

**Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby
i Nabytych Niedoborów Odpornościowych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
ul. Koszarowa 5, 51-149 Wrocław; tel. 71 395-75-49, tel./fax 71 325-52-42**

Kierownik: prof. dr hab. Brygida Knysz

e.mail: brygida.knysz@umw.edu.pl

Wrocław, dnia 07 05 2024 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

lek. Justyny Adamczuk

"Ocena obecności przeciwciał anty-SARS-CoV-2 u rekonwalescentów po COVID-19 "

Praca doktorska została przygotowana w oparciu o wyniki będące elementem badań finansowanych z grantu Narodowego Centrum Nauki. „Koniec początku czy początek końca? Krótko i długoterminowe trajektorie zdrowotnych i psychospołecznych efektów pandemii COVID-19.”

w ramach konkursu OPUS 19 (UMO-2020/37/B/NZ7/03380).

Kierownik grantu: prof. dr hab. Karol Kamiński

Na przełomie roku 2019/2020 niewiele osób na świecie miało świadomość poważnego zagrożenia, jakim w niedługim czasie stała się pandemia COVID-19, która pochłonęła miliony ofiar i z którą ludzkość musiała się mierzyć. Nagle znaleźliśmy się w zupełnie nowej dla nas rzeczywistości, bez dobrej wiedzy na temat postępowania w odniesieniu do osób zakażonych i opanowania pandemii. Podobna, w sensie transmisji, była pandemia hiszpanki, ale to działo się ponad 100 lat temu i nie było już obecnie osób, które przeżyły tamtą pandemię i miały doświadczenie. Nawet eksperci WHO, od których oczekiwano konkretnych rekomendacji, mających na celu opanowanie zakażeń, przekazywali błędne informacje, których przykładem było np. na początku pandemii niezalecanie stosowania masek ochronnych. Poważnym problemem w leczeniu chorych był chaos medialny, ułatwiający dostęp do wszelkich, często błędnych informacji, które były przyczyną nieprawidłowego lub

nieuzasadnionego leczenia. Po pojedynczych doniesieniach z Chin o przeciwwirusowym działaniu chlorochiny i hydroksychlorochiny, nagle na świecie, w tym w Polsce zaczęto stosować w/w preparaty. Z powodu znacznego popytu, na nie przez pewien czas były niedostępne w aptekach, ponieważ zostały wykupione „na wszelki wypadek” do leczenia po zachorowaniu na COVID-19. Nie sposób nie wspomnieć o powszechnym stosowaniu azytromycyny, w każdym przypadku zakażenia SARS-CoV-2, niezależnie od ciężkości choroby. Okazało się, że antybiotyk stosowano bez uzasadnienia, na podstawie pojedynczego doniesienia z Francji, dodatkowo w oparciu o źle udokumentowane badanie. Niechlubnym przykładem bezradności był statek wycieczkowy z setkami zakażonych pasażerów na pokładzie, który nie mógł zawinąć do portu.

Obecnie wiele problemów dotyczących profilaktyki, kliniki, leczenia chorych na COVID-19 zostało pozytywnie rozwiązanych. W dużym stopniu poznano naturę wirusa, obserwowano w kolejnych latach jego nowe warianty i ich wpływ na transmisję zakażeń oraz przebieg kliniczny, a także późne następstwa zakażeń SARS-CoV-2. Szczęśliwie opracowano skuteczne szczepionki i leki przeciwwirusowe, przeciwzapalne, przeciwciała monoklonalne. Istotnym zagadnieniem, poddanym wielu analizom na całym świecie, jest odpowiedź immunologiczna na zakażenie i szczepienie oraz oba jednocześnie. Dane, również z Polski, służą pogłębieniu wiedzy o naturze wirusa i reakcji organizmu ludzkiego na antygeny. Wyniki takich badań nie ulegają przedawnieniu. Minęło niewiele, ponad 3,5 roku, od pojawienia się SARS-CoV-2 w środowisku i nie sposób jednak przewidzieć dalszego przebiegu zakażeń koronawirusowych na świecie.

Ważnego tematu odpowiedzi humoralnej u rekonwalescentów, po przebyciu COVID-19 podjęła się Doktorantka. Wyniki badań zaprezentowała w rozprawie doktorskiej.

Przedstawiona do oceny praca liczy 95 stron. Przygotowana jest bardzo starannie; zawiera wszystkie elementy rozprawy doktorskiej, które ułatwiają czytelnikowi śledzenie tekstu zawierającego dużą liczbę wyników oraz ogrom informacji literaturowych i związanych z przeprowadzonymi badaniami. Podzielona jest na rozdziały uzasadnione metodologicznie. Obszerne wiadomości związane z tematem rozprawy Doktorantka opracowała na podstawie 194 pozycji piśmiennictwa, właściwie dobranego tematycznie i aktualnego. Istotne informacje ogólne oraz wyniki badań zostały przedstawione na 6 rycinach i w 17 tabelach.

Wstęp liczy 42 strony i jest podzielony na 2 rozdziały:

1. COVID-19 - w którym autorka przedstawiła bardzo szczegółowo informacje dotyczące epidemiologii, etiologii, patogenez, kliniki, leczenia, diagnostyki i profilaktyki zakażeń SARS-CoV-2
2. Odpowiedź immunologiczna w zakażeniu SARS-CoV-2 - przedstawiając przydatność w diagnostyce szybkich testów, rolę przeciwciał neutralizujących, odporność poszczepienną i odpowiedź immunologiczną osób z immunosupresją.

Sposobem opisu informacji zawartych we wstępie Doktorantka udowodniła swoją szeroką wiedzę i dobre przygotowanie do realizacji badań w ramach rozprawy doktorskiej.

Biorąc pod uwagę zmieniającą się sytuację pandemiczną i zmiany dotyczące samego wirusa, profilaktyki, czy też istoty choroby, lek. Justyna Adamczuk podzieliła część badawczą na 2 etapy i do każdego z nich jasno sformułowała osobne cele.

Etap 1: Ocena obecności przeciwciał anti-S przeciwko SARS-CoV-2 u ozdrowieńców po COVID-19, w tym dynamiki stężenia przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 w czasie, różnic w wytwarzaniu przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 w zależności od nasilenia choroby, różnic w wytwarzaniu przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2, w zależności od statusu szczepienia oraz korelacji między poziomem przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2, a parametrami zapalnymi.

Etap 2. Ocena obecności przeciwciał anti-S i anti-N przeciwko SARS-CoV-2, 6 miesięcy po zakażeniu COVID-19, we wszystkich falach pandemii, oraz porównanie odpowiedzi immunologicznej u pacjentów i w zdrowej populacji, w tym ocena częstości występowania przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 w populacji ogólnej, podczas czterech fal pandemii, ocena różnic w wytwarzaniu przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 między ozdrowieńcami, a zdrową populacją, ocena częstości zakażeń bezobjawowych w oparciu o status przeciwciał anti-N, ocena różnic w wytwarzaniu przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 w oparciu o status szczepienia oraz ocena różnic w wytwarzaniu przeciwciał w zależności od objawów w ostrej fazie choroby i 6 miesięcy po przechorowaniu.

Metody badawcze zostały zastosowane prawidłowo, zgodnie z celami rozprawy.

W odniesieniu do etapu 1 badań: Do badania włączono 322 pacjentów (282 hospitalizowanych i 40 izolowanych w domu), obojga płci z przeżytym zakażeniem SARS-CoV-2, potwierdzonym testem RT-PCR.

Stężenie przeciwciał badano w próbkach pobranych podczas hospitalizacji, po 1, 3 i 6 miesiącach od hospitalizacji.

W odniesieniu do etapu 2 badań: W drugim etapie pacjentów podzielono na 2 podgrupy: Podgrupa I składała się z 232 pacjentów po COVID-19, którzy wymagali z tego powodu hospitalizacji, byli badani sześć miesięcy po zakażeniu. Doktorantka wyróżniła choroby towarzyszące dotyczące tej podgrupy pacjentów.

Podgrupa II składała się z 544 pacjentów z kohorty badania populacyjnego - Białystok PLUS. Doktorantka dostarcza wiadomości i uzasadnienia dla włączenia do badania pacjentów z tej kohorty. Również tutaj zostały przedstawione informacje na temat chorób towarzyszących oraz informacje od pacjentów deklarujących przebycie lub nie COVID-19.

W drugim etapie badań oceniano stężenie przeciwciał anti-N i anti-S, sześć miesięcy po przebytych zakażeniu, w odniesieniu do kolejnych fal pandemii.

Tak zaplanowana metodyka pozwoliła na poszerzenie badanej populacji i tym samym zwiększyła wiarygodność przeprowadzonych analiz.

Doktorantka w wyniku przeprowadzonych badań uzyskała cenne, oryginalne wyniki, które powinny zostać opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Są również ważne w Polsce ponieważ dotyczą naszej populacji.

Uzyskane przez doktorantkę wyniki są zgodne z prezentowanymi przez innych badaczy: istotnie odpowiedź humoralna utrzymuje się długo, nawet w czasie przekraczającym 6 miesięcy, ale 6 miesięcy wynosiło zaplanowane badanie. Proponuję Doktorantce kontynuowanie badań w następnych punktach czasowych.

Kolejny wynik dotyczy obserwacji o wyższym poziomie przeciwciał w przypadku ciężkiego przebiegu choroby, w wyniku szczepienia przeciwko COVID-19, nasilenia stanu zapalnego, aniżeli w grupie osób z łagodnym przebiegiem zakażenia lub nieszczepionych.

Słuszna jest również uwaga dotycząca potrzeby prowadzenia szeroko badań serologicznych, celem oceny skali problemu i ustalenia sposobów profilaktyki nieswoistej w danym miejscu i danym czasie.

„W badaniu własnym porównano miano przeciwciał anti-N i anti-S i zaobserwowano wyższe miano przeciwciał anti-N u pacjentów wymagających hospitalizacji w porównaniu z pacjentami, którzy nie wymagali hospitalizacji, co odzwierciedla obserwacje innych autorów.” Jest to ważna obserwacja, która odnosi się nie tylko do samej hospitalizacji, ale do ciężkości przebiegu zakażenia.

Badanie stężenia przeciwciał anti-N stanowi cenne uzupełnienie obserwacji, również w powiązaniu ze stężeniem przeciwciał anti-S. Obecność przeciwciał anti -N dowodzi

aktualnego lub przebytego zakażenia, lecz należy mieć na uwadze fakt, że przeciwciała te zanikają szybciej, aniżeli przeciwciała anty -S i ich brak u osób bez objawów zakażenia SARS-CoV-2 nie oznacza, że zakażenia nie było.

W podsumowaniu Doktorantka wskazała na długi czas utrzymywania się przeciwciała anty-S, korelację stężenia przeciwciał z nasileniem objawów zakażenia, przebyłym szczepieniem, nasileniem stanu zapalnego w ostrym okresie choroby. Lek Justyna Adamczuk wskazała też na znaczenie badań serologicznych w kontroli przebiegu pandemii. Z pewnością, w przyszłości kolejni badacze raportujący przebieg zakażeń SARS-CoV-2, będą odwoływać się do uzyskanych przez Doktorantkę oryginalnych i cennych wyników, ponieważ jest to nowa wiedza na temat przebiegu pandemii w wybranej populacji w Polsce.

Lek. Justyna Adamczuk przeprowadziła konstruktywną dyskusję, zakończoną istotnymi wnioskami, wskazującymi kierunki działań które mogą poprawić w przyszłości postępowanie podczas pandemii.

Rozprawa doktorska lek. Justyny Adamczuk została przygotowana rzetelnie i starannie.

Jednak mam pojedyncze uwagi dotyczące treści rozprawy.

- Uważam, że podając określone wartości stężeń przeciwciał należy używać określenia poziom lub stężenie, a nie miano; (W-laboratorium klinicznym stanowi jednostkę miary. Zazwyczaj jest to najwyższe rozcieńczenie substancji, w której zachodzi reakcja i jest wyrażane w formie proporcji (np. 1:20)(<https://www.labtestsonline.pl/slownik/miano>)-

-Doktorantka użyła określenia odpowiedź immunologiczna? Odpowiedź humoralna to tylko część odpowiedzi immunologicznej, jeśli nie było innych badań dotyczących odporności, nie należało pisać o odpowiedzi immunologicznej

-w Metodyce lek. Justyna Adamczuk, w odniesieniu do przeciwciał anty-N, wymienia i opisuje badanie jakościowe, natomiast w prezentacji wyników badań podaje konkretne wartości stężeń i odnosi się do nich. Więc nie mogło to być badanie jakościowe?

Uwagi te nie umniejszają wartości rozprawy doktorskiej lek. Justyny Adamczuk

Doktorantka posiada dobrą znajomość zagadnień związanych z zakażeniem SARS-CoV-2 i porusza się swobodnie w opracowanym temacie.

Rozprawa lek. Justyny Adamczuk pt. Ocena obecności przeciwciał anty-SARS-CoV-2 u rekonwalescentów po COVID-19, stanowi przykład wartościowej i krytycznej analizy

dotyczącej odpowiedzi humoralnej po przebytych zakażeniu SARS-CoV-2. Spełnia wszystkie wymogi formalne i merytoryczne pracy doktorskiej.

Rozprawa doktorska lek. Justyny Adamczuk, spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 , poz. 742, z późn. zm). Zwracam się z uprzejmą prośbą do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o jej przyjęcie i dopuszczenie lek. Justyny Adamczuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Brygida Knysz

prof. dr hab. n. med. Brygida Knysz
lekarz chorób wewnętrznych
specjalista chorób zakaźnych

3624440