

Hodnocení diplomantky Jany Nejepínské

Diplomová práce:

Vliv uchovávacích podmínek na kvalitu lidských rohovek připravovaných pro transplantační účely

Anglický titul: The influence of the storage conditions on the quality of human corneas prepared for grafting.

Jana Nejepínská začala pracovat na své diplomové práci v laboratoři Biologie a patologie oka a Oční tkáňové bance VFN a 1. LF UK v roce 2004.

Hlavní náplní Janiny práce bylo sledovat vliv uchovávacích podmínek na kvalitu lidských rohovek připravovaných pro transplantační účely. Cílem bylo hodnotit vybrané parametry ovlivňující kvalitu rohovkového štěpu, a zjistit rozdíly mezi uchováním v tkáňových kulturách a v hypotermických podmínkách.

Jana si brzy si osvojila potřebné laboratorní návyky, zvládla základní metody buněčné biologie (imunohistochemie, mikroskopie, včetně pořizování obrazové dokumentace a hodnocení experimentů). Zvládla manipulace s rohovkou (například preparaci korneosklerálního terče, manipulace během uchování rohovky, získávání buněk endotelu pomocí otiskové cytologie), její hodnocení z hlediska použitelnosti pro transplantaci (t.j. zjišťování kvalitativních a kvantitativních parametrů rohovky jako jsou densita živých a mrtvých buněk endotelu, koeficient variace, hexagonalita), dále zvládla základní skladovací techniky – tkáňové kultury a hypotermické skladování. Pro stanovení oxidu dusnatého zavedla v laboratoři Griessovu reakci.

Jana postupně začala zvládat i metody molekulární biologie, především real-time RT PCR, pomocí které detekovala expresi Fas ligandu buňkami endotelu rohovky. Vyzdvihuji zejména její samostatnost při řešení optimalizace PCR a využití různých modifikací této metody.

Jana po celou dobu pracovala velmi zodpovědně a samostatně či ve spolupráci s molekulárním biologem laboratoře. Řešenou problematiku běžně studovala v angličtině a sudované problematice dobře rozumí.

Hlavním výstupem této práce je charakterizace reparace endotelu rohovky (včetně její kinetiky) po modelovém mechanickém poškození. Diplomatka dokázala, že vhodný výběr

uchování rohovky, v tomto případě použití tkáňových kultur vede ke zlepšení stavu rohovky a umožňuje její použití pro transplantaci.

Vzhledem k tomu, že z řešené problematiky je na mezinárodní úrovni publikováno jen velmi málo (v případě NO uvolňovaného rohovkami do skladovacího média), či téměř nic (změny v expresi a lokalizaci Fas ligand v endotelu rohovky v závislosti na typu a délce uchování rohovek), musela nejdříve najít vhodné experimentální podmínky a pokud se týká exprese Fas ligantu, překonat řadu metodických problémů, vyplývajících zejména z nízkého počtu endotelových buněk v rohovce. Zjistila, že výskyt Fas ligantu, jehož přítomnost v endotelu je jedním ze zásadních předpokladů přežívání rohovky po transplantaci, se během uchování rohovek výrazně nemění, v rohovkách uchovávaných v hypotermických podmínkách dochází k snížení jeho výskytu v buněčné membráně, což může být dáno inhibicí transportu z perinukleárního prostoru do periferie buňky.

Dále zjistila, že koncentrace oxidu dusnatého produkovaného buňkami do média nedosahuje toxických hodnot.

Kromě precizně vykonané experimentální práce Jana zvládá vyhodnocení experimentů i interpretaci získaných dat. Ovládla i základy statistické analýzy, běžně si připravuje grafické zpracování výsledků a prezentaci své práce.

O jejích velmi dobrých jazykových znalostech svědčí to, že diplomová práce je psána v anglickém jazyce. Jana se spolupodílela na přípravě článku, který prezentuje data, která získala během své práce. Článek je připraven k odeslání do časopisu Acta Scandinavica Ophthalmologica (IF 1,5), ve kterém je uvedena jako první autor. Jana splňuje všechny předpoklady pro to, aby mohla pokračovat ve vědecké práci jako doktorandka.

Doporučuji diplomovou práci Jany Nejepínské k obhájení.

Mgr. Kateřina Jirsová, Ph.D.

Oční tkáňová banka a Laboratoř Biologie a patologie oka VFN a 1. LF UK
U Nemocnice 2,
128 08 Praha 2,
Telefon: 224 962 338
Fax: 224 962 338
E-mail: otb@vfn.cz