

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : **Bc. Pavlína Hucková**

Název práce: **Interakce myricetinu s lidskou střevní mikroflórou**

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)

1. Rozsah DP a její členění	
x	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
	A - výborná, bez závažnějších připomínek
	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
x	C - uspokojivá, s čtenějšími drobnými závadami
	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
x	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
x	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - upokojivý, čtenější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
x	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo čtenějšími drobnými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce

N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

Diplomová, experimentální práce Bc. Huckové je v souladu s pravidly PřF UK členěna na logicky uspořádané oddíly; jednostránkový Abstrakt, Literární rešerši, Cíle práce, Materiál a metody, Výsledky, Diskuzi, Závěr (Souhrn), Přehled citační literatury a Přílohy. Třebaže literární přehled v souladu s názvem práce v zásadě správně obsahuje kapitoly jako ‚Střevní mikrobiom‘ (k tomuto nesprávnému označení se ještě následně v OP vrátím), odstavce zaměřené na systematické zhodnocení (molekulárně-genetické analýzy) složení mikrobiot, flavonoidní látky včetně myricetinu a jejich metabolismus, nerozumím v návaznosti na pojmenování tématu DipP zařazení nejrozsáhlejší kapitoly ‚Zánětlivá střevní onemocnění‘. Nutno ovšem poznamenat, že diskutovaná kapitola obsahuje v určitých podkapitolách cenné informace. Problém vidím v tom, že nebyly jasně vymezeny hypotézy práce a z nich vyplývající cíle experimentální, diplomové práce. Poslední odstavec literární rešerše (str. 28) tak trochu nastiňuje možné hypotézy práce. Jsou zde uvedeny pozitivní účinky myricetinu na lidské zdraví. Ovšem vzhledem k použití fekálních vzorků od pacientů postižených Crohnovou chorobou, uvedených v Materiálech a metodách, bych očekával přidavné informace, jak může napomoci myricetin těmto pacientům (v pozitivním slova smyslu změna dysbiotického stavu??...atd.). V zásadě by mohl být tento poslední odstavec literární rešerše rozšířen a přeformulován na Hypotézy práce. Tyto mé poznámky úzce souvisí, podle mého názoru, se špatným pojmenováním diplomové práce. Neměla by znít např. takto: ‚Možné ovlivnění skladby střevní bakteriální mikrobioty myricetinem a jeho bakteriální metabolismus u pacientů s Crohnovou chorobou?‘ Cíl, nikoli cíle jsou zde sice zahrnuty, ovšem znějí jaksí ‚vágně‘.

Ovšem to nic nemění na skutečnosti, že jednotlivé kapitoly jsou z formálního hlediska kvalitně zpracovány. Úsilí, píle a erudice diplomantky při zpracování literární rešerše a diskuze je doložena více než 100 citací vesměs nejaktuálnější, odborné literatury.

Oceňuji také zpracování nejdůležitější části všech experimentálních diplomových prací (bakalářských, diplomových, doktorských a habilitačních), a to Diskuze. Autorka v zásadě správně komentuje výsledky, porovnává je s jinými pracemi na obdobné téma, diskutuje experimentální a materiálové nedostatky a navrhuje vylepšení ‚designů‘ pokusů do budoucna.

S jakostí českého jazyka, až na chybějící interpunkci v některých souvětích a některé překlepy (např. mikroby na str. 12; správně samozřejmě mikrobi), jsem spokojen.

Poznámky:

Autorka podle aktuálních definic nesprávně používá v celém textu označení jako mikroflóra (str. 12; v zásadě již nelze používat) či mikrobiom. Mikrobiom entity (např. lidského těla) představuje všechny živé mikroorganismy (bakterie, kvasinky, vláknité mikroskopické houby, Protozoa) osidlující povrch těla a jeho útroby (orgánové soustavy) a je členěn na jednotlivé mikrobioty (např. kůže, ústní dutiny, intestinálního traktu apod.).

V abstraktu autorka zmiňuje „Cizorodé látky mohou... U pacientů s Crohnovou chorobou...“. V názvu práce a hlavní součásti práce je použití myricetinu, který nelze označit jako cizorodou látku. Jak správně autorka v mnoha částech práce uvádí, jde o flavonoidní látku s víceméně prokázanými pozitivními účinky na zdraví (antioxidační vlastnosti, antikarcinogenní účinky...ovšem některé publikace naznačují možný negativní účinek v souvislosti s prooxidačními efekty) s výskytem v zelenině, ovoci, ořechách, čaji či červeném víně (v některých

Dotazy k obhajobě

zemích denní příjem až 23 mg / den).

V Materiálech a metodách, Diskuzi, ovšem nikoli v Literární rešerši se často vyskytuje metabolit dihydromyricetin. Chybí mi v Literární rešerši zmínka o této látce, jejích pozitivních účincích na zdraví, bakteriální transformace z myricetinu apod. V souvislosti s tím, proč byla ve fekálních vzorcích detekována?

Str. 12: Nejnovější propočty uvádějí poměr 1,3 buněk intestinální mikrobioty na 1 buňku makroorganismu (nikoli poměr 100 : 1).

Str. 12 (konec): „.....se nejčastěji dostane do kontaktu s bakteriemi rodu *Lactobacillus*, (postrádám) *Bifidobacterium*....

Str. 13 (a jinde v textu): Pokud označuji povícero zástupců určitého rodu, je správné napsat např. *Staphylococcus* spp., *Propionibacterium* spp. atd.

Str. 13: Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria (nepsat kurzívou) reprezentují kmény (nikoli druhů, ale jakožto druhé nejvyšší taxonomické stupně po Říši), nikoli rody bakterií.

Str.13: Lépe je používat označení sekvencování (stanovení sekvencí), nikoli sekvenování.

Str. 21: Do kmene Firmicutes (z latiny cosi jako G+ bakterie se silnou, buněčnou stěnou) rozhodně nepatří do třídy Gammaproteobakterie (další třídy z řčtiny např. Alpha-, Beta-, Deltaproteobakterie). Taxonomicky patří do G- kmene Proteobacteria (název odvozen od řeckého boha Protea schopného měnit podobu; do tohoto kmene náleží morfologicky velmi rozmanité bakterie) spolu s nejznámější čeledí z pohledu výčtu patogeních G- bakterií, resp. *Enterobacteriaceae* (čeledi se již píší kurzívou, stejně jako rody, druhy, poddruhy) zahrnující např. rody *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Yersinia*, *Escherichia* aj.

Str. 22: Formulaci, že antibiotika jsou ‚zneužívána‘, považuji za nešťastnou a nesprávnou. Raději zvolit ‚nadužívána‘.

Str. 22: Prosím použít formulaci ‚bakterie rodu *Bifidobacterium*‘, nikoli *Bifidobacteria* (jen s malým počátečním písmenem v ang. textu)..obdobně nepoužívat *Lactobacilli*.

Str. 28: Autorka měla spíše na mysli multirezistentní streptokoky (nikoli enterokoky).

Str. 61: Ve většině případů metoda DGGE, ale rovněž mnohé NGS metody nedokáží determinovat konsorcium bakterií ve vzorcích na úroveň druhu, spíše na úroveň rodů a čeledí. Proto prosím nepoužívat formulaci, že byly identifikovány (detekovány) druhy, neboť v rámci těchto metod se používá velmi krátký úsek genu 16S rRNA (200 – 300 nukleotidů).

Otázky oponenta na diplomantku:

1. Domníváte se, že by bylo vhodné uměle fortifikovat stravu lidí zdravých i postižených zánětlivými střevními onemocněními např. myricetinem, když se přirozeně vyskytuje v potravě?
2. V práci píšete, že xenobiotika jsou lépe metabolizována (str. 15) v tlustém střevě v porovnání s tenkým. Proč se domníváte, že tomu tak je? V Tomto případě to má logické

Dotazy k obhajobě

- opodstatnění.
3. Jaký máte názor na použití farmaceuticky syntetizovaných, purifikovaných flavonoidů na pokusy *in vitro* i *in vivo*? Mohou být závěry těchto studií relevantní, vezmeme-li v potaz možnou rychlou změnu v chemické skladbě např. adicí jiných látek v daném prostředí, obzvláště tak metabolicky aktivním, jakým je ekologická nika v podobě intestinálního traktu živočichů (často se diskutuje o jednom z nejsložitějších ekosystémů vůbec)?
 4. Mnoho badatelů upozorňuje na skutečnost, že použití genu 16S rRNA v molekulárně-genetických metodách zaměřených na taxonomii, resp. systematiku (např. DGGE, NGS aj.) bakterií není vhodné. Jaký pro to mají důvod a důkazy? Jaké jiné geny byste Vy pro dané účely navrhovala? Prosím, připravit se řádně na tuto otázku, neboť stále jasněji vyplývá, že výsledky těchto metod používaných celosvětově jsou zavádějící a nepřesné.
 5. V diskuzi píšete, že bakterie mohou využívat myricetin jako zdroj energie. V intestinálním traktu se většinou vyskytují bakterie obligátně anaerobní či fakultativně anaerobní vykazující fermentativní metabolismus. Jako zdroj E jim slouží hlavně mono-, di-, oligo- či polysacharidy. Chemická skladba myricetinu tomu neodpovídá? Proto se domnívám, že se jedná o chybnou informaci nepodpořenou citacemi odborné literatury. Nevyužívá střevní mikrobiota tuto molekulu spíše jako určitý ‚monomer‘ pro skladu buněčných makromolekul či v sekundárním metabolismu při syntéze jiných látek...např. s antimikrobiálním účinkem?

Ačkoli mám k práci, především z mikrobiologického hlediska (diplomantka je ovšem řazena do Katedry biochemie PŘF a pochopitelně nelze mít přehled ve všech biologických oborech), jistě připomínky, **rozhodně ji doporučuji k obhajobě** a hodnotím ji slovně jako ‚**velmi dobrou**‘ (pokud bych použil zastaralé a nemoderní školní známkování, snad mi diplomantka odpustí, použil bych 2).

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu ~~JE~~ / **NENÍ** (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace: **velmi dobře**

Datum vypracování posudku: 30/6/2020



Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): doc. Ing. Jiří Killer, Ph.D.