



UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Děkanát, Hněvotínská 3, 779 00 Olomouc

V Olomouci 3. května 2017

Zápis o konání obhajoby disertační práce v oboru Lékařská chemie a biochemie

Mgr. Lenka Jourová, vědecká pracovnice Ústavu lékařské chemie a biochemie LF UP, studentka prezenční formy doktorského studijního programu *Lékařská chemie a klinická biochemie* na LF UP v Olomouci.

Téma práce: „Úloha lidského mikrobiomu při metabolismu cizorodých látek“

Obhajoba se konala v Olomouci dne 3. května 2017 v 13:00 hod.

Komise:

předseda: prof. RNDr. Jitka Ulrichová, CSc. ✓

místopředseda: doc. Ing. Kateřina Valentová, Ph.D. ✓

členové: doc. RNDr. Věra Klimešová, CSc. ✓

prof. Mgr. Martin Modrianský, Ph.D. ✓

prof. MUDr. Vilím Šimánek, DrSc. ✓

Oponenti:

doc. Ing. Jaroslav Chládek, Ph.D.
Ústav farmakologie LF UK v Hradci Králové ✓

RNDr. Jana Nekvindová, Ph.D. ✓
Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN v Hradci Králové

Školitel: doc. RNDr. Eva Anzenbacherová, CSc. ✓

Předseda komise přednesl stručnou charakteristiku uchazeče, hodnocení školitele a vedoucího školicího pracoviště. Poté uchazeč vyložil podstatný obsah své disertace. Oponenti přednesli své posudky. Uchazeč odpověděl na připomínky a dotazy oponentů.

Ve vědecké rozpravě vystoupili: viz příloha – zápis o diskusi.

Hlasování se účastnilo 5 členů komise. Kladně hlasovalo 5 členů, záporně 0 členů, neplatných lístků bylo odevzdáno 0.

Usnesení:

Přítomní členové komise tajným hlasováním rozhodli, že **Mgr. Lenka Jourová** obhájila disertační práci a doporučili udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

.....
prof. RNDr. Jitka Ulrichová, CSc.
předsedkyně komise

Obhajoba disertační práce Mgr. Lenky Jourové, zápis z diskuze:

Otázky oponentů:

Doc. Chládek

- 1) **Bakteriální reduktasy. Jaký enzym je nabumeton reduktasa aktivní v *Escherichia coli*?**

V *Escherichia coli* je velké množství reduktáz, dehydrogenáz zodpovědných za redukci nabumetonu, a p ro to není možné přesně říci, který enzym zodpovídá za redukci nabumetonu, protože tato reakce je zřejmě nespecifická.

- 2) **V diskuzi uvádíte, že aktivita bakteriálních enzymů nebyla pravděpodobně předléčbou antibiotikem dostatečně ovlivněna. Jaké jiné možné důvody absence významnějšího vlivu imipenemu by připadaly v úvahu? Neuvažovali jste, že experiment doplníte o intravenozní podání 6-MNA? Jiné metabolity nabumetonu nebyly detekovatelné?**

Nabumeton se velmi rychle vstřebává už v duodenu u hlodavců možná i rychleji a navíc byl podán ve formě suspenze. Provedli jsme stejný experiment na bezmikrobních myších, které zcela postrádají střevní mikroflóru a farmakokinetika 6-MNA také nebyla ovlivněna. V tomto případě tedy zřejmě střevní bakterie nejsou in vivo významně zapojeny do metabolismu a vstřebávání nabumetonu. Jiné známé metabolity nabumetonu nebyly v plazmě detekovány.

- 3) **Existují literární údaje vysvětlující příčinu snížení Cyp3a11? Jaké odlišnosti jsou v transportních proteinech ve střevě a játrech u bezmikrobních myší?**

Snížená exprese genu Cyp3a11 v nepřítomnosti střevní mikroflóry je pravděpodobně způsobena oslabením PXR signalizace (PXR je aktivátor transkripce genů Cyp3a). Pokles signalizace PXR v játrech GF myší je pravděpodobně kvůli sníženému množství endogenních ligandů pro PXR (např. kyselina lithocholová, kyselina indol-3-propionová).

- 4) **Jsou použité koncentrace butyrátu relevantní také pro podmínky *in vivo*?**

Koncentrace butyrátu v tlustém střevě je přibližně 10-40 mmol·l⁻¹ (může být i víc...). Naše koncentrace byly v rozsahu 10 μmol/l až 1 mmol/l. Také v případě nejnižší použité koncentrace byly změny v aktivitě některých enzymů sníženy (CYP1A2).

Dr. Nekvindová

- 1) **Využití detekce určitých bakteriálních druhů ve střevní mikroflóře nebo profilování střevního mikrobiomu pomocí next-generation sekvenace pro odhad rizika změny metabolismu daného léčiva) a dále z hlediska terapie a možné modifikace střevní mikroflóry a následně metabolismu léčiv?**

Využití nových metod molekulární biologie, především next-generation sekvenace pro stanovení složení „normálního – zdravého“ mikrobiomu.

Změny mikrobiomu při různých onemocněních – nové biomarkery Střevní mikrobiota jako terapeutický cíl

Z hlediska metabolismu léčiv je důležité znát možné zapojení jednotlivých bakterií do jejich metabolismu. Např. Sorivudin – V roce 1993 byl stažen z japonského trhu po osmnácti náhlých úmrtích pacientů léčených na rakovinu, kterým byl orálně podáván 5-fluorouracil v kombinaci právě se sorivudinem. Okuda et al., zjišťovali přesný mechanismus této fatální lékové interakce a zjistili, že za toxicitu sorivudinu je zodpovědný jeho bakteriální metabolit - (E)-5-(2-bromovinyl), který může inhibovat metabolismus 5-fluorouracilu, což způsobuje jeho toxickou hladinu v organismu.

Diskuze

doc. Vacek

- 1) **Bakterie by mohly ovlivňovat aktivaci/deaktivaci CYP? Jak by jinak než prostřednictvím exprese mRNA mohly bakterie ovlivňovat aktivitu CYP?**

Nejpravděpodobnější odpověď je právě prostřednictvím exprese mRNA. Aktivace/deaktivace CYP může být také ovlivněna věkem, osídlením gastrointestinálního traktu. Přítomnost metabolitů je zodpovědná za aktivaci signálních drah.

prof. Šimánek

- 1) **Čím je pozoruhodný nabumeton, že jste ho sledovali?**

Nabumeton se používá hlavně k léčbě bolesti a zánětu u pacientů s osteoartrózou nebo revmatoidní artritidou. U nás se však neprodává (v USA jako Relafen). Důvodem volby právě nabumetonu je velmi dobře popsán jeho metabolismus a už zavedené analytické metody na jeho stanovení.

prof. Modrianský

- 1) **Dva typy bakteriálních kmenů *Lactobacillus plantarum* a *Escherichia coli*. Proč jste vybrali právě je?**

Escherichia coli je zástupcem probiotických bakterií a *Lactobacillus plantarum* je zástupcem komenzálních bakterií. *Lactobacillus plantarum* patří mezi G pozitivní bakterie do kmene *Firmicutes*, zatímco *E. coli* Nissle 1917 je Gram negativní bakterie z kmene *Proteobacteria*. Tyto dva kmeny bakterií byly vybrány, abychom mohli srovnat jejich účinky mezi sebou a kontrolou.