

## Abstrakt

Deficience limbálních kmenových buněk (LSCD) je onemocnění charakterizované poruchou, nedostatkem či absencí limbálních kmenových buněk zodpovídajících za homeostázu a obnovu rohovkového epitelu. Důsledkem onemocnění je zánět na povrchu oka, neovaskularizace a ztráta transparence rohovky, což může vést až ke ztrátě vidění. Prakticky jedinou formou léčby je transplantace limbální tkáň nebo kultivovaných limbálních epitelových buněk (LECs) na poškozený povrch oka. Lidská amniová membrána (HAM) je přitom využívána jako nosič pro kultivaci LECs a uplatňuje se i v léčbě povrchu oka včetně LSCD. Předkládaná dizertační práce se zabývá buněčnou terapií LSCD, zejména inovací kultivačních podmínek pro limbální epitelové buňky a přípravou vhodného nosiče pro přenos buněk na poškozenou rohovku. V průběhu studia jsem použil široké spektrum metod, např. kultivaci různých typů buněk (LECs, mezenchymálních kmenových, amniových epitelových, spojivkových epitelových, pohárkových a 3T3 buněk), imunohistochemii a imunocytochemii, mikroskopii, proliferační testy a testy tvorby kolonií, reverzní transkripční a kvantitativní real-time PCR a statistickou analýzu.

Během studia jsem se podílel na přípravě protokolu pro zlepšení kvality kultivace limbálních epitelových buněk bez použití xenogenních médií. Tuto metodu plánujeme využít pro přípravu buněk pro transplantace v léčbě LSCD, jelikož tento typ léčby v České republice není dosud zaveden. Dále jsme z explantátu korneosklerálního terče připravili kulturu spojivkových epitelových a pohárkových buněk pro využití v léčbě poškozené spojivky. Pomocí inzulinu-podobnému růstového faktoru-1 jsme dokázali zvýšit diferenciaci myších mezenchymálních kmenových buněk na buňky podobné rohovkovým epitelovým buňkám s možným využitím při bilaterální léčbě LSCD. Pro standardizaci přípravy HAM jsme zavedli přípravu laboratorního dekontaminačního roztoku jako možnou náhradu za komerčně vyráběný produkt a tuto metodu začali používat při přípravě amniové membrány pro oční transplantace a léčbu dlouhodobě se nehojících ran. Dále jsme vyvinuli deepitelizaci HAM, která vede ke vzniku HAM použitelné pro kultivaci buněk, ale i vitálního epitelu, který může být dále využit metodami tkáňového inženýrství.

**Klíčová slova:** rohovka, limbální kmenové buňky, spojivka, mezenchymální kmenové buňky, diferenciacie, amniová membrána