



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

1. lékařská fakulta

ÚSTAV IMUNOLOGIE A MIKROBIOLOGIE

Studničkova 7, 128 00 Praha 2

Česká Republika

Posudek disertační práce

Mgr. Dagmar Šrůtkové

Characterization and utilization of faecal microflora components in experimental models of human civilization diseases

Práce se zabývá studiem probiotik. Probiotikům je v posledních letech věnována velká pozornost. Naděje jsou vkládány do jejich preventivního i léčebného využití, ale názory na ně jsou velmi různorodé a mechanismy jejich účinku nejsou plně objasněny. Předložená práce je výrazným příspěvkem do diskuse o tomto aktuálním tématu.

Disertace byla vypracována v Gnotobiologické laboratoři MBÚ AV ČR, kandidátka mohla vycházet z dosavadních prací laboratoře, měla k dispozici výborné technické vybavení a zejména měla možnost používat gnotobiologický myší model, který je neocenitelný při studiu mechanismu účinku probiotik. Disertační práce je velmi pěkná a zajímavá a přináší řadu nových poznatků. Autorka v letech 2011 - 2015 publikovala 11 prací v mezinárodních impaktovaných časopisech. Na pěti z těchto publikací je založena disertační práce.

Práce se skládá z obecného úvodů, cílů práce, 5 publikací, u nichž je Mgr. Šrůtková ve dvou případech první autorkou, souhrnné diskuse a příloh. Úvod je velmi dobře koncipovaný a formulovaný, doplněný velkým počtem citací (289). Měla bych k němu malou připomínku: při popisu imunitních mechanismů není vždy dobře rozlišeno, jde-li o myši nebo o lidi, ačkoli mezi těmito druhy jsou určité imunologické rozdíly; popisu myších modelů lidských onemocnění mohlo být věnováno více pozornosti. Záměry práce jsou dobře

zdůvodněny a charakterizovány, vytčené cíle byly bezpochyby výborně splněny. Metody v práci použité jsou dobře popsány v přiložených publikacích. Jde o metody adekvátní, moderní a namnoze velmi náročné – zahrnují postupy bakteriologické, molekulárně biologické, imunologické metody in vitro a metody in vivo na gnotobiologických myších modelech. Z 5 prací, které jsou součástí disertace je jedna metodická a zabývá se molekulárně biologickou charakteristikou bakterií, která je důležitá pro taxonomické zařazení probiotik. Ostatní práce přinášejí charakteristiku imunologických účinků několika potenciálně probiotických kmenů a studium jejich protektivního účinku u myších modelů nespecifických střevních zánětů a alergie. Závěrečná diskuse shrnuje získané výsledky, uvádí je do kontextu jak s dosavadními výsledky pracoviště, tak se světovou literaturou. Dále jsou uvedeny konečné závěry a naznačeny možnosti dalšího výzkumu.

Hlavní přínos práce vidím v detailní charakterizaci několika bakteriálních kmenů, které tak je možno zařadit mezi kandidáty pro budoucí využití v medicíně a dále ve studiu preventivního účinku těchto kmenů na myších modelech nespecifických střevních zánětů a alergie – onemocnění, kterých v posledních desetiletích v rozvinutých zemích velmi přibývá a která jsou řazena mezi civilizační choroby. Výsledky přispívají jak k lepšímu pochopení patogeneze těchto onemocnění, tak k hlubšímu poznání mechanismů působení probiotik. Zajímavým výsledkem je zjištění, že ve studovaných případech pro blahodárný účinek testovaných kmenů nebylo zásadní přesměrování imunitní odpovědi ve smyslu Th2 → Th1, ale navození tlumivých mechanismů a potlačení obou typů odpovědi. Byly rovněž získány zásadní výsledky týkající se působení probiotik na střevní bariéru. Velmi důležité je rovněž posouzení a srovnání výsledků testování probiotik metodami in vitro a in vivo.

K diskusi bych ráda předložila několik otázek a připomínek:

- Nejsou při molekulárně biologické charakterizaci studovaných kmenů patrné nějaké rozdíly, které by mohly signalizovat eventuální probiotické působení?
- Rozdíly mezi výsledky in vitro a in vivo by mohly být způsobeny mezi jiným i tím, že in vitro se používají inaktivované bakterie a in vivo živé bakterie. Proto by se při hledání příčin probiotického působení měly brát v úvahu změny, ke kterým dochází při inaktivaci bakterií.

- Jak lze vysvětlit rozdílné chování IL-18 při DSS-kolitidě u normálních myší a u SCID myší?
- Při použití směsi tří kmenů laktobacilů v některých pokusech in vitro dochází k sumaci jejich účinků, v jiných pokusech ne. Jak je tomu v modelech in vivo? Byly tyto kmeny testovány in vivo také individuálně?
- Je na obzoru klinické zkoušení některých uvedených probiotických kmenů?

Závěr

Předložená disertace přináší řadu původních výsledků publikovaných v mezinárodních impaktovaných časopisech. Ze získaných výsledků i jejich kritické interpretace je patrná metodická i teoretická zdatnost autorky. Práce má potenciální význam pro budoucí využití nově charakterizovaných probiotik v klinické medicíně. Doporučuji, aby byla disertace přijata jako podklad pro udělení vědecké hodnosti PhD.

Prof. MUDr. Ludmila Prokešová, CSc.

V Praze 26. 11. 2015