

Katowice, 07.11. 2024 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej na stopień doktora  
w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscyplinie nauki biologiczne,  
mgr Dagny Lorent pt: „Analiza poziomu przeciwciał po zakażeniu SARS-  
CoV-2 albo szczepieniu przeciwko COVID-19 w populacji wielkopolskiej w  
latach 2020-2022”.**

**Kierownik  
Katedry i Zakładu  
Mikrobiologii Lekarskiej**

**Prof. dr hab. n. med.  
Tomasz J. Wąsik**

Wydział Nauk Medycznych w Katowicach  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego

ul. Medyków 18  
40-752 Katowice

tel.: (+48 32) 208 85 50

[twasik@sum.edu.pl](mailto:twasik@sum.edu.pl)

[mikrobiologia@sum.edu.pl](mailto:mikrobiologia@sum.edu.pl)

Oceniana rozprawa powstała w Zakładzie Wirusologii Molekularnej Instytutu Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu pod kierownictwem naukowym Pani dr hab. Luzy Handschuh, prof. ICHB PAN pełniącej funkcję promotora i pod opieką promotora pomocniczego dr Pawła Zmory.

Przedstawiona mi do oceny dysertacja obejmuje badania opublikowane w czterech oryginalnych artykułach naukowych powstałych dzięki finansowaniu ze środków Narodowego Centrum Nauki – subwencji nr UMO-2020/01/0/NZ6/00152 i UMO/2018/31/F/NZ1//03891 oraz funduszy Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN.

We wszystkich publikacjach Pani mgr Dagny Lorent jest pierwszym autorem i, jak wynika z załączonych oświadczeń oraz informacji umieszczonych w poszczególnych publikacjach, jej wkład w ich powstanie był znaczny, choć nie wiodący, co na tym poziomie rozwoju naukowego nie jest wymagane. Łączny współczynnik oddziaływania IF prezentowanego cyklu prac będących podstawą ocenianej rozprawy wynosi – 23.161 przy punktacji MNiSW – 560. Szkoda tylko, że wszystkie prace cyklu zostały opublikowane tylko w jednym czasopiśmie, Vaccines, wydawnictwa MDPI, co w opinii piszącego te słowa znacznie ogranicza zarówno rozwój warsztatu redagowania prac naukowych jak i zasięg ich oddziaływania.

Doktorantka postanowiła przyjąć następujący układ swojej dysertacji: część merytoryczną poprzedza wykaz prac wchodzących i niewchodzących w skład rozprawy, Streszczenie w języku polskim i angielskim poprzedza Wprowadzenie, w którym po krótkiej charakterystyce ludzkich koronawirusów HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-

CoV-1 i MERS-CoV, przechodzi do bardziej szczegółowej charakterystyki SARS-CoV-2 i jego oddziaływania z układem immunologicznym w kontekście szczepionek przeciwko temu wirusowi. Sądzę, że Wprowadzenie powinno mieć inaczej rozłożone akcenty, z omawiania wszystkich koronawirusów można było zrezygnować, gdyż nie mają one związku z tematem pracy, natomiast część poświęcona reakcji układu immunologicznego na zakażenie SARS-CoV-2 i zróżnicowaniu odpowiedzi immunologicznej w COVID-19 powinna zostać rozbudowana, szczególnie o rolę limfocytów Th CD4+ w rozwoju antygenowo-swoistej odpowiedzi immunologicznej, zarówno typu humoralnego, jak i komórkowego.

W tej części pracy Pani mgr Lorent nie uniknęła pewnych błędów redakcyjnych, które jednak nie obniżają w sposób istotny wartości merytorycznej, ale Doktorantka powinna się ich w przyszłości wystrzegać, i tak na przykład:

- str.5 „po kilku dniach został opublikowany pierwszy genom nowego wirusa uznanego za czynnik chorobotwórczy u pacjentów z Wuhan” – winno być: opublikowano pierwszorzędną strukturę genomu, lub prościej poznano sekwencję nukleotydową genomu.
- str. 8 „nie jest jasne czy koronawirusy zwierzęce są przodkami pandemicznego koronawirusa, ani czy ich gospodarze pełnią rolę rezerwuaru SARS-CoV-2” – nie mogę zgodzić się z tym stwierdzeniem, najnowsze dane wskazują, że SARS-CoV-2 jest pochodzenia zwierzęcego i że wirus został zawleczony do targu mokrego w Wuhan (Genetic tracing of market wildlife and viruses at the epicenter of the COVID-19 pandemic. Crits-Christoph, Alexander et al. Cell, Volume 187, Issue 19, 5468 - 5482.e11). Jednakże nie wiemy czy SARS-CoV-2 jest wynikiem selekcji naturalnej w organizmie nietoperza i transferu zoonotycznego na człowieka, czy selekcji naturalnej w organizmie człowieka po transferze zoonotycznym.
- str.11 „Podobnie jak w przypadku innych HCoV, białko S jest głównym celem opracowywanych leków i szczepionek [43-45]. Spośród różnych etapów cyklu replikacyjnego SARS-CoV-2, etap wnikania jest jednym z najbardziej atrakcyjnych celów terapeutycznych nie tylko ze względu na inicjację infekcji, ale również dlatego, że receptory komórkowe i białka zaangażowane we wnikanie wirusa są dostępne w przestrzeni zewnątrzkomórkowej” – zgoda jeżeli chodzi o szczepionki, jednakże nie mogę się zgodzić co do leków. Leki stosowane w terapii COVID-19 są inhibitorami wirusowej proteazy (Nirmatrelwir-rytonawir) lub terminatorami syntezy łańcucha podczas replikacji genomu RNA (Remdesiwir). Natomiast stosowanie Sotrovimabu, przeciwciała monoklonalnego, ukierunkowanego przeciw konserwatywnym epitopom białka kolca SARS-CoV-2 jest obecnie silnie niezalecane.

– str. 17 – „Odpowiedź przeciwwirusowa jest wzmacniana przez ekspresję interferonów typu I skutkującą m.in. powstaniem stanu przeciwwirusowego i produkcją genów stymulowanych interferonem.” Niefortunnie zbudowane zdanie – geny nie są produkowane pod wpływem INF, w tym procesie dochodzi do zmiany ekspresji genów i syntezy białek zależnych od IFN.

– str.17 – „Polega ona na proliferacji swoistych limfocytów B i T, do której dochodzi, gdy receptory powierzchniowe tych komórek wiążą się z antygenami wirusowymi” Limfocyty te nie rozpoznają antygenów wirusowych. Antygeny te muszą być procesowane w komórkach APC i ich epitopy prezentowane na MHC II dla limfocytów CD4+ i na MHC I dla limfocytów CD8+. Dopiero w tej formie rozpoznawane są przez TCR.

– str. 26 – co prawda nie jest to część wprowadzenia, ale wiąże się z immunologią zakażenia: „Jednak w żadnym przypadku nie zaobserwowano serokonwersji przeciwciał klasy IgA w IgG”, nie zaobserwowano, bo nie ma takiego procesu jak „serokonwersja przeciwciał klasy IgA w IgG”, mam nadzieję, że jest to jedynie niefortunne sformułowanie i Doktorantce chodziło o przetłoczenie klas przeciwciał w trakcie rozwoju odpowiedzi immunologicznej.

Paragraf 4.4. który w mojej opinii winien stanowić główną część Wprowadzenia, gdyż wiąże się bezpośrednio z tematyką rozprawy, winien być napisany z większą starannością.

Za cel swoich badań Doktorantka postawiła sobie poznanie odpowiedzi obronnej organizmu na zakażenie SARS-CoV-2 albo szczepienie przeciwko COVID-19. Cel ten postanowiła osiągnąć poprzez: zbadanie seroprewalencji zakażeń SARS-CoV-2 w populacji Wielkopolski w latach 2020-2022 oraz identyfikację czynników ryzyka zakażenia SARS-CoV-2; określenie poziomu przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 w czasie po zakażeniu SARS-CoV-2 albo po szczepieniach przeciwko COVID-19 i identyfikację czynników wpływających na poziom przeciwciał klasy IgG przeciwko SARS-CoV-2.

Uważam podjęcie tego typu badań za ze wszech miar celowe i mające duży potencjał poznawczy. Stanowi bowiem jedną z istotnych metod szacowania dynamiki epidemii. Należy jednakże zaznaczyć, iż kluczowym czynnikiem limitującym wartość otrzymanych wyników w badaniach populacyjnych, a tym samym ich reprezentatywność, jest wielkość próby badanej. W prezentowanym cyklu prac jedynie publikacja pierwsza wydaje się spełniać kryterium reprezentatywności. Do tego problemu odniosę się w dalszej części recenzji, gdyż w żadnej z prezentowanych prac nie znalazłem obliczeń szacujących minimalną liczebność próby badanej lub przynajmniej określenia post factum mocy stosowanych testów. Chciałbym, by Doktorantka odniosła się do tego problemu w dalszych etapach postępowania.

W kolejnych rozdziałach swojej dysertacji Pani mgr Dagny Lorent dokonuje syntetycznego opisu poszczególnych artykułów wchodzących w skład swojej rozprawy doktorskiej. Z przyczyn oczywistych nie zamierzam recenzować poszczególnych prac, ponieważ ten etap badania Doktorantki już przeszedł przed ich publikacją. Doceniając wysiłek Pani Magister i jej wkład w powstanie zaprezentowanej mi do oceny dysertacji chciałbym podzielić się kilkoma uwagami i wątpliwościami mając nadzieję, iż Doktorantka rozwieje je w dalszych etapach przewodu doktorskiego.

Za szczególnie cenne i reprezentatywne uważam określenie w publikacji „Prevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies in Poznań, Poland, after the first wave of the COVID-19 pandemic” częstości występowania przeciwciał p. SARS-CoV-2 w badanej populacji w pierwszej fali pandemii na 0.93% , a odsetka osób, które miały kontakt z wirusem bez objawów klinicznych na 35,71%, co jednoznacznie wskazuje na istotną rolę bezobjawowych nosicieli w dynamicznym rozwoju pandemii i istotności obostrzeń sanitarno-epidemiologicznych.

W pracy “The longitudinal analysis on the anti-SARS-CoV-2 antibodies among healthcare workers in Poland—before and after BNT126b2 mRNA COVID-19 vaccination” na podstawie badania porównawczego dwóch grup o małej liczebności (50 vs. 40) wykazano, że pracownicy medyczni mający częstszy kontakt z pacjentami chorymi na COVID-19 nie byli bardziej narażeni na zakażenie SARS-CoV-2 niż pracownicy medyczni mający mniejszą styczność z pacjentami chorymi na COVID-19, oraz że poziom przeciwciał po zakażeniu SARS-CoV-2 jest tym większy, im cięższy jest przebieg zakażenia. Czym Pani tłumaczy to zjawisko?

W pracy „Differences in BNT126b2 and ChAdOx1 homologous vaccination antibody response among teachers in Poznań, Poland” badana populacja nauczycieli była jeszcze mniej liczna i obejmowała 81 nauczycieli. W pracy tej wykazano, że po zaszczepieniu przeciwko COVID-19 wyższe miana przeciwciał klasy IgG przeciwko białku S SARS-CoV-2, a jednocześnie ich szybsze zanikanie występowały u osób zaszczepionych szczepionką BNT126b2 w porównaniu z osobami szczepionymi szczepionką ChAdOx.

Wyniki, które stanowiły podstawę artykułu “Anti-SARS-CoV-2 antibodies level and COVID-19 vaccine boosters among healthcare workers with the highest SARS-CoV-2 infection risk – follow up study” jak sama nazwa wskazuje są kontynuacją badań wśród pracowników medycznych w uprzednio badanej populacji pracowników medycznych, która skurczyła się niestety do 69 osób dotyczyły określenia skuteczności szczepień w populacji o wysokim prawdopodobieństwie kontaktu z wirusem (celowo nie używam określenia Doktorantki „pracownicy medyczni z wysokim ryzykiem zakażenia SARS-CoV-2”). W mojej ocenie z pracy tej

płynie bardzo istotny, a niestety mało pocieszający wniosek, że pracownicy medyczni w ok. 50% się nie szczepią, jeżeli nie muszą. To niekorzystne zjawisko obserwowane jest również w odniesieniu do wszczepialności grypy.

Do powyższych prac, z wyjątkiem pierwszej, mam uwagi co do reprezentatywności badań:

- czy liczebność grup badanych upoważnia Doktorantkę do odniesienia obserwacji na cały personel medyczny lub grono pedagogiczne Poznania?
- czy przed rozpoczęciem badań szacowano docelową wielkość próby?
- ponieważ prezentowane w pracy wyniki poziomu przeciwciał wykazywały bardzo duży rozrzut, czy przeprowadzono analizę post factum mocy stosowanych testów?
- jakie były kryteria włączenia i kryteria wykluczenia przy tworzeniu badanych grup.

Chciałbym podkreślić, że moje zastrzeżenia metodologiczne do przeprowadzonych badań są jeszcze do zaakceptowania na tym etapie kariery naukowej Doktorantki, jednakże, jeżeli nie zostaną wyeliminowane, mogą w przyszłości stanowić poważną przeszkodę w zdobywaniu kolejnych stopni i tytułów naukowych.

Chciałbym również by Pani Magister ustosunkowała się do następujących kwestii:

- str 26: „Fałszywie dodatnie wyniki testu ELISA stwierdzono głównie wśród uczestników w wieku od 18 do 33 lat, a także u osób z przewlekłymi chorobami układu autoimmunologicznego i oddechowego.” - czym Pani tłumaczy to zjawisko?

- str. 30: „Poziom przeciwciał był wyższy u osób wcześniej zakażonych SARS-CoV-2, a im cięższe objawy towarzyszyły zakażeniu SARS-CoV-2 tym więcej obserwowano przeciwciał.” - W związku z tym jaka według Pani jest wartość protekcyjna badanych przeciwciał. Czy określała Pani właściwości neutralizujące oznaczanych przeciwciał?

Następny i zdecydowanie najlepiej napisany rozdział dysertacji stanowi Dyskusja, w której Doktorantka poddaje krytycznej analizie otrzymane przez siebie wyniki oraz porównuje je z danymi literaturowymi. Lektura Dyskusji przekonała mnie do sformułowania wniosku końcowego mojej recenzji. Tu Pani mgr Dagny Lorent rozwinęła skrzydła i wykazała się dobrą znajomością literatury, umiejętnością wnioskowania i krytycznym podejściem do swoich badań, choć wykazuje charakterystyczną dla młodych naukowców tendencję do ich nadinterpretacji. Sugerowałbym jedynie, by w przyszłości w tego typu badaniach umieszczała formułkę „w badanej populacji” i przy tak małej liczebności prób w dużym rozrzucie otrzymanych wyników była ostrożna w wysnuwanych wnioskach.

Rozdział Podsumowanie i Perspektywy Doktorantka prezentuje 7 szczegółowych obserwacji podsumowujących co stwierdzono, wykazano, ustalono i określono na podstawie przeprowadzonych badań. Zawarte w tym rozdziale treści są w zasadzie powtórzeniem obserwacji zawartych w poprzednich rozdziałach recenzowanej dysertacji. Jako, że obserwacje nie są wnioskami, szkoda, że Doktorantka nie pokusiła się tu o dokonanie syntezy i wysnucia wniosków. Swój dalszy rozwój naukowy Pani mgr Dagny Lorent wiąże z analizą uwarunkowań genetycznych wpływających na transmisję oraz ciężkość przebiegu zakażenia SARS-CoV-2, co uważam za cel godny realizacji i mogący przynieść odpowiedzi na ważne pytania, a jako starszy kolega w nauce biorąc pod uwagę zmienność wirusa i różnorodność czynników osobniczych chciałbym Pani zwrócić uwagę, że dobór badanych parametrów i grupy badanej w tego typu badaniach jest kluczowy.

Dysertację kończy „Wykaz skrótów”, „Bibliografia”, wszelkie konieczne „Załączniki”, oraz wydruki oryginalnych publikacji.

Pomimo wszelkich moich zastrzeżeń i wątpliwości, które mam nadzieję Pani mgr Dagny Lorent rozwieje w trakcie publicznej obrony stwierdzam, że przedstawiona 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.), Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.) oraz w Sposobie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu (uchwała Rady Naukowej ICHB PAN nr 28/2024/Internet z dnia 20 marca 2024 r.) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN o dopuszczenie mgr Dagny Lorent do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

**Tomasz J. Wąsik**

Elektronicznie podpisany przez  
Tomasz J. Wąsik  
Data: 2024.11.07 18:41:26 +01'00'