

Téma dizertační práce: The role and function of stromal enzymes in keratoconus pathogenesis  
Význam a funkce stromálních enzymů v patogenezi keratokonu

Autor: Ing. Ľubica Ďudáková  
Pracoviště: Laboratoř biologie a patologie oka, ÚDMP, 1. LF UK v Praze  
Ke Karlovu 2, Praha 2, 128 00

### Posudek školitele

Ing. Ľubica Ďudáková pracuje v Laboratoři biologie a patologie oka, ÚDMP 1. LF UK a VFN jako doktorand od roku 2010. Tématem její disertační práce je „Význam a funkce stromálních enzymů v patogenezi keratokonu“. Relativně vysoký počet vzorků s touto chorobou shromažďovaný na pracovišti umožnil Ing. Ďudákové sledovat změny na úrovni buněčné i molekulární. Během práce se soustředila zejména na charakterizaci patogeneze keratokonu (KC) v souvislosti se změnami enzymů lysyl oxidázy.

#### Formální stránka dizertační práce:

Předložená dizertační práce Ing. Ďudákové obsahuje 50 stran včetně referencí a seznamu publikací. Práce je psaná v anglickém jazyce, což umožňuje seznámení se s touto prací i zájemcům a odborníkům ze zahraničí. Práce obsahuje všechny doporučené náležitosti (úvodní strana, čestné prohlášení, abstrakty v českém a anglickém jazyce). Je vhodně členěna do následujících podkapitol: úvod, hypotézy a cíle práce, materiál a metody, výsledky, diskuze a závěry, vyhlídky do budoucna, reference, výčet publikovaných prací. Samozřejmostí je výčet použitých zkratk. Úvod obsahuje souhrn podstatných a aktuálních poznatků, které jsou nezbytné k vysvětlení cílů práce a dosažených výsledků. Převzaté údaje jsou patřičně citovány dle pravidel citační etiky. V textu disertační práce je začleněno 13 obrázků a 3 tabulky, kterým odpovídá patřičná citace v textu. V disertační práci je uvedeno 137 citací.

#### Obsahová stránka dizertační práce:

Hlavním cílem dizertační práce Ing. Ďudákové bylo zjistit, zda se rodina enzymů lysyl oxidázy (LOX a LOX-like enzymy), které katalyzují vznik vazeb mezi elastinovými a kolagenními vlákny ve stromatu rohovky, podílí na patogenezi keratokonu. Nejdříve prokázala přítomnost celé rodiny lysyl oxidáz v kontrolní i KC rohovce, ve které detekovala jednak snížení výskytu i nepravidelné rozmístění LOX, propeptidu LOX, LOXL2 a LOXL3 i pokles celkové aktivity LOX enzymů. (*Dudakova et al., Experimental Eye Research. 2012; Dudakova et al., Histology and Histopathology 2015a*). Dále se zaměřila na studium onemocnění asociovaných s výskytem KC a pokusila se najít jejich společné znaky (*Dudakova and Jirsova, Journal of Neural Transmission. 2013*).



Pomocí přístupů molekulární genetiky prokázala asociaci jednonukleotidového polymorfismu rs2956540-C v oblasti genu *LOX* s protektivním účinkem a rs3735520-A v genu pro hepatocytární růstový faktor jako rizikový pro rozvoj KC (*Dudakova et al., European Journal of Human Genetics. 2015b*). Dále publikovala hypotézu o vlivu disbalance mědi a změnách *LOX* enzymů na rozvoj KC. V této práci jsou spojeny všechny dosud popsané dílčí změny pozorované u KC onemocnění do jedné společné dráhy (*Dudakova et al., Journal of Medical Hypotheses. 2015c*). V další části práce upozornila na rozdíly mezi KC a makulární dystrofií rohovky, která byla dosud vedená jako onemocnění asociované s KC a vyloučila tak asociaci těchto onemocnění (*Dudakova et al., Eye (Lond). 2014*). Objasnění etiopatogeneze KC vede k rozšíření znalostí o změnách na rohovkách pacientů s KC, může vést k zpřesnění diagnostiky a prognózy klasické léčby pacientů s tímto onemocněním a může být i základem pro nové terapeutické postupy.

Ing. Ďudřáková si osvojila řadu běžných laboratorních dovedností a postupů (zpracování vzorků, jejich hodnocení, přípravu potřebných roztoků, a zpracování výsledků včetně zpracování obrazových dat) potřebných pro experimentální práci. Využila následující metodické postupy: fluorescenční imunocyto- a imunohistochemii, enzymovou imunocyto- a imunohistochemii, kultivace buněk, izolaci RNA, DNA, izolaci proteinů, stanovení množství proteinu, PCR a Western blot, genotypování, sekvenování, hodnocení patogenicity mutací.

Ing. Ďudřáková soustavně pracuje na objasnění patogeneze KC a v této oblasti dosáhla řady prioritních výsledků. Ve sledované problematice se orientuje a dosažené výsledky připravuje k publikacím v zahraničních impaktovaných časopisech a k prezentacím na domácích a zahraničních konferencích, na kterých také získala řadu ocenění. Kromě 6 publikací týkající se bezprostředně problematiky dizertační je první autorkou nebo spoluautorkou dalších čtyř impaktových publikací.

Předkládaná disertační práce a zejména výsledky v uvedených publikacích svědčí o pracovní aktivitě Ing. Ďudřákové a jejích schopnostech vědecky pracovat. Její vědecká práce v rámci doktorandského studia splňuje všechny podmínky a náležitosti pro udělení titulu Ph.D.

10.6.201

Doc. Mgr. Kateřina Jirsová, Ph.D.  
Laboratoř biologie a patologie oka  
Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN  
Ke Karlovu 2 (E1a)  
128 08 Praha 2  
tel.: +420 224 96 72 38  
fax: +420 224 96 71 39  
e-mail: [katerina.jirsova@lf1.cuni.cz](mailto:katerina.jirsova@lf1.cuni.cz)