

## ABSTRAKT

Keratokonus (KC) je nezánettivé onemocnění rohovky, při kterém se rohovka ztenčuje a vyklenuje pravděpodobně v důsledku poruch ve vazbě kolagenních vláken. Je jednou z nejčastějších indikací k transplantaci rohovky. KC je multifaktoriální onemocnění, na jehož vzniku se podílí i genetické faktory, nicméně přesná příčina onemocnění ani její mechanismus nebyly zatím objasněny.

Cílem práce bylo porovnat výskyt a aktivitu enzymů lysyl oxidáz (LOX a LOX-like enzymy), které katalyzují vznik vazeb mezi elastinovými a kolagenními vlákny v kontrolních lidských rohovkách a v explantátech získaných při transplantaci od pacientů s KC. Zaměřili jsme se i na onemocnění asociované s výskytem KC a pokusili se najít jejich společné znaky. Provedli jsme studii ověřující asociaci jednonukleotidových záměn (SNPs) v genech pro *LOX* a hepatocytární růstový faktor (*HGF*) s výskytem KC. V našem výzkumu jsme použily metody buněčné a molekulární biologie (tkáňové kultury, imunohisto- a imunocytochemie, mikroskopie, měření aktivity enzymů pomocí fluorometrie, genotypování a přímé sekvenování) a statistickou analýzu.

Prokázali jsme přítomnost celé rodiny lysyl oxidáz v kontrolní i KC rohovce, ve které jsme pozorovali pokles intenzity a nepravidelné rozmístění LOX, propeptidu LOX, LOXL2 a LOXL3. Zjistili jsme, že u KC dochází ke 2,5 násobnému poklesu celkové aktivity LOX enzymů. Zjistili jsme, že k podobným strukturním změnám jako u KC dochází i u prolapsu mitrální chlopně (PMC), což naznačuje podobný mechanismus vzniku obou onemocnění. Upozornili jsme rozdíl mezi KC a makulární dystrofií rohovky (MDR), dosud vedené jako onemocnění asociované s KC. Prokázali jsme asociaci rs2956540-C v oblasti genu *LOX* s protektivním účinkem a rs3735520-A v *HGF* jako rizikový faktor pro rozvoj KC. Publikovali jsme hypotézu o vlivu disbalance mědi na rozvoj KC, v které jsme spojili všechny dosud popsání dílčí změny pozorované u tohoto onemocnění do jedné společné dráhy. Přesný způsob jakými se asociované SNPs a lokální deficiencie mědi podílejí na vzniku KC, zůstávají neobjasněny.

Potvrdili jsme, že u KC dochází k poruchám enzymů tvořících vazby mezi kolageny a nastínili, že podobný mechanismus se zřejmě uplatňuje i při vzniku PMC. U našich pacientů jsme vyloučili asociaci MDR a KC.