

Gdańsk, dn. 14 maja 2024 r.

## Recenzja

rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarz Justyny Adamczuk

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

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Anna Moniuszko-Malinowska

Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Praca doktorska została przygotowana w oparciu o wyniki stanowiące **element badań finansowanych z grantu Narodowego Centrum Nauki (UMO-2020/37/B/NZ7/03380): „Koniec początku czy początek końca? Krótko i długoterminowe trajektorie zdrowotnych i psychospołecznych efektów pandemii COVID-19.”** w ramach konkursu OPUS 19. Kierownikiem tego grantu był prof. dr hab. Karol Kamiński. **Badanie zostało zatwierdzone przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku** (numery decyzji: APK.002.259.2020 oraz APK.002.346.2020).

Rozprawa doktorska lekarz Justyny Adamczuk **liczy 95 stron i ma układ rozdziałów typowy dla prac z zakresu nauk medycznych.** Znaczącą część rozprawy stanowi obszerny (38-stronnicowe) omówienie zjawiska, jakim był COVID-19 – pod względem epidemiologicznym, diagnostycznym, klinicznym, terapeutycznym, a także w zakresie zdrowia publicznego etc. **Omówienie przygotowane jest bardzo starannie, syntetycznie i wyczerpująco, dowodzi biegłej znajomości tego zagadnienia przez Doktorantkę.** Recenzent nie odnalazł w nim jedynie informacji o zmianach anatomicznych powodowanych w organizmie człowieka przez zakażenie SARS-CoV-2.

**Celem pracy była bardzo ambitna, wielokierunkowa ocena wpływu różnorodnych czynników klinicznych i epidemiologicznych, na poziom przeciwciał anty-SARS-CoV-2.**

Należy podkreślić bardzo skomplikowaną metodologię doboru uczestników badania i danych do analizy. Badania przeprowadzone przez Doktorantkę zostały podzielone na dwa etapy, dopasowane do kolejnych okresów pandemii i dostępnych możliwości diagnostycznych. W pierwszym etapie przeprowadzono ocenę dynamiki zmian w czasie miana przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 u ozdowieńców po przebytych COVID-19, w zależności od stopnia ciężkości przebiegu klinicznego tego zakażenia oraz od stanu zaszczepienia uczestników badania, podjęto również próbę oceny potencjalnych korelacji pomiędzy parametrami zapalnymi obserwowanymi w przebiegu COVID-19, a następnym poziomem przeciwciał anty-SARS-CoV-2. W tym etapie analizie poddano

dane dotyczące 322 pacjentów w wieku 19-94 lat, o średniej wieku 59 lat, 165 kobiet i 157 mężczyzn, w tym 282 osób hospitalizowanych z powodu COVID-19 i 40 pacjentów z łagodnym przebiegiem choroby, nie wymagających hospitalizacji. Były to wyłącznie osoby z diagnozą zakażenia SARS-CoV-2 potwierdzoną za pomocą badania RT-PCR. Krew do badania poziomów przeciwciał pobierano w trakcie hospitalizacji, a także po 1, 3 i 6 miesiącach od wypisu. W tej grupie 93 osoby poddały się szczepieniom przeciwko COVID-19 pomiędzy 3 a 6 miesiącem od wypisu.

W drugim etapie poddano analizie dwie kolejne grupy pacjentów: grupa pierwsza to 232 osoby po hospitalizacji z powodu COVID-19, a grupę drugą stanowiły 543 osoby z populacyjnego badania Białystok PLUS, w tym 151 pacjentów zgłaszających przebycie COVID-19 oraz 393 osoby nie mające świadomości przebycia zakażenia SARS-CoV-2. Łącznie było to 775 osób w wieku 20-80 lat, w tym 408 kobiet i 367 mężczyzn, spośród których 432 osoby poddały się szczepieniom na COVID-19. Warto tu wyjaśnić, że prospektywne badanie Białystok PLUS dostarcza informacji na temat stanu zdrowia lokalnej społeczności poprzez analizę wyników badań laboratoryjnych i ankiet dotyczących czynników psychologicznych i socjologicznych – przeprowadzanych na losowo wybranej kohorcie reprezentatywnej dla populacji Białegostoku. W tym etapie celem badania była ocena obecności przeciwciał anty-S i anty-N przeciwko SARS-CoV-2 po upływie 6 miesięcy od zakażenia COVID-19 w kolejnych falach pandemii oraz porównanie odpowiedzi immunologicznej u ozdowieńców i w zdrowej populacji zależnie od stanu zaszczepienia, a także ocena różnic w odpowiedzi humoralnej w zależności od występowania poszczególnych objawów klinicznych w ostrej fazie choroby i 6 miesięcy po przechorowaniu oraz ocena częstości zakażeń bezobjawowych na podstawie występowania przeciwciał anty-N w badanie populacji osób bez udokumentowanego uprzedniego zachorowania na COVID-19.

Jeżeli recenzent nie popełnia tu błędów – **analizie poddano różnorodne dane pozyskane sumarycznie od 1097 osób. Ponadto już sama liczba celów badania jak i ilość ocenianych parametrów stwarzała bardzo skomplikowaną strukturę logistyczną tej analizy, która wystarczyłaby na kilka rozpraw doktorskich. Recenzent domyśla się, że pacjenci włączeni do etapu pierwszego oraz zaliczeni do grupy pierwszej w etapie drugim byli hospitalizowani na oddziale kowidowym Kliniki Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, jednak byłby wdzięczny za weryfikację tego założenia.**

**Recenzent nie zgłasza zastrzeżeń do metodologii badań laboratoryjnych ani do analiz statystycznych przeprowadzonych przez Doktorantkę.**

**Wyniki przeprowadzonych analiz pierwszego etapu wykazały znamienne wyższe poziomy przeciwciał u osób o ciężkim przebiegu klinicznym zakażenia SARS-CoV-2, wśród osób z wyższymi**

wykładnikami odpowiedzi zapalnej na zakażenie SARS-CoV-2 i większą rozległością zmian zapalnych w płucach opisywanych w obrazach tomografii komputerowej, a także u szczepionych przeciwko COVID-19. Zaobserwowano wyższe wartości CRP, prokalcytoniny, leukocytozy i AIAT u mężczyzn w porównaniu do kobiet w przebiegu COVID-19 – jednak te różnice były znamienne matematycznie choć najprawdopodobniej bez istotnego znaczenia klinicznego. **Recenzent jest ciekaw interpretacji Doktorantki zjawiska niewielkiego wzrostu poziomu przeciwciał anti-SARS-CoV-2 pomiędzy 3 a 6 miesiącem od przebycia COVID-19 wśród osób nieszczepionych.** Nie wykazano istotnych różnic w odpowiedzi humoralnej mierzonej poziomami przeciwciał anti-SARS-CoV-2 w zależności od płci.

**W drugiej fazie badania** wykazano 17,4% procent osób w populacji ogólnej z obecnymi przeciwciałami anti-N pomimo braku świadomości przebytego zakażenia SARS-CoV-2 oraz 9% osób z obecnością przeciwciał anti-S pomimo braku szczepienia i braku przebytej infekcji. Wskazywałoby to na **sumarycznie ponad 26% udział zakażeń bezobjawowych SARS-CoV-2 w następstwie wszystkich czterech fal pandemii.** Ponadto wykazano znamienne wyższe poziomy przeciwciał anti-N u osób wymagających hospitalizacji z powodu COVID-19 w porównaniu do osób o łagodnym przebiegu klinicznym, nie wymagających hospitalizacji. **Bardzo żmudna analiza obecności przeciwciał anti-N i anti-S przeciwko SARS-CoV-2 w zależności od występowania poszczególnych objawów chorobowych w ostrej fazie COVID-19 (tabela 14) i 6 miesięcy po zachorowaniu (tabela 15) wykazała częstsze występowanie tych przeciwciał w przypadku zgłaszania większości analizowanych objawów.** Wyniki te stanowią bardzo szczegółowe potwierdzenie efektów fazy pierwszej. Recenzent pozwala sobie zasugerować, że być może analiza statystyczna objawów klinicznych pogrupowanych w większe kategorie (np. związanych z odczynem zapalnym jak gorączka, zmęczenie, bóle stawów, wynikających z bezpośredniej patologii powodowanej przez zakażenie SARS-CoV-2 – np. duszność, kaszel, utrata wężchu, oraz inne objawy – być może doprowadziłyby do wniosków przybliżających nas do patogenezы i przydatnych klinicznie. **Ponadto wykazano liczne różnice statystyczne** w poziomach przeciwciał anti-N i anti-S pomiędzy poszczególnymi falami COVID-19, zarówno u osób szczepionych jak i nieszczepionych przeciwko temu zakażeniu – **jednak w odczuciu recenzenta różnice te są znamienne matematycznie, choć nie prowadzą do jednoznacznych wniosków klinicznych czy epidemiologicznych.**

W tym miejscu recenzent pragnie zwrócić uwagę na błąd w tabeli 17 (literówka – dwukrotnie wskazano anti-S zamiast anti-N i anti-S lub odwrotnie), który w praktyce uniemożliwia jakąkolwiek próbę odniesienia się do danych zawartych w tej tabeli. Dla odmiany rycina 6 dydaktycznie wzorcowo ilustruje osiągnięcie poziomu hybrydowej odporności populacyjnej w lutym 2022 roku (w badanej grupie było to aż 92,5% populacji z wykrywalnymi

przeciwciałami anty-S), co w praktyce doprowadziło do wygaszenia pandemii. W tym kontekście warto również podkreślić, że Autorka wykazała również iż **jedynie 1% zaszczepionych nie wytworzył przeciwciał neutralizujących – co dobitnie potwierdza skuteczność populacyjną i celowość stosowania szczepień przeciwko SARS-Cov-2.** W opinii recenzenta te dwie wartości liczbowe zasługują wręcz na umieszczenie ich we wnioskach z badania.

W odczuciu recenzenta być może celowym byłoby umieszczenie części szczegółowych wyników analiz statystycznych w apendyksie i streszczenie ich w samym tekście rozdziału „Wyniki” zdaniem wyliczającym czynniki, dla których nie wykazano istotnego wpływu na poziom przeciwciał. Ułatwiłoby to percepcję rozprawy.

**Dyskusja liczy dziesięć stron** i stanowi syntetyczne omówienie wyników z odniesieniami do rezultatów podobnych prac. **Recenzent mógłby podjąć polemikę z niektórymi stwierdzeniami tu zawartymi**, np. na s. 64 zapisano, że „szczepienie prawdopodobnie zapewnia większą ochronę niż zakażenie naturalne”, tymczasem są dobre doniesienia sugerujące, że jest wręcz odwrotnie. W tym miejscu polecam Autorce bardzo kontrowersyjną, choć prawie poprawną metodologicznie pracę autorów izraelskich, wykazującą 13-krotnie wyższą ochronę przed zakażeniem SARS-CoV-2 u ozdrowieńców w porównaniu z osobami zaszczepionymi (preprint: Gazit S. et al.: medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2021.08.24.21262415>; dostęp 13 maja 2024). Na doniesienie to powszechnie powołują się ruchy antyszczepionkowe i choć jest ono statystycznie poprawne, to jednak metodologicznie i etycznie zawiera w sobie kardynalny błąd: zakażenie SARS-CoV-2 u osoby „naiwnej”, w przeciwieństwie do szczepienia, wiązało się z 3% ryzykiem zgonu i jest to etycznie nieakceptowalny „koszt” uodpornienia „naturalnego”, czego autorzy nie uwzględnili w pracy. Dodatkowo stwierdzenie „większa ochrona” wymaga doprecyzowania, gdyż ochrona przed zakażeniem, zachorowaniem, hospitalizacją i zgonem w wyniku zakażenia oznacza cztery różne poziomy i kryteria ochrony. **Podobne dylematy i zależności obserwowane są w przypadku innego patogenu wykorzystującego wrota zakażenia w układzie oddechowym, jakim jest krztusiec, wydaje się więc, że jest tu jakaś ogólniejsza zasada w odniesieniu do zakażeń układu oddechowego.** Ponadto np. na s. 63 Autorka zapisała: „...zaobserwowano, że istnieje korelacja między wytwarzaniem przeciwciał a nasileniem stanu zapalnego w ostrym okresie choroby” podczas gdy zapewne z punktu widzenia patogenezy jest to dokładnie odwrotna kolejność: bardziej nasilony proces zapalny skutkuje wyższymi poziomami przeciwciał. Recenzent pragnie tu podkreślić, że na podstawie analizy całości tekstu pracy nie ma najmniejszych wątpliwości, iż Autorka prawidłowo rozumie powyższą zależność i jest to jedynie pomyłka na poziomie narracyjnym. **Tego typu drobne błędy redakcyjne dowodzą zapewne pośpiechu w przygotowaniu pracy.** Jednak w przypadku tabeli 17 literówka miała już wpływ na merytoryczną prezentację wyników. Ponadto

recenzent z zawstydzieniem przyznaje, że nie w pełni rozumie wartości umieszczone w tabeli 8 i 12, a dokładnie sposób obliczenia (pozornie prosty) współczynników mian przeciwciał II/I, III/I i IV/I etc.

**Doktorantka formułuje prawidłowo sześć wniosków odpowiadających celom pracy.** W odczuciu recenzenta **wnioski drugi, trzeci i czwarty mogłyby być narracyjnie połączone** w postaci wyliczenia czynników mających wpływ na poziom odpowiedzi humoralnej. W zamian **recenzent dostrzega potrzebę dodania wniosku konfrontującego wykazany w populacji białostockiej poziom odporności populacyjnej (*herd immunity* – 92,5%) ze skutecznością przeprowadzonych szczepień (99%).**

Część poświęcona literaturze tematu zawiera aż 194 doniesienia ułożone w kolejności cytowania, prawidłowo dobrane i przytoczone. Dodatkowo praca zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim, spisy treści, tabel, rycin i skrótów.

**Podsumowując – recenzent wyraża pozytywną opinię** o przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej lekarz Justyny Adamczuk: „Ocena obecności przeciwciał anty-SARS-CoV-2 u rekonwalescentów po COVID-19”. Praca ta nie spowoduje tu i teraz przełomu w naukach medycznych, jednak dowodzi rzetelności i biegłości warsztatowej Autorki w realizacji badań naukowych i w pełni uzasadnia uzyskanie przez lekarkę Justynę Adamczuk stopnia naukowego doktora nauk medycznych. Na podkreślenie zasługuje ogrom pracy i duża liczba analiz statystycznych przeprowadzonych w ramach tego badania. Wyniki będą w przyszłości wykorzystywane do interpretacji zakażeń innymi patogenami dla których układ oddechowy stanowi wrota zakażenia u ludzi – analogiczne rozważania i obserwacje dotyczą już dzisiaj nawrotu fali zakażeń pętkami krztuśca, a będą również cenne w przyszłych pandemiach zakażeń wirusowych – włącznie z tą prawdopodobnie najbliższą, związaną z zakażeniami wirusem dziś jeszcze określanym jako ptasia grypa. Obserwacje dotyczące wzajemnych zależności pomiędzy obrazem klinicznym, odpowiedzią humoralną, odpornością populacyjną i szczepieniami będą we wszystkich przypadkach epidemii zakażeń dróg oddechowych bardzo zbliżone, a patomechanizmy rządzące tymi zjawiskami wymagają dopiero stworzenia odpowiednich narzędzi (biotechnologicznych i cyfrowych) oraz pełnego opisanie i zrozumienia. Wyniki przedstawione przez Doktorantkę stanowią tu precyzyjny i ważny opis takiego zjawiska.

Dlatego recenzent zachęca Doktorantkę do opublikowania wyników tej pracy w recenzowanym czasopiśmie, po dalszym ich przemyśleniu, uporządkowaniu, pogłębieniu i przedyskutowaniu w gronie ekspertów.

W opinii recenzenta rozprawa doktorska lekarz Justyny Adamczuk „Ocena obecności przeciwciał anty-SARS-CoV-2 u rekonwalescentów po COVID-19” stanowi oryginalną odpowiedź na pytanie o wzajemne zależności pomiędzy obrazem klinicznym zakażenia SARS-CoV-2, odpowiedzią humoralną na to zakażenie, odpornością populacyjną i poszczepienną w populacji mieszkańców Białegostoku, a więc wypełnia wymogi art. 187 Ustawy z dnia 18 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r. poz. 742), dlatego recenzent wnioskuje do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie tej rozprawy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY  
Wydział Lekarski  
**Klinika Chorób Zakaźnych**  
81-519 Gdynia  
ul. Powstania Styczniowego 9b  
tel./fax 58 349 15 88 [keh@gumed.edu.pl](mailto:keh@gumed.edu.pl)

KIEROWNIK  
Kliniki Chorób Zakaźnych GUMed  
*T. Suta*  
dr hab. n. med. Tomasz Suta

19.05.2024