



Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

ul. Chałubińskiego 5

02-004 Warszawa

tel.: (0-22) 622 00 28

fax: (0-22) 628 27 39

OCENA

Rozprawy doktorskiej mgr. Agnieszki Dąbrowskiej

p.t.: „Identyfikacja i charakterystyka czynników komórkowych w replikacji wirusa Zika”

Przygotowanej pod kierunkiem Promotora Prof. dr hab. Krzysztofa Pyrcia
w Zakładzie Mikrobiologii Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu
Jagiellońskiego

Wirus Zika (Zika Virus; ZIKV) jest patogenem należącym do rodzaju *Flavivirus*, rodziny *Flaviviridae*, który po raz pierwszy został zidentyfikowany w Ugandzie w 1947 r. wśród rebusów, zaś w latach pięćdziesiątych XX wieku określono go w innych krajach Afryki subsaharyjskiej jako czynnik infekcji i chorób u ludzi.

Od lat sześćdziesiątych do osiemdziesiątych XX wieku w Afryce i Azji wykrywano sporadyczne infekcje ZIKV wśród ludzi, jednakże od 2007 r. w Afryce, obu Amerykach, Azji i na wyspach Pacyfiku rejestrowano coraz częstsze ogniska epidemiczne choroby wywołanej wirusem Zika. Podczas zakażeń, które miały miejsce w ciągu ostatniej dekady, stwierdzono związek infekcji ZIKV ze zwiększoną częstością występowania zespołu Guillain-Barré (Guillain-Barré Syndrome; GBS). Dodatkowo, kiedy wirus Zika pojawił się w obu Amerykach, a w 2015 r. doszło do dużej epidemii w Brazylii, po raz pierwszy opisano związek między zakażeniem ZIKV a przypadkami małopłówa wśród noworodków. Podobne ustalenia poczyniono w wyniku retrospektywnych badań na terenie Polinezji Francuskiej. Od lutego do listopada 2016 r. WHO ogłosiła stan nadzwyczajny w zakresie zdrowia publicznego o zasięgu międzynarodowym (Public Health Emergency of International Concern; PHEIC) w związku z małopłówa i innymi zaburzeniami neurologicznymi a zakażeniami spowodowanymi przez ZIKV. Wkrótce też potwierdzono związek przyczynowy między infekcją wirusem Zika kobiet ciężarnych a wadami wrodzonymi.



Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

ul. Chałubińskiego 5

02-004 Warszawa

tel.: (0-22) 622 00 28

fax: (0-22) 628 27 39

Ogniska choroby wywołanej ZIKV stwierdzono w większości obu Ameryk oraz w innych regionach za sprawą zadomowionych komarów z rodzaju *Aedes* spp. (głównie *Aedes aegypti*, *Aedes africanus* i *Aedes albopictus*). Zakażenia wykryto także wśród podróżnych z obszarów objętych infekcjami ZIKV, a przenoszenie drogą płciową potwierdzono jako alternatywną drogę zakażenia wirusem Zika.

Od 2017 r. liczba przypadków choroby wywołanej wirusem Zika na całym świecie spada; jednakże przenoszenie ZIKV utrzymuje się na niskim poziomie w kilku krajach obu Ameryk i innych regionach endemicznych. Ponadto w 2019 r. w Europie zgłoszono pierwsze lokalne przypadki choroby Zika przenoszonej przez komary, a w 2021 r. wykryto epidemię ZIKV w Indiach. Do chwili obecnej łącznie 89 krajów i terytoriów zgłosiło dowody zakażenia wirusem Zika przenoszonym przez komary; jednakże nadzór epidemiologiczny pozostaje ograniczony w większości regionów globu. Dlatego też badania poświęcone replikacji ZIKV oraz jego wpływowi na komórkę zakażoną pozostają niezwykle istotne, jako przyczyniające się do poznania interakcji patogen-gospodarz, a co za tym idzie opracowywaniu potencjalnych skutecznych preparatów o działaniu przeciwwirusowym.

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska liczy 103 strony, w układzie typowym z podziałem na wstęp, cel pracy, materiały, metody, wyniki, dyskusję, wnioski oraz bibliografię. Prócz tego na początku pracy zamieszczono spis treści wykaz stosowanych skrótów oraz streszczenia w języku polskim i angielskim, zaś na końcu dysertacji, po wykazie publikacji liczącym 16 prac, znalazła się bibliografia licząca 280 pozycji.

W rozdziale „Wstęp” Autorka przedstawiła zwięzłą charakterystykę wirusów z rodziny *Flaviviridae*, z uwzględnieniem ich zmienności genetycznej, cyklu replikacyjnego oraz przebiegu klinicznego zakażenia. W dalszej części znalazł się opis patogenezы infekcji ZIKV, epidemiologii zakażeń wirusem Zika oraz wpływu i roli poszczególnych białek ZIKV na szlaki wewnątrzkomórkowe zakażonych komórek. Na podkreślenie zasługuje piśmiennictwo uwzględnione przez Doktorantkę, które jest dobrane w przemyślany sposób i stanowi szeroki obraz problematyki zakażeń spowodowanych przez wybranych przedstawicieli flawiwirusów.



Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

ul. Chałubińskiego 5

02-004 Warszawa

tel.: (0-22) 622 00 28

fax: (0-22) 628 27 39

Cel pracy został sformułowany w klarowny sposób, który jasno wynika z poprzedzającego go rozdziału „Wstęp”, co znacząco ułatwia zrozumienie przesłanek podjęcia tej właśnie tematyki badań.

W dwóch rozdziałach: „Materiały” oraz „Metody” znalazł się drobiazgowy opis materiału klinicznego wykorzystanego do eksperymentów oraz odczynników i sprzętu wykorzystanego w badaniach. Podobnie dokładnie scharakteryzowano wykorzystane w toku badań metody, które zostały dobrane w sposób absolutnie prawidłowy, umożliwiając w pełni osiągnięcie założonego celu pracy.

W części doświadczalnej mgr. Agnieszka Dąbrowska badała ekspresję proteazy ZIKV oraz innych białek strukturalnych i niestrukturalnych wirusa w komórkach eukariotycznych, transfekowanych za pomocą stosownych konstruktywów plazmidowych. Następnie Doktorantka badała wpływ proteazy wirusa Zika na poziom wybranych białek komórkowych za pomocą techniki Western blot. Podobne badania wykonano w celu stwierdzenia wpływu zakażenia ZIKV na poziom wybranych białek komórkowych.

Rezultaty powyższych eksperymentów Autorka szczegółowo przedstawiła w rozdziale „Wyniki”, gdzie stwierdziła iż zakażenie wirusem Zika nie wywiera hamującego wpływu na syntezę białek komórkowych poprzez wpływ na czynniki transkrypcyjne. Rezultatem początkowych doświadczeń było stwierdzenie, że białko *eIF4G1* wspiera replikację ZIKV w warunkach *in vitro*, zaś zakażenie wirusem obniża poziom białka KIF5A, co jest korzystne dla procesu replikacji wirusa Zika. Należy zaznaczyć, iż forma zaprezentowania danych w rozdziale „Wyniki” jest przejrzysta i uporządkowana, zaś czytający ma wrażenie, że wydobyto z nich maksymalną możliwą ilość informacji.

Rozdział „Dyskusja” został przeprowadzony przez mgr. Agnieszkę Dąbrowską w sposób zasługujący na moje pełne uznanie. Autorka omówiła uzyskane wyniki w kontekście dostępnych danych literaturowych, zawierając odniesienia do interesujących z wirusologicznego punktu widzenia obserwacji, dotyczących wpływu ZIKV na zakażone komórki. Moim zdaniem rozdział „Dyskusja” objął wszystkie możliwe aspekty zagadnienia, których dotyczyć powinna przedstawiona rozprawa, zwłaszcza w kontekście identyfikacji nowego czynnika komórkowego, jakim jest



Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

ul. Chałubińskiego 5

02-004 Warszawa

tel.: (0-22) 622 00 28

fax: (0-22) 628 27 39

białko KIF5A. Odgrywa ono istotną rolę podczas zakażenia, a jednocześnie jego obserwacja może pomóc w wytłumaczeniu pewnych objawów neurodegeneracyjnych obserwowanych podczas i po zakażeniu wirusem Zika.

Pragnę nadmienić, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska mgr. Agnieszki Dąbrowskiej stanowi poważne wyzwanie dla recenzenta, bowiem napisana została w sposób niezwykle staranny i precyzyjny. Drobne błędy dostrzeżone w tekście mają głównie charakter edytorski, a jedyną uwagą jaka nasunęła mi się podczas lektury pracy byłoby rozpoczynanie poszczególnych rozdziałów pracy od nowych stron. Ułatwiłoby to odbiór wzrokowy treści i znalezienie kolejnych rozdziałów.

Uwaga ta w najmniejszym stopniu nie wpływa na merytoryczną wartość rozprawy doktorskiej, ani nie obniżają mojej wysokiej oceny jej strony redakcyjnej. Podkreślam ponownie, iż praca ta w mojej opinii została przygotowana z wielką starannością, wyniki są precyzyjnie udokumentowane a sama dyskusja przeprowadzona w sposób niezwykle przejrzysty.

Z całym przekonaniem stwierdzam więc, iż w mojej opinii rozprawa doktorska mgr. Agnieszki Dąbrowskiej stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a co za tym idzie, spełnia wymogi Ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14.03.2003 r. (Dz.U. 2003 nr 65, poz. 595) z późniejszymi zmianami. Wnoszę zatem do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr. Agnieszki Dąbrowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na ogrom wykonanych badań oraz znaczący dorobek naukowy Doktorantki wnoszę o wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej.

Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

T. Dzieciatkowski

dr hab. n. med. Tomasz Dzieciatkowski