

ABSTRAKT

Cíle: Cílem práce bylo charakterizovat pomocí vybraných protilátek zdravou lidskou rohovku a rohovku od pacientů se zadní polymorfni dystrofií rohovky (ZPDR). I když je toto onemocnění považováno za ojedinělé, v České republice se nachází jeden z největších souborů pacientů s tímto postižením. To velmi dobře umožnilo sledovat změny na úrovni klinické, buněčné i molekulární.

Materiál a metody: K experimentům byl použit soubor 25ti kontrolních rohovek a soubor rohovek od 16ti pacientů se ZPDR. Imunocyto- a imunohistochemicky byly detekovány epiteliální (cytokeratiny) a mezoteliální markry (mesothelin, kalbindin 2 a protein HBME-1) ve všech vrstvách kontrolních rohovek. Výskyt jednotlivých markerů byl potvrzen i molekulárními metodami (RT-PCR a Western blot). U rohovek se ZPDR byly sledovány změny v expresi cytokeratinů a ve složení extracelulární matrix (kolagenu IV a VIII). Pro objasnění původu abnormálních endotelových buněk u pacientů se ZPDR po transplantaci rohovky, které způsobují relaps onemocnění, byly současně použity dva metodické postupy; nepřímá fluorescenční imunohistochemie a fluorescenční in situ hybridizace.

Výsledky: V rohovkách pacientů se ZPDR byly charakterizovány změny na úrovni exprese cytokeratinů v abnormálním endotelu (silná pozitivita pro cytokeratiny 7, 19, 8 a 18, slabší pozitivita pro cytokeratiny 1, 3/12, 4, 5/6, 10, 10/13, 14, 16 a 17) a změny v lokalizaci jednotlivých řetězců kolagenů IV a VIII. I když ZPDR postihuje především zadní vrstvu rohovky (endotel a Descemetovu membránu), změny byly detekovány i na úrovni bazální membrány epitelu a zadní části stromy. Byl objasněn původ abnormálních buněk endotelu, které způsobují relaps onemocnění u pacientů se ZPDR. Tyto abnormální buňky migrují na štěp z netransplantované periferní části pacientovy rohovky.

Dále bylo charakterizováno cytokeratinové spektrum v jednotlivých vrstvách zdravé lidské rohovky, limbu a spojivky. Za klíčový nález považují přítomnost cytokeratinu 8 v bazální vrstvě epitelu limbu svědčící o významu tohoto cytokeratinu v procesu diferenciaci buněk při obnově rohovkového epitelu. Ve zdravém endotelu rohovky byly detekovány markry epitelu (cytokeratin 8 a 18) a mezotelu (mesothelin, kalbindin 2 a protein HBME-1).

Závěr: Charakterizace zdravé lidské rohovky je předpokladem pro detailní určení změn, ke kterým dochází u patologických stavů. Rozšíření znalostí o abnormálních nálezech u rohovek pacientů se ZPDR může vést k zpřesnění diagnostiky a prognózy klasické léčby pacientů s tímto onemocněním a může být základem pro nové terapeutické postupy.

Klíčová slova: *rohovka; zadní polymorfni dystrofie rohovky; endotel; epitel; cytokeratin; kolagen*