

Prof. PharmDr. Pavol Mučaj PhD.  
Dekan Farmaceutickej fakulty UK  
Bratislava

Bratislava, 11. novembra 2015

Vec: Oponentský posudok na habilitačnú prácu Mgr Andrey Bilkovej PhD:  
**„ Izolácia , identifikácia a selektivita nových potenciálnych terapeuticky účinných probiotických laktobacilov“**

Tempo inovácií v technologických a podporných programoch medicíny ďaleko prevyšuje chabý prílív nových liekov, ktoré by iste prispeli k zvýšeniu efektivity terapie. Možno konštatovať, že každý spôsob inovácie v liečbe chorôb nadobúdajúcich rozmery epidémia – hypertenzia, diabetes a následné KV dôsledky aj s aspektom na mikrobiológiu, imunológiu je vysoko prínosný. Tým úvodom chcem zdôrazniť vysokú aktuálnosť riešenej problematiky umožňujúcej zvýšenie kvality zdravotníckych služieb.

Hodnotná práca v medicíne, podobne ako v iných odvetviach vedy môže u nás vzniknúť v kooperatívnom prostredí tímov nadšencov rôznych profesií, optimálne je, ak pracovisko si udržuje na základe tradície experimentálneho výskumu svetové renomé. Habilitantka to dokladuje tvorivou prácou v náročnom experimentálnom prostredí, pričom nezanedbala efektívne prepojenie s veterinárnou a klinickou medicínou praxe. Popritom chcem zdôrazniť modernosť, náročnosť použitých experimentálnych metód na svetovej úrovni, ktoré sú dokladované publikovanými prácami v renomovaných hlavne teoreticky zameraných časopisoch.

Mgr Bilková uprednostnila prezentáciu svojich výsledkov formou súboru publikovaných prác so stručným úvodom, komentárom ku každej publikovanej práci a krátkym stručným záverom. Po formálnej stránke ide o skupinu 5 prác publikovaných väčšinou v zahraničných časopisoch ktorá tvorí organický celok. Poskytuje tým oponentovi obraz plnenia cieľov od zdroja potenciálneho liečiva, po sledovanie jeho osudu v organizme živočíšneho druhu ktorý je potenciálnym zdrojom finálneho produktu.

V prvej práci charakterizuje antibakteriálny potenciál vybraných izolátov laktobacilov (*Lactobacillus rhamosus*, *reuteri*, *plantarium*, ktoré prežívajú v žalúdku jahniat a kozliat. Antimirobiálny potenciál sledovali na vybraných „targetových“ mikróbov, napr *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* a ďalšie, ktoré sú pôvodcami enterálnych infekcií. Väčšinou zistili len nižší antimikrobiálny potenciál, tento sa zvyšuje zohrievaním testovaného prostredia.

Pokračovaním aktívneho výberu v druhom odbornom článku použitím cielených metód je pokračujúca identifikácia *Lactobacillus reuteri* v interakcii s vyššie spomínanými mikróbmami, ďalej vyhodnocujú vybranými štandardnými markermi odpovede imunitného systému.

V tretej práci Mgr Bilková so spolupracovníkmi kriticky hodnotí vhodnosť biochemických postupov a metód molekulárnej biológie, ktoré z priestorových dôvodov kompletne neuvádzam, vyberám MALDI TOP, SDS-PAGE ITS-PCR/RLP, ERIC-PCR., z toho dve posledné považujú za menej vhodné. Aj ich zoznam čiastočne ilustruje experimentálnu úroveň a vyspelosť kolektívu.

Na štvrté miesto habilitantka zaradila výsledky podporného výskumu pre uplatnenie vybraných liečiv vo veterinárnej resp. medicínskej praxi. Pri ich vylučovaní do žlče

hodnotili rezistenciu na širokú paletu ATB, prichádzajúcich do úvahy pri terapii gastroenteritíd (napr. gentamicín vankomycín, chinolóny, CFZ). Ďalej sa zaoberá mierou ich sekvestrácií, ich podielu na eliminácii. Jedným zo zaujímavých zistení je, že účinkom 1% žlče *Lactobacillus mucosae* stratil rezistenciu na gentamicín. Aj táto posledná publikovaná práca svedčí o širokom experimentálnom zábere Mgr Bilkovej. V 2 publikáciách je prvým autorom. Publikácie sú primerane dokladované tabuľkami, grafmi a podľa potreby schémami, V 52 str. sprevádzajúceho textu, ktorý je prehľadne členený na úvod, teoretickú časť, ciele práce, stručný popis metodík, diskusiu, závery, na konci habilitačnej práce dosiahnuté výsledky zhodnocuje kriticky v Záveroch pre prax. Komentované výsledky s diskusiou odcitovala vo viac ako 400 prác väčšinou pôvodom zo svetovej literatúry k danej téme, ide kvalifikovaný odhad, nakoľko ich nečíslovala. Našiel som aj domáce citácie našich renomovaných autorov (prof Ferenčík, prof Ebringer a iní. V publikáciách sa nachádzajú ďalšie citácie, ktorých počet a váhu zhodnotili príslušní recenzenti renomovaných časopisov, čo je dôkazom veľmi dobrej orientácie autora v širokej problematike experimentálnej mikrobiológie, farmakológie. To platí aj pre hodnotenie originality prác a ich obsahu.

Témy a obsah takto usporiadanej habilitačnej práce sú svojim spôsobom teraz typické pre odbor mikrobiológie, hranične aj pre farmakológiu. Mgr Bilková prezentuje svoje výsledky a názory na niekoľkých úrovniach mikrobiologického aj farmakologického výskumu. Pri všeobecnom zhodnotení habilitačného spisu nemám zásadné kritické poznámky k posudzovanej habilitačnej práci.

Doplňujúce otázky:

1. Aké metodické spôsoby považuje habilitantka za najefektívnejšie v rámci klinicko - farmakologického výskumu nových liečiv, sú súčasne akceptované postupy EMY dostatočne ústretové pre potenciálny biologický prípravok resp registráciu liečiva v indikácii probiotík? Otázka smeruje k textu úvodnej časti.
2. Uviedla ste, že v podmienkach in vitro *Lactobacillus reuteri* je schopný modulovať alebo meniť rezistenciu Vami sledovaných ATB, nemôžu Laktobacily pôsobiť aj v smere „up regulácie“?
3. Nedajú sa predpokladať aj farmakokinetické interakcie navrhovaných probiotík s inými liečivami, hlavne na úrovni absorpcie?
4. Do akej miery sa dá uplatniť štandardizácia a čistota tekutej formy prípravku sušením, nestráca sa podstatná časť aktivity - vid' tbl. formu.

Záverom zdôrazňujem že:

Mgr Andrea Bilková PhD v habilitačnej práci preukázala schopnosť identifikovať a analyzovať vysoko aktuálne teoretické, ale aj farmakoterapeutické výzvy. Dokázala ich riešiť najmä na úrovni dlhoročnej spolupráce so spolupracovníkmi, prispievala tým k výchove mladých. Vlastná práca a publikácie k téme tejto práce dokladujú odbornosť a komunikatívnosť autorky, schopnosť podieľať sa na vytváraní podmienok pre tímovú prácu. Spĺňa v plnom rozsahu požiadavky na habilitačnú prácu, ktorú navrhujem prijať v plnom rozsahu. Navrhujem Mgr Andrey Bilkovej PhD v zmysle príslušného zákona o vedecko-pedagogických hodnostiach na základe predloženej habilitačnej práce udeliť hodnosť docenta.

Prof. MUDr. Milan Kriška, DrSc.  
Ústav farmakológie a klinickej farmakológie LFUK  
Bratislava