

Lublin 16.11.2025

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pana mgr. inż. Rafała Nowaka

pt.: „Nowe strategie przeciwwirusowe oparte o hamowanie procesu wnikania wirusów do wnętrza komórki, na przykładzie SARS-CoV-2 i wirusa grypy typu A”

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska została wykonana pod kierownictwem naukowym Pani prof. dr. hab. Elżbiety Kierzek w Zakładzie Wirusologii Molekularnej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu. Promotorem pomocniczym był Pan dr Paweł Zmora.

Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi pismo Sekretarza Rady Naukowej IChB PAN dr Joanny Banasiak z dnia 29.09.2025 r. powołujące się na decyzję Rady Naukowej IChB PAN z dnia 12.09.2025 r. w sprawie powołania mnie na recenzenta w przewodzie doktorskim mgr. inż. Rafała Nowaka.

Przedstawiona rozprawa doktorska stanowi cykl trzech oryginalnych publikacji naukowych opublikowanych w latach 2023-2024 w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR), i są to:

1. Pawełczyk A., **Nowak R.**, Gazecka M., Jelińska A., Zaprutko L., Zmora P. „Novel Molecular Consortia of Cannabidiol with Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Inhibit Emerging Coronaviruses’ Entry”, *Pathogens*. 2023, 12(2), 205 (IF₂₀₂₃: 3.745, MEiN: 100).
2. **Nowak R.**, Gazecka M., Hoffmann M., Kierzek R., Pohlmann S., Zmora P. “TMPRSS2-specific antisense oligonucleotides inhibit host cell entry of emerging viruses”. *Virology*. 2024, 487, 19-29. (IF₂₀₂₄: 4.100, MEiN: 100).
3. Biegański P., Gazecka M., **Nowak R.**, Gorski A., Dutkiewicz N., Kawano D.F., Zmora P., Kowalski K. “Organometallic-Erlotinib Conjugates Active against Lung

Cancer Cells and as Emerging Virus Entry Inhibitors". 2024, 43(2), 45-57. (IF₂₀₂₄: 3.129, MEiN: 100).

Łączna wartość tych publikacji wg listy czasopism punktowanych MEiN wynosi 300 pkt, zaś wartość współczynnika IF wg listy JCR – 10.974. W dwóch z wymienionych prac mgr inż. Rafał Nowak jest pierwszym autorem, w trzeciej - znajduje się na miejscu trzecim na liście autorów. Złożone oświadczenia pozostałych współautorów oraz odpowiednie zapisy w przedstawionych publikacjach są dowodem na dominujący udział Doktoranta w powstaniu tych prac. Ponadto, Autor przedstawia wykaz sześciu innych, niezwiązanych z rozprawą doktorską prac w realizacji których uczestniczył, o łącznym współczynniku oddziaływania IF = 30.917 (MEiN = 765 pkt) co świadczy o Jego wysokim zaangażowaniu w badania prowadzone przez macierzystą jednostkę.

Rozprawa doktorska, której podstawą są wyżej wymienione artykuły obejmuje streszczenie w języku polskim i angielskim oraz jest uzupełniona komentarzem (autoreferatem) liczącym 80 stron, w którym mgr inż. Rafał Nowak przedstawia wstęp teoretyczny naświetlający podstawę Jego badań, wyjaśnia problem badawczy opisany w publikacjach, poddaje dyskusji otrzymane wyniki oraz podsumowuje najważniejsze wnioski płynące z tych prac.

Wartość naukowa rozprawy doktorskiej

Wraz z pandemią Covid-19 wzrosła świadomość na temat leków przeciwwirusowych. Pandemia uzmysłowiła też, jak niewielkim arsenałem tych leków dysponujemy – tylko dla 5% z ponad 200 patogennych wirusów. Niektóre z nich pomagają eradykować wirusa z organizmu, lecz większość ma za zadanie go kontrolować (np. w przypadku HIV czy herpeswirusów), a przez to wpływać na łagodzenie objawów chorobowych.

Chociaż najważniejsza jest profilaktyka, to skuteczność szczepionek nie zawsze jest zadowalająca. Ponadto, dla wielu patogenów tych szczepionek nie ma. Dlatego terapia przeciwwirusowa jest i będzie doskonałym uzupełnieniem, a wobec niektórych wirusów jedyną alternatywą.

Wprowadzenie na rynek nowych leków przeciwwirusowych jest nie tylko niezmiernie kosztownym, ale też długotrwałym procesem. Dlatego sugerowane są dwa podejścia (i) badanie zakresu działania już obecnych leków wobec nowych patogenów (przykład SARS-

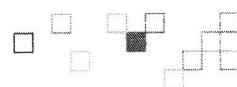
CoV-2 pokazał, że to podejście nie zawsze się sprawdza), (ii) projektowanie takich leków, które miałyby szeroki zakres działania (jak np. rybawiryna). Aby jednak zaprojektować skuteczny lek, należy dokładnie poznać mechanizm replikacji wirusa, wykorzystywane przez niego szlaki wewnątrzkomórkowe oraz odpowiedź samej komórki. Stąd, są trzy ogólne kategorie specyfików mogących chronić przed rozwojem infekcji - oddziałujące na wirusa, na receptory komórkowe lub modyfikujące wewnątrzkomórkowe szlaki konieczne do efektywnej replikacji patogenu.

Ponieważ w materiale genetycznym wirusa zmiany zachodzą szybko, coraz częściej uznanie zyskują dwie ostatnie wymienione strategie pozyskiwania nowych leków przeciwwirusowych. W tym kontekście doskonale mieści się cel pracy doktorskiej Pana mgr. inż. Rafała Nowaka, którym było opracowanie różnych strategii przeciwwirusowych opartych o hamowanie procesu wnikania wirusów do wnętrza komórki na przykładzie wirusa grypy typu A i SARS-CoV-2.

Pan mgr inż. Rafał Nowak we wprowadzeniu teoretycznym dokonuje szczegółowej charakterystyki wirusa grypy typu A oraz koronawirusa SARS-CoV-2 skupiając się nie tylko na ich budowie, ale przede wszystkim na przebiegu cyklu replikacyjnego. Część wprowadzenia poświęcona jest strategiom przeciwwirusowym nakierowanym na wirusy RNA i DNA, czyli oligonukleotydów antysensownym, mikroRNA oraz technologii CRISPR/Cas.

Publikacja 1

Jednym z kierunków pozyskiwania leków przeciwwirusowych jest badanie już istniejących związków na wypadek wykrycia ich nowych właściwości. Jest to kierunek, który znacząco skraca czas wprowadzenia takiego preparatu ze względu na już istniejące badania bezpieczeństwa. Co więcej, można łączyć związki, aby pozyskać produkt o potencjalnie nowych właściwościach. W tę stronę skierowana jest pierwsza publikacja Pana mgr. inż. Rafała Nowaka - jest ona poświęcona porównawczemu badaniu aktywności przeciwwirusowej nowych konjugatów kannabidiolu (CBD) z niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi (NLPZ), jak ibuprofenem, ketoprofenem i naproksenem. Wykorzystano model komórek in vitro oraz wirus grypy typu A i pseudotypy wirusa VSV zawierające białka S dwóch koronawirusów; SARS-CoV-1 i SARS-CoV-2. W przeciwieństwie do wirusa grypy,



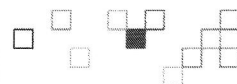
w przypadku obydwu koronawirusów skuteczny okazał się konjugat CBD-naproksen, który powodował hamowanie wnikania wirusów do komórek. Czym Autor tłumaczy tę różnicę wrażliwości na konjugat CBD-naproksen wirusa grypy A i koronawirusów? Jak słusznie zaznacza Pan mgr inż. Rafał Nowak konieczne są dalsze badania nowych konjugatów, zwłaszcza z wykorzystaniem modeli zwierzęcych.

Publikacja 2

Ze względu na wysoką zmienność wirusa grypy A i koronawirusów, należy przypuszczać, że będą powstawały szczepy odporne na działanie dotychczasowych leków przeciwwirusowych. Dlatego zwraca się uwagę na możliwość hamowania interakcji między wirusem a komórką gospodarza poprzez oddziaływanie na receptory komórkowe rozpoznające wirusa, Przykładem jest TMPRSS2, białko odpowiedzialne za proteolityczne cięcie hemaglutyniny wirusa grypy A oraz białka S koronawirusów, co jest niezbędnym wstępem do wtargnięcia wirusów do komórki. Jednocześnie Autor zwraca uwagę, że konieczne jest użycie inhibitorów TMPRSS2 o wysokiej specyficzności, jak na przykład oligonukleotydów antysensownych (ASO). W przedstawionej pracy zaprojektowano dziewięć takich ASO, które w warunkach in vitro powodowały obniżenie się ekspresji białka TMPRSS2. Konsekwencją było blokowanie możliwości penetracji komórki przez wirusa grypy A i pseudotypy wirusa VSV z wyrażanymi białkami S wirusów SARS-CoV-1 i SARS-CoV-2. Są to wysoce obiecujące wyniki, gdyż użycie ASO może ominąć zmienność wirusów, a tym samym utrzymać zdolność blokady replikacji wirusów oddechowych we wrażliwych komórkach.

Publikacja 3

Kolejnym kierunkiem badań w poszukiwaniu nowych leków przeciwwirusowych jest możliwość modyfikacji już istniejących preparatów, dzięki czemu można zwiększyć skuteczność leku i jednocześnie próbować ominąć spadek wrażliwości wirusów na terapię. Pan mgr inż. Rafał Nowak kontynuował ideę hamowania wnikania wirusów do komórek poprzez oddziaływanie na receptory komórkowe, jak EGFR, receptor nabłonkowego czynnika wzrostu, który może pośrednio wspierać penetrację wirusów poprzez regulację dynamiki błony komórkowej, a tym samym endocytozy. Do badań został wybrany erlotynib, drobnocząsteczkowy inhibitor kinazy tyrozynowej EGFR, zatwierdzony w leczeniu



niektórych nowotworów badany także jako potencjalny lek przeciwko SARS-CoV-2. W modelu in vitro Pan mgr inż. Rafał Nowak wykorzystał kilka konjugatów erlotynibu z wybranymi ugrupowaniami organometalicznymi w celu określenia ich aktywności przeciwnowotworowej i przeciwwirusowej na przykładzie wirusa grypy A i pseudotypów wirusa VSV z wyrażanymi białkami S wirusów SARS-CoV-1 i SARS-CoV-2. Wyniki wskazały na koniugat rutenocenyłowy 5 z erlotynibem, jako ten, który zmniejszał miano wirusa grypy A i znacząco obniżał wnikanie koronawirusów do komórek. Mam jednak niedosyt w wyjaśnieniu oddziaływania badanych konjugatów w kontekście receptora EGFR.

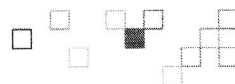
Podsumowując część badawczą chcę podkreślić jej wysoki poziom naukowy i nowatorski aspekt, zwłaszcza w kontekście projektowania oligonukleotydów antysensownych i nowych metaloorganicznych konjugatów z już stosowanymi lekami. Jest to o tyle istotne, że naukowcy nie są w stanie nadążyć za zmieniającymi się wirusami z nowymi propozycjami działania. Dlatego badania Pana mgr. inż. Rafała Nowaka doskonale wpisują się w ten trend i stanowią silną podstawę do ich kontynuacji na modelach zwierzęcych – sprawdzenia efektu przeciwwirusowego i dawkowania nowych ASO i konjugatów metaloorganicznych.

Należy podkreślić fakt zastosowania przez Doktoranta we wszystkich pracach szerokiego wachlarza metod w dążeniu do realizacji celów badawczych – świadczy to o Jego bogatym warsztacie metodycznym i wysokich umiejętnościach.

Oryginalne prace badawcze stanowiące podstawę prezentowanej pracy doktorskiej były już poddane wcześniejszej ocenie przez redakcje czasopism i niezależnych recenzentów. Z tego względu moja ocena, poza podkreśleniem wysokiej wartości naukowej owych prac, dotyczy Autoreferatu będącego autorskim opracowaniem Pana mgr. inż. Rafała Nowaka.

Ocena merytoryczna Autoreferatu

Na Autoreferat składa się poprzedzony streszczeniem w języku polskim i angielskim Wprowadzenie teoretyczne stanowiące wstęp do tematyki badań własnych. W szerokim opisie przedstawiono dwa powszechnie występujące wirusy oddechowe; wirus grypy typu A i koronawirusa SARS-CoV-2, ze szczególnym uwzględnieniem roli receptorów tych wirusów w penetrowaniu komórek docelowych. Kilka stron poświęcono na omówienie strategii



przeciwwirusowych wobec wirusów RNA i DNA z uwzględnieniem aktualnych oczekiwań i wyzwań stojących przed naukowcami.

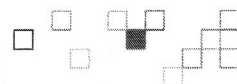
W opisie części badawczej Autor szczegółowo opisał każdą z publikacji stanowiących podstawę dysertacji. Na końcu Autoreferatu Doktorant umieszcza Dyskusję poświęconą strategiom przeciwwirusowym i umiejętnie wplata w nie wyniki swoich badań. Dyskusję kończą Wnioski, a dalej umieszczono wykaz skrótów, bibliografię, oświadczenia współautorów prac będących podstawą rozprawy doktorskiej oraz kopie tych prac.

Do Autoreferatu mam jednak kilka uwag:

- wstęp powinien koncentrować się na wirusie grypy i SARS-CoV-2 – uważam, że omawianie wirusa HIV w kontekście tematyki dysertacji jest zbędne
- napisał Pan – “zakażenia tymi wirusami [koronawirusami] nie zapewniają długotrwałej ochrony organizmu i często się powtarzają” Stąd moje pytanie - jak długo trwa odporność człowieka na koronawirusy i jak często dochodzi do reinfekcji?
- str. 13 – proszę o szersze wyjaśnienie, dlaczego SARS-CoV-1 ustąpił, a SARS-CoV-2 nie zniknął pomimo propagowania szerokich środków zaradczych?
- str 15 – odnośnie nazwy szczepu wirusa grypy A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) – co oznacza liczba “34”?
- po rycinami nie podano z jakiego program korzystano – jeśli był to BioRender.com, należało zgodnie z polityką firmy taką informację podać razem z datą dostępu.
- str. 27 - na rycinie 2 można było jeszcze umieścić endocytozę niezależną od klatryny i kaweoliny.

Podsumowanie recenzji

Przedstawiona mi do recenzji praca stanowi oryginalne i nowatorskie opracowanie dotyczące nowych potencjalnych leków przeciwwirusowych opierających się nie tylko na oddziaływaniu z receptorami wirusowymi, ale też receptorami komórkowym rozpoznawanymi przez wirusy. Wiedza ta może w przyszłości przyczynić się do rozszerzenia repertuaru tych leków, w obliczu nielicznej grupy podobnych preparatów i zagrożenia wytwarzania wobec nich oporności przez patogeny. Warta uwagi podkreślenia jest ścisła współpraca z Katedrą Chemii Organicznej Uniwersytetu Łódzkiego w zakresie pozyskiwania



nowych metaloorganicznych konjugatów erlotynibu o potencjalnej aktywności przeciwwirusowej. Pragnę w tym miejscu zaakcentować także profesjonalne podejście eksperymentalne Doktoranta i różnorodność stosowanych metod w zakresie badań wirusologicznych. Na szczególną uwagę zasługuje fakt upowszechnienia przez mgr. inż. Rafała Nowaka wyników swojej pracy doktorskiej i innych prac nie będących podstawą rozprawy w renomowanych czasopismach z listy JCR na łączną sumę 41.891 IF i 1 065 pkt. MEiN.

Jednocześnie nadmieniam, iż przedstawione w recenzji nieliczne uwagi nie pomniejszają merytorycznej wartości pracy.

Wnioski końcowe

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.) oraz w Sposobie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu (uchwała Rady Naukowej ICHB PAN nr 40/2025/Internet/RN_140 z dnia 18 marca 2025 r.) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN o dopuszczenie mgr. inż. Rafała Nowaka do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Katedra
Wirusologii i Immunologii UMCS

prof. dr hab. Agnieszka Szuster-Ciesielska

Prof. dr hab. Agnieszka Szuster-Ciesielska

