

Warszawa, 18 marzec 2024

**Recenzja rozprawy doktorskiej**

**lek.med Adama Tworka**

**pt. „Skuteczność leczenia osoczem ozdrowieńców oraz wybrane aspekty odpowiedzi immunologicznej w przebiegu choroby COVID-19”**

**wykonanej w Klinice Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii z Pododdziałem Leczenia Nieswoistych Chorób Zapalnych Jelit, Państwowego Instytutu Medycznego Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji**

**w Warszawie**

**pod kierunkiem**

**Prof. dr hab. n med. Grażyny Rydzewskiej**

Celem rozprawy doktorskiej lek. med. Adama Tworka była ocena efektów leczenia osoczem ozdrowieńców, pacjentów chorych na COVID-19, hospitalizowanych w Szpitalu MSWiA. W badaniu oceniano również wpływ na efekty zastosowanej terapii takich czynników jak choroby towarzyszące, wiek leczonych chorych oraz oceniano również długość trwania odpowiedzi immunologicznej w postaci przeciwciał neutralizujących IgG, skierowanych przeciwko podjednostkom S1/S1 wirusa SARS-CoV-2. Tego typu leczenie otrzymało 102 chorych, osocze uzyskano od 49 dawców-ozdrowieńców, a kryteria kwalifikujące do bycia dawcą osocza były tożsame z kryteriami dawstwa krwi przyjętymi przez Ministerstwo Zdrowia tj. musieli mieć oni potwierdzoną infekcję wirusem SARS-CoV-2 oraz wyleczenie potwierdzone w dwóch negatywnych testach PCR. Z kolei kryterium włączenia do terapii obejmowało zdiagnozowanie aktywnej choroby COVID-19, potwierdzone dodatnim wynikiem testu PCR. Poziom przeciwciał neutralizujących był mierzony przy użyciu Liaison SARS-CoV-2 S1/S2 IgG. 56 chorym podano jedną jednostkę osocza, 38 chorych otrzymało dwie jednostki, a 8 chorym podano trzy jednostki osocza ozdrowieńców. Pierwszorzędnym punktem końcowym badania była ocena śmiertelności w badanej grupie chorych. W drugim badaniu

18.03.24

oceniał czas i siłę odpowiedzi immunologicznej w grupie ozdrowieńców COVID-19. W badaniu wzięło udział 38 pacjentów, którzy byli dawcami osocza w pierwszym badaniu. Obserwacja trwała od 15 marca 2020 roku do 26 czerwca 2021 roku. Pomiar poziomu przeciwciał odbywał się w dwumiesięcznych interwałach. Oba badania odbyły się w Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie. W okresie wykonywania badań dominującym wariantem wirusa był wariant B.1.1.7 – tzw. wariant Alpha, charakterystyczny dla pierwszej fazy pandemii. Ocenę długości trwania odpowiedzi humoralnej na pierwotną infekcję przerwało wprowadzenia masowych szczepień ochronnych przeciwko wirusowi SARS-CoV-2.

Pod koniec 2019 r. przypadki zapalenia płuc o nieznanym przyczynie u pacjentów w Wuhan w Chinach doprowadziły do odkrycia wirusa zwanego koronawirusem. Nowoczesne szlaki transportowe między masowymi populacjami sprzyjały szybkiemu rozprzestrzenianiu się wirusa między kontynentami, wywołując niszczycielski wpływ obejmujący wiele aspektów ludzkiej egzystencji. W marcu 2020 r. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) ogłosiła pandemię nowego koronawirusa. W obliczu tej nowej globalnej sytuacji zdrowotnej reakcje związane z grupami ryzyka, środkami ograniczającymi, łagodzącymi, tłumiącymi i naprawczymi były przedmiotem działań i badań w dziedzinie zdrowia publicznego, prowadzonych w bezprecedensowym tempie. Jeśli chodzi o grupy ryzyka, starsze osoby dorosłe zostały początkowo zidentyfikowane jako bardziej narażona populacja. W 2020 r., kiedy nie była dostępna żadna szczepionka, sytuacja była dramatyczna w kilku krajach. Śmiertelność między różnymi grupami wiekowymi znacznie się różniła, ze śmiertelnością wynoszącą prawie zero u małych dzieci (0,0221%), 4,2% u dorosłych w wieku 50-60 lat i do 40% u pacjentów w podeszłym wieku. Sytuacja uległa zmianie kiedy pierwsze szczepionki stały się dostępne w 2021 r., ale także po raz drugi, kiedy znacznie bardziej zakaźny wariant Omicron szybko pokonał wariant Delta pod koniec 2021 roku. Niestety, wariant Omicron

wykazywał wiele zmian aminokwasowych (z których 18 znajdowało się w interfejsie wiążącym ACE2) - w porównaniu z wariantem delta (2 zmiany aminokwasowe w interfejsie wiążącym ACE2). Przedstawiona mi do recenzji praca jest doskonałym przykładem wykorzystania dokonań Szpitala MSWiA w tym trudnym dla całej polskiej populacji sytuacji epidemiologicznej. Badania przeprowadzono w oparciu o najświeższe w tym okresie wytyczne, zarówno odnośnie do terapii jak i diagnostyki. Jeżeli chodzi o wyniki to w badaniu oceniającym efekty działania osocza ozdrowieńców wykazano zmniejszenie śmiertelności w grupie chorych przyjmujących osocze ozdrowieńców (13,7% śmiertelności w grupie pacjentów przyjmujących vs 34,3% śmiertelności w grupie kontrolnej). Jednocześnie badanie oceniające efekty leczenia osoczem ozdrowieńców wykazało wyższą korzyść kliniczną w grupie chorych którzy otrzymali takie osocze na wczesnym etapie choroby (do 72 godzin od momentu wystąpienia objawów), u chorych z ciężkim przebiegiem choroby oraz chorobami towarzyszącymi, w tym szczególnie u chorych z niewydolnością serca i aktywną chorobą nowotworową. Z kolei w drugim badaniu, oceniającym długość trwania odpowiedzi humoralnej w przebiegu zachorowania na COVID 19 wykazano, że po 12 miesiącach od zakażenia u ponad 56% analizowanych chorych stwierdzano obecność ochronnego poziomu przeciwciał neutralizujących. Tak więc wykazano, że leczenie osoczem ozdrowieńców jest skuteczną strategią terapeutyczną zmniejszającą śmiertelność. Największą korzyść z postępowania terapeutycznego odnieśli chorzy z ciężkim przebiegiem COVID-19, zwłaszcza z chorobami towarzyszącymi. Obserwacja długości trwania odpowiedzi humoralnej pacjentów po przebytej infekcji COVID-19 wykazała, że konieczne jest stosowanie dawki przypominającej szczepienia przeciwko COVID-19, w szczególności w grupie pacjentów z deficytami odporności oraz chorobami towarzyszącymi.

#### **Ocena układu rozprawy doktorskiej i formalnej strony pracy.**

Rozprawa doktorska lek. med. Adama Tworka przygotowana została jako cykl trzech artykułów – jednej pracy poglądowej oraz dwóch prac oryginalnych dotyczących czasu trwania

18.03.24

odpowiedzi immunologicznej u ozdowieńców oraz zastosowania terapii osoczem ozdowieńców w terapii COVID-19. Podkreślić należy, że wszystkie prace składające się na cykl zostały opublikowane w renomowanych czasopismach z listy JCR o wysokich współczynnikach wpływu oraz dużej liczbie punktów MNiSW. Sumaryczna wartość współczynnika IF dla tych prac wyniosła ok. 13,777 (średni IF=4,59), a liczba punktów MNiSW 310, a nie jak wykazał Doktorant 190.

Praca przeglądowa opublikowana została w 2023 roku w czasopiśmie Medical Studies, Studia Medyczne już po ukazaniu się prac oryginalnych jako ostatnia z cyklu (punktacja MEiN:140, Impact Factor: 0.4), natomiast dwie prace doświadczalne w 2021 (International Journal of Infectious Diseases; punktacja MEiN:100, Impact Factor: 12.073) oraz w 2023 roku w Central European Journal of Immunology (punktacja MEiN: 70, Impact Factor: 1.3). We wszystkich publikacjach składających się na cykl, będący podstawą rozprawy, Doktorant jest pierwszym autorem, a ponadto zgodnie z zamieszczonymi oświadczeniami, miał On bardzo duży tj. 70% udział w tworzeniu tych publikacji. Lek. med. Adam Tworek oświadczył, że we wszystkich pracach recenzowanego cyklu, Jego wkład w powstawanie publikacji obejmował opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami jak również gromadzenie baz danych, analizę statystyczną, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu. Tak duży wkład świadczy o bardzo dużym zaangażowaniu i samodzielności Autora. Jednocześnie skład autorski tych publikacji wskazuje na duże wsparcie i współdziałanie zespołu badawczego w realizacji badań, których wyniki zawarte są w niniejszej rozprawie doktorskiej. Pominę szczegółową ocenę takich rozdziałów jak spis tabel i rycin, wykaz stosowanych skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, wstęp, założenia i celu pracy, materiał i metody jak również podsumowanie i wnioski ponieważ mają typowy układ i formę. Jedynie z obowiązku recenzenta poprawiłbym kilka błędów ortograficznych, które nie wpływają jednak na ocenę całości pracy.

Doniesienie pt. „**Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high-risk COVID-19 patients - propensity-score matched case-control study**” było prospektywnym badaniem, które objęło 204 pacjentów hospitalizowanych w jednym szpitalu z powodu COVID-19, z których 102 było leczonych podawaniem osocza ozdrowieńców (PG), a 102 chorych grupy kontrolnej otrzymało wyłącznie opiekę standardową (CG). Grupa CG została wybrana spośród 336 hospitalizowanych pacjentów przy użyciu techniki propensity-score matching (PSM) z wykorzystaniem wieku, wyniku MEWS i chorób współistniejących. Pierwszorzędowym punktem końcowym był wskaźnik śmiertelności; drugorzędowymi punktami były: zapotrzebowanie na respirator, długość pobytu na oddziale intensywnej terapii medycznej (OIOM) i długość całkowitego pobytu w szpitalu. Dodatkowo zidentyfikowano parametry przewidujące zgon u pacjentów z COVID-19. Wyniki potwierdziły istotnie niższą śmiertelność w grupie PG w porównaniu z grupą CG (13,7% vs. 34,3%,  $p = 0,001$ ) oraz istotną różnicę w skumulowanej częstości występowania zgonów między dwiema grupami ( $p < 0,001$ ). Leczenie CP wiązało się z niższym ryzykiem zgonu ( $OR = 0,25$  CI<sub>95</sub> [0,06; 0,91],  $p = 0,041$ ). Nie stwierdzono istotnych różnic w czasie pobytu na oddziale intensywnej terapii, czasie respiratoroterapii i czasie hospitalizacji między obiema grupami. W konkluzji stwierdzono, że wiek, obecność niewydolności serca, aktywna choroba nowotworowa, konieczność stosowania respiratora i długość hospitalizacji znacząco zwiększały ryzyko zgonu w obu badanych grupach. Badanie wskazało, że CP zapewnia lepsze wyniki, gdy jest podawane we wcześniejszym stadium choroby wysokiego ryzyka COVID-19.

Z kolei w drugim badaniu oryginalnym pt. „**The persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies after COVID-19: A one-year observation. Is a SARS-CoV-2 vaccination booster dose necessary?**” celem było zbadanie trwałości przeciwciał neutralizujących SARS-CoV-2 (NAbs) rok po zakażeniu COVID-19. Badaniem objęto 38 pacjentów - 34 mężczyzn i 4 kobiety - chorujących na COVID-19. Mediana wieku w grupie wynosiła 31 lat, w zakresie od 22 do 67.

Poziomy przeciwciał neutralizujących mierzono w trzech punktach czasowych - na początku badania, po 6 i 12 miesiącach. Pierwszorzędowym punktem końcowym był dodatni wynik NAbs po zakażeniu ( $> 15$  AU/ml; test ilościowy Liaison SARS-CoV-2 S1/S2 IgG) 12 miesięcy po zakażeniu. Wykazano, że mediana poziomu NAbs po 12 miesiącach wynosiła 26,5 AU/ml. Pod koniec obserwacji (12 miesięcy) 21 z 38 pacjentów miało poziom NAb  $>15$  AU/ml (dodatni). Mediana okresu półtrwania przeciwciał wynosiła 5,8 miesiąca. Wysoki odsetek pacjentów utrzymywał dodatni poziom przeciwciał 6 i 12 miesięcy po zakażeniu COVID-19. Dynamika spadku poziomu przeciwciał sugeruje potrzebę szczepienia przypominającego co najmniej raz w roku.

Praca pogładowa pt. „**Covid-19 odpowiedź humoralna**” omawia problemy dotyczące odpowiedzi humoralnej przeciw Covid-19 i jest typowym dobrze opracowanym przeglądem systematycznym dotyczącym problemu.

**Podsumowanie.** Recenzowana rozprawa doktorska składa się z cyklu publikacji o wysokiej wartości merytorycznej. Indywidualny udział Doktoranta w pracach tworzących rozprawę stanowi potwierdzenie Jego wiedzy i umiejętności prowadzenia pracy naukowej.

**Wniosek końcowy.** W mojej opinii przedstawiona mi recenzji rozprawa doktorska lek. med. Adama Tworka w pełni spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. **Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668)**. W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o kontynuowanie postępowania o nadanie lek. med. Adamowi Tworkowi stopnia doktora.

prof. dr hab. n. med. Maciej GONCIARZ