

Sosnowiec, 15 lipca 2025

Katedra
i Zakład Mikrobiologii

Dr hab. n.med.
Jolanta Bratosiewicz-Wąsik

Wydział Nauk Farmaceutycznych
w Sosnowcu
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach
41-200 Sosnowiec,
ul. Jagiellońska 4
www.mikrowir.sum.edu.pl

tel.: (+48 32) 364 1509

SEKRETARIAT KATEDRY
tel.: (+48 32) 364 1621
mikrob@sum.edu.pl

**Recenzja rozprawy doktorskiej na stopień doktora
w dziedzinie nauk weterynaryjnych, dyscyplinie weterynaria
mgr inż. Michaliny Marii Bartak pt: „Mechanizmy
neuropatogenezy oraz neurotropizmu MHV (Mouse Hepatitis
Virus) oraz SDAV (Sialodacryoadenitis Virus) na modelu *in vitro*
hodowli pierwotnej mysich komórek centralnego układu
nerwowego – astrocytów, neuronów oraz mikrogleju”.**

Oceniana rozprawa powstała w Katedrze Nauk Przedklinicznych Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie pod kierunkiem Pani dr hab. Joanny Cymerys-Bulendy, prof. SGGW.

Podjętego przez Doktorantkę tematu pracy nie sposób nie uznać za szczególnie ważny, zwłaszcza po doświadczeniach związanych z wybuchami epidemii SARS, MERS, czy wreszcie pandemii COVID-19. Poznanie mechanizmów oddziaływania koronawirusów na komórki układu nerwowego jest kluczowe dla zrozumienia patogenezy objawów neurologicznych związanych z zespołem długiego COVID-19.

Przedstawiona mi do oceny dysertacja przygotowana została na podstawie czterech oryginalnych artykułów naukowych, spośród których trzy prezentują wyniki przeprowadzonych badań, jedna jest tematycznie powiązaną publikacją przeglądową.

We wszystkich publikacjach Pani mgr inż. Michalina Maria Bartak jest pierwszym autorem i, jak wynika z załączonych oświadczeń oraz informacji umieszczonych w poszczególnych publikacjach, jej wkład w ich powstanie był wiodący, co stanowi ważny czynnik podnoszący wartość dysertacji. Łączny współczynnik oddziaływania IF prezentowanego cyklu prac będących podstawą ocenianej rozprawy wynosi – 18,12 przy punktacji MNiSW – 520.

Doktorantka postanowiła przyjąć następujący układ swojej dysertacji: część merytoryczną poprzedza „Streszczenie” w języku polskim i angielskim, po których zamieszczono „Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy” oraz „Wykaz skrótów”. W rozdziale „Wstęp i uzasadnienie podjęcia tematu” Doktorantka krótko przedstawia rodzinę *Coronaviridae* (systematyka i struktura wirionu oraz chorobotwórczość koronawirusów zwierzęcych), przyporządkowując do rodzajów wirusy będące przedmiotem badań (Mouse Hepatitis Virus – MHV i Sialodacryoadenitis Virus – SDAV) oraz gatunki zakażające człowieka.

Ta część pracy napisana jest w sposób zwarty, ale doskonale nakreślający tematykę badań i uzasadniający ich podjęcie. Autorka przedstawia informacje dotyczące użytych do badań wirusów podkreślając ich przynależność do tego samego rodzaju, do którego należą koronawirusy patogenne dla człowieka, w tym SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV2. Klasyfikacja taksonomiczna, tropizm i chorobotwórczość MHV i SDAV sprawiają, że wirusy te są bardzo dobrym modelem badawczym, szczególnie w kontekście wywoływanych przez SARS-CoV-2 zaburzeń neurologicznych. Na podkreślenie zasługuje również fakt, iż, jak pisze Doktorantka, „Znaczna większość danych literaturowych o SDAV pochodzi z lat 80. i 90.”, tak więc wyszukanie tego modelu wymagało znacznego wysiłku, który warto było podjąć, zwłaszcza biorąc pod uwagę potencjał zoonotyczny tego patogenu.

W trakcie lektury tej części pracy nasunęło mi się kilka drobnych uwag.

W „Wykazie skrótów”:

- Tłumaczenie „Kpz” jako „kilo par zasad” jest dość niefortunne, sądzę, że lepiej byłoby zastosować określenie „tysiąc par zasad”.
- Skrót „VZV” nieprawidłowo jest tłumaczony jako wirus krowianki– jest to wirus ospy wietrznej-półpaśca.

W „Wykazie publikacji”:

- Zdanie wprowadzające „Niniejsza rozprawa doktorska składa się na zbiór czterech opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów

Do realizacji wyznaczonych celów Doktorantka zastosowała bardzo dobrze dobraną metodykę opisaną klarownie w rozdziale 5. W sposób bardzo czytelny przedstawione zostały kolejne kroki prowadzonych badań wzbogacone o schemat ilustrujący metodę pre- oraz postinkubacji z inhibitorami komórkowymi. Na szczególne podkreślenie zasługuje umiejętne zastosowanie przez Doktorantkę szerokiego zakresu metod badawczych z zakresu hodowli komórkowych, nowoczesnych technik mikroskopowych, biologii komórki, biologii molekularnej i immunologii świadczące o wysokim poziomie naukowym i znacznych umiejętnościach Autorki niniejszej dysertacji.

Pytanie, które pojawiło się podczas lektury tej części dotyczy zastosowania wysokoprzepustowego testu immunologicznego (ProcartaPlex™) dla 48 cytokin i chemokin oraz klasycznego testu ELISA dla wybranych cytokin. Nie znalazłam uzasadnienia takiego podwójnego oznaczenia poziomu niektórych cytokin. Liczę, iż Doktorantka udzieli wyjaśnienia w dalszych etapach postępowania.

W kolejnej części swojej dysertacji Pani mgr inż. Michalina Maria Bartak dokonuje syntetycznego opisu trzech publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Etap recenzji badania Doktorantki przeszedł przed ich publikacją, dlatego w tym miejscu nie będę ich recenzować ponownie. Chciałaby natomiast podkreślić osiągnięcia poszczególnych etapów badań.

W publikacji „Neurons cytoskeletal architecture remodeling during the replication cycle of mouse coronavirus MHV-JHM: a morphological in vitro study” Doktorantka opisała zaobserwowane zmiany cytoszkieletu wywołane przez zakażenie szczepem MHV-JHM oraz udział struktur TNT w transporcie międzykomórkowym wirusa, a cytoszkieletu aktynowego w składaniu i wychodzeniu wirionów potomnych. Wartość przedstawionej publikacji polega na ustaleniu roli cytoszkieletu podczas replikacji wirusa w neuronach, co pozwala na zrozumienie mechanizmów neuroinfekcji MHV-JHM.

W kolejnym etapie badań prezentowanym w publikacji „ATPase Valosin-Containing Protein (VCP) Is Involved During the Replication and Egress of Sialodacryoadenitis Virus (SDAV) in Neurons” Autorka wykazała, że zakażenie SDAV w neuronach zwiększa ekspresję białka zawierającego walozynę (VCP) posiadającego aktywność ATPazy. Zastosowanie inhibitora VCP (Eeyarestatyna

naukowych” jest nielogiczne. Jest odwrotnie, to artykuły składają się na rozprawę.

We „Wstępie”:

- Wielkość jednoniciowego RNA podana jest w jednostkach „kpz” oznaczających tysiące par zasad – uważam, że właściwsze jest określenie „nt” lub „knt” (liczba nukleotydów lub tysięcy nukleotydów).
- Wymieniając należące do poszczególnych rodzajów gatunki koronawirusów zakażających człowieka Autorka pominęła MERS-CoV. W mojej opinii, dla porządku, powinien on zostać uwzględniony.

Następnie Doktorantka sformułowała cele badawcze. Pierwszy z nich, czyli zbadanie mechanizmów interakcji MHV-JHM i SDAV z komórkami OUN *in vitro*, polega na określeniu efektów zakażenia komórek OUN przez ustalenie rodzaju i czasu pojawienia się efektu cytopatycznego, scharakteryzowaniu roli cytoszkieletu neuronów podczas przebiegu zakażenia MHV-JHM oraz uwalniania wirionów potomnych SDAV. Dwa kolejne cele dotyczyły określenia profilu wydzielanych cytokin i produkcji reaktywnych form tlenu przez astrocyty i mikroglej podczas zakażenia MHV-JHM i SDAV.

Uważam, że podjęcie tego typu badań jest ze wszech miar celowe i ma ogromny potencjał poznawczy. Badania te z jednej strony pozwalają poznać patogenezę objawów neurologicznych towarzyszących zakażeniom wirusowym oraz mechanizmów neurotropizmu, z drugiej strony mogą być pomocne w wyjaśnieniu etiologii wielu schorzeń neurologicznych. Należy tu również podkreślić odnotowane przez Panią mgr inż. Michalinę Marię Bartak zagrożenie wynikające z łatwości koronawirusów do przekraczania bariery gatunkowej i obecności, będącego naturalnym gospodarzem SDAV, szczura w bezpośrednim sąsiedztwie człowieka.

W tym miejscu nasunęło mi się pytanie o potencjał zoonotyczny mysiego wirusa zapalenia wątroby. Autorka podkreśla bowiem niebezpieczeństwo związane obecnością w środowisku człowieka szczurów jako gospodarzy SDAV, natomiast nie wspomina o występowaniu w naszym otoczeniu myszy zakażanych przez MHV. Jak to wytłumaczyć? Chciałabym, by Doktorantka odniosła się do tego pytania w dalszych etapach postępowania.

l) zaburzającego działanie VCP w szlaku degradacji białek związanych z retikulum endoplazmatycznym pozwoliło ustalić prawdopodobny udział tego białka w późniejszych etapach cyklu replikacyjnego.

Ostatnia w cyklu publikacji, praca zatytułowana „Cytokine Profile Analysis During Sialodacryoadenitis Virus and Mouse Hepatitis Virus JHM Strain Infection in Primary Mixed Microglia and Astrocyte Culture-Preliminary Research” stanowi „swoiste porównanie natury obu wirusów”. Wartością pracy jest scharakteryzowanie wpływu zakażenia szczepem MHV-JHM i SDAV na pierwotną hodowlę mikrogleju i astrocytów wyrażonego produkcją ROS, ekspresją cytokin i chemokin oraz zdolnością indukowania śmierci komórek w ciągu miesiąca po zakażeniu. Zaobserwowana zwiększona produkcja cytokin prozapalnych i zahamowana produkcja cytokin przeciwzapalnych w mikrogleju i astrocytach zakażonych MHV-JHM i SDAV może leżeć u podstaw nasilonej odpowiedzi zapalnej, tzw. „burzy cytokinowej” w trakcie przebiegu zakażenia koronawirusami.

W trakcie analizy publikacji włączonych do rozprawy doktorskiej zwróciłam uwagę na bardzo staranne i dobrze przemyślane przygotowanie i przeprowadzenie eksperymentów. Prace odznaczają się znaczną oryginalnością i są niezwykle interesujące pod względem poznawczym.

W rozdziale „Dyskusja”, niezwykle interesującej i bardzo dobrze „czytającej” się części pracy, Doktorantka umiejętnie konfrontuje uzyskane przez siebie wyniki z danymi prezentowanymi przez innych autorów. Sposób poprowadzenia dyskusji, formułowane obserwacje, opisy i wyjaśnienia zaobserwowanych zjawisk świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki i zrozumieniu badanych zagadnień.

Doceniając osiągnięcia Doktorantki, z obowiązku recenzenta muszę przedstawić drobne uwagi dotyczące tej części pracy:

- Na stronie 45 zdanie zaczynające się od „Jedynie w warunkach laboratoryjnych poprzez zwiększenie...” ma nieprawidłową składnię.
- Nie znalazłam rozwinięcia użytego na stronie 48 skrótu DMV.
- Użyte na stronie 49 sformułowanie „poprawna homeostaza” w mojej opinii pleonazm.

W rozdziale „Podsumowanie i Wnioski” Pani mgr inż. Michalina Maria Bartak podkreśla znaczenie wyników przeprowadzonych badań w odniesieniu do koncepcji „Jednego Zdrowia”, której jedną z zasad jest zapobieganie chorobom odzwierzęcym. Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka sformułowała 6 wniosków.

Dysertację kończy „Bibliografia” obejmująca 129 publikacji i 2 strony internetowe.

Po przeanalizowaniu przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej stwierdzam, że spełnia ona warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.) oraz zasad określonych w Uchwale Nr 89–2022/2023 Senatu SGGW z dnia 26 czerwca 2023 roku w sprawie uchwalenia Regulaminów przeprowadzania postępowań w sprawie nadania stopnia doktora w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie i wnioskuję do Rady Dyscypliny Weterynarii SGGW o dopuszczenie mgr inż. Michaliny Marii Bartak do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Jednocześnie biorąc pod uwagę nowatorski charakter i wysoki poziom badań będących podstawą przedstawionej mi do recenzji Dysertacji wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Michaliny Marii Bartak.

ADIUNKT BADAWCZO-DYDAKTYCZNY
Katedry i Zakładu Mikrobiologii
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

dr hab. n. med. Jolanta Bratosiewicz-Wąsik

Jolanta Bratostejna-Wsik
ul. 200 Sosnowa
ul. Jagiellońska 11



Biuro Obsługi Nauki
Sakotia Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
02-787 Warszawa
ul. Nowoursynowska 166

R

(00)359007734972505325



(00)359007734972505325



Poczta Polska

Opłata pobrana

9 zł 00 gr

2023



RPU/19757/2025 N

Nata: 2025-07-21