



Prof. dr hab. Katarzyna Sikorska  
Kierownik Kliniki Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych  
Katedra Medycyny Tropikalnej i Parazytologii  
Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej  
Wydział Nauk o Zdrowiu z IMMiT  
Gdański Uniwersytet Medyczny

Gdynia, dnia 25 września 2024r.



**Recenzja rozprawy doktorskiej lekarza Marcina Kazberuka zatytułowanej**  
**„Ocena stężenia kwasu hialuronowego w surowicy chorych z COVID-19”.**

Pandemię COVID-19 postrzegamy w wymiarze nie tylko szeroko rozumianego głębokiego kryzysu, może nawet katastrofy, dotykających ludzkość na całym świecie, kryzysu dotyczącego nie tylko nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w tym ściśle medycyny klinicznej, zdrowia publicznego, organizacji pracy w ochronie zdrowia, ale także przez pryzmat problemów m.in. z obszarów socjologii, psychologii, komunikacji społecznej, ekonomii, bezpieczeństwa, transportu.

Pan Marcin Kazberuk słusznie rozpoczyna wstęp swojej rozprawy doktorskiej od przedstawienia wspomnianej pandemii, przywołanej w kontekście historycznym, jako wydarzenia zaskakującego, które gwałtownie, nieodwracalnie, niejako pod przymusem, uruchomiło złożone mechanizmy, finalnie prowadzące do postępu w wielu dziedzinach wiedzy. W medycynie klinicznej ten postęp, możliwy dzięki współpracy w najwyższym stopniu interdyscyplinarnej, angażującej specjalistów wielu dziedzin, objawił się m.in. poprzez



konstruowanie i wdrożenie do rutynowego użycia nowych narzędzi diagnostycznych (molekularnych, obrazowych) wykorzystywanych dla rozpoznania i prognozowania. Dokonywał się poprzez pracę skupioną na poszukiwaniu i identyfikacji czynników rokowniczych w nowej, nieznanej dotąd w takim wymiarze chorobie, na opracowywaniu schematów jej leczenia. Był możliwy dzięki pracy wielu, którzy systematycznie gromadzili dane kliniczne odnosząc je do zmienności tradycyjnych wykładników ostrej choroby zapalnej, infekcyjnej i proponowanych nowych wskaźników odzwierciedlających złożoność patomechanizmu zakażenia SARS-CoV-2, jego powiązań z przebiegiem klinicznym choroby i jej przewlekłych następstw (nie można tu pominąć zjawiska long-COVID, na nowo zdefiniowanego na łamach New England Journal of Medicine w lipcu 2024r., wyzwania, któremu poświęcona jest aktywność wielu grup badawczych, systematycznie publikujących wyniki swoich obserwacji).

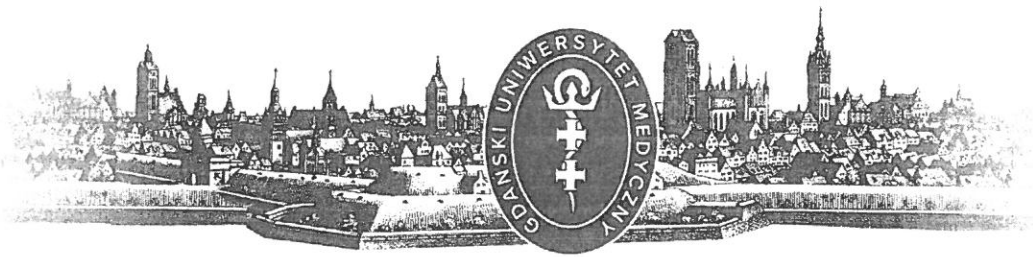
W tym kontekście temat badawczy, przedstawionej mi do recenzji, rozprawy doktorskiej pozostaje żywotny, uzasadniony i wartościowy poznawczo, szczególnie, że zagrożenie dla zdrowia człowieka nowymi gatunkami odzwierzęcych koronawirusów o potencjale epidemicznym, a nawet pandemicznym nie ustało, pozostaje nadal aktualne.

Przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską stanowi zwarte opracowanie, liczące 135 stron, na które składają się rozdziały: wstęp, cele pracy, materiał i metody, wyniki, omówienie wyników i dyskusja, wnioski, streszczenia w językach polskim i angielskim oraz bardzo bogate piśmiennictwo, obejmujące 260 pozycji, ufam, że uważnie przez Doktoranta przeczytanych. Informacja o akceptacji projektu przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w



Białymstoku znajduje się w rozdziale 'Materiał i metody'. Autor załączył również kompletny wykaz używanych skrótów. Konstrukcja rozprawy jest prawidłowa, a przekaz treści przejrzysty i nie budzi zasadniczo merytorycznych zastrzeżeń.

We wstępie doktorant w uporządkowany sposób przedstawił zagadnienia związane z zagrożeniami dla zdrowia człowieka wywoływanymi przez koronawirusy, ich biologią, transmisją zakażeń oraz patogennością, szczególnie w odniesieniu do SARS-CoV-2. Scharakteryzował dokładnie różne postaci kliniczne choroby wywołanej przez tegoż wirusa, szczególnie skupiając się na postaci z zajęciem układu oddechowego i czynnikach związanych z niepomyślną progresją zapalenia płuc do niewydolności oddechowej. Uwzględnił w opisie niepożądaną, nadmierną reakcję zapalną o typie „burzy cytokinowej”, przebiegającą z kaskadą niekontrolowanych zdarzeń o dużym natężeniu: wyrzutem cytokin prozapalnych, aktywacją komórek układu immunologicznego, uszkodzeniem komórek śródbłonna, indukcją reakcji wykrzepiania, co finalnie prowadzi do uszkodzenia wielonarządowego, a następnie niewydolności wielonarządowej. Doktorant przypomniał, że zjawisko „burzy cytokinowej” dramatycznie pogarszało rokowanie w COVID-19, mając udział w śmiertelności dotyczącej ponad 1/5 chorych, u których ona wystąpiła. Tę część pracy doktorskiej uzupełniają wartościowe kolorowe ilustracje, ryciny i fotografie, w tym ostatnie autorstwa Doktoranta, dokumentujące jego pracę z chorymi na COVID-19. W tym miejscu pragnę zwrócić uwagę, że w tabeli 1 zawierającej informacje o lekach stosowanych w COVID-19 korzystniej byłoby uporządkować preparaty według mechanizmów działania. W pierwszej kolejności umieścić jednak leki o bezpośredniej aktywności przeciwwirusowej (brakuje wzmianki o nirmatrelvirze z rytonawirem, z kolei wymieniony molnupiravir obecnie nie jest już dopuszczony w UE), po



nich dopiero leki przeciwzapalne, przeciwkrzepliwe i preparaty przeciwciał monoklonalnych (obecnie o znaczeniu raczej historycznym). Poproszę o komentarz do tego zagadnienia.

Obszerną część wstępu stanowi szczegółowy opis mechanizmów procesów włóknienia, co jest zrozumiałe w kontekście założonego celu badawczego. Doktorant dokładnie charakteryzuje wytwarzane, w wyniku indukcji włóknienia, składniki macierzy pozakomórkowej, w tabeli 4 z kolei opisuje z detalami bezpośrednie markery włóknienia tkankowego. Pan Kazberuk podkreśla znaczenie kwasu hialuronowego (HA), który jawi się jako ciekawy przedmiot badania będąc składnikiem macierzy pozakomórkowej i stanowiąc bezpośredni marker włóknienia, związany z regulacją odpowiedzi immunologicznej i szlaków sygnalizacji swoistej dla reakcji zapalnej. Jednak interesuje mnie i proszę Doktoranta o odpowiedź na pytanie, jakie dokładnie przesłanki zdecydowały o wyborze tylko kwasu hialuronowego dla potrzeb analizy korelacji markerów aktywacji włóknienia z wykładnikami ciężkiej ostrej choroby zapalnej płuc oraz włóknienia rozwijającego się w jej następstwie.

Zasadniczym celem pracy doktorskiej była ocena stężenia kwasu hialuronowego w surowicy chorych z rozpoznaniem COVID-19 w odniesieniu do ciężkości przebiegu choroby, stopnia niewydolności oddechowej, stopnia zajęcia płuc w tomografii komputerowej, obecności „burzy cytokinowej”, ryzyka zgonu, częstości współistnienia innych chorób, stosowania w leczeniu glikokortykoidów oraz statusu zaszczepienia przeciwko COVID-19 w okresie poprzedzającym zachorowanie. Mierzone laboratoryjne parametry krwi obwodowej, wykładniki zarówno ostrej fazy zapalenia, uszkodzenia wątroby i nerek, gazometrii krwi tętnicznej badano pod kątem korelacji ze stężeniem HA.



Projekt badawczy realizowany był w okresie od listopada 2021r. do marca 2022r., czyli w czasie trwania tej fali pandemii COVID-19, która przebiegała ze znacznym wzrostem zachorowań wywołanych wariantem Delta SARS-CoV-2. Falę tę charakteryzowała duża liczba przypadków choroby o ciężkim przebiegu, z dramatycznie rozwijającą się niewydolnością oddechową i stosunkowo wysoką śmiertelnością w porównaniu do innych okresów pandemii. Dodatkowo w tym czasie możliwa była już analiza związku przebiegu choroby z odbytym szczepieniem, jako elementem modulującym siłę odpowiedzi immunologicznej, reakcji zapalnej i w założeniach mającym chronić przed ciężkim przebiegiem choroby, powikłaniami i odległymi następstwami. Do badania zakwalifikowano 94 chorych z rozpoznaniem COVID-19, hospitalizowanych w Oddziale COVID oraz Oddziale Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Wewnętrznych z Ośrodkiem Diagnostyki i Leczenia Endoskopowego (przekształconego w oddział dedykowany leczeniu pacjentów zakażonych SARS-CoV-2 w okresie 1.11.2021 – 31.12. 2021) Wojewódzkiego Szpitala Zespołowego im. J. Śniadeckiego w Białymstoku. Do badania włączono grupę kontrolną, którą stanowiło 30 dorosłych zdrowych osób, po wykluczeniu u nich testem molekularnym zakażenia SARS-CoV-2.

Pragnę wyrazić swoje uznanie dla realizacji projektu, gdyż miała ona miejsce w niewątpliwie trudnych, w okresie pandemii, warunkach pracy. Pracy wysoce uciążliwej ze względu na konieczność izolacji chorych, niekiedy utrudniony z nimi kontakt, bezwzględną potrzebę ścisłej ochrony samych pracowników medycznych oraz psychiczne obciążenia związane z dramatycznym, niepomysłnym przebiegiem choroby w wielu przypadkach. Podziwiając kolegów z Białegostoku, zdolnych do pracy badawczej w bezpośrednim zderzeniu z wyzwaniami, jakie niesła znana mi doskonale codzienność w „oddziale zakaźnym” dla chorych



z COVID, powtórzę, że nie była to sytuacja sprzyjająca realizacji badania naukowego, zaczynając od aktywności samego badacza, chęci podjęcia przez niego tematu, przez rekrutację potencjalnych uczestników (niełatwą ze względu na współistniejące u ciężko chorych osób zaburzenia świadomości, a także śmiertelność, która mogła dotyczyć rekrutowanych do analizy i wpływać na uzyskane wyniki na skutek „wypadnięcia z analizy”), do zabezpieczenia prób niezbędnych dla wykonania analiz laboratoryjnych.

W rozdziale ‘Materiał i metody’ Doktorant scharakteryzował dane zbierane w oparciu o wywiad lekarski i dokumentację medyczną chorych, kryteria ich podziału zależnie od przebiegu klinicznego zakażenia i stosowane metody leczenia, w tym tlenoterapię, leki przeciwwirusowe, przeciwzapalne, immunomodulujące oraz wentylację mechaniczną i leczenie niewydolności wielonarządowej. Szczegółowo opisał zakres analizy laboratoryjnej, wykonywanej przy przyjęciu pacjenta do szpitala i w 10 dobie nadal hospitalizowanych. Natomiast jeśli chodzi o diagnostykę radiologiczną zaciekała mnie informacja o wykonywaniu, u wszystkich pacjentów przyjmowanych do szpitala i włączonych do analizy, badania tomografii komputerowej o wysokiej rozdzielczości (HRCT). Pomimo wielu walorów tego typu analizy, wiadomo, że w okresie ostrej choroby przebiegającej z dynamiczną patologią układu oddechowego, w pandemii COVID-19, przy dużym obciążeniu liczbą wykonywanych badań oraz niekiedy w potrzebie powtarzania badania u pacjenta w niedługich odstępach czasu, niezwykle przydatne klinicznie, także w kontekście obciążenia dawką promieniowania, a nawet jako badanie przesiewowe dla oceny zakresu zajęcia płuc, okazało się badanie tomografii komputerowej niskodawkowe (LDCT), dokładne pod względem przewidywania niekorzystnego przebiegu klinicznego chorych zakażonych SARS-CoV-2. Proszę Doktoranta

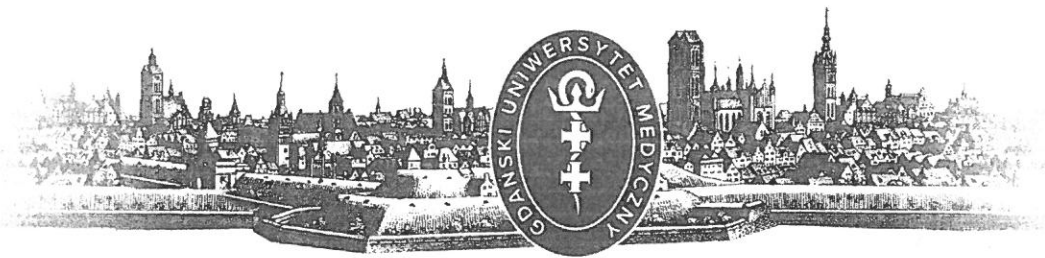




o wyjaśnienia dotyczące zagadnienia diagnostyki radiologicznej płuc w fazie ostrej choroby i na etapie śledzenia następstw.

W rozdziale 'Wyniki' Doktorant kolejno w tabelach zaprezentował (i) charakterystykę grup badanej i kontrolnej – z podaniem wartości średniej, mediany, wartości minimalnej, maksymalnej, kwartyli oraz odchylenia standardowego, (ii) porównanie badanych parametrów laboratoryjnych i dokonał szczegółowej analizy stężenia kwasu hialuronowego w surowicy zgodnie z wytyczonymi założeniami. Proszę jednak o wyjaśnienie pewnej rozbieżności danych zawartych w tabeli 9 z opisem w tekście (str. 65), a dotyczącym znamienych (a może tylko trendu przy braku istotności) różnic w pomiarach SaO<sub>2</sub>/SatO<sub>2</sub> oraz pCO<sub>2</sub> pomiędzy grupą badaną w 1 i 10 dniu, a grupą kontrolną. Może dla pełnej jasności powinna być zaprezentowana jeszcze tabela z wynikami badań laboratoryjnych wykonywanych w 1 i 10 dniu hospitalizacji, a także w grupie kontrolnej.

Analizując stężenia kwasu hialuronowego w odniesieniu do różnych aspektów choroby Doktorant wykazał dodatnią korelację tej wartości z wykładnikami stanu zapalnego, niewydolności nerek, stopniem uszkodzenia wątroby, a ujemną ze stopniem utlenowania krwi tętniczej, wskaźnikiem filtracji kłębuszkowej, liczbą erytrocytów i płytek krwi. Ciekawe jest to, że niektóre zależności utrzymywały się w 10 dobie hospitalizacji, m.in. ta obserwacja dotyczyła uszkodzenia wątroby, utlenowania krwi tętniczej i aktywności zapalenia, co z kolei może przekładać się na prognozowanie dotyczące charakteru i trwałości późnych następstw choroby.



W ‘Dyskusji’ doceniam zarówno umiejętność syntetycznego i przystępnego przedstawienia najważniejszych obserwacji własnych w odniesieniu do stanu wiedzy prezentowanego w publikacjach o zasięgu międzynarodowym, jak i sformułowania określonych ograniczeń swojej pracy. Dostrzegam w tym rozdziale prawdziwą pasję badacza, który pragnie zbliżyć się do zrozumienia trudnych, złożonych mechanizmów w patogenezie, nieopisywanej dotąd w podręcznikach szczegółowo choroby i jej następstw i nałożenia tego na niejednorodny, zróżnicowany osobniczo materiał kliniczny, który jak podkreśliłam na pewno nie było łatwo zebrać.

Pewne niedoskonałości edycyjne (np. niejednolite odstępy między wierszami w sekcji ‘Piśmiennictwo’), pojedyncze błędy literowe i gramatyczne, które dostrzegłam i o których muszę wspomnieć z obowiązku recenzenta, nie umniejszają merytorycznej wartości pracy. Myślę, że w ferworze pracy naukowej, na etapie formułowania myśli i przekształcania ich w słowo pisane zdarza się to wielu osobom.

Podsumowując Doktorant zrealizował z powodzeniem badanie, zgodnie z założonymi celami, prawidłowo dokonał szczegółowej analizy uzyskanych wyników i wyczerpująco, krytycznie, wskazując na ograniczenia, omówił je w odniesieniu do danych dostępnych w piśmiennictwie medycznym. Potwierdzam wkład niniejszej rozprawy doktorskiej w rozwój wiedzy o klinicznym przebiegu COVID-19, a co ważne w rozwój wiedzy o uwarunkowaniach przewlekłych jej następstw o różnej lokalizacji narządowej i możliwościach ich śledzenia. Uzyskane w niej wyniki mogą w dalszej perspektywie stanowić inspirację do projektowania i wdrażania nowych rozwiązań terapeutycznych w przybliżonych przez autora zastosowaniach.





Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lekarza Marcina Kazberuka spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określonym w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 poz. 742) i wnioskuję do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Katarzyna Skorska*

