

Akademia Śląska

40-555 Katowice, ul. Rolna 43

Wydział Nauk Medycznych

Katedra Immunologii

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej na stopień doktora nauk medycznych

Pana magistra Pawła Kozłowskiego

**p.t." Ocena markerów uszkodzenia śródbłonka i rozwoju autoimmunizacji
po zakażeniu SARS-CoV-2**

u osób nieobciążonych dodatkowymi czynnikami ryzyka"

Pozyskanie wiedzy o tym jakie mogą być odległe konsekwencje kliniczne przebytego zakażenia SARS-CoV-2 wymaga czasu. Wyniki badań pokazują, że u osób, które przebyły infekcję, obserwuje się zmiany w śródbłonku naczyń krwionośnych. Dlatego zasadne wydaje się prowadzenie badań, które dostarczą informacji o tym, czy i w jakim stopniu, zakażenie SARS-CoV-2 może doprowadzić do rozwoju odległych problemów klinicznych. Objawy obserwowane w ostrej postaci choroby zwróciły uwagę na konsekwencje kliniczne, które mogą być wynikiem uszkodzenia śródbłonka. Ponieważ zmiany w śródbłonku nie ograniczają się tylko do ostrej fazy choroby, dlatego zasadne wydaje się sprawdzenie czy u osób, u których przebieg kliniczny zakażenia miał charakter łagodny lub bezobjawowy, mogą pojawić się odległe problemy zdrowotne, takie jak choroby autoimmunizacyjne czy zwiększone ryzyko wystąpienia chorób zatorowo-zakrzepowych. Oba te zjawiska w perspektywie czasu mogą prowadzić do problemów zdrowotnych u osób, które miały kontakt z wirusem.

W problematykę tę dobrze wpisuje się rozprawa doktorska mgr Pawła Kozłowskiego wykonana pod kierunkiem Pani prof. dr hab. n. med. Olgi Ciepieli w Zakładzie Medycyny Laboratoryjnej, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Środki na badania pozyskano z grantu wewnętrznego WUM.

Ocenianą rozprawę doktorską stanowi cykl trzech publikacji, w tym dwóch oryginalnych i jednej pogładowej poświęconych ocenie ryzyka rozwoju chorób autoimmunizacyjnych oraz chorób wynikających z uszkodzenia śródbłonna u osób po przebytych zakażeniami SARS-CoV-2. Wszystkie publikacje znalazły się w czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania (IF). Prace oryginalne zostały już opublikowane. Pierwsza z nich w *Medicine* w 2022 roku, druga w *Scandinavian Journal of Immunology* w 2023 roku. Łączny IF tych dwóch publikacji wynosi 7,6 oraz 210 punktów MNiSW. Natomiast trzecia publikacja - to praca pogładowa już po recenzjach (*pre-proof*), przyjęta do druku w *Journal of Medicine Open*, dla której Doktorant podaje tylko 5 punktów MNiSW. We wszystkich tych publikacjach mgr Paweł Kozłowski jest pierwszym autorem.

We Wstępie Doktorant dobrze wprowadza w problematykę badawczą. Szczegółowo omawia budowę i cykl replikacyjny wirusa. W dalszej części tego rozdziału charakteryzuje chorobę COVID-19 zwracając szczególną uwagę na objawy kliniczne w przypadku ostrej postaci choroby. Następnie zwraca uwagę na występowanie, czynniki ryzyka i objawy kliniczne "long COVID". W kolejnej części Wstępu omawia uszkodzenie śródbłonna naczyń w następstwie zakażenia wirusem. Doktorant zwraca uwagę, że konsekwencją tego może być uruchomienie mechanizmów immunologicznych i zaburzenie procesów aktywacji układu hemostazy. Na końcu Wstępu zawarte są informacje o procesach, których zakłócenie może sprzyjać autoimmunizacji u osób po przebytej infekcji SARS-CoV-2.

Mam kilka uwag do tej części pracy. W rozdziale tym zamiast słowa "manifestacja" lepiej byłoby użyć "objawy kliniczne" (str.14, 23), zamiast "prewalencja" na stronie 25, proponuję "współczynnik chorobotwórczości" i na tej samej stronie zamiast "zaburzenia afektu" napisać "zaburzenia nastroju". Mam jeszcze ogólną uwagę dotyczącą cytowania i dotyczy ona całej pracy. Zwyczajowo piśmiennictwo cytuje się w nawiasach kwadratowych, a nawiasy okrągłe służą tylko do wyjaśniania skrótów. Mam również uwagę do tabeli nr III na stronie 36. Jej tytuł wskazuje, że zawiera wykaz chorób i stanów autoimmunizacyjnych,

dlatego w wierszu nr 8 zamiast "obecność przeciwciał antyfosfolipidowych" lepiej byłoby napisać "zespoły, którym towarzyszy występowanie przeciwciał antyfosfolipidowych".

Założenia i cele pracy są jasno sformułowane. Poszukiwanie markerów pomocnych do oceny stopnia uszkodzenia śródbłónka przez wirusa wydaje się zasadne. Autor stara się ustalić, czy u osób, które nie są obciążone czynnikami ryzyka, zakażenie SARS-CoV-2 może stanowić zagrożenie rozwojem odległych powikłań wynikających z uszkodzenia śródbłónka naczyń. Celem badań Doktoranta jest pogłębienie wiedzy na temat czynników które mogą być pomocne do diagnostyki odległych skutków klinicznych po infekcji SARS-CoV-2.

Mam kilka uwag redakcyjnych do celów pracy. Do celu nr 1 można byłoby dodać słowo "stopień" uszkodzenia komórek śródbłónka. Natomiast w celu nr 3 Autor raczej próbuje "ustalić" fenotyp, a nie "oceniać" go, poszukując dopiero parametrów, które mogłyby być przydatne do przewidywania odległych skutków infekcji.

Wszystkie trzy przedstawione do recenzji publikacje tworzą cykl poświęcony pogłębieniu wiedzy o ewentualnych konsekwencjach klinicznych przebytego zakażenia wirusem SARS-CoV-2, zwłaszcza o łagodnym lub bezobjawowym przebiegu klinicznym, u osób, które nie są obciążone dodatkowymi czynnikami ryzyka. Doktorant stara się ustalić czy może to prowadzić do przetrwałego uszkodzenia śródbłónka i przyczynić się do rozwoju chorób o podłożu autoimmunizacyjnym i zaburzeń hemostazy.

Do realizacji założonych celów Doktorant wykorzystał surowicę pochodzącą od 294 dawców krwi, z czego 215 osób miało w surowicy przeciwciała przeciwko białku N wirusa, osoby te tworzyły grupę badaną. W badaniu brało udział również 75 dawców krwi w surowicy których nie wykryto przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2, którzy tworzyli grupę kontrolną. U wszystkich zbadano stężenie wybranych markerów uszkodzenia śródbłónka i glikokaliksu oraz poszukiwano przeciwciał przeciwwądrowych i przeciwko β -2-glikoproteinie.

W publikacji "Mild - to - moderate COVID-19 convalescents may present pro-longed endothelium injury" Doktorant oceniał stopień nasilenia stanu zapalnego, aktywację komórek śródbłónka i uszkodzenia glikokaliksu u ozdrowieńców, czego miarą było stężenie selektyny - E i syndekanu - 1. Ten etap badań wykazał, że u osób nieobciążonych dodatkowymi czynnikami ryzyka, po minimum 6 miesiącach obserwuje się cechy

przetrwałego uszkodzenia i przetrwałej aktywacji śródbłonna, być może z utrzymującym się zaburzeniem struktury glikokaliksu.

W publikacji "Mild to moderate COVID-19 does not predispose to the development of autoimmune rheumatic diseases or autoimmune - based thrombosis", Doktorant przedstawił wyniki badań dotyczące występowania przeciwciał ANA i przeciwciał przeciwko β 2-glikoproteinie w surowicy badanych osób. Z badań wynika, że osoby nieobciążone, po przebyciu infekcji SARS-CoV-2 mogą być narażone na rozwój chorób związanych z przetrwałym uszkodzeniem śródbłonna. Póki co, w badanej grupie nie wykazano zwiększonego ryzyka rozwoju procesów autoimmunizacyjnych. Zdaniem Doktoranta należy prowadzić podobne badania w dłuższym przedziale czasowym od infekcji.

Trzecia publikacja "Long COVID definition, symptoms, risk factors, epidemiology and autoimmunity. A narrative review" przyjęta do druku w American Journal of Medicine Open w bardzo staranny sposób porządkuje informacje dotyczące relacji SARS-CoV-2 z układem odpornościowym człowieka i wskazuje jaki to może mieć wpływ na kształtowanie fenotypu immunologicznego.

Mam kilka uwag redakcyjnych do części Podsumowanie. Na stronie 123 niezręcznie brzmi zwrot "dawstwo krwi", zamiast "krwiodawstwo". Na stronie 126 "epifenomen" można zastąpić zwrotem "zjawisko wtórne". Na tej samej stronie troszkę niezręcznie brzmi zwrot "ogólnie zdrowych" czy mało precyzyjne określenie "w okresie krótszym niż 6 miesięcy od ustąpienia choroby". Zdziwiła mnie informacja o trudnościach z pozyskaniem przez Doktoranta takich informacji o badanych osobach, jak płeć czy wiek.

Sformułowane przez Doktoranta trzy wnioski odpowiadają na wcześniej postawione cele pracy. Piśmiennictwo wykorzystane do realizacji dysertacji liczy 228 pozycji. Opracowanie kończą oświadczenia współautorów publikacji oraz spis rycin i tabel. Wysoko oceniam wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej Pana mgr Pawła Kozłowskiego. Temat rozprawy jest aktualny. Wybór tematu został dobrze uzasadniony. Rozprawa potwierdza dobre przygotowanie Doktoranta do realizacji tematu. Badania zostały rzetelnie zaplanowane, z wykorzystaniem nowoczesnego warsztatu naukowego. Wyniki badań dostarczają informacji o mało poznanych konsekwencjach klinicznych zakażenia SARS-CoV-2. Pragnę podkreślić dużą staranność przygotowania dysertacji do recenzji. Praca stanowi

oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Wyniki badań zostały opublikowane w czasopismach międzynarodowych o wysokim współczynniku oddziaływania.

Rozprawa doktorska mgr Pawła Kozłowskiego spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668). W związku z powyższym wnioskuję do Rady Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o przyjęcie i dopuszczenie mgr Pawła Kozłowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Katowice 29.04.2024 r

