

## Oponentský posudek disertační práce

**Autorka:** Ing. Ľubica Ďud'áková

**Název disertační práce:** "The role and function of stromal enzymes in keratoconus pathogenesis"

Přiložená disertační práce je psaná v anglickém jazyce a obsahuje 50 stran vlastního textu a 6 přiložených publikací, kde u všech publikací je autorka uvedena jako první autor. Ing. Ľubica Ďud'áková je prvním autorem nebo spoluautorem také u dalších 4 publikací, které sice přímo nesouvisí s tématem disertační práce, ale celkově je můžeme označit za velmi blízké řešené problematice.

Autorka ve své práci se zabývá závažnou oční problematikou a to patogenezi keratokonu (KC) - multifaktoriálního onemocnění rohovky, jehož příčiny a mechanismus vzniku nebyly dosud objasněny. Bezsporně se jedná se o velmi závažné rohovkové onemocnění, které v terminálním stádiu vyžaduje léčbu pomocí transplantace rohovky.

Ve své disertační práci si Ing. Ľubica Ďud'áková stanovila celou řadu jasně vymezených cílů. Hlavním cílem bylo komparační studium výskytu a aktivity enzymů lysyl oxidáz (LOX a LOX-like) v normálních lidských rohovkách a v explantátech získaných při transplantaci od pacientů s keratokonem. Dalšími cíli byly: studium onemocnění asociovaných s výskytem KC a nalezení jejich společných znaků, ověření výskytu KC ve vztahu s nálezem jednonukleotidových záměn (SNPs) v genech pro LOX a hepatocelulární růstový faktor (HGF).

Disertační práce Ing. Ľubicy Ďud'ákové po formální stránce splňuje požadavky kladené na tento druh práce. Je členěná do osmi samostatných kapitol a doplněná kvalitní fotodokumentací. V úvodní kapitole doktorandka popisuje anatomii a histologii struktur očního povrchu, vysvětluje etiologii keratokonu a možné způsoby léčby tohoto onemocnění. Druhá kapitola seznamuje s hypotézami a vytčenými cíli studia, jenž byly uvedeny na začátku posudku. Zpracování dalších kapitol svědčí o systematickém přístupu k vypracování disertační práce. V kapitole "Materiály a metody" jsou shrnuty všechny použité metody buněčné a molekulární biologie (kultivace tkání, imunohistochemie a imunocytochemie, měření aktivity enzymů pomocí fluorometrie). Výsledky práce popsané ve stejnojmenné kapitole jsou v souladu se stanovenými cíli. Společná kapitola "Diskuze a závěry" je velice přehledně zpracována a závěry v ní uvedené jsou dobře prodiskutované, přesně zformulované a jednoznačné. Autorka také velice přehledně a výstižně zformulovala svou vizi dalšího výzkumu v kapitole "Budoucí výzkum". Poslední kapitoly jsou určeny citacím a přiloženým publikacím. Jediným nedostatkem jinak dobře zpracované disertační práce považuji zpracování anotace, která neplní svůj účel, protože není dostatečně stručná a výstižná, a pouze kopíruje text disertační práce.

### Hlavní vědecké přínosy disertační práce:

- 1) zjištění, že u KC dochází k významnému poklesu aktivit LOX v rohovkách s KC
- 2) průkaz podobného mechanismu vzniku strukturních změn jako u KC, také u prolapsu mitrální chlopně
- 3) vyloučení asociace mezi makulární dystrofií rohovky a KC
- 4) prokázání protektivního účinku rs2956540-C v oblasti genu LOX a negativního účinku rs3735520-A v genu pro HGF na rozvoj KC
- 5) vyslovení hypotézy o vlivu disbalance metabolismu mědi na rozvoj KC

### Závěr posudku:

Táto disertační práce se věnuje základnímu výzkumu velmi závažného očního onemocnění keratokonu, významně rozšiřuje naše znalosti o etiologii a patogenезi tohoto onemocnění. Výsledky jejího vědeckého bádání určitě budou užitečné jak při diagnostice keratokonu, tak i při vývoji nových terapeutických přístupů.

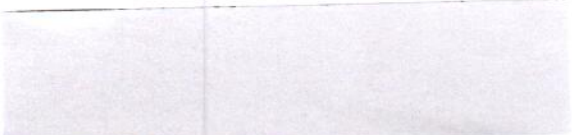
Autorka v rámci doktorského studia prokázala nadprůměrnou publikační aktivitu. Celkem 10 publikací (6 věnovaných tématu disertační práce) ve velmi slušných mezinárodních časopisech s IF, kde v 7 z nich je prvním autorem, svědčí o velké erudovanosti při zobjektivnění výsledků získaných vědeckým badáním. Všechny 6 přiložených publikací prokazuje bez výjimky úspěšné splnění stanovených cílů disertační práce.

V této souvislosti rád bych se doktorandky dotázal, zda snížení přirozeného "cross-linkingu" kolagenu následkem poklesu aktivity LOX lze úspěšně nahradit moderní fotodynamickou léčbou KC pomocí uměle vyvolaného "cross-linkingu" kolagenu.

Autorka předložila velice dobře zpracovanou disertační práci, která přináší originální a významné poznatky z hlediska základního výzkumu, které určitě najdou své uplatnění i při vývoji nových léčebných postupů. Kvalitu výstupů hodnotím jako výbornou.

K výsledkům a závěrům práce nemám zásadní připomínky a doporučuji, aby po úspěšné obhajobě byl Ing. Lubice Duďákové udělen vědecký titul PhD.

V Liběchově, 24. srpna 2015



MUDr. Taras Ardan, PhD.  
Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i.