

### 3.1.4. Zalítí do parafínu

#### Odvodnění objektu

Parafín je médium nemísitelné s vodou, proto je naprosto nezbytné tkáňové bločky před zalitím do parafínu důkladně odvodnit. Toho jsem dosáhla vzestupnou alkoholovou řadou. Jelikož v předchozím kroku, jsem objekty vyprala v 70% ethanolu, mohla jsem alkoholovou řadu začít na 80% ethanolu. Při odvodňování tkáňových bločků jsem brala v úvahu jejich velikost, čím je bloček větší, tím delší dobu musí být uložen v jednotlivých roztocích. Zároveň však nesmí jednotlivé bločky zůstat zejména v 96% ethanolu a 100% isopropanolu (v původní receptuře se uvádí ethanol, který je však nutné předem odvodnit pomocí vyžíhaného síranu měďnatého) příliš dlouho, aby nedošlo k tvrdnutí tkáně.

**Tabulka 4.: Vzestupná alkoholová řada (závislost velikosti bločku na čase) (převzato z poznámek ke kurzu Biologická a geologická školní technika z roku 2010).**

Alkohol/velikost bločku	0,5 cm	1 cm	>1 cm
80% ethanol	1h	2h	3h
96% ethanol	1h	2h	3h
100% isopropanol	1h	2h	3h
100% isopropanol	1h	2h	3h

## **Projasňování**

Tkáňové bločky jsem přenesla ze 100% isopropanolu do 2-3 benzenových lázní, v nichž byly ponechány vždy 10-15 minut. Tkáň se díky benzenu postupně projasní, u menších vzorků až zprůsvitní.

## **Prosycení parafinem**

Odvodněné tkáňové bločky se prosycují parafinem postupně v několika krocích. Nejdříve jsem tkáňové bločky přenesla z benzenu do lázně připravené smícháním parafínu a užitého rozpouštědla, tedy benzenu. Tento krok trvá minimálně 30 minut a provádí se v termostatu při 46°C.

V dalším kroku jsem přenesla objekty postupně do 3 lázní čistého parafínu. V těchto jednotlivých lázních zůstávají objekty až 8 hodin. Prosycení parafinem se uskutečňuje v termostatu při 56°C, aby byl parafín v kapalném stavu.

## **Vlastní zalití do parafínu**

Tkáňové bločky prosycené parafinem jsem zalévala do čistého parafínu, ve kterém jsem je posléze krájela na mikrotomu. Vzhledem k malé velikosti tkáňových bloček můžeme k vlastnímu zalití použít například plastová víčka od lékovek nebo od krabiček fotografického filmu. Objekty jsem uložila do víček a orientovala podle toho, jakým směrem jsem plánovala jednotlivé bločky krájet. Zalila jsem je čistým parafinem, na povrchu jsem nechala parafín zatuhnout a poté jsem celé víčko ponořila do lázně se studenou vodou, aby parafín ztuhl v amorfním stavu a nestihly se vytvořit krystalky.

### **3.1.5. Krájení**

Objekty zalité do parafínu je třeba na krájení připravit. Jednu stranu dřevěné krychličky o velikosti strany cca 2cm jsem obalila silnější vrstvou čistého rozehřátého parafínu. Pomocí lihového kahanu jsem nahřála skalpel a lehce roztavila parafín nanesený na krychličce a parafín bločku se zalitým orgánem. Ten jsem poté přilepila na dřevěnou krychličku a nechala zatuhnout. Nahřátým skalpelem jsem upravila velikost parafínového bločku tak, aby byly výsledné řezy pokud možno co nejmenší. Ujistila jsem se, že spojení parafínového bločku s dřevěnou krychličkou je dostatečně pevné.

Samotné krájení zalitých objektů jsem prováděla za pomoci sáňkového mikrotomu zn. Reichert-Jung. Řezy jsou vytvářeny s ohledem na povahu jednotlivých orgánů o tloušťce v rozmezí 5 – 7  $\mu\text{m}$ . Orientace řezů záleží na povaze jednotlivých orgánů, zhotoveny byly řezy jak horizontální, tak vertikální. Před započítím krájení je třeba očistit nůž mikrotomu za pomoci benzenu.

Pásky řezů jsem lepila na podložní sklo natřené směsí glycerolu a bílku v poměru 1:1 nebo roztokem želatiny. Zhotovené řezy jsem přenášela z mikrotomového nože pomocí štětečku buďto do kapky destilované vody na podložním skle umístěném na nahřáté histologické plotýnce (cca 37°C) nebo do parafínové vodní lázně, ze které byly nataženy přímo na podložní sklo. Nahřátá voda umožňuje srolovaným řezům se plně roztáhnout a při jejím postupném vysychání dochází k přilepení řezů k podkladu.

### **3.1.6. Barvení**

K barvení řezů jsem použila dvě barvicí techniky: Harrisův hematoxylin-eosin (HE) a Massonův trichrom (MT). HE se používá k barvení orientačních histologických řezů, modře barví buněčná jádra a růžově plasmu. MT se svými barvicími vlastnostmi velice podobá HE, navíc však barví zeleně vazivo a chrupavku a červeně kost.

K barvení jsem použila sadu kyvet<sup>5</sup>. Každá kyveta byla naplněna příslušným roztokem (viz níže). Jednotlivé preparáty jsem přenášela z roztoku do roztoku po uplynutí přesně stanoveného času pomocí pinzety. Aby byla omezena kontaminace jednotlivých roztoků, nechala jsem každé podložní sklo vždy lehce okapat a spodní hranu jsem otřela buničinou. Je však nezbytné dávat pozor, aby skla nikdy neuschla, protože by došlo k poškození řezů.

Při oplachování řezů ve vodovodní vodě jsem řezy nejdříve přenesla do naplněné kyvety, kterou jsem po zmodrání vody vylila. Na stěnu prázdné kyvety (pouze s podložními skly) jsem pak soustředila slabý proud vodovodní vody, aby byly řezy důkladně opláchnuté. Vypírání jsem ukončila ve chvíli, kdy řezy přestaly barvit vodu.

Protože jsem barvila větší množství preparátů (přes 300 podložních skel), bylo nezbytné občas vyměnit alkoholové roztoky a xylenové lázně. K výměně jsem přistoupila ve chvíli, kdy byla patrná změna barvy roztoků, xylen například získal

---

<sup>5</sup> Kyveta je skleněná uzavíratelná nádoba, která obsahuje osm drážek zajišťujících pevnou polohu skel.

nažloutlou barvu. Výměna samotných barviv nezbytná nebyla. V následujících odstavcích jsou uvedeny časy, které byly použity v průběhu barvení. Časy byly stanoveny na základě vlastních poznámek z předmětu Biologická a geologická školní technika.

### **Barvení Harrisovým hematoxylinem a eosinem**

1. Odstranění parafínu a převod do vodního prostředí
  - a. Xylen I. 5 minut
  - b. Xylen II. 5 minut
  - c. Isopropanol 100% 5 minut
  - d. Ethanol 96% 5 minut
  - e. Ethanol 80% 5 minut
  - f. Destilovaná voda 5 minut
2. Barvení
  - a. Harissův hematoxylin 5 minut
  - b. Opláchnutí ve vodovodní vodě – krátce do zmodrání řezů
  - c. Diferenciace okyseleným alkoholem (50ml ethanolu 80% s přídavkem 20 – 30 kapek 10% HCl) 20 – 30 sekund
  - d. Opláchnutí ve vodovodní vodě
  - e. Eosin (0,1%) 3 minuty
  - f. Opláchnutí ve vodovodní vodě
3. Odvodnění
  - a. Ethanol 80% 5 minut
  - b. Ethanol 96% 5 minut
  - c. Isopropanol 100% 5 minut
4. Prosycení xylenem
  - a. Xylen I. 5 minut
  - b. Xylen II. 5 minut
5. Zamontování do kanadského balzámu

## Barvení Massonovým nichromem (upraveno podle Mourek, 2002)

1. Odstranění parafinu a převod do vodního prostředí
  - a. Xylen I. 5 minut
  - b. Xylen II. 5 minut
  - c. Isopropanol I. 100% 5 minut
  - d. Ethanol 96% 5 minut
  - e. Ethanol 80% 5 minut
  - f. Destilovaná voda 5 minut
2. Barvení
  - a. Harissův hematoxylin 5 minut
  - b. Opláchnutí ve vodovodní vodě – krátce do zmodrání řezů
  - c. Diferenciace okyseleným alkoholem (50ml ethanolu 80% s přidavkem 20 – 30 kapek 10% HCl) 20 – 30 sekund
  - d. Opláchnutí v destilované vodě
  - e. Červený barvicí roztok (1% Poceau de xyloidin + 0,5% kyselý fuchsin + 1% kyselina octová) 20 sekund
  - f. Opláchnutí v destilované vodě
  - g. Diferenciace kyselinou fosfowolframovou (1%) 15 minut
  - h. Zelený barvicí roztok (1% světlá zeleň + 1% kyselina octová) 10 minut
  - i. Opláchnutí v destilované vodě
3. Odvodnění
  - a. Isopropanol II. 100% 5 minut
  - b. Isopropanol I. 100% 5 minut
4. Prosycení xylenem
  - a. Xylen I. 5 minut
  - b. Xylen II. 5 minut
5. Zamontování do kanadského balzámu

### 3.1.7. Zhodnocení práce

Jedním z cílů této práce je ověřit v praxi vybranou techniku přípravy trvalých histologických preparátů. Jedná se o komplexní a složitý proces, v jehož průběhu může nastat celá řada komplikací (viz kapitola 2.3.6. Krájení řezů na mikrotomovém noži). V následující kapitole jsou proto zhodnoceny vybrané pasáže laboratorních prací, zejména pak úskalí, se kterými jsem se osobně setkala.

V průběhu práce jsem zhotovila dohromady přes 300 preparátů vytvořených z následujících orgánů: plíce, kůže, srdce, brzlík, slezina, nadvarle, varle, penis, semenné vajíčky, příčně pruhovaná svalovina, srdeční svalovina, hladká svalovina, játra, jazyk, slinivka břišní, tenké střevo, tlusté střevo, žlučník, ledvina, močový měchýř, močová trubice a mozek. Trvalý histologický preparát mozku krysy potkana mi byl zapůjčen Katedrou buněčné biologie PřF UK v Praze. V rámci fotodokumentace bylo zhotoveno přes 100 fotografií zachycujících preparáty za použití různých zvětšení (40x, 100x, 200x, 400x).

#### Pitva

Pitva samotná proběhla bez větších obtíží (postup pitvy viz kapitola 2.2.4.). K manipulaci s myší domácí (*Mus musculus*) jsem použila oční chirurgické nůžky, skalpel, měkkou entomologickou a tvrdou chirurgickou pinzetu.

Při preparaci jednotlivých orgánů jsem použila měkkou entomologickou pinzetu. Důvodem tohoto výběru byla snaha o co nejmenší poškození tkání. Některé orgány, zejména pak játra nebo plíce byly velmi křehké a snadno se rozpadaly. Při vyjímání jater z břišní dutiny jsem k přestřižení vazivových závěsů použila oční chirurgické nůžky, protože při použití skalpelu byla nutná větší manipulace s pinzetou a docházelo k poškození tkáně. Při manipulaci s plícemi bylo zapotřebí velké opatrnosti, i ten nejmenší tlak způsoboval tvorbu hematomů.

Při preparaci trávicí soustavy jsem celou soustavu vyjmula z břišní dutiny a přenesla do samostatné misky. Jako nejobtížnější se ukázalo rozmotání střev. Nejrychlejším způsobem provedení tohoto kroku bylo uchopení konce jícnu pinzetou, v místě jeho protnutí před žaludkem, a pomalý rovnoměrný tah vpřed. Takto se

jednotlivé kličky rozmotávaly prakticky samy a nutnost použití skalpelu byla minimální.

### **Tvorba řezových preparátů**

Při fixaci tkání a jejich zalévání do parafínu se nevyskytly žádné potíže. První problémy se nastaly teprve v průběhu krájení tkáňových bločků na mikrotomovém noži. V kapitole 2.3.6. této diplomové práce je uvedeno devět základních chyb, se kterými se můžeme při práci na mikrotomu setkat. Osobně jsem řešila problémy spojené s následujícími chybami:

1. Řezy se na noži svinují v úzké ruličky.

Podle Habrové (1986) tento problém může nastat, pokud řežeme příliš silné řezy nebo byl na zalití použit příliš tvrdý parafín. Osobně jsem se s touto chybou setkala pouze u některých tkání, proto jsem vyloučila problém na straně parafínu. Snížení síly řezů se však ukázalo jako neúčinné. Abych dosáhla rozvinutí řezů, nechala jsem podložní skla natřená glycerolbílkem a zakápnutá destilovanou vodou nahřát na histologické ploténce. Svinuté řezy jsem přenášela po jednom z mikrotomového nože pomocí štětečku do kapky ohřáté vody. Tímto způsobem jsem dosáhla téměř okamžitého rozvinutí řezů.

2. Řezy ulpívají na parafínovém bločku při zpětném tahu nože.

Pouze v některých případech docházelo k ulpívání řezů na parafínovém bločku při zpětném tahu mikrotomového nože. Habrová (1986) jako příčinu tohoto problému uvádí nečistoty na noži nebo jeho špatné nabroušení. V mém případě byl mikrotomový nůž nově nabroušen před započatím práce, proto stačilo jeho otření buničinou napuštěnou benzenem.



### 3. Řezy netvoří souvislou pásku.

S tímto problémem jsem se při práci setkávala poměrně často. Podle literatury (Habrová, 1986) je příčinou tohoto jevu příliš tvrdý parafín, špatné seříznutí bločku nebo příliš silné řezy. Osobně jsem však absenci tvorby souvislé pásky nevnímala jako problém a jednotlivé řezy jsem řadila manuálně na podložním sklíčku, dosáhla jsem tím obdobného výsledku.

### 4. Objekt z řezu vypadává.

S tímto jevem jsem se setkala pouze v jediném případě a to při krájení varlete. Habrová (1986) přičítá příčinu nedostatečnému odvodnění objektu ve vzestupné alkoholové řadě. Pro samotnou tvorbu trvalých histologických preparátů však tato chyba nepředstavovala problém, protože při vypadávání nedošlo k poškození samotné tkáně.

Mezi další problémy, se kterými jsem se setkala, byly potíže spojené s řezáním kůže a použitím lepicího média. Problém s tvorbou kožních preparátů byl zpětně připočítán na vrub použití parafínu jako zalévacího média. Kůže se jevila jako příliš tvrdá, při krájení docházelo k jejímu narušení a trhání okolního parafínu. S obdobným problémem jsem se setkala pouze při tvorbě příčných řezů ocasem. V tomto případě jsem si však byla vědoma, že parafín není zalévací médium vhodné pro tvorbu řezů chrupavkou nebo kostí. Po dalším studiu literatury (Jírovec, 1958) se ukázalo, že kůže se řadí po bok výše uvedených tkání jako nevhodná k zalévání do parafínu. Důvodem je přílišné tvrdnutí tkání.

K lepení řezů na podložní skla jsem použila glycerolbílky vlastní výroby nebo roztok želatiny zapůjčený z Katedry buněčné biologie Přírodovědecké fakulty UK v Praze. Použití obou těchto médií s sebou přináší určité klady a zápory. Nesporným přínosem při použití želatiny je fakt, že u ní dochází pouze k minimálnímu barvení v průběhu barvení řezů. Nevýhodu představovala skutečnost, že jednotlivé řezy po přenesení do destilované vody nezůstaly na místě, ale docházelo k jejich neustálému pohybu. Vyrovnat je do řady se ukázalo jako téměř nemožné. Na druhou stranu glycerolbílky se částečně barví společně s řezy, které ale po jejich přenesení do destilované vody zůstávají na místě. Při snaze o určitou kompenzaci záporných vlastností glycerolbílky se mi osvědčilo používání pouze čerstvě připraveného roztoku

(max. 1 - 2 měsíce starý) a umístění podložních skel k zaschnutí do termostatu nastaveného na teplotu něco přes 30°C. Tímto způsobem došlo k omezení barvení glycerolbíku.

### **3.1.8. Metodika tvorby interaktivního histologického atlasu**

Jedním z cílů této práce je vytvoření internetového interaktivního histologického atlasu, který by sloužil nejen jako výuková pomůcka učitelům biologie na středních školách, ale také k samostudiu žákům s hlubším zájmem o biologii a histologickou problematiku. K dosažení tohoto cíle bylo zapotřebí provést výběr softwarových nástrojů, které by umožnily naplnění předem stanovených kritérií.

#### **Výběr programu pro tvorbu interaktivních testů**

Mezi základní kritéria, která jsem stanovila, pro výběr programu na tvorbu interaktivních testů patří:

##### **1. Možnost publikace vytvořeného testu na internet.**

Některé dostupné programy jsou určeny pro tvorbu testů s lokálním využitím za pomoci interaktivní tabule nebo počítačové učebny, neumožňují však nahrání testů na internet. Jejich použití je tedy omezeno pouze na prostředí školy s odpovídajícím vybavením.

Na internetu je dále dostupná celá řada nástrojů umožňujících tvorbu kvízů. Tyto programy většinou není možné stáhnout do počítače a jsou přístupné pouze online. Další omezení pak ve většině těchto případů tvoří nemožnost test zakomponovat do Vámi vytvořené internetové stránky. Program většinou zařadí test do vlastní databáze a tvůrci testu poskytne pouze odkaz, který může umístit na své stránky. Na druhou stranu výhodou těchto programů je jejich bezplatnost.

Poslední případ tvoří již profesionální nástroje pro tvorbu testů. Tyto programy umožňují uživateli vytvářet složité testy s celou řadou funkcí. Většinou nabízí učitelé možnost testy uložit do počítače, vypálit na CD/DVD, exportovat do programů Microsoft Word a Excel nebo uložit ve formátu Flash animace. Flash animaci je možno umístit a libovolně zakomponovat do vybraných internetových stránek.

## **2. Podpora českého jazyka.**

V současné době se na trhu vyskytuje celá řada nástrojů určená k tvorbě interaktivních testů. Ve většině případů jsou však tyto programy vyvíjeny zahraničními firmami, jejichž pozornost je zaměřena na anglicky mluvící země. Tato skutečnost značně omezuje jazyky, jejichž součástí je jakákoli specifická forma diakritiky, například čeština.

## **3. Počet podporovaných typů otázek.**

Cílem tvorby interaktivních testů je nejen zhodnocení znalostí žáků z jednotlivých oblastí histologie, ale i jejich motivace. Otázky by proto měly být pro žáky zajímavé a atraktivní. Proto byly zjišťovány typy otázek, které program podporuje. Základní typy otázek byly zaznamenány v nabídce většiny programů. Jedná se o otázky s otevřenou nebo uzavřenou odpovědí. V případě uzavřených odpovědí programy nabízely jak otázky dichotomické, tak otázky polytomické. Programy většinou nabízely soubor následujících typů otázek:

- Multiple choice
- Ano/Ne
- Otázky s více správnými odpověďmi
- Otázky s krátkou odpovědí
- Seřad' pojmy
- Přiřazovací otázky
- Vyznač na obrázku
- Otevřená odpověď

Některé programy však mimo tento základní soubor nabízely i další typy otázek.

## **4. Možnost vyzkoušení zkušební verze programu.**

Jedním z kritérií stanoveným pro výběr programu, byla možnost vyzkoušet jej bezplatně ve zkušební verzi. Při používání těchto verzí je uživatel většinou nějakým způsobem omezen. Často se jedná o omezení časové, od okamžiku nainstalování se uživateli počítá časová lhůta stanovená výrobcem, během které může program vyzkoušet. Po jejím uplynutí, pokud není program zakoupen, je zablokován. Další

limitací může být vodoznak vložený do testů nebo omezení přístupu k některým funkcím programu.

Tento požadavek jsem při výběru programu stanovila z několika důvodů. Prvním důvodem byla potřeba zjistit, zda program podporuje český jazyk. Většina výrobců jej mezi podporovanými jazyky neuvádí. Jelikož jsou tyto programy finančně relativně nákladné, je nutné je předem vyzkoušet. Dalším důvodem je zhodnocení podoby a složitosti uživatelského rozhraní.

## **5. Podoba uživatelského rozhraní**

Nezanedbatelný vliv na výslednou volbu programu měla podoba uživatelského rozhraní. To jsem hodnotila na stupnici od 1 do 5, přičemž 1 platila jako nejlepší známka a 5 jako nejhorší (viz Tabulka 5). Středem zájmu bylo grafické zpracování programu, jednoduchost jeho ovládání a logická návaznost nabídky jednotlivých dostupných funkcí.

## **6. Cena programu.**

Posledním kritériem, ke kterému jsem při výběru softwaru pro tvorbu testů přihlížela, byla cena. Programy, které splňovaly výše uvedená kritéria, nejsou volně dostupné k bezplatnému používání. Většina výrobců však při prodeji rozlišuje mezi koncovými zákazníky. V případě, že se jedná o studenta, pedagoga nebo vzdělávací instituci, je nabízena takzvaná akademická licence. O udělení této licence má možnost požádat každý, kdo splňuje stanovená kritéria. Produkt může být tímto způsobem získán až za 50% původní ceny.

K výběru softwaru, který by splňoval stanovená kritéria, jsem používala internet, především vyhledávač společnosti Google. Nejvíce se požadavkům přiblížily tři programy:

- QuizBuilder od společnosti Tanida<sup>6</sup>
- QuizCreator od společnosti Wondershare<sup>7</sup>
- QuizMaker od společnosti iSpring<sup>8</sup>

---

<sup>6</sup> <http://www.quiz-builder.com/>

<sup>7</sup> <http://www.wondershare.com/pro/quizcreator.html>

Každý z výše uvedených programů představuje komplexní nástroj pro tvorbu interaktivních testů. Všechny programy umožňují nahrání testů na internetové stránky, podporují více typů otázek, uživatelské rozhraní všech programů jsem hodnotila více méně kladně a výrobce poskytuje zkušební verzi k vyzkoušení. Jako zásadní se ukázal nedostatek programu QuizBuilder společnosti Tanida, který sice umožnil použití diakritických znamének při tvorbě testu, avšak po uložení a otevření v internetovém prohlížeči, již diakritiku nepodporoval. Z tohoto důvodu se pro účel práce ukázal jako nepoužitelný a byl z výběru vyřazen. Programy QuizMaker společnosti iSpring a QuizCreator společnosti Wondershare splňují všechna stanovená kritéria. V závěrečném výběru jsem proto přihlížela k ceně programu. Oba výrobci sice nabízejí slevu při využití programu pro vzdělávací účely, výsledná volba však padla na program **QuizCreator od společnosti Wondershare**, který je téměř o jednu třetinu levnější než QuizMaker.

Tabulka 5.: Souhrn splnění stanovených kritérií jednotlivými programy pro tvorbu interaktivních testů.

Název programu	Tanida QuizBuilder	Wondershare QuizCreator	iSpring QuizMaker
<b>Možnost publikace na internet</b>	Ano	Ano	Ano
<b>Dostupnost zkušební verze</b>	Ano (15 dní)	Ano (30 dní)	Ano (30 dní)
<b>Počet podporovaných typů otázek</b>	8	10	11
<b>Podpora českého jazyka</b>	Ne	Ano	Ano
<b>Uživatelské rozhraní</b>	3	1	1
<b>Běžná cena/akademická licence</b> (cena uvedena bez cla)	199\$/149\$	169,95\$/99,95\$	247\$/147\$

<sup>8</sup> <http://www.ispringsolutions.com/ispring-quizmaker>

## Výběr programu pro tvorbu internetových stránek

Cílem tvorby interaktivního histologického atlasu bylo jeho bezplatné zpřístupnění široké veřejnosti. Z tohoto důvodu jsem se rozhodla publikovat atlas na internetu a odkazy zaslat těm pedagogům, kteří o něj v rámci dotazníkového průzkumu projeví zájem. Pro publikaci histologického atlasu na internet se nabízejí dvě základní možnosti, jednak publikovat atlas formou prezentace nebo formou klasických internetových stránek. V prvním případě je možné využít například program WBTEXPRES společnosti 4system, který ve své magisterské diplomové práci použila Tereza Odcházelová (2012), v druhém případě se dnes na trhu vyskytuje celá řada nástrojů, které umožňují tvorbu internetových stránek bez znalosti html jazyka. Protože shledávám internetové stránky uživatelsky příjemnější než internetové prezentace, rozhodla jsem se interaktivní histologický atlas publikovat formou internetových stránek.

Výběr programu pro tento účel vycházel ze dvou základních požadavků:

### 1. Podpora Flash animací

Toto kritérium jsem stanovila na základě výběru programu pro tvorbu testů. Program QuizCreator společnosti Wondershare umožňuje uložení vytvořených testů mimo jiné ve formátu Flash animací. Tyto animace je možné vložit do těla libovolné internetové stránky.

### 2. Uživatelská náročnost

Jelikož mám pouze minimální znalosti v oblasti html a css programování, stanovila jsem požadavek na uživatelskou jednoduchost programu. Z tohoto důvodu byl výběr programu zaměřen na takzvané WYSIWYG editory. Zkratka WYSIWYG vychází z anglické věty „*What you see is what you get.*“, což volně přeloženo znamená „*To co vidíš, je to, co dostaneš.*“ Tyto editory umožňují rychlou a jednoduchou tvorbu webových stránek i úplným začátečníkům. Uživatel ve své podstatě „kreslí“ jakým způsobem by měla stránka vypadat, vkládá obrázky a text přímo na výsledné místo a editor za něj ve vedlejším okně píše html kód, který bude nahrán na internet. Mezi nejznámější placené WYSIWYG editory patří Microsoft FrontPage a Adobe Dreamweaver nebo bezplatný KompoZer.

Jak bylo již výše řečeno, v dnešní době existuje na trhu celá řada editorů, ať už placených nebo zdarma, které splňují stanovená kritéria. Z široké nabídky jsem nakonec vybrala editor WebSite X5 Evolution 9 od společnosti Incomedia. Tento editor splňoval jednak požadavek na podporu Flash animací pro vložení interaktivních testů, ale zároveň výrazně předčil ostatní editory v jednoduchosti ovládní.

### **Podoba interaktivního histologického atlasu**

Podoba histologického atlasu odpovídá klasickým internetovým stránkám, se kterými se běžně setkává každý uživatel internetu. Rozdělení stránek strukturně odpovídá členění textu diplomové práce. V záhlaví atlasu je hlavní navigační panel, na němž jsou v každou chvíli prohlížení stránek zobrazeny větší tematické celky. Pro zvýšení přehlednosti a zjednodušení orientace jsou vždy na pravé straně stránky zobrazeny odkazy na jednotlivé podkapitoly právě prohlíženého celku.

V úvodní části jsou návštěvníci seznámeni jednak s obsahem, tedy s tím, co mohou v jednotlivých kapitolách očekávat, a jednak s účelem stránek. Odtud mohou uživatelé pokračovat v prohlížení jakékoliv kapitoly atlasu.

První polovina je věnována především pedagogům. Ti zde mají možnost blíže se seznámit s biologií modelového živočicha, tedy myši domácí. Pro zvýšení názornosti a atraktivity atlasu jsou sem vloženy fotografie a videozáznam provedené pitvy. Poslední kapitolou zamýšlenou především pro pedagogy je kapitola obsahující podrobné návody na samostatnou tvorbu trvalých histologických preparátů.

Další část atlasu je zpracována takovým způsobem, aby ji mohli využít jednak pedagogové jako výukovou pomůcku a jednak žáci jako zdroj informací pro vlastní samostudium. Rozebírána je zde humánní histologie vybraných orgánů. Histologická tematika je doplněna fotografiemi histologických preparátů obarvených Massonovým trichromem a hematoxylin-eozinem s označenými základními strukturami.

Poslední kapitolu tvoří testové úlohy vytvořené na základě informací obsažených v předchozích kapitolách. Jednotlivé testy jsou označeny jednak jako testy zaměřené na učivo jednotlivých orgánových soustav, jejichž znalost ověřují a jednak jako testy souhrnné obsahující náhodně otázky ze všech testů předcházejících. Požadavky pro splnění každého testu, to znamená počet otázek, minimální počet bodů

nutný ke splnění testu nebo časový limit pro jeho vyplnění, jsou jasně stanoveny v jeho úvodu. Testy jsou tvořeny osmi různými typy otázek. Na konci, po odevzdání testu, má každý možnost projít si jednotlivé otázky a zjistit správnou odpověď. Pro zvýšení efektivity učení je k většině otázek přiřazena zpětná vazba, neboli Feedback, která správnou odpověď vysvětluje a doplňuje.

### **3.1.9. Metodika dotazníkového šetření**

Tématem dotazníkového šetření byla „Výuka učiva o tkáních živočichů na středních školách“. Dotazník byl sestavován s ohledem na cíle, kterých bych chtěla šetřením dosáhnout a které by představovaly přínos pro tvorbu histologického atlasu. Cílovou skupinou respondentů byli výhradně pedagogové vyučující biologii na různých typech středních škol v rámci celé České republiky, to znamená na gymnáziích, středních odborných školách a dalších.

#### **Tvorba dotazníku**

Primárním záměrem dotazníkového šetření, bylo zmapovat stav výuky histologie na středních školách v České republice. S ohledem na tento záměr, byly formulovány níže uvedené dílčí cíle (viz kapitola 4.1.1.: Dílčí cíle dotazníkového průzkumu a formulace hypotéz) a jednotlivé otázky obsažené v dotazníku.

Vytvořený dotazník se skládá z 21 otázek, které můžeme rozdělit do 5 základních skupin (viz Příloha 2). V úvodní části jsou obsaženy otázky zaměřené na zjištění identifikačních údajů o respondentovi, to znamená pohlaví, věk, vystudovaná vysoká škola a aprobace nebo počet let učitelské praxe. Posledními zjišťovanými identifikačními údaji byly kraj a velikost obce, ve které se střední škola nachází (otázka 1-8).

Další část dotazníku byla zaměřena na způsob, jakým daný pedagog na škole tematiku histologie vyučuje. To znamená tematické okruhy a organizace hodin, v jejichž rámci je histologie probírána. Nedílnou součástí této skupiny otázek byly otázky zaměřené na zjištění jednak přítomnosti a kvality histologických preparátů obsažených ve školních sbírkách, které jsou učitelům pro výuku k dispozici, jednak zjištění schopnosti pedagogů vytvořit si vlastní trvalé histologické preparáty (otázka 9, 13, 15, 16, 17).



Jedním z hlavních zájmů dotazníku bylo zjistit, jaké informační zdroje učitelé využívají při přípravě na výuku histologie. To znamená, zda využívají pouze středoškolské učebnice nebo zda si dohledávají rozšiřující informace v dalších zdrojích, jako jsou vysokoškolské učebnice a atlasy nebo internet. S tím také souvisí problematika spokojenosti pedagogů se zastoupením a zpracováním histologie ve využívaných středoškolských učebnicích a jejich případný zájem o využití interaktivního výukového atlasu ve výuce (otázka 10, 11, 12, 14, 18).

Hlavním záměrem, na který se při tvorbě histologického atlasu pohlíželo, bylo jeho praktické využití na školách. Respondentům byl proto poskytnut prostor, v němž se mohli vyjádřit k výsledné podobě atlasu. Jednak byla navržena skupina základních položek, které by mohly tvořit obsah atlasu, ale také byla ponechána možnost k vlastním návrhům. To znamená, že učitelé mohli uvádět, co by uvítali jako součást atlasu (otázka 19).

Poslední okruh otázek se zabýval problematikou zájmu studentů o rozšířenou výuku histologie v hodinách biologie a zjišťoval názory učitelů na přínos výuky tohoto tématu žákům pro další vzdělávání. Zároveň byl zkoumán zájem vyučujících o histologii jako tématu dalšího vzdělávání učitelů (otázka 20, 21).

### **Distribuce dotazníků**

Pro tvorbu a distribuci dotazníků byla zvolena elektronická podoba, která umožňuje rozesílání dotazníků prostřednictvím emailových adres. Vzhledem k této volbě se nabízely dvě základní formy distribuce, a to forma internetového dotazníku nebo připojení emailové přílohy v podobě dokumentu Microsoft Word. Jelikož vyplnění dotazníku ve formě přílohy vyžaduje stažení souboru na pevný disk, vlastní vyplnění a odeslání na adresu odesílatele, klade tedy větší nároky na čas a ochotu respondenta, byla zvolena forma internetového dotazníku, která je z respondentova hlediska časově méně náročná a proto se zvyšuje pravděpodobnost vyplnění dotazníku.

Internetový dotazník byl vytvořen v prostředí Google Disk<sup>9</sup>, konkrétně prostřednictvím aplikace Formulář. Tato aplikace nabízí při tvorbě anket a dotazníků několik typů otázek, například multiple choice, výběr ze seznamu nebo volná odpověď. Kromě jednoduché tvorby otázek nabízí aplikace uživateli celou řadu dalších funkcí.

---

<sup>9</sup> <https://drive.google.com>

Mezi tyto funkce se řadí možnost označit otázku jako povinnou nebo větvení otázek v závislosti na odpovědích respondenta. Dále Formulář umožňuje vytvoření záhlaví, jehož součástí může být nadpis s názvem dotazníku nebo úvod charakterizující dotazník.

Takto vytvořený dotazník může být rozeslán dvěma způsoby:

- rozesílání odkazu na internetovou stránku obsahující dotazník
- rozesílání emailů přímo prostřednictvím aplikace Formulář

Každá z možností s sebou přináší jisté výhody. Součástí aplikace Formulář je ochrana proti spamu, z tohoto důvodu je tvůrci dotazníku dovoleno rozeslat denně pouze sto emailů. Na druhou stranu program sám počítá, na kolik emailových adres byl dotazník rozeslán a poskytuje autorovi potvrzení o doručení dotazníku. V případě, že dojde při odeslání k chybě a dotazník nemůže být z nějakého důvodu doručen, je autor rovněž informován. Na odesílání přímého odkazu na dotazník není uvaleno žádné protispamové opatření, avšak autor dotazníku je ochuzen o dodatečné informace.

Já jsem si vybrala první možnost, protože jsem tak mohla lépe sledovat počet rozeslaných a doručených dotazníků.

Mezi jednu z nejvýraznějších předností, kterou aplikace Formulář nabízí, je sběr informací z vyplněných dotazníků a ukládání odpovědí respondentů do přehledné tabulky. Tato tabulka může být po dokončení sběru odpovědí exportována do formátu xls podporovaného programem Microsoft Excel, kde je možno provést statistické šetření. Další kladně hodnocenou vlastností aplikace je možnost průběžně sledovat výsledky dotazníkového šetření, které jsou zaznamenány do automaticky vygenerovaných grafů.

Dotazníky byly rozesílány na emailové adresy obsažené v adresáři kontaktů vytvořeném Mgr. Terezou Odcházelovou pro potřeby její diplomové práce (Odcházelová, 2012). Tato databáze obsahuje emailové adresy učitelů biologie, které jsou dostupné na internetových stránkách jednotlivých středních škol. Většinu položek v seznamu tvoří kontakty přímo na jednotlivé vyučující, pokud však daná adresa nebyla volně dostupná, je nahrazena kontaktem většinou na sekretariát školy nebo na zástupce

ředitele. Z tohoto důvodu úvod dotazníku obsahuje žádost o případné přeposlání dotazníku všem vyučujícím biologie působícím na dané škole.

### **Vyhodnocení dotazníků**

V aplikaci Formulář byl elektronický dotazník sestaven tak, aby při jeho vyplňování nebylo možné přeskočit žádnou z otázek. Důvodem tohoto nastavení byla snaha vyhnout se neúplně vyplněným dotazníkům, které by byly na závěr z vyhodnocování vyřazeny. Po uplynutí lhůty stanovené pro vyplnění dotazníku jsem proto nemusela dotazníky nadále třídit, ale bylo možné přímo začít pracovat s výsledky.

Jednotlivé odpovědi zaznamenané v online tabulkách na Google Disk byly exportovány do formátu xls a nadále zpracovávány v programu Microsoft Excel 2007. Jak již bylo uvedeno výše, první část dotazníku se zabývala identifikačními znaky respondentů, tedy pohlavím, věkem apod. Tyto položky byly pro přehlednost zpracovány do grafů a využity v další statistické analýze dotazníků. Podle předem stanovených cílů byly hledány závislosti mezi jednotlivými znaky, například byl stanoven průměrný počet let učitelské praxe pro jednotlivé kraje České republiky. Souvislosti mezi jednotlivými znaky byly stanovovány za pomoci předem nastavených filtrů v programu Microsoft Excel a následně převedeny do grafické podoby.

K testování stanovených hypotéz (viz Kapitola 4.1.1. Dílčí cíle dotazníkového průzkumu a stanovení hypotéz) byl použit test  $\chi^2$  (chí-kvadrát), tedy neparametrický test významnosti. Na základě tohoto testu stanovujeme, zda se údaje získané v rámci výzkumu rozcházejí s námi stanovenou hypotézou. Pokud je výsledek testu statisticky významný (signifikantní), dochází k potvrzení vyslovené hypotézy (Chráška, 2006). Při ověřování hypotézy byly sledovány dvě, maximálně tři slovní proměnné, jejichž hodnoty byly vneseny do kontingenční tabulky pro  $\chi^2$  v kancelářské aplikaci Microsoft Excel 2007. Tyto kontingenční tabulky byly laskavě poskytnuty Paedr. Milanem Kubiátkem z Institutu výzkumu školního vzdělávání Pedagogické fakulty Masarykovy univerzity v Brně.

## **4. VÝSLEDKY**

### **4.1. DOTAZNÍKOVÝ PRŮZKUM**

Cílem dotazníkového průzkumu bylo především zmapování stavu výuky histologie na středních školách v rámci celé České republiky. Jádro dotazníku tvořily otázky, zda učitelé do výuky téma zařazují, jakou organizační formu výuky volí a do jaké míry jsou spokojeni se zpracováním tématu histologie ve středoškolských učebnicích. Na těchto základech byly postaveny další otázky, které mi umožnily vhléd do způsobu, jakým učitelé k výuce histologie přistupují a jejich zájem o toto téma a ochotu rozšířit si znalosti. Právě průzkum názorů učitelů, jednak na postavení histologie jako součásti vzdělávacích programů a jednak na případný zájem studentů o rozšířenou výuku histologie na středních školách, poskytl vstupní informace pro tvorbu interaktivního histologického atlasu.

#### **4.1.1. Dílčí cíle dotazníkového průzkumu a formulace hypotéz**

Před sestavováním jednotlivých otázek samotného dotazníku byly formulovány cíle, jichž měl dotazníkový průzkum dosáhnout, a hypotézy, které měly být na základě statistické analýzy buďto potvrzeny nebo vyvráceny.

Bylo stanoveno sedm následujících cílů, na jejichž otázky mělo dotazníkové šetření poskytnout odpovědi:

1. Zjistit, v jakém typu vyučovacích hodin a ve kterých tematických celcích se učitelé věnují výuce histologie.
2. Zjistit, jaké informační zdroje pro výuku histologie upřednostňují vyučující na jednotlivých středních školách.
3. Zjistit, jak učitelé hodnotí zájem žáků o histologickou problematiku.
4. Zjistit, zda, v jaké míře a kvalitě jsou střední školy vybaveny trvalými histologickými preparáty.
5. Zjistit, zda se učitelé biologie cítí být schopni samostatně vytvářet trvalé histologické preparáty, popřípadě zda by měli zájem se histologickou techniku naučit v kurzech dalšího vzdělávání učitelů.
6. Zjistit, zda jsou učitelé spokojeni se zpracováním histologie v používaných učebnicích.

7. Zjistit, zda mají vyučující zájem o použití interaktivního výukového atlasu histologie ve svých hodinách a jakou podobu atlasu upřednostňují.

Dále byly stanoveny tři následující hypotézy, na něž jsem statistickým zpracováním dat získaných dotazníkovým šetřením hledala odpovědi:

#### **Hypotéza č. 1:**

**Učitelé na středních školách, kteří nemají k dispozici kvalitní histologické preparáty, projeví zájem o využití interaktivního výukového atlasu častěji než učitelé, kteří mají kvalitní histologické preparáty k dispozici.**

Součástí dotazníku je otázka zabývající se vybaveností škol trvalými histologickými preparáty. Zjišťováno je jednak množství trvalých preparátů a jednak jejich kvalita. Předpokládám, že učitelé, kteří nemají k dispozici kvalitní výukové pomůcky, spíše projeví zájem o využití interaktivního výukového atlasu, než učitelé, kteří mají možnost přímo ve výuce mikroskopovat histologické preparáty ze školních sbírek.

#### **Hypotéza č. 2:**

**Absolventi oboru učitelství na přírodovědeckých fakultách umějí samostatně vytvořit trvalé histologické preparáty méně často než, absolventi pedagogických fakult.**

Jsem studentkou Pedagogické fakulty Univerzity Karlovy v Praze, jedním z povinných předmětů je Biologická a geologická školní technika. Studenti jsou zde seznámeni se základními biologickými technikami. Studenti učitelství biologie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy se mohou v současnosti s histologickou technikou poměrně do hloubky seznámit v rámci volitelného předmětu Histologie – praktická cvičení. Mým cílem proto bylo zmapovat rozdíly mezi studenty pedagogických a přírodovědeckých fakult ve schopnostech samostatně vytvořit trvalé histologické preparáty.

### **Hypotéza č. 3:**

**Učitelé biologie na gymnáziích využívají častěji k přípravě hodin histologie kromě středoškolských učebnic a internetu také vysokoškolské učebnice a atlasy, než učitelé na ostatních středních školách. Učitelé na jiných typech středních škol vedle středoškolských učebnic používají převážně internetové zdroje.**

Žáci studující na gymnáziích získávají znalosti ze širokého spektra oborů, aniž by došlo k výraznější odborné profilaci studentů. Hlavním cílem studia na škole tohoto typu je příprava studentů na složení přijímacích zkoušek na vysoké školy. Na druhé straně studenti středních odborných škol jsou připravováni k výkonu povolání v konkrétním oboru, získávají především odborné a praktické znalosti. Domnívám se, že učitelé gymnázií proto ve snaze zvýšit šance na přijetí svých žáků na vybrané vysoké školy budou prohlubovat jejich znalosti nad rámec obsahů středoškolských učebnic a na rozdíl od učitelů středních odborných škol budou za tímto účelem využívat vysokoškolské učebnice a atlasy.

#### 4.1.2. Charakteristika výběrového vzorku

Odesláno bylo celkem 1 138 dotazníků (viz Příloha 2), z nichž 848 bylo doručeno přímo jednotlivým učitelům biologie a zbytek, tedy 290, bylo posláno na společnou emailovou adresu školy, na adresu ředitele, zástupce ředitele nebo sekretariátu školy. Z celkového počtu 1 138 dotazníků nebylo z různých důvodů možno doručit 69. Zbytek dotazníků, tedy 1 069, jsem pokládala za doručené.

V úvodu dotazníku byli jednotliví respondenti informováni o datu, do kterého je nutné dotazníky odevzdat ke zpracování. Každému respondentovi byla poskytnuta minimálně čtrnáctidenní lhůta k vyplnění dotazníku. Do stanoveného data bylo přijato celkem 260 vyplněných dotazníků, což tvoří přibližně 24,3% z celkového počtu dotazovaných.

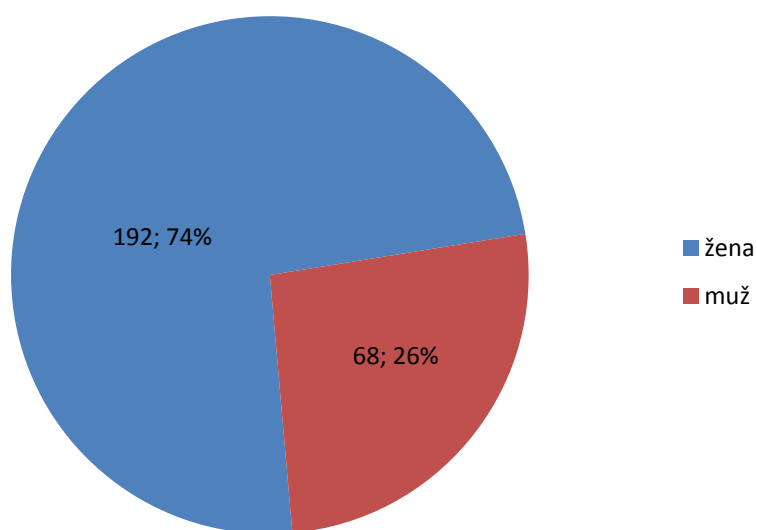
Jak je patrné z Grafu 1, z celkového počtu 260 respondentů, bylo 192 (74%) žen a 68 (26%) mužů. Výzkumný vzorek byl podle věku rozdělen do pěti základních kategorií. Do první kategorie spadají učitelé ve věku 20-30 let. Spodní věková hranice byla nastavena na 20 let, protože mnozí studenti pedagogických fakult si již při studiu vysoké školy přivydělávají na částečný úvazek výukou na školách. Přesto je tato věková kategorie na školách zastoupena pouze necelými 14%. Jak je patrné z Grafu 2, největší procentuální zastoupení v pedagogických sborech má věková kategorie 50-60 let, představuje celých 30,4% učitelů biologie na středních školách. Procentuální zastoupení věkových kategorií 30-40 let a 40-50 let je vyrovnané a pohybuje se okolo 25%. Poslední zaznamenanou kategorií tvořila věková skupina respondentů nad 60 let. Do této skupiny se řadilo 5,8% učitelů. Nejstarší účastník výzkumu byl ve věku 69 let.

V závislosti na věkovém složení pedagogických sborů byla zkoumána také průměrná délka praxe jednotlivých věkových kategorií. Jak je patrné z Grafu 3 vzrůstající délka praxe odpovídá věku učitelů. Věkový průměr učitelů ve všech krajích přesahoval věkovou hranici 40 let (Graf 4).

Při rozesílání dotazníků byla snaha oslovit přibližně stejný počet respondentů z každého kraje. Výjimku tvoří Hlavní město Praha a Středočeský kraj, a to z důvodu velkého počtu škol v těchto regionech (Odcházelová, 2012). Jak je patrné z Grafu 5, počet přijatých dotazníků více méně koresponduje s počtem dotazníků rozeslaných. Do

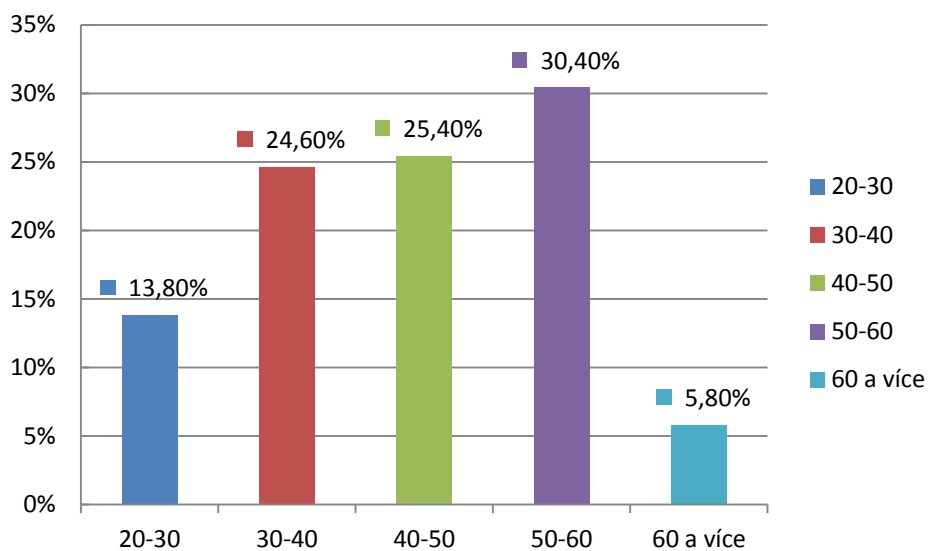
tohoto porovnání však nejsou započítány dotazníky, jejichž doručení adresátovi z různých důvodů selhalo.

Dotazníkový průzkum probíhal pouze mezi vyučujícími na středních školách. Bylo zjišťováno, na kterých typech středních škol respondenti vyučují. V dotazníku mohli učitelé zaškrtnout vždy jednu odpověď. V základní nabídce byly uvedeny školy, u nichž jsem předpokládala, že budou biologii vyučovat. Mezi tyto střední školy patří gymnázia, střední odborné školy s přírodovědným zaměřením (např. střední zemědělská škola) a střední zdravotnické školy. V případě, že se v nabídce škola, na níž respondent vyučuje, nenacházela, měli dotazovaní možnost vyplnit typ školy ručně v položce „Jiné“. Zaznamenány byly i odpovědi od respondentů ze škol s jiným než přírodovědným zaměřením, například ze středních ekonomických škol (1% respondentů). Jak je patrné z Grafu 6, nejvíce vyplněných dotazníků pocházelo od učitelů gymnázií, 209 (80%), následovali učitelé středních zdravotnických škol (7%) a středních odborných škol s přírodovědným zaměřením (5%).

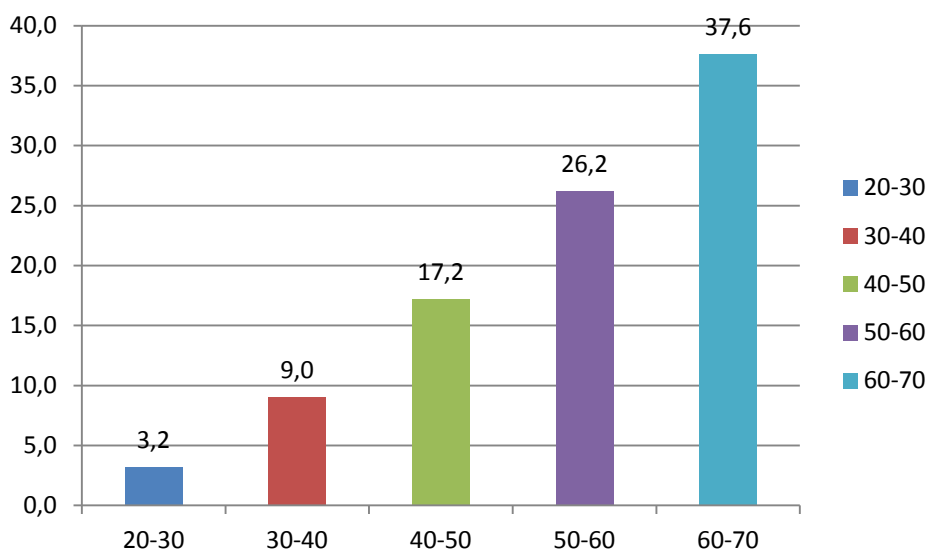


**Graf 1.: Zastoupení pohlaví mezi respondenty.**

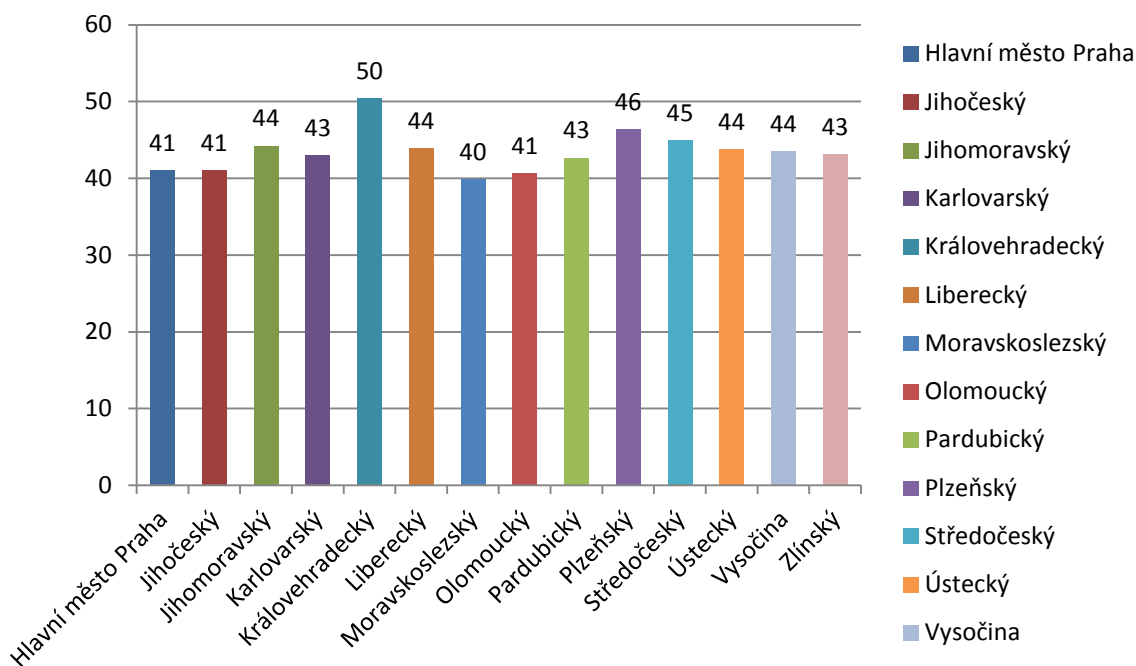




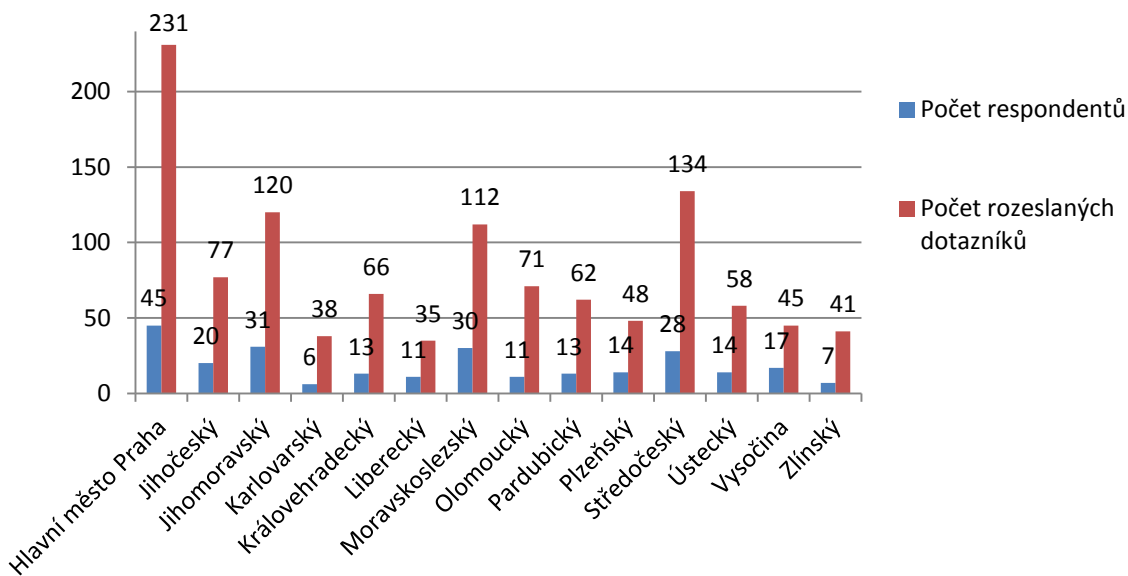
**Graf 2.: Věkové rozložení respondentů.**



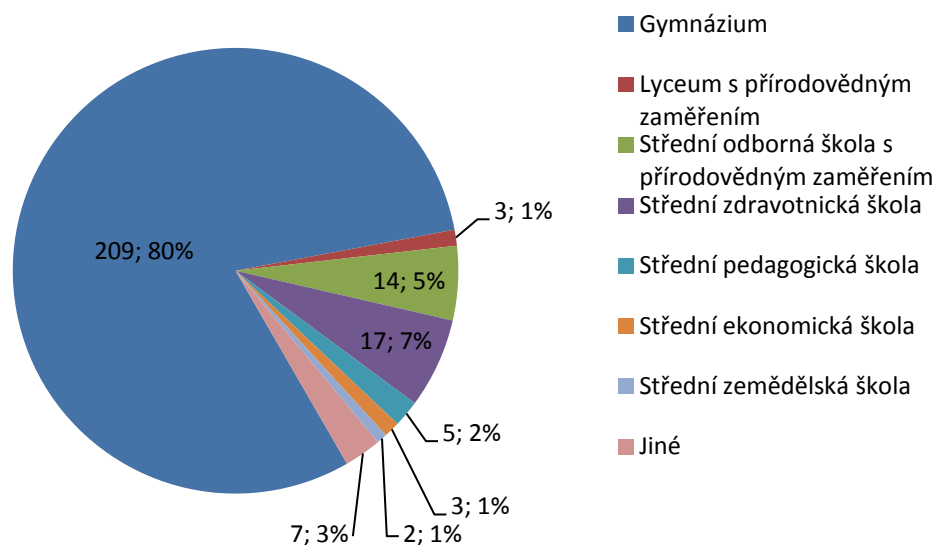
**Graf 3.: Průměrná délka pedagogické praxe respondentů jednotlivých věkových kategorií.**



Graf 4.: Věkový průměr respondentů v jednotlivých krajích.



Graf 5.: Zastoupení jednotlivých krajů ve vzorku respondentů



Graf 6.: Rozložení respondentů z hlediska typů škol.

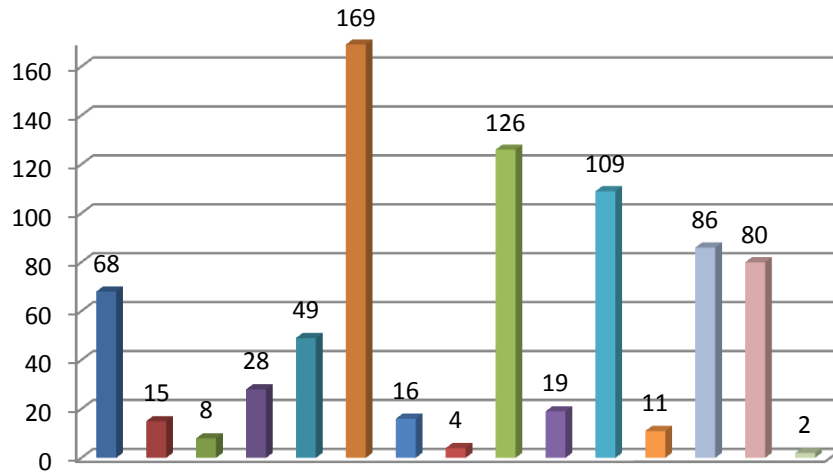
#### 4.1.3. Zhodnocení jednotlivých odpovědí

Pět otázek dotazníku se soustředilo na informační zdroje používané učiteli jednak při výuce se žáky a jednak při přípravě na hodinu. První otázka byla zaměřena na průzkum učebnic, které učitelé při výuce se žáky nejvíce používají. Při sestavování této otázky jsem provedla průzkum učebnic, které jsou běžně k dostání na trhu a o kterých jsem předpokládala, že obsahují histologickou tematiku. Do otázky jsem zařadila 11 základních učebnic a dále otevřenou odpověď „Jiné“, kde bylo možné vyplnit název učebnice, která nebyla uvedena v hlavní nabídce. Protože mnozí učitelé pracují s více než jednou učebnicí, mohli zaškrtnout libovolný počet políček. Celkový počet používaných učebnic proto výrazně přesahuje počet respondentů.

Průzkum ukázal (Graf 7), že nejčastěji používanou učebnicí je „*Biologie pro gymnázia*“ (Jelínek a Zicháček, 2007), kterou používá 169 z celkových 260 respondentů, což je 65%. Druhou nejčastěji používanou učebnicí je soubor učebnic „*Biologie člověka*“ (Kočárek, 2010), který používá celkem 126 (48%) respondentů. Následuje učebnice „*Biologie člověka pro gymnázia*“ (Novotný a Hruška, 2007), kterou využívá 109 (42%) respondentů.

Jak je patrné z Grafu 7, ve výuce je poměrně často používána řada dalších učebnic, například „*Zoologie*“ (Papáček et al., 2010) nebo „*Nový přehled biologie*“ (Rosypal et al. 2012). Celkem 30 respondentů v dotazníku využilo možnost vyplnit

položku „Jiné“. Na základě jejich odpovědí byly do Grafu 7 přidány další položky, a to „*Biologie*“ (Campbell a Reece, 2006), kterou používá 8 respondentů a „*Biologie I-IV*“ (Kislinger et al., 1994), kterou uvedli 4 respondenti. V Grafu 7 se pod položkou „Jiné“ většinou skrývají učitelé, kteří ve výuce nepoužívají učebnici, ale vlastní materiály. Pouze 2 respondenti uvedli, že nepoužívají učebnici žádnou.



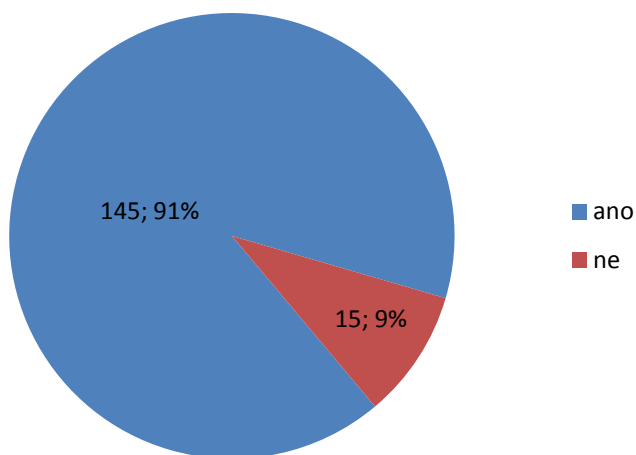
- Benešová, M.; et al. Odmaturuj z biologie; Didaktis, 2003.
- Bumerl, J.; Choc, V. Biologie 1 a 2 pro střední odborné školy; SPN, 2006.
- Campbell, N.; Reece, J. Biologie, 1st ed.; Computer Press, 2006.
- Dylevský, I. Základy anatomie a fyziologie člověka; Epava, 1995.
- Hančová, H.; Vlková, M. Biologie v kostce pro střední školy; Fragment, 2012.
- Jelínek, J.; Zicháček, V. Biologie pro gymnázia, 9th ed.; Nakladatelství Olomouc, 2007.
- Jiné
- Kislinger a kol. Biologie I - IV, Gymnázium Klatovy, 1994
- Kočárek, E. Biologie člověka 1 a 2; Scientia, 2010.
- Machová, J. Biologie člověka pro učitele; Karolinum, 2002.
- Novotný, I.; Hruška, M.; et al. Biologie člověka pro gymnázia; Fortuna, 2007.
- Odstrčil, J.; Hruža, A. Biologie pro zdravotnické školy; NCO NZO, 2008.
- Papáček, M.; et al. Zoologie; Scientia, 2000
- Rosypal, S.; et al. Nový přehled biologie; Scientia, 2012.
- žádnou

**Graf 7.: Seznam nejčastěji používaných učebnic se zastoupením histologie.**

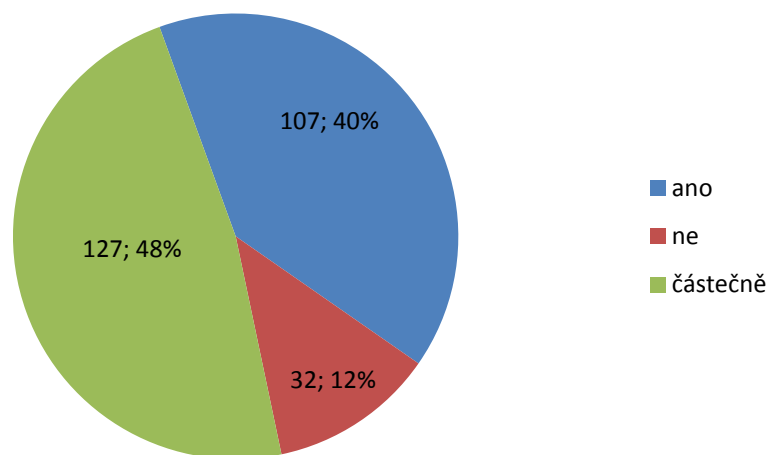
Dále jsem zjišťovala, zda je v některých používaných učebnicích tematika histologie zastoupena a pokud ano, do jaké míry jsou s jejím zpracováním jednotliví učitelé spokojeni. Zároveň jsem porovnávala spokojenost učitelů na různých typech středních škol.

Jak je patrné z Grafů 8 – 9, histologie je zastoupena v 91% učebnic, které učitelé v dotazníku uvedli. Pouze 15 respondentů, tedy 9%, odpovědělo, že v jimi používané učebnici histologie zastoupena není. Spokojenost se zpracováním histologie v používané učebnici měli učitelé možnost hodnotit třemi základními stupni: ano, ne a částečně. 40% respondentů uvedlo, že je se zpracováním spokojeno, 48% je spokojeno pouze částečně a 12% respondentů spokojeno není. Výhrady ke zpracování histologické tematiky v učebnicích se vyskytly převážně mezi učiteli gymnázií, z nichž 12% odpovědělo, že s historií v učebnici spokojeni nejsou, 50% bylo spokojeno pouze částečně a 38% nemělo k učebnicím výhrady (viz Graf 10).

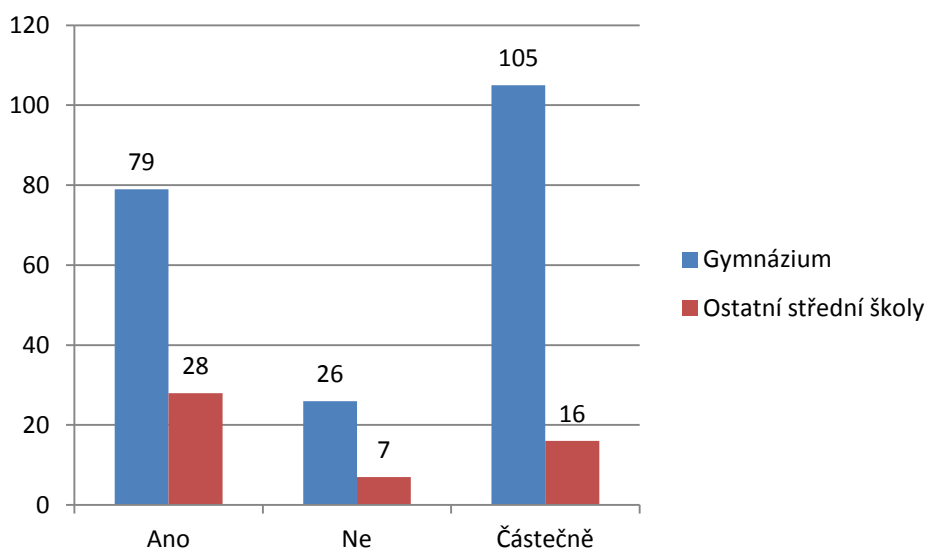
Rozdíl ve spokojenosti učitelů na gymnáziích a na ostatních typech středních škol se zpracováním histologie v uvedených učebnicích je statisticky signifikantní (chi-kvadrát ( $\chi^2$ )= 6,1197; počet stupňů volnosti (DF)=2; hladina významnosti (p)=0,0469).



**Graf 8.: Zastoupení histologie v učebnicích, které učitelé uvedli v dotazníku jako používané.**



**Graf 9.: Spokojenost učitelů se zpracováním histologie v jednotlivých učebnicích.**

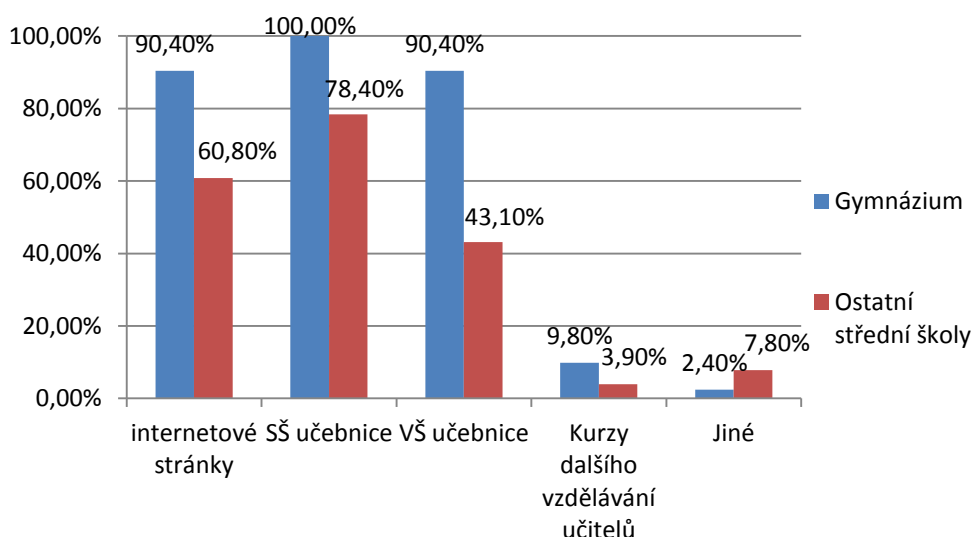


**Graf 10.: Porovnání spokojenosti učitelů se zpracováním histologie v používaných učebnicích.**

Se spokojeností učitelů se zpracováním histologické problematiky ve středoškolských učebnicích souvisí používání dalších informačních zdrojů při přípravě hodin biologie. Zjišťovala jsem, zda využívání jednotlivých informačních zdrojů souvisí s typem školy, na níž respondent vyučuje. Učitelé vybírali ze 4 základních zdrojů informací, konkrétně středoškolských učebnic, vysokoškolských učebnic a atlasů, internetových stránek, z kurzů dalšího vzdělávání učitelů a měli možnost vyplnit další zdroj v políčku „Jiné“. Mohli zaškrtnout více možností.

Jak je patrné z Grafu 11, nejčastěji používaný zdroj informací představují středoškolské učebnice, které k přípravě na hodinu využívá 100% učitelů gymnázií a 78,4% učitelů na ostatních středních školách. Dalším významným informačním zdrojem gymnaziálních učitelů je vedle středoškolských učebnic internet a vysokoškolské učebnice a atlasy. Oproti tomu učitelé na ostatních středních školách využívají k přípravě hodin biologie mimo středoškolských učebnic daleko méně dalších informačních zdrojů. Téměř 61% dotázaných uvedlo, že jako zdroj informací používá internet, a pouze 43% používá vysokoškolské učebnice a atlasy.

Jako nezanedbatelný zdroj informací se ukázaly i kurzy v rámci dalšího vzdělávání učitelů. Ty ve svých odpovědích uvedlo téměř 10% učitelů vyučujících na gymnáziu a 4% vyučujících z ostatních typů středních škol. Pod položkou „Jiné“ byly nejčastěji vedeny vysokoškolské poznámky.

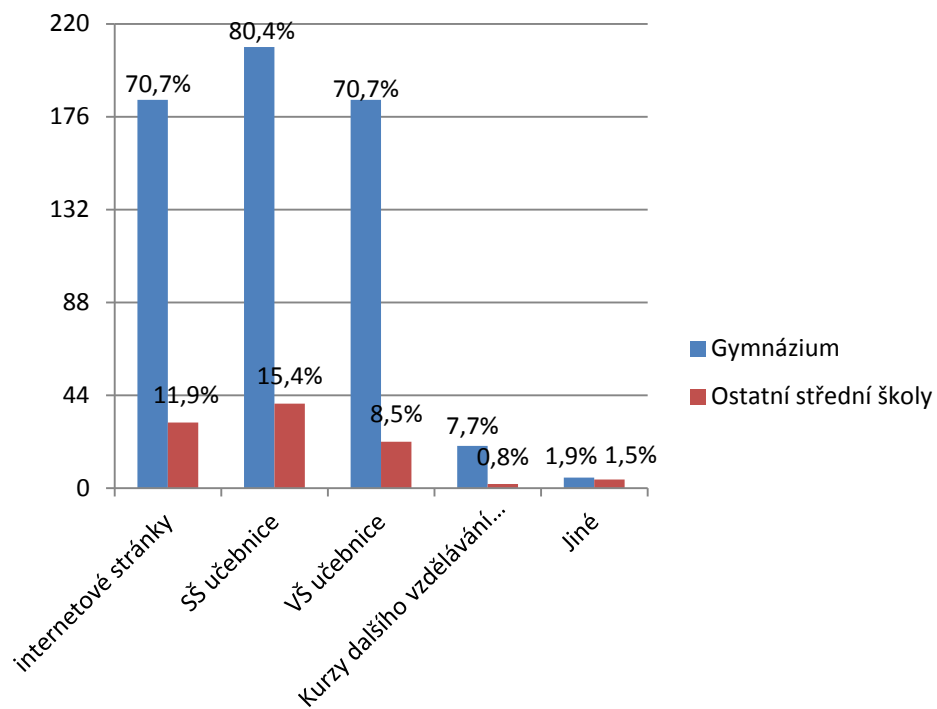


**Graf 11.: Využívání informačních zdrojů učiteli biologie při přípravě na hodinu.**

Jedna z hypotéz zkoumala, zda existuje rozdíl ve frekvenci používání dalších informačních zdrojů mezi učiteli jednotlivých typů středních škol (Graf 12). Jak bylo řečeno výše, předpokládala jsem, že učitelé na gymnáziích budou používat k přípravě na hodinu vedle středoškolských učebnic a internetu často také vysokoškolské učebnice a atlasy. Zatímco učitelé na ostatních typech středních škol budou naopak používat zejména internet. Rozdíl ve využití dalších informačních zdrojů mezi učiteli na středních školách je statisticky signifikantní, tudíž byla hypotéza podpořena (chi-

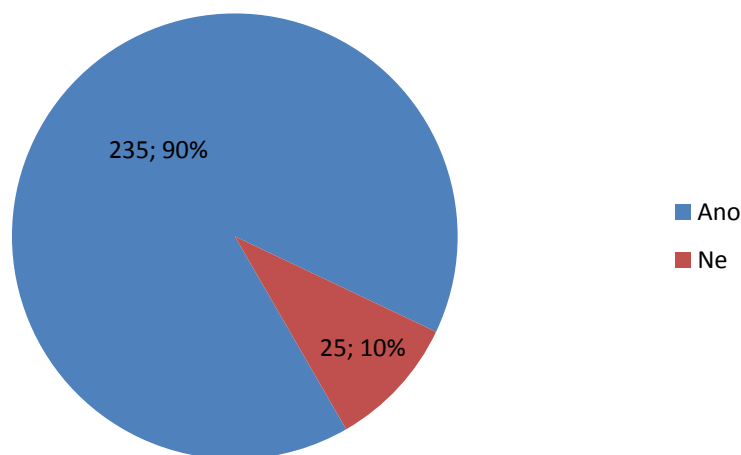


kvadrát ( $\chi^2$ )= 10,08499; počet stupňů volnosti (DF)=4; hladina významnosti (p)=0,03902).



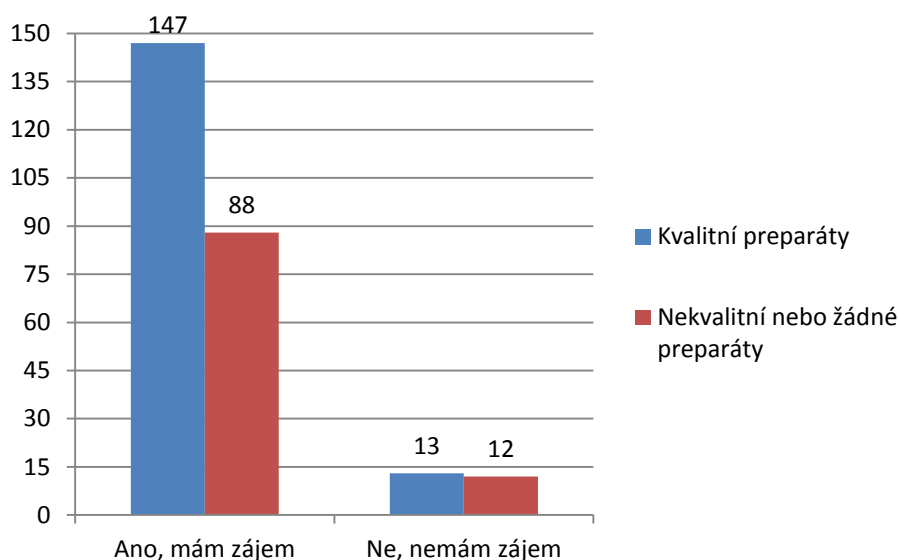
**Graf 12.: Využití dalších informačních zdrojů učiteli na jednotlivých typech středních škol.**

Poslední otázka, která se v dotazníku zabývala informačními zdroji, zjišťovala případný zájem vyučujících o využití interaktivního histologického atlasu ve výuce biologie. 90% všech dotázaných projevilo o tuto výukovou pomůcku zájem a využilo možnosti vyplnit svou emailovou adresu v závěru dotazníku. Tato adresa byla požadována pro zaslání odkazu na zveřejněný atlas. 10%, tedy 25 respondentů, zájem o využití atlasu nemělo (viz Graf 13).



**Graf 13.: Zájem respondentů o využití interaktivního výukového atlasu ve výuce.**

Bylo zkoumáno, zda se zájem o atlas lišil mezi učiteli, kteří mají přístup ke kvalitním histologickým preparátům a kteří tuto možnost nemají (Graf 14). Rozdíl v zájmu o interaktivní histologický atlas mezi oběma skupinami učitelů nebyl statisticky signifikantní, a proto nedošlo k potvrzení hypotézy ( $\chi^2 = 1,0632$ ; počet stupňů volnosti (DF)=1; hladina významnosti (p)=0,3025).



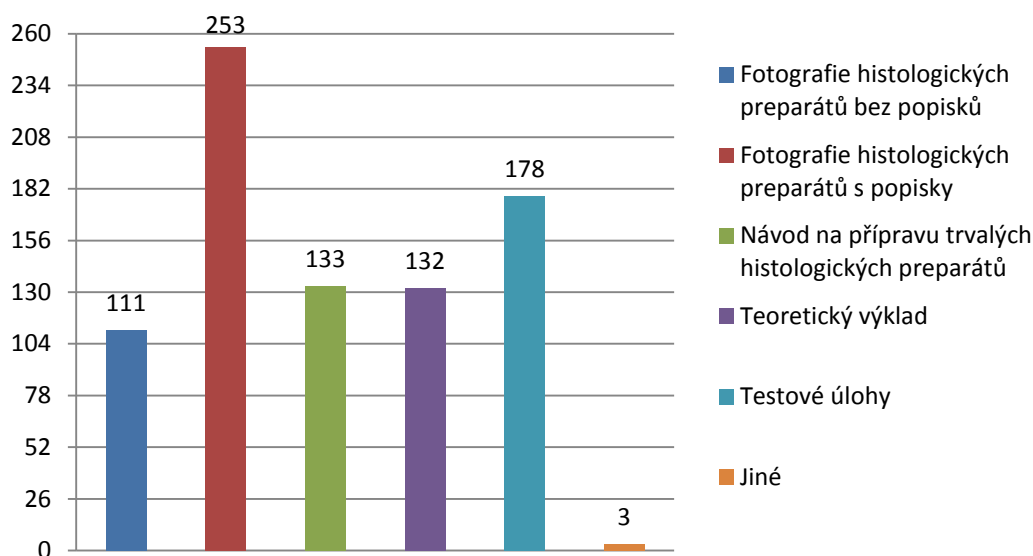
**Graf 14.: Zájem projevovaný o zaslání odkazu na interaktivní histologický atlas v závislosti na kvalitě trvalých histologických preparátů, které mají učitelé k dispozici.**

Histologický atlas byl vytvářen s ohledem na jeho pozdější využití jako učební pomůcky ve výuce na středních školách. Proto měli učitelé možnost se v rámci

dotazníku vyjádřit k jeho obsahu. Mohli vybírat z 5 základních položek, o nichž se předpokládalo případné využití ve výuce. Respondent mohl zaškrtnout i více možností, případně všechny. Návod na přípravu trvalých histologických preparátů by jako součást atlasu uvítalo 133 dotazovaných, tedy 51,2% respondentů. Téměř stejný počet respondentů se vyjádřil kladně k zařazení teoretického výkladu o jednotlivých orgánových soustavách. Tuto možnost zvolilo 132, tedy 50,8% respondentů. Největší zájem učitelé projeví o fotografie histologických preparátů s popisky jednotlivých struktur. Pro tuto možnost se vyslovili kladně téměř všichni respondenti, celkem 97%. O něco menší zájem byl o fotografie histologických preparátů bez popisků. Tato možnost byla v dotazníku navržena proto, aby učitelé měli možnost využít čisté fotografie ve vlastních prezentacích nebo testech. Zájem o ně projevilo 111 respondentů, tedy 42,7%. O interaktivní testové úlohy pro využití učiteli ve výuce nebo studenty při samostudiu projevilo zájem 178 respondentů, 68,5% (viz Graf 15).

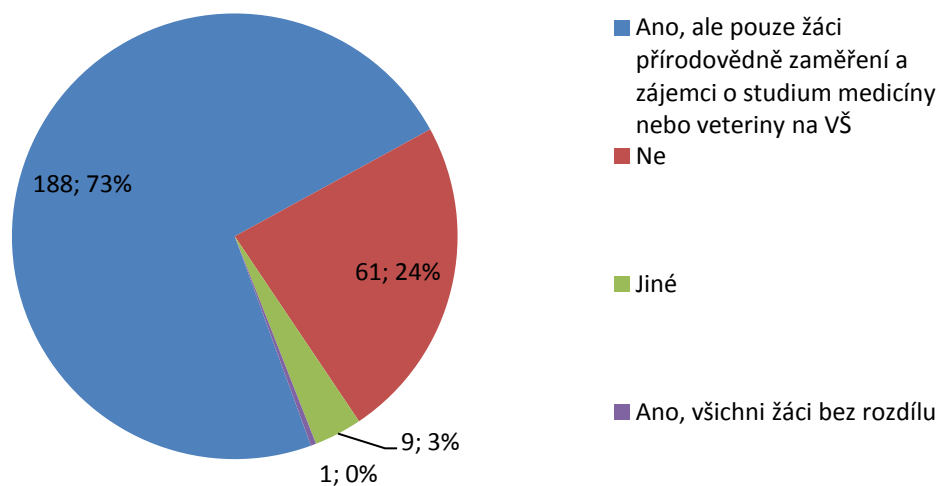
Učitelé měli dále možnost vyjádřit se a sami navrhnout další části histologického atlasu. Tuto možnost využili pouze 3 vyučující. Každý z nich navrhl jednu z následujících položek:

- návrhy na laboratorní úlohy
- nákresy lokalizace jednotlivých tkání v těle
- srovnání jednotlivých tkání.

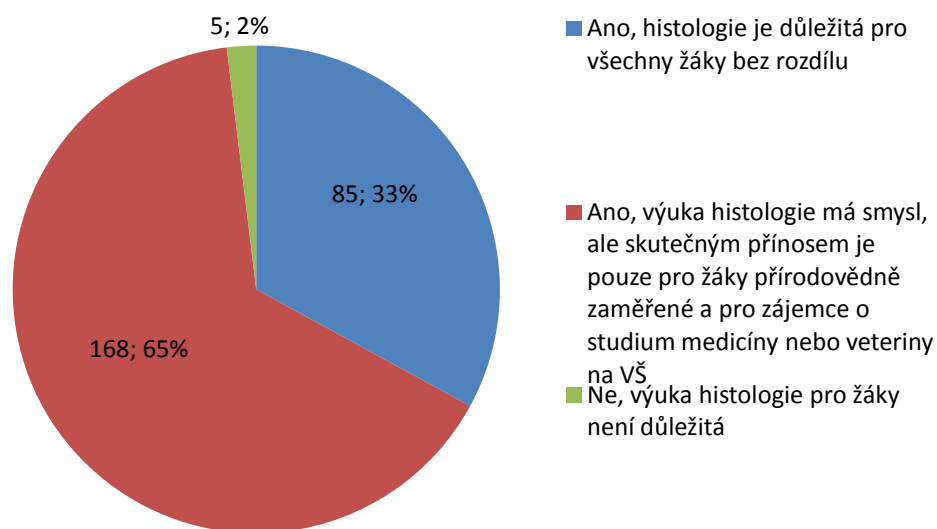


**Graf 15.: Návrhy učitelů na obsah interaktivního histologického atlasu.**

Další širší okruh otázek se věnoval problematice zájmu studentů o rozšíření výuky histologie a názorům pedagogů na výuku histologie a její přínos pro studenty do budoucího života. Jak je patrné z Grafu 16, 73% učitelů se domnívá, že o rozšířenou výuku histologie by měli zájem pouze žáci přírodovědně zaměřeni a studenti směřující na lékařské nebo veterinární fakulty. 24% učitelů se domnívá, že zájem o tuto tematiku by žáci neprojeвили vůbec. Názory učitelů na smysluplnost výuky histologie v rámci povinného předmětu biologie více či méně korespondovaly s předchozí otázkou. 65% respondentů se domnívá, že histologie je přínosem pouze pro žáky přírodovědně zaměřené a 33% respondentů vnímá histologii jako důležitou pro všechny žáky bez ohledu na budoucí povolání. Pouze 2% vyučujících vnímá histologii jako nedůležitou (Graf 17).



**Graf 16.: Názor učitelů na zájem studentů o rozšířenou výuku histologie.**

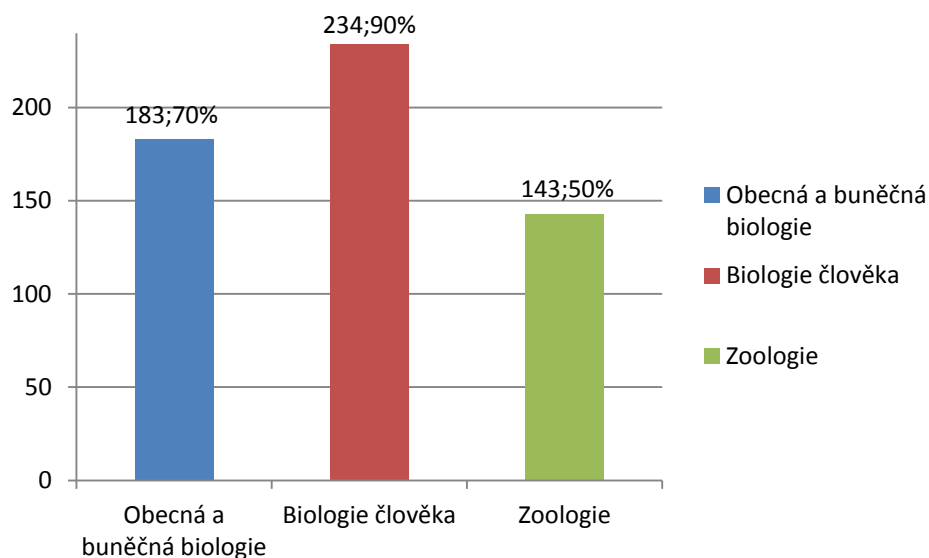


**Graf 17.: Názor učitelů na smysl výuky histologie.**

Poslední okruh otázek vyskytující se v dotazníku byly otázky zaměřené na zařazení histologie do tematických celků a na organizační formy výuky, které učitelé při výuce histologie využívají.

Jak je patrné z Grafu 18, histologie je nejčastěji probírána v rámci Biologie člověka. Do této kategorie ji zařadilo 234, tedy 90%, respondentů. Protože histologie je

vědní disciplína se širokým záběrem, je možné ji vyučovat v rámci více než jednoho celku. Z tohoto důvodu měli učitelé možnost vybrat více než jednu odpověď. Jak je patrné z grafu, 70% respondentů zařazuje histologii kromě Biologie člověka také do Obecné a buněčné biologie, která tvoří základ, na němž je postavena celá další výuka biologie. Kromě výše zmíněných okruhů 50% dotázaných zařazuje histologii také do Zoologie.



**Graf 18.: Výuka histologie v rámci jednotlivých tematických celků.**

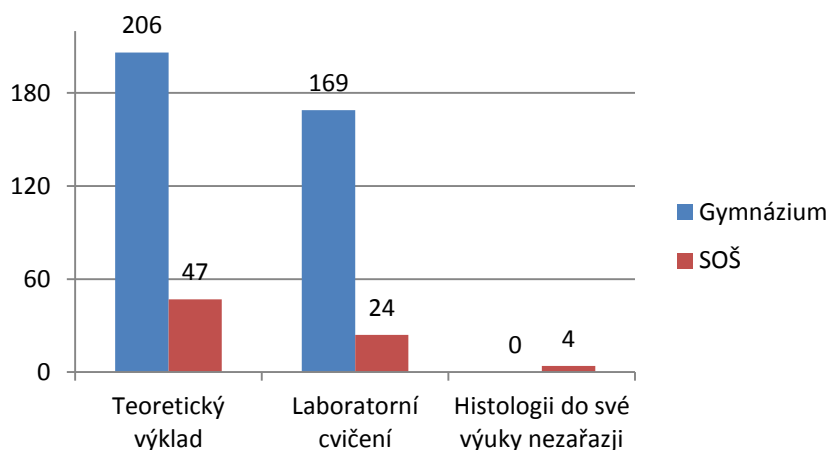
K výuce histologie můžeme přistupovat jak teoreticky, tak prakticky. Teoretickému výkladu se věnuje 97% respondentů. Většina z nich, přesně 193 (74,2%), vyučuje histologii nejen v rámci teoretických hodin, ale připravují žákům i laboratorní cvičení, v jejichž průběhu přicházejí studenti s preparáty sami do styku (Graf 19).

Učitelé na gymnáziích vyučují histologii v praktických cvičeních statisticky signifikantně častěji než učitelé na ostatních typech středních škol ( $\chi^2=23,1529$ ; počet stupňů volnosti (DF)=2; hladina významnosti (p)=0,0000).

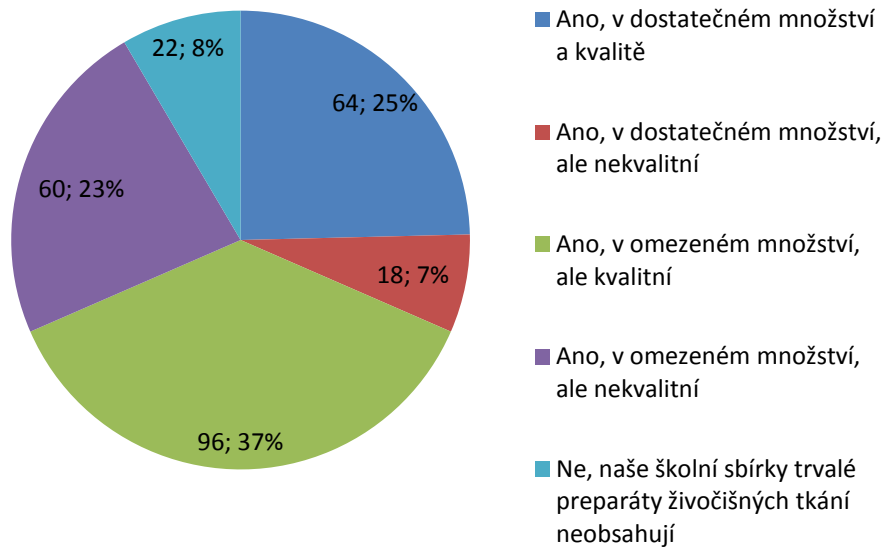
Problematika laboratorních cvičení souvisí se stavem školních sbírek. Přestože mnozí učitelé trvalé histologické preparáty mají k dispozici, jejich využití v hodinách ovlivňuje jednak kvalita těchto preparátů a jednak jejich množství. 62% dotázaných uvedlo, že má do výuky k dispozici kvalitní, nepoškozené histologické preparáty. Pouze 25% respondentů však odpovědělo, že má přístup k dostatečnému množství kvalitních preparátů. 30% respondentů sice k dispozici trvalé histologické preparáty má, avšak

v nízké kvalitě, zatímco 8% vyučujících nemá k histologickým preparátům přístup vůbec (viz Graf 20).

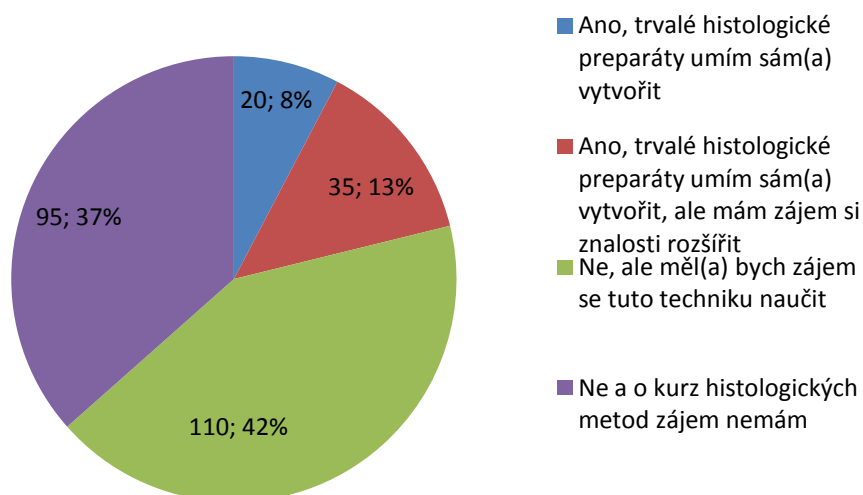
Vizuální pomůcky hrají ve výuce nezastupitelnou roli, nákresy a fotografie usnadňují žákům zapamatování si holých faktů. Pokud však mají fyzický přístup k preparátům, získají nejen představu o podobě určité tkáně, ale i určitou kontrolu nad svým poznáním. Mikroskopování v rámci laboratorních cvičení umožňuje žákům manipulaci s preparátem a zároveň dochází k osvojování si praktických dovedností. Protože ne na všech školách mají žáci přístup k histologickým preparátům, zjišťovala jsem v rámci dotazníkového šetření, zda pedagogové ovládají techniku jejich přípravy a zda by měli zájem si své znalosti rozšířit pod vedením externího lektora. Jak je patrné z Grafu 21, celkem 21% respondentů je sice schopno samostatně vytvořit trvalé histologické preparáty, ale 13% z nich zároveň projevilo zájem si znalosti rozšířit. 79% respondentů odpovědělo, že histologické techniky neovládají a 42% z nich o ně ani nemá zájem. O výuku histologických technik má tedy zájem 55% respondentů.



**Graf 19.: Srovnání organizačních forem výuky histologie na jednotlivých typech středních škol.**



**Graf 20.: Stav školních sbírek histologických preparátů.**

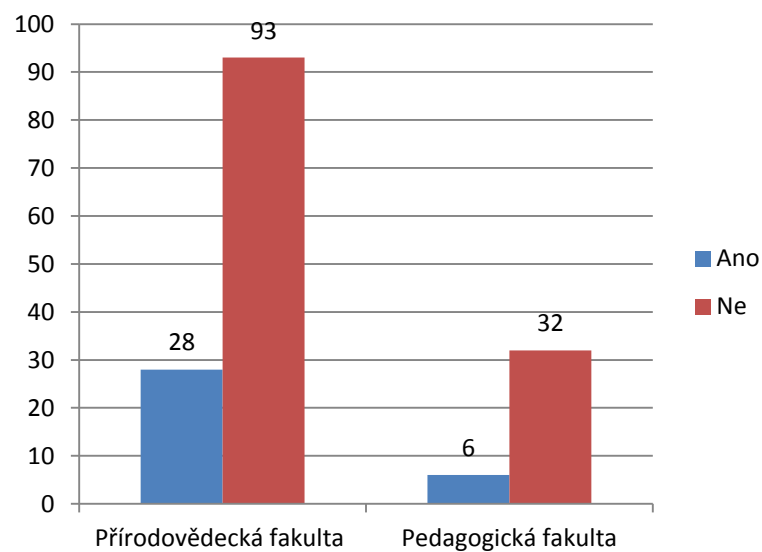


**Graf 21.: Schopnost učitelů vytvořit trvalé histologické preparáty a případný zájem o rozšíření znalostí.**

Dalším cílem výzkumu bylo zmapovat případné rozdíly ve schopnosti absolventů přírodovědeckých a pedagogických fakult samostatně připravit trvalé histologické preparáty (Graf 22). Jak bylo uvedeno výše, předpokládala jsem, že absolventi pedagogických fakult budou schopni preparáty připravit častěji, než



absolventi fakult přírodovědeckých. Z 260 respondentů jich bylo nutno z této analýzy vyškrtnout 101. Jednalo se o respondenty, kteří v otázce: „Kterou VŠ jste vystudoval(a)“, uváděli pouze název vysoké školy, tedy bez konkrétní fakulty. Byly použity údaje pouze 159 respondentů. Rozdíl ve schopnosti vytvářet vlastní trvalé histologické preparáty není mezi absolventy pedagogických a přírodovědeckých fakult signifikantní (chí-kvadrát ( $\chi^2$ )= 0,9295; počet stupňů volnosti (DF)=1; hladina významnosti (p)=0,335). Hypotéza tedy nebyla potvrzena.



**Graf 22.: Závislost schopnosti samostatné tvorby trvalých histologických preparátů na vystudované fakultě.**

## **4.2. HISTOLOGICKÝ ATLAS**

### **4.2.1. Obecná charakteristika histologického atlasu**

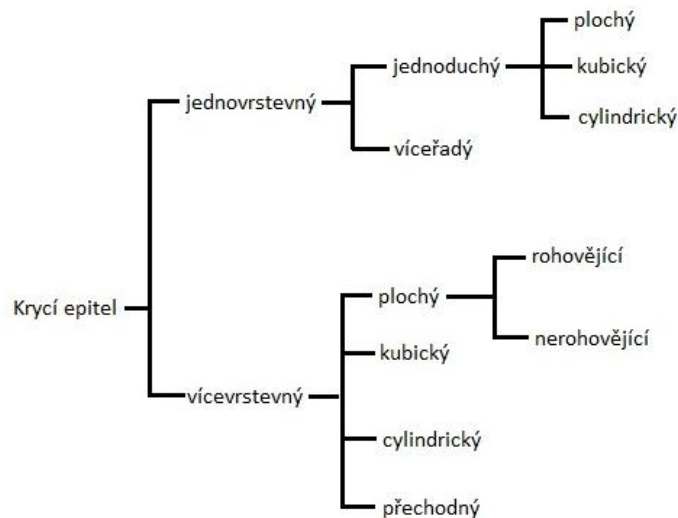
Následující kapitola obsahuje histologický atlas, který vznikl v průběhu ověřování vybrané histologické techniky. Součástí tohoto atlasu jsou jednak popsané mikroskopické fotografie trvalých histologických řezů vybranými orgány myši domácí (*Mus musculus*) a jednak teoretický výklad vztahující se k těmto fotografiím. Účelem teoretického výkladu není nahradit používané středoškolské učebnice, ale rozšířit je o histologickou tematiku, které v těchto učebnicích často není věnována dostatečná pozornost a především v nich chybí fotografická dokumentace. Orgánové soustavy proto v atlasu nejsou rozebrány jako celek, ale jsou charakterizovány pouze vybrané orgány a struktury v nich obsažené.

Mikroskopické fotografie byly pořízeny světelným mikroskopem s integrovanou digitální kamerou při zvětšení 40x, 100x, 200x nebo 400x. Jednotlivé struktury vybraných tkání byly zvýrazněny za použití dvou různých barvicích technik, a to hematoxylinu-eosinu (HE) a Massonova trichromu (MT). Podkladem pro teoretickou část se staly citované histologické atlasy a učebnice určené pro studenty medicíny a studenty příbuzných oborů. Jednalo se především o učebnice histologie od autorů Junquiera et al. (1999) a Lüllmann-Rauch (2012). K popisu fotografií byly mimo jiné také použity internetové histologické atlasy od autorů Conti (2004) a Čech (2003-2006).

#### 4.2.2. Epitelová tkáň

Epitelová tkáň je jedna ze čtyř základních typů tkání vyskytujících se v lidském těle, tvoří tělní povrchy a výstelky tělních dutin a orgánových soustav. Je tvořena souborem buněk, mezi nimiž se vyskytuje pouze minimum mezibuněčné hmoty a které vzájemně komunikují prostřednictvím nejrůznějších spojů, například gap junction. Epitelové buňky se vyznačují polaritou, to znamená, že je možné na nich rozlišit distální (apikální) konec směřující k povrchu a proximální (bazální) konec nasedající na bazální membránu (Paleček, 1987).

Epitelové buňky mohou vznikat ze všech tří typů zárodečných listů. Z ektodermu vznikají epitelové buňky vystylající například ústní a nosní dutinu nebo tvoří kůži. Endodermálního původu je výstelka dýchací nebo trávicí soustavy. V mezodermu pak můžeme najít původ třeba endotelové výstelky cév (Junqueira et al., 1999).



Obrázek 7.: Klasifikace krycích epitelů (upraveno podle Lüllmann-Rauch, 2012).

Epitely můžeme klasifikovat na základě různých parametrů, například podle funkce, podle tvaru buněk nebo podle počtu vrstev, které epitelové buňky vytvářejí. Na základě různých funkcí epitelů bychom mohli rozlišit epitely: krycí (kůže), absorpční (střevo), sekreční (žlázy), percepční (neuroepitel) a kontraktlní (myoepitel) (Junqueira et al., 1999). Podle tvaru buněk rozlišuje Paleček (1987) epitel plochý (dlaždicový),

epitel kubický nebo epitel cylindrický. Posledním parametrem, na jehož základě je možné rozlišit různé typy epitelů, je počet vrstev, které vytvářejí buňky daného epitelu. Patří sem epitely jednovrstevné a vícevrstevné.

Základní vlastností jednovrstevných epitelů je, že všechny buňky tohoto epitelu nasedají bazálním koncem na bazální membránu. Tato skutečnost je důležitá zejména u jednovrstevného víceřadého epitelu, ve kterém se jednotlivé epiteliální buňky liší svou velikostí a vytváří tak zdání vrstevnatosti. Buňky jednovrstevného jednoduchého epitelu jsou všechny stejně velké a apikální konec těchto buněk dosahuje stejné výšky (Lüllmann-Rauch, 2012). Paleček (1987) jednovrstevné epitely navíc rozlišuje podle tvaru buněk na: jednovrstevný plochý epitel (viz OBR.: 16) tvořený plochými buňkami a vystýlající například cévy nebo plicní sklípky, jednovrstevný kubický epitel (viz OBR.: 34) vystýlající vývody některých exokrinních žláz a jednovrstevný cylindrický epitel (viz OBR.:28), vystýlající například stěnu tlustého střeva. Protože tvar buněk není mnohdy na první pohled ve světelném mikroskopu patrný, je důležité věnovat pozornost tvaru buněčného jádra, které svým tvarem odpovídá tvaru buňky (Junqueira et al., 1999).

Základním znakem vícevrstevných epitelů je jejich složení. Skládají se z více než dvou řad nad sebou ležících epiteliálních buněk, jejichž bazální konec je výběžky spojen s bazální membránou. Na průřezu proto můžeme pozorovat jádra jednotlivých buněk uložená v řadách nad sebou (Junqueira et al., 1999). Zároveň můžeme rozdělit buňky vícevrstevného epitelu do tří úrovní: bazální, intermediární a povrchové, přičemž v buňkách bazální vrstvy dochází k mitóze a diferenciaci. Stejně jako jednovrstevné epitely i vrstevnaté epitely od sebe odlišujeme na základě tvaru buněk, v případě vrstevnatých epitelů se řídíme tvarem buněk v povrchové vrstvě. Podle tohoto principu rozlišujeme vícevrstevný epitel plochý (ústní dutina, jícen, pochva) (viz OBR.: 25, 26), kubický (vývody potních žláz) a cylindrický (část mužské močové trubice) (viz OBR.: 37) (Lüllmann-Rauch, 2012 a Paleček, 1987). Vrstevnaté ploché epitely dále můžeme rozdělit podle toho, zda u nich dochází k rohovatění vrchní vrstvy nebo ne. Rohovějící vrstevnatý epitel se vyskytuje na povrchu těla, například v epidermis (viz OBR.: 23, 24). Nerohovějící vrstevnatý epitel se naopak vyskytuje v tělních dutinách, kde není vystaven vnějšímu prostředí a je neustále zvlhčován. Tento epitel vystýlá například dutinu ústní nebo jícen (Vajner et al., 2010).

Posledním, zvláštním typem vícevrstevného epitelu je epitel přechodný, který se vyskytuje jako výstelka močového měchýře nebo horní části močové trubice. Proto se také často označuje jako urothel. Tento epitel je tvořen 4-5 řadami buněk. Buňky ve spodních vrstvách mají kubický tvar a směrem k povrchu se buňky zvětšují, kryjí více buněk ze spodních vrstev najednou, získávají oválný tvar a jsou vícejaderné. Jedná se o takzvané umbrella cells (Vajner et al., 2010). Příčinou těchto odchylek je změna tvaru, se kterou se musí tento druh epiteliální výstelky vyrovnat. Při naplnění močového měchýře dochází k jeho roztažení, této změně se přizpůsobuje především vrchní vrstva buněk, původně oválné buňky se výrazně zplošťují a počet vrstev v epitelu se snižuje z původních 4-5 řad na 2-3 (Paleček, 1987).

### 4.2.3. Svalová soustava

Pod pojmem svalová soustava si většina z nás představí kosterní svalovinu, tedy svalstvo umožňující v součinnosti s opěrným aparátem pohyb těla z místa na místo nebo pohyb částí těla navzájem, které může být ovládáno vůlí. To je však pouze jeden typ svaloviny vyskytující se v těle. Rozlišujeme svalovou tkáň trojího druhu:

- Příčně pruhovaná svalovina
- Srdeční svalovina
- Hladká svalovina

#### 1) Příčně pruhovaná svalovina

V této podkapitole se budeme zabývat svalovinou příčně pruhovanou, neboli kosterní. Název této tkáně odvozujeme od příčného pruhování, které je patrné pod světelným mikroskopem. Stejnou vlastnost vykazuje i svalovina srdeční, kterou společně s kosterním svalstvem můžeme zařadit mezi příčně pruhovanou svalovinu, avšak díky celé řadě odlišností je vyčleňována jako samostatný typ.

Příčné pruhování svaloviny je způsobeno vzájemným uspořádáním kontraktibilních bílkovin aktinu a myosinu v tkáni. Schopnost kontrakce je základní vlastností svalové tkáně, kterou rozumíme buďto zkrácení svalu v délce nebo zvýšení svalového napětí.

Příčně pruhovaná svalovina tvoří u člověka 36 – 40% z celkové hmotnosti. Základním orgánem této soustavy je sval (*musculus*). Kosterní sval je složen z mnohojaderných cylindrických buněk, neboli svalových vláken, o průměru zhruba 10 - 100 $\mu$ m a délce až 20 cm (Trojan et al., 2003). Jednotlivá jádra svalové buňky u příčně pruhované svaloviny jsou umístěna po obvodu pod sarkolemou (cytoplazmatická membrána svalového vlákna), zatímco u hladké a srdeční svaloviny mají jádra centrální polohu. Tohoto faktu lze využít jako jednoduchého rozpoznávacího znaku. Mnohojadernost jednotlivých buněk vzniká splynutím několika embryonálních myoblastů (kmenových buněk), jež jsou jednojaderné (Junquiera et al., 1999). Jádra svalových vláken kosterního svalu nejsou nadále schopna samostatného dělení. V případech kdy jsou nová jádra nezbytná, dochází například ke splynutí jader satelitní

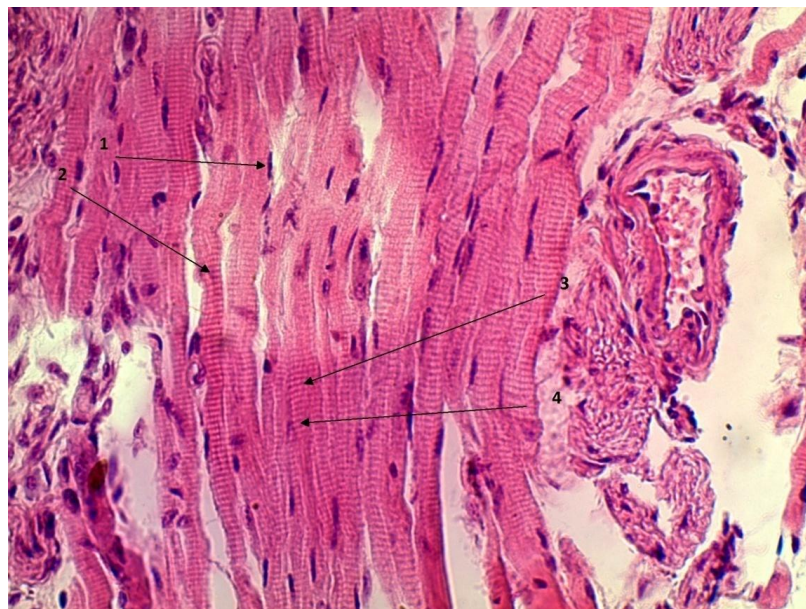
buňky (klidová kmenová buňka kosterního svalu) s buňkou svalového vlákna (Lüllmann-Rauch, 2012).

### Stavba svalu

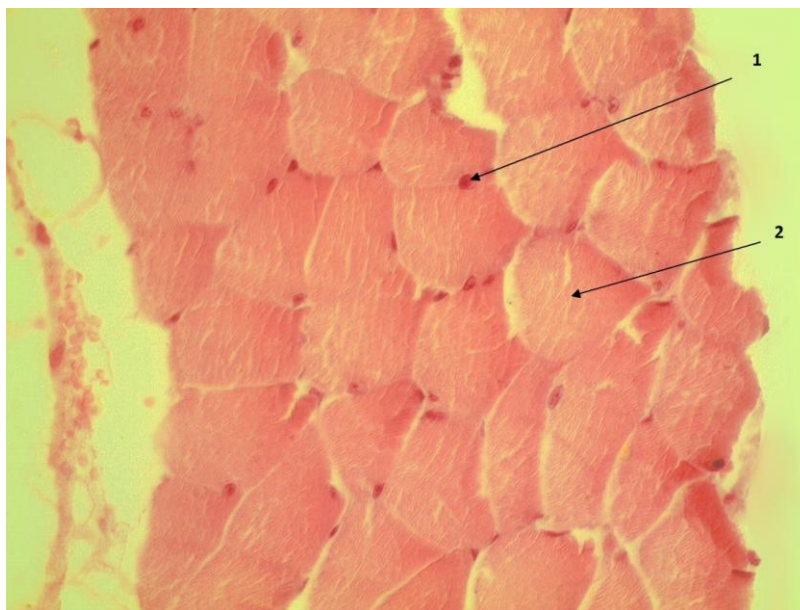
Základní stavební jednotkou svalu je svalové vlákno, to je obklopeno vrstvou vaziva (*endomysium*), které je odpovědné za odolnost svalu proti přetržení. Důležitou součástí endomysia je kapilární síť, která je zodpovědná za zásobení svalových buněk potřebnými živinami a která probíhá souběžně se svalovými vlákny. Soubor svalových vláken a endomysia dohromady tvoří primární svazky.

Takzvané sekundární svazky jsou tvořeny větším počtem svalových vláken a jsou obaleny vazivovou membránou perimysiem, jímž prochází jednotlivé nervy a cévy. Perimysium ve svalu odpovídá za jeho odolnost v tahu (Lüllmann-Rauch, 2012).

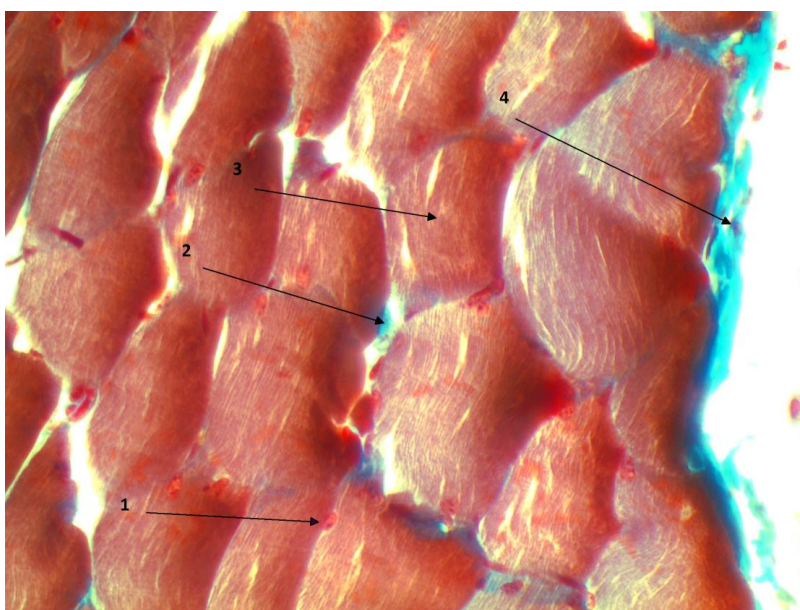
Soubor většího množství sekundárních svazků je na povrchu obalen epimysiem. Jako poslední, kryje sval tuhý vazivový obal povázka (fascie).



Obrázek 8.: Příčně pruhovaná svalovina na příčném řezu jazykem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 400x): 1. jádro svalového vlákna, 2. myofybrila, 3. izotropní pruh, 4. anizotropní pruh.



**Obrázek 9.: Příčný řez příčně pruhovanou svalovinou myši domácí (*Mus musculus*) (HE 400x):**  
 1. jádro svalového vlákna, 2. myofibrila



**Obrázek 10.: Příčný řez příčně pruhovanou svalovinou myši domácí (*Mus musculus*) (MT 400x):**  
 1. jádro svalového vlákna, 2. endomysium, 3. myofibrila, 4. epimysium

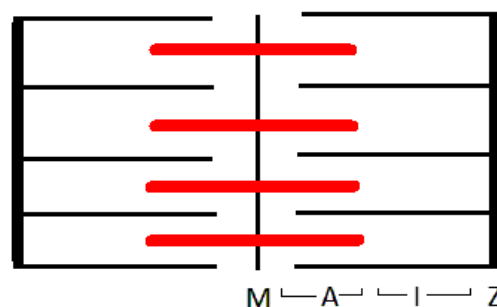


## Molekulární struktura svalu

(OBR.: 11)

Jak již bylo řečeno výše, při pozorování podélného řezu kosterním svaem ve světelném mikroskopu je možno rozpoznat příčné pruhování. Toto pruhování je způsobeno střídáním aktinových a myosinových myofilament. Myofilamenta tvoří takzvané myofibrily, které jsou základní stavební a funkční jednotkou svalového vlákna. Jsou základem kontraktálního aparátu svalu. Molekulární struktura myofiolament umožňuje klouzavý pohyb, díky němuž dochází k vzájemnému zasunutí aktinových a myosinových filament mezi sebe a tím zkrácení základní kontraktální jednotky (sarkomery).

Myofibrily jsou tvořeny řetězci na sebe navazujících sarkomer. Podle způsobu stáčení polarizovaného světla na sarkomeře rozlišujeme dva základní pruhy. Pruh A (anizotropní), který je v polarizovaném světle dvojlomný, se skládá z tlustých filament (například myosin). Středem těchto filament prochází bílkovina myomesin na OBR.: 10 označená jako M linie (Lüllmann-Rauch, 2012), která slouží k udržení myosinu v určité pozici (Mescher, 2010). Dále na sarkomeře rozlišujeme pruh I (izotropní), jež rovinu polarizovaného světla nestáčí a je složen z tenkých filament, například aktin. Na obou stranách je sarkomera ohraničena linií Z, která protíná tenká filamenta. Při kontrakci dochází ke zkrácení sarkomery, zasunutím jednotlivých filament mezi sebe se zkrátí izotropní pruh I, zatímco anizotropní pruh A zůstane nezměněn (Trojan, 2003).



**Obrázek 11.: Schematické uspořádání sarkomem: červeně myosin, černě aktin (upraveno podle Machové, 2002)**

Aktin a myosin nejsou jediná filamenta vyskytující se v kosterní svalovině, společně s tropomyosinem a troponinem však patří mezi čtyři základní. Aktin, troponin a tropomyosin se řadí mezi tenká filamenta, zatímco myosin je filamentum tlusté. Aktinové filamentum se skládá z dvoušroubovice tvořené globulárními monomery G-aktinu, na níž je každá otočka složená ze 14 monomerů aktinu. Jednotlivé monomery se spojují v předem určeném směru a dochází k vytvoření vláknitého polymeru F-aktinu, u něhož je možné určit polaritu. Analogicky tak lze určit polaritu aktinu i u sarkomer, v jejichž Z linii jsou jednotlivá aktinová vlákna ukotvena.

Každý G-aktinový monomer obsahuje místo, na něž se váže myosin. Myosin je téměř 2x silnější než aktin, jehož síla dosahuje 7nm. Myosinové vlákno je složeno z 250 molekul myosinu II (Trojan, 2003) a teoreticky je možné je rozdělit na „násadu“, krček a hlavičku, která obsahuje vazebné místo pro ATP a pro aktin. Z hlediska polarity v sarkomeře je myosin bipolární.

Tropomyosin a troponin jsou doprovodné proteiny aktinu, které slouží především k jeho stabilizaci a k regulaci svalové kontrakce (Lüllmann-Rauch, 2012). Vlákna tropomyosinu jsou dlouhá cca 40nm a složena ze dvou polypeptidických řetězců. Na vlákna tropomyosinu se váže troponin složený ze tří základních podjednotek, a to:

- Podjednotka TnT zodpovědná za navázání tropomyosinu
- Podjednotka TnI regulující interakci aktinu a myosinu
- Podjednotka TnC vážící ionty vápníku

### **Proces svalové kontrakce**

Svalová kontrakce neboli svalový stah, je reakcí svalu na nervové podráždění. Základem svalové kontrakce je interakce mezi myofilamenty aktinem a myosinem, v jejímž důsledku dochází k zasunutí fibril mezi sebe a tím zkrácení sarkomer. V relaxovaném stavu nemůže k interakci mezi aktinem a myosinem dojít, protože vazebná místa pro aktin jsou na myosinových hlavách blokována regulačními proteiny troponinem a tropomyosinem. Vlivem nervového podráždění však dochází k depolarizaci membrány a vyplavení  $\text{Ca}^{2+}$  iontů do cytosolu. Vápenaté ionty reagují s TnC podjednotkou troponinu, čímž způsobují změnu jeho prostorové konformace.

Vlivem této konformační změny dochází k odkrytí vazebných míst pro aktin na myosinové hlavě. V důsledku interakce mezi aktinem a myosinem dochází ke štěpení ATP, jehož energie je využita pro ohnutí hlavičky myosinu a tím zasunutí vláken aktinu dále do anizotropního pruhu sarkomery (Junquiera et al., 1999). K uvolnění vazby mezi aktinem a myosinem je zapotřebí další molekuly ATP. V případě, že v organismu dojde k vyčerpání všech zásob ATP, komplex aktinu a myosinu se stabilizuje a nastává rigor mortis (z latinského rigor = ztuhlost a mortis = smrt).

## 2) Hladká svalovina

Hladká svalovina, jinak také útrobní svalovina, patří mezi jeden ze tří základních typů svaloviny vyskytující se v těle. Podílí se na stavbě stěn téměř všech vnitřních orgánů, v závislosti na typu orgánu vytváří pruhy, vrstvy nebo protiběžné systémy (Lüllmann-Rauch, 2012). Výjimku tvoří srdce vybavené srdeční svalovinou a stěny kapilár, které jsou tvořeny endotelovými buňkami, bázální laminou a pericyty (Trojan, 2003).

Hladká svalovina se skládá z protáhlých buněk vřetenovitého tvaru. Nejsilnější je buňka ve středu v oblasti jádra a směrem ke koncům se zužuje. Buňky jsou uspořádány těsně na sobě tak, aby mezi nimi zbylo co nejméně volného místa. Na příčném průřezu proto můžeme pozorovat buňky o různém průměru. Na rozdíl od příčně pruhované svaloviny jsou buňky hladké svaloviny jednojaderné. Jádra jsou umístěna centrálně, většinou v nejširší části buňky (Junquiera et al., 1999). Buňky hladkého svalstva jsou také výrazně menší než buňky svalstva příčně pruhovaného, na šířku můžeme naměřit 2-5 $\mu$ m a na délku 50-500  $\mu$ m (Trojan, 2003).

Stejně jako příčně pruhovaná svalovina, i hladká svalovina je tvořena myofilamenty, konkrétně tenkými filamenti tvořenými aktinem a tropomyosinem a tlustými filamenti tvořenými myosinem. Tato filamenta však nejsou uspořádána do sarkomer, ale šikmo do mřížky (Junquiera et al., 1999). Z tohoto důvodu není na tkáni při pohledu světelným mikroskopem příčné pruhování patrné (Lüllmann-Rauch, 2012). Hladká svalovina se však vyznačuje celou řadou dalších rozdílů oproti svalovině příčně pruhované, jedním z nich je například absence troponinu nebo rozdílná podoba myosinu. Zatímco na myosinu příčně pruhované svaloviny se vyskytují pouze dvě hlavičky na koncích vlákna, na myosinu hladké svaloviny jsou hlavičky přítomny po

celé délce vlákna a na koncích chybí. Toto uspořádání myosinu v hladké svalovině umožňuje vyšší stupeň kontrakce než ve svalovině příčně pruhované (Junquiera et al., 1999).

### **Řízení hladké svaloviny**

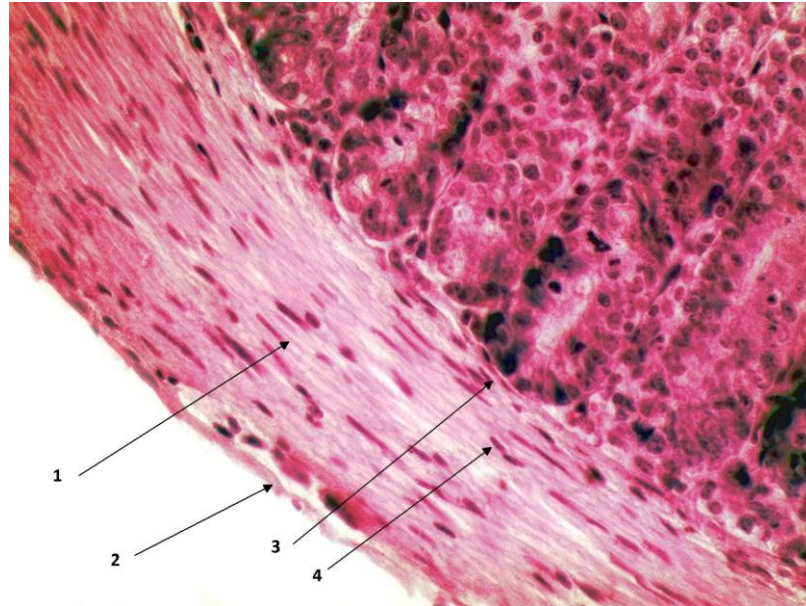
Na rozdíl od kosterní svaloviny není hladká svalovina ovladatelná vůlí, za inervaci odpovídá autonomní nervový systém, tedy sympatikus a parasympatikus, nebo hormony a lokální tkáňové faktory. Mezi hormony ovládající hladkou svalovinu patří například oxytocin, odpovědný za děložní stahy v průběhu porodu nebo za laktaci. Lokální tkáňové faktory ovlivňující hladkou svalovinu jsou například adenosin, deriváty kyseliny arachidonové nebo oxid dusnatý inhibující tonus. Tonus, neboli svalové napětí, je v určité míře přítomné v hladké svalovině nepřetržitě, na jeho řízení se však kromě výše zmíněného oxidu dusnatého podílí celá řada dalších mechanismů (Lüllmann-Rauch, 2012).

Hladkou svalovinu je možno podle způsobu inervace a přenosu elektrického signálu rozlišit na dva základní druhy, a to na jednotkový hladký sval a vícejednotkový hladký sval. Hlavní rozdíl mezi těmito dvěma typy hladké svaloviny spočívá v přítomnosti elektrických synapsí (gap junction, nexus) na buněčné membráně, což umožňuje tvorbu syncytia neboli funkčního soubunní (Trojan, 2003). Tento typ synapse umožňuje buňkám volný a rychlý přenos iontů a molekul menších rozměrů (Mareš, 2012). Dochází tak k postupné depolarizaci okolních buněk a k přenosu signálu. Na jedné buňce se může vyskytovat až 240 nexů. Tento typ jednotkové hladké svaloviny se vyskytuje především v orgánech gastrointestinálního traktu a v dutých orgánech. Vícejednotková hladká svalovina vzájemné propojení buněk elektrickými synapsemi postrádá. Na druhou stranu se vyznačuje výraznou inervací tkáně, čímž umožňuje jemné pohyby. Vyskytuje se například v duhovce oka (Junquiera et al., 1999).

### **Proces svalové kontrakce**

Princip kontrakce hladké svaloviny je obdobný principu kontrakce svaloviny příčně pruhované. Hlavní rozdíl procesu kontrakce u hladké svaloviny spočívá v absenci troponinu, jehož podjednotka je u příčně pruhovaného svalstva odpovědná za navázání  $\text{Ca}^{2+}$  a změnu konformace umožňující interakci mezi aktinovými a

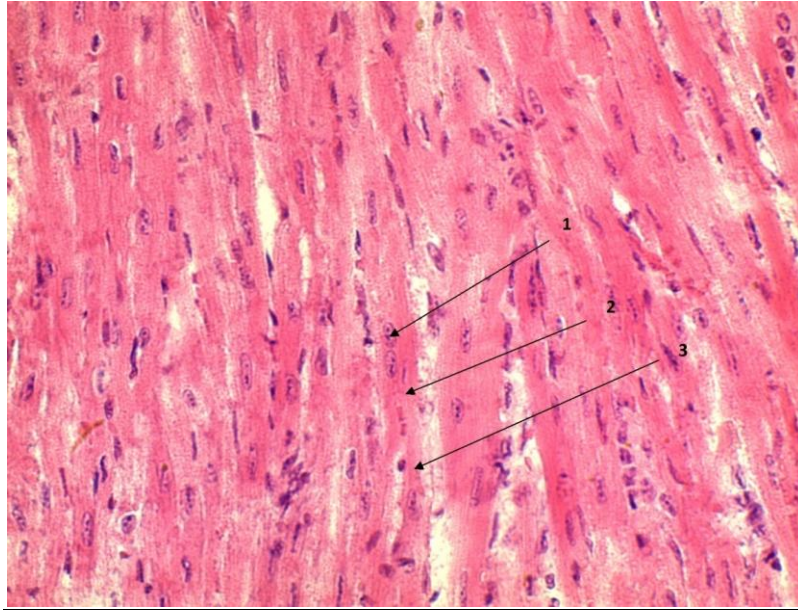
myosinovými filamenti. Obdobou troponinu je u hladkého svalstva kalmodulin, který váže  $\text{Ca}^{2+}$  a umožňuje fosforylaci myosinového vlákna. Teprve fosforylovaný myosin může interagovat s aktinem (Junquiera et al., 1999).



**Obrázek 12.: Příčný řez tlustým střevem se silnou vrstvou okružní hladké svaloviny (HE 400x):**  
1. hladká svalovina, 2. serosa, 3. submukosa, 4. jádro svalového vlákna

### 3) Srdeční svalovina

Jak již bylo řečeno výše, ač z části odlišná, se srdeční svalovina neboli myokard řadí mezi svalovinu příčně pruhovanou. Buňky srdeční svaloviny se nazývají kardiomyocyty a mají válcovitý tvar o rozměrech  $100\ \mu\text{m}$  na  $15\ \mu\text{m}$ . Na rozdíl od příčně pruhované svaloviny obsahují jedno, maximálně dvě jádra, která jsou umístěná ve středu buňky stejně jako u hladké svaloviny (Lüllmann-Rauch, 2012). Na úrovni buněčných organel tvoří další významný rozdíl množství mitochondrií, které je v srdeční svalovině až 20x vyšší, než ve svalovině kosterní. Toto množství je přičítáno zvýšenému aerobnímu metabolismu (Junquiera et al., 1999). Jako poslední výraznou odlišnost srdeční svaloviny je nutno zmínit přítomnost interkalárních disků, které slouží jako spojovací články mezi jednotlivými buňkami. Rozlišujeme dva základní tvary těchto disků, které je možno pozorovat ve světelném mikroskopu, přímý a schodovitý (Lüllmann-Rauch, 2012).



**Obrázek 13.: Srdeční svalovina na podélném řezu srdcem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 400x):**  
1. jádro svalového vlákna, 2. interkalární disk, 3. myofybrila

#### 4.2.4. Oběhová soustava

Základ oběhové soustavy tvoří srdce, které slouží jako čerpadlo pohánějící krev jejím řečištěm tvořeným sítí tepen a kapilár, které rozvádí krev do všech tělních částí a žil, které ji vedou zpět k srdci. Je tak vytvořen uzavřený systém oběhu krve, který dosahuje dokonalosti u zástupců ptáků a savců, zejména díky oddělenému systému plicního a tělního oběhu (Paleček, 1987).

#### Srdce

Srdce (*cor* nebo *cardia*) je dutý orgán umístěný v dutině hrudní, tvořící hnací motor oběhové soustavy. Makroskopicky jej můžeme rozdělit na čtyři základní části: pravou a levou komoru a pravou a levou síň (Kittnar, 2003). Předěl síní a komor je tvořen vazivovým srdečním skeletem, který také vytváří základ srdečních chlopní a úponů kardiomyocytů (Junqueira et al., 1999). Stěny jednotlivých dutin se vyznačují výrazně odlišnou silou stěn. Obě síně mají relativně tenkou stěnu, přičemž levá síň má stěnu tenčí než síň pravá (Kittnar, 2003). Rozdíl v tloušťce svaloviny je patrný i mezi komorami, zatímco myokard pravé srdeční komory je široký 4mm, myokard levé komory dosahuje až 14 mm (Lüllmann-Rauch, 2012).

Stěna srdce je tvořena třemi vrstvami: endokardem, myokardem a epikardem. Vazivový obal srdce se nazývá perikard (osrdečník). Endokard vytváří vnitřní výstelku jak dutiny srdeční, tak veškerých chlopní. Je tvořen jednou vrstvou endotelových buněk a subendotelovým vazivem, které se skládá z kolagenních a elastických vláken a částečně také z hladkého svalstva. Přejechod mezi endokardem a myokardem je tvořen vrstvou subendokardového vaziva, jehož síla závisí na poloze, kterou v srdci zaujímá. Například papilární svaly a šlašinky subendokardovou vrstvou zcela postrádají (Lüllmann-Rauch, 2012). Význam tohoto vaziva spočívá v jeho obsahu, jedná se o místo průchodu cév, nervů a Purkyňových vláken (Junqueira et al., 1999).

Srdeční svalovina neboli myokard (viz 5.2.3. Srdeční svalovina) tvoří nejsilnější vrstvu srdeční stěny. Je uspořádán do jednotlivých vrstev, které jsou z části ukotvené v srdečním skeletu tvořeným tuhým vazivem (Junqueira et al., 1999). Srdeční svalovina je bohatě prokrvena kapilární sítí, která svalovinou prochází souběžně s jednotlivými buňkami (Lüllmann-Rauch, 2012).

Epikard je serózní<sup>10</sup> vrstva na povrchu myokardu. Skládá se z mesothelu a tenké vrstvy vaziva. Mezi perikardem a myokardem se nachází subepikardová vazivová vrstva bohatá na tukovou tkáň obsahující cévy a nervy (Lüllmann-Rauch, 2012).

Perikard neboli osrdečník vytváří pevný vazivový obal srdce. Jeho hlavní funkcí je ochrana srdce před náhlým roztažením nebo přetížením. Skládá se ze dvou vrstev, jednovrstevného plochého epitelu a vaziva. Mezi perikardem a epikardem se nachází dutina vyplněná tekutinou usnadňující jejich vzájemný pohyb (Lüllmann-Rauch, 2012).

Poslední výše zmíněnou strukturou jsou srdeční chlopně. Jejich základ je tvořen tuhým vazivem fibrosou, ukotveným v srdečním skeletu, a řídkým vazivem spongiosou. Povrch chlopní je kryt vrstvou endotelových buněk. Chlopně v srdci zaujímají nezastupitelnou funkci, jejich úkolem je usměrnit a zabránit zpětnému toku krve. Na rozhraní síní a komor se nacházejí chlopně cípate a na místě odstupu srdečních cév se nacházejí chlopně poloměsíčité (Lüllmann-Rauch, 2012).

Srdce je orgánem, pro který je typická vlastní automacie a rytmicita (Machová, 2002). Zdrojem impulsů zodpovídajícím za srdeční stahy je především převodní systém srdeční, který se skládá z několika částí, jmenovitě ze sinusového uzlu, atrioventrikulárního uzlu, Hisova svazku a Purkyňových vláken (Lüllmann-Rauch, 2012), ale také autonomní nervový systém tvořený sympatickými a parasympatickými vlákny, zodpovídajícími za rychlost srdeční frekvence (Junqueira et al., 1999).

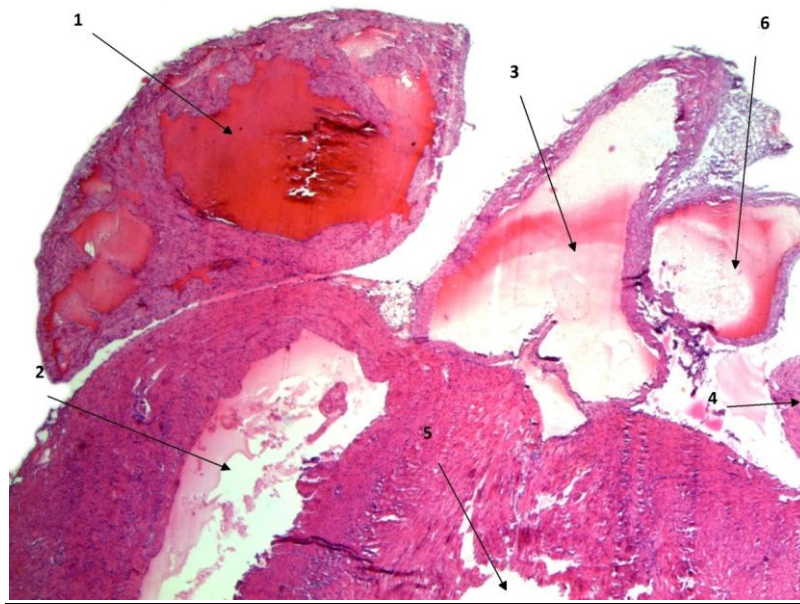
Sinusový uzel (*nodus sinuatrialis* nebo také Keith – Flackův uzel) je primárním zdrojem rytmicity srdce. Uložen je v místě vstupu horní duté žíly (*v. cava superior*) do pravé síně. Dochází v něm k tvorbě vzruchů způsobujících rytmické smršťování myokardu síní. Přenos vzruchu po tkáni je umožněn přítomností elektrických synapsí na membránách kardiomyocytů. Tyto vzruchy jsou vedeny do další části převodního systému srdečního, do atrioventrikulárního uzlu (*sinus atrioventricularis* neboli Tawar – Aschoffův uzel). Tento uzel se nachází ve stěně pravé předsíně, nad okrajem trojcípé chlopně, a jeho činnost je podřízena činnosti uzlu sinusového (Lüllmann-Rauch, 2012). Z atrioventrikulárního uzlu přechází vzruch na tzv. Hisův svazek tvořený Purkyňovými vlákny. Tento svazek prochází srdečním skeletem a vytváří jediné vodivé spojení mezi srdečními síněmi a komorami. Dále se dělí na pravé a levé Tawarovo raménko. Levé

---

<sup>10</sup> Seróza je tenká lesklá blána, která tvoří výstelku některých tělesných dutin.



raménko se dále dělí na dva svazky, které se skrze subendotelovou vrstvu dostávají až k srdečnímu hrotu, jež inervují (Jungueira et al., 1999).



**Obrázek 14.: Podélný řez srdcem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 40x):**  
1. pravá síň, 2. pravá komora, 3. aorta, 4. levá síň, 5. levá komora, 6. plicní tepna.

#### 4.2.5. Dýchací soustava

Dýchací soustava je funkčně spojena se soustavou oběhovou. V tělech živočichů zaujímá nezastupitelnou úlohu, která spočívá v transportu dýchacích plynů ( $O_2$  a  $CO_2$ ) z vnějšího prostředí do těla. Tato výměna probíhá ve dvou základních stupních. První stupeň představuje vnější dýchání, které se skládá z výměny plynů mezi vnějším prostředím a krví. Dalším stupněm je pak dýchání vnitřní, při kterém dochází k výměně rozpuštěných plynů mezi krví a jednotlivými tkáněmi (Hach et al., 2003).

Dýchací soustavu savců lze rozdělit na dvě základní části: horní cesty dýchací a dolní cesty dýchací. Horní cesty dýchací se skládají z dutiny nosní (*cavum nasi*), vedlejších dutin nosních (*sinus paranasales*) nosohltanu (*nasopharynx*) a hltanu (*pharynx*). Ontogeneticky souvisí vznik této části dýchací soustavy se vznikem dutiny ústní, vyvíjejí se ze společného základu v obličejové části embrya (Machová, 2002).

Dolní cesty dýchací se skládají z hrtanu (*larynx*), průdušnice (*trachea*), průdušek (*bronchi*) a průdušinek (*bronchioli*). Rozlišovacím znakem mezi průduškami a průdušinkami je přítomnost nebo nepřítomnost chrupavky a seromucinosních žláz (produkují antibakteriální látky a muciny, které tvoří hlenovitou vrstvu na povrchu sliznice) v jejich stěnách (Lüllmann-Rauch, 2012). Ontogenetický původ této části dýchací soustavy a plic souvisí se vznikem soustavy trávicí. Embryonálně vzniká jako vychlípenina trávicí trubice (Machová, 2002).

Velká část dýchacích cest je zpevněna chrupavkou, elastickými a vazivovými vlákny a hladkou svalovinou. Dochází tak k zajištění jednak pevnosti a jednak ohebnosti dýchacích cest, toto uspořádání je nutné k udržení trvalé průchodnosti cest (Junqueira et al., 1999). Hlavní funkcí dýchacích cest je ohřívání a zvlhčování vdechovaného vzduchu a odstraňování nečistot (Lüllmann-Rauch, 2012).

K odstraňování nečistot z dýchacích cest slouží celá řada obranných mechanismů, například mukociliární čistící mechanismus. Podstatou tohoto mechanismu je přítomnost řasinkových buněk v epitelu a vrstva hlenu na povrchu sliznice. Většina nečistot, které se dostávají do dýchacích cest, je zachycena hlenem, který je kmitavým pohybem řasinek přesouván směrem k hltanu. V hltanu pak dochází k jeho polknutí nebo vykašlání (Lüllmann-Rauch, 2012).

Stěny dýchací soustavy vystýlá více než jeden typ epitelu. Mezi epitely dýchací soustavy se v sestupném pořadí řadí:

- víceřadý cylindrický epitel s řasinkami – horní cesty dýchací až po středně velké průdušky
- jednovrstevný dlaždicový epitel s řasinkami – průdušky o malém průsvitu
- jednovrstevný cylindrický epitel s řasinkami – místo větvení průdušek
- kubický epitel – průdušinky (Junqueira et al., 1999; Lüllmann-Rauch, 2012)

## **Plíce**

Vlastním dýchacím orgánem dýchací soustavy jsou plíce (*pulmones*). Ontogeneticky vznikají vchlípením stěny předního střeva (Lüllmann-Rauch, 2012). Jedná se o párový orgán uložený v dutině hrudní, krytý poplicnicí (*pleura pulmonalis*). V oblasti plicního hilu (místo vstupu průdušek do plic) přechází poplicnice v pohrudnici (*pleura parietalis*), která vystýlá hrudník a vytváří tak pleurální štěrbinu obsahující tekutinu, která omezuje tření obou povrchů (Junqueira et al., 1999). Obě vazivové blány jsou tvořeny kolagenním vazivem s elastickými vlákny. Pohrudnice navíc obsahuje větší množství tukových buněk (Hach, 2003).

V oblasti hilu dochází ke vstupu průdušek do plic, v nichž se nadále větví v takzvaný bronchiální strom. Od průdušnice až po plicní sklípky se bronchiální strom u člověka rozvětví 21 – 23x. Lüllmann-Rauch (2012) rozlišuje celkem sedm částí bronchiálního stromu s různým průsvitem: segmentované bronchy, střední, malé a nejmenší bronchy (5mm), bronchioly (méně než 1mm), bronchioli terminales (0,4mm), bronchioli respiratorii, ductuli alveolares a sacculi alveolares.

Stěna jednotlivých bronchů je složena ze čtyř vrstev: sliznice, hladké svaloviny, chrupavky a peribronchiálního vaziva. Peribronchiální vazivo vytváří souvislou vrstvu okolo celého bronchiálního stromu (Lüllmann-Rauch, 2012). V této vrstvě prochází veškeré krevní a mízní cévy a nervy.

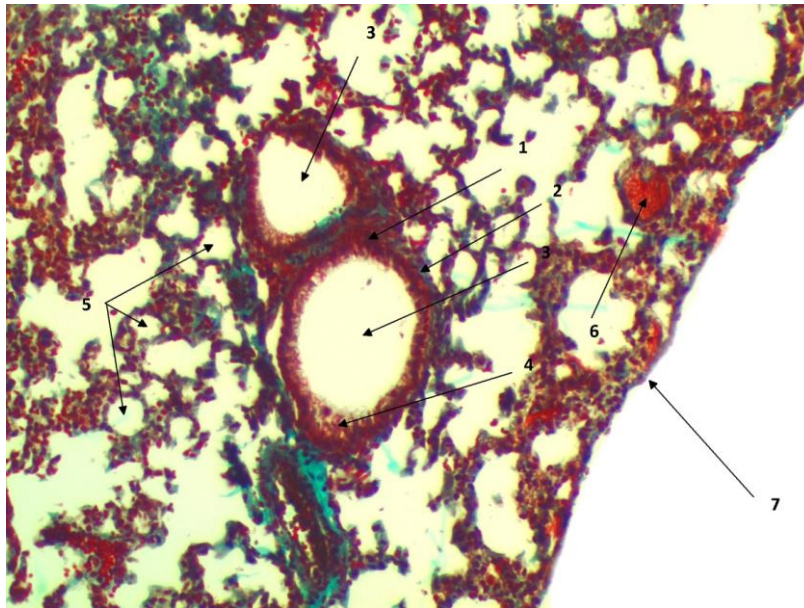
Hladká svalovina vytváří okolo bronchů a bronchiolů souvislou vrstvu křížících se spirálně uspořádaných svazků, která způsobuje jejich stahy a smrštění sliznice

v podélné řase (Hach, 2003). Mezi svalovou a chrupavčitou vrstvou se vyskytují bronchiální žlázy produkující antibakteriální látky a muciny, které vytváří hlenový povlak respiračního epitelu (Lüllmann-Rauch, 2012). Chrupavky ve stěně bronchů ztrácejí prstěncitý tvar, ale mají podobu nepravidelných destiček. Směrem k bronchiolům chrupavčitá tkáň postupně ubývá, až úplně mizí. Současně se také mění podoba chrupavky z hyalinní na elastickou (Hach, 2003).

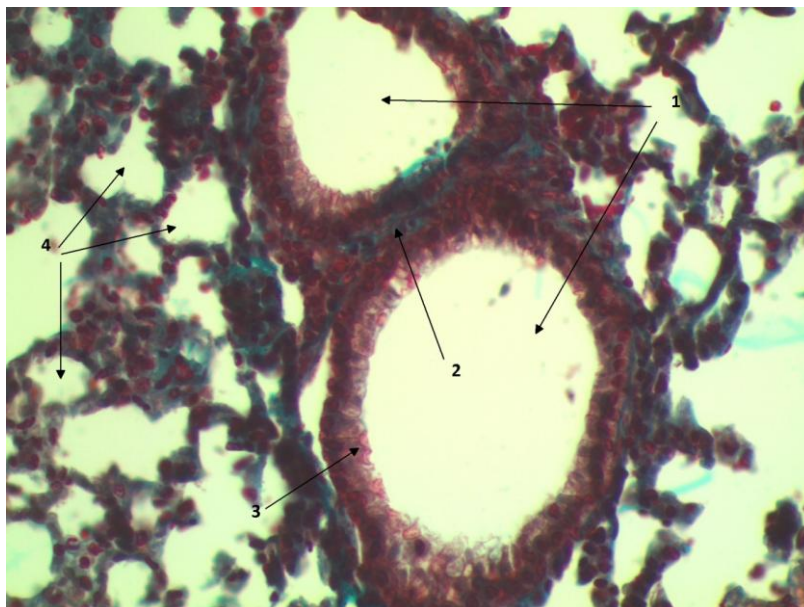
Jak již bylo řečeno výše, stěna bronchiolů postrádá chrupavčitou vrstvu, mimo jiné zde však také chybí žlázy. Na druhou stranu hladká svalovina zde vytváří poměrně silnou vrstvu (Lüllmann-Rauch, 2012). Lumen bronchiol je vystláno víceřadým cylindrickým epitelem, který se snižujícím se průsvitem bronchiol postupně přechází v jednořadý cylindrický epitel až v epitel kubický (Junqueira et al., 1999).

Ve stěnách bronchiol respiratorii jsou vytvořeny plicní sklípky (*alveoly*), ve kterých nastává výměna dýchacích plynů difuzí mezi vnějším prostředím a krví. Vnitřní stěna je tvořena kubickým řasinkovým epitelem, pod nímž je vrstva hladké svaloviny a elastických vláken (Junqueira et al., 1999). Na respirační bronchioly navazují ductus alveolares a sacculi alveolares, jejichž stěny jsou tvořeny na sebe přiléhajícími alveolami.

Plicní sklípky jsou zodpovědné za houbovitou strukturu plic (Junqueira et al., 1999). U dospělého člověka se jich v obou plicích nachází dohromady asi 300 milionů, přičemž zaujímají plochu až  $140\text{m}^2$  (Lüllmann-Rauch, 2012). Stěna alveolů je tvořena interalveolárními septy, jimiž prochází kapilární síť. Na průřezu je septum složeno ze dvou vrstev dlaždicovitého epitelu, kapiláry, fibroblastů a elastických a kolagenních vláken. Bariéra mezi krví a vzduchem činní v alveolách asi  $0,1 - 1,5\mu\text{m}$  (Junqueira et al., 1999), také díky tomu může docházet přes stěnu k difuzi plynů. Na povrchu alveolů je přítomen plicní surfaktant, tekutina vylučovaná alveolárními buňkami, která snižuje povrchové napětí alveolů a umožňuje tak rozvinutí plic při nádechu. Nepřítomnost tohoto surfaktantu je typická pro předčasně narozené děti, u kterých se proto vyskytuje takzvaný syndrom dechové tísně novorozenců. Buňky zodpovědné za produkci surfaktantu nejsou funkční před 35. týdnem těhotenství, proto se u nedonošených dětí musí podávat uměle (Lüllmann-Rauch, 2012).



**Obrázek 15.: Řez plicí myši domácí (*Mus musculus*) (MT 200x):**  
 1. hladká svalovina, 2. chrupavka, 3. průduška, 4. respirační epitel,  
 5. plicní sklípky, 6. plicní tepna, 7. poplicnice



**Obrázek 16.: Řez plicí myši domácí (*Mus musculus*) (MT 400x):**  
 1. průdušky, 2. chrupavka, 3. respirační epitel, 4. plicní sklípky

#### 4.2.6. Centrální nervová soustava

V této kapitole budou popsány vybrané útvary centrální nervové soustavy krysy potkana (*Rattus norvegicus*). Trvalý histologický preparát mi byl laskavě zapůjčen z výukových sbírek Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

##### 1) Mozeček

Mozeček (*cerebellum*) se nachází nad prodlouženou míchou (*medulla oblongata*) a Varolovým mostem (*pons Varoli*) (Machová, 2002). Je centrem koordinace a jemné motoriky. Je tvořen dvěma hemisférami, jež jsou vzájemně spojeny červem (*vermis*). Zjednodušeně se skládá z šedé hmoty na povrchu a bílé hmoty uvnitř. Šedá hmota vytváří kůru mozečku, která je přibližně 1mm silná. Stejně jako u neokortexu, i na ní dochází k tvorbě brázd (*sulci*), které zvětšují povrch mozečku. Tato oblast je vývojově nejdokonalejší a analogicky se nazývá *neocerebellum* (Paleček, 1987). V kůře mozečku můžeme rozlišit tři vrstvy: molekulární vrstva (*stratum moleculare*), vrstvu Purkyňových buněk (*stratum purkynjense*) a granulární vrstvu (*stratum granulosum*) (Lüllmann-Rauch, 2012). Šedá kůra také vytváří jádra, která jsou umístěna v bílé hmotě mozečku.

Molekulární vrstva mozečku je tvořena různými typy nervových buněk. Jedná je jednak o hvězdicovité buňky ležící blíže k povrchu mozečku a jednak o buňky košíčkové, které leží ve spodních částech molekulární vrstvy a rozměrově jsou větší než buňky hvězdicovité (Paleček, 1987). Významný podíl na stavbě této vrstvy má také síť dendritů Purkyňových buněk (Lüllmann-Rauch, 2012).

Jak již název napovídá vrstva Purkyňových buněk je složená především z těchto buněk. Obsahuje však také gliové buňky typické pro mozeček (Bergmannovy glie) (Lüllmann-Rauch, 2012).

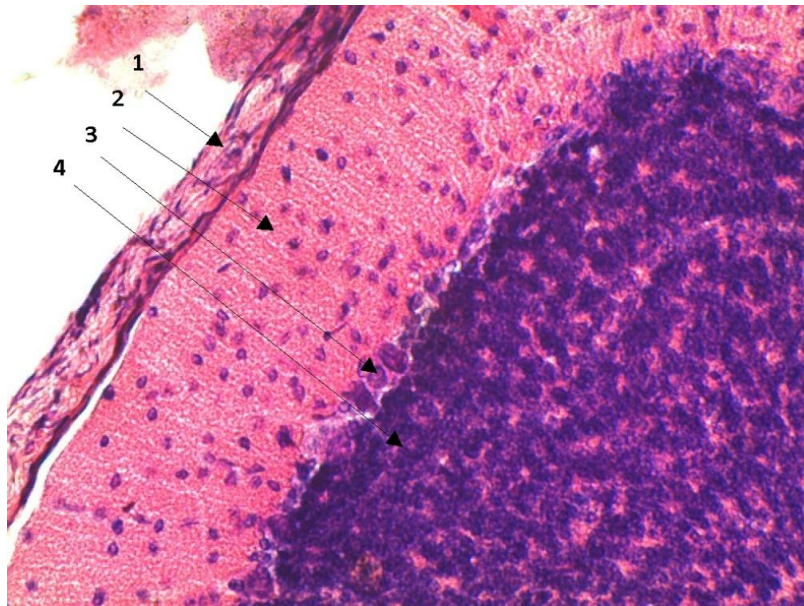
Poslední vrstvou, která se podílí na tvorbě kůry mozečku, je granulární vrstva skládající z velkého množství malých granulárních buněk. Tyto buňky mají v průměru velikost 5 $\mu$ m a jedná se proto o nejmenší buňky nacházející se v lidském těle. Z těla těchto buněk vystupuje jeden axon a cca 3-6 dendritů. Dále se v granulární vrstvě nacházejí Purkyňovy buňky, které se větví (Junqueira et al., 1999).



Bílá hmota mozečku je tvořená myelizovanými pochvami nervových vláken, které jsou součástí odstředivých a dostředivých drah. V bílé hmotě se také nacházejí mozečková jádra (Paleček, 1987).



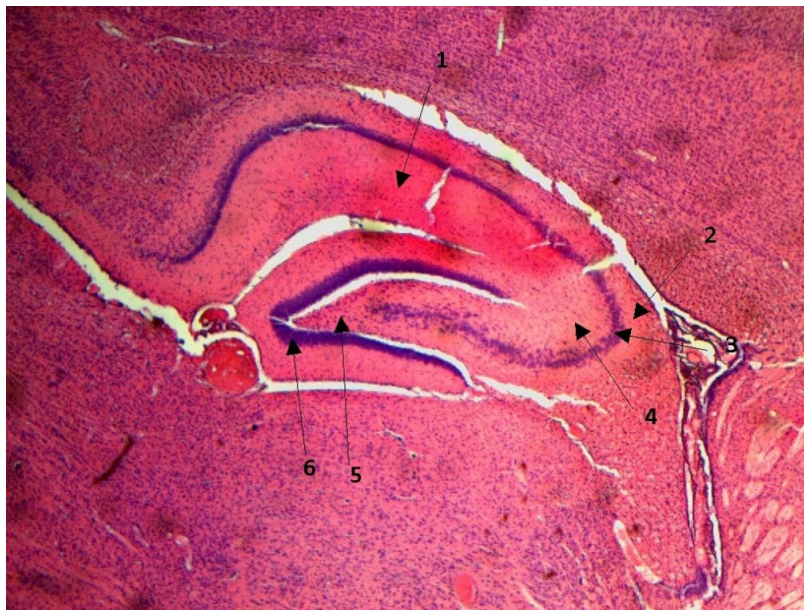
**Obrázek 17.:** Příčný řez mozečkem krysy potkana (*Rattus norvegicus*) (HE 4x) (zapůjčeno z výukových sbírek PŘF UK v Praze): 1. plena, 2. bílá hmota, 3. molekulární vrstva kůry mozečku, 4. granulární vrstva kůry mozečku



**Obrázek 18.:** Příčný řez mozečkem krysy potkana (*Rattus norvegicus*) (HE 400x) (zapůjčeno z výukových sbírek PŘF UK v Praze): 1. plena, 2. molekulární vrstva kůry mozečku, 3. vrstva Purkyňových buněk, 4. granulární vrstva kůry mozečku

## 2) Hipokampus

Hipokampus je jednou ze součástí limbického systému, který se nachází v koncovém mozku (*telencephalon*). Části limbického systému zasahují jednak do korových oblastí mozku (orbitofrontální oblast, gyrus cinguli, hippocampus, parahippocampální gyrus, gyrus pyriformis), ale také do oblastí podkorových (septum, amygdala, hypotalamus a přední talamus), a vytváří tak jeden z nejsložitějších integračních systémů v mozku. V limbickém systému dochází ke vzniku emocí, jako je například radost, zlost nebo strach, zároveň také zodpovídá za přenos informací z krátkodobé do dlouhodobé paměti. Právě k přenosu informací dohází v hippocampu. Hipokampus je dále zodpovědný za zpracování informací přicházejících z mozkové kůry a dalších oddílů limbického systému. Vývojově pravděpodobně patřil k čichovému analyzátoru mozku (Pokorný, Langmeier, 2003).



**Obrázek 19.:** Příčný řez hipokampem krysy potkana (*Rattus norvegicus*) (HE 100x) (zapůjčeno z výukových sbírek PŘF UK v Praze) (popsáno podle Wouterlood, 2008): 1. stratum moleculare, 2. stratum oriens, 3. stratum pyramidale, 4. stratum radiatum, 5. hilus, 6. vrstva garnulárních buněk



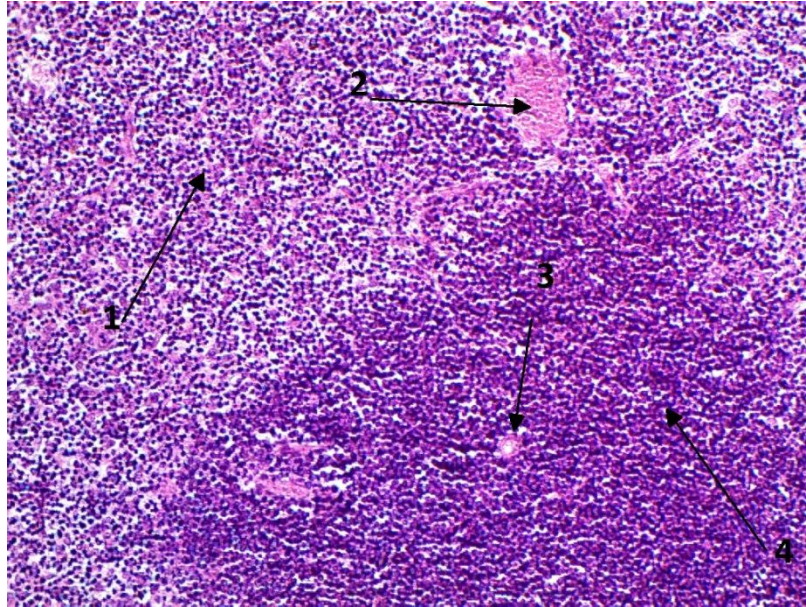
#### 4.2.7. Mízní soustava

##### 1) Brzlík

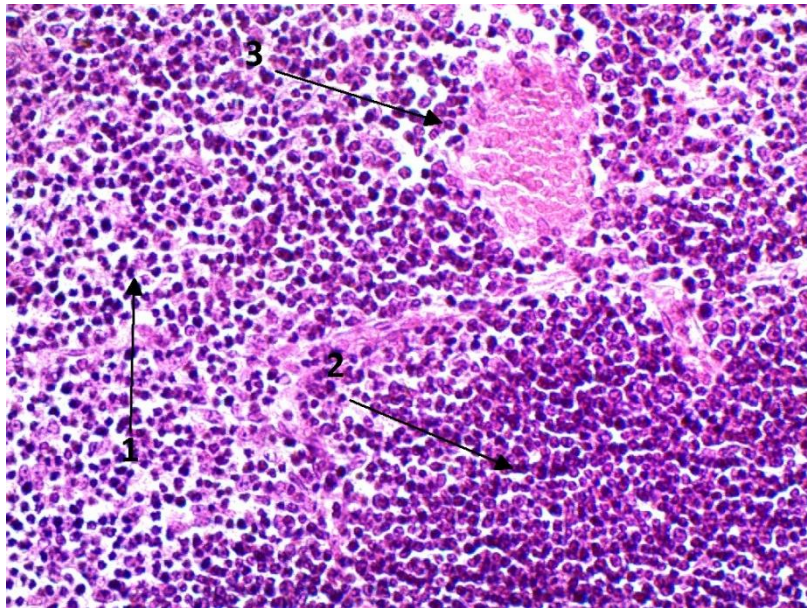
Brzlík (*thymus*) se řadí mezi centrální lymfatické orgány. Funkcí brzlíku je produkce lymfocytů. Uložen je v dutině hrudní za hrudní kostí (*sternum*). Povrch brzlíku je kryt vazivový pouzdrem, které proniká do nitra orgánu a rozděluje jej septy na jednotlivé lalůčky (*lobuly*). Společně se septy prochází brzlíkem cévy zajišťující jeho krevní zásobení. V každém lalůčku můžeme pozorovat dvě základní složky: dřeň (*medulla*) a kůra (*cortex*).

Kůru můžeme ve světelném mikroskopu od dřene odlišit na první pohled podle barvy. Obsahuje velké množství T-lymfocytů, roztroušených epitelových retikulárních buněk a makrofágů. Získává tak tmavou barvu. Na druhou stranu ve dřeni epiteliální retikulární buňky převládají a proto má dřeň barvu světlejší. Ve dřeni můžeme také ve světelném mikroskopu rozpoznat takzvaná Hassalova tělíska různé velikosti. Tato tělíska se skládají z epitelových buněk uspořádaných do kruhu. V případě, že tělísko přesáhne určitou velikost, dochází k zániku kruhového uspořádání a vzniká homogenní tělísko. Jejich funkce není dodnes uspokojivě vysvětlena, se zvyšujícím věkem však dochází k jejich růstu.

V průběhu života postupně dochází k degradaci a zániku tohoto orgánu, přesto i ve vysokém věku jsou zbytky této tkáně v těle přítomny. K postupné degradaci dochází od nástupu puberty, přičemž největší úbytek postihuje kůru, která je postupně nahrazována tukovým vazivem. Dřeň je většinou zachována v podobě souvislého pásu (Lüllmann-Rauch, 2012). Degradace brzlíku je ovlivňována některými hormony. Největší vliv na ni má adrenokortikotropní hormon (ACTH) vylučovaný předním lalokem hypofýzy (*adenohypofysa*) nebo pohlavní hormony. Naopak růst brzlíku je stimulován u jedinců po kastraci nebo hormonem somatotropinem (STH) vylučovaným předním lalokem hypofýzy (*neurohypofysa*) (Junqueira et al., 1999).



Obrázek 20.: Řez brzlíkem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 200x):  
1. dřeň, 2. Hasslerovo tělísko, 3. céva, 4. kůra



Obrázek 21.: Detail řezu brzlíkem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 400x):  
1. dřeň, 2. kůra, 3. Hasslerovo tělísko

## 2) Slezina

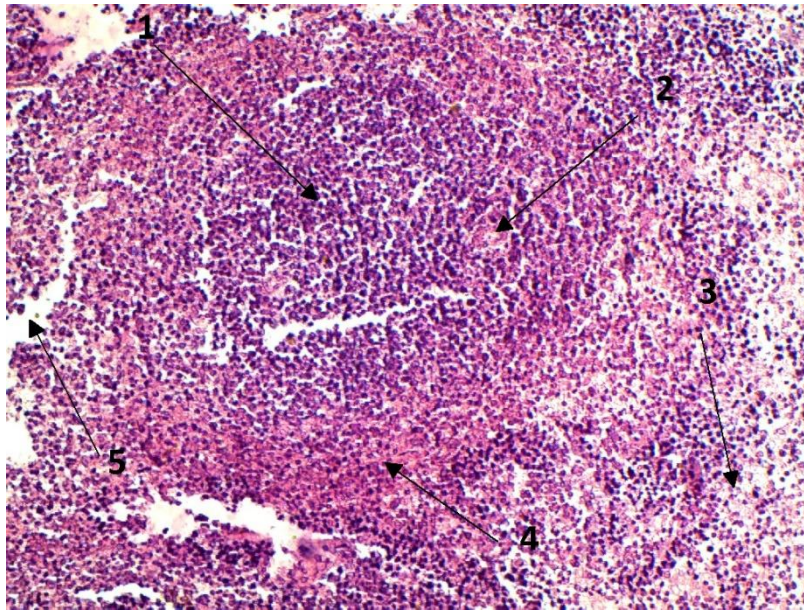
Slezina (*lien*) se nachází intraperitoneálně v levé brániční klenbě (Lüllmann-Rauch, 2012). Jedná se o orgán, který je součástí jednak oběhové a jednak mízní soustavy (Paleček, 1987). Slezina má několik funkcí: obrana organismu, produkce lymfocytů, destrukce červených krvinek (*erytrocytů*) a zásobárna krve (Junqueira et al., 1999). Z histologického hlediska se jedná o tkáň podobnou lymfatické uzlině (Paleček, 1987), představuje největší lymfatickou tkáň v těle.

Na povrchu je slezina kryta pevným vazivovým obalem, který vstupuje do nitra orgánu a vytváří vazivové trámce (*trabekuly*), které rozdělují dřev (pulpa) do husté sítě. Dřev je již při pohledu světelným mikroskopem dobře rozlišitelná na dva základní druhy: červenou a bílou (Paleček, 1987).

Bílá pulpa se skládá ze tří základních složek: periarteriální lymfatické pochvy (viz níže), lymfatických uzlíků a marginální zóny, která tvoří přechodnou hranici mezi bílou a červenou dřev. Vyskytují se v ní jak B-lymfocyty, tak i T-lymfocyty a u potkana je navíc oddělena krevními sinusy (Lüllmann-Rauch, 2012).

Červená pulpa je tvořena dřevnými provazci a venosními sinusy. Obsahuje také velké množství makrofágů, které jsou zodpovědné za fagocytózu poškozených nebo starých červených krvinek (Lüllmann-Rauch, 2012).

Součástí vazivových trámců jsou krevní cévy (trabekulární arterie), mízní cévy a nervy. Trabekulární arterie vystupují z vazivových trámců v oblasti bílé pulpy jako arterie bílé pulpy (*arteriae centrales*) a dále se větví. V oblasti bílé pulpy jsou arterie obaleny lymfocyty, které vytvářejí periarteriální lymfatickou pochvu. Po vstupu do červené pulpy cévy vytvářejí *arteriae penicillatae*, které jsou zakončeny pochvou z retikulárních buněk, lymfoidních buněk a makrofágů (Junqueira et al., 1999). Dále vstupují do venosních sinusů (Lüllmann-Rauch, 2012).



**Obrázek 22.: Řez slezinou myši domácí (*Mus musculus*) (HE 200x):**  
1. bílá pulpa, 2. arterie, 3. červená pulpa, 4. marginální zóna, 5. sinus

#### 4.2.8. Krycí soustava

Kůže (*cutis*) pokrývá celé tělo na ploše 2m<sup>2</sup> a je největším orgánem lidského těla, tvoří cca 16% z celkové hmotnosti těla (Junqueira et al., 1999). Skládá ze tří vrstev: pokožky (*epidermis*), škály (*dermis*) a podkožního vaziva (*hypodermis*). Její tloušťka se liší podle polohy na těle, nejtenčí je kůže v oblasti očních víček a nejtlustší je naopak na chodidlech (Machová, 2002). Kůže zastává celou řadu životně důležitých funkcí. Machová (2002) ve své práci uvádí následující funkce:

- Funkce ochranná (před vlivy vnějšího prostředí, zejména před chemickými a fyzikálními vlivy a před proniknutím cizorodých látek do těla)
- Funkce vylučovací (tvorba potu a kožního mazu)
- Funkce laktační
- Zásobárna krve
- Funkce termoregulační
- Funkce syntetická (tvorba vitamínu D)
- Funkce zásobní (v podkožní vrstvě kůže je přítomný tuk, který funguje jako zásobárna energie)
- Funkce vstřebávací
- Funkce percepční (přítomnost kožních čidel)

Pro kůži a krycí soustavu je typická tvorba derivátů. Mezi kožní deriváty, jedná se především o deriváty epidermis, patří vlasy, chlupy a nehty (Lüllmann-Rauch, 2012).

##### 1) Pokožka (*epidermis*)

Pokožka neboli *epidermis* je povrchovou vrstvou kůže ektodermálního původu. Je složena ze čtyř vrstev, v nichž se nacházejí čtyři základní typy buněk: keratinocyty, melanocyty, Langerhansovy buňky a Merkelovy buňky (Lüllmann-Rauch, 2012). V epidermis chybí cévní zásobení krví, proto je výživa zajišťována prostřednictvím difuze živin ze škály (Paleček, 1987).

Keratinocyty vytvářejí jednak rohovějící vrstevnatý dlaždicový epitel na povrchu pokožky a jednak se vyskytují živé, v hlubších vrstvách pokožky. Odumřelé buňky na povrchu jsou postupně obrušovány a posléze nahrazovány rohovějícími



buňkami ze spodních vrstev. Buňky téhož typu se tak v pokožce vlastně vyskytují v různých stádiích diferenciaci (Lüllmann-Rauch, 2012).

Melanocyty jsou specializované buňky vyskytující se ve spodních vrstvách pokožky, které jsou zodpovědné za pigmentaci kůže. Ve specializovaných organelách melanosomech dochází k syntéze hnědého pigmentu melaninu, který pohlcuje UV záření a chrání tak mitoticky aktivní buňky kůže před jeho škodlivými účinky (Lüllmann-Rauch, 2012). Vlivem UV záření dochází u člověka k ztmavnutí kůže. Změna barvy je způsobena jednak ztmavnutím již existujícího melaninu přítomného v pokožce a jednak zvýšením jeho produkce melanocyty (Junqueira et al., 1999). Jeden melanocyt syntetizuje melanin určený pro 36 keratinocytů a vytváří tak epidermovou melaninovou jednotku (Lüllmann-Rauch, 2012). Melanin je keratinocytům předáván endocytózou (Martínek, 2009).

Langerhansovy buňky zajišťují imunitní odpověď. Jedná se o buňky schopné vázat cizorodé částice (antigeny). Navázané antigeny přenášejí tyto buňky do nejbližší lymfatické uzliny, kde dochází k jejich kontaktu s T lymfocyty. Vývojově mají Langerhansovy buňky původ v kostní dřeni a jsou blízké makrofágům (Junqueira et al., 1999).

V kůži se nachází mechanoreceptory, které mají percepční funkci. Mezi tyto mechanoreceptory patří Merkelovy buňky (Junqueira et al., 1999). Jsou spojeny se zakončením aferentních nervových drah (Martínek, 2009).

## 2) Škára (*dermis*)

Škára neboli *dermis* je kožní vrstvou vyskytující se mezi epidermis a hypodermis. Embryonálně se vyvíjí z mezenchymu (Jelínek, nedatováno). Ve škáře rozlišujeme dvě vrstvy, jejichž rozhraní není příliš patrné. Jedná se o vnější papilární dermis (*stratum papillare*) a vnitřní retikulární dermis (*stratum reticulare*).

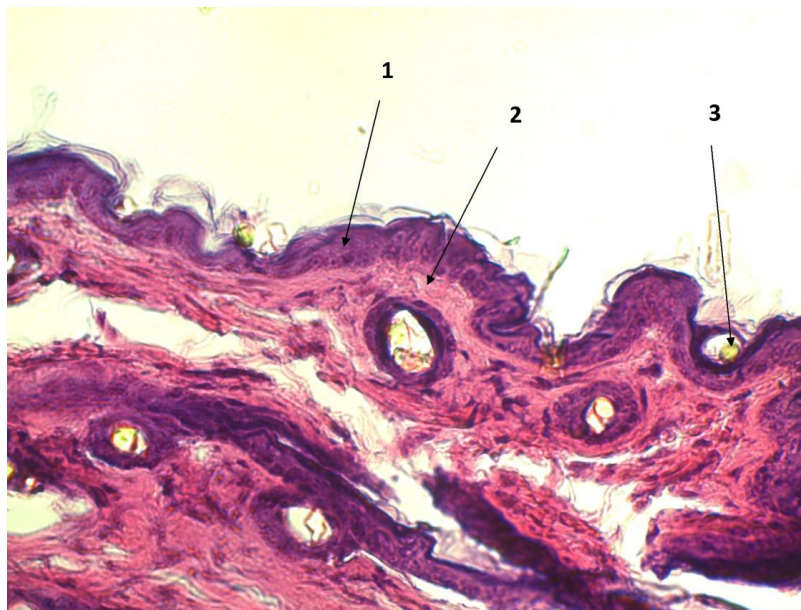
Papilární vrstva dermis je složená z řídkého vaziva, kolagenních a elastických vláken a makrofágů (Lüllmann-Rauch, 2012). Svůj název získala tato vrstva díky papilám, které tvoří a které vyplňují prostory vytvořené zprohýbanou spodní vrstvou pokožky (Paleček, 1987). Každá z těchto papil je zásobena kapilárou a inervována (Lüllmann-Rauch, 2012). Tuto inervaci zajišťují jednak volná nervová zakončení

reagující na bolest a jednak specializovaná tělíska (Martínek, 2009). Mezi specializované receptory přítomné v této vrstvě dermis se řadí Meissnerova hmatová tělíska (*corpuscula tactus*) a Ruffiniho tělíska (*corpuscula articularia*) reagující na teplotu (Jelínek, nedatováno).

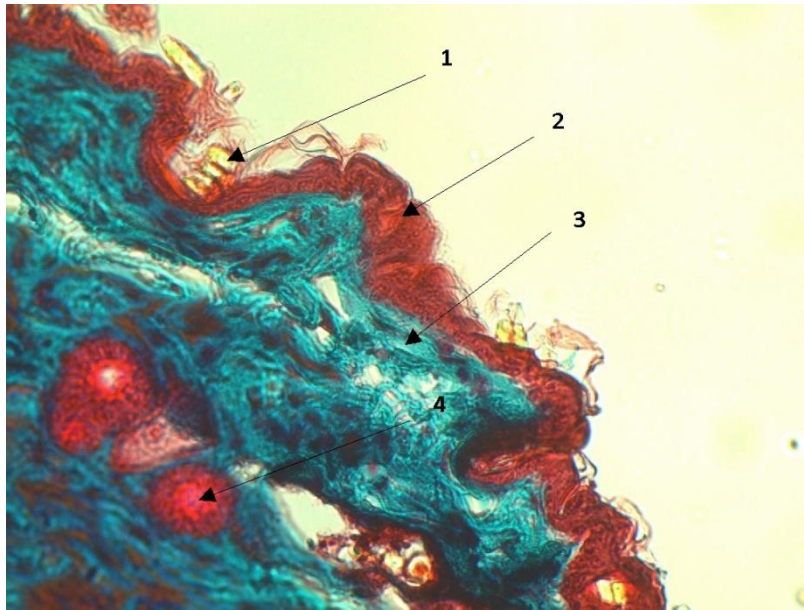
Retikulární vrstva dermis je složená z hustého vaziva, silnějších kolagenních vláken a vláken elastických. V této vrstvě se nacházejí Vater-Pacciniho tělíska (*corpuscula lamellosa*), která jsou citlivá na tah a tlak (Jelínek, nedatováno).

### 3) Podkožní vazivo (*hypodermis*)

Poslední vrstvu kůže tvoří podkožní vazivo. Jak již název napovídá je hypodermis složena především z řídkého vaziva a dále z tukových buněk, jejichž zastoupení se v této vrstvě liší podle lokalizace na těle. Tukové buňky vytvářejí tukové lalůčky (Paleček, 1987). Pro celou vrstvu je typické bohaté cévní a nervové zásobení (Lüllmann-Rauch, 2012).



**Obrázek 23.: Příčný řez kůží myši domácí (*Mus musculus*) (HE 400x):**  
1. epidermis, 2. dermis, 3. příčně proříznutý folikul chlupu



**Obrázek 24.: Příčný řez kůží myši domácí (*Mus musculus*) (MT 400x):**  
1. profíznutý chlup, 2. epidermis, 3. dermis, 4. krevní céva

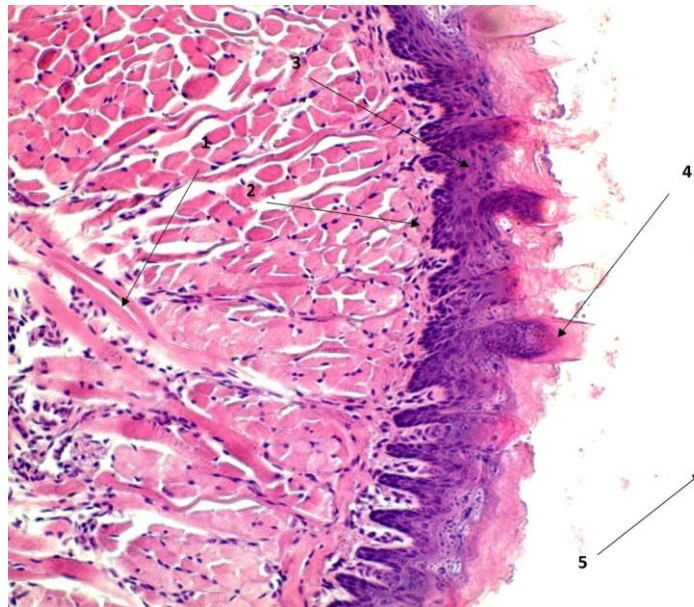


#### 4.2.9. Trávicí soustava

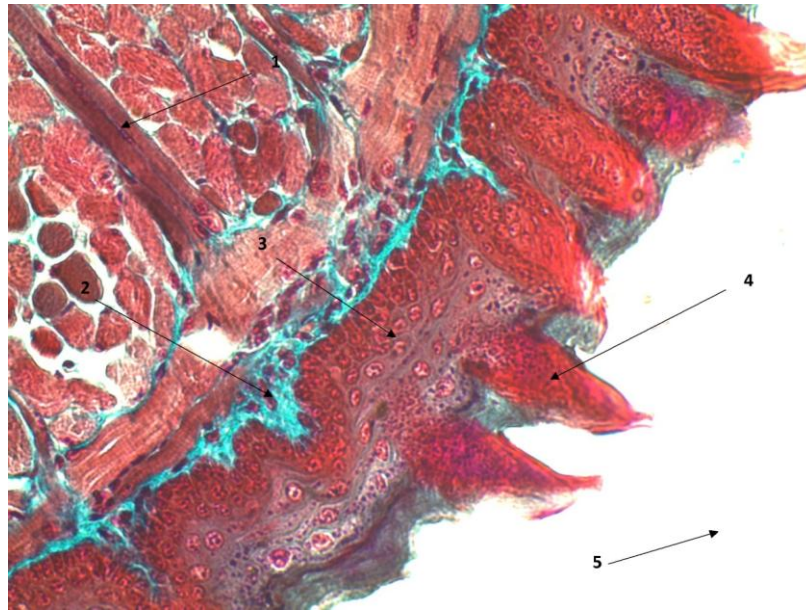
##### 1) Jazyk

Jazyk je svalnatý orgán tvořený příčně pruhovanou svalovinou, jejíž vlákna se kříží ve třech různých směrech. Jednotlivé svalové svazky jsou od sebe odděleny vazivem, které navíc pevně připojuje ke svalu sliznici dutiny ústní na povrchu jazyka (Martínek a Vacek, 2009). Sliznice je na spodní straně jazyka hladká, na svrchní straně je pokryta papilami (Junqueira et al., 1999). Celkem můžeme na jazyku podle tvaru a funkce rozlišit čtyři typy papil: nitkovité (*papillae filiformes*), houbovitě (*papillae fungiformes*), listovité (*papillae foliatae*) a hrazené (*papillae vallatae*).

Nitkovité papily se na jazyku vyskytují nejčastěji. Mají protáhlý tvar a slouží jako dotyková čidla. Ve stromatu papil se nacházejí nervová zakončení, která reagují na změnu polohy papil (pákový efekt). Houbovitě papily jsou na jazyku rozmístěny nepravidelně a v menším počtu než papily nitkovité. Na jejich hrotu se vyskytují chuťové pohárky a ve stromatu se nachází termoreceptory a chemoreceptory. Listovité papily jsou u člověka vyvinuty málo, vyskytují se na okraji jazyka a jejich součástí jsou chuťové pohárky. Posledním typem papil jsou papily hrazené, které obsahují chuťové pohárky a vývod serosních žlázek (Lüllamnn-Rauch, 2012).



**Obrázek 25.: Příčný řez jazykem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 200x):**  
1. vlákno příčně pruhovaného svalu, 2. lamina propria, 3. epitel, 4. papila, 5. dutina ústní



**Obrázek 26.: Příčný řez jazykem myši domácí (*Mus musculus*) (MT 400x):**  
 1. vlákno příčně pruhovaného svalu, 2. lamina propria, 3. epitel, 4. papila, 5. dutina ústní

## 2) Tenké střevo

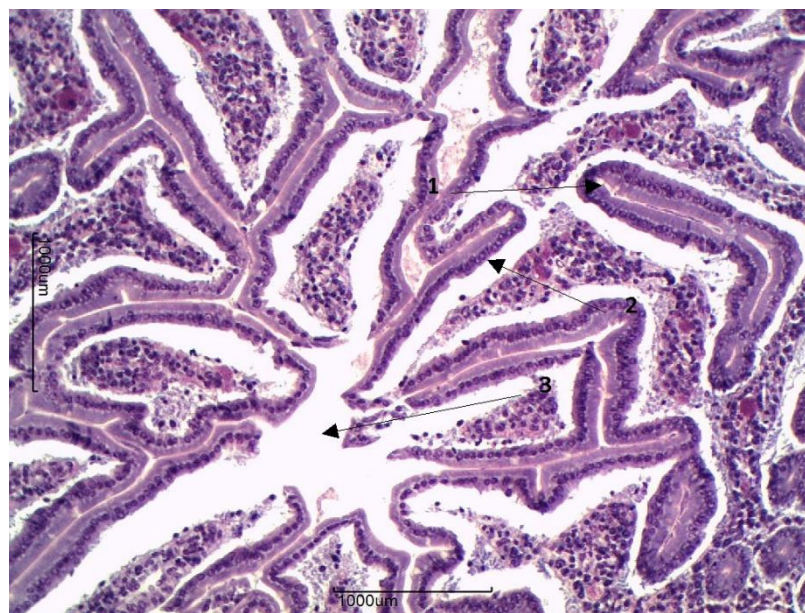
Tenké střevo (*intestinum tenue*) se nachází v břišní dutině zavěšené na mesenteriu a jeho délka u člověka dosahuje asi 3m. Jeho hlavní funkcí je vstřebávání vody a živin z natrávené potravy. Rozlišit jej můžeme do tří základních částí: dvanáctník (*duodenum*), lačník (*jejunum*) a kyčelník (*ileum*). Z histologického hlediska jsou si tyto tři části velice podobné a jednotlivé rozlišovací znaky se mění plynule (Lüllmann-Rauch, 2012).

Stěnu tenkého střeva můžeme rozdělit na čtyři části: serosu, hladkou svalovinu, podslizniční vazivo a sliznici. Sliznice tenkého střeva je tvořena jednovrstevným resorpčním cylindrickým epitelem (Martínek a Vacek, 2009), v němž se nacházejí další typy buněk, například pohárkové buňky nebo enterocyty. Hlavní funkcí tohoto epitelu je udržení takzvané difusní bariéry, která omezuje průnik hydrofilních molekul do těla (Lüllmann-Rauch, 2012). Na enterocytech pak dochází k poslední fázi trávení a resorpce, jejich povrch je rozčleněn na mikrokilky. Pohárkové buňky vylučují hlen (Martínek a Vacek, 2009). Sliznice tenkého střeva je rozbrázděna klky (*villi intestinales*) a kryptami (*cryptae intestinales*). Klky jsou výběžky epitelu a *lamina propria*<sup>11</sup>, zasahují do lumen tenkého střeva. Jejich výška je v rozsahu od 0,5 do 1.5mm

<sup>11</sup> *Lamina propria* je vrstva slizničního vaziva.

(Junqueira et al., 1999), přičemž nejdelší klky se nacházejí v duodenu a směrem k ileu se postupně zkracují (Lüllmann-Rauch, 2012). Ve stromatu klků se nachází krevní a lymfatické cévy, nervová zakončení, buňky hladkého svalstva a buňky imunitního systému, například makrofágy (Junqueira et al., 1999). Krypty, často označované jako Lieberkühnovy krypty, jsou prohlubeniny zasahující až k vrstvě hladké svaloviny (Lüllmann-Rauch, 2012). Obsahují takzvané Panethovy buňky, jejichž sekret má antibakteriální účinky a tudíž se podílí na imunitní obraně těla (Junqueira et al., 1999).

Hladká svalovina tenkého střeva je uspořádána longitudálně a cirkulárně. Umožňuje kývavé a peristaltické pohyby, které jednak promíchávají obsah střeva s trávicími šťávami a jednak jej posunují směrem k tlustému střevu. Za řízení pohybu jsou zodpovědná nervová zakončení vegetativního nervového systému (Machová, 2002).



Obrázek 27.: Příčný řez tenkým střeem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 400x):  
1. klk, 2. cylindrický epitel, 3. lumen

### 3) Tlusté střevo

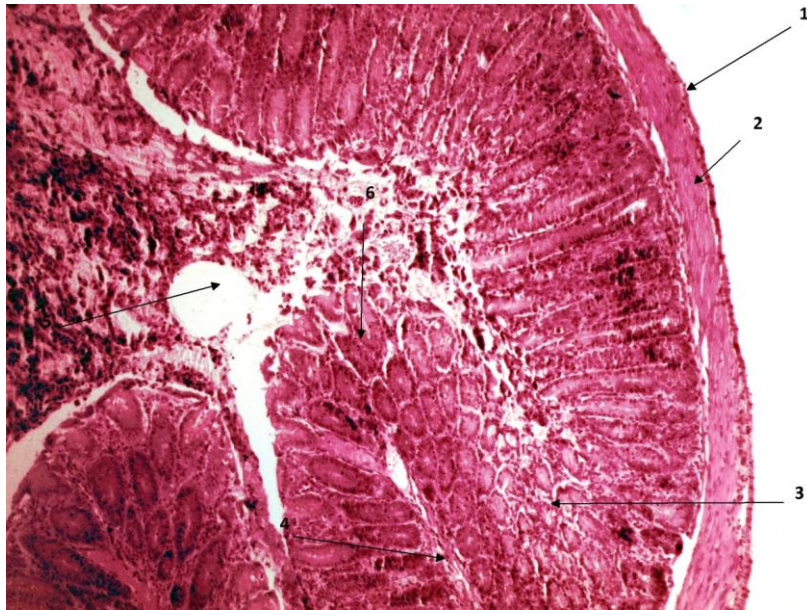
Tlusté střevo (*intestinum crassum*) je uloženo po obvodu dutiny břišní. Je dlouhé zhruba 1,5m. Je složeno ze slepého střeva s červovitým výběžkem (*appendix vermiformis*) a tračniku, který můžeme rozdělit na několik částí: tračník vzestupný (*colon ascendens*), tračník příčný (*colon transversum*), tračník sestupný (*colon descendens*) a esovitá klička (*colon sigmoideum*). Dále tlusté střevo pokračuje konečníkem (*rectum*) a análním kanálem (*canalis analis*) (Lüllmann-Rauch, 2012). Hlavní funkcí tlustého střeva je zpětná resorpce vody a tvorba stolice (Junqueira et al., 1999).

Stěna tlustého střeva je složena ze sliznice, podslizničního vaziva, hladké svaloviny a adventicie nebo serosy (Lüllmann-Rauch, 2012). Povrch sliznice je kryt jednovrstevným cylindrickým epitelem s pohárkovými buňkami. Na rozdíl od tenkého střeva, sliznice tlustého střeva nevytváří klky. Typická je pro něj však tvorba hlubokých krypt s velkým množstvím pohárkových buněk. Tyto buňky produkují mucin, hlenový povlak chrání povrch sliznice před mechanickým poškozením a obalující bakterie (Junqueira et al., 1999).

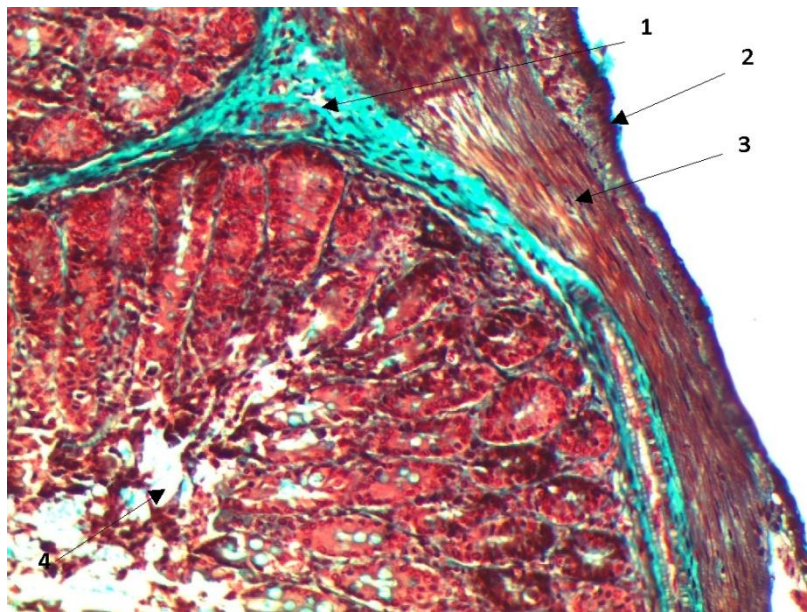
Hladká svalovina tlustého střeva je uspořádána jednak cirkulárně a jednak longitudálně. Zevní podélná vrstva vytváří pruhy nazvané *taeniae coli*. Pouze koncová část tlustého střeva je tvořena příčně pruhovanou svalovinou ovladatelnou vůlí (*m.sphincter ani externus*). Hladká svalovina vytváří při míchání obsahu výdutě (haustera) (Mareš, 2003).

Stěna červovitého výběžku slepého střeva často podléhá zánětu, takzvané appendicitidě. Příčina tohoto onemocnění není dosud úplně objasněna, může však vést až k perforaci střeva a proto je jedním z nejčastějších důvodů operace břicha (Lüllmann-Rauch, 2012).





Obrázek 28.: Příčný řez tlustým střevem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 100x):  
 1. serosa, 2. hladká svalovina, 3. Lieberkühnova krypta, 4. podslizniční vazivo,  
 5. lumen, 6. cylindrický epitel



Obrázek 29.: Příčný řez tlustým střevem myši domácí (*Mus musculus*) (MT 400x):  
 1. podslizniční vazivo, 2. serosa, 3. hladká svalovina

#### 4) Játra

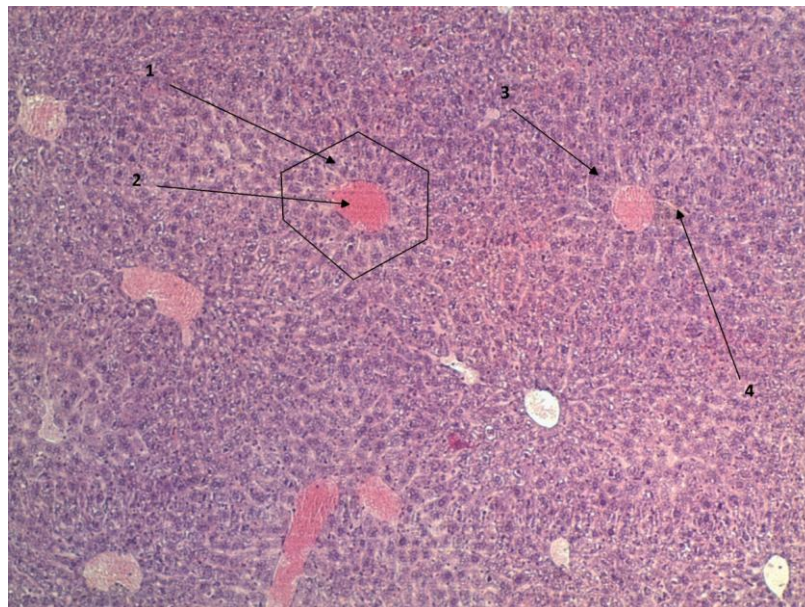
Játra (*hepar*) jsou největším orgánem trávicí soustavy a druhým největším orgánem těla. U člověka váží okolo 1,5kg, mají tmavě červenou barvu a jsou umístěna v dutině břišní pod bránicí, na níž jsou zavěšena podbřišnicovým povlakem (Machová, 2002). Jejich funkcí je jednak zpracování látek vstřebaných v trávicím traktu a jednak odvod zplodin metabolismu. K detoxifikaci v játrech dochází prostřednictvím žluče (viz níže), která se podílí na trávení tuků v duodenu.

Játra jsou vazivovou přepážkou rozdělena na pravý a levý lalok. Ve spodní části vazivové přepážky se nachází jaterní branka (*porta hepatis*) (Machová, 2002), kterou do jater vstupují vrátnicové žíly (*v.portae*) a jaterní tepna (*a.hepatica propria*). Z jater zde pak odstupuje pravý a levý žlučovod (*ductus hepaticus*) a lymfatické cévy (Junqueira et al., 1999). Povrch jater je kryt vazivovým obalem (*capsula Glissoni*), který vstupuje do jater v oblasti jaterní branky. Základní jaterní buňkou je hepatocyt, který vytváří společně s kapilárami (*sinusoidy*) takzvané jaterní lalůčky (*lobuli*). Tyto lalůčky můžeme zjednodušeně znázornit jako šestiúhelníky, jejichž středem probíhá *vena centralis* a na každém druhém rohu šestiúhelníku probíhá takzvané Glissonovy trias skládající se ze žlučovodu, větve *v.portae* a *a.hepatica propria* (Lüllmann-Rauch, 2012). Paprskovitě uspořádanými sinusoidami jaterního lalůčku protéká krev směrem do centrální žíly a hepatocyty uložené mezi nimi vytvářejí takzvané trámce. Mezi sinusoidální krví a hepatocyty dochází k látkové výměně a žluč produkovaná hepatocyty proudí v lalůčku proti směru proudu krve.

Sinusoidy jsou kapiláry specifické pro jaterní tkáň. Mají větší průsvit než běžné kapiláry (15µm) a obsahují četné fenestrace. Jsou tvořeny třemi typy buněk: endotelovými, které mají významný podíl na látkové výměně, Kupfferovými buňkami, pro něž je typická fagocytóza a jednou z jejich funkcí je odbourávání starých erytrocytů a hemoglobinu a Itovými buňkami (Junqueira et al., 2012).

Jak již bylo řečeno výše, hepatocyty jsou základní stavební jednotkou jater. Jednotlivé buňky se vyznačují funkční polaritou. Na takzvaném krevním pólu dochází k vstřebávání důležitých látek z krve, zatímco na pólu žlučovém dochází k produkci žluči, která je odváděna žlučovými kanálky, intralobulárními žlučovody a nakonec pravým a levým žlučovodem ven z jater (Lüllmann-Rauch, 2012).

Lidské tělo využívá k detoxifikaci dva základní orgány: ledviny a játra. Zjednodušeně řečeno látky rozpustné ve vodě jsou z těla vylučovány močí, zatímco látky rozpustné v tucích jsou odváděny prostřednictvím žluči. Kromě toxických látek žluč také obsahuje především vodu, žlučové kyseliny, fosfolipidy, cholesterol a žlučové barvivo bilirubin. Bilirubin je produkt vznikající rozkladem červeného krevního barviva hemoglobinu a dává žluči zelenožluté zbarvení. Nepoměr mezi rychlostí tvorby a vylučováním bilirubinu do žluče způsobuje onemocnění zvané žloutenka (*ikterus*). Příčiny tohoto onemocnění se různí, například poškození jater alkoholem nebo virovým onemocněním (Lüllmann-Rauch, 2012). Speciálním typem žloutenky je žloutenka novorozenecká. Jak sám název napovídá, tato žloutenka se vyskytuje u novorozenců po porodu. Je způsobena rychlým rozkladem nadbytečných erytrocytů a tedy i hemoglobinu (Machová, 2002).



**Obrázek 30.: Řez játry myši domácí (*Mus musculus*) (HE 100x):**  
1. jaterní lalůček, 2. vena centralis, 3. hepatocyt, 4. sinusoid

## 5) Slinivka břišní

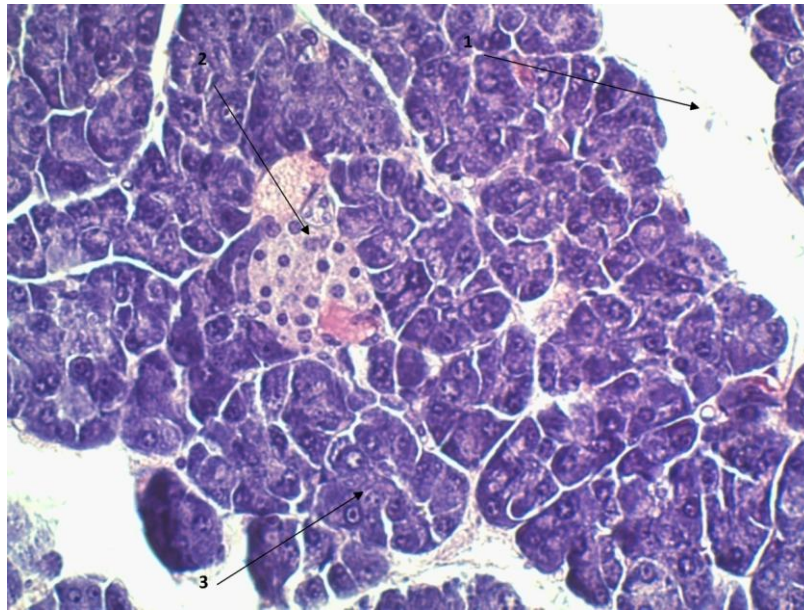
Slinivka břišní (*pancreas*) se nachází v kličce duodena. Skládá se ze tří částí: hlavy (*caput*), těla (*corpus*) a ocasu (*cauda*) (Lüllmann-Rauch, 2012). Jedná se jak o exokrinní žlázu produkující trávicí enzymy do dvanáctníku, tak o endokrinní žlázu produkující hormony (Tallitsch a Guastaferrri, 2009). Její povrch je kryt tenkou vazivovou vrstvou, která proniká do nitra orgánu a ve formě sept jej rozděluje na laloky

a lalůčky (*lobuli*). V těchto septech také probíhají krevní a lymfatické cévy, nervy a vývodné kanálky (Lüllmann-Rauch, 2012).

Jednotlivé lalůčky jsou vyplněny parenchymem složeným z exokrinních buněk, takzvaných acinů. Zvláštností těchto buněk je, že vývodné kanálky, které nejsou pozorovatelné světelným mikroskopem, začínají přímo uvnitř acinů. Tyto kanálky se postupně spojují do intralobulárních vývodů, jejichž epitel je plochý až kubický, a posléze do interlobulárních vývodů, vystlaných kubickým až cylindrickým epitelem (Tallitsch a Guastaferrí, 2009). Produkt exokrinních buněk je z pankreatu odváděn do duodena prostřednictvím *ductus pancreaticus* (Lüllmann-Rauch, 2012). Produkce tohoto sekretu je řízena hormonálně sekretinem a cholecystokininem, produkovaným v epitelu duodena. Tento sekret se skládá jednak z trávicích enzymů a proenzymů. Jmenovitě se mezi ně řadí: trypsinogen, chymotrypsinogen, karboxypeptidáza, ribonukleáza, deoxyribonukleáza, triacylglycerol lipáza, fosfolipáza A<sub>2</sub>, elastáza a amyláza (Junqueira et al., 1999).

Endokrinní část slinivky břišní je tvořena takzvanými Langerhansovými ostrůvky, jejichž povrch je kryt obalem z retikulárních vláken (Junqueira et al., 1999). Jeden ostrůvek se skládá z několika tisíc epiteliálních buněk a je protkán hustou kapilární sítí. Uvnitř ostrůvků můžeme rozlišit čtyři typy buněk, k nimž je přiřazována produkce různých hormonů. Tyto buňky nejsou v ostrůvcích zastoupeny konstantně, ale různí se podle polohy ostrůvku ve slinivce (Junqueira et al., 1999). Rozlišujeme  $\alpha$  buňky, které na základě snížení koncentrace glukózy v krvi produkují hormon glukagon. Tvoří zhruba 20% všech buněk ostrůvku a většinou se nacházejí na jeho okraji. Dalším typem buněk jsou buňky  $\beta$ , které produkují insulin na základě zvýšeného obsahu glukózy v krvi. Z celkového počtu buněk tvoří asi 70%. Třetím typem buněk obsažených v Langerhansových ostrůvcích jsou  $\delta$  buňky produkující somatostatin, který ovlivňuje činnost buněk  $\alpha$ . Posledním typem buněk jsou PP buňky, jejichž sekret ovlivňuje pocit hladu (Lüllmann-Rauch, 2012).





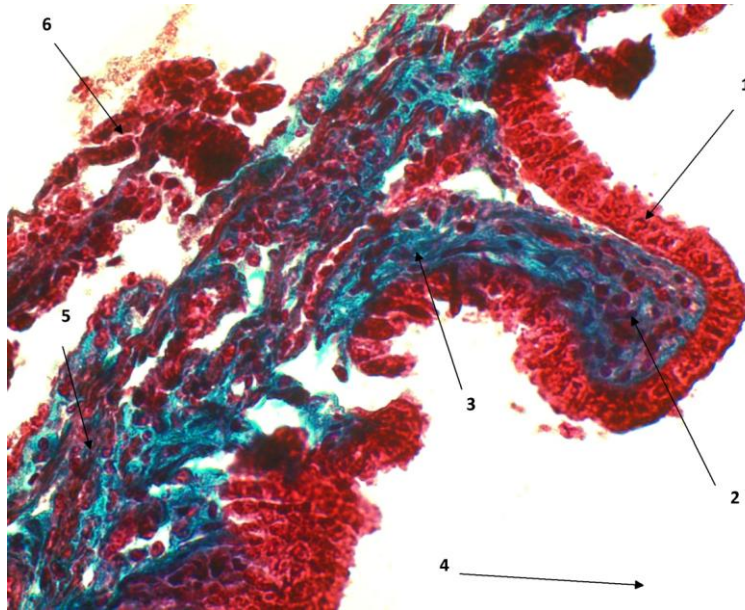
**Obrázek 31.: Řez slinivkou břišní myši domácí (*Mus musculus*) (HE 400x):**  
 1. septum, 2. Langerhansův ostrůvek, 3. lalůček se aciny

## 6) Žlučník

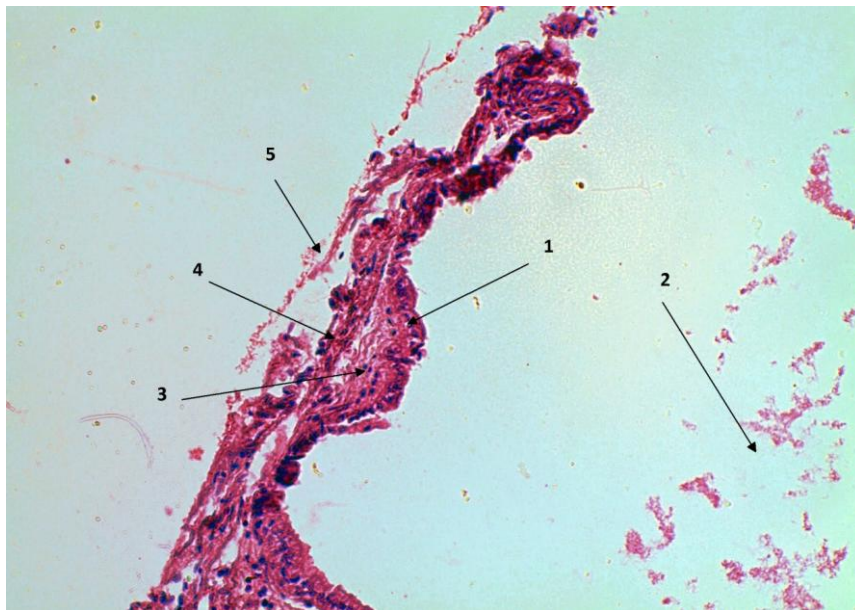
Žlučník (*vesica fellea*) je orgánem trávicí soustavy, který přisedá ze spodní strany na játra. Jeho hlavní úlohou je skladování a zahuštění žluči, jíž játra člověka vyprodukuje denně přibližně 1 000ml. Žlučník je s játry spojen přes *ductus cysticus* a je schopen pojmout až 70ml žluči (Lüllmann-Rauch, 2012).

Stěna žlučníku je tvořena čtyřmi vrstvami: sliznice, hladké svalstvo, vazivo a seróza. Slizniční vrstva žlučníku je tvořena jednovrstevným resorpčním cylindrickým epitelem s mikrokly a laminou propria. Skládá se do jednotlivých řas, jejichž velikost stejně jako u močového měchýře závisí na množství obsahu žlučníku (Tallitsch a Guastaferrì, 2009).

Svalová vrstva je tvořena síťovitě uspořádanými vlákny hladké svaloviny, jejíž stahy slouží k vyloučení žluči do duodena. Stahy svalové vrstvy jsou řízeny autonomním nervovým systémem (Lüllmann-Rauch, 2012), konkrétně hormonem cholecystokininem produkovaným buňkami tenkého střeva v reakci na přítomnost tuků v potravě (Junqueira et al., 1999).



**Obrázek 32.: Příčný řez stěnou žlučníku myši domácí (*Mus musculus*) (MT 400x):**  
 1. cylindrický epitel, 2. slizniční řasa, 3. lamina propria, 4. lumen, 5. hladká svalovina, 6. serosa



**Obrázek 33.: Příčný řez stěnou žlučníku myši domácí (*Mus musculus*) (HE 200x):**  
 1. cylindrický epitel, 2. lumen, 3. lamina propria, 4. hladká svalovina, 5. serosa

## 4.2.10. Vylučovací soustava

### 1) Ledvina

Ledvina (*ren*) je hlavním orgánem vylučovací soustavy, který pracuje v součinnosti se soustavou oběhovou. Jedná se o párový orgán, jehož prostřednictvím jsou v podobě moči z těla vylučovány odpadní produkty metabolismu. Mezi další funkce ledvin patří udržení acidobazické rovnováhy v těle, regulace objemu tekutin a množství solí v těle a produkce hormonů (Paleček, 1987).

### Stavba

Ledvina je orgán fazolovitého tvaru uložený v retroperitoneálním prostoru. Na povrchu je kryta jednak vazivovým pouzdem a jednak tukovým obalem. Na průřezu ledvinou můžeme rozpoznat na povrchu kůru (*cortex*) a uvnitř dřev ( *medulla*) (Lüllmann-Rauch, 2012).

Dřev na průřezu vytváří dřevové pyramidy (*pyramidae renales*), jejichž vrcholy (*papillae renales*) ústí do ledvinné pánvičky, ze které je odváděna vytvořená moč. Z báze dřevových pyramid pronikají směrem do kůry proužky dřev vytvářející *pars radiata corticis* (Hach, 2003).

Kůra ledvin pokrývá bázi dřevových pyramid v podobě asi 1cm široké vrstvy (*cortex corticis*) a vyplňuje prostor mezi jednotlivými pyramidami. Takto vyplněný prostor je nazýván sloupci (*columnae renales*) (Junqueira et al., 1999).

### Nefron

Základní funkční jednotkou ledvin je nefron, jejich počet v jedné ledvině přesahuje 1 milion. Každý nefron je složen ze čtyř základních částí: ledvinné (renální) tělísko, proximální tubulus, tenké a tlusté raménko Henleovy kličky a distální tubulus (Junqueira et al., 1999).

Ledvinné tělísko je útvar skládající se z několika částí, a to glomerulu, Bowmanova váčku a aferentní a eferentní arterioly<sup>12</sup>. Základem ledvinného tělísko je klubíčko složené z kapilár (glomerulus). Krev je do tělísko přiváděna aferentní

---

<sup>12</sup> Arteriola je malá tepénka, která se dále větví na kapiláry.

arteriolou, která se dělí na 2-5 větví vytvářejících kapilární síť. Jednotlivé kapiláry jsou zavěšeny na mesangiu, které je obdobou mezenteria tenkého střeva. Toto klubičko je obaleno dvouvrstevným Bowmanovým pouzdem, který je složen z podpůrných endotelových buněk (Paleček, 1987). Vnitřní viscerální vrstva Bowmanova váčku těsně přiléhá ke klubičku kapilár a vytváří tak tenkou bariéru mezi krevním řečištěm a primární močí. Výstelka této vrstvy je tvořena specializovanými buňkami hvězdicovitého tvaru, podocyty, jejichž výběžky, pedikly, nasedají na stěnu kapilár a vytváří tak 1-2 $\mu$ m široký filtrační prostor. V oblasti cévního pólu přechází viscerální vrstva Bowmanova váčku na vnější vrstvu parietální, která je tvořena jednovrstevným plochým epitelem. Dochází tak k vytvoření intrakapsulárního prostoru, do něhož je filtrována glomerulární moč. Primární moč vytvořená v intrakapsulárním prostoru je odváděna z ledvinného tělíska močovým pólem, který leží přesně na opačném konci než pól cévní. Krev protékající tělískem je z něj odváděna eferentní arteriolou.

Proximální tubulus ledvinného tělíska je pokračováním parietální vrstvy Bowmanova váčku. Dochází zde ke zpětné resorpci živin, sodných iontů a vody. Skládá se ze dvou částí: vinuté (*pars convulsa*) a přímé (*pars recta*). Svinutý úsek proximálního tubulu představuje nejdelší část nefronu, která leží v korovém labyrintu ledviny (Lüllmann-Rauch, 2012). Uvnitř je vystlán jednovrstevným kubickým až cylindrickým epitelem (Junqueira et al., 1999). Přímý úsek proximálního tubulu se nachází v dřevové části ledviny a přechází v takzvanou Henleovu kličku, která se dělí na sestupnou a vzestupnou část (Hach, 2003). Tato klička je odpovědná za zvyšování osmolality<sup>13</sup>, což je předpokladem pro zvyšování koncentrace moči průchodem sběracím kanálkem (Lüllmann-Rauch, 2012).

Na Henleovu kličku navazuje distální tubulus, který se dělí do tří částí: přímá (*pars recta*), tmavá (*pars densa*) a stočená (*pars convulsa*). Lumen distálního tubulu je vystláno jednovrstevným kubickým epitelem, který tím, že je nepropustný pro vodu, vytváří hypotonickou moč (Lüllmann-Rauch, 2012). Ústí do sběrných kanálků (Hach, 2003).

Jednotlivé nefrony jsou zakončeny vývodem do sběracích kanálků (*tubulus colligens*). Do jednoho sběracího kanálku ústí 5-10 distálních tubulů. Vždy 8 sběracích kanálků se dále spojí do jednoho papilárního vývodu (*ductus papillares*), které ústí na

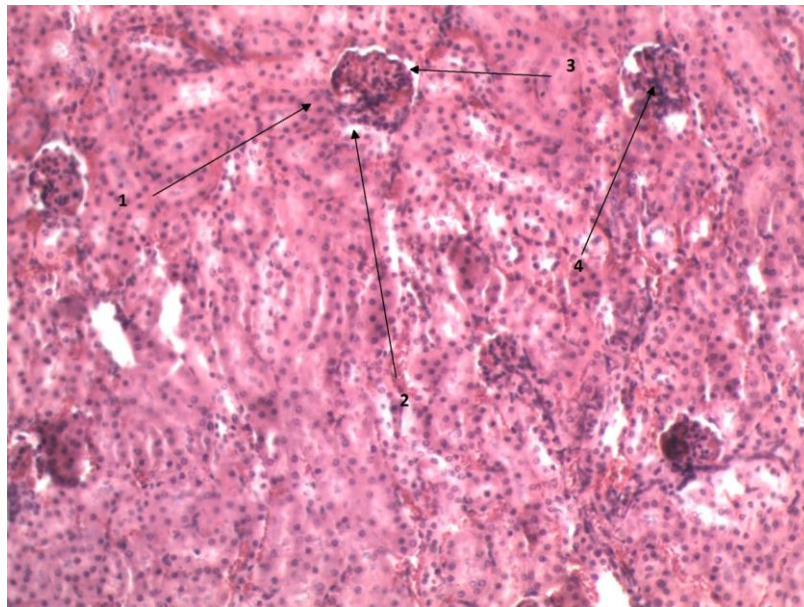
---

<sup>13</sup> Osmolalita udává látkové množství osmoticky aktivních částic rozpuštěných v kilogramu rozpouštědla.

*area cribrosa* ledvinových papil (Hach, 2003). Působením antiduretického hormonu (ADH) zde dochází ke vzniku hypertonické definitivní moči (Paleček, 1987).

### **Tvorba moči**

Moč vzniká v nefronech v několika krocích. Nejdříve dochází k filtraci v glomerulech. Vzniká tak primární (glomerulární moč), která však obsahuje příliš mnoho pro organismus důležitých látek. Průtok krve ledvinami je u člověka obrovský, každé 4 minuty je ledvinami profiltrována veškerá krev. Za 24 hodin vzniká v těle zdravého jedince až 180l primární moči (Hach, 2003), která je nadále zahušťována. Zpět do krve se vrací až 99% vody, 100% glukózy a 99,5% chloridu sodného. K tvorbě takto zahuštěné, definitivní moči dochází v tubulech (Machová, 2002).



**Obrázek 34.: Podélný řez kůrou ledviny myši domácí (*Mus musculus*) (HE 200x):**  
1. proximální tubulus, 2. distální tubulus, 3. Bowmanův váček, 4. glomerulus



## 2) Močový měchýř

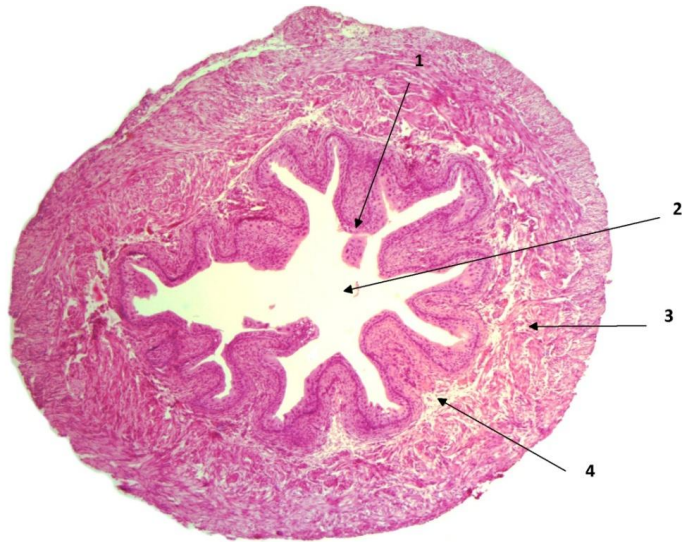
Močový měchýř (*vesica urinaria*) patří společně s ledvinovými kalichy (*calyces renales*), ledvinou pánvičkou (*pelvis renalis*), močovodem (*urether*) a močovou trubicí (*urethra masculina*) mezi takzvané vývodní močové cesty (Hach, 2003). V močovém měchýři dochází k hromadění moči (Paleček, 1987). Za impuls pro jeho vyprázdnění jsou odpovědná dostředivá nervová vlákna vycházející ze stěny močového měchýře. Tato nervová zakončení registrují informace o napětí stěny močového měchýře. Za jeho vyprázdnění je pak zodpovědný parasymptikus inervující *mutulus destructor* (Lüllmann-Rauch, 2012).

Stěna močového měchýře je tvořena třemi základními složkami: sliznicí, hladkou svalovinou a adventicií. Sliznice vystylající dutinu močového měchýře je kryta přechodným epitelem urothelem (Lüllmann-Rauch, 2012). Tento epitel mimo jiné plní funkci osmotické bariéry mezi obsahem močového měchýře a vnitřním prostředím organismu (Hach, 2003), zabraňuje zpětné resorpci vody a solí do těla (Paleček, 1987). Další důležitou vlastností urothelu je jeho schopnost přizpůsobit se změně objemu močového měchýře. Tato flexibilita je umožněna jeho zvláštní stavbou, skládá se ze tří vrstev obsahujících různé typy buněk. První z těchto vrstev je bazální s kubickými až cylindrickými buňkami, na ní navazuje střední vrstva s buňkami protáhlého polyedrického tvaru a poslední je vrstva povrchová s kopulovitě vyklenutými buňkami často obsahujícími dvě jádra (Hach, 2003). V relaxovaném stavu se močový měchýř skládá do řas, jejichž výška závisí na objemu moči v měchýři.

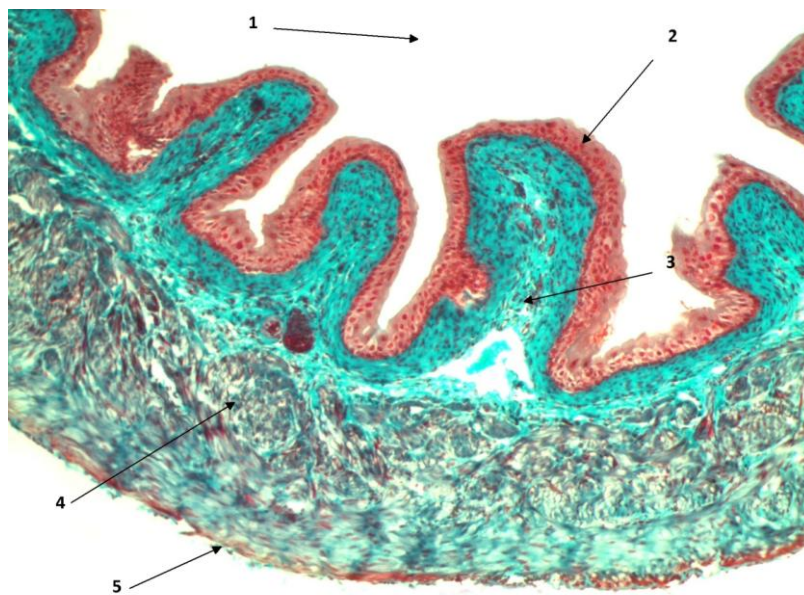
Mezi sliznicí a hladkou svalovinou leží vazivová vrstva složená z kolagenních a elastických vláken s bohatým krevním zásobením (Pakeček, 1987).

Hladká svalovina ve stěně močového měchýře má složitou stavbu, kterou není lehké rozlišit (Lüllmann-Rauch, 2012). Skládá se ze tří vrstev: vnitřní plexiformní, střední cirkulární a zevní longitudální (Hach, 2003).

Poslední vrstvu močového měchýře tvoří adventicie. Jedná se o vnější vazivový obal, který slouží k upevnění močového měchýře k peritoneu, v němž plynule přechází (Paleček, 1987).



**Obrázek 35.: Příčný řez močovým měchýřem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 40x):**  
 1. urothel, 2. lumen, 3. hladká svalovina, 4. lamina propria

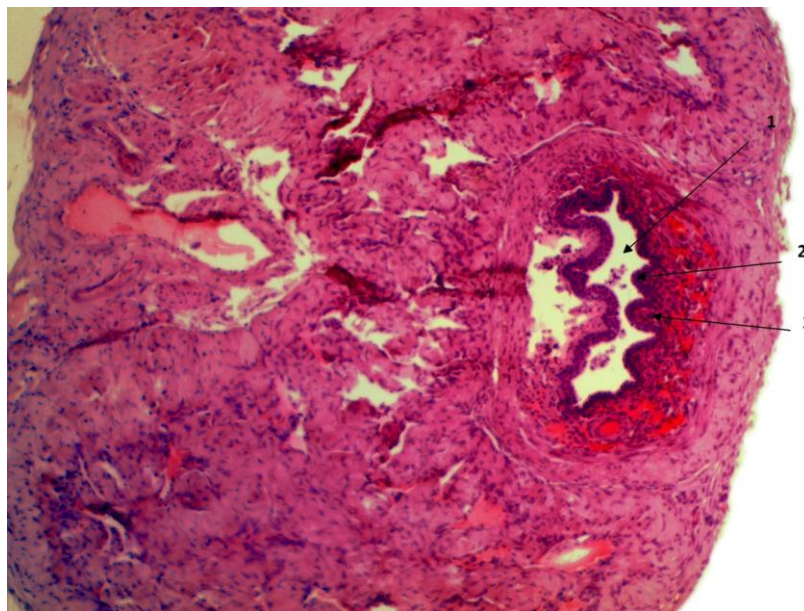


**Obrázek 36.: Příčný řez močovým měchýřem myši domácí (*Mus musculus*) (MT 100x):**  
 1. lumen, 2. urothel, 3. lamina propria, 4. hladká svalovina, 5. adventicie

### 3) Močová trubice

Mužská močová trubice (*urethra masculina*) je vývodnou cestou močopohlavní soustavy. Stejně jako močový měchýř se stěna močové trubice skládá ze tří vrstev: sliznice, hladké svaloviny a adventicie. Kaudálním směrem můžeme mužskou močovou trubici rozdělit na pět částí, které se od sebe mimo jiné liší typem epitelu, jenž jí vystýlá: pro *pars intramuralis* nacházející se stále ještě ve stěně močového měchýře je stejně jako pro *pars prostatica* (část prostatická) typický přechodný epitel. *Pars membranacea* (část membranózní), *pars diaphragmatica* (část bulbární) a *pars spongiosa* (část kavernózní) je kryta vrstevnatým cylindrickým epitelem (Hach, 2003).

Hladká svalovina močové trubice je uspořádána do dvou vrstev: vnější cirkulární a vnitřní longitudální (Hach, 2003). *Pars membranacea* je obklopena vrstvou příčně pruhovaného svalstva ovládaného vůlí, který vytváří sfinkter (*m. sphincter urethrae externus*) (Junqueira et al., 1999).



**Obrázek 37.: Příčný řez penisem myši domácí (*Mus musculus*) s močovou trubicí (HE 100X):**  
1. lumen močové trubice, 2. urothel, 3. lamina propria



#### 4.2.11. Samčí pohlavní soustava

##### 1) Varle

##### Stavba

Varlata (*testes*) jsou párovým samčím pohlavním orgánem uloženým v šourku (*scrotum*). Jejich hlavní funkcí je produkce mužských pohlavních buněk (spermií) a pohlavních hormonů (Hach, 2003). Ontogeneticky jsou u člověka založena v průběhu 5-6 týdne v takzvané genitální liště (*plica genitalis*) a dále se vyvíjejí uvnitř dutiny břišní. Do šourku sestupují tříselným kanálem později během vývoje a jsou zavěšena na konci semenných provazců (*funiculi spermatici*) (Lüllmann-Rauch, 2012). Účelem tohoto sestupu je snížení teploty o zhruba 2°C, která je nutná pro správný průběh spermatogeneze. Neúplný sestup varlat do šourku se nazývá kryptorchismus, který může být jednostranný i oboustranný a neléčen způsobuje mužskou neplodnost (Lüllmann-Rauch, 2012).

Povrch varlat je kryt tuhým vazivovým obalem (*tunica albuginea*), který se skládá z kolagenních a elastických vláken a buněk hladkého svalstva. Tento vazivový obal postupně přechází v takzvané *mediastinum testis*, které se rozbíhá do nitra orgánu a člení jej jemnými přepážkami na zhruba 250 lalůčku pyramidového tvaru (*lobuli testis*). V těchto lalůčkách se vyskytují 1-4 mnohonásobně stočené semenotvorné kanálky (*tubuli seminiferi contorti*), jejichž konce jsou napojeny na *rete testis* v mediastinu, z něhož vyhází odvodné pohlavní cesty (Hach, 2003).

Vnitřní povrch semenotvorných kanálků vystýlá zárodečný, spermiogenní epitel. Ten se skládá ze dvou základních typů buněk, jednak jsou to různá stádia vývoje vlastních pohlavních buněk a jednak Sertolihovy buňky, které zastávají podpůrnou funkci a zajišťují prostředí nezbytné ke správnému průběhu spermatogeneze. Jedná se o vlastní epitelální buňky semenotvorných kanálků, které jsou vždy ukotveny v bazální lamině<sup>14</sup> (Lüllmann-Rauch, 2012). Vnější obal semenotvorných kanálků tvoří *tunica propria* složená z fibroblastů<sup>15</sup> (Junqueira et al., 1999).

---

<sup>14</sup> Bazální lamina je vrstva extracelulárního materiálu viditelného pouze v elektronovém mikroskopu, která slouží k ukotvení epitelových buněk.

<sup>15</sup> Fibroblast je nejčastějším typem buňky vazivové tkáně.

## **Spermatogeneze**

Spermatogeneze je proces, v jehož průběhu dochází ke vzniku samčích pohlavních buněk (spermii). K tomuto procesu dochází v semenotvorných kanálcích varlat a u člověka trvá zhruba 10 týdnů. Můžeme jej rozdělit do tří základních fází: množení, zrání a diferenciaci (Lüllmann-Rauch, 2012).

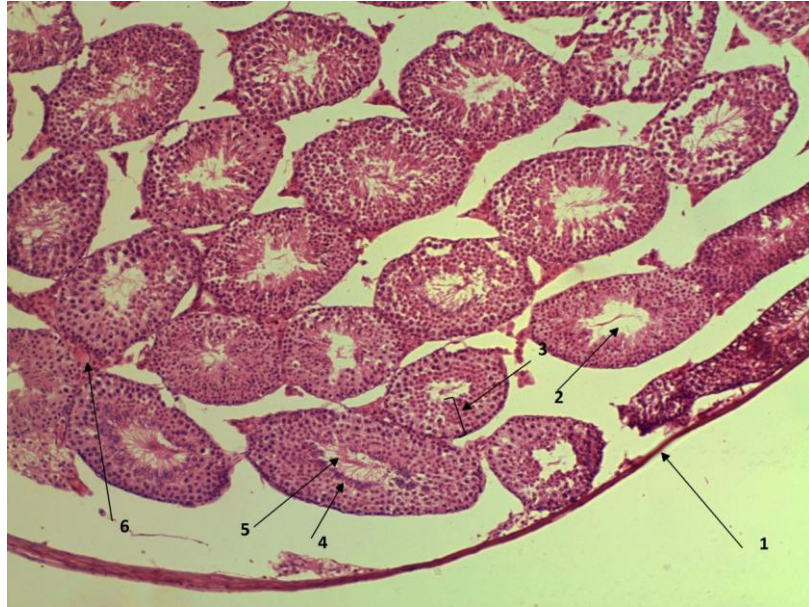
V první fázi spermatogeneze dochází k mitotickému dělení kmenových buněk (*spermatogonii*) ležících při bazální lamině semenotvorných kanálků. Z jedné kmenové buňky, vznikají dvě dceřiné buňky spermatogonie A a spermatogonie B. Spermatogonie A jsou ponechány ve stavu kmenové buňky, zatímco spermatogonie B pokračují v dělení a poskytují základ spermatocytům.

Spermatogonie B procházejí meiotickým dělením, v jehož průběhu dochází k tvorbě primárních (2n) a sekundárních spermatocytů (1n) (Junqueira et al., 1999).

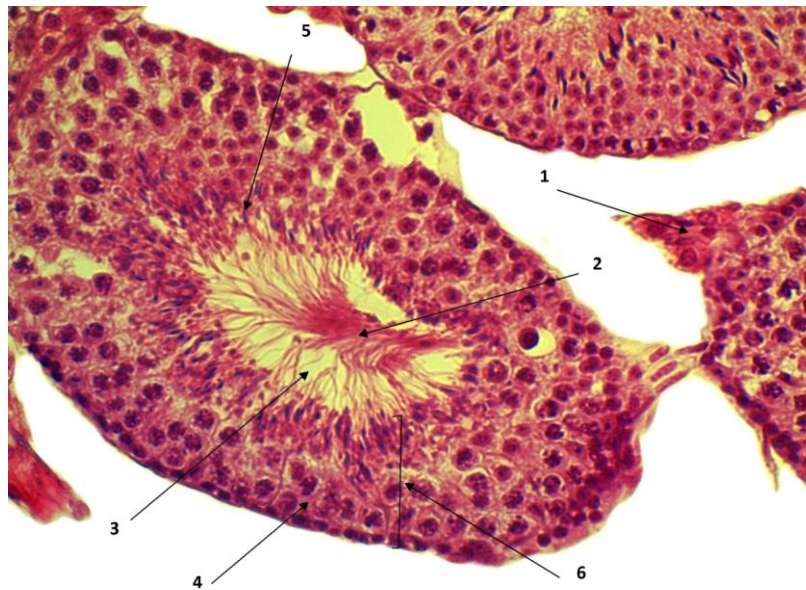
V poslední fázi spermatogeneze dochází k diferenciaci spermatid, v jejímž průběhu je kondenzováno buněčné jádro a vzniká akrosom a bičík spermie. Takto vytvořené spermie jsou vytlačovány ze záhybů Sertoliho buněk směrem do lumen semenotvorných kanálků. Tyto spermie však nejsou zralé, to znamená, že nejsou schopné aktivního pohybu ani oplození. K dozrávání dochází až v nadvarletí (*epididymis*).

## **Endokrinní funkce**

Další důležitou funkcí varlat, je produkce hormonů. Hlavním hormonem produkovaným ve varlatech je androgenní hormon testosteron. Tento hormon je vytvářen Leydigovými buňkami ležícími mezi jednotlivými semenotvornými kanálky a ovlivňuje především spermatogenezi, vývoj pohlavních cest a sekundárních pohlavních znaků (Lüllmann-Rauch, 2012).



**Obrázek 38.: Příčný řez varletem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 100x):**  
 1. *tunica albuginea*, 2. lumen semenotvorného kanálku, 3. spermie v různých vývojových stádiích, 4. hlavička spermie, 5. bičinky spermii, 6. Leydigovy buňky

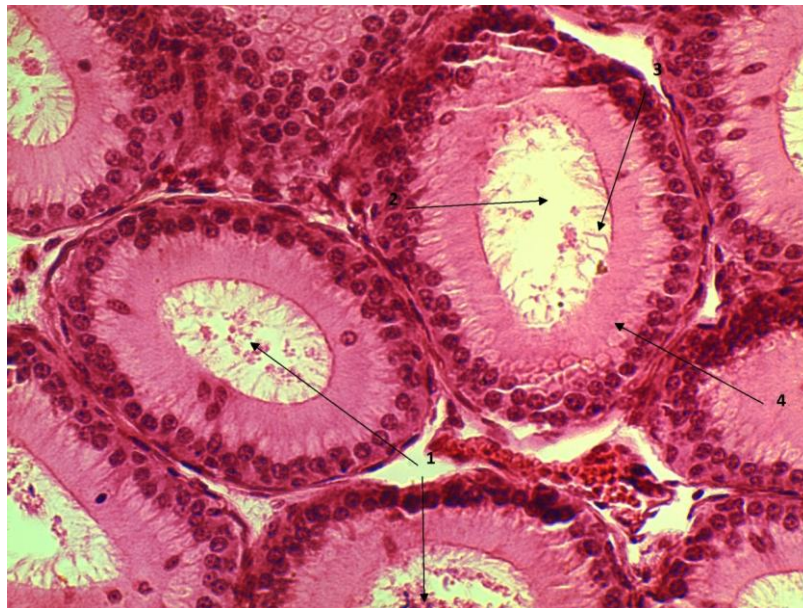


**Obrázek 39.: Příčný řez varletem myši domácí (*Mus musculus*) s detailem semenného kanálku (HE 400x):** 1. Leydigovy buňky, 2. bičinky spermii, 3. lumen semenotvorného kanálku, 4. Sertoliho buňky, 5. hlavička spermie, 6. různá stádia vývoje spermii

## 2) Nadvarle

Nadvarle (*epididymis*) patří mezi pohlavní vývody. Jeho hlavní funkcí je skladování a dozrávání spermií, které u člověka trvá zhruba 12 dní. Je složeno ze tří částí: hlavy (*caput*), těla (*corpus*) a ocasu (*cauda*). V hlavě jsou obsaženy kanálky nadvarlete (*ductuli efferentes testis*) (Lüllmann-Rauch, 2012). Tyto kanálky jsou vystlány kubickým epitelem s řasinkami nebo bez nich. Funkcí řasinek je především posun spermií, buňky bez řasinek slouží k absorpci tekutin vytvářených v semenotvorných kanálcích a zvyšování koncentrace spermií (Junqueira et al., 1999).

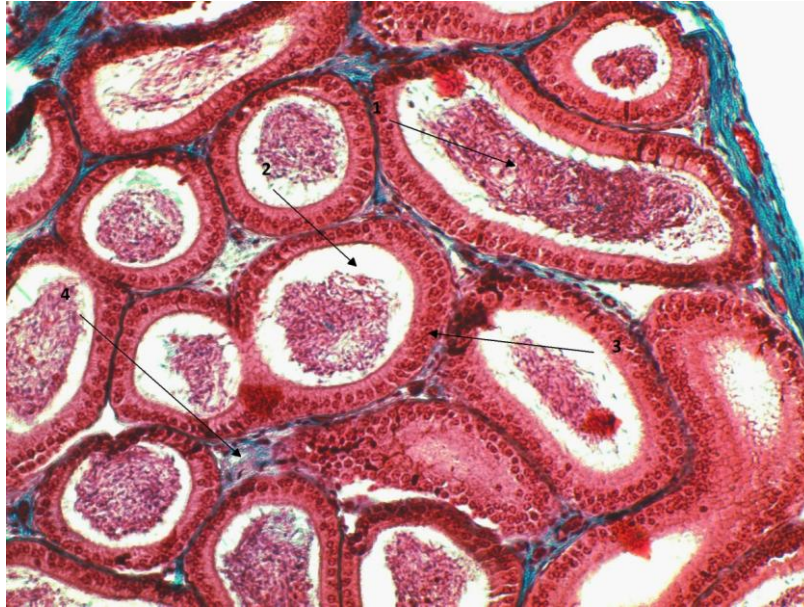
Tělo a ocas nadvarlete (*ductus epididymis*) má rovněž charakter kanálku. Vystlány jsou dvouřadým cylindrickým epitelem s dlouhými stereociliemi<sup>16</sup>. V epitelu rozlišujeme řadu hlavních buněk, které v kanálku udržují kyselé prostředí, tlumí tak aktivitu spermií (Lüllmann-Rauch, 2012).



**Obrázek 40.: Řez nadvarletem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 400x):**  
1. spermie, 2. lumen kanálku nadvarlete, 3. stereocilie, 4. cylindrický epitel

<sup>16</sup> Stereocilie samčích vývodních pohlavních cest jsou dlouhé flexibilní mikroklky.



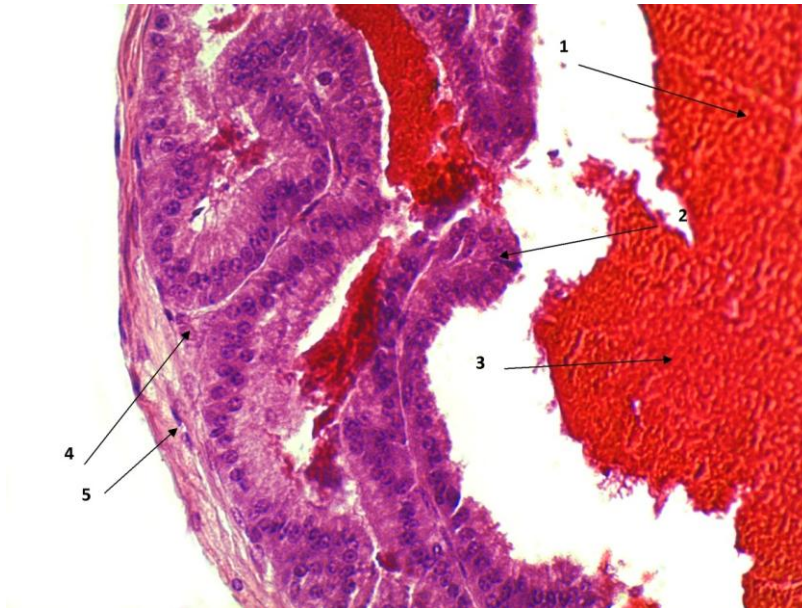


**Obrázek 41.: Řez nadvarletem myši domácí (*Mus musculus*) (MT 200x):**  
 1. spermie, 2. lumen kanálku nadvarlete, 3. epiteliální buňky, 4. pojivové vazivo

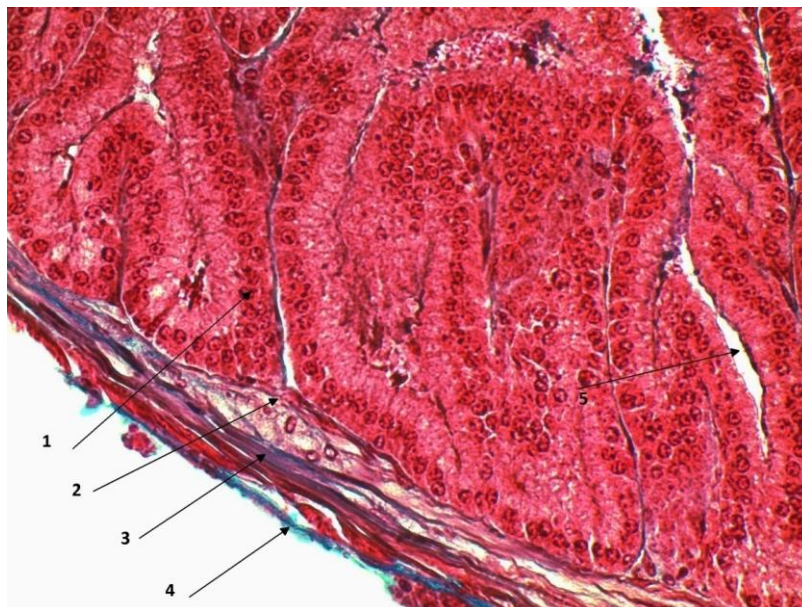
### 3) Semenné vāčky

Semenné vāčky (*glandulae vesiculosae*), jinak také mēchýřkovité žlázy, patří společně s předstojnou žlázou (*prostatou*) a bulbouretálními žlāzkami mezi pŕídatné pohlavní žlázy (Junqueira et al., 1999). Ontogeneticky se vyvíjejí jako vychlípěnína chāmovodu (*ductus deferens*) (Lüllmann et al., 2012). Jedná se o párový orgán trubicovitěho tvaru, jehož stěna je tvořena třemi vrstvami: sliznice, hladká svalovina a adventicie. Vrstva sliznice je kryta cylindrickým epitelem a skládá se do sekundárně až terciálně se větvcích řas, které lumen semenných vāčků rozdělují na celou řadu kompartmentů (Hach, 2003). Epitelové buňky vylučují slabě zásaditý (pH 7,6) sekret, který představuje až 70% ejakulátu a obsahuje látky aktivizující spermie (Lüllmann-Rauch, 2012). Mezi tyto látky patří například monosachrid frukóza, která představuje zdroj energie pro pohyb spermii (Junqueira et al., 1999).

Svalová vrstva stěny semenných vāčků je tvořena hladkou svalovinou, která se dělí na cirkulární a longitudální. Vnější vrstvu vāčků tvoří adventicie (Hach, 2003).



**Obrázek 42.: Příčný řez semenným vágkem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 400x):**  
 1. sekret epiteliálních buněk, 2. cylindrický epitel, 3. lumen semenných váčků,  
 4. lamina propria, 5. hladká svalovina



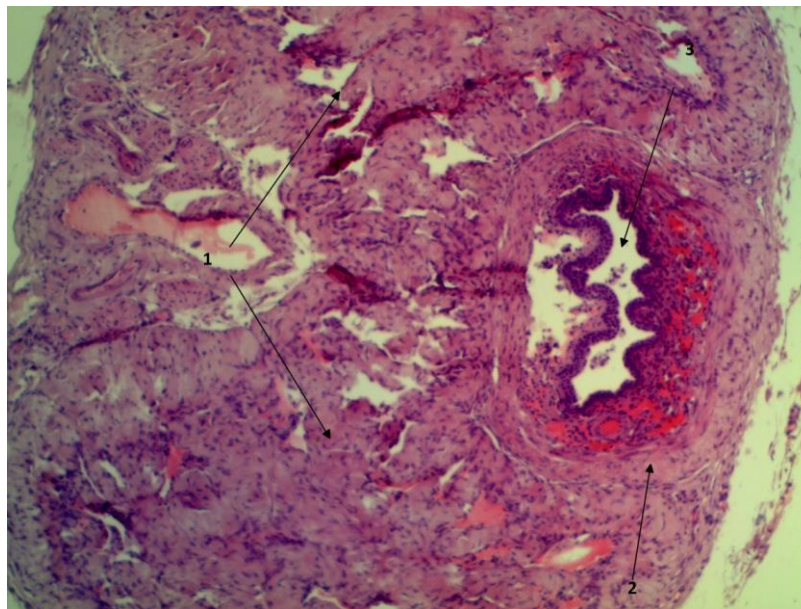
**Obrázek 43.: Příčný řez semennými váčky myši domácí (*Mus musculus*) (MT 400x):**  
 1. cylindrický epitel, 2. lamina propria, 3. hladká svalovina, 4. adventicie, 5. lumen semenných váčků

#### 4) Penis

Penis (pyj) patří mezi zevní pohlavní orgány muže. Skládá se ze tří topořivých těles: párových *corpora cavernosa penis*, která jsou do sebe oddělena neúplnou vazivovou přepážkou *septum penis*, a nepárové *corpus spongiosum urethrae*, které obklopuje močovou trubici (*urethra*) (Hach, 2003). Všechna tři topořivá tělesa jsou tvořena sítí dutin navzájem od sebe oddělených systémem přepážek, skládajících se z vaziva a hladké svaloviny. Zároveň jsou obklopena tuhým vazivovým obalem *tunica albuginea* (Lülmann-Rauch, 2012).

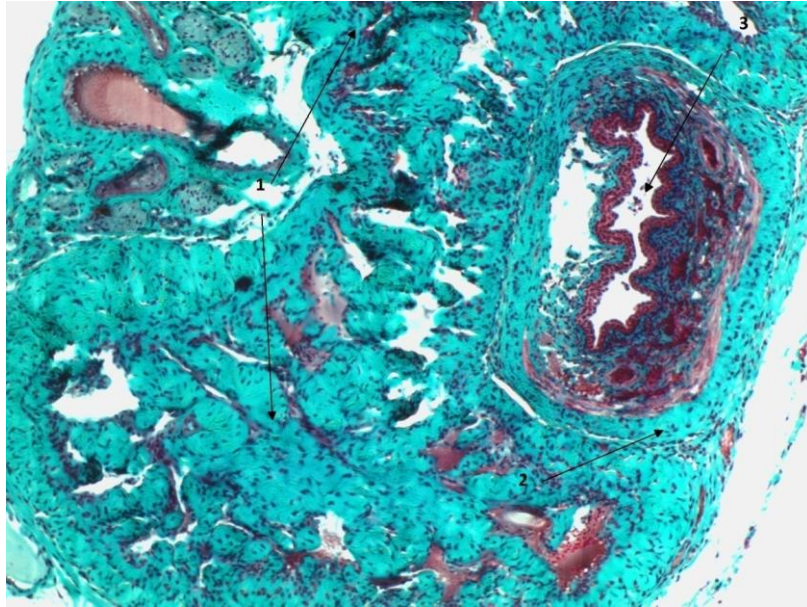
*Corpus cavernosum* je párové topořivé těleso, které vrůstá do periostu stydké kosti a vytváří útvar nazývaný *crura penis* (Hach, 2003). Centrem obou těles probíhá *arteria profunda penis*, která je zásobí tepennou krví. Zvýšení objemu tepenné krve v topořivých tělesech má za následek erekci, která je řízena vlákny parasymptiku (Jungueira et al., 1999).

*Corpus spongiosum urethrae* se na svém konci rozšiřuje a vytváří žalud ( *glans penis*). Až na tenčí vrstvu *tunica albuginea* s větším počtem elastických vláken se stavba tohoto topořivého tělesa podobá stavbě *corpus cavernosum* (Hach, 2003).



Obrázek 44.: Příčný řez penisem myši domácí (*Mus musculus*) (HE 100x):  
1. *corpora cavernosa*, 2. *corpus spongiosum*, 3. močová trubice (*urethra*)





**Obrázek 45.: Příčný řez penisem myši domácí (*Mus musculus*) (MT 100x):**  
1. *corpora cavernosa*, 2. *corpus spongiosum*, 3. močová trubice (*urethra*)



## 5. DISKUZE

### 5.1. DISKUSE ZVOLENÉ METODIKY ZHOTOVENÍ TRVALÝCH HISTOLOGICKÝCH PREPARÁTŮ

Trvalé histologické preparáty představují neocenitelnou výukovou pomůcku. Umožňují žákům samostatné pozorování a manipulaci s preparátem, která při studiu fotografií chybí. Žáci si mimo jiné také osvojují způsob práce s mikroskopem. Z provedeného dotazníkového šetření vyplynulo, že pouze 25% učitelů biologie na středních školách má přístup ke kvalitním trvalým histologickým preparátům v dostatečném množství. 40% učitelů má k dispozici pouze preparáty nekvalitní a 8% učitelů odpovědělo, že trvalé histologické preparáty nemají k dispozici vůbec. V rámci dotazníkového průzkumu jsem také zjišťovala, zda jsou učitelé schopni trvalé histologické preparáty sami vytvářet, popřípadě zda by měli zájem si tuto techniku osvojit. 55% respondentů uvedlo, že by mělo zájem se tuto techniku naučit, popřípadě rozšířit si stávající znalosti.

Jedním z cílů této diplomové práce je vytvoření interaktivního histologického atlasu. V rámci jeho tvorby jsem se rozhodla ověřit vybranou techniku zhotovení trvalých histologických preparátů od samotného začátku, tedy preparace orgánů, až po zalití do kanadského balzámu. Výsledkem laboratorní práce je jednak sada trvalých histologických preparátů a jednak podrobný návod na jejich přípravu, který je součástí interaktivního histologického atlasu. Účelem tohoto bodu atlasu je přiblížit pedagogům danou problematiku a provést je histologickou technikou krok za krokem.

Při tvorbě trvalých histologických preparátů jsem vycházela jednak z dostupné literatury a jednak z vlastních poznámek z předmětu Biologická a geologická školní technika vyučovaném na Pedagogické fakultě UK v Praze RNDr. Janem Mourkem PhD. Vlastní poznámky byly použity zejména v případě stanovování časů potřebných pro jednotlivé lázně. Přestože jsem se snažila dodržovat předepsané postupy, narazila jsem na celou řadu problémů (viz 3.1.7. Zhodnocení práce). Příčinu většiny problémů bylo možno zpětně dohledat v dostupné literatuře. Habrová (1986) často také uváděla možná řešení určitých potíží vzniklých při tvorbě preparátů. V literatuře se mi nepodařilo nalézt řešení pouze jediného problému, a to barvení lepicího média v okolí řezů. K dispozici jsem měla glycerolbílou vlastní výroby a roztok želatiny zapůjčený

z Katedry buněčné biologie Přírodovědecké fakulty UK v Praze. Přestože roztok želatiny se barvil méně než glycerolbílek, jako velice obtížná se ukázala správná orientace jednotlivých řezů, které se v kapce vody neustále pohybovaly a nebylo možné je udržet na místě. Z tohoto důvodu byla želatinou lepena pouze jedna sada řezů. Pro snížení barvitelnosti glycerolbítku se mi osvědčilo používání čerstvě připraveného roztoku (max. 1-2 měsíce starý) a umístění podložních skel k zaschnutí do termostatu, který byl nastaven na teplotu něco přes 30°C. V případě, že se lepící médium v okolí řezu přesto zabarvilo, použila jsem k úpravě fotografií určených do histologického atlasu grafický editor Gimp<sup>17</sup>.

V literatuře se uvádí (Habrová, 1986), že v případě správně zhotovených parafinových bločků, vytvářejí jednotlivé řezy při krájení souvislou pásku. Přestože jsem všechny parafinové bločky vytvářela o přibližně stejné velikosti a dodržovala jednotný postup přípravy, souvislá páska se mi při krájení vytvořila pouze v několika případech, například při zhotovování příčných řezů tenkým střevem. V tomto případě bylo možné pro napínání řezů použít parafinovou lázeň. Tato lázeň je naplněna vodou zahřátou na teplotu 35°C. Souvislé pásky vytvořené na mikrotomu jsou přenášeny pomocí plochého štětečku na hladinu vody, kde dochází k jejich narovnání. Na podložní sklo natřené glycerolbílkem jsou přeneseny jeho ponořením pod hladinu a plynulým tahem vzhůru. Jedná se o elegantní techniku nanášení většího množství řezů na podložní sklo najednou. K přenosu jednotlivých řezů není tato technika vhodná.

---

<sup>17</sup> <http://www.gimp.org/>

## 5.2. DISKUSE VÝSLEDKŮ DOTAZNÍKOVÉHO PRŮZKUMU

Dotazníkový průzkum byl zaměřen na zmapování stavu výuky histologie na středních školách. Z oslovených 1 069 učitelů se do výzkumu zapojilo 260. Přestože výsledky výzkumu nebyly podle mého názoru příliš překvapivé, odhalily některá zajímavá fakta.

Ze tří hypotéz stanovených v úvodu práce se po statistické analýze, kdy byl použit test  $\chi^2$ , potvrdila pouze jedna. Výsledky průzkumu potvrdily, že učitelé biologie na gymnáziích na rozdíl od učitelů ostatních středních škol využívají častěji k přípravě hodin histologie kromě středoškolských učebnic a internetu také vysokoškolské učebnice a atlasy. Učitelé na ostatních typech středních škol vedle středoškolských učebnic používají převážně internetové zdroje, zatímco vysokoškolské učebnice a atlasy používají méně často.

Jako statisticky nesignifikantní se ukázala hypotéza týkající závislosti mezi schopností vytvořit samostatně trvalé histologické preparáty a vystudovanou fakultou. V poslední nepotvrzené hypotéze jsem předpokládala, že učitelé, kteří nemají přístup ke kvalitním trvalým histologickým preparátům, budou mít větší zájem o využití interaktivního histologického atlasu, než učitelé, kteří ve školních sbírkách kvalitní trvalé preparáty mají. Průzkum ukázal, že zájem o využití této výukové pomůcky má 90% respondentů bez ohledu na vybavenost školních sbírek. Příčinu takto vysokého výsledku z části přikládám faktu, že se zpracováním histologie v používaných učebnicích je spokojeno pouze 40% respondentů.

Za poměrně překvapivý považuji zájem respondentů o kurzy histologické techniky. 55% respondentů uvedlo, že by mělo zájem si buďto rozšířit stávající znalosti této techniky nebo se ji naučit pod vedením externího lektora. Z tohoto důvodu se domnívám, že by mělo smysl zařadit toto téma v rámci kurzů dalšího vzdělávání učitelů. Jako potěšující vnímám fakt, který z průzkumu vyplynul, a to že se učitelé histologické tematické v 74% případů věnují vedle teoretických hodin i v průběhu laboratorních cvičení. Souvislost s tímto stavem by pravděpodobně bylo možno hledat ve skutečnosti, že 65% dotázaných uvedlo, že výuka histologie má význam především pro studenty přírodovědně zaměřené, tedy pro budoucí studenty lékařských a přírodovědeckých fakult, a pouze 33% vnímá histologii jako důležitou pro všechny

žáky bez rozdílu v zaměření. Bez ohledu na pohnutky se však učitelé snaží poměrně náročnou látku žákům co nejvíce přiblížit. Výše zmíněné výsledky také více či méně kopírují názor pedagogů na případný zájem studentů o rozšířenou výuku histologie.

Posledním zajímavým faktem, který z průzkumu vyplynul je, že učitelé zařazují histologickou tematiku v 90% do biologie člověka, v 70% do obecné a buněčné biologie a v 55% do zoologie. Histologie je tedy probírána na většině středních škol třikrát v rámci různých tematických celků, což podle mého názoru potvrzuje její významné postavení v rámci všeobecného vzdělání studentů.

### 5.3. DISKUSE INTERAKTIVNÍHO HISTOLOGICKÉHO ATLASU

Internetový interaktivní histologický atlas vznikl jako didaktický výstup této práce s cílem poskytnout pedagogům snadno dostupný zdroj informací, který je možno použít k přípravě hodin biologie. Součástí jedné z hypotéz stanovených při tvorbě dotazníku bylo, že učitelé vedle středoškolských učebnic používají k přípravě často internetové zdroje. Z tohoto důvodu jsem se rozhodla zveřejnit histologický atlas v internetové podobě. Výsledky dotazníkového šetření potvrdily počáteční předpoklad, protože cca 72% respondentů odpovědělo, že používá při přípravě hodin internetové stránky.

Další cílovou skupinu této výukové pomůcky představují přírodovědně zaměřeni studenti, kteří mají zájem rozšířit si metodou samostudia stávající znalosti. Jak je uvedeno níže, součástí histologického atlasu jsou také interaktivní testy, které mají za cíl ověřit znalosti žáků z určitého celku. V rámci testů je možno využít fotografie histologických řezů a celou řadu typů testových otázek. Interaktivní testy jsou vytvořeny za pomoci programu QuizCreator společnosti Wondershare. V úvodu je daný test vždy představen, z kolika otázek se test skládá, jaký je časový limit pro jeho vyplnění, popřípadě kolik bodů je nutných pro jeho splnění. Po odevzdání je test automaticky vyhodnocen a uživatelům je umožněno projít si správné odpovědi, případně získat zpětnou vazbu.

Domnívám se, že elektronické testování je pro žáky velice atraktivní, přestože elektronické testy zahrnují ve většině případů stejné typy otázek jako testy zadávané v papírové podobě. Velké pozitivum v případě elektronických testů vidím v tom, že je žákům umožněno například zvětšení obrázku, který mají za úkol popsat. Studenti si jej tak mohou lépe prohlédnout a nejsou odkázáni na kvalitu použité školní kopírky. Mají také možnost sledovat čas, který jim zbývá do odevzdání, a mohou si určit vlastní tempo práce. Nezanedbatelné plus elektronických testů spočívá v jejich automatickém vyhodnocení a opravě. Žáci díky tomu nemusí čekat několik dní, než jsou testy opraveny učitelem. Právě automatické vyhodnocení testů přináší žákům další možnosti v rámci domácí přípravy do hodin biologie, protože test mohou absolvovat z pohodlí domova. Zároveň se domnívám, že okamžitá zpětná vazba pomáhá žákům lépe a komplexněji pochopit učivo.

Výše uvedené předpoklady se zhruba shodují se závěry, ke kterým dospěli Ogilvie et al. (1999), kteří v průběhu tří let zkoumali postoje studentů Lékařské fakulty na University of South Carolina k elektronickému testování. Studenti, kteří se elektronického testování účastnili, jej v závěru měli za úkol zhodnotit. 82% respondentů uvedlo, že elektronické testování pozitivně ovlivnilo jejich studijní návyky, pouze 9% respondentů se k tomuto způsobu testování stavělo v závěru negativně. Většina studentů testy popsala jako zábavné, časově méně náročné a informativně hodnotnější než testy papírové.

Přestože elektronické testování s sebou přináší oproti testům papírovým celou řadu výhod, domnívám se, že papírové testy v nejbližší době ze středních škol v ČR vytlačeny nebudou. Nároky na technické vybavení, které s elektronickým testováním souvisejí, jsou příliš velké. Jsem však toho názoru, že by tyto testy mohly postupem času představovat důležitou součást domácí přípravy studentů.

Problematicke použití elektronických testů ve výuce se v současné době věnuje celá řada autorů. Studie ukazují, že elektronické testy zvyšují vnitřní motivaci studentů. Dochází také ke snížení času potřebného pro vyplnění testu (Chua, 2012). De-Siqueira et al. (2009) tento úkaz spojuje s věkem respondentů, protože čím mladší je respondent (myšleno v rámci studentů a zaměstnanců VŠ), tím rychleji je schopen na počítači psát. 96% respondentů této studie také uvedlo, že upřednostňují elektronické testy před testy papírovými navzdory tomu, že se při vyplňování papírových testů cítí jistější. Chua (2012) v další studii poukazuje na absenci rozdílu v dosažených výsledcích u papírových a elektronických testů. Zároveň však upozorňuje na fakt, že se výzkum zabýval pouze psychologickými testy, nikoli výkonovými. Skóre dosažené ve výkonových testech posuzoval Akdemir (2008). Dospěl k závěru, že výsledky výkonových testů zadaných v elektronické a papírové podobě se neliší.

Vztahem mezi obtížností testové položky a přítomností multimediálního objektu (video, obrázek) se zabýval Hao (2010). Výsledky výzkumu ukázaly, že tato souvislost skutečně existuje. Zatímco položky hodnoceny jako jednoduché byly častěji zodpovězeny správně v případě absence multimediálního objektu (pouze text), položky hodnoceny jako středně těžké byly častěji zodpovězeny správně při použití multimédia. Příčinu tohoto jevu Hao připisuje faktu, že multimediální položka u lehkých otázek zbytečně rozptyluje a má tedy spíše negativní dopad. U obtížnější položky naopak

obrázek nebo video umožňuje lepší orientaci a je tedy hodnocen kladně. Předpokládanému trendu se podle studie vymykají nejobtížnější otázky. Přestože rozdíl nebyl příliš veliký, byly tyto otázky zodpovězeny správně častěji bez přítomnosti multimediálního objektu. Dále bych zde ráda zmínila názor, který ve své práci vyslovil Chua (2012), a to že používáním elektronických testů by došlo k výraznému omezení spotřeby papíru a tedy ke snížení ekologické stopy.

Při tvorbě internetové podoby interaktivního histologického atlasu jsem měla na zřeteli zejména jeho další využití. Snažila jsem se o celkovou přehlednost a jednoduché ovládání. Z tohoto důvodu jsem do atlasu zařadila dvojí způsob navigace: hlavní nabídku umístěnou horizontálně v horní části stránky a vertikální nabídku, v níž jsou zobrazeny podkapitoly prohlíženého celku. Mým dalším cílem bylo co nejvíce vyjít vstříc přáním samotných pedagogů. Z tohoto důvodu jsem v rámci dotazníkového šetření zjišťovala, co by jednotliví respondenti uvítali jako součást atlasu. Osobně jsem navrhla několik bodů (viz Příloha 2: Dotazník otázka č. 19) a zároveň jsem respondentům umožnila vyplnit vlastní návrhy.

Výsledná podoba interaktivního atlasu obsahuje následující hlavní kapitoly: Úvod, Myš domácí, Tvorba histologických řezů, Orgánové soustavy a O webu. V úvodu je histologický atlas představen, tzn. jeho účel a obsah. Kapitola Myš domácí obsahuje jednak biologii myši domácí a jednak návod k její pitvě. Pro lepší názornost jsem do této části atlasu zařadila fotografickou dokumentaci pitvy a video zachycující její průběh.

Kapitola Tvorba histologických řezů obsahuje rešeršní zpracování dostupné literatury zabývající se problematikou tvorby trvalých histologických preparátů a podrobný návod k jejich přípravě. Součástí tohoto návodu je časové rozvržení jednotlivých kroků a případná úskalí, se kterými jsem se v průběhu tvorby trvalých preparátů osobně setkala. Kapitola Orgánové soustavy obsahuje samotný histologický atlas. Součástí tohoto atlasu je fotografická dokumentace s popisky jednotlivých struktur, teoretický výklad zabývající se zdokumentovanými orgány, pdf soubor umožňující stažení výkladu do počítače a interaktivní testy navržené na základě obsahu kapitoly.

Závěrečná kapitola O webu obsahuje seznam literatury použité k vytvoření histologického atlasu, knihu návštěv, ve které mohou návštěvníci komunikovat s autorkou atlasu i se sebou navzájem, a poděkování všem, kteří umožnili vznik tohoto atlasu.

První veřejně dostupný virtuální histologický atlas (Virtual Slidebox<sup>18</sup>) byl vytvořen na University of Iowa v roce 2000 (Scoville a Buskirk, 2007). Pilotní verze atlasu zahrnovala orgány vylučovací soustavy, endokrinní soustavy a mužské pohlavní soustavy. Uživatel tohoto atlasu měl možnost posouvat vzorek v různých směrech, zvětšovat jej, přidávat a ztlumovat světlo. Uživatel tak měl stejnou možnost práce se vzorkem jako při použití světelného mikroskopu. Internetový přístup k tomuto atlasu byl umožněn studentům, kteří současně navštěvovali laboratorní cvičení. V závěru kurzu pak měli studenti za úkol tuto výukovou pomůcku ohodnotit. Studenti atlas hodnotili kladně. Oceňovali zejména možnost prohlížení v kteroukoliv denní dobu, možnost pohybovat preparátem a přibližovat jej. Jako nedostatek studenti často jmenovali absenci popisků jednotlivých struktur, bez kterých bylo pro nezkušené uživatele obtížné se v atlasu orientovat (Harris et al., 2001).

Harris et al. (2001) se v závěru práce představující výše uvedený atlas zamýšlel nad budoucností virtuální histologie. Jak výzkum ukázal, přínos této pomůcky, jakožto doplňku k laboratorním cvičením je nezanedbatelný. Otázkou však zůstává, zda je možno nahradit klasickou výuku histologie, tedy výuku za použití trvalých histologických preparátů a mikroskopu, výukou virtuální. Srovnání efektivity výuky histologie při použití klasických výukových metod a virtuální histologie zkoumali Scoville a Buskirk (2007). Ve výsledcích studentů podaných při zkouškách nezaznamenali signifikantní rozdíl. V závěrečném dotazníku však 41% studentů uvedlo, že preferují klasickou formu výuky.

Fakt, že jsou virtuální histologické atlasy ve výuce na univerzitách stále častější, dokazují Merk et al. (2010). Ve své práci mimo jiné uvádějí seznam dalších univerzit, které po vzoru University of Iowa vytvořily vlastní virtuální histologické atlasy. Mezi

---

<sup>18</sup> <http://www.path.uiowa.edu/virtualslidebox/>



tyto univerzity například patří: University of Basel<sup>19</sup> nebo University of Zürich<sup>20</sup>, která do virtuálního atlasu zahrnula také popisky viditelných struktur.

Domnívám se, že k úplnému nahrazení klasické výuky histologie na akademické půdě v nejbližší době nedojde. Přestože virtuální histologické atlasy jsou neocenitelnou pomůckou pro samostudium studentů, zejména proto že jsou přístupné v kteroukoliv denní dobu, praktickou zkušenost s používáním mikroskopů nenahradí.

---

<sup>19</sup> <http://vmic.unibas.ch/patho/>

<sup>20</sup> <http://www.pathol.uzh.ch/histologiekurs/>

## 6. ZÁVĚR

Splnila jsem všechny cíle diplomové práce, jež jsem si stanovila v jejím úvodu. Součástí diplomové práce je literární rešerše histologických technik se zaměřením na parafínovou metodu. Metoda přípravy parafínových řezů a následného barvení hematoxylinem-eosinem a Massonovým trichromem byla ověřena v praxi (viz kapitola 3.1. Zvolená metodika zhotovení trvalých histologických preparátů) a zmapována tak, aby byl čtenář schopen postup samostatně realizovat a současně se vyvaroval úskalí, která tato technika s sebou přináší. Vyzvednuty byly obtíže, se kterými jsem se v průběhu práce osobně setkala, a byly popsány postupy, jež jsem použila na jejich nápravu.

Provedla jsem dotazníkové šetření mapující stav výuky histologie na středních školách v rámci celé České republiky. Tohoto průzkumu se zúčastnilo 260 středoškolských pedagogů, jejichž odpovědi poskytly základ pro další práci. Průzkum ukázal, že ačkoliv 98% respondentů považuje výuku histologie za důležitou, pouze 33% z nich ji považuje za přínos pro všechny žáky bez ohledu na jejich budoucí povolání. Obdobně dopadl i předpoklad učitelů týkající se zájmu žáků o rozšířenou výuku histologie.

Ze tří hypotéz stanovených v úvodu práce byla výsledky dotazníkového průzkumu podpořena pouze hypotéza zabývající se využitím dalších informačních zdrojů učiteli na různých typech středních škol. Z průzkumu vyplynulo, že učitelé na gymnáziích, na rozdíl od učitelů ostatních středních škol, používají častěji k přípravě hodin histologie kromě středoškolských učebnic a internetu také vysokoškolské učebnice a atlasy. Učitelé na jiných typech středních škol vedle středoškolských učebnic používají převážně internetové zdroje. Jako statisticky nesignifikantní se ukázaly rozdíly ve schopnostech absolventů pedagogických a přírodovědeckých fakult samostatně připravit trvalé histologické preparáty a v zájmu učitelů středních škol o využití interaktivního histologického atlasu.

Vytvořený internetový interaktivní histologický atlas má sloužit jako výuková pomůcka učitelům biologie, případně jako zdroj informací žákům v rámci samostudia. Součástí histologického atlasu jsou především originální popsané fotografie histologických řezů vybranými orgány myši domácí (*Mus musculus*), teoretický výklad

humánní histologie zabývající se těmito orgány a interaktivní testové úlohy navržené na základě prezentované látky. Při tvorbě histologického atlasu bylo přihlíženo k výsledkům dotazníkového šetření. Jelikož 55% respondentů projevilo zájem o rozšíření znalostí nebo účast na kurzu týkajícího se histologických technik, byla do atlasu zařazena kapitola podrobně se věnující zvolené metodě přípravy trvalých histologických preparátů.

Jelikož 90% respondentů dotazníkového šetření vyjádřilo zájem o zaslání hypertextového odkazu na zveřejněný interaktivní histologický atlas, věřím, že v budoucnu najde uplatnění při přípravě učitelů na hodiny biologie.

## 7. SEZNAMY

### 7.1. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Akdemir, O. (2008)** Computer-based testing: An alternative for the assessment of Turkish undergraduate students. *Computers & Education*, 51, 1198–1204.
- Altmann, A. Lišková, E. (1979)** *Praktikum ze zoologie*, 1st ed.; SPN: Praha.
- Bienertová Vašků, J. et al.** Praktikum z patologické fyziologie. Informační systém Masarykovy univerzity. [http://is.muni.cz/do/1499/el/estud/lf/ps06/3050988/Praktikum\\_z\\_patologicke\\_fyziologie.pdf](http://is.muni.cz/do/1499/el/estud/lf/ps06/3050988/Praktikum_z_patologicke_fyziologie.pdf) (accessed Nov 11, 2012).
- Buchar, J. (1993)** *Práce ze zoologie*, 2nd ed.; Karolinum: Praha. 257s.
- Conti, C. (2004)** Atlas of Laboratory Mouse Histology. <http://ctrngenpath.net/static/atlas/mousehistology/Windows/introduction.html> (accessed April 01, 2013).
- Čech, S. (2003-2006)** MedAtlas. [http://www.med.muni.cz/histol/MedAtlas\\_2/medatlas.php](http://www.med.muni.cz/histol/MedAtlas_2/medatlas.php) (accessed April 01, 2013).
- De-Siqueira, J.; Peris-Fajarnes, G.; Gimenez, F.; Magal-Royo, T. (2009)** Spanish students and teachers' preferences towards computer-based and paper-and-pencil tests at universities. *Social and Behavioral Sciences*, 1, 814–817.
- Gaisler, J.; Zima, J. (2007)** *Zoologie obratlovců*, 2nd ed.; Academia: Praha. 692 s.
- Habrová, V. (1986)** *Biologická technika - Mikroskopické a histologické metody*, 1st ed.; SPN: Praha.
- Hach, P. Jirsová, Z. Těšík I. (2003)** *Histologie II.*, 1st ed.; Karolinum: Praha. 81s.
- Hao, Y. (2010)** Does multimedia help students answer test items?. *Computers in Human Behavior*, 26, 1149–1157.
- Harris, T.; Leaven, T.; Heidger, P.; Kreiter, C.; Duncan, J.; Dick, F. (2001)** Comparison of a Virtual Microscope Laboratory to a Regular Microscope Laboratory for Teaching Histology. *The Anatomical Record*, 265, 10–14.
- Chráška, M. (2006)** *Úvod do výzkumu v pedagogice*, 2nd ed.; Univerzita Palackého: Olomouc. 200 s.

- Chua, Y. (2012)** Effects of computer-based testing on test performance and testing motivation. *Computers in Human Behavior*, 28, 1580–1586.
- Chua, Y. (2012)** Replacing paper-based testing with computer-based testing in assessment: Are we doing wrong?. *Social and Behavioral Sciences*, 64, 655–664.
- Jebavý, L.; et al. (2011)** *Chov laboratorních zvířat*, 1st ed.; Česká zemědělská univerzita: Praha. 201s.
- Jelínek, R.; et al. (2013)** Histologie, embryologie. Oddělení histologie a embryologie 3. lékařské fakulty v Praze. [http://old.lf3.cuni.cz/ustavy/histologie/doc/Skripta\\_00.pdf](http://old.lf3.cuni.cz/ustavy/histologie/doc/Skripta_00.pdf) (accessed March 30, 2013).
- Jirovec, O. (1958)** *Zoologická technika*, 3rd ed.; SPN: Praha. 314s.
- Junqueira, C.; Carneiro J.; Kelly, R. (1999)** *Základy histologie*, 7th ed.; H&H: Jinočany. 502s.
- Kittnar, O. (2003)** *Fyziologie oběhu krve a lymfy* pp.179-294. In Trojan, S.; et al. *Lékařská fyziologie*, 4th ed.; Grada: Praha. 771s.
- Lelláková, F.; Čern, Ž.; Habrová, V.; Chvála, M.; Stoklasa, J.; Vohralík, V. (1985)** *Zoologická technika*, 1st ed.; Karolinum: Praha. 122s.
- Lüllmann-Rauch, R. (2012)** *Histologie*, 3rd ed.; Grada: Praha. 556s.
- Machová, J. (2002)** *Biologie člověka pro učitele*, 1st ed.; Karolinum: Praha. 269s.
- Mareš, J. (2003)** *Fyziologie trávení a vstřebávání* pp.321-390. In Trojan, S.; et al. *Lékařská fyziologie*, 4th ed.; Grada: Praha. 771s.
- Mareš, V. (2013)** *Obecná zoologie* [online]; Přírodovědecká fakulta Univerzity J.E. Purkyně: Ústí nad Labem, 7.3.2013; p 33.  
[http://biology.ujep.cz/vyuka/file.php/1/opory/Skripta\\_OZ\\_080313.pdf](http://biology.ujep.cz/vyuka/file.php/1/opory/Skripta_OZ_080313.pdf) (accessed March 18, 2013).
- Martínek, J.; Vacek, Z. (2009)** *Histologický atlas*, 1st ed.; Grada: Praha. 134s.
- Merk, M.; Knuechel, R.; Perez-Bouza, A. (2010)** Web-based virtual microscopy at the RWTH Aachen University: Didactic concept, methods and analysis of acceptance by the students. *Annals of Anatomy*, 192, 383–387.
- Mescher, A. (2010)** *Jungueira's Basic Histology*, 12th ed.; McGraw Hill: Singapore. 467s.

- Mourek, J. (2002)** Půdní pancířníci (Acari, Oribatida) primárních borů a porostů introdukované borovice vejmutovky (*Pinus strobus*) v NP České Švýcarsko. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta. 294 s.
- Nejedlý, K. (1967)** *Biologie a soustavná anatomie laboratorních zvířat*, 2nd ed.; SPN: Praha. 636s.
- Odcházelová, T. (2012)** Zoologické preparační techniky ve školní praxi. Diplomová práce, Pedagogická fakulta Univerzity Karlovy v Praze. 177 s.
- Ogilvie, R.; Trusk, T.; Blue, A. (1999)** Students' attitudes towards computer testing in a basic science course. *Medical Education*, 33, 828–831.
- Paleček, J. (1987)** Obecná zoologie - Praktická cvičení II. - Tkáně a orgány živočichů, 1st ed.; SPN: Praha. 224s.
- Pokorný, J.; Langmeier, M. (2003)** *Integrační funkce CNS*. pp 682–693. Ex Trojan, S.; et al. *Lékařská fyziologie*, 4th ed.; Grada: Praha. 771s.
- Scoville, S.; Buskirk, T. (2007)** Traditional and Virtual Microscopy Compared Experimentally in a Classroom Setting. *Clinical Anatomy*, 20, 565–570.
- Sigmund, L.; Bajtlerová, P. (1970)** *Pitevni praktikum obratlovců – pitva plotice, skokana, holuba a krysy*, 1st ed.; Karolinum: Praha. 85s.
- Suckow, M. Danneman, P. Brayton, C. (2000)** *The laboratory mouse*, 1st ed. [online]; CRC Press. <http://www.scribd.com/doc/87809679/The-Laboratory-Mouse-By-Mark-a-Suckow-Peggy-Danneman-Cory-Brayton> (accessed Nov 08, 2012).
- Tallitsch, R.; Gaustaferrri, R. (2009)** *Histology - an identification manual*, 1st ed.; Mosby Elsevier: Philadelphia. 292s.
- Trojan, S.; et al. (2003)** *Lékařská fyziologie*, 4th ed.; Grada: Praha. 771s.
- Vajner, L. Uhlík, J, Konrádová, V. (2010)** *Lékařská histologie I.*, 1st ed.; Karolinum: Praha. 110s.
- Wouterlood, F. (2008)** Central Nervous System Histology. Histology World. <http://www.histology-world.com/photoalbum/displayimage.php?pid=3259&fullsize=1> (accessed April 09, 2013).

## ZÁKONY A VYHLÁŠKY

### **Zákon o ochraně přírody a krajiny, 114/1992 Sb.**

(<http://portal.gov.cz/app/zakony/download?idBiblio=39807&nr=114~2F1992~20Sb.&ft=pdf>) (accessed April 26, 2013)

### **Zákon na ochranu zvířat proti týrání, 246/1992 Sb.**

(<http://portal.gov.cz/app/zakony/download?idBiblio=39964&nr=246~2F1992~20Sb.&ft=pdf>) (accessed April 26, 2013)

### **Zákon o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů, 166/1999 Sb.**

(<http://portal.gov.cz/app/zakony/download?idBiblio=47908&nr=166~2F1999~20Sb.&ft=pdf>) (accessed April 26, 2013)

### **Vyhláška č. 419/2012 o ochraně pokusných zvířat**

(<http://portal.gov.cz/app/zakony/download?idBiblio=78589&nr=419~2F2012~20Sb.&ft=pdf>) (accessed April 26, 2013)

### **Směrnice evropského parlamentu a rady o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely, 2010/63/EU**

(<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:CS:PDF>) (accessed April 26, 2013)

## 7.2. SEZNAM TABULEK

<b>Tabulka 1.:</b> Vybraná základní anatomická a fyziologická data myši domácí (upraveno podle Jebavého, 2011). .....	<b>6</b>
<b>Tabulka 2.:</b> Jednotlivé kroky při přípravě tkání k tvorbě histologických preparátů (Junguiera et al., 1999). .....	<b>30</b>
<b>Tabulka 3.:</b> Standardní histologické barvení (Lüllmann-Rauch, 2012) .....	<b>33</b>
<b>Tabulka 4.:</b> Vzestupná alkoholová řada (závislost velikosti bločku na čase) (převzato z poznámek ke kurzu Biologická a geologická školní technika z roku 2010). .....	<b>37</b>
<b>Tabulka 5.:</b> Souhrn splnění stanovených kritérií jednotlivými programy pro tvorbu interaktivních testů. ....	<b>48</b>

### 7.3. SEZNAM GRAFŮ

<b>Graf 1.:</b> Zastoupení pohlaví mezi respondenty.....	<b>59</b>
<b>Graf 2.:</b> Věkové rozložení respondentů.....	<b>60</b>
<b>Graf 3.:</b> Průměrná délka pedagogické praxe respondentů jednotlivých věkových kategorií.....	<b>60</b>
<b>Graf 4.:</b> Věkový průměr respondentů v jednotlivých krajích.....	<b>61</b>
<b>Graf 5.:</b> Zastoupení jednotlivých krajů ve vzorku respondentů.....	<b>61</b>
<b>Graf 6.:</b> Rozložení respondentů z hlediska typů škol.....	<b>62</b>
<b>Graf 7.:</b> Seznam nejčastěji používaných učebnic se zastoupením histologie.....	<b>64</b>
<b>Graf 8.:</b> Zastoupení histologie v učebnicích, které učitelé uvedli v dotazníku jako používané.....	<b>65</b>
<b>Graf 9.:</b> Spokojenost učitelů se zpracováním histologie v jednotlivých učebnicích.....	<b>66</b>
<b>Graf 10.:</b> Porovnání spokojenosti učitelů se zpracováním histologie v používaných učebnicích.....	<b>66</b>
<b>Graf 11.:</b> Využívání informačních zdrojů učiteli biologie při přípravě na hodinu.....	<b>67</b>
<b>Graf 12.:</b> Využití dalších informačních zdrojů učiteli na jednotlivých typech středních škol.....	<b>68</b>
<b>Graf 13.:</b> Zájem respondentů o využití interaktivního výukového atlasu ve výuce.....	<b>69</b>
<b>Graf 14.:</b> Zájem projevený o zaslání odkazu na interaktivní histologický atlas v závislosti na kvalitě trvalých histologických preparátů, které mají učitelé k dispozici.....	<b>69</b>
<b>Graf 15.:</b> Návrhy učitelů na obsah interaktivního histologického atlasu.....	<b>71</b>
<b>Graf 16.:</b> Názor učitelů na zájem studentů o rozšířenou výuku histologie.....	<b>72</b>
<b>Graf 17.:</b> Názor učitelů na smysl výuky histologie.....	<b>72</b>
<b>Graf 18.:</b> Výuka histologie v rámci jednotlivých tematických celků.....	<b>73</b>
<b>Graf 19.:</b> Srovnání organizačních forem výuky histologie na jednotlivých typech středních škol.....	<b>74</b>
<b>Graf 20.:</b> Stav školních sbírek histologických preparátů.....	<b>75</b>
<b>Graf 21.:</b> Schopnost učitelů vytvořit trvalé histologické preparáty a případný zájem o rozšíření znalostí.....	<b>75</b>
<b>Graf 22.:</b> Závislost schopnosti samostatné tvorby trvalých histologických preparátů na vystudované fakultě.....	<b>76</b>

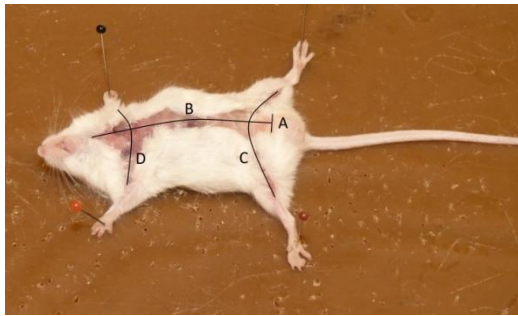


#### 7.4. SEZNAM OBRÁZKŮ

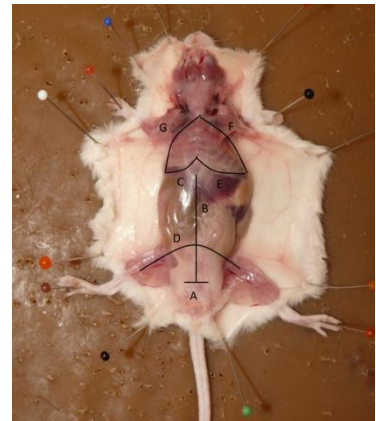
<b>Obrázek 1.:</b> A) Schéma řezů (A-D) znázorňující postup při preparaci kůže z ventrální strany těla.....	<b>13</b>
<b>Obrázek 2.:</b> Útvary ventrální strany těla po odpreparování kůže (Buchar, 1993). .....	<b>14</b>
<b>Obrázek 3.:</b> Pohled do dutiny hrudní po odpreparování hrudníku (Buchar, 1993).....	<b>15</b>
<b>Obrázek 4.:</b> Orgány dutiny břišní po odpreparování kůže a svalů břišních (Buchar, 1993).....	<b>16</b>
<b>Obrázek 5.:</b> Pohled do dutiny břišní po vypreparování trávicí soustavy (Buchar, 1993). .....	<b>17</b>
<b>Obrázek 6.:</b> Preparace mozku (Buchar, 1993). .....	<b>18</b>
<b>Obrázek 7.:</b> Klasifikace krycích epitelů (upraveno podle Lüllmann-Rauch, 2012).....	<b>78</b>
<b>Obrázek 8.:</b> Příčně pruhovaná svalovina na příčném řezu jazykem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 400x).....	<b>82</b>
<b>Obrázek 9.:</b> Příčný řez příčně pruhovanou svalovinou myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 400x) .....	<b>83</b>
<b>Obrázek 10.:</b> Příčný řez příčně pruhovanou svalovinou myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (MT 400x) .....	<b>83</b>
<b>Obrázek 11.:</b> Schematické uspořádání sarkomem: červeně myosin, černě aktin (upraveno podle Machové, 2002).....	<b>84</b>
<b>Obrázek 12.:</b> Příčný řez tlustým střevem se silnou vrstvou okružní hladké svaloviny (HE 400x) .....	<b>88</b>
<b>Obrázek 13.:</b> Srdeční svalovina na podélném řezu srdcem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 400x).....	<b>89</b>
<b>Obrázek 14.:</b> Podélný řez srdcem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 40x).....	<b>92</b>
<b>Obrázek 15.:</b> Řez plícemi myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (MT 200x) .....	<b>96</b>
<b>Obrázek 16.:</b> Řez plícemi myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (MT 400x) .....	<b>96</b>
<b>Obrázek 17.:</b> Příčný řez mozečkem krysy potkana ( <i>Rattus norvegicus</i> ) (HE 4x) (zapůjčeno z výukových sbírek PřF UK v Praze) .....	<b>98</b>
<b>Obrázek 18.:</b> Příčný řez mozečkem krysy potkana ( <i>Rattus norvegicus</i> ) (HE 400x) (zapůjčeno z výukových sbírek PřF UK v Praze) .....	<b>98</b>
<b>Obrázek 19.:</b> Příčný řez hipokampem krysy potkana ( <i>Rattus norvegicus</i> )(HE 100x) (zapůjčeno z výukových sbírek PřF UK v Praze) (Wouterlood 2008).....	<b>99</b>
<b>Obrázek 20.:</b> Řez brzlíkem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 200x).....	<b>101</b>
<b>Obrázek 21.:</b> Detail řezu brzlíkem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 400x) .....	<b>101</b>
<b>Obrázek 22.:</b> Řez slezinou myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 200x).....	<b>103</b>
<b>Obrázek 23.:</b> Příčný řez kůží myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 400x) .....	<b>106</b>
<b>Obrázek 24.:</b> Příčný řez kůží myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (MT 400x) .....	<b>107</b>
<b>Obrázek 25.:</b> Příčný řez jazykem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 200x) .....	<b>108</b>
<b>Obrázek 26.:</b> Příčný řez jazykem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (MT 400x).....	<b>109</b>
<b>Obrázek 27.:</b> Příčný řez tenkým střevem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 400x) ..	<b>110</b>
<b>Obrázek 28.:</b> Příčný řez tlustým střevem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 100x) ..	<b>112</b>
<b>Obrázek 29.:</b> Příčný řez tlustým střevem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (MT 400x)..	<b>112</b>
<b>Obrázek 30.:</b> Řez játry myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 100x).....	<b>114</b>

<b>Obrázek 31.:</b> Řez slinivkou břišní myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 400x) .....	<b>116</b>
<b>Obrázek 32.:</b> Příčný řez stěnou žlučníku myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (MT 400x) ..	<b>117</b>
<b>Obrázek 33.:</b> Příčný řez stěnou žlučníku myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 200x)...	<b>117</b>
<b>Obrázek 34.:</b> Podélný řez kůrou ledviny myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 200x)...	<b>120</b>
<b>Obrázek 35.:</b> Příčný řez močovým měchýřem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 40x) .....	<b>122</b>
<b>Obrázek 36.:</b> Příčný řez močovým měchýřem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (MT 100x) .....	<b>122</b>
<b>Obrázek 37.:</b> Příčný řez penisem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) s močovou trubicí (HE 100X).....	<b>123</b>
<b>Obrázek 38.:</b> Příčný řez varletem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 100x).....	<b>126</b>
<b>Obrázek 39.:</b> Příčný řez varletem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) s detailem semenného kanálku(HE 400x) .....	<b>126</b>
<b>Obrázek 40.:</b> Řez nadvarletem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 400x) .....	<b>127</b>
<b>Obrázek 41.:</b> Řez nadvarletem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (MT 200x).....	<b>128</b>
<b>Obrázek 42.:</b> Příčný řez semenným vágkem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 400x) .....	<b>129</b>
<b>Obrázek 43.:</b> Příčný řez semennými vágky myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (MT 400x) .....	<b>129</b>
<b>Obrázek 44.:</b> Příčný řez penisem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (HE 100x).....	<b>130</b>
<b>Obrázek 45.:</b> Příčný řez penisem myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (MT 100x).....	<b>131</b>
<b>Obrázek 46.:</b> Pitva myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (Foto: Mourek, J.).....	<b>150</b>
<b>Obrázek 47.:</b> Pitva myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (Foto: Mourek, J.).....	<b>150</b>
<b>Obrázek 48.:</b> Pitva myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (Foto: Mourek, J.).....	<b>150</b>
<b>Obrázek 49.:</b> Pitva myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (Foto: Mourek, J.).....	<b>150</b>
<b>Obrázek 50.:</b> Pitva myši domácí ( <i>Mus musculus</i> ) (Foto: Mourek, J.):.....	<b>150</b>

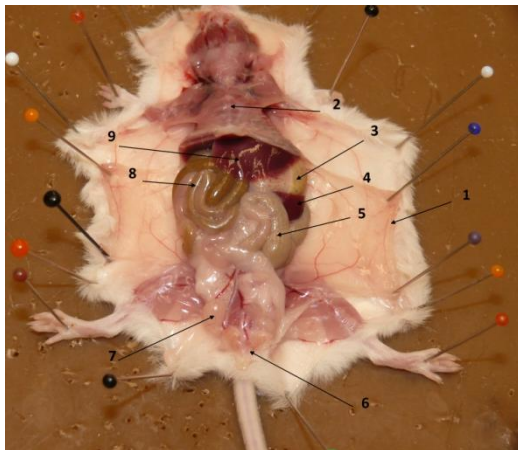
## 8. PŘÍLOHY 1: Fotodokumentace pitvy myši domácí



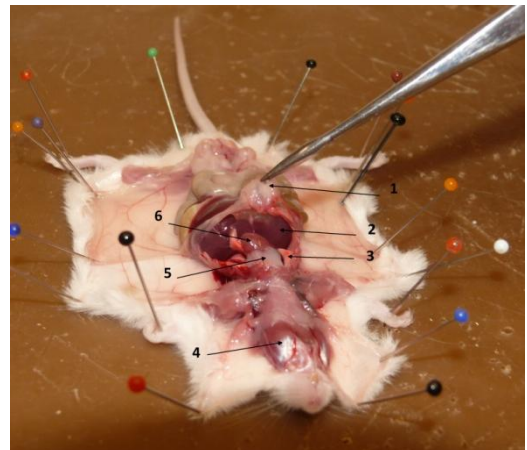
Obrázek 46.: Pitva myši domácí (*Mus musculus*) (Foto: J. Mourek):  
Směry stříhu kůže



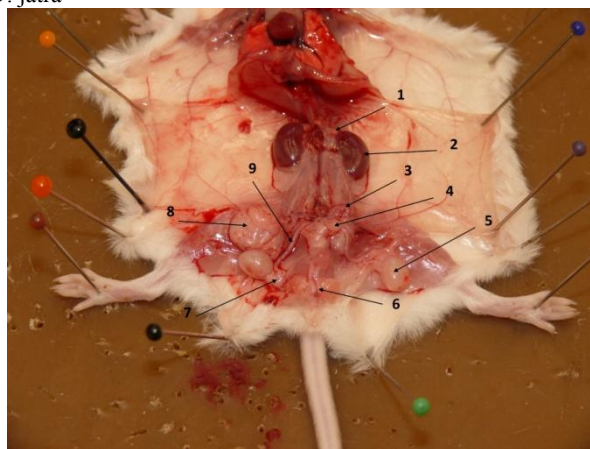
Obrázek 47.: Pitva myši domácí (*Mus musculus*) (Foto: J. Mourek): Pohled po odpreparování kůže, směry stříhu pro otevření břišní a hrudní dutiny



Obrázek 48.: Pitva myši domácí (*Mus musculus*)  
(Foto: J. Mourek): Pohled do břišní dutiny.  
1. příčně pruhovaná svalovina, 2. hrudní kost, 3. žaludek,  
4. slezina, 5. tlusté střevo, 6. penis, 7. varle, 8. tenké  
střevo, 9. játra



Obrázek 49.: Pitva myši domácí (*Mus musculus*)  
(Foto: J. Mourek): Pohled do hrudní dutiny  
1. mečovitý výběžek, 2. játra, 3. plíce, 4. žvýkací sval, 5.  
slezina, 6. srdce



Obrázek 50.: Pitva myši domácí (*Mus musculus*) (Foto: J. Mourek): pohled do břišní dutiny po vyjmutí trávicí soustavy. 1. nadledvina, 2. ledvina, 3. semenný váček, 4. močový měchýř, 5. varle, 6. penis, 7. nadvarle, 8. tukové těleso, 9. chámovod

## 9. PŘÍLOHY 2: Zadání dotazníku

### Dotazník pro učitele biologie na středních školách:

#### Výuka učiva o tkáních živočichů

Dobrý den,

ráda bych Vás požádala o laskavé vyplnění následujícího dotazníku, který se zabývá výukou histologie (naukou o tkáních živočichů, včetně člověka) v hodinách biologie (nebo jiného obsahově blízkého předmětu) na středních školách. Pokud nejste učitelem biologie, prosím Vás o laskavé přeposlání tohoto dotazníku vyučujícímu biologii na Vaší škole.

Získaná data budou zpracována pro účely mé magisterské diplomové práce, kterou zpracovávám pod vedením RNDr. Jana Mourka, Ph.D. Dotazník se skládá z 21 otázek. U označených otázek je možné zaškrtnout více odpovědí. Snažte se, prosím, odpovědět na všechny otázky. **Dotazník je zcela anonymní** a jeho vyplnění Vám zabere 8 - 10 minut.

Pokud máte zájem o zaslání odkazu na interaktivní histologický atlas, který v diplomové práci vytvářím, vyplňte, prosím, e-mailovou adresu na konci dotazníku. Ráda Vám zodpovím případné dotazy a nejasnosti.

Předem Vám děkuji za spolupráci.

Bc. Klára Maratová,  
Katedra biologie a environmentálních studií  
UK v Praze, Pedagogická fakulta

1) Pohlaví:

- a) žena
- b) muž

2) Váš věk: .....

3) VŠ, kterou jste vystudoval(a): .....

4) Počet let učitelské praxe (vypište číslicemi): .....

5) Vystudovaná aprobace: .....

6) Kraj, ve kterém se střední škola nachází:

- a) Hlavní město Praha
- b) Středočeský kraj
- c) Jihočeský kraj
- d) Plzeňský kraj
- e) Karlovarský kraj
- f) Ústecký kraj
- g) Liberecký kraj
- h) Královehradecký kraj
- i) Pardubický kraj

- j) Vysočina
  - k) Jihomoravský kraj
  - l) Olomoucký kraj
  - m) Zlínský kraj
  - n) Moravskoslezský kraj
- 7) Velikost obce, ve které se střední škola nachází:
- a) Do 1 000
  - b) 1 000 – 10 000
  - c) 10 000 – 50 000
  - d) 50 000 – 100 000
  - e) 100 000 – 200 000
  - f) 200 000 – 500 000
  - g) 500 000 – 1 000 000
  - h) Nad 1 000 000
- 8) Typ a zaměření střední školy
- a) Gymnázium
  - b) Lyceum s přírodovědným zaměřením
  - c) Střední odborná škola s přírodovědným zaměřením
  - d) Střední zdravotnická škola
  - e) Střední pedagogická škola
  - f) Jiné
- 9) V jakém typu hodin se na Vaší škole vyučuje biologie? (#)
- a) Teoretické hodiny
  - b) Laboratorní cvičení (=praktická cvičení)
  - c) Volitelné nebo povinně volitelné semináře
- 10) Které učebnice biologie ve výuce společně s žáky používáte? (#)
- a) **Benešová, M.; et al.** *Odmaturuj z biologie*; Didaktis , 2003.
  - b) **Bumerl, J.; Choc, V.** *Biologie 1 a 2 pro střední odborné školy*; SPN, 2006.
  - c) **Dylevský, I.** *Základy anatomie a fyziologie člověka*; Epava, 1995.
  - d) **Hančová, H.; Vlková, M.** *Biologie v kostce pro střední školy*; Fragment, 2012.
  - e) **Jelínek, J.; Zicháček, V.** *Biologie pro gymnázia*, 9th ed.; Nakladatelství Olomouc, 2007.
  - f) **Kočárek, E.** *Biologie člověka 1 a 2*; Scientia, 2010.
  - g) **Machová, J.** *Biologie člověka pro učitele*; Karolinum, 2002.
  - h) **Novotný, I.; Hruška, M.; et al.** *Biologie člověka pro gymnázia*; Fortuna, 2007.
  - i) **Odstrčil, J.; Hruža, A.** *Biologie pro zdravotnické školy*; NCO NZO, 2008.
  - j) **Papáček, M.; et al.** *Zoologie*; Scientia, 2000
  - k) **Rosypal, S.; et al.** *Nový přehled biologie*; Scientia, 2012.
  - l) Jiné

11) Je v používané učebnici tématika histologie zastoupena?

- a) Ano
- b) Ne

12) Jste spokojen(a) se zpracováním histologie v dané učebnici?

- a) Ano
- b) Ne
- c) Částečně

13) Jakým způsobem ve svých hodinách vyučujete histologii? (#)

- a) Teoretický výklad
- b) Žáci na praktických cvičeních mikroskopují preparáty živočišných tkání
- c) Histologii do své výuky nezařazují

14) Ze kterých zdrojů čerpáte informace při přípravě výuky histologie? (#)

- a) Středoškolské učebnice
- b) Vysokoškolské učebnice a atlasy
- c) Internetové stránky
- d) Kurzy dalšího vzdělávání učitelů
- e) Jiné

15) Ve kterých tematických celcích histologii vyučujete? (#)

- a) Obecná a buněčná biologie
- b) Zoologie
- c) Biologie člověka

16) Obsahují výukové sbírky na Vaší škole trvalé preparáty živočišných tkání, které je možné použít ve výuce?

- a) Ano, v dostatečném množství a kvalitě
- b) Ano, v dostatečném množství, ale nekvalitní
- c) Ano, v omezeném množství, ale kvalitní
- d) Ano, v omezeném množství, ale nekvalitní
- e) Ne, naše školní sbírky trvalé preparáty živočišných tkání neobsahují

17) Byl(a) byste schopen(a) trvalé histologické preparáty sám(a) vytvořit? Pokud ne, měl(a) byste zájem se tuto techniku naučit pod vedením externího lektora?

- a) Ano, trvalé histologické preparáty umím sám(a) vytvořit
- b) Ano, trvalé histologické preparáty umím sám(a) vytvořit, ale mám zájem si znalosti rozšířit
- c) Ne, ale měl(a) bych zájem se tuto techniku naučit
- d) Ne a o kurz histologických metod zájem nemám

18) Měl(a) byste zájem využít ve výuce interaktivní histologický atlas?

- a) Ano
- b) Ne

19) Jako součást interaktivního histologického atlasu bych uvítal(a) (#):

- a) Fotografie histologických preparátů bez popisků
- b) Fotografie histologických preparátů s popisky
- c) Teoretický výklad
- d) Testové úlohy
- e) Návod na přípravu trvalých histologických preparátů
- f) Jiné

20) Domníváte se, že výuka histologie na středních školách má smysl a je pro žáky přínosem?

- a) Ano, histologie je důležitá pro všechny žáky bez rozdílu
- b) Ano, výuka histologie má smysl, ale skutečným přínosem je pouze pro žáky přírodovědně zaměřené a pro zájemce o studium medicíny nebo veterininy na VŠ
- c) Ne, výuka histologie pro žáky není důležitá
- d) Jiné

21) Domníváte se, že by žáci měli zájem o rozšířenou výuku histologie na Vaší škole?

- a) Ano, všichni žáci bez rozdílu
- b) Ano, ale pouze žáci přírodovědně zaměřeni a zájemci o studium medicíny nebo veterininy na VŠ
- c) Ne
- d) Jiné

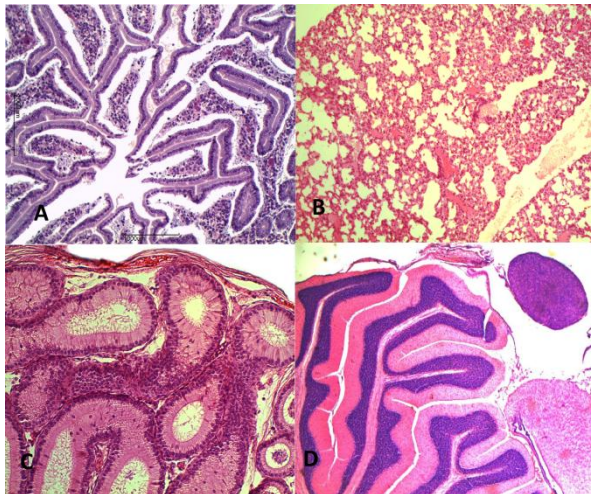
## 10. PŘÍLOHY 3: Testy

### 10.1. DÝCHACÍ SOUSTAVA

Následující test je zaměřen na prověření Vašich znalostí z tematického celku: Dýchací soustava. Test se skládá v 16 otázek a k jeho vyplnění máte 36 minut. U některých otázek je možno zaškrtnout více než jednu správnou odpověď. Otázky bez správné odpovědi v testu nejsou. Ke splnění testu je třeba získat minimálně 60% bodů.

Hodně štěstí!

1. Na obrázku jsou fotografie řezů čtyřmi různými orgány. Na které fotografii (A, B, C, D) je zachycen řez plicí?



A

B

C

D

2. Při vnitřním dýchání dochází k výměně plynů mezi:

- a) Atmosférou a plicemi.
- b) Plicemi a krví.
- c) Krví a tkáňovým mokem.
- d) Krví a jednotlivými buňkami.

3. Rozhodněte o pravdivosti následujícího tvrzení:

Dýchací soustava se neskládá ze dvou velkých celků, horních a dolních cest dýchacích.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

4. Rozhodněte o pravdivosti následujícího tvrzení:

Hlavní funkcí dýchacích cest je ohřívání a zvlhčování vdechovaného vzduchu a zbavování se nečistot.

- a) Ano
- b) Ne



**5. K výměně plynů mezi plícemi a krví dochází na základě:**

- a) Difuze
- b) Osmózy

**6. Ve které oblasti plic dochází ke vstupu průdušek?**

---

**7. Seřad'te následující části dýchací soustavy podle toho, jak jdou za sebou (od shora dolů). Označte odpovědi čísly 1-5.**

- a) Plicní sklípky
- b) Průdušky
- c) Hrtan
- d) Průdušinky
- e) Průdušnice

**8. Stěna většiny dýchacích cest je tvořena:**

- a) Hladkou svalovinou
- b) Elastickými vlákny
- c) Chrupavkou
- d) Vazivovými vlákny

**9. Vnitřní stěnu dýchací soustavy vystýlá více než jeden typ epitelu. Přiřad'te jednotlivé epitely (a-d) k místům, kde se v dýchací soustavě nacházejí (1-4).**

- |  |                           |
|--|---------------------------|
| a) Kubický epitel                          | 1) Průdušnice             |
| b) Jednovrstevný cylindrický epitel        | 2) Průdušky               |
| c) Víceřadý cylindrický epitel s řasinkami | 3) Průdušinky             |
| d) Jednovrstevný dlaždicový epitel         | 4) Místo větvení průdušek |

**10. Mezi poplicnicí a pohrudnicí se nachází prostor vyplněný serózní tekutinou. Uved'te správný název tohoto prostoru:**

---

**11. Stěny dýchacích cest jsou v různé míře vyztuženy chrupavkou. Uspořádejte následující nabídku tak, aby odpovídala chrupavka místu jejího výskytu.**

- |               |                                      |
|---------------|--------------------------------------|
| a) Průdušnice | 1) Chrupavčitá vrstva chybí.         |
| b) Průdušky   | 2) Chrupavky mají prsténčitý tvar.   |
| c) Průdušinky | 3) Chrupavky mají nepravidelný tvar. |

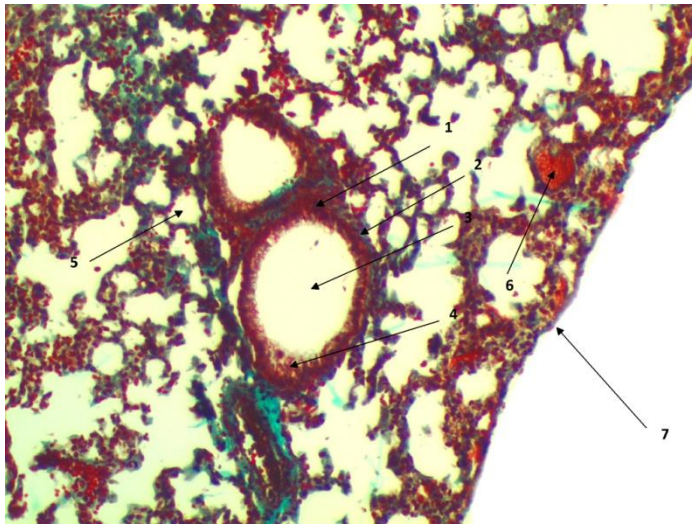
12. Stěna alveolů je tvořena tzv. interalveolárními septy. Na průřezu je septum složeno z:

- a) Hladká svalovina
- b) Dlaždicový epitel
- c) Vlasečnice
- d) Kubický epitel
- e) Elastická a kolagenní vlákna

13. Alveolární buňky na povrchu alveol vylučují plicní surfaktant. K čemu tento surfaktant slouží?

\_\_\_\_\_

14. Na obrázku máte zachycen řez plicí myši domácí. Přiřad'te k jednotlivým číslům názvy struktur, které označují.



- 1 Poplicnice
- 2 Plicní tepna
- 3 Plicní sklípek
- 4 Respirační epitel
- 5 Chrupavka
- 6 Hladká sv.
- 7 Průduška

15. Stěny dýchacích cest jsou v různé míře vyztuženy chrupavkou. Uspořádejte následující nabídku tak, aby odpovídala chrupavka místu jejího výskytu.

- a) Průdušnice
- b) Průdušky
- c) Průdušinky
- 1) Chrupavčitá vrstva chybí.
- 2) Chrupavky mají prsténčitý tvar.
- 3) Chrupavky mají nepravidelný tvar.

16. Stěna alveolů je tvořena interalveolárními septy. Vyberte vrstvy, ze kterých je septum na průřezu složeno:

- f) Hladká svalovina
- g) Dlaždicový epitel
- h) Vlasečnice
- i) Kubický epitel
- j) Elastická a kolagenní vlákna

## SPRÁVNÉ ODPOVĚDI:

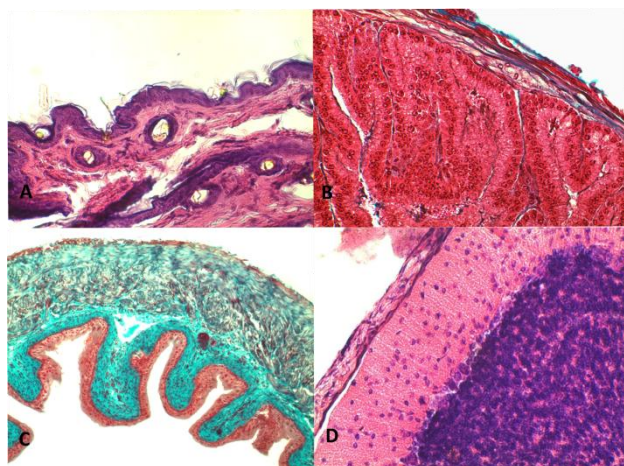
1. b, 2. d, 3. b, 4. a, 5. a, 6. plicní hilus, 7. c, e, b, d, a, 8. a, b, c, d, 9. a3, b4, c1, d2, 10. pleurální štěrbina, 11. a2, b3, c1, 12. b, c, e, 13. Snižování povrchového napětí, 14. 1-hladká svalovina, 2- chrupavka, 3-průduška, 4-respirační epitel, 5-plicní sklípek, 6-plicní tepna, 7-poplicnice, 15. a2, b3, c1, 16. g, h, j,

## 10.2. KRYCÍ SOUSTAVA

Následující test je zaměřen na prověření Vašich znalostí z tematického celku: Krycí soustava. Test se skládá z 15 otázek a k jeho vyplnění máte 30 minut. U některých otázek je možno zaškrtnout více než jednu správnou odpověď. Otázky bez správné odpovědi v testu nejsou. Ke splnění testu je třeba získat minimálně 60% bodů.

Hodně štěstí!

1. Na fotografii jsou zachyceny histologické řezy čtyřmi různými orgány myši domácí. Určete, která z fotografií patří do krycí soustavy.



A

B

C

D

2. Orgánem krycí soustavy je kůže, která se skládá ze tří vrstev. Přiřadte k sobě odpovídající pojmy z následujícího výběru.

a) Škára

b) Podkožní vazivo

c) Pokožka

1) Dermis

2) Epidermis

3) Hypodermis

**3. Kůže zastává celou řadu životně důležitých funkcí, vyberte ze seznamu funkce, které nezastává.**

- a) Funkce vylučovací
- b) Funkce termoregulační
- c) Funkce endokrinní
- d) Funkce syntetická

**4. Doplňte slovo ve větě:**

Pro kůži a krycí soustavu je typická přítomnost jejích derivátů. Mezi tyto deriváty, jedná se především o deriváty \_\_\_\_\_, patří vlasy, chlupy a nehty.

**5. Jakého původu je pokožka?**

- a) Ektodermálního
- b) Entodermálního
- c) Mezodermálního

**6. Pokožka (*epidermis*) je tvořena různými typy buněk. Vyberte z následujícího seznamu, které buňky ji tvoří:**

- a) Keratinocyty
- b) Sertoliho buňky
- c) Melanocyty
- d) Langerhansovy buňky
- e) Dermacyty
- f) Merkelovy buňky

**7. Rozhodněte o pravdivosti tvrzení:**

Epidermis je vyživována hustou kapilární sítí.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

**8. Keratinocyty na povrchu pokožky rohovatí a vytváří určitý typ epitelu. Jaký?**

---

**9. Doplňte následující odstavec za použití některých slov z nabídky:**

*Melanosom, UV záření, keratinosom, melanocyt, keratinocyt, IR záření*

\_\_\_\_\_ jsou specializované buňky vyskytující se ve spodních vrstvách pokožky, které jsou zodpovědné za pigmentaci kůže. Ve specializovaných organelách \_\_\_\_\_ dochází k syntéze hnědého pigmentu, který pohlcuje \_\_\_\_\_ a chrání tak mitoticky aktivní buňky kůže před jeho škodlivými účinky.

**10. Langerhansovy buňky se v pokožce podílejí na:**

- a) Produkci inzulínu
- b) Imunitních reakcích
- c) Výživě melanocytů
- d) Vnímání tlaku a bolesti

**11. Merkelovy buňky v pokožce slouží jako:**

- a) Termoreceptory
- b) Chemoreceptory
- c) Mechanoreceptory
- d) Nociceptory

**12. Škára (*dermis*) se embryonálně vyvíjí z:**

- a) Ektodermu
- b) Entodermu
- c) Mezodermu

**13. Ve škáře je ukotvena celá řada specializovaných receptorů. V následující nabídce přiřad'te receptory ke správnému podnětu.**

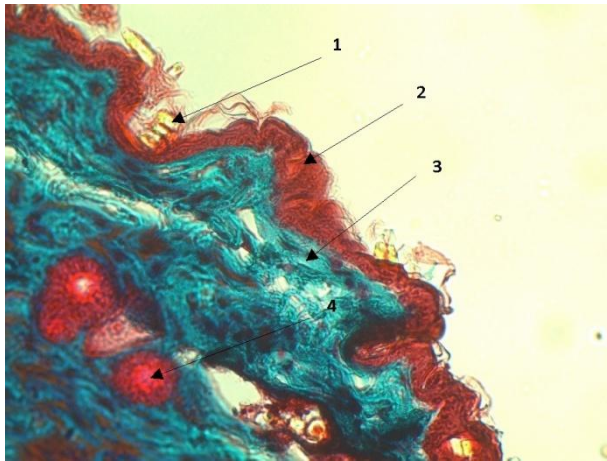
- |                            |               |
|----------------------------|---------------|
| a) Meisserova tělíska      | 1) Tah a tlak |
| b) Vater-Pacciniho tělíska | 2) Hmat       |
| c) Ruffiniho tělíska       | 3) Teplota    |

**14. Z následujících nabídky vyberte možnosti odpovídající tvrzení:**

*Hypodermis* obsahuje:

- a) Vazivo
- b) Tukové buňky
- c) Cévy
- d) Nervy

**15. Na následujícím obrázku je příčný řez kůží myši domácí. Přiřadte k číslům správné popisky.**



- |   |                  |
|---|------------------|
| 1 | Dermis           |
| 2 | Krevní céva      |
| 3 | Proříznutý chlup |
| 4 | Epidermis        |

**SPRÁVNÉ ODPOVĚDI:**

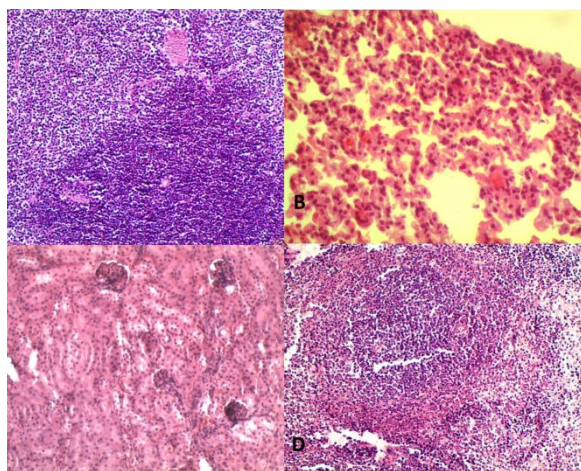
1. a, 2. a1, b3, c2, 3. c, 4. epidermis, 5. a, 6. a, c, d, f, 7. b, 8. dlaždicový epitel, 9. 1-melanocyt, 2-melanosom, 3-UV záření 10. b, 11. c, 12. c, 13. a2, b1, c3 14. a, b, c, d 15. 1-proříznutý chlup, 2-epidermis, 3-dermis, 4-krevní céva

### 10.3. MÍZNÍ SOUSTAVA

Následující test je zaměřen na prověření Vašich znalostí z tematického celku: Mízní soustava. Test se skládá v 11 otázek a k jeho vyplnění máte 22 minut. U některých otázek je možno zaškrtnout více než jednu správnou odpověď. Otázky bez správné odpovědi v testu nejsou. Ke splnění testu je třeba získat minimálně 60% bodů.

Hodně štěstí!

**1. Na fotografii jsou zachyceny histologické řezy čtyřmi různými orgány myši domácí. Určete, které orgány se řadí do lymfatické soustavy.**



A

B

C

D

**2. Který z následujících orgánů nepatří mezi mízní orgány?**

- a) Krční a nosní mandle
- b) Brzlík
- c) Slinivka břišní
- d) Slezina

**3. Vyjádřete se k pravdivosti následujícího tvrzení:**

Povrch brzlíku je kryt vazivový pouzdem, které proniká do nitra orgánu a rozděluje jej septy na jednotlivé lalůčky (*lobuly*).

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

**4. V každém lalůčku brzlíku můžeme pozorovat dvě základní složky dřev a kůru, přiřad'te jejich správný latinský název.**

- a) Dřeň
- b) Kůra

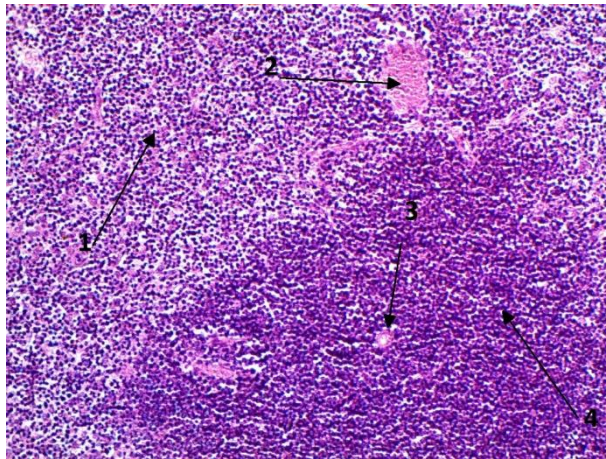
- 1) *medulla*
- 2) *cortex*



**5. Která z následujících tvrzení o brzlíku jsou pravdivá?**

- a) Latinský název brzlíku je *lien*.
- b) Růst brzlíku je stimulován u jedinců po kastraci nebo hormonem somatotropinem (STH).
- c) Ve dřeni brzlíku se vyskytují tzv. Hasslerova tělíska.
- d) V průběhu života dochází k jeho degradaci a v dospělosti úplně chybí.

**6. Na fotografii je příčný řez brzlíkem myši domácí. Přiřaďte správné popisky k jednotlivým číslům.**



- 1 Céva
- 2 Hasslerovo tělísko
- 3 Dřeň
- 4 Kůra

**7. V brzlíku dochází k dozrávání:**

- a) T-lymfocytů
- b) B-lymfocytů

**8. Slezinu můžeme zařadit mezi více orgánových soustav, které to jsou?**

- a) Trávicí soustava
- b) Oběhová soustava
- c) Vylučovací soustava
- d) Lymfatická soustava

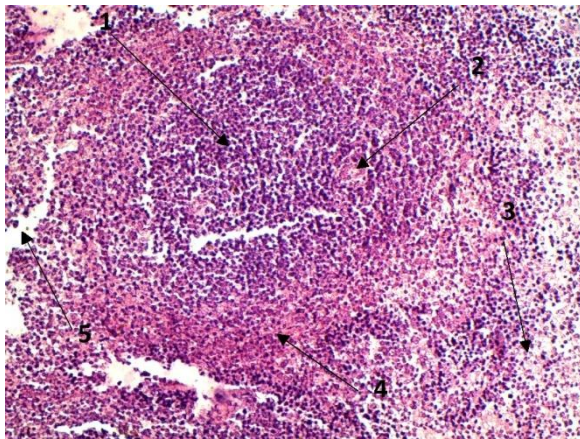
**9. Na povrchu je slezina kryta pevným vazivovým obalem, který vstupuje do nitra orgánu a vytváří:**

- a) Trabekuly
- b) Lobuli
- c) Sacculi
- d) Klky

**10. Ve slezině dochází k rozkladu starých nebo poškozených krevních buněk. Které krevní buňky to jsou?**



**11. Na fotografii je příčný řez slezinou myši domácí. Přiřaďte k správné popisky k jednotlivým číslům.**



- |          |                 |
|----------|-----------------|
| <b>1</b> | Arterie         |
| <b>2</b> | Marginální zóna |
| <b>3</b> | Červená pulpa   |
| <b>4</b> | Bílá pulpa      |
| <b>5</b> | Sinus           |

**SPRÁVNÉ ODPOVĚDI:**

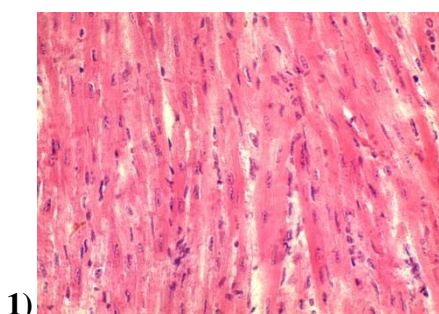
1.a, d, 2.c, 3.a, 4.a1, b2, 5.b, c, 6.1-dřeň, 2-Hasslerovo tělísko, 3-céva, 4-kůra, 7.a, 8.b, d, 9.a, 10.červené krvinky, 11.1-bílá pulpa, 2-arterie, 3-červená pulpa, 4-marginální zóna, 5-sinus

## 10.4. SVALOVÁ SOUSTAVA

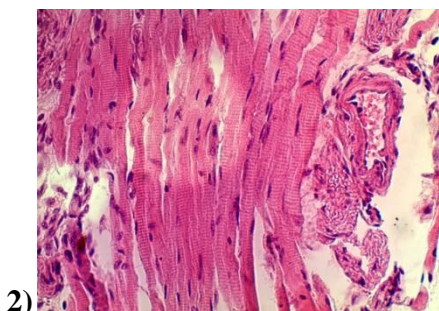
Následující test je zaměřen na prověření Vašich znalostí z tematického celku: Svalová soustava. Test se skládá v 19 otázek a k jeho vyplnění máte 40 minut. U některých otázek je možno zaškrtnout více než jednu správnou odpověď. Otázky bez správné odpovědi v testu nejsou. Ke splnění testu je třeba získat minimálně 60% bodů.

Hodně štěstí!

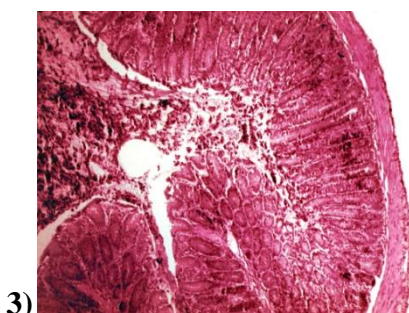
**1. V následujícím výběru jsou dispozici obrázky tří typů svaloviny. Přiřaďte správný název ke každému obrázku:**



a) Hladká svalovina



b) Příčně pruhovaná svalovina



c) Srdeční svalovina

**2. Vyjádřete se k pravdivosti tvrzení:**

Příčně pruhovaná svalovina je tvořena z jednojaderných buněk, přičemž jádro je uloženo centrálně.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

**3. Pro který typ svaloviny jsou typická aktinová a myosinová filamenta?**

- a) Příčně pruhovaná svalovina
- b) Hladká svalovina
- c) Srdeční svalovina

**4. Z následující nabídky doplňte chybějící slova do textu zabývajícího se svalovou kontrakcí.**

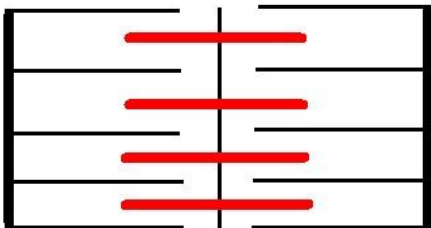
*nervové podráždění, myofibrila, sarkomera, aktin, myosin, troponin, depolarizace membrány, Ca<sup>2+</sup> iontů*

Svalová kontrakce, neboli svalový stah, je reakcí svalu na \_\_\_\_\_.  
Základem svalové kontrakce je interakce mezi \_\_\_\_\_ aktinem a myosinem, v jejímž důsledku dochází k zasunutí fibril mezi sebe a tím zkrácení \_\_\_\_\_.  
V relaxovaném stavu nemůže k interakci mezi aktinem a myosinem dojít, protože vazebná místa pro \_\_\_\_\_ jsou na \_\_\_\_\_ hlavičkách blokovány regulačními proteiny \_\_\_\_\_ a tropomyosinem. Vlivem nervového podráždění však dochází k \_\_\_\_\_ a vyplavení \_\_\_\_\_ do cytosolu.

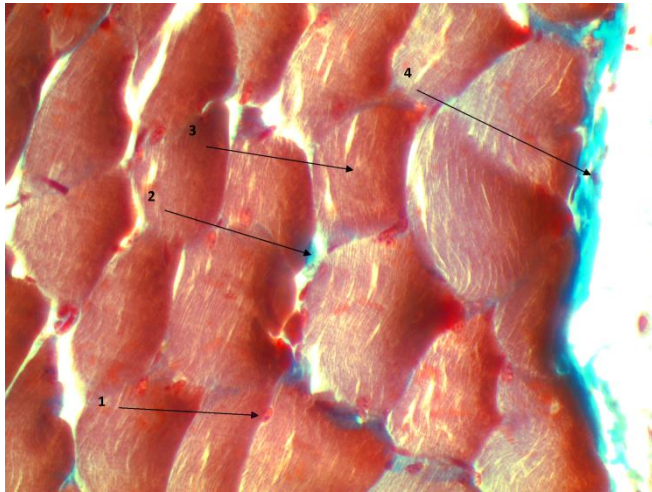
**5. Troponin je složen z několika podjednotek, pro každou podjednotku je typická určitá funkce. Přiřaďte v následujícím výběru správně podjednotku a její funkci.**

- |        |  |
|--------|--|
| a) TnT | 1) zodpovědná za navázání tropomyosinu   |
| b) TnI | 2) vážící ionty vápníku                  |
| c) TnC | 3) regulující interakci aktinu a myosinu |

**6. Na následujícím schématu vyznačte jedno myosinové vlákno a anizotropní oblast.**

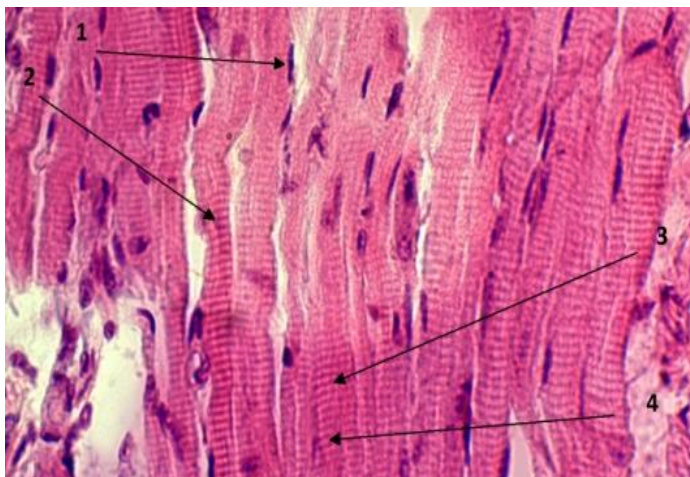


7. Na obrázku vidíte příčný řez příčně pruhovanou svalovinou. Přiřaďte názvy struktur k odpovídajícím číslům na obrázku.



- 1) Endomysium
- 2) Epimysium
- 3) Myofibrila
- 4) Jádro svalového vlákna

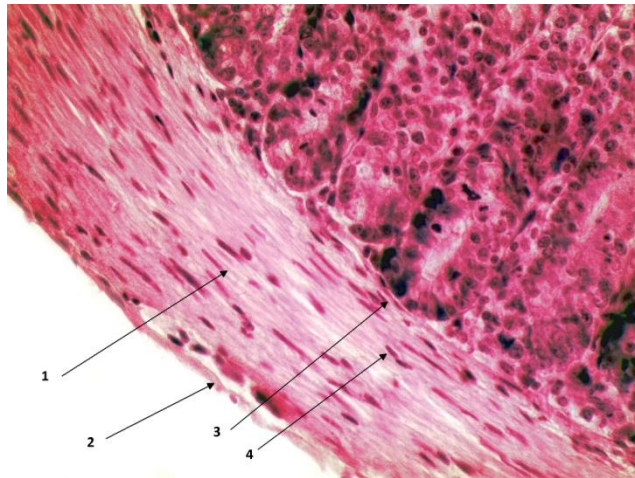
8. Na obrázku vidíte podélný řez příčně pruhovanou svalovinou. Přiřaďte názvy struktur k odpovídajícím číslům na obrázku.



- 1) Izotropní pruh
- 2) Anizotropní pruh
- 3) Myofibrila
- 4) Jádro svalového vlákna

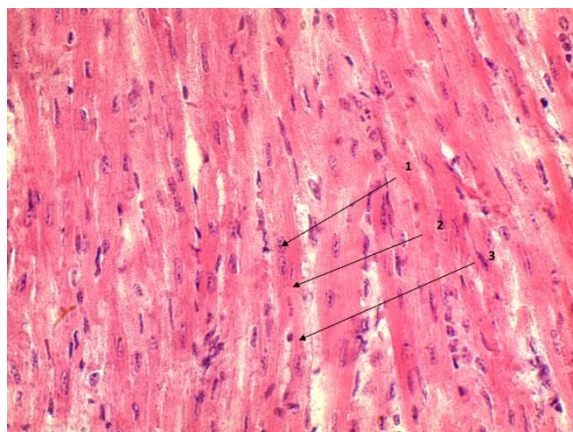


9. Na obrázku vidíte řez hladkou svalovinou. Přiřadte názvy struktur k odpovídajícím číslům na obrázku.



- 1) Hladká svalovina
- 2) Submukosa
- 3) Jádro buňky hladkého svalu
- 4) Serosa

10. Na obrázku vidíte řez srdeční svalovinou. Přiřadte názvy struktur k odpovídajícím číslům na obrázku.



- 1) Interkalární disk
- 2) Jádro buňky srdeční svaloviny
- 3) Myofibrila

11. Zhodnoťte správnost tvrzení:

Hladká svalovina je tvořená jednojadernými buňkami.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

12. Hladká svalovina, jinak také útrobní svalovina, se na stavbě stěn téměř všech vnitřních orgánů. Z následující nabídky vyberte jeden, na jehož stavbě se nepodílí.

- a) Stěna kapilár
- b) Stěna močového měchýře
- c) Stěna tenkého střeva
- d) Stěna horní duté žíly

**13. Z následující nabídky vyberte správnou odpověď na tvrzení:**

Hladká svalovina je řízena:

- a) Vůlí
- b) Sympatikem
- c) Parasympatikem
- d) Autonomním nervovým systémem

**14. Srdeční svalovinu řadíme společně s kosterní svalovinou mezi svalovinu příčně pruhovanou. Od kosterní svaloviny se však liší několika znaky. Které to jsou?**

- a) Svalové buňky obsahují jedno maximálně dvě jádra.
- b) Obsahují větší počet mitochondrií.
- c) Jsou zde přítomny takzvané interkalární disky.
- d) Buňky jsou nejsilnější ve středu a směrem ke koncům se zužují.
- e) Jádra jsou umístěna centrálně v nejširším bodě buňky.
- f) Při pohledu světelným mikroskopem není příčné pruhování patrné, protože buňky jsou obaleny silnější vrstvou sarkolemy.

**15. Ve svalu můžeme nalézt několik vrstev vaziva. Seřad'te názvy vaziv v následující nabídce tak, aby vazivo pokrývající největší jednotku bylo poslední.**

- a) Endomysium
- b) Epimysium
- c) Fascie
- d) Perimysium

**16. Zhodnot'te správnost následujícího tvrzení:**

Jádra svalových buněk nejsou schopna dělení.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

**17. V kosterní svalovině se vyskytují tlustá a tenká filamenta. Z následující nabídky vyberte bílkoviny, které tvoří tenká filamenta.**

- a) Aktin
- b) Myosin
- c) Troponin
- d) Tropomyosin
- e) Perimyosin

**18. V případě, že v organismu dojde k vyčerpání všech zásob ATP, můžeme ve svalech pozorovat jev zvaný:**

- a) Rigor mortis
- b) Svalová dystrofie
- c) Porfyrie
- d) Obrna

**SPRÁVNÉ ODPOVĚDI:**

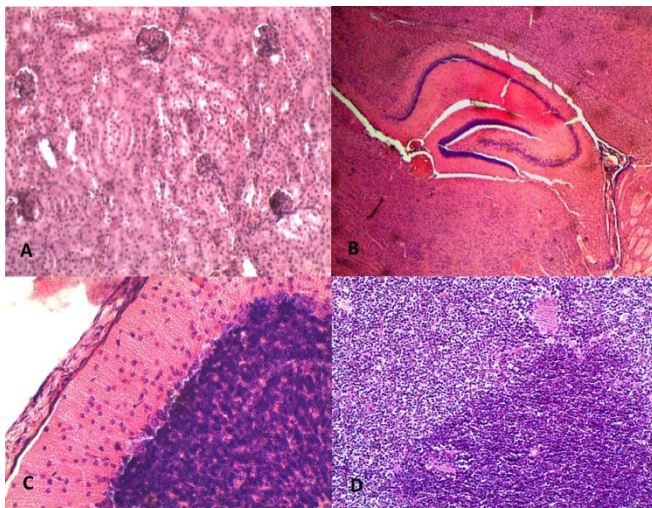
1.b2, a3, c1, 2.b, 3.a, b, c, 4. 1-nervové podráždění, 2- myoibila, 3-sarkomera, 4-aktin, 5-myosin, 6-troponin, 7-depolarizace membrány, 8-Ca<sup>2+</sup>, 5.a1, b3, c2, 7.1-jádro svalového vlákna, 2-endomysium, 3-myofibrila, 4-epimysium, 8.1-jádro svalového vlákna, 2-myofibrila, 3-izotropní pruh, 4-anizotropní pruh, 9.1-hladká svalovina, 2-serosa, 3-submukosa, 4-jádro buňky hladkého svalu, 10.1-jádro buňky srdeční svaloviny, 2-interkalární disk, 3-myofibrila, 11.a, 12.a, 13.b, c, d, 14.a, b, c, 15.endomysium, perimysium, epimysium, fascie, 16.a, 17.a, c, d, 18.a

## 10.5. NERVOVÁ SOUSTAVA

Následující test je zaměřen na prověření Vašich znalostí z tematického celku: Nervová soustava. Test se skládá v 13 otázek a k jeho vyplnění máte 26 minut. U některých otázek je možno zaškrtnout více než jednu správnou odpověď. Otázky bez správné odpovědi v testu nejsou. Ke splnění testu je třeba získat minimálně 60% bodů.

Hodně štěstí!

**1. Na obrázku jsou zachyceny čtyři řezy orgány myši domácí (*Mus musculus*). Rozhodněte, které z řezů jsou součástí nervové soustavy.**



A

B

C

D

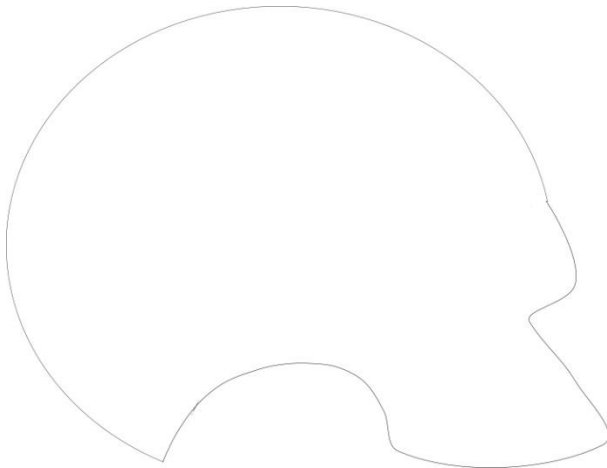
**2. Mozeček (*cerebellum*) se nachází:**

- a) Nad prodlouženou míchou a Varolovým mostem
- b) Pod prodlouženou míchou a Varolovým mostem
- c) V oblasti týlní
- d) V oblasti temenní

**3. V kůře mozečku můžeme rozlišit tři vrstvy, které?**

- a) Pyramidální vrstva
- b) Granulární vrstva
- c) Vrstva Purkyňových buněk
- d) Vrstva Hissových buněk
- e) Molekulární vrstva
- f) Limbická vrstva

**4. Vyznačte na schematickém obrázku lebky oblast, ve které se nachází mozeček (*cerebellum*).**



**5. Doplňte následující text za použití slov z nabídky:**

*koordinace, motorika, hemisféra, červ, bílá, zrak, brázda, šedá, most*

Mozeček je centrem \_\_\_\_\_ a jemné \_\_\_\_\_. Je tvořen dvěma \_\_\_\_\_, jež jsou vzájemně spojeny \_\_\_\_\_ (*vermis*). Skládá se z \_\_\_\_\_ hmoty na povrchu a \_\_\_\_\_ hmoty uvnitř. Stejně jako u neokortexu i zde dochází k tvorbě \_\_\_\_\_ (sulci), které zvětšují povrch mozečku. Tato oblast je vývojově nejdokonalejší a analogicky se nazývá *neocerebellum*.



**6. Vyjádřete se k pravdivosti tvrzení:**

Molekulární vrstva mozečku je tvořena různými typy nervových buněk. Jedná je jednak o košíčkové buňky ležící blíže k povrchu mozečku a jednak buňky hvězdicové, které leží ve spodních částech molekulární vrstvy a rozměrově jsou větší než buňky košíčkové.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

**7. Vyjádřete se k pravdivosti tvrzení:**

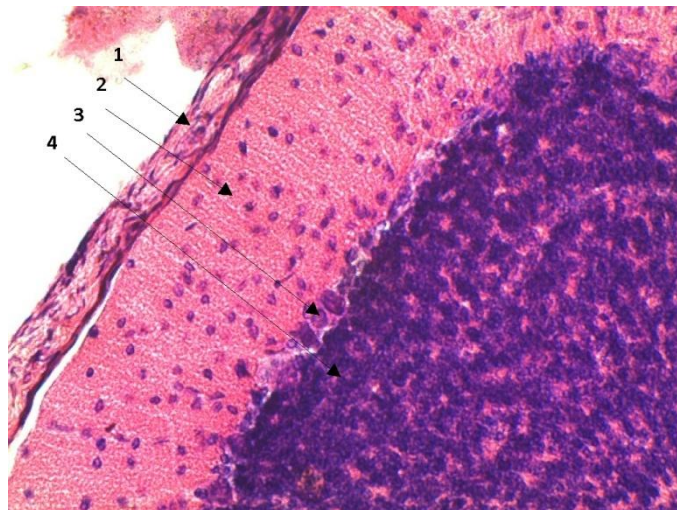
Granulózní buňky jsou nejmenší buňky lidského těla.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

**8. Mozečková jádra se nacházejí v:**

- a) Bílé hmotě
- b) Šedé hmotě

**9. Na fotografii můžete vidět příčný řez mozečkem. Přiřadte názvy jednotlivých struktur k odpovídajícím číslům.**



- 1 Purkyněho buňky
- 2 Plena
- 3 Granulární vrstva
- 4 Molekulární vrstva

**10. Hippocampus je součástí:**

- a) Centrálního nervového systému
- b) Limbického systému
- c) Korových oblastí mozku
- d) Podkorových oblastí mozku

**11. Vývojově hippocampus patří k:**

- a) Zrakovému analyzátoru
- b) Čichovému analyzátoru
- c) Sluchovému analyzátoru
- d) Chuťovému analyzátoru

**12. Vyjádřete se k následujícímu tvrzení:**

Hippocampus zodpovídá za přenos informací z krátkodobé do dlouhodobé paměti.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

**13. Na fotografii můžete vidět řez hippocampem. Přiřad'te názvy jednotlivých struktur k odpovídajícím číslům.**



- 1 Hilus
- 2 Stratur pyramidale
- 3 Stratum radiatum
- 4 Vrstva granulárních buněk
- 5 Stratum oriens
- 6 Stratum moleculare

**SPRÁVNÉ ODPOVĚDI:**

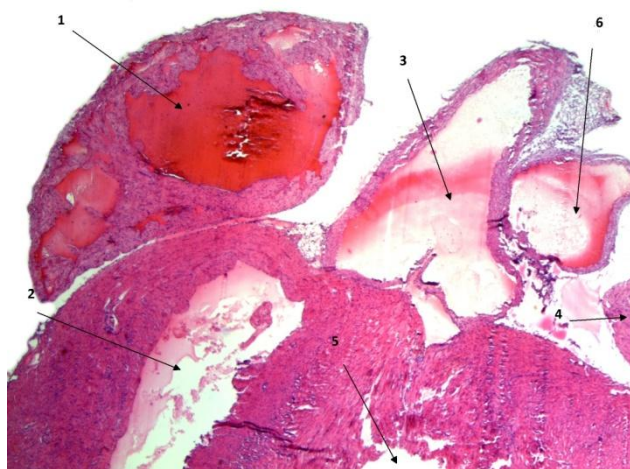
1. b, c; 2. a, c; 3. a, b, c; 5. 1 - koordnace, 2 - motorika, 3 - hemisféra, 4 - červ, 5 - šedá, 6 - bílá, 7 - brázda; 6. b; 7. a; 8. a; 9. 1 - plena, 2 - molekulární vrstva, 3 - vrstva Purkyňových buněk, 4 - granulární vrstva; 10. a, b, c; 11. b; 12. a; 13. 1 - stratum molecular, 2 - stratum oriens, 3 - stratum pyramidale, 4 - stratum radiatum, 5 - hilus, 6 - vrstva granulárních buněk

## 10.6. OBĚHOVÁ SOUSTAVA

Následující test je zaměřen na prověření Vašich znalostí z tematického celku: Nervová soustava. Test se skládá v 9 otázek a k jeho vyplnění máte 20 minut. U některých otázek je možno zaškrtnout více než jednu správnou odpověď. Otázky bez správné odpovědi v testu nejsou. Ke splnění testu je třeba získat minimálně 60% bodů.

Hodně štěstí!

**1. Na obrázku je část podélného řezu srdcem myši domácí (*Mus musculus*), přiřaďte k jednotlivým číslům správné popisky ze seznamu.**



Pravá síň	1
Pravá komora	2
Levá síň	3
Levá komora	4
Aorta	5
Plicní tepna	6

**2. Doplňte název základní buňky tvořící srdeční svalovinu.**

\_\_\_\_\_

**3. Vyjádřete se k pravdivosti tvrzení:**

Síla stěny srdečních komor se liší. Stěna pravé komory je silnější, než stěna komory levé.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

**4. Stěna srdce je tvořena třemi vrstvami. Uspořádejte je podle toho, jak následují za sebou, od vnitřku po povrch.**

- a) Myokard
- b) Endokard
- c) Epikard

**5. Perikard je:**

- a) Vazivový obal srdečního skeletu
- b) Vazivový obal srdce
- c) Vazivový obal chlopní
- d) Vazivový obal sinusového a atrioventrikulárního uzlu

**6. Z následujícího seznamu vyberte tvrzení, která platí o chlopních.**

- a) Základ je tvořen tuhým vazivem fibrosou.
- b) Nejsou ukotveny v srdečním skeletu.
- c) Povrch chlopní je kryt vrstvou endotelových buněk.
- d) Jejich úkolem je usměrnit a zabránit zpětnému toku krve.

**7. Přiřaďte typy chlopní k místům jejich výskytu.**

- |                         |                                       |
|-------------------------|---------------------------------------|
| a) Poloměsíčitá chlopeň | 1) Mezi levou síní a levou komorou.   |
| b) Dvojčípá chlopeň     | 2) Mezi pravou síní a pravou komorou. |
| c) Trojčípá chlopeň     | 3) Mezi komorou a aortou.             |

**8. Seřadte od začátku do konce postup srdečního impulsu.**

- a) Tawarova raménka
- b) Sinusový uzel
- c) Hisův svazek
- d) Purkyňova vlákna
- e) Kardiomyocyty
- f) Atrioventrikulární uzel

**9. Zdrojem impulsů zodpovídající za srdeční stahy je především převodní systém srdeční. Existují však dva další systémy, které zodpovídají za rychlost srdeční frekvence. Jmenujte je v abecedním pořadí.**

---

**SPRÁVNÉ ODPOVĚDI:**

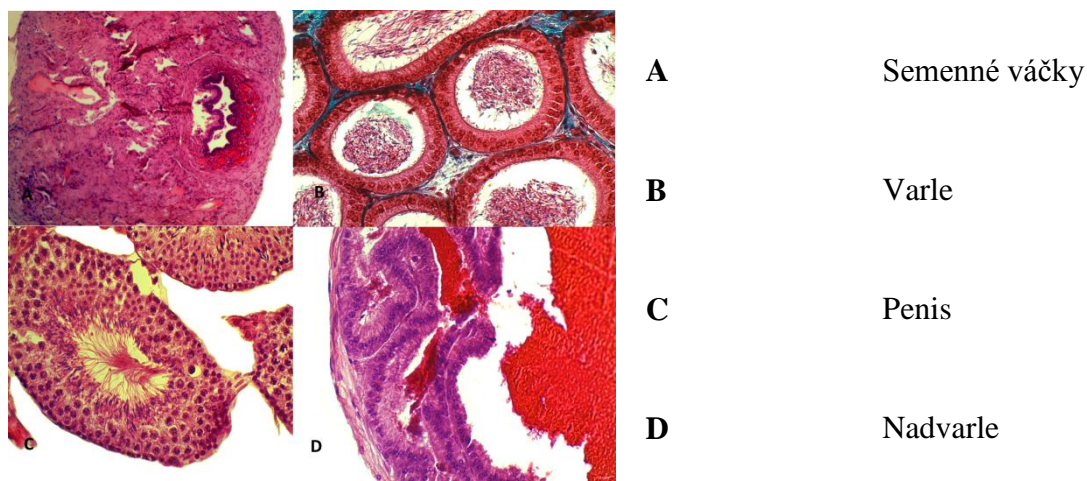
1. 1 – pravá síň, 2 – pravá komora, 3 – aorta, 4 – levá síň, 5 – levá komora, 6 – plicní tepna; 2. kardiomyocyt; 3. b; 4. b, a, c; 5. b; 6. a, c, d; 7. a3, b1, c2; 8. b, e, f, c, d, a; 9. parasimpatikus, sympatikus

## 10.7. ROZMNOŽOVACÍ SOUSTAVA

Následující test je zaměřen na prověření Vašich znalostí z tematického celku: Rozmnožovací soustava. Test se skládá v 18 otázek a k jeho vyplnění máte 40 minut. U některých otázek je možno zaškrtnout více než jednu správnou odpověď. Otázky bez správné odpovědi v testu nejsou. Ke splnění testu je třeba získat minimálně 60% bodů.

Hodně štěstí!

**1. Na obrázku jsou fotografie histologických řezů čtyřmi orgány rozmnožovací soustavy. Přiřaďte správné názvy k jednotlivým fotografiím.**



**2. Vyjádřete se k pravdivosti tvrzení:**

Funkcí varlat je produkce samčích pohlavních buněk (spermií), k produkci samčích pohlavních hormonů zde nedochází. Testosteron je produkován Leydigovými buňkami v nadvarlatech.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

**3. Varlata se vyvíjejí uvnitř dutiny břišní. Do šourku sestupují tříselným kanálem později během vývoje. Účelem tohoto sestupu je:**

- a) Snížení teploty pro správnou tvorbu spermií
- b) Napojení na vývodné pohlavní cesty
- c) Uvolnění místa pro vývoj močového měchýře

**4. Povrch varlat je kryt tuhým vazivovým obalem (*tunica albuginea*), který se skládá z:**

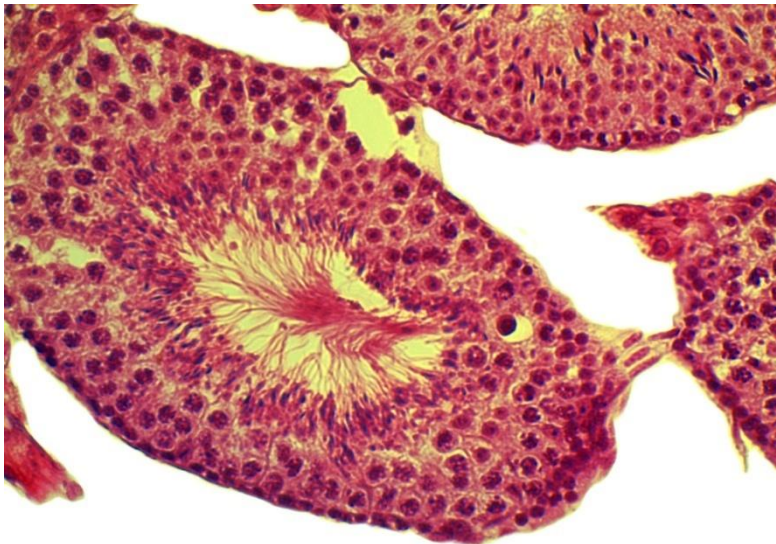
- a) Kolagenních vláken
- b) Elastických vláken
- c) Hladké svaloviny
- d) Chondrocytů



**5. V semenotvorných kanálcích varlat se nacházejí Sertoliho buňky. Jakou funkci tyto buňky zastávají?**

- a) Jejich dělením vznikají raná stádia spermií, která postupně zrají.
- b) Zajišťují prostředí nezbytné pro správný průběh spermatogeneze.
- c) Produkují mužský pohlavní hormon testosteron.
- d) Produkují sekret umožňující přežití spermií v poševním prostředí.

**6. Na obrázku semenotvornými kanálky ve varleti označte Leydigovy buňky:**

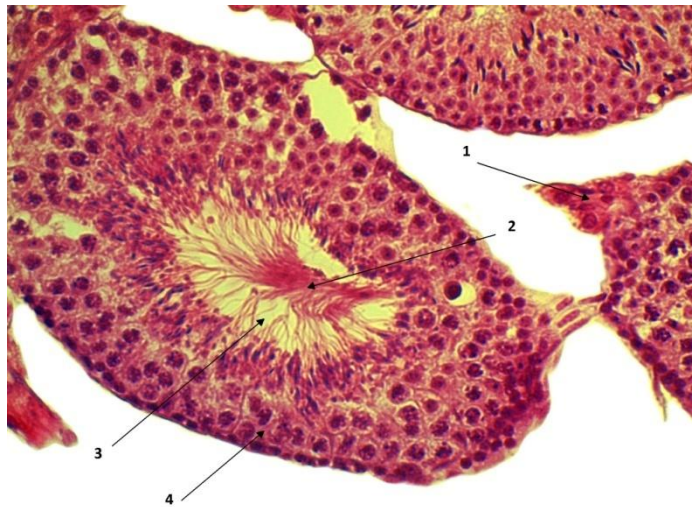


**7. Doplňte text z následující nabídky:**

*meiotické dělení, mitotické dělení, primární sekundární, spermatogonie a, spermatogonie b*

V první fázi spermatogeneze dochází k \_\_\_\_\_ kmenových buněk ležících při bazální lamině semenotvorných kanálků. Z jedné kmenové buňky (spermatogonie), vznikají dvě dceřiné buňky spermatogonie A a spermatogonie B. \_\_\_\_\_ jsou ponechány ve stavu kmenové buňky, zatímco \_\_\_\_\_ pokračují v dělení a poskytují základ spermatocytům. Procházejí \_\_\_\_\_, v jehož průběhu dochází k tvorbě primárních a sekundárních spermatocytů. Z \_\_\_\_\_ spermatocytů vznikají spermatidy s haploidním počtem chromosomů. Ze spermatid vznikají spermie.

8. Na obrázku je fotografie příčného řezu varletem myši domácí. Přiřaďte správné názvy jednotlivých struktur k číslům na obrázku.



- |   |                 |
|---|-----------------|
| 1 | Sertoliho buňky |
| 2 | Leydigovy buňky |
| 3 | Spermie         |
| 4 | Lumen           |

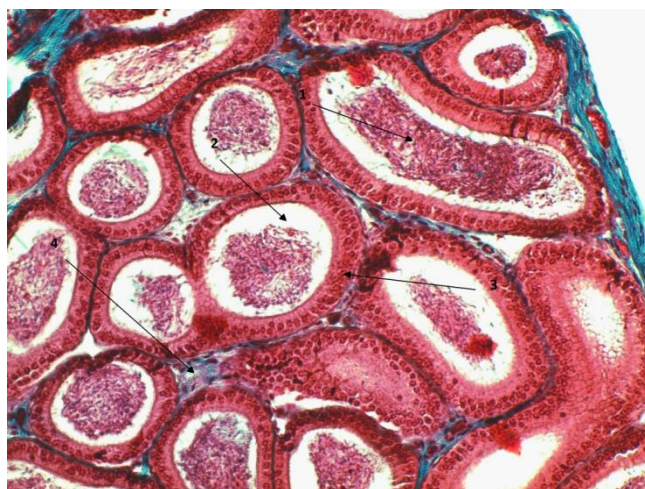
9. Ze kterých tří částí je složeno nadvarle?

- a) Dřeň
- b) Hlava
- c) Kůra
- d) Vazivo
- e) Ocas
- f) Tělo

10. Kterým typem epitelu jsou vystlány kanálky hlavy nadvarlete?

- a) Kubickým epitelem
- b) Cylindrickým epitelem
- c) Dlaždicovým epitelem
- d) Plochým epitelem

11. Na obrázku je fotografie příčného řezu nadvarletem myši domácí. Přiřaďte správné názvy jednotlivých struktur k číslům na obrázku.



- |   |                |
|---|----------------|
| 1 | Spermie        |
| 2 | Vazivo         |
| 3 | Lumen          |
| 4 | Epiteliální b. |

**12. Vyjádřete se k pravdivosti tvrzení:**

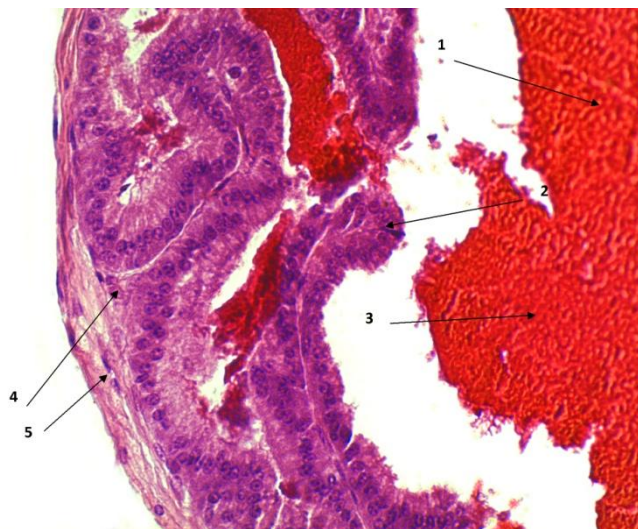
Semenné vajíčky patří k přídatným pohlavním žlázám.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

**13. Jakým typem epitelu je vystláno lumen semenných vajíček?**

- a) Kubický epitel
- b) Cylindrický epitel
- c) Dlaždicový epitel
- d) Ploché epitel

**14. Na obrázku je fotografie příčného řezu semennými vajíčky myši domácí. Přiřaďte správné názvy jednotlivých struktur k číslům na obrázku.**



- 1 Lumen
- 2 Epitel
- 3 HL.svalovina
- 4 Lamina propria
- 5 Sekret

**15. Doplňte text z následující nabídky:**

*corpora cavernosa penis*, úplnou, hladká svalovina, neúplnou, *corpus spongiosum urethrae*, příčně pruhovaná svalovina

Penis (pyj) patří mezi zevní pohlavní orgány muže. Skládá se ze tří topořivých těles: párových \_\_\_\_\_, které jsou do sebe odděleny \_\_\_\_\_ vazivovou přepážkou *septum penis*, a nepárového \_\_\_\_\_, které obklopuje močovou trubici. Všechna tři topořivá tělesa jsou tvořena sítí dutin navzájem od sebe oddělených systémem přepážek, skládajících se z vaziva a \_\_\_\_\_. Zároveň jsou obklopena tuhým vazivovým obalem *tunica albuginea*.



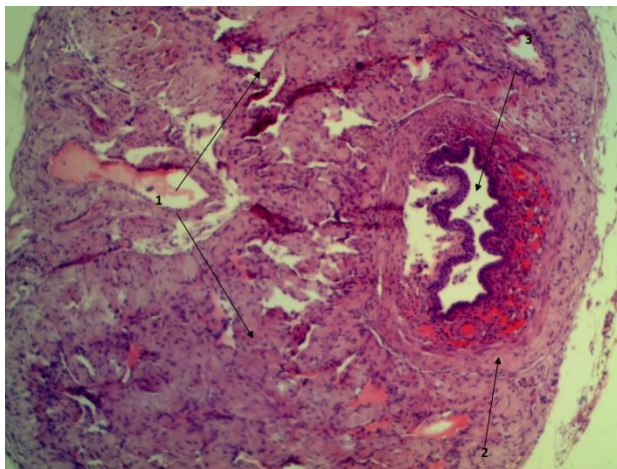
**16. Erekcce penisu je řízena:**

- a) Vlákny autonomního nervového systému
- b) Vlákny vegetativního nervového systému
- c) Vlákny sympatiku
- d) Vlákny parasympatiku

**17. Jak se nazývá céva probíhající párovými topořivými tělesy?**

---

**18. Na obrázku je fotografie příčného řezu penisem myši domácí. Přiřaďte správné názvy jednotlivých struktur k číslům na obrázku.**



- |          |                                      |
|----------|--------------------------------------|
| <b>1</b> | Močová trubice<br>( <i>urethra</i> ) |
| <b>2</b> | <i>corpus cavernosum</i>             |
| <b>3</b> | <i>corpus spongiosum</i>             |

**SPRÁVNÉ ODPOVĚDI:**

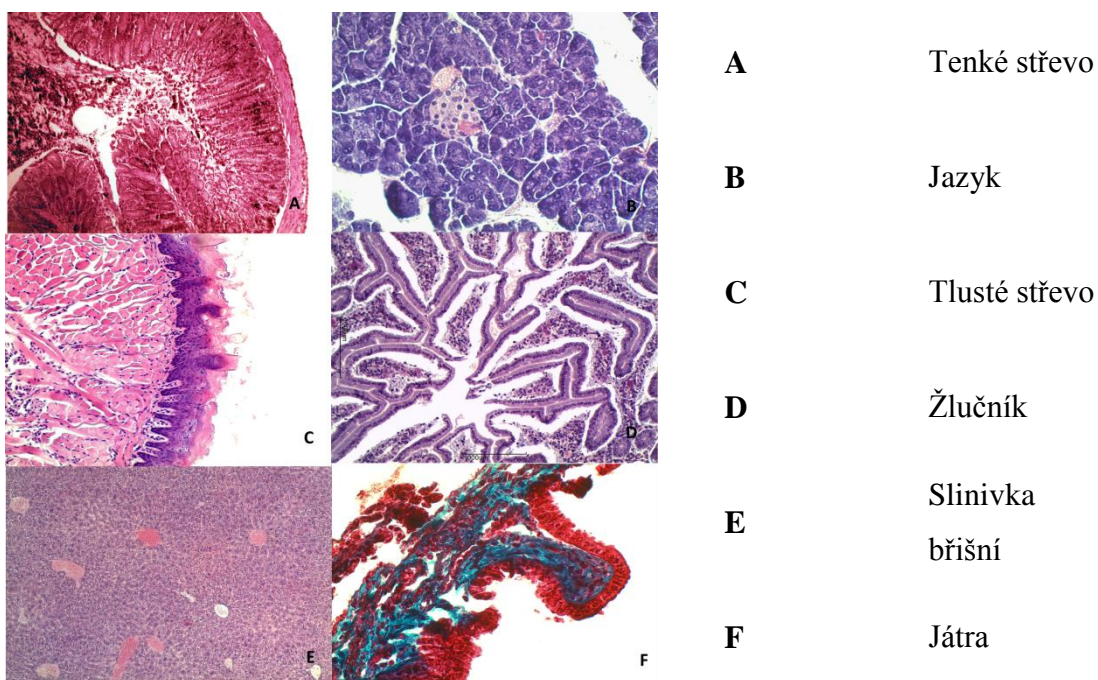
**1.**a – nadvarle, b – penis, c – semenné vřčky, d - varle; **2.** b; **3.** a; **4.** a, b, c; **5.**b; **7.** 1 – mitotické dělení, 2 – spermatogonie A, 3 – spermatogonie B, 4 – meiotické dělení, 5 - sekundární; **8.** 1 – Leydigovy buňky, 2 – spermie, 3 – lumen, 4 – Sertolliho buňky; **9.** b, e, f; **10.** a; **11.** 1 – lumen, 2 – pojivo, 3 – spermie, 4 – epiteliální buňky; **12.** a; **13.** b; **14.** 1 – secret epiteliálních buněk, 2 – epitel, 3 – lumen, 4 – lamina propria, 5 – hladká svalovina; **15.** 1 – corpora cavernosa penis, 2 – neúplnou, 3 – corpus spongiosum urethrae, 4 – hladká svalovina; **16.** a, b, d; **17.** arteria profunda penis; **18.** 1 – corpus cavernosum, 2 – corpus spongiosum, 3 - uretra

## 10.8. TRÁVICÍ SOUSTAVA

Následující test je zaměřen na prověření Vašich znalostí z tematického celku: Trávicí soustava. Test se skládá v 20 otázek a k jeho vyplnění máte 40 minut. U některých otázek je možno zaškrtnout více než jednu správnou odpověď. Otázky bez správné odpovědi v testu nejsou. Ke splnění testu je třeba získat minimálně 60% bodů.

Hodně štěstí!

**1. Na obrázku jsou fotografie příčných histologických řezů vybranými orgány trávicí soustavy. Přiřaďte názvy orgánu k odpovídající fotografii.**



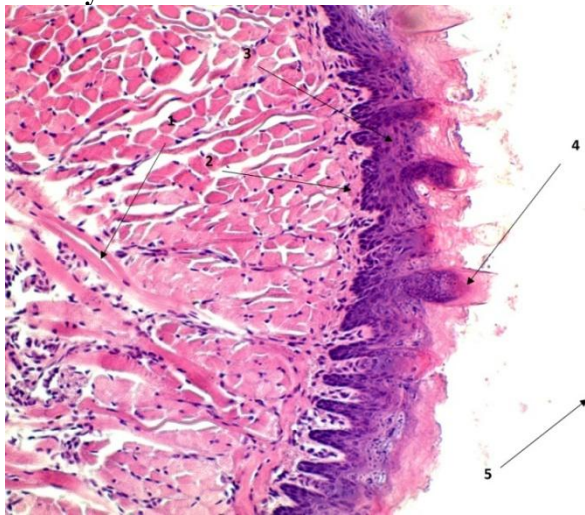
**2. Sliznice na svrchní straně jazyka je pokryta papilami. Které z následujících papil mezi ně patří?**

- a) Kyjovité papily
- b) Nitkovité papily
- c) Houbovité papily
- d) Řasnaté papily

**3. Jazyk je svalnatý orgán. Jakým typem svaloviny je tvořen?**

- a) Hladkou svalovinou
- b) Příčně pruhovanou svalovinou
- c) Srdeční svalovinou

**4. Na obrázku je fotografie příčného řezu jazykem myši domácí. Přiřaďte názvy jednotlivých struktur k číslům na obrázku.**



- |   |  |
|---|--|
| 1 | Dutina ústní                             |
| 2 | Papila                                   |
| 3 | Epitel                                   |
| 4 | Vlákno<br>příčně<br>pruhovaného<br>svalu |
| 5 | Lamina<br>propria                        |

**5. V tenkém střevě můžeme z histologického hlediska rozlišit tři úseky. Které tři úseky to jsou?**

- a) Dvanáctník (*duodenum*)
- b) Tračník (*colon*)
- c) Kyčelník (*ileum*)
- d) Esovitá klička (*colon sigmoideum*)
- e) Lačník (*jejunum*)
- f) Červovitý výběžek (*appendix vermiformis*)

## 6. Doplňte text za použití slov z nabídky:

*Enterocyty, serosa, jednovrstevný resorpční cylindrický epitel, adventicie, hvězdicové, tenuocyty, jednovrstevný resorpční kubický epitel, pohárkové*

Stěnu tenkého střeva (*intestinum tenue*) můžeme rozdělit na čtyři vrstvy: \_\_\_\_\_, hladkou svalovinu, podslizniční vazivo a sliznici. Sliznice tenkého střeva je tvořena \_\_\_\_\_, v němž se nacházejí další typy buněk, například \_\_\_\_\_ buňky nebo \_\_\_\_\_. Hlavní funkcí tohoto epitelu je udržení takzvané difusní bariéry, která omezuje průnik hydrofilních molekul do těla.

## 7. Vyjádřete se k pravdivosti tvrzení:

Sliznice tenkého střeva je rozbrázděna klky a kryptami. Klky se liší svojí délkou v různých částech střeva. Obecně však platí, že se klky směrem od duodena k ileu prodlužují. Příčinou tohoto jevu je nutnost zvýšení resorpce živin před vstupem do tlustého střeva.

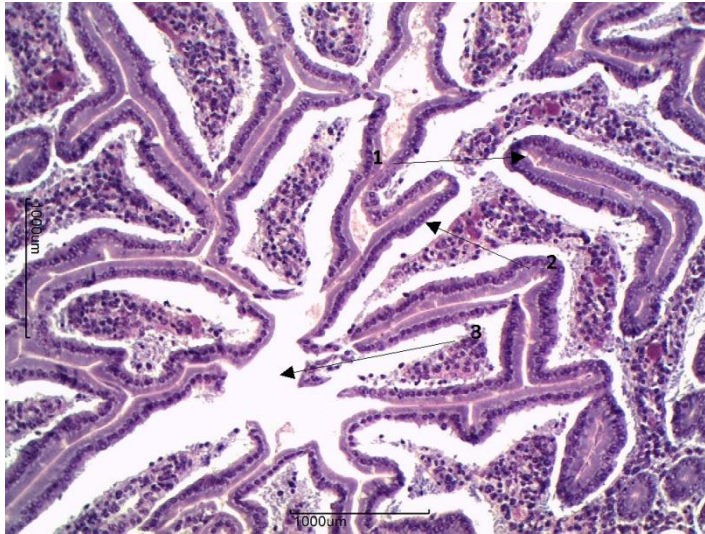
- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

## 8. Jakou funkci mají v tenkém střevě Panethovy buňky?

- a) Produkce sekretu
- b) Vylučování antibakteriálních látek
- c) Jejich součástí jsou mikroklky, na nichž dochází k poslední fázi trávení
- d) Produkce trávicích enzymů



9. Na obrázku je příčný řez tenkým střevem myši domácí. Přiřad'te jednotlivé struktury z výběru ke správným číslům na obrázku.



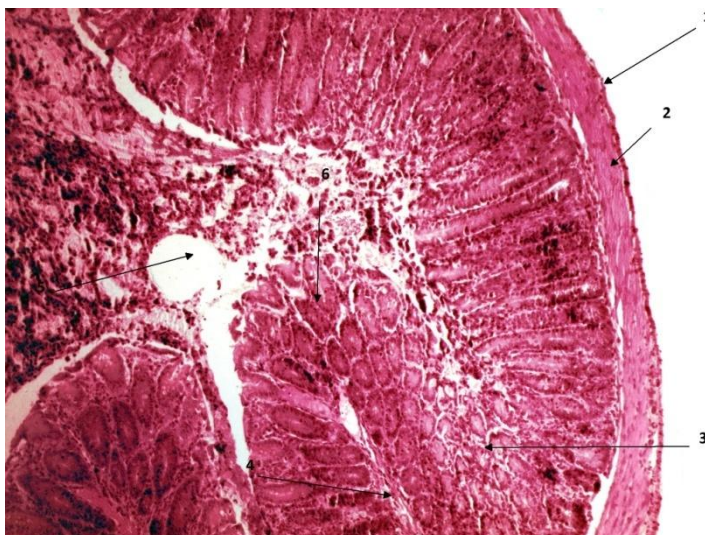
- |   |                    |
|---|--------------------|
| 1 | Lumen              |
| 2 | Cylindrický epitel |
| 3 | Klk                |

10. Vyjádřete se k pravdivosti tvrzení:

Sliznice tlustého střeva na rozdíl od sliznice tenkého střeva není rozbrázděna klky.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

11. Na obrázku je příčný řez tlustým střevem myši domácí. Přiřad'te jednotlivé struktury z výběru ke správným číslům na obrázku.



- |   |                      |
|---|----------------------|
| 1 | Lumen                |
| 2 | Lieberkühnovy krypty |
| 3 | Serosa               |
| 4 | Hladká svalovina     |
| 5 | Podslizniční vazivo  |
| 6 | Cylindrický epitel   |

12. Jak se nazývá onemocnění, které často postihuje stěnu červovitého výběžku tlustého střeva? \_\_\_\_\_

**13. Doplňte text za použití slov z výběru:**

*Šestiúhelník, hepatocyt, kapilára, enterocyt, pětiúhelník, nerv*

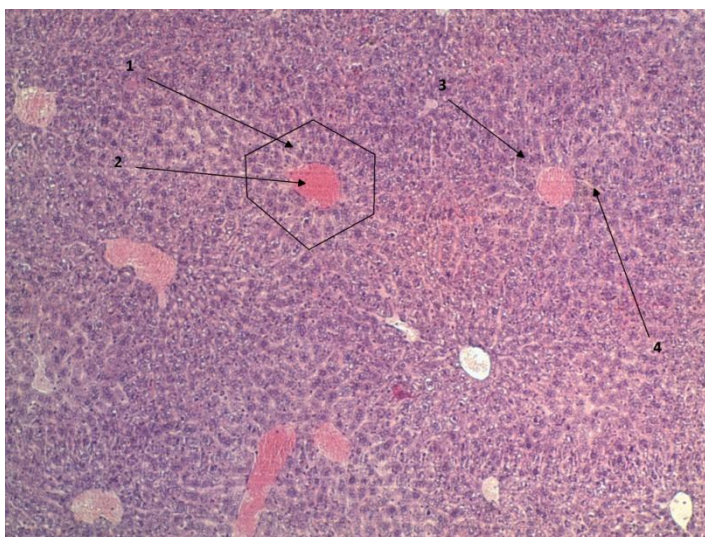
Základní jaterní buňkou jsou \_\_\_\_\_, které vytváří společně s \_\_\_\_\_ (sinusoidy) takzvané jaterní lalůčky (*lobuli*). Tyto lalůčky můžeme zjednodušeně znázornit jako \_\_\_\_\_, jejichž středem probíhá *vena centralis*.

**13. Žluč je produkována:**

- a) Enterocyty
- b) Hepatocyty
- c) Epiteliálními buňkami žlučníku
- d) Sinusoidy

**14. Žlučové barvivo bilirubin je produktem rozkladu jiné životně důležité látky, která se v těle vyskytuje. Které? \_\_\_\_\_**

**15. Na obrázku je fotografie řezu játry myši domácí. Přiřad'te názvy struktur k jednotlivým číslům na obrázku.**



- 1** Vena centralis
- 2** Hepatocyt
- 3** Jaterní lalůček
- 4** Sinusoid

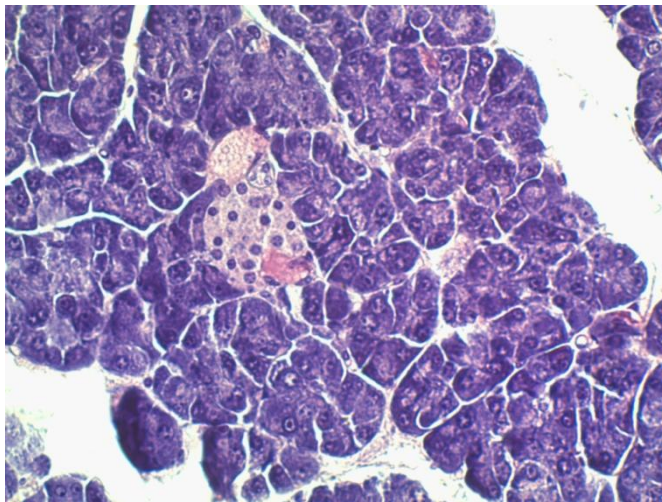
**16. Vyberte údaje, které platí o slinivce břišní.**

- a) Jedná se o exokrinní i endokrinní žlázu
- b) Produkuje trávicí enzymy
- c) Produkuje hormony
- d) Dochází zde k destrukci starých nebo poškozených erytrocytů

**17. Jak se nazývá část slinivky břišní, která produkuje inzulín a glukagon?**

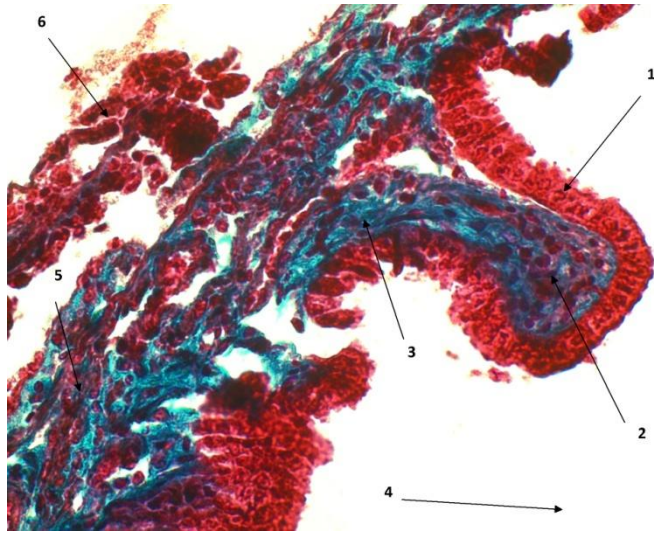
---

**18. Na obrázku je řez slinivkou břišní myši domácí. Vyznačte, kde na obrázku jsou Langerhansovy ostrůvky.**





19. Na obrázku je příčný řez stěnou žlučníku myši domácí. Přiřaďte jednotlivé struktury z výběru ke správným číslům na obrázku.



1	Lamina propria
2	Lumen
3	Slizniční řasa
4	Cylindrický epitel
5	Serosa
6	Hladká svalovina

**SPRÁVNÉ ODPOVĚDI:**

1. 1 – tlusté střevo, 2 – slinivka břišní, 3 – jazyk, 4 – tebké střevo, 5 – játra, 6 - žlučník;  
 2.b,c; 3. b; 4. 1 – vlákno příčně pruhovaného svalu, 2 – lamina propria, 3 – epitel, 4 – papilla, 5 – dutina ústní; 5. a, c, e; 6. 1 – serosa, 2 – jednovrstevný resorpční cylindrický epitel, 3 – pohárkové, 4 - enterocyty; 7. b; 8. a, b; 9. 1 – klk, 2 – cylindrický epitel, 3 - lumen; 10. a; 11. 1 – serosa, 2 – hladká svalovina, 3 – Lieberkühnovy krypty, 4 – podslizniční vazivo, 5 – lumen, 6 – cylindrický epitel; 12. appendicitida, zánět slepého střeva; 13. 1 – hepatocyty, 2 – kapilárami, 3 - šestiúhelník; 14. b; 15. hemoglobin; 16. 1 – jaterní lalůček, 2 – vena centralis, 3 – hepatocyt, 4 - sinusoid; 17. a, b, c; 18. Langerhansovy ostrůvky; 20. 1 – cylindrický epitel, 2 – slizniční řasa, 3 – lamina propria, 4 – lumen, 5 – hladká svalovina, 6 - serosa

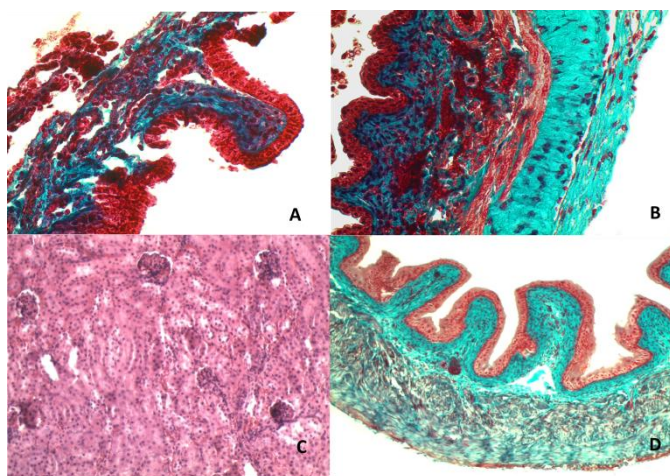


## 10.9. VYLUČOVACÍ SOUSTAVA

Následující test je zaměřen na prověření Vašich znalostí z tematického celku: Vylučovací soustava. Test se skládá v 16 otázek a k jeho vyplnění máte 35 minut. U některých otázek je možno zaškrtnout více než jednu správnou odpověď. Otázky bez správné odpovědi v testu nejsou. Ke splnění testu je třeba získat minimálně 60% bodů.

Hodně štěstí!

**1. Na obrázku máte fotografie řezů čtyřmi různými orgány. Které z nich patří k vylučovací soustavě?**



A

B

C

D

**2. Se kterou další orgánovou soustavou úzce spolupracuje vylučovací soustava, zejména ledvina?**

- a) S trávicí soustavou
- b) S oběhovou soustavou
- c) S dýchací soustavou
- d) S rozmnožovací soustavou

**3. Vyjádřete se k pravdivosti tvrzení:**

Ledvina je hlavním orgánem vylučovací soustavy. Její hlavní funkcí je vylučování odpadních produktů metabolismu. Mezi další funkce patří například tvorba hormonů.

- a) Pravdivé
- b) Nepravdivé

#### 4. Doplňte následující text termíny z nabídky:

*ledvinná pánvička, hvězdy, medulla, pyramidy, močovod, cortex*

Ledvina je orgán fazolovitého tvaru uložený v retroperitoneálním prostoru, který je na povrchu kryt jednak vazivovým pouzdrmem a jednak tukovým obalem. Na průřezu ledvinou můžeme rozpoznat blíže k povrchu kůru (\_\_\_\_\_) a uvnitř dřev (\_\_\_\_). Dřev na průřezu vytváří dřevové \_\_\_\_\_, jejichž vrcholy (*papillae renales*) ústí do \_\_\_\_\_, odkud je odváděna vytvořená moč.

#### 5. Základní funkční jednotkou ledvin je:

- a) Neuron
- b) Nefron
- c) Renin
- d) Bowman

#### 6. Doplňte následující text podle výběru:

*jednovrstvném, aferentní, mesenterium, glomerulus, eferentní, dvouvrstvném, nefron, mesangium*

Ledvinné tělíčko je útvar skládající se z několika částí. Základem ledvinného tělíčka je klubičko složené z kapilár (\_\_\_\_\_). Krev je do tělíčka přiváděna \_\_\_\_\_ arterioulou, která se dělí na 2-5 větví vytvářejících kapilární síť. Jednotlivé kapiláry jsou zavěšeny na \_\_\_\_\_. Toto klubičko je obaleno v \_\_\_\_\_ Bowmanově pouzdře složeném z podpůrných endotelových buněk.

#### 7. Doplňte:

Výstelku vnitřní vrstvy Bowmanova váčku tvoří hvězdicovité buňky zvané\_\_\_\_\_.

#### 8. V oblasti cévního pólu přechází vnitřní vrstva Bowmanova váčku na vrstvu vnější, která je tvořena epitelem. Kterým?

- a) Jednovrstevný plochý epitel
- b) Jednovrstevný kubický epitel
- c) Vícevrstevný cylindrický epitel
- d) Vícevrstevný dlaždicový epitel

**9. V proximálním tubulu ledvinného tělíska dochází k:**

- a) Zpětné resorpci živin
- b) Zpětné resorpci vody
- c) Zpětné resorpci sodných iontů
- d) Zpětné resorpci bílkovin

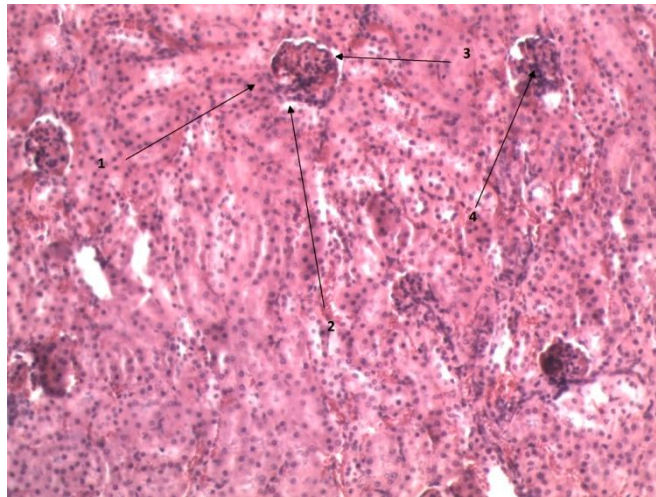
**10. Proximální tubulus ledvinného tělíska se skládá ze dvou částí, přímé a svinuté. Každá tato část se nachází v jiném úseku ledviny. Přiřaď k jednotlivým strukturám správné umístění.**

- |                                      |                    |
|--------------------------------------|--------------------|
| a) svinutá ( <i>pars convoluta</i> ) | 1) korový labyrint |
| b) přímá ( <i>pars recta</i> )       | 2) dřev            |

**11. Který hormon řídí tvorbu definitivní moči?**

- a) Parathormon
- b) Antidiuretický hormon
- c) Renin
- d) Kortisol

**12. Na obrázku je řez kůrou ledviny myši domácí. Přiřaďte správná čísla k jednotlivým strukturám.**



- |   |                    |
|---|--------------------|
| 1 | Glomerulus         |
| 2 | Distální tubulus   |
| 3 | Bowmannův váček    |
| 4 | Proximální tubulus |

**13. Za vyprázdnění močového měchýře zodpovídají:**

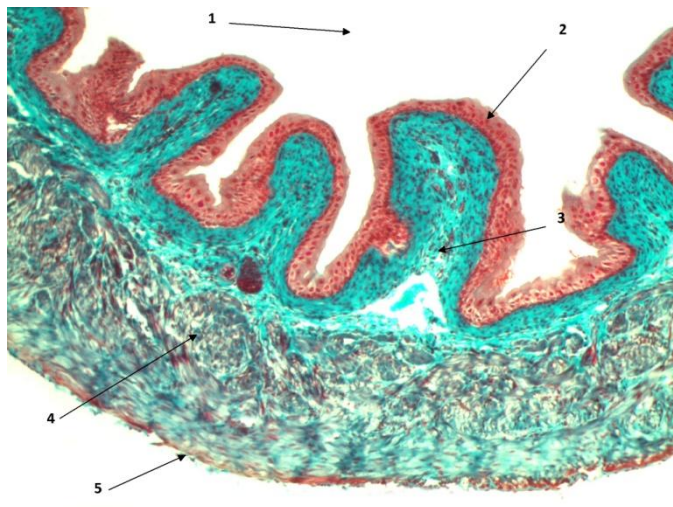
- a) Parasympatikus
- b) Sympatikus
- c) Odstředivá nervová vlákna vycházející ze stěny močového měchýře
- d) Dostředivá nervová vlákna vycházející ze stěny močového měchýře

**14. Urothel je speciálním typem epitelu, který vystýlá sliznici močového měchýře.**

**Které z následujících znaků můžeme urothelu přiřadit?**

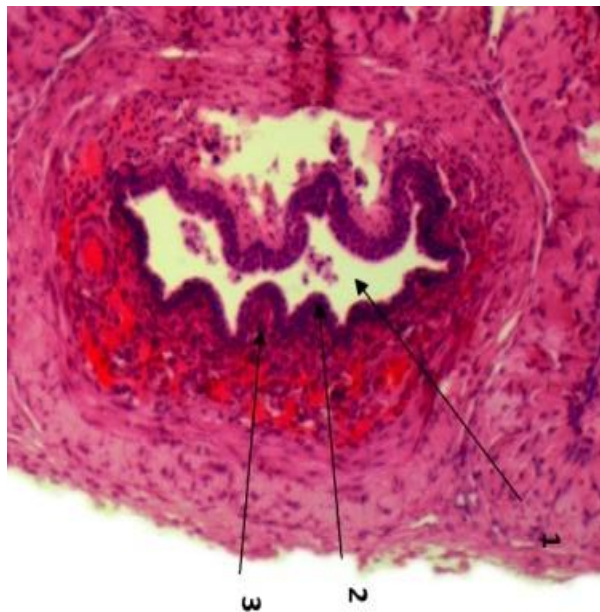
- a) Tvoří osmotickou bariéru
- b) Je tvořen třemi vrstvami buněk
- c) Je tvořen jednou vrstvou buněk
- d) V relaxovaném stavu se skládá do řas

**15. Na obrázku je řez močovým měchýřem myši domácí. Přiřaďte správná čísla k jednotlivým strukturám.**



- 1 Urothel
- 2 Lumen
- 3 Adventicie
- 4 Hladká svalovina
- 5 Lamina propria

16. Na obrázku je řez samčí močovou trubicí (urethrou) myši domácí. Přiřaďte správná čísla k jednotlivým strukturám.



1 Lamina propria

2 Lumen

3 Urothel

**SPRÁVNÉ ODPOVĚDI:**

1 .b, c, d; 2. b; 3.a; 4. 1 – cortex, 2 – medulla, 3 – pyramid, 4 - hvězdy; 5. b; 6. 1 – glomerulus, 2 – aferentní, 3 – mesangium, 4 - jednovrstevném; 7. podocyty; 8. a; 9. a, b, c; 10. a1, b2; 11. b; 12. 1 – proximální tubulus, 2 – distální tubulus, 3 – Bowmannův váček, 4 – glomerulus; 13. b, c; 14. a, b, d; 15. 1 – hladká svalovina, 2 – urotel, 3 – adventicie, 4 – lumen, 5 – lamina propria; 16. 1 – lamina propria, 2 – urotel, 3 - lumen