

Posudek na diplomovou práci Bc. Ireny Buškové „Možnosti využití veganské střevní mikrobioty jako podpůrné terapie metabolických poruch spojených s obezitou“

Cílem této diplomové práce bylo zkoumat vliv veganské mikrobioty na metabolické a imunologické parametry v pro-diabetogenním prostředí. K tomu autorka a kolektiv použili model humanizovaných myší, které byly inokulovány veganskou mikrobiotou a konvenčních myší na stejném genetickém pozadí. Samci byli následně vystaveny dietě západního typu (WD), u části zvířat suplementované prebiotikem inulinem.

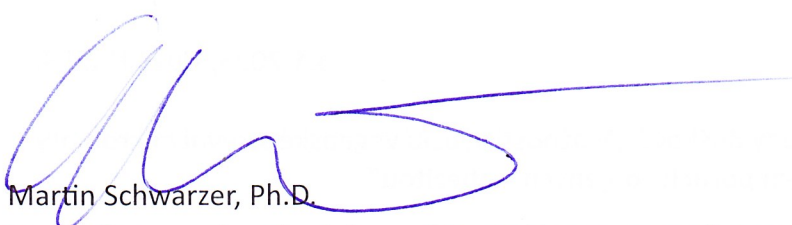
Práce měla 4 dílčí cíle:

1. Analyzovat vliv mikrobioty od veganských dárců a inulinu na tělesnou stavbu a parametry glukózového a lipidového metabolismu u sledovaných modelů.
2. Analyzovat vliv mikrobioty od veganských dárců a inulinu na složení střevní mikrobioty.
3. Analyzovat vliv mikrobioty od veganských dárců a inulinu na vybrané imunologické parametry.
4. Identifikovat možné souvislosti mezi konkrétním složením mikrobioty, metabolickým stavem hostitele a imunologickými parametry.

Výsledky práce ukázaly, že samotný transfer veganské mikrobioty nechránil myši před negativními účinky obezitogenní WD diety. Myši krmené WD dietou vykazovaly zvýšenou tělesnou hmotnost a obsah triglyceridů v játrech, a to jak u konvenčních, tak humanizovaných myší. Avšak suplementace inulinem vedla u humanizovaných VG myší k normalizaci obsahu triglyceridů v játrech a zlepšení parametrů glukózové homeostázy, i když neovlivnila dietně indukovaný přírůstek hmotnosti. U konvenčních myší efekt inulinu pozorován nebyl. Dále byla provedena analýza mikrobiomu a analýza imunitních buněk průtokovou cytometrií. Práce je součástí většího projektu, jehož výsledky byly publikovány v časopise *Nutrients* (Daskova et al., 2023) a kandidátka je jednou ze spoluautorů dané práce.

Diplomová práce je napsána v češtině ve standardním formátu. Skládá se z 9 kapitol: Úvod, Přehled literatury, Cíle diplomové práce, Metody a materiál, Výsledky, Diskuze, Závěr, Přílohy a Seznam zdrojů. V práci jsou uvedené již publikované výsledky pro pochopení celého projektu, autorka jasně uvádí, na získání kterých výsledků se podílela a na kterých ne. V diskuzi kriticky hodnotí možnosti, proč nebyly pozorovány rozdíly mezi pokusnými skupinami v analýze imunitních buněk průtokovou cytometrií a navrhuje možnosti zlepšení pro budoucí pokusy.

Práci doporučuji k obhajobě.



Martin Schwarzer, Ph.D.
Head of Integrative Physiology of Gnotobionts research group
Laboratory of Gnotobiology
Institute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences
Doly 183
54922 Novy Hradek
Czech Republic

e-mail: schwarzer@biomed.cas.cz
tel: 00420 491 418 533

Připomínky a dotazy:

Str 4: ...pro léčbu rekurentní clostridiové infekce...

V češtině je správně ...pro léčbu rekurentní klostridiové infekce...

...byly germ-free (GF) myši...

...byly bezmikrobní myši...

Str 9: ...nealkoholové steatohepatitidě (NASH)...

Podle nové nomenklatury už není NASH atd., ale MASH... Bylo by dobré to zmínit.

Např zde:

<https://britishlivertrust.org.uk/introduction-of-new-terminology-for-fatty-liver-diseases/>

Str 13: ... látkami aktivující PRR stojí za zmínku například PSA (Polysacharid A), které aktivují TLR2.

Bylo by dobré zde uvést citaci.

Str 22: Pro odhad CFU jsme využili postupu publikovaného v Větrovský & Baldrian (Větrovský and Baldrian, 2013), tj. odhadu průměrného počtu kopií 16S genu na bakteriální buňku (4,2).

Co znamenají čísla v závorce?

Str 23: Připravený inokulát byl pomalu rozmražen v ledové lázni a následně zředěn fyziologickým roztokem na 150 ml.

Chci se zeptat, zda jste si jistá finálním objemem a ředěním, které pak bylo použito pro inokulaci? 150 ml mi přijde hodně. Jaké množství bylo podáváno jednotlivým myším?

Str 23: Obrázek 4-2: uvádíte 6 týdnů na standardní dietě, v popisu ale máte 3 týdny breeding diet a 3 týdny standard diet.

Str 24: ...bez mé účasti
Chybí tečka za větou.

Str 30: ... a definovali ta výchozí rodičovskou populaci...

... a definovali tak výchozí rodičovskou populaci...

Kap 4.7.2.

Prosím diskutujte: Pro intracelulární barvení cytokinů na FACS se většinou buňky nespecificky stimulují za přítomnosti blokátoru skrece proteinů, aby se v buňce zvýšila koncentrace daného cytokinu a zlepšilo se barvení protilátkou.

Ve vašem postupu nic takového není (i když FACS s monensinem je uveden v seznamu roztoků). Myslíte si, že tato skutečnost může mít vliv na získané výsledky? Pokud budete v budoucnu barvit intracelulárně cytokiny pro FACS analýzu, jak byste postupovala při optimalizaci metody?

Str 53 odpovídající mikrobiotou. (Ridaura et al., 2013).
Tečka navíc.

Str 54

*...Všechny čtyři taxony negativně korelované s obsahem TAG (*Lactonifactor sp.*, *Agathobacter sp.*, *B. ovatus*, *B. uniformis*) byly zároveň pozitivně stimulovány inulinem, což naznačuje možný mechanismus, jakým inulin působil protektivně proti jaterní steatóze. Z analýzy metabolitů navazující na tento experiment vyplývá, že tyto druhy bakterií produkují prospěšné metabolity s antioxidačními, protizánětlivými a antidiabetickými vlastnostmi (Prochazkova et al., 2022)...*

*Ani jeden z Vámi uvedených taxonů se v práci Prochazkova et al. nevyskytuje. Je možné, že ony prospěšné metabolity/jejich produkce byly analyzovány v jiném článku?
Navrhněte pokus, jak byste prokázala, že dané bakterie jsou opravdu prospěšné a mají schopnost zlepšit MASH. Tedy jak byste mohla přejít od korelace k přímému průkazu – máte k dispozici všechno – peníze, čas, lidi, odbornost – jak to uděláte?*

V práci nikde neuvádíte, jaké procento bakterií se vám povedlo přenést do myší – jde mi o srovnání toho, co se nacházelo ve směsném inokulátu VG dárců a toho, co jste byli schopni detekovat v myších. Dělali jste toto srovnání?