

## **Oponentský posudek**

na doktorskou disertační práci MUDr. Dariny Kohoutové.

### Téma práce:

**Střevní mikrobiota u idiopatických střevních zánětů a kolorektálních neoplázií.**

Práce byla odevzdána v roce 2013 a školitelem byl **prof. MUDr. Jan Bureš, CSc.**

### **Aktuálnost zvoleného tématu:**

Problematika střevní mikrobioty se v posledních letech stala velmi zajímavou a studovanou oblastí nejen v gastroenterologii. Základní oblastí zájmu nicméně zůstávají choroby především gastrointestinálního traktu. Příznivé ovlivnění idiopatických střevních zánětů ovlivněním střevní mikrobioty je v terapeutickém arsenálu již delší dobu, nicméně etiopatogenetický základ těchto postupů je stále nejasný. Studií na této úrovni a v této hloubce je stále nemnoho a předložená práce je z tohoto pohledu velmi cenná a aktuální.

### **Technické a formální parametry práce, cíle a zvolené metody:**

Formální údaje o práci: je napsaná celkem na 170 stranách, včetně obrázků, tabulek a grafů. Práce je bohatě doplněna obrázky, tabulky a grafy – více než 80 obrázků a tabulek a 26 grafů. Obrázky, včetně endoskopických fotografií, jsou vysoké technické kvality, tabulky i grafy jsou jednoduché, přehledné a dobře doplňují text.

Celkově lze říci, že parametry práce, jak obsahové, tak i formální, výrazně přesahují obvyklé dizertační práce. Teoretická část je nesmírně obsáhlá a obsahově zcela vyčerpávající.

Literárních citací je 327, jsou uvedeny standardní metodikou. Citací českých autorů je téměř třicet, zhruba třetina je od hradeckých autorů, což svědčí o vysoké úrovni pracoviště, ze kterého práce pochází. Citace jsou převážně recentní, jejich počet je více než dostatečný.

Autocitace nejsou

Celá práce je strukturovaná klasicky. Na 30 stranách je uveden literární přehled současné problematiky týkající se bakterií gastrointestinálního traktu a vztahu s kolorektálním

karcinomem, idiopatickými střevními záněty a významu anti-porinových protilátek a bakteriocinů. Jasně jsou formulována východiska i cíle disertační práce. Na 90 stranách je uvedena metodika, výsledky a diskuse k oběma částem práce - stanovení anti-porinových protilátek a kultivačnímu vyšetření bioptických vzorků odebraných ze sliznice tlustého střeva a následné stanovení kolicinogenie u pacientů s idiopatickými střevními záněty, adenomy tlustého střeva a kolorektálním karcinomem. Závěry jsou uvedeny na dvou stranách a práce je doplněna anglickým shrnutím, seznamem použitých zkratk, písemnictvím a v příloze je uveden Informovaný souhlas pacienta se studií.

### **Hlavní cíle práce:**

Práce měla dva cíle: stanovení anti-porinových protilátek (zavést metodiku a vyšetřit sérové anti-porinové protilátky /proti OmpC porinům *Escherichia coli*/ ve výše uvedených skupinách pacientů a u kontrolních zdravých osob) a určit možné využití sérových anti-porinových protilátek v predikci klinického fenotypu Crohnovy choroby a dále bakteriologické vyšetření bioptických vzorků z tračníku a stanovení kolicinogenie koliformních bakterií (zavést metodiku bakteriologického vyšetření bioptických vzorků tlustého střeva odebraných při koloskopickém vyšetření, stanovit bakteriocinogenii a genotypy izolovaných koliformních bakterií, stanovit jednotlivé kolicinogenotypy, určit jejich prevalenci u vyšetřených skupin osob a hodnotit rozdíly ve výskytu podle mechanismu účinku kolicinů, způsobu translokace přes zevní membránu *Escherichia coli* a podle skupinové rezistence a tolerance kolicinů a určit, zda se pacienti s kolorektálním karcinomem vyznačují kvalitativními a/nebo kvantitativními změnami v kolicinogenii ve srovnání s kontrolními osobami).

### **Metody k dosažení cílů:**

Ke stanovení anti-porinových protilátek byly vyšetřeny 4 skupiny pacientů: pacienti s Crohnovou chorobou, ulcerózní kolitidou, kolorektálním adenomem a kolorektálním karcinomem. Celkem bylo vyšetřeno velké množství nemocných - 85 pacientů s Crohnovou chorobou, 26 pacientů s ulcerózní kolitidou, 22 pacientů s kolorektálním adenomem a 11 pacientů s kolorektálním karcinomem. Kontrolní skupinu tvořilo 45 zdravých dobrovolníků – dárců krve.

Ke stanovení bakteriálního zastoupení v tlustém střevě a vyšetření kolicinogenie byly vyšetřeny 3 skupiny pacientů: nemocní s anamnézou nebo nově diagnostikovaným

kolorektálním karcinomem, pacienti s anamnézou či nově diagnostikovaným adenomem tlustého střeva a pacienti s idiopatickým střevním zánětem (Crohnovou chorobou nebo ulcerózní kolitidou). Celkem bylo vyšetřeno opět velké množství osob - 30 pacientů s kolorektálním karcinomem, 30 pacientů s kolorektálním adenomem a 30 pacientů s idiopatickým střevním zánětem. Kontrolní skupinu tvořilo 20 osob s negativní osobní anamnézou idiopatického střevního zánětu, kolorektálního adenomu či karcinomu a aktuálně normálním slizničním nálezem dokumentovaným při pankoloskopickém vyšetření.

### **Výsledky a závěry:**

V první části práce - stanovení anti-porinových protilátek - byla vypracována metodika vyšetření anti-porinových protilátek (namířených proti OmpC porinům *Escherichia coli*). Zvýšené hodnoty anti-porinových protilátek byly zjištěny ve skupině nemocných s idiopatickým střevním zánětem a v souboru pacientů s kolorektálním karcinomem. Statisticky signifikantně vyšší hodnoty anti-porinových protilátek byly asociovány s komplikovanými formami Crohnovy choroby (fistulující a stenozující formou) a lze předpokládat, že stanovená hodnota anti-porinových protilátek by mohla pomoci predikovat vývoj klinického fenotypu Crohnovy choroby.

Ve druhé části - bakteriologické vyšetření bioptických vzorků z tračníku a stanovení kolicinogenie koliformních bakterií - byla opět zavedena nová metodika bakteriologického vyšetření a následného stanovení kolicinogenie v biopticky odebraných vzorcích sliznice tlustého střeva. Bakteriocinogenie se mezi jednotlivými soubory statisticky nelišila; byla nicméně prokázána statistická diference v bakteriocinogenii mezi podskupinou nemocných s nepokročilou a pokročilou kolorektální neoplázií.

### **Celkové hodnocení práce:**

1. Práce řeší aktuální oblast gastroenterologie a výrazně přispívá k prohloubení znalostí o vztahu mikrobioty a idiopatických střevních zánětů resp. kolorektální neoplázií.
2. Práce jak formou, tak i obsahem a jeho hloubkou výrazně převyšuje obvyklé disertační práce a je zpracována velmi pečlivě až dokonale. V českém písemnictví patrně nyní nelze nalézt kvalitnější a obsáhlejší přehled této problematiky.

## **Připomínky a dotazy:**

1. Připomínky k práci nemám.
2. dotazy:
  - a) Které části práce prováděla autorka osobně?
  - b) Autorka uvádí, že stanovení hodnoty anti-porinových protilátek by mohlo pomoci predikovat vývoj klinického fenotypu Crohnovy choroby. Jaké jsou náklady tohoto vyšetření a lze předpokládat jeho zavedení do klinické praxe?
  - c) Vyplývá ze závěrů této práce nějaké doporučení k výběru či formě podání probiotik, pokud jsou k léčbě idiopatických střevních zánětů používána?

## **Závěr:**

Práce více než splnila stanovené cíle. Jednoznačně ji **doporučuji k obhajobě** a na základě její úspěšnosti udělit **MUDr. Darině Kohoutové** vědeckou hodnost doktor ve zkratce **Ph.D.** dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/95 Sb.

V Ostravě, dne 16.06.2013

Prof. MUDr. Jan Lata, CSc.

Lékařská fakulta Ostravské univerzity v Ostravě