



Oponentský posudek na dizertační práci Mgr. Miloslava Zloha nazvanou “*Dual role of neurotrophin BDNF and VGF in the regulation of the pathogenesis of retinal autoimmune inflammation*”.

Mgr. Miloslav Zloh předložil dizertační práci zaměřenou na podrobné studium duální role brain-derived neurotrophic factor (BDNF) a molekuly neurotrophin-inducible factor VGF (VGF) v oku zdravých myší a myší s indukovanou experimentální autoimunitní uveitidou (EAU). Oba tyto funkčně příbuzné faktory hrají také významnou roli v imunobiologii oka a při regeneracích sítnice po poranění nebo při očních onemocněních. Autor prokázal významné a srovnatelné zvýšení produkce těchto faktorů po vizuální stimulaci (VS) oka u kontrolních myší i myší s EAU, imunomodulační a neuroprotektivní účinky těchto molekul a hlavně schopnost těchto faktorů po jejich topikálním podávání významně snižovat negativní účinky EAU. Pro tyto studie autor využil in vitro a in vivo biologické modely a celou řadu moderních technik buněčné a molekulární biologie, jako jsou detekce exprese RNA, stanovení proteinů, imunohistochemie, průtoková cytometrie a další.

Výsledky studia jsou zpracovány ve 2 publikovaných článcích, z nich na jednom je Mgr. Zloh prvním autorem, jedna publikace je v recenzním řízení a další 3 publikace jsou v přípravě. Celá dizertační práce je napsána kvalitní angličtinou s minimálním počtem chyb (jen např. ve zkratkách je $INF\gamma$ místo $IFN-\gamma$, na str. 26 je TGB místo TGF, nebo IL6 místo IL-6), ale to jsou jen výjimečné drobné detaily.

Celá práce je zpracována na 132 stranách a je standardně členěna na úvod (14 stran), popis metod (16 stran), výsledky (40 stran), diskusi (14 stran), shrnutí a reference (celkově 214 citací). Reference ukazují dobrý přehled autora v původním i recentním písemnictví. Citace by však měly být psány ve stejném stylu, což vždy není. Např. v citacích 88, 89, 186... nejsou časopisy uvedeny kurzivou jako u jiných citací, někdy jsou stejné časopisy psány různě (např. cit. 7 - PLoS One, cit. 50 Plos one, cit. 30 - J immunol., cit. 36 J Immunol., cit. 37 - OVS má být IOVS, atd.). K referencím bych měl první dotaz: Proč jsou citace v referencích číslovány, když v textu jsou autoři citováni podle jmen bez čísel?

V úvodu práce si doktorand položil 3 základní hypotézy/cíle:

1. Zda světelná stimulace u kontrolních a EAU myší indukuje změny v hladině BDNF a VGF v sítnici.

2. Identifikovat buněčný původ BDNF v sítnici po VS.
3. Charakterizovat neurotrofní a imunomodulační účinky BDNF a VGF-derivovaného peptidu TLQP-21 u Müllerových buněk in vitro a v EAU modelu in vivo.


Je možné konstatovat, že všechny vytyčené cíle byly splněny a vznesené hypotézy byly z velké části potvrzeny.

Celkově, práce přináší celou řadu zajímavých výsledků a ukazuje komplexnost interakcí mezi jednotlivými imunoregulačními a neuroprotektivními faktory v oku. Všechny výsledky jsou podrobně popsány a důkladně diskutovány. Nicméně, k diskusi bych měl několik dotazů:

1. V pokusech in vivo byli použiti samci i samice B6 myši. Zaznamenal autor rozdíly v susceptibilitě k EAU mezi samci a samicemi?
2. V pokusech byly použity myši 14. den po indukci EAU. Byly pozorovány individuální rozdíly v rozvoji EAU mezi jednotlivými zvířaty a nebo pro studie in vitro byla selektována zvířata se srovnatelným rozvojem onemocnění?
3. Když většina práce je založena na myších modelech, proč v pokusech in vitro byly použity potkaní Müllerovy buňky a lidský BDNF? Celá řada faktorů má různá mezidruhová omezení a odlišné efekty u různých druhů.
4. Velmi zajímavý je nálezný, že VS zvyšuje expresi mRNA pro VGF, ale na hladině proteinu nedochází ke zvýšení koncentrace VGF. Autor toto zjištění vysvětluje pomocí suprese translace. Mohou být i jiná vysvětlení?
5. Z perspektivního terapeutického využití výsledků práce se jako velmi nadějný jeví pozorování, že jak BDNF, tak TLQP-21 peptid, podávané topikálně, snižují negativní projevy EAU. U BDNF je to zřejmě významným potlačením infiltrace sítnice s CD4 a CD8 pozitivními T lymfocyty a s CD11b buňkami, zatímco TLQP-21 má podobné léčebné účinky jako BDNF, ale nemá takový vliv na přítomnost CD4+ a CD8+ lymfocytů a na produkci prozánětlivých cytokinů. Domnívá se autor, že hlavní léčebný efekt TLQP-21 peptidu spočívá v neuroprotekcii a že aktivita T lymfocytů nemusí mít v patogenezi EAU takový význam, jak se doposud soudilo?

Závěrem je možné konstatovat, že doktorand prokázal schopnost samostatné vědecké práce, dosáhl řady prioritních výsledků, které kvalitně zpracoval, analyzoval a diskutoval. Splnil tak požadavky kladené na doktoranda a proto plně doporučuji přijetí předložené dizertační práce jako podkladu k udělení titulu Ph.D. za jménem.

V Praze dne 28. 8. 2024.


Prof. RNDr. Vladimír Holáň, DrSc.