

# OPONENTSKÝ POSUDEK DOKTORSKÉ DISERTAČNÍ PRÁCE

Mgr. Ingridy Šmeringaiové

## **„Use of corneal endothelium and amniotic membrane for transplantation purposes “**

1. lékařská fakulta UK

Dysfunkce rohovkového endotelu je v současnosti nejčastější indikací k transplantaci rohovky. V posledních 15 letech došlo k zásadním změnám v chirurgickém přístupu k léčbě těchto onemocnění. V současnosti se provádí izolovaná výměna poškozeného či dystrofického rohovkového endotelu. Endotelové buňky na Descemetové membráně jsou preparovány z kadaverózních rohovek. Největším úskalím rohovkové transplantologie je trvalý nedostatek dárcovských tkání. Ideálním řešením dysfunkčního endotelu by bezpochyby byla možnost reparace vlastního endotelu, nebo in vitro kultivace autologních či alogenních endotelových buněk a jejich následná transplantace pacientovi na vhodném nosiči.

V první části disertační práce autorka popisuje vlastní protokol pro kultivaci endotelových buněk. Ke kultivaci byly použity buňky z kadaverózních korneosklerálních terčů z oční tkáňové banky. V primárních buněčných kulturách i na nativní tkáni autorka sledovala přítomnost množství proteinů a markerů. Autorka dále popsala in vitro model reparace poškozeného endotelu.

Ve druhé části autorka popisuje nově vytvořený protokol pro dekontaminaci amniové membrány. Takto připravená tkáň se úspěšně využívá v léčbě dlouhodobě se nehojících ran. Dále je popsán protokol pro deepitelizaci amniové membrány, při kterém je získána amniová membrána s intaktní bazální membránou a vitální epitelové buňky.

Disertační práce je zpracována klasickou formou. Bez původních článků má devadesát osm stran a všechny doporučené náležitosti. Obsahuje předmluvu, úvod, hypotézy a cíle, materiál

a metody, výsledky, diskuzi, souhrn a reference. Druhou polovinu práce tvoří publikované články. Celkem bylo k tématu publikováno pět prací, MUDr. Šmeringaiová je první autorkou třech z nich. Je nutno ocenit, že grafické zpracování disertace je velmi dobré kvality. Základní pojmy, hypotézy a cíle práce jsou srozumitelné a konkrétně formulovány. Považuji téma a cíle za aktuální a klinicky významné, stejně tak zvolené metodické postupy.

Výsledky disertace se dají shrnout takto:

#### Část I: Endotel rohovky

1. Autroka imunohistochemicky detekovala přítomnost kmenových markerů (SOX2, LGR5) a markery proliferace (Ki67) v periférii rohovky. Dále byla imunohistochemicky detekovaná lokalizace vybraných markerů endotelu. Žádný ze zkoumaných markerů není zcela specifický pro buňky rohovkového endotelu.
2. Korneosklerální rimy se zachovaným periferním endotelem mohou být využity pro přípravu endotelových kultur, ekvivalentních kulturám vzniklým z rohovek s kompletním (nebo intaktním) endotelem.
3. K zahojení defektu endotelu rohovky přispívá nejen migrace a zvětšení plochy buněk endotelu, ale také jejich proliferace. Hojení je stimulováno zejména délkou kultivace a vyšší koncentrací séra v médiu.
4. Byl zaveden prasečí ex vivo model vhodný pro výzkum reparační/regenerační kapacity endotelu.

#### Část II: Amnion

1. Byl vyvinut protokol pro přípravu vlastního roztoku pro dekontaminaci amniové membrány, šetrný k buňkám amnia.
2. Byl vytvořen a popsán protokol pro získání nepoškozené de-epitelizované amniové membrány a současně životaschopných epitelových buněk.
3. Byl vytvořen protokol pro přípravu kryokonzervovaných a vzduchem sušených amniových štěpů, které byly velmi úspěšně použity k léčbě chronických dlouhodobě nehojících se ran pacientů, u kterých přestaly standardní způsoby léčby zabírat.

Mám na autorku tři otázky:

1. Který z vybraných markerů endotelu, případně jejich kombinace, se podle Vás jeví jako nejslibnější pro identifikaci endotelových buněk?
2. Plánujete provádět měření genové exprese těchto markerů v kontrolní, příp. patologické rohovce?
3. Jakými způsoby by se podle Vás dal v práci použitý kultivační protokol vylepšit pro získání vyšších buněčných výtěžků?

Závěr: Předložená doktorská disertační práce je kvalitní a předložené výsledky považuji za vědecky významné. Autorka projevila schopnost samostatné tvůrčí vědecké činnosti. Doporučuji práci k obhajobě a na jejím základě udělení titulu PhD.

V Praze dne 2. 9. 2020

MUDr. Magdaléna Netuková, PhD

Oftalmologická klinika a oční tkáňová banka

FNKV a 3. LFUK

Šrobárova 50

100 34, Praha 10