

KATEDRA I ZAKŁAD TOKSYKOLOGII
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY
UNIwersytet MEDYCZNY W LUBLINIE
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jarosław Dudka

20-950 Lublin, ul. Jaczewskiego 8b, tel. +48 81448 74 00



Prof. dr hab. n. med. Jarosław Dudka

Lublin, dnia 25 kwietnia 2024 r.

OCENA

całości kształtu dorobku naukowego ze szczególnym uwzględnieniem monotematycznego cyklu 6 publikacji, stanowiącego podstawę nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne, pt.:

„Zastosowanie analizy metagenomicznej oraz sekwencjonowania następnej generacji (NGS) w diagnostyce zakażeń ośrodkowego układu nerwowego (OUN) człowieka”

dr n. med. Karola Perlejewskiego
z Zakładu Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych Wydziału Lekarskiego
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

I. Podstawa prawna sporządzenia recenzji

Na podstawie art. 221, ust. 5 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.), decyzją Rada Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 21.02.2024 r. (UCHWAŁA NR 141/2024) zostałem powołany na recenzenta w przewodzie habilitacyjnym dr n. med. Karola Perlejewskiego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Niniejsza ocena została opracowana na podstawie dokumentacji otrzymanej od Pani Magdaleny Kubuj z Działu Obsługi Rady ds. Nauki i Doktorantów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w dniu 15 marca 2024r.

Zgodnie z art. 219 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2020.85) stopień doktora habilitowanego nadaje się osobie, która:

- 1) posiada stopień doktora;
- 2) posiada w dorobku osiągnięcia naukowe albo artystyczne, stanowiące znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny, w tym co najmniej:
 - a) 1 monografię naukową wydaną przez wydawnictwo, które w roku opublikowania monografii w ostatecznej formie było ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. a, lub
 - b) 1 cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b, lub
 - c) 1 zrealizowane oryginalne osiągnięcie projektowe, konstrukcyjne, technologiczne lub artystyczne;
- 3) wykazuje się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

II. Podstawowe informacje o rozwoju zawodowym Kandydata

Pan dr n. med. Karol Perlejewski w 2016 r. uzyskał stopień doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna, specjalność biologia molekularna, nadany uchwałą Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (WUM), na podstawie rozprawy zatytułowanej: *Zastosowanie sekwencjonowania następnej generacji do identyfikacji czynników zakaźnych u chorych z zapaleniem mózgu o nieznannej etiologii.*

W 2009 roku uzyskał tytuł zawodowy licencjata analityki medycznej na Wydziale Farmacji WUM, a w 2011 roku tytuł zawodowy magistra analityki medycznej również na Wydziale Farmacji WUM. Po uzyskaniu stopnia doktora w latach 2016-2018 był zatrudniony jako technik – na stanowisku inżynierjno-technicznym w Zakładzie Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych WUM. Od 2018 roku do dziś pracuje na etacie adiunkta w tej samej jednostce.

Przed uzyskaniem stopnia doktora Kandydat opublikował oryginalne pełnotekstowe prace naukowe o łącznym IF 20,149 (255 pkt MEiN), natomiast po doktoracie prace o łącznym IF = 107,753 (2260 pkt MEiN) w tym prace poglądowe o IF = 9,264. Świadczy to o dynamicznym rozwoju naukowym Habilitanta, a o jakości opublikowanych prac świadczy współczynnik Hirscha wynoszący 12 i liczba cytowani 399.

III. Ocena osiągnięcia naukowego w rozumieniu art. 2019 ust. 1 pkt. 2b ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 ze zm.)

Osiągnięcie naukowe Kandydata stanowi cykl 6 oryginalnych publikacji powiązanych ze sobą tematycznie, opublikowanych w latach 2020-2023 o łącznym IF wynoszącym 20,955 i punktacji Ministerstwa Edukacji i Nauki wynoszącym 610 pkt.

Na sześć prac naukowych powiązanych tematycznie składających się na cykl, w pięciu pracach Kandydat jest pierwszym autorem, a w jednej ostatnim, co wskazuje na wiodącą rolę Kandydata w badaniach opublikowanych w tych artykułach. Temat cyklu: „Zastosowanie analizy metagenomicznej oraz sekwencjonowania następnej generacji (NGS) w diagnostyce zakażeń ośrodkowego układu nerwowego (OUN) człowieka” jest kontynuacją pracy doktorskiej, pt.: „Zastosowanie sekwencjonowania następnej generacji do identyfikacji czynników zakaźnych u chorych z zapaleniem mózgu o nieznannej etiologii.” Na podstawie załączonej dokumentacji trudno jest ocenić, czy w publikacjach cyklu habilitacyjnego nie pojawiły się wyniki badań z doktoratu, tym bardziej, że współautorem wszystkich prac jest promotor pracy doktorskiej Habilitanta. Biorąc jednak pod uwagę, że stopień doktora został przyznany Kandydatowi w 2016 roku, a pierwsze prace cyklu zostały opublikowane w 2020 roku wydaje się to możliwe, ale mało prawdopodobne.

Celem badań ujętych w cykl było opracowanie procedury metagenomicznej do identyfikacji wirusów wywołujących zakażenia OUN w oparciu o analizę DNA i RNA oraz wykorzystanie jej w różnych układach badawczych u pacjentów ze stanem zapalnym w OUN; Drugim celem badań było zastosowanie profilowania genu 16S rRNA w diagnostyce zapaleń OUN.

W publikacji pierwszej opublikowanej w czasopiśmie *Scientific Reports* przedstawiono procedury analiz metagenomicznych w próbkach płynu mózgowo-rdzeniowego w celu wykorzystania w diagnostyce wirusowych zakażeń OUN. Autorzy opracowali dwie niezależne procedury dedykowane analizie DNA lub RNA. Opracowane protokoły zostały wykorzystane do prowadzenia badań publikowanych w kolejnych artykułach cyklu. Problem, który rozwiązano w opracowanej procedurze, to zmniejszenie tła sekwencji ludzkich oraz bakteryjnych, które w istotny sposób wpływają na zagłuszanie sygnału poszukiwanych sekwencji wirusowych, stanowiących śladową część analizowanych całkowitych kwasów nukleinowych w próbce.

Metody izolacji prowadzono standardowo, jednak dopracowania wymagały techniki amplifikacji. W kolejnym etapie przeprowadzono analizę bioinformatyczną danych NGS. W tym przypadku uzyskane z analizy DNA i RNA sekwencje poddano algorytmowi uwzględniającemu ocenę jakościową uzyskanych odczytów NGS, a na jej podstawie także procedurze ich przycięcia oraz filtrowania. Odczyty były mapowane do genomu ludzkiego w celu pozbycia się tła genomowego gospodarza, co ma wpływ na szybszą i bardziej wydajną analizę docelowych sekwencji wirusowych. Uzyskane odczyty „niehumaniczne” były z kolei mapowane do wirusowych genomów referencyjnych pozyskanych z bazy RefSeq z platformy Genbank. Uzyskane wyniki mapowań były indeksowane, zliczane, katalogowane oraz wizualizowane przy użyciu różnego oprogramowania, w tym pakietu phyloseq, czy też programów takich jak Samtools i CLC Genomic Workbench (Qiagen, USA). W omawianej pracy dokonano oceny czułości wykrywania wirusów w opracowanych procedurach. W tym celu przygotowano kontrole zawierające wirusy (wirus zapalenia wątroby typu B; HBV oraz wirus ludzkiego niedoboru odporności; HIV) zawieszony w płynie mózgowo rdzeniowym z potwierdzonym molekularnie brakiem obecności HBV i HIV. Utworzone kontrole poddano niezależnym procedurom mNGS w oparciu o wyizolowane DNA i RNA, zgodnie z powyższym opisem. W wyniku przeprowadzonego badania wykazano, iż analiza RNA-mNGS umożliwiła wykrycie HIV w liczbie do 10², zaś w przypadku analizy DNA-mNGS wykryto do 10 kopii HBV na reakcję. W dalszej części badania procedurę metagenomiczną wykorzystano w analizie płynu mózgowo-rdzeniowego pobranego od pacjentów z klinicznym rozpoznaniem zapalenia mózgu, z enterowirusową etiologią zapalenia mózgu (zakażenie wirusem RNA) oraz od pacjentów z neuroinfekcją spowodowaną wirusem DNA: 13 pacjentów z HSV-1 oraz pojedyncze przypadki zakażeń cytomegalowirusem (CMV) lub wirusem ospy wietrznej i półpaśca (VZV). Obecność domniemanego patogenu w PMR stwierdzono u 17% przypadków zapalenia wywołanego wirusem RNA oraz u 28,6% pacjentów z zakażeniem wirusem DNA (pozytywne wyniki stwierdzono u pacjentów z opryszczkowym zapaleniem mózgu). Zaprezentowane w publikacji procedury analiz metagenomicznych wykazały przydatność w diagnostyce wirusowych zakażeń OUN, przy czym potwierdzono, iż obecnie stosowane swoiste metody molekularne w identyfikacji patogenów w PMR charakteryzują się większą czułością. Zaletą przedstawionych procedur metagenomicznych jest możliwość detekcji wielu potencjalnych patogenów. Zastosowana metoda może być tym samym istotnym wsparciem aktualnego i rekomendowanego modelu diagnostycznego, stosowanego w wirusowych zakażeniach OUN.

W drugim artykule cyklu, pt: "Search for viral agents in cerebrospinal fluid in patients with multiple sclerosis using real-time PCR and metagenomics" wykorzystano procedury opublikowane przez Autora we wcześniejszej pracy. Badania wpisują się w nurt tematyczny dotyczący poznania raczej etiologii, a nie jak podaje Kandydat w autoreferacie, patogenezы stwardnienia rozsianego (SM). Oprócz bakterii oraz grzybów, głównie wirusy takie jak wirus Epsteina-Barr (EBV), ludzki herpeswirus typu 6 (HHV-6), CMV, wirus *Torque teno* (TTV) czy też endogenne retrowirusy są najczęściej proponowanymi czynnikami zakaźnymi, które mogą mieć udział w indukcji demielinizacji oraz rozwoju stanu zapalnego w SM. W przebiegu badania, wykryto zakażenia OUN u pacjentów z potwierdzonym SM następującymi wirusami: HHV-6 (3 przypadki; 8.82%), EBV (2 przypadki; 5.88%), VZV (1 przypadek; 2.94%) oraz EV (1 przypadek; 2.94%). W przebiegu badania zidentyfikowano w grupie pacjentów z SM szereg wirusów już wcześniej opisywanych w literaturze w kontekście patogenezы SM. Większość z wykrytych wirusów należała do rodziny *Herpesviridae*. Szczególnie interesujące jest potwierdzenie zakażenia HHV-6 w trzech przypadkach, gdyż już wcześniej ten wirus był sugerowany jako możliwy czynnik patogenezы SM, głównie za sprawą swojego białka U24. Istotne jest także wykazanie obecności EBV u dwóch pacjentów z SM, szczególnie w perspektywie przełomowej pracy „Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis” opublikowanej w czasopiśmie *Science* w 2022 roku, gdzie wykazano, iż przebyte zakażenie EBV 32-krotnie zwiększa ryzyko demielinizacji obserwowanej w SM. Zastosowana w pracy procedura metagenomiczna nie umożliwiła identyfikacji wirusów wcześniej potwierdzonych swoistą diagnostyką molekularną. Stan ten był prawdopodobnie spowodowany mniejszą czułością analizy metagenomicznej w porównaniu do czułości reakcji RT-PCR/PCR wykorzystywanych w diagnostyce OUN w próbach klinicznych. Dodatkowo otrzymane wyniki zasygnalizowały istnienie problemu zanieczyszczeń mNGS, definiowanych jako tło procedury, generowane z powodu użytych odczynników, niespecyficznych produktów amplifikacji, czy też błędów bioinformatycznych algorytmów użytych w analizie. Zaobserwowane zjawisko w tym, jak również i w kolejnych badaniach zostało opisane w pracy „Contamination Issue in Viral Metagenomics: Problems, Solutions, and Clinical Perspectives” (Jurasz H., Pawłowski T., Perlejewski K. *Frontiers in Microbiology*, 2021) nieujętej w cyklu tego osiągnięcia.

Kolejna praca jest analogiczna w odniesieniu do metodologii postępowania. Również i tutaj podjęto badania nad wirusowym czynnikiem w kontekście etiologii/patogenezы autoimmunologicznego zapalenia mózgu. Warto podkreślić relatywnie dużą liczebność pacjentów objętych badaniem. Grupa badana liczyła 200 pacjentów z podejrzeniem zapalenia mózgu, u których przeprowadzono kompleksową diagnostykę w kierunku obecności w PMR sześciu różnych przeciwciał charakterystycznych dla autoimmunologicznego zapalenia mózgu (AE). W przypadku

AE kluczowym elementem etiologii stanu zapalnego jest obecność autoprzeciwciał skierowanych przeciwko wybranym powierzchniowym, jak i wewnątrzkomórkowym antygenom neuronów. Epidemiologicznie AE stanowi od 4,2 do 7,9% przypadków wszystkich zapaleń mózgu. Pomimo licznych badań nadal nie wiadomo co jednoznacznie indukuje produkcję wspomnianych autoprzeciwciał, a tym samym generowanie stanu zapalnego w OUN. Wśród możliwych mechanizmów wymienia się m.in. udział wirusów w patogenezie choroby, sugerując ich możliwy destrukcyjny wpływ na neurony, czy też udział zjawiska mimikry antygenowej, związanej z białkami określonych gatunków (np. HSV). U wszystkich pacjentów z obecnością przeciwciał AE w PMR wykonano swoistą diagnostykę molekularną w kierunku najważniejszych wirusów zakazających OUN. Wykryte w badaniu wirusy mają dobrze udokumentowany (HSV-1 i EV), bądź też prawdopodobny (TTV) związek z patogenezą zapalenia mózgu. Tym samym wykrycie tych czynników u pacjentów z AE jest kolejnym ważnym głosem potwierdzającym możliwy udział tych wirusów w syntezie autoprzeciwciał, a tym samym ich prawdopodobny udział w patogenezie choroby.

W następnej pracy, pt.: “Patients with Infections of The Central Nervous System Have Lowered Gut Microbiota Alpha Diversity” przebadano skład mikrobioty jelitowej w odniesieniu do różnych etiologii zapaleń mózgu. Według Autora wcześniej nie badano flory jelitowej u pacjentów z neuroinfekcjami, w szczególności w odniesieniu do rodzaju patogenu wywołującego stan zapalny w OUN. W artykule przeprowadzono kompleksową ocenę flory bakteryjnej w oparciu o analizę markera molekularnego jakim jest gen kodujący podjednostkę 16S rRNA. Badania kału przeprowadzono na grupie 47 pacjentów z rozpoznaną neuroinfekcją oraz 20 osobowej grupie kontrolnej. W DNA uzyskanym z materiału biologicznego przeprowadzono sekwencjonowanie genu 16S rRNA, a następnie przeprowadzono analizę bioinformatyczną. Odczyty NGS zostały poddane m.in. ocenie jakościowej, „asemblacji *de novo*”, kategoryzacji do poszczególnych rang taksonomicznych, zliczeniu oraz analizie statystycznej. Na poszczególnych szczeblach taksonomii wykryto różne istotne zmiany liczebności bakterii, zarówno łącznie pomiędzy grupą pacjentów z neuroinfekcją, jak też określonymi typami zakażeń OUN a grupą kontrolną. W badaniu zaobserwowano m.in. zmniejszoną reprezentację *Clostridium*, *Anaerostipes*, *Lachnobacterium*, *Lachnospira*, oraz *Roseburia* u pacjentów z neuroinfekcją w odniesieniu do kontroli. Wyniki opublikowane w *Current Issues in Molecular Biology* po raz pierwszy potwierdziły istniejące różnice w składzie mikrobioty jelitowej u pacjentów z zakażeniem OUN, otwierając przy tym nową perspektywę badań związanych z określeniem czy zaistniałe obserwacje są konsekwencją danej choroby.

W pracy pt.: “Metagenomic search of viral coinfections in herpes simplex 1 encephalitis patients” opublikowanej w *Journal of NeuroVirology* zbadano możliwą obecność koinfekcji wirusowych w przebiegu zakażeń OUN. Dotychczas w literaturze opisano zaledwie kilka przypadków zakażeń mózgu, w których patogenezę stanu zapalnego była tłumaczona aktywnością więcej niż jednego patogenu. W tych badaniach płyn mózgowo rdzeniowy pobrano od hospitalizowanych pacjentów z potwierdzonym opryszczkowym zapaleniem mózgu (20 osób) w celu przeprowadzenia kompleksowej analizy mNGS. U wszystkich pacjentów obecność HSV-1 w PMR była potwierdzona reakcją RT-PCR. W wyniku przeprowadzonej analizy metagenomicznej (DNA-mNGS u 19 pacjentów; RNA-mNGS u 20 pacjentów) u poszczególnych pacjentów zidentyfikowano szereg potencjalnych wirusów innych niż HSV. A zatem badanie wykazało użyteczność mNGS w identyfikacji zakażeń mieszanych w OUN i wskazało szereg istotnych ograniczeń metody. Jakkolwiek, niniejsze badanie jest pierwszym na świecie, które prezentuje przypadek zakażenia OUN, gdzie pacjent ma potwierdzoną jednoczesną obecność w PMR HSV i EV. Do tej pory wykrywano jedynie zakażenia mieszane u pacjentów z neuroinfekcjami różnymi przedstawicielami *Herpesviridae*. Otrzymane wyniki kolejny raz poddają pod dyskusję potrzebę uwzględnienia w diagnostyce neuroinfekcji szerokiego panelu patogenów.

W ostatniej pracy pt.: “Enteroviral central nervous system infections in patients with Lyme neuroborreliosis” poddano weryfikacji obecność wirusowych zakażeń w OUN wśród pacjentów z neuroboreliozą. Jak podaje Autor temat możliwych współzakażeń wirusami innymi niż TBEV w przebiegu neuroinfekcji spowodowanej krętkami z rodzaju *Borrelia* nie został wcześniej zbadany. Zaproponowane badanie było o tyle istotne, iż część przypadków neuroboreliozy przebiega wraz z zapaleniem mózgu, w którym głównym czynnikiem etiologicznym są wirusy. Aktualnie jedynym wirusem powszechnie weryfikowanym w ramach diagnostyki osób mających udokumentowany kontakt z kleszczem lub podejrzenie boreliozy jest TBEV. Identyfikacja zakażeń mieszanych jest o tyle istotna, iż te mogą mieć wpływ na przebieg zapaleń mózgu, tym samym po części tłumacząc również zróżnicowany profil kliniczny neuroboreliozy. Badania przeprowadzono na niewielkiej grupie - 14 pacjentów, u których zdiagnozowano potwierdzoną oraz prawdopodobną neuroboreliozę. W wyniku przeprowadzonej analizy u dwóch pacjentów z potwierdzoną neuroboreliozą wykryto zakażenie enterowirusowe w OUN. Przeprowadzone przez Autora badanie jest pierwszą tak kompleksową analizą, w której potwierdzono obecność zakażenia EV w OUN w przebiegu neuroboreliozy. Tym samym uzyskane wyniki poddają pod dyskusję rewizję rekomendacji dotyczących diagnostyki osób z podejrzeniem neuroboreliozy, sugerując uwzględnienie w niej również testów wykrywających EV, jak też innych wirusów wykazujących właściwości neurotropowe. Uzyskane wyniki stanowią podstawę do szerszej analizy, w której

identyfikacja EV w neuroborelioze powinna zostać przeprowadzona wśród większej liczby chorych wraz z dokonaniem oceny realnego wpływu EV na przebieg i następstwa neuroboreliozy.

Podsumowując, głównymi osiągnięciami naukowymi Kandydata było opracowanie nowych procedur opartych o NGS w diagnostyce zakażeń OUN. Opracowane procedury oparte o badania metagenomiczne stanowią użyteczne wsparcie rutynowej diagnostyki wirusowych zapaleń mózgu. Przeprowadzone badania ujawniły potrzebę rozwiązania wielu problemów związanych z ich ograniczoną czułością, wysokim kosztem pojedynczej analizy, jak również trudnością analizy bioinformatycznej danych NGS w celu wdrożenia do rutynowej diagnostyki neuroinfekcji. Obecne uwarunkowania pozwalają na traktowanie metagenomiki jako metody pomocniczej w diagnostyce zakażeń OUN. Natomiast zastosowane przez Habilitanta profilowania genu 16S rRNA oparte o NGS pokazało, iż otrzymane wyniki mogą mieć potencjalne znaczenie diagnostyczne oraz otwierają nowe możliwości badawcze.

Warto podkreślić, iż Habilitant był liderem badań, które weszły do cyklu sześciu publikacji. Świadczy o tym fakt, iż w pięciu pracach był pierwszym autorem, a w jednej na pozycji senior autorem, a także zakres Jego udziału w tych pracach. We wszystkich pracach cyklu Habilitant zdefiniował cel badań i zaplanował eksperyment, izolował kwasy nukleinowe, przeprowadzał analizy metagenomiczne płynu mózgowo-rdzeniowego, wykonywał analizy bioinformatyczne danych NGS, wreszcie napisał manuskrypty prac oraz odpowiadał na sugestie recenzentów.

IV. Ocena aktywności naukowej, o której mowa w art. 219 ust. 1 pkt 3 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce

W rozdziale autoreferatu poświęconemu istotnej aktywności naukowej Kandydata, realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej, zostały wymienione aktywności spełniające warunek formalny zawarty w **art. 219 ust. 1 pkt 3** ustawy.

Autor podczas tygodniowego pobytu w Department of Clinical Science, University of Bergen w roku 2015 pozyskał podstawowe umiejętności związane z obróbką i analizą danych NGS. Rozszerzenie współpracy w tym obszarze z zespołem Prof. Shoty Nakamury po jego wizycie w Zakładzie Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych WUM zaowocowało kilkuletnią współpracą. Rezultatem tych wspólnych prac było nabycie przez Kandydata umiejętności

umożliwiających samodzielną analizę danych NGS w zakresie badań metagenomicznych. Stało się to również podstawą do rozwinięcia wiedzy Kandydata o analizach danych NGS stosowanych również w profilowaniu genu 16S rRNA, jak również w ocenie zmienności HCV. W ramach tego rodzaju współpracy opublikowano pięć prac naukowych o łącznym IF=13,982.

Dodatkowo w roku 2017 podczas 3-miesięcznego pobytu w Laboratory of Viral Metagenomics (Rega Institute, KU Leuven, Belgia), kierowanym przez Prof. Jelle Matthijnsens Kandydat poznał protokół analizy metagenomicznej NetoVIR, który jest wykorzystywany do charakterystyki flory wirusowej człowieka i zwierząt. Efektem tej współpracy jest złożona w 2023 roku aplikacja o kolejny, półroczny staż w ramach Programu Bekkera w Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (NAWA); sygnatura wniosku BPN/BEK/2023/1/00069 (obecny status: ocena merytoryczna wniosku). Wspólny projekt naukowy dotyczy wykorzystania metagenomiki w kontekście analizy wirusowej polskiej populacji kleszczy *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus*.

Ponadto Kandydat współpracował z Dr Steffi Silling z Institute of Virology, National Reference Center for Papilloma- and Polyomaviruses, University of Cologne, Faculty of Medicine, University Hospital Cologne, Niemcy – wiodącego ośrodka w Europie zajmującego się *Papillomaviridae*. Dzięki tej współpracy Autor mógł w realizowanych przez siebie badaniach wykluczyć lub potwierdzić zakażenia OUN HPV typu 5. Efektem tej współpracy był artykuł opisany jako praca 5 wyszczególniona w powyższym osiągnięciu naukowym.

V. Pozostała aktywność naukowa Kandydata

Poza przedstawionym cyklem publikacji Kandydat jest autorem lub współautorem 30 innych prac; w pięciu z nich jest pierwszym lub korespondującym autorem. Łączny IF prac poza cyklem habilitacyjnym wynosi 106,947 punktów (punkty MEIN = 1905). W większości swoich badań Kandydat wykorzystywał metagenomikę do diagnostyki wirusowych zapaleń mózgu. Oprócz analiz metagenomicznych w warsztacie naukowym Kandydata znajduje się również analiza bioinformatyczna danych NGS.

Głównym obszarem tematycznym prac poza cyklem jest zagadnienie zakażeń OUN, a w szczególności zakaźnego zapalenia mózgu. A zatem jest bardzo zbliżona do tematyki prac cyklu. Łącznie w zakresie tej tematyki Kandydat opublikował dziewięć artykułów z czego osiem to prace oryginalne i jedna pionierska w swojej tematyce praca pogładowa.

Kolejny obszar tematyczny poza cyklem obejmował badania nad patogenezą i diagnostyką zakażeń wirusem zapalenia wątroby typu C. Kandydat w tym obszarze był współautorem w 14 pracach, a jego rola polegała na analizie statystycznej oraz bioinformatycznej danych NGS. Uzyskane wyniki wskazują na istotne znaczenie zjawiska wycieńczenia immunologicznego w przebiegu WZWC, jak również wpływu zmienności genetycznej wirusa na przebieg, konsekwencje oraz terapię zakażenia.

Analiza mikrobioty jelitowej człowieka i szczurów, to kolejny obszar tematyczny badań Kandydata. Owocem współpracy było współautorstwo w czterech opublikowanych pracach oryginalnych. W badaniach wykorzystano sekwencjonowanie genu 16S rRNA do profilowania flory bakteryjnej szczurów w różnych modelach badawczych. Kandydat przeprowadzał analizy bioinformatyczne danych NGS. Dodatkowo jedna praca przeglądowa, zaliczona do tej kategorii opisuje rolę mikrobioty jelitowej w nowotworach przewodu pokarmowego.

Na koniec warto wspomnieć o badaniach związanych z COVID-19. Kandydat opublikował dwie prace oryginalne, dotyczące skuteczności szczepień w COVID-19. W tych pracach Kandydat wykonywał oznaczenia mian przeciwciał poszczepiennych, jak również przeciwciał świadczących o przebytych lub aktywnym zakażeniu drugim koronawirusem ciężkiego ostrego zespołu oddechowego (SARS-CoV-2).

VI. Realizowane granty i projekty naukowe

Kandydat był kierownikiem w dwóch projektach Młodego Badacza finansowanych przez Warszawski Uniwersytet Medyczny oraz kierownikiem projektu Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej. W latach 2018-2023r. pełnił rolę badacza w projekcie: „Zastosowanie metagenomiki w identyfikacji czynników zakaźnych u chorych z zapaleniem mózgu i zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych”, finansowanym przez NCN.

VII. Osiągnięcia dydaktyczne organizacyjne oraz popularyzacja nauki

Kandydat prowadzi ćwiczenia i seminaria dla kierunku lekarskiego z przedmiotu „Choroby zakaźne” w języku polskim i angielskim. Prowadzi również wykłady, ćwiczeń i seminaria dla studentów II roku analityki medycznej z przedmiotu „Immunopatologia z immunodiagnostyką”.

Był promotorem pomocniczym pracy doktorskiej oraz promotorem pięciu prac magisterskich.

W 2015 roku w ramach popularyzacji nauki przedstawił zagadnienia dotyczące metagenomiki oraz stwardnienia rozsianego, w ramach Konkursu Popularyzatorskiego INTER (Fundacja na

Rzecz Nauki Polskiej – materiały w serwisie You Tube). W 2014r. otrzymał główną nagrodę w Konkursie Popularyzatorskim INTER (3 edycja) w ramach projektu SKILLS (Fundacja na Rzecz Nauki Polskiej).

Kandydat jest laureatem trzech Naukowych Nagród Rektorskich trzeciego stopnia i jednej pierwszego stopnia oraz Laureatem głównej nagrody (I miejsce) konkursu prac magisterskich na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego na kierunku Analityka Medyczna (2012r.).

VIII. Konkluzja

Jak wynika z przepisów ustawy, do postępowania habilitacyjnego może zostać dopuszczona osoba, która posiada stopień doktora oraz osiągnięcia naukowe lub artystyczne, stanowiące znaczny wkład autora w rozwój określonej dyscypliny naukowej lub artystycznej oraz wykazuje się istotną aktywnością naukową lub artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Dr n. med. Karol Perlejewski w 2016 r. uzyskał stopień doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna, specjalność biologia molekularna, nadany uchwałą Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (WUM), na podstawie rozprawy zatytułowanej: Zastosowanie sekwencjonowania następnej generacji do identyfikacji czynników zakaźnych u chorych z zapaleniem mózgu o nieznannej etiologii.

Cykl publikacji, który Habilitant przedstawił jako osiągnięcie naukowe określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 lit. b ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, jest spójne tematycznie, a wartość naukowa wkładu w rozwój dyscypliny nauk medycznych w całości spełnia wymogi określone przez ustawę. Habilitant opracował procedury metagenomiczne do identyfikacji wirusów wywołujących zakażenia OUN w oparciu o analizę DNA i RNA oraz wykorzystanie jej w różnych układach badawczych u pacjentów ze stanem zapalnym w OUN. Ponadto wykorzystał profilowanie genu 16S rRNA w diagnostyce zapaleń OUN. Opublikowana przez Habilitanta tematyka badawcza jest aktualna i wartościowa. Wartość współczynnika cytowań publikacji (Index Hirscha = 12) świadczy o niemałym poziomie zainteresowań światowej społeczności naukowej tematyką prac Kandydata.

Habilitant wykazuje także istotną aktywność naukową w rozumieniu art. w art. 219 ust. 1 pkt 3 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, realizując swojej badania w innych jednostkach naukowych, poza macierzystą uczelnią.

Mając powyższe na uwadze, wyrażam opinię, iż dr n. med. Karol Perlejewski spełnia wymogi określone w art. 219 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, stawiane w postępowaniach habilitacyjnych. Wnoszę zatem o dopuszczenie Kandydata do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Prof. dr hab. n. med. Jarosław Dudka



Signed by /
Podpisano przez:

Jarosław Jerzy
Dudka
Uniwersytet
Medyczny w Lublinie

Date / Data:
2024-04-25 13:25