



ÚSTAV EXPERIMENTÁLNEJ MEDICÍNY

prednosta: MUDr. Alojz BOMBA, DrSc.

ÚEM UPJŠ LF, Tr. SNP 1, 040 11 Košice

tel.: +421 (055) 234 3461, IČO: 00397768

e-mail: alojz.bomba@upjs.sk, <http://www.lf.upjs.sk>

Vážený pán

prof. MUDr. Juraj Šteňo, DrSc.

predseda Vedeckej rady LF UK

dekan LF UK

Univerzita Komenského v Bratislave

Lekárska fakulta

Špitálska 24

813 72 Bratislava 1

Vec: Posudok oponenta na habilitačnú prácu MUDr. RNDr. Romana Gardlíka, PhD. na tému „Molekulárne a mikrobiálne aspekty zápalových črevných chorôb“

Na základe žiadosti v zmysle paragrafu 1 ods. 8 vyhlášky č. 246/2019 Z. z. MŠVVaŠ SR o postupe získavania vedecko-pedagogických titulov alebo umelecko-pedagogických titulov docent a profesor a menovania predsedom Vedeckej rady LF UK a dekanom LF UK prof. MUDr. Jurajom Šteňom, DrSc., IFAANS za oponenta, predkladám posudok oponenta na habilitačnú prácu MUDr. RNDr. Romana Gardlíka, PhD., vedecko-výskumného pracovníka v Ústave molekulárnej biomedicíny LF UK v Bratislave, vypracovanú na tému „Molekulárne a mikrobiálne aspekty zápalových črevných chorôb“, v odbore habilitačného a inauguračného konania normálna a patologická fyziológia.

Predložená habilitačná práca MUDr. RNDr. Romana Gardlíka, PhD., ktorá je prezentovaná súborom štrnástich vedeckých prác autora zameraných na objasnenie patogenézy črevných zápalových chorôb (IBD) a získanie poznatkov o nových možnostiach ich prevencie a terapie prináša hodnotné výsledky systematického výskumu autora v uvedenej oblasti.

Habilitačná práca MUDr. RNDr. Romana Gardlíka, PhD. je zameraná na mimoriadne aktuálnu problematiku. Súčasný poznatky poukazujú na významnú úlohu črevnej mikrobioty v regulácii fyziologických funkcií organizmu, imunity a metabolických procesov. Ukazuje sa, že zmeny diverzity, zloženia a funkcií črevnej mikrobioty sú spojené s mnohými chronickými chorobami. Cílená modulácia črevného mikrobiómu, využitím probiotických mikroorganizmov, prebiotík, ich vhodných kombinácií a transplantácie črevnej mikrobioty zohľadňujúcej prístupy personalizovanej medicíny, má potenciál efektívneho prístupu prevencie a podpornej terapie mnohých závažných chorôb.

Cieľom habilitačnej práce bolo získanie nových poznatkov o patogenéze zápalových črevných chorôb a overovanie nových prístupov v ich terapii založené na metódach molekulárnej biomedicíny a zameraných na neštandardné ciele. Na základe zhodnotenia

dosiahnutých výsledkov konštatujem, že stanovené ciele habilitačnej práce boli splnené na vynikajúcej úrovni.

Metodické postupy použité v rámci habilitačnej práce zodpovedajú stanoveným cieľom a súčasným možnostiam. V rámci experimentov bol využívaný experimentálny model chemicky indukovanej kolitídy. Boli overované molekulárne – biologické metódy, vrátane DNA vakcinácie, RNA interferencie, bakteriálnej génovej terapie a *in vivo* reprogramovanie pomocou bakteriálnych vektorov ako potenciálne terapeutické prístupy chemicky indukovanej kolitídy u myší. Boli študované pohlavné rozdiely v experimentálnej kolitíde a v účinku terapie, úloha extracelulárnej DNA (ecDNA) v patogenéze črevných zápalových chorôb a prognostický a terapeutický potenciál cirkulujúcej ecDNA. Mimoriadne oceňujem, že v práci bola študovaný aj vplyv črevnej mikrobioty na oxidačný status črevného tkaniva a bol popísaný fenomén transferu reverzného fenotypu pomocou transplantácie fekálnej mikrobioty.

Habilitačná práca MUDr. RNDr. Romana Gardlíka, PhD. sumarizuje dosiahnuté výsledky systematického štúdia, ktoré rozširujú súčasné a prinášajú nové poznatky o patogenéze zápalových črevných chorôb a nových možnostiach ich terapie využitím metód molekulárnej biomedicíny. Dokladom toho sú viaceré hodnotné vedecké práce publikované v zahraničných vedeckých časopisoch. Viaceré získané poznatky majú potenciál posunúť nielen súčasné poznanie študovanej problematiky, ale zároveň naznačujú možnosti ich využitia v klinickej praxi pri zefektívnení terapie zápalových črevných chorôb. Za veľmi cenné pokladám poznatky získané v rámci štúdia možností uplatnenia génovej terapie využitím kmeňa *Salmonella typhimurium* SL7207 ako bakteriálneho vektora genetickej informácie, pričom sa preukázalo, že uvedená forma protizápalovej a antioxidačnej génovej terapie bola účinná z hľadiska zmiernenia príznakov kolitídy, zníženia oxidačného stresu a zápalu.

Dosiahnuté výsledky poukázali na potenciál baktériami sprostredkovanej génovej terapie IBD, s možnosťami využitia komenzálnych črevných bakteriálnych kmeňov ako vektorov na prenos terapeutických génov do črevných buniek. Účinná sa ukázala aj preventívna orálna aplikácia rovnakých bakteriálnych vektorov pre inhibíciu angiogenézy, ktorá signifikantne zmiernila kolitídu a znížila zápalové markery a expresiu vaskulárneho endotelového rastového faktora (VEGF) v čreve a plazme. Dosiahnuté poznatky prispeli k rozšíreniu súčasných poznatkov o úlohe angiogenézy v patogenéze IBD a možnostiach využitia bakteriálnych vektorov v terapii chorôb. Prínosom práce sú aj poznatky získané v rámci testovania účinnosti rekombinantného bakteriálneho kmeňa *Escherichia coli* Nissle 1917, ktorý bol transformovaný expresným plazmidom nesúcim gén pre interleukín-10. Podanie rekombinantného kmeňa viedlo k zvýšeniu plazmatických koncentrácií interleukínu-10, čo by mohlo mať význam pre prípadnú terapiu iných systémových zápalových chorôb, pri ktorých zohrávajú plazmatické koncentrácie interleukínu-10 kľúčovú úlohu pre úspešný terapeutický efekt. Prínosom práce pre interpretáciu výsledkov experimentálnych štúdií využitím animálnych modelov, ale aj pre klinický výskum, sú získané poznatky o vplyve pohlavných rozdielov na patogenézu chemicky indukovanej kolitídy u myší a na účinok jej liečby. Uvedené výsledky rozširujú súčasné poznatky o patogenéze zápalových črevných chorôb z hľadiska hormonálnej regulácie a majú diagnostický a terapeutický potenciál v humánnej medicíne. Za veľmi prínosné možno pokladať získané výsledky objasňujúce úlohu extracelulárnej DNA (ecDNA) v patogenéze zápalových črevných chorôb, pretože by

mohli napomôcť zefektívneniu ich diagnostiky a terapie. Uvedená pilotná štúdia preukázala potenciál extracelulárnej DNA ako jedného z markerov zápalu a prípadne aj terapeutického cieľa pri zápalových črevných chorobách. Získané poznatky poukazujú aj na významnú úlohu črevnej mikrobioty v moduláciu oxidačného statusu tkaniva čreva a môžu byť prínosom pre ciele terapiu chorôb. Prínosom pre oblasť objasnenia úlohy črevnej mikrobioty v patogenéze zápalových črevných chorôb sú aj výsledky získané v rámci overovania hypotézy o reverznom transferu fenotypu pri zápalových črevných chorobách, ktoré môžu prispieť k objasneniu mechanizmu účinku transplantácie fekálnej mikrobioty. Dosiahnuté výsledky rozširujú súčasné a prinášajú nové poznatky v oblasti štúdia molekulárnych mechanizmov v patogenéze zápalových črevných chorôb, majú významný potenciál pre ďalší rozvoj výskumu v uvedenej oblasti, ale perspektívne aj pre rozvoj klinického výskumu zameraný na využitie personalizovanej terapie chorôb.

K predloženej habilitačnej práci mám nasledovné otázky:

1. Experimentálne štúdie realizované v rámci habilitačnej práce využívajú model chemicky indukovanej akútnej kolitídy. Zápalové črevné choroby sú chronickým ochorením. Aké boli dôvody, ktoré viedli k rozhodnutiu realizovať experimenty na modeli akútnej kolitídy?
2. Práca sa zaoberá aj štúdiom úlohy črevnej mikrobioty v patogenéze zápalových črevných chorôb a jej moduláciou. V súčasnosti sa výskum v celosvetovom meradle mimoriadne intenzívne venuje hľadaniu nových možností modulácie črevného mikrobiómu využitím potencionovaných probiotík, probiotík novej generácie, personalizovaných probiotík, farmabiotík, ale aj transplantácie fekálnej mikrobioty a cielenej modulácie črevnej mikrobioty ex vivo a jej spätného transferu pacientovi. Aký je názor autora na súčasné, ale aj perspektívne metódy modulácie črevného mikrobiómu v prevencii a terapii chorôb využívajúce prístupy personalizovanej medicíny?
3. Práca je zameraná na veľmi aktuálnu problematiku a prináša výsledky, ktoré v dlhodobej perspektíve naznačujú cesty pre získanie nových, kľúčových poznatkov pre objasnenie patogenézy zápalových črevných chorôb a ich využitie v prevencii a terapii chorôb uplatnením metód modulácie črevného mikrobiómu, v súlade s prístupmi personalizovanej medicíny. Aké sú zámery smerovania ďalšieho výskumu autora v uvedenej problematike z hľadiska dlhodobej perspektívy?

Záver

Predložená habilitačná práca MUDr. RNDr. Romana Gardlíka, PhD. je na vysokej odbornej úrovni. Habilitačná práca prináša nové a rozširuje súčasné poznatky v oblasti štúdia molekulárnych mechanizmov v patogenéze zápalových črevných chorôb, ktoré predstavujú významný potenciál pre ďalší rozvoj výskumu študovanej problematiky, ale aj pre rozvoj klinického výskumu zameraný na nové prístupy v terapii chorôb. Habilitačná práca spĺňa požadované kritériá kladené na uvedený druh vedeckých prác, a preto odporúčam príslušnej habilitačnej komisii jej prijatie pre habilitačné konanie a po úspešnej obhajobe, v zmysle paragrafu 1 ods. 8 vyhlášky č. 246/2019 Z. z. MŠVVaŠ SR o postupe získavania vedecko-pedagogických titulov alebo umelecko-pedagogických titulov docent a profesor, odporúčam

udelit' MUDr. RNDr. Romanovi Gardlíkovi, PhD. titul docent v študijnom odbore normálna a patologická fyziológia.

V Košiciach 18. 2. 2020

MVDr. Alojz Bomba, DrSc.
oponent