

Oponentský posudek

na doktorskou dizertační práci Ing. Ľubici Ďudákové

„Význam a funkce stromálných enzymů v patogenezi keratokonu“

Téma dizertační práce Ing. Ďudákové je velmi aktuální a originální. Zabývá se problematikou enzymů lysyl oxidáz (LOX a LOX-like enzymy) ve vztahu k ektatickému postižení rohovky – keratokonu. Keratokonus vede v důsledku poruch ve vazbách kolagenních vláken ke ztenčování a vyklenování rohovky, a tím i k poklesu zrakové ostrosti a je jednou z nejčastějších indikací k transplantaci rohovky. Kromě výskytu a aktivity LOX a LOX-like enzymů si práce klade za cíl najít společné znaky s chorobami asociovanými s výskytem keratokonu. Studován byl i význam dysbalance mědi v patogenezi keratokonu.

Dizertační práce Ing. Ďudákové má 33 stran vlastního textu v anglickém jazyce a je co do charakteru komentářem k homogennímu souboru 6 publikací autorky. Práce je členěna na úvod, hypotézy a cíle, materiál a metody, výsledky, diskuse a závěry, budoucí výzkum. Doplněna je tabulkami a instruktivní obrazovou dokumentací a 137 odkazy na odbornou literaturu. Následuje seznam publikací autorky a vybraných prezentací. Přílohy obsahují 6 prací publikovaných v impaktovaných časopisech, u všech je Ing. Ďudáková prvním autorem. Grafická úprava celé práce má vynikající úroveň.

Úvod pokrývá celou šíři řešené problematiky a svědčí o dobré orientaci autorky v oblastech fyziologického cross-linkingu rohovky a poruch ve vazbách kolagenních vláken, které vedou ke vzniku keratokonu. Uvedeny jsou histologické a biochemické znaky keratokonu i současné možnosti jeho léčby.

K řešení cílů dizertační práce byly použity vysoce náročné metody buněčné a molekulární biologie, které autorka výborně zvládla. Použité metody pokládám za plně odpovídající potřebám řešení dané problematiky a nemám k nim připomínky, podobně jako ke zvoleným metodám statistického vyhodnocení výsledků v jednotlivých částech.

Výsledky jsou popsány výstižně a přehledně, jsou dostatečně doloženy dokumentací v tabulkách, obrázcích a mikroskopických snímcích. V rohovkách pacientů s keratokonem byl prokázán pokles celkové aktivity LOX enzymů a nepravidelné rozmístění LOX, propeptidu LOX, LOXL2 a LOXL3. Bylo zjištěno, že k podobným strukturním změnám jako u keratokonu dochází i u prolapsu mitrální chlopně, což naznačuje podobný mechanismus vzniku obou onemocnění. Autorka upozornila na rozdíly mezi keratokonem a makulární

dystrofii rohovky, dosud vedené jako onemocnění asociované s keratokonem. Byla prokázána asociace jednonukleotidových záměn (SNPs) v genech pro LOX a hepatocytární růstový faktor (HGF) s výskytem keratokonu. Publikována byla hypotéza o vlivu dysbalance mědi na rozvoj keratokonu.

V erudované diskuzi a závěru Ing. Ďudáková kriticky hodnotí vlastní dosažené výsledky v širším kontextu stávajících poznatků o etiopatogenezi keratokonu, významu LOX v rohovce i dalších tkáních a rozebírá hypotézu o deficienci mědi v patogenezi keratokonu. Řada výsledků je prioritních a má širší význam pro základní i aplikovaný výzkum. Uvedeny jsou rovněž náměty pro další výzkum v dané problematice.

K předložené práci mám následující dotazy:

1. Na základě provedených experimentů jste mimo jiné dospěli ke zjištění, že na rozdíl od stromatu je v epitelu rohovek pacientů s keratokonem zvýšená exprese LOX, která však pravděpodobně odpovídá inaktivnímu proteinu. Prováděli jste měření aktivity LOX enzymů v slzách pacientů?
2. Uvádíte, že testování LOX polymorfismů u pacientů s keratokonem může dále zlepšovat účinnost a bezpečnost léčby cross-linkingem, například tím, že před zahájením léčby určí non-respondery. Domníváte se, že cross-linking může následně ovlivnit expresi či aktivitu LOX?
3. Byly publikovány práce dokumentující výskyt prozánětlivých cytokinů (IL-6, TNF- α , INF- γ) a některých metaloproteináz v rohovce pacientů s keratokonem. Jak nahlížíte na možnost podílu chronického zánětu v etiopatogenezi keratokonu?
4. V literatuře byla popsána asociace keratokonu s autoimunitními chorobami (např. revmatoidní artritidou, ulcerózní kolitidou, Hashimotovou thyroditidou). Pozorovala jste tuto asociaci i ve Vašem souboru pacientů?


Závěr:

V předložené dizertační práci jsem nenašla žádné formální nebo odborné nedostatky. Způsob zpracování literární části, přístup k experimentálnímu řešení problematiky pomocí několika náročných a technicky různorodých metod, jakož i vyhodnocení a interpretace dosažených výsledků v kontextu současného stavu znalostí v řešené problematice přesvědčivě prokazují, že autorka je vyzrálou vědeckou osobností, schopnou samostatné tvůrčí vědecké práce.

Předložená dizertační práce tedy ve všech směrech splňuje kritéria kladená na doktorskou dizertační práci, a proto doporučuji, aby

Ing. Lubice Ďudákové byla udělena vědecká hodnota Ph.D.

V Praze 25.8. 2015



Doc. MUDr. Petra Svozílková, Ph.D.