

Téma dizertační práce:

Cell and molecular characterization of failed human corneal grafts. Role of matrix metalloproteinases in recurrent corneal melting.

Buněčná a molekulární charakterizace selhaných transplantátů lidské rohovky. Role matrix metalloproteináz při opakované keratolýze lidské rohovky.

Autor: Mgr. Kristýna Brejchová
Školitel: Mgr. Kateřina Jirsová, PhD.
Pracoviště: Laboratoř biologie a patologie oka, ÚDMP, 1.LF UK v Praze
Ke Karlovu 2, Praha 2, 128 00

Posudek školitele:

Mgr. Kristýna Brejchová (rozená Juklová) pracuje v Laboratoři biologie a patologie oka, ÚDMP 1. LF UK a VFN již od roku 2001, kdy se po dobu 3 let v rámci diplomové práce zabývala studiem hadovitěho chromatinu a jeho výskytu v epitelových buňkách spojivky oka u pacientů se syndromem suchého oka. Výsledky této práce byly publikovány v impaktovaných časopisech (*Jirsova et al., Histol Histopathol. 2006* a *Jirsova et al., Acta Cytol 2007*) a v knize Cell Apoptosis Research. Mgr. Brejchová se kromě experimentální části podílela i na přípravě výše uvedených článků. Mgr. Brejchová spolupracovala i na studii týkající se léčby syndromu suchého oka autologním sérem v podobě očních kapek (*Jirsova et al., Cesk Slov Oftalmol. 2008*) a taktéž přispěla k práci zabývající se reparačními schopnostmi endotelu rohovky po mechanickém poškození v různých skladovacích podmínkách (*Nejepínská et al., Acta Ophthalmol 2009*).

Od října 2004 Mgr. Brejchová začala v rámci doktorandského studia pracovat na studii „Buněčná a molekulární charakterizace selhaných transplantátů lidské rohovky“ s užším zaměřením na keratolýzu štěpů lidské rohovky. Keratolýza rohovky je velmi vážný a obtížně léčitelný patologický proces, při kterém dochází k postupné degradaci mezibuněčné hmoty, následkem čehož dochází k perforaci rohovky. Znalost mechanismu tohoto destruktivního procesu může přispět k vývoji adekvátní a efektivní léčby.

Od začátku svého studia si Mgr. Brejchová osvojila řadu činností v rámci laboratorní praxe od zpracování vzorků, jejich přípravu pro experiment, hodnocení výsledků a jejich zpracování v publikaci. Běžně využívala řady metodických postupů týkající se nejen detekce a dělení proteinů (fluorescenční imunocyto- a imunohistochemie a enzymová imunohistochemie, Western Blot), ale také detekce aktivity enzymů (želatinová a kaseinová zymografie, aktivační analýza matrix metalloproteináz), detekce apoptózy buněk pomocí metodiky TUNEL, izolace RNA a proteinů, stanovení množství proteinů a semikvantitativní RT-PCR. V rámci tříměsíční stáže spolupracovala s pracovištěm na Oftalmologickém institutu, London's Global University and Moorfields Eye Hospital v Londýně (Divisions of Pathology and Cell Biology, Cells for Sight Transplantation & Research Programme), kde si osvojila metody kultivace limbálních epitelových buněk a následně se snaží tyto metodické postupy implementovat v Laboratoři biologie a patologie oka. Část výsledků získaných během této stáže byly také použity pro přípravu další publikace v impaktovaném časopise (*Merjava et al., IOVS 2011*).

Formální stránka dizertační práce:

Dizertační práce Mgr. Brejchové má 68 stran anglicky psaného textu a 18 stran příloh. Práce obsahuje všechny předepsané náležitosti (úvodní strana, čestné prohlášení, identifikační záznam a abstrakty v českém a anglickém jazyce) a je členěna do hlavních kapitol: cíle práce, literární úvod, materiál a metody, výsledky, diskuze, závěry a budoucí práce, reference a výčet publikovaných prací. Literární úvod obsahuje souhrn nejdůležitějších a nejnovějších poznatků, které jsou nezbytné k vysvětlení příslušné tematiky a cílů práce. Všechny poznatky jsou patřičně citovány dle pravidel citační etiky. Text vhodně doplňuje devět obrázků, sedm tabulek a dva grafy, které jsou patřičně opatřeny citacemi a srozumitelnými popisky. Práce obsahuje 221 odkazů.

Obsahová stránka dizertační práce:

Cílem předkládané dizertační práce je rozšířit znalosti o podílu a působení enzymů matrix metaloproteináz v procesu keratolýzy transplantátů lidské rohovky.

Práce zahrnuje tři skupiny pacientů rozdělených podle systémového onemocnění související s keratolýzou rohovky (pacienti s revmatoidní artritidou, Sjögrenovým syndromem a pacienti s dalšími keratolýzu doprovázejícími chorobami) a jedné kontrolní skupiny (kadaverózní rohovky, u jejichž dárců nebylo zaznamenáno žádné systémové onemocnění). Na vzorcích patologických i kontrolních rohovek byla sledována přítomnost a aktivita hlavních zástupců podskupin matrix metaloproteináz: kolagenáz (MMP-1, MMP-8, MMP-13), želatináz (MMP-2 a MMP-9), stromelyzinů (MMP-3) a matrilysinů (MMP-7). Práce, jejíž výsledky potvrzují významnou úlohu želatináz (MMP-2 a -9), kolagenáz (MMP-1 a -8) a stromelyzinu MMP-3 při keratolýze lidské rohovky, zahrnuje i dosud nepublikované poznatky týkající se přítomnosti matrilysinu MMP-7 a v malé míře i kolagenázy MMP-13 v takto destruovaných rohovkách.

Výsledky uvedené práce také dokazují zvýšenou aktivitu MMP-1, -3 a -7, která dosud nebyla v tomto patologickém procesu popsána. Expres a aktivita matrix metaloproteináz při procesu keratolýzy je podle této studie obdobná u patologických vzorků ze všech skupin pacientů a nebyly tak potvrzeny rozdíly ve vlivu různých chorob souvisejících s keratolýzou rohovky na expresi a aktivaci unikátní kombinace matrix metaloproteináz. Výsledky této práce byly publikovány Mgr. Brejchovou ve dvou prestižních impaktovaných časopisech (*Brejchova et al., Mol Vis. 2009* a *Brejchova et al., Exp Eye Res. 2010*).

Mgr. Kristýna Brejchová se velmi dobře a samostatně orientuje ve sledované problematice, má smysl pro týmovou práci a velmi dobře se začlenila do kolektivu laboratoře, je také schopna orientovat se a pracovat na vědecké problematice zcela samostatně.

Výsledky své práce zveřejnila v zahraničních impaktovaných časopisech a prezentovala na řadě domácích i zahraničních konferencí, což svědčí o schopnosti Mgr. Brejchové samostatně vědecky pracovat. Její vědecká práce v rámci doktorandského studia splňuje všechny podmínky a náležitosti pro udělení titulu PhD.

V Praze, dne: 11. 7. 2011

Podpis:

A large grey rectangular box redacting the signature of the reviewer. To the right of the box, the handwritten name 'ola' is visible.

ola