

Prof. dr hab. n. med. Anatol Panasiuk

1. Zakład Medycyny Klinicznej,

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku,

2. Oddział Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Wewnętrznych

z Ośrodkiem Diagnostyki i Leczenia Endoskopowego,

Wojewódzki Szpital Zespolony w Białymstoku

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Lek. Adam Tworek

Wykorzystanie biernej immunizacji osoczem od rekonwalescentów jest znane i praktykowane od ponad 100 lat w zapobieganiu i leczeniu chorób epidemicznych oraz ciężkich chorób zakaźnych. Brak skutecznych terapii farmakologicznych skłania do szukania metod poprawiających rokowanie w ciężkich chorobach zakaźnych jak tężec, błonica. W XXI wieku stosowano osocze ozdrowieńców w leczeniu ptasiej grypy (H5N1) czy SARS-CoV uzyskując zmniejszenie ilości wirusa w drogach oddechowych. Swoiste przeciwciała neutralizujące zawarte w osoczu rekonwalescentów, podane we wczesnej fazie zakażenia/choroby, obniżają miano wirusa SARS-CoV-2 i tym samym zmniejszają ryzyko wystąpienia burzy cytokinowej. U osób obciążonych wielochorobowością nadzwyczaj silna reakcja immunologiczno-zapalna zwykle źle rokuje.

U osób po przebytych COVID-19 obecne są we krwi przeciwciała skierowane przeciwko antygenom wirusa SARS-CoV-2, głównie przeciwko antygenom N i S. Wyższe miana swoistych przeciwciał notuje się mężczyźni oraz u osób po przebyciu ciężkiej postaci klinicznej COVID-19. W osoczu ozdrowieńców istotna jest obecność przeciwciał przeciwko białku S, które mają zdolność neutralizowania wirusów. Kompleksy wirus-przeciwciała S są szybko i skutecznie eliminowane z krążenia przez makrofagi. Ponadto uszkodzone przez przeciwciała powierzchniowe białka kolca uniemożliwiają проникnięcie wirusa do komórki. Zatem pozytywnym następstwem tego procesu jest zmniejszenie wiremii SARS-Cov-2.

Badania prowadzono w okresie pandemii, kiedy występował niedobór skutecznych leków przeciwwirusowych oraz brak było szczepionki p/SARS-CoV-2. W obliczu nieprzewidywanego przebiegu choroby COVID-19, zwłaszcza u osób z grup ryzyka zagrożonych wysoką śmiertelnością stosowano różne metody terapeutyczne, w tym brano pod uwagę leczenie osoczem ozdrowieńców. Takie postępowanie wdrożono w większości krajów dotkniętych lawinowym wzrostem zachorowań na COVID-19. W czasie trwania pandemii pojawiały się kolejne warianty genetyczne wirusa SARS-CoV-2,

które charakteryzowały się różną wirulencją oraz obrazem klinicznym zakażenia. Dlatego wraz z powiększającą się bazą tych koronawirusów pojawiła się wątpliwość w zasadność stosowania osocza ozdrowieńców. Bowiem szybka mutacja wirusów powodowała, że potencjalni dawcy osocza przebyli COVID-19 spowodowany innym wariantem wirusa niż osoby, którym podawano to osocze.

Dlatego praca doktorska lek. Adama Tworka doskonale wpisuje się w potrzeby gromadzenia informacji epidemiologicznych, diagnostycznych i terapeutycznych zakażenia SARS-CoV-2. Praca doktorska jest zbiorem dwu prac oryginalnych oraz jednej pracy poglądowej, w których doktorant jest pierwszym autorem (łączny IF 13,774 i punktacja MEIN 190):

1. A. Tworek, K. Jaroń, B. Uszyńska-Kałuża, A. Rydzewski, R. Gil, A. Deptała, E. Franek, R. Wójtowicz, K. Życińska, I. Walecka, M. Cicha, W. Wierzba, A. Zaczęński, Z. J. Król, G. Rydzewska. **Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high risk COVID-19 patients – propensity score matched case-control study.** International Journal of Infectious Diseases, Volume 105, P209-215, April 2021 (MEIN: 100 IF: 12.073)
2. A. Tworek, K. Jaroń, B. Uszyńska-Kałuża, A. Rydzewski, M. Cicha, W. Wierzba, A. Zaczęński, Z. J. Król, G. Rydzewska. **The persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies after COVID-19: A one-year observation. Is a SARS-CoV-2 vaccination booster dose necessary?** Central European Journal of Immunology. 2023; 48 (2) (MEIN: 70, IF: 1.3)
3. A. Tworek, A. Rydzewski, K. Lewandowski, M. Głuszek-Osuch, G. Rydzewska. **COVID-19 humoral response.** Medical Studies. (MEIN: 140, IF: 0.4)

Na przeprowadzenie obydwu badań Doktorant uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej.

Doktorant sformułował trzy cele pracy:

- Ocena skuteczności i bezpieczeństwa terapii osoczem ozdrowieńców, poszukiwanie grup pacjentów, którym to leczenie przynosi największe efekty kliniczne
- Ocena czasu utrzymywania się odporności u osób po podaniu osocza ozdrowieńców
- Ocena długości utrzymywania się odpowiedzi immunologicznej u osób po przebytej infekcji wirusem SARS-CoV-2

W pierwszej pracy doktorant analizował skuteczność oraz bezpieczeństwo stosowania osocza ozdrowieńców u pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19. Było to badanie jednoośrodkowe, prospektywne przeprowadzone w grupie 102 pacjentów CSK MSWiA w okresie 24 kwiecień - 28 wrzesień 2020. Osocze pobrano od 49 mężczyzn, którzy spełniali kryteria potwierdzenia przebycia COVID-19 i mieli podwójnie ujemny test na SARS-CoV-2 metodą PCR w odstępie >24 godzin. Kryteria włączenia pacjentów do terapii osoczem: potwierdzone zakażenie SARS-CoV-2 metodą PCR, MEWS >2 pkt, objawy kliniczne oraz radiologiczne COVID-19. Preparaty osocza były przetaczane zgodnie z grupą krwi ABO dawcy i biorcy. W każdej dawce osocza oceniano ilościowo swoiste neutralizujące przeciwciała SARS-CoV-2 w klasie IgG anty-S1 i anty-S2. Osocze ozdrowieńców podawano w dawce 200

ml najpóźniej do 14 dnia trwania choroby COVID-19. Uwzględniając stan kliniczny, autorzy decydowali się na podanie jednej jednostki osocza 56 chorym, dwu jednostek 38 chorym oraz 8 chorym trzy jednostki po 200 ml. Odstęp między przetoczeniem osocza wynosił 24 godziny. Grupę kontrolną stanowiło 336 pacjentów z COVID-19. Autor wraz z grupą współbadaczy oceniali wpływ terapii osocza na śmiertelność, konieczność respiratoroterapii, czas pobytu w OIOM, długość hospitalizacji oraz czas eliminacji wirusa SARS-CoV-2. Zastosowano analizę regresji logistycznej do identyfikacji czynników wpływających na przebieg COVID-19 oraz wiele innych profesjonalnych testów statystycznych uwzględniających analizowane parametry. Iloraz szans (OR) wyliczono z modelu wielowymiarowego, zwalidowano wiele modeli statystycznych, wyliczono krzywą ROC.

Najczęstszą chorobą współtowarzyszącą była choroba układu sercowo-naczyniowego (nadciśnienie tętnicze, niewydolność serca, zaburzenia rytmu). Jedynie 2% hospitalizowanych chorych nie miało obciążeń chorobowych. Śmiertelność w grupie kontrolnej wynosiła 34,3% względem 13,7% wśród osób leczonych osoczem ozdrowieńców ($p < 0,001$) i dane te są porównywalne z obserwacjami innych badaczy. Dużą śmiertelność w grupie kontrolnej doktorant tłumaczy wysoką wielochorobowością w tej grupie chorych. Terapia osoczem nie miała wpływu na długość leczenia w OIOM oraz na czas respiratoroterapii. W modelach jednowymiarowych i wieloczynnikowych wykazano wyższe ryzyko zgonu u osób starszych, z niewydolnością serca, z aktywną chorobą nowotworową, poddanych respiratoroterapii. Autor wykazał, że płeć, nadciśnienie tętnicze, dializoterapia czy czas eliminacji SARS-CoV-2 nie miały wpływu na śmiertelność chorych z COVID-19. Nie wykazano zależności między dawką osocza a śmiertelnością, koniecznością stosowania respiratoroterapii oraz długością hospitalizacji. Autor wykazał, że wcześniejsze podanie osocza skracало czas respiratoroterapii, zmniejszało wartość skumulowanej liczby zgonów. Wysokie miano przeciwciał neutralizujących u dawców miało istotne znaczenie dla przebiegu klinicznego COVID-19, w tym zajęcia płuc. Dawców osocza rekrutowano spośród osób, które przeszły umiarkowaną lub ciężką postać choroby. Autor zaznacza, że brak randomizacji chorych do leczenia osoczem ozdrowieńców wynikał ze względów etycznych i masowych zachorowań na COVID-19. Doktorant podsumowuje, że terapia osoczem ozdrowieńców jest bezpieczna oraz skuteczna u osób z wysokim ryzykiem ciężkiej postaci klinicznej COVID-19.

W kolejnej pracy doktorant badał czas utrzymywania się przeciwciał neutralizujących SARS-CoV-2 anty-S1 i anty-S2 w okresie 12 miesięcy po przebytych zakażeniu. Badanie przeprowadzono w okresie 15 marzec - 26 maj 2020, czyli na początku pandemii. Są to bardzo ważne badania, które wyjaśnić miały stopień odporności po zakażeniu koronawirusem, informacji której jeszcze nie posiadano. Badaniu poddano 38 chorych (10 chorych miało umiarkowany lub ciężki przebieg choroby, a 28 postać łagodną nie wymagającą hospitalizacji), którym oznaczano przeciwciała po przechorowaniu (2-8 tyg.) i potwierdzeniu 2-krotnie ujemnego testu PCT oraz co 2 miesiące, a ostatnie badanie

wykonano po 12 miesiącach. Z badań wykluczono osoby leczone osoczem ozdrowieńców. Zastosowano adekwatne testy statystyczne do przeprowadzenia analizy wyników badań. Wynik dodatni przeciwciał ustalono na poziomie >15 AU/ml. U chorych z ciężkim przebiegiem COVID-19 miano przeciwciał było wyższe niż u osób z łagodną postacią choroby (186,4 AU/ml vs 134,5 AU/ml). Po roku od zakażenia dodatnia wartość przeciwciał utrzymywała się jedynie u 21 chorych, a mediana okresu półtrwania wynosiła 5,8 miesiąca. Nie wykazano zależności między stężeniem przeciwciał przeciw SARS-CoV-2 a wiekiem chorych. Na podstawie wyników badań doktorant wnioskuje, by utrzymać odporność na zakażenie należy podać dawkę szczepionki przynajmniej raz w roku. Autor doskonale przeprowadza konfrontację własnych wyników badań z wynikami innych badaczy.

Podsumowując, należy podkreślić że doktorant przeprowadził pionierskie badania na początku pandemii COVID-19. Publikacje wyników badań w prestiżowych czasopismach podkreślają ich wagę. Obserwacje przyczyniły się do zbudowania bazy informacyjnej o tej dramatycznej pandemii dla całej ludzkości. O doniosłości wyników badań świadczą bardzo liczne cytowania w literaturze medycznej.

Badania przeprowadzone przez doktoranta są unikalne w polskiej populacji chorych z COVID-19, co dodatkowo podkreśla walory pracy. Praca doktorska lekarza Adama Tworka doskonale wypełnia lukę wiedzy w tej dziedzinie. Przeprowadzenie badań doktoranta w szpitalu jednoimiennym, przeznaczonym w czasie pandemii do leczenia tylko pacjentów z COVID-19 jest wspaniałym połączeniem pasji naukowej z dramatem lekarza, który realizuje swoją misję.

Należy podkreślić, że prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej lekarza Adama Tworka są doskonałym uzupełnieniem aspektów wiedzy epidemiologicznej, oraz klinicznej o zakażeniu SARS-CoV-2.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lekarza Adama Tworka jest pracą wartościową, ma walory poznawcze oraz ważne znaczenie praktyczne, zawiera wiele cennych informacji epidemiologicznych i klinicznych o COVID-19. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2020 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2022 poz. 574).

Mam zaszczyt wystąpić do Rady Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lekarza Adama Tworka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie zwracam się do Rady z wnioskiem o wyróżnienie pracy lek. Adama Tworka. Uzasadnieniem mojego wniosku jest wyjątkowa oryginalność badań, których wyniki przyczyniły się do znacznego postępu wiedzy o pandemicznym wirusie SARS-CoV-2 w tak potrzebnym okresie dla medycyny.

Prof. dr hab. med. ANATOL PANASIUK
specjalista chorób zakaźnych,
medycyny morskiej i tropikalnej,
zdrowia publicznego
choroby wewnętrzne, patomorfologia