



UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta
Katedra biochemie

Posudek na disertační práci

Posuzovaná disertační práce Mgr. Lucie Rychtářové (roz. Zdražilové), nazvaná „**Congenital disorders of glycosylation and their impact on cellular and energetic metabolism**“, je experimentální studií založenou na 4 publikacích autorky uveřejněných v prestižních mezinárodních periodících s impaktním faktorem (souhrnný IF~25) a dosud nezveřejněných datech. Disertantka je spoluautorkou celkem 6 publikací uvedených v WOS. Na třech článcích je uvedena jako první autor.

Jednotlivou myšlenkou předkládané práce, která je sepsána v anglickém jazyce, je problematika genetických defektů, které způsobují poruchy glykosylace proteinů. Důsledkem jsou pak komplexní změny v bioenergetice buňky a jejím metabolismu. Na molekulární úrovni jsou detailně probírány jednotlivé příčiny a následky pro lidskou fyziologii a patofyziologii. Díky tomu kolegyně Rychtářová naznačuje klinicky relevantní terapeutické cíle. Práce je předepsaným způsobem členěna a obsahuje všechny závazné oddíly. Součástí práce jsou plné texty čtyř relevantních článků, které disertantka komentuje a vyznačuje svůj příspěvek na každé publikaci.

Teoretická část práce logicky seřazenými informacemi uvádí čtenáře do problematiky glykosylací a jejich role v normálním fungování buňky. Dále disertantka rozebírá vliv vrozené dysfunkce fosfomannomutasy 2 a především pak vybraných enzymů účastnících se biosyntézy dolicholu, jako ústřední molekuly spojené s *N*-glykosylacemi. Závěrem jsou probírány možnosti mitochondriální funkční analýzy. Text je vhodně doprovázen obrázky. Následují přehledně sepsané cíle práce, v nichž autorka formuluje jednotlivé dílčí úkoly. Na tento oddíl navazuje metodická část práce, kde jsou shrnuty základní materiály a experimentální přístupy použité v pracích, které nebyly ještě zveřejněny. Těžištěm práce je oddíl věnovaný výsledkům a diskusi, v němž disertantka komentuje experimentální data získaná při komplexní charakterizaci strukturálních a funkčních parametrů studovaných vzorků. Řazení této části práce koresponduje s jednotlivými vytčenými cíli. První oddíl je věnován optimalizaci metody pro stanovení izoforem dolicholu a studiu jejich rolí ve fyziologii a patologii. Byl prokázán vztah mezi stárnutím a změnami v distribuci izoforem dolicholu. Tento poznatek může zlepšit diagnostickou metodu disfunkcí biosyntézy dolicholu u pacientů s touto poruchou. Druhý oddíl výsledků a diskuse se zaměřuje na bioenergetický stav a celkový metabolismus u nejčastějších typů vrozené dysfunkce *N*-glykosylace. Překvapivým zjištěním bylo, že u všech testovaných typů genetického onemocnění byla nalezena snížená glykolýza, což naznačuje změnu bioenergetického toku v patientských buňkách. Tyto poznatky otevírají směry dalšího výzkumu a možnosti nových léčebných přístupů. Jedná se o první studii, která tento vztah našla.

Součástí práce je seznam citovaných literárních zdrojů, který obsahuje úctyhodných 301 odkazů. Vytknout je možno snad jen to, že se v textu někdy objevují citace včetně iniciál, např. „V. V Lima et al., 2009, 2012“.

Velmi pozitivně lze hodnotit, že díky široce pojatému systematickému výzkumu vrozených defektů *N*-glykosylace v různých patientských vzorcích s využitím celé škály experimentálních přístupů se podařilo vysvětlit molekulární podstatu a poodhalit další širší souvislosti těchto genetických onemocnění. Posuzují-li vědeckou úroveň a přínos práce pro základní badatelský a orientovaný základní výzkum, je třeba konstatovat, že se jedná o práci velmi kvalitní, v níž disertantka dokázala soustředěně řešit vytčené cíle a získat hodnotné výsledky. Komplexní řešení přineslo významné vědecké výstupy naznačující terapeutický potenciál.

Předkládaná práce je přehledně a pečlivě vypracována. Přesto se v textu, jako v každé práci většího rozsahu, objevují překlepy a formální chyby. Jako důkaz, že byla práce detailně prostudována a kriticky posuzována, uvádím pár příkladů:

- u Obr. 1 (str. 13) chybí legenda k symbolům,
- chybná formulace: „The binding of three acetyl-CoA molecules results in 3-hydroxy-methylglutaryl coenzyme A“ (str. 19) – mechanismus je jiný,
- překlepy: „Moddified“ (Obr. 10) a „page“ ve smyslu „PAGE“ (Obr. 26)
- některé zkratky, např. OCR (str. 44) nebo PNS (str. 56), nejsou v seznamu zkratek ani jinak vysvětleny, naopak běžně používané zkratky jsou uvedeny zbytečně,
- chybná formulace: „measurements were performed according based on“ (str. 52)
- u názvů enzymů je ve vědecké literatuře závazná koncovka „asa“,
- deskriptor „N“ je třeba uvádět v kurzívě – např. „*N*-glykosylace“.

Závěrem této části posudku mohu konstatovat, že zmíněné drobné nedostatky nikterak nesnižují vědeckou hodnotu předkládané práce.

K autorce mám následující dotazy:

1. Jaká je role dolicholů v membránách peroxisomů a lysosomů?
2. Jak dochází ke vzniku patologií v případě PMM2 defektu, když uvádíte že: “It is important to mention that the measured PMM2 activity is not always significantly reduced“ (str. 26)?
3. Prosím o vysvětlení zajímavé techniky „Seahorse XF24 analyzer measurements“ (str. 52).
4. Jak porozumět větě: „Under anoxia, the Q-pool is highly reduced according to the literature, so we assumed it to be in a fully oxidized state for the experiment“ (str. 54)?
5. Jak byly získány „trendy“ v Obr. 15. Proč jsou někdy použity přímky, jindy křivky?
6. Vysvětlete, co je míněno „yeast compensation assay“ (str. 63)?

Závěrem je možno konstatovat, že Mgr. Lucie Rychtářová prokázala jak velmi dobrou orientaci ve studované problematice, tak schopnost vědecké práce, včetně publikace získaných výsledků v impaktovaných mezinárodních časopisech. Je potěšivé, že při řešení studované problematiky byly získány originální výsledky naznačující možné aplikace studovaných modulačních sloučenin.

Předkládanou práci hodnotím jako kvalitní vědeckou studii, která splňuje veškeré požadavky kladené na disertační práce. V souladu ustanovením § 47, odst. 4, zákona č.111/1998 Sb. o vysokých školách uchazečka prokázala schopnost a připravenost k samostatné činnosti v oblasti výzkumu a vývoje. Dále potvrzuji, že práce byla objektivně a kriticky hodnocena a byla shledána jako vyhovující. Proto doporučuji, aby byla disertační práce přijata k obhajobě a aby na základě úspěšné obhajoby byl Mgr. Lucii Rychtářové udělen akademický titul Ph.D.

V Praze, 31. 10. 2023



Prof. RNDr. Petr Hodek, CSc.