



prof. dr hab. Jacek Wysocki
Kierownik Katedry i Zakładu Profilaktyki Zdrowotnej
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, dn. 15 stycznia 2024 roku

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lek. Paweł Zapolnik

Analiza wpływu szczepienia BCG na częstość występowania oraz przebieg zakażeń SARS-CoV-2 wśród pracowników ochrony zdrowia w Polsce

Wstęp

Szczepionka BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) należy do najstarszych z aktualnie używanych szczepionek u ludzi i służy zapobieganiu rozszalanym formom gruźlicy. Ma już ponad 100-letnią historię, ale jej znaczenie dla odporności nieswoistej, skierowanej przeciwko innym patogenom pozostaje nadal nierozpoznane. W niedługim czasie po wprowadzeniu jej do masowego użycia pojawiły się doniesienia o wpływie BCG na spadek śmiertelności niemowląt z innych przyczyn niż gruźlica. Podobne obserwacje dotyczyły zmniejszenia śmiertelności o 25% z przyczyn innych niż gruźlica w grupie nastolatków i dzieci młodszych w Stanach Zjednoczonych i Wielkiej Brytanii. Publikacje już z XXI wieku dowodziły, iż szczepienie BCG wiąże się ze zmniejszoną częstością występowania chorób infekcyjnych oraz śmiertelnością dzieci z niską urodzeniową masą ciała. Efekt ten był wiązany ze wzmocnieniem procesu odpowiedzi immunologicznej i produkcji cytokin prozapalnych po szczepieniu BCG. Obserwowane zjawiska nazwano "odpornością wytrenowaną" (ang. *trained immunity*), co oznacza, że kolejny kontakt z czynnikiem zakaźnym (niekoniecznie tym samym) daje wzmożoną odpowiedź, niezależną od odporności wtórnej.

Podczas pandemii choroby koronawirusowej COVID-19 wysunięto hipotezę, że w krajach nieprowadzących powszechnej profilaktyki gruźlicy występuje wyższy

odsetek ciężkiego przebiegu choroby niż w krajach od dawna stosujących powszechnie tę profilaktykę. Podejrzewano również, iż istnieje korelacja pomiędzy okresem prowadzenia powszechnych szczepień przeciw gruźlicy, a śmiertelnością z powodu COVID-19. W związku z tym inni autorzy sugerowali wykorzystanie szczepionki BCG jako narzędzia ochronnego przeciw COVID-19.

W świetle przedstawionych wyżej faktów oraz biorąc pod uwagę ciągle niepoznane w pełni działania nieswoiste szczepionki przeciwko gruźlicy uważam za bardzo celowe i niezwykle wartościowe przedstawienie w prezentowanej rozprawie doktorskiej badań mających na celu zweryfikowanie wpływu rewakcytacji BCG na częstość i przebieg zakażeń SARS-CoV-2 w populacji pracowników ochrony zdrowia w Polsce wcześniej zaszczepionych przeciw gruźlicy oraz podjęcie próby zdefiniowania cech specyficznych wpływających na wyniki.

Rozprawa doktorska lek. Pawła Zapólnika oparta jest na cyklu trzech niżej wymienionych publikacji:

1. Czajka, H., Zapólnik, P., Krzych, Ł., Kmiecik, W., Stopyra, L., Nowakowska, A., Jackowska, T., Darmochwał-Kolarz, D., Szymański, H., Radziejewicz-Winnicki, I., Mazur, A.: A Multi-Center, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial Evaluating the Impact of BCG Re-Vaccination on the Incidence and Severity of SARS-CoV-2 Infections among Symptomatic Healthcare Professionals during the COVID-19 Pandemic in Poland - First Results. *Vaccines* 2022; 10: 314. <https://doi.org/10.3390/vaccines10020314>
IF = 4,422; MEiN = 140 pkt.
2. Zapólnik, P., Kmiecik, W., Nowakowska, A., Krzych, Ł.J., Szymański, H., Stopyra, L., Jackowska, T., Darmochwał-Kolarz, D., Mazur, A., Czajka, H.: A Multi-Centre, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial Evaluating the Impact of BCG Re-Vaccination on the Incidence and Severity of SARS-CoV-2 Infections among Symptomatic Healthcare Professionals during the COVID-19 Pandemic in Poland - Evaluation of Antibody Concentrations. *Vaccines* 2023; 11: <https://doi.org/10.3390/vaccines11010075>
IF = 4,961; MEiN = 140 pkt.

3. Zapolnik, P., Kmiecik, W., Mazur, A., Czajka, H.: Trained Immunity, BCG and SARS-CoV-2 General Outline and Possible Management in COVID-19. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24, 3218. <https://doi.org/10.3390/ijms24043218>
IF = 6,208; MEiN = 140pkt.

Sumaryczna punktacja całego cyklu prac: IF = 15,591, MEiN = 420 pkt.

Analiza publikacji

1. Czajka, H., Zapolnik, P., Krzych, Ł., Kmiecik, W., Stopyra, L., Nowakowska, A., Jackowska, T., Darmochwał-Kolarz, D., Szymański, H., Radziejewicz-Winnicki, I., Mazur, A.: **A Multi-Center, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial Evaluating the Impact of BCG Re-Vaccination on the Incidence and Severity of SARS-CoV-2 Infections among Symptomatic Healthcare Professionals during the COVID-19 Pandemic in Poland - First Results.** *Vaccines* 2022; 10: 314. <https://doi.org/10.3390/vaccines10020314>

W pracy przedstawiono wyniki badania wieloośrodkowego, randomizowanego, podwójnie zaślepionego z kontrolą przy użyciu placebo przeprowadzonego na grupie 695 pracowników ochrony zdrowia w wieku ≥ 25 lat. U wszystkich uczestników badania wykonano test tuberkulinowy, a osoby z ujemnym wynikiem tego testu przydzielono losowo w proporcji 1:1 do jednej z dwóch grup: w jednej podawano szczepionkę BCG, a w drugiej placebo. Te osoby poddawano następnie 3-miesięcznej obserwacji pod kątem objawów COVID-19. Wyniki pracy wykazały brak korelacji pomiędzy częstością występowania incydentów wskazujących na podejrzenie COVID-19 a szczepieniem BCG, a także brak korelacji z wynikiem testu tuberkulinowego i liczby blizn wskazujących na wcześniej podane dawki BCG. Stwierdzono jedynie związek z wykonywanym zawodem medycznym – u pielęgniarek stwierdzano COVID-19 częściej niż w innych grupach zawodowych. Ważnym zastrzeżeniem umieszczonym w pracy przez autorów było zwrócenie uwagi na brak w badaniu osób nigdy nie szczepionych przeciwko gruźlicy, co w warunkach polskich było praktycznie niemożliwe do zrealizowania.

2. Zapolnik, P., Kmiecik, W., Nowakowska, A., Krzych, Ł.J., Szymański, H., Stopyra, L., Jackowska, T., Darmochwał-Kolarz, D., Mazur, A., Czajka, H.: **A Multi-Centre, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial**

Evaluating the Impact of BCG Re-Vaccination on the Incidence and Severity of SARS-CoV-2 Infections among Symptomatic Healthcare Professionals during the COVID-19 Pandemic in Poland - Evaluation of Antibody Concentrations. *Vaccines* 2023; 11: 75.

<https://doi.org/10.3390/vaccines11010075>

W pracy tej przedstawiono wyniki analizy celów drugorzędowych badania wieloośrodkowego, randomizowanego, podwójnie zaślepionego z kontrolą przy użyciu placebo przeprowadzonego na grupie pracowników ochrony zdrowia. W tej analizie porównano stężenie specyficznych przeciwciał przeciwko SARS-Cov-2 po szczepieniu w grupach pracowników z dodatnim testem tuberkulinowym oraz z ujemnym wynikiem tego testu, którym podano dawkę szczepionki BCG lub placebo. Stężenie przeciwciał przeciwko SARS-Cov-2 badano po okresie 1-2 miesięcy od podania drugiej dawki szczepionki przeciwko COVID-19 (352 osoby) i po 7-8 miesiącach od podania tej szczepionki (200 osób). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w stężeniu swoistych przeciwciał poszczepiennych pomiędzy grupami badanymi, a także nie wykazano, aby to stężenie przeciwciał korelowało z innymi cechami uczestników badania, takimi jak wiek, płeć czy BMI (Body Mass Index). W wymienionych w pracy ograniczeniach autorzy zwracają uwagę, że nie analizowali roli innych czynników, takich jak choroby współistniejące, zażywane leki czy stosowana dieta.

3. Zapolnik, P., Kmiecik, W., Mazur, A., Czajka, H.: **Trained Immunity, BCG and SARS-CoV-2 General Outline and Possible Management in COVID-19.** *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24: 3218. <https://doi.org/10.3390/ijms24043218>

Publikacja ta ma charakter pracy poglądowej poświęconej zagadnieniu „odporności wytrenowanej” z udziałem szczepionki BCG i jej wpływu na COVID-19. Autorzy uwzględnili w tej analizie 12 opublikowanych artykułów (włącznie z własnym badaniem) dotyczących wpływu szczepienia BCG na zakażenie wywołane przez SARS-CoV-2. Praca ta stanowi bardzo interesujące omówienie zjawiska „odporności wytrenowanej” na przykładzie analizy wyników badań dotyczących BCG i COVID-19. Autorzy w tej pracy rozważali rolę szczepienia BCG w zapobieganiu COVID-19, co w związku z rozwojem szczepionek przeciwko tej chorobie straciło na znaczeniu, ale trzeba podkreślić, że pozostaje jako niezaprzeczalny dorobek kolejny etap badań nad „odpornością wytrenowaną” i nieswoistym wpływem szczepionki BCG na układ odpornościowy człowieka.

Analiza podsumowania cyklu prac

Lekarz Paweł Zapolnik przedstawił w pierwszej części swojej rozprawy doktorskiej cel główny badań, którym było zweryfikowanie hipotezy, że ponowne szczepienie przeciw gruźlicy szczepionką BCG wpływa na częstość zakażeń SARS-CoV-2 oraz na przebieg COVID-19. Aby osiągnąć zamierzony wynik sformułował sześć celów szczegółowych, które przedstawił na stronach 10 i 11 swojej rozprawy. Wyniki niezbędne do analizy uzyskał z projektu „Wielośrodkowe, randomizowane, prowadzone metodą podwójnie ślepej próby badanie fazy III z grupą kontrolną przyjmującą placebo, oceniające wpływ szczepień przeciw gruźlicy na zapadalność i przebieg zakażeń wirusem SARS-CoV-2 oraz na efekt uodpornienia po szczepieniu przeciw COVID-19 wśród pracowników ochrony zdrowia w Polsce podczas pandemii COVID-19”, (nr protokołu: BCG/COVID-19/UR/04/2020, EudraCT No. 2020- 002111-22, NCT04648800) sfinansowanego przez Agencję Badań Medycznych. Należy zwrócić uwagę na bardzo wartościowy ze względu na wiarygodność uzyskanych wyników model badania – randomizowany dobór uczestników z zachowaniem podwójnego zaślepienia, z grupą kontrolną i użyciem placebo. Wartość uzyskanych wyników podnosi także fakt włączania uczestników w kilku ośrodkach – początkowo 6, a następnie 4. Trzeba podkreślić, że projekt był realizowany w czasie dynamicznie zmieniającej się sytuacji pandemii COVID-19. W pierwszym etapie pracy brak było skutecznej metody profilaktyki swoistej tej choroby, a w drugim pracownicy ochrony zdrowia byli już poddawani szczepieniom. Autorzy programu bardzo umiejętnie zmodyfikowali przebieg drugiego etapu badań, co w istotny sposób pozwoliło Doktorantowi na pogłębienie wartości poznawczej swojej dysertacji.

Recenzent stwierdza, że metodyka wybrana do osiągnięcia zaplanowanych celów była prawidłowa, co zostało także uznane przez recenzentów dopuszczających publikację do druku. W dyskusji wyników zamieszczonej w dysertacji doktorskiej Autor odnosi się do publikacji pochodzących z innych krajów, ale jeszcze głębszą analizę porównawczą znaleźć można w publikacjach wchodzących w skład cyklu, a zwłaszcza w artykule poglądowym (trzecia praca z cyklu). Doktorant przedstawia w rozprawie podsumowanie uzyskanych wyników w siedmiu punktach (str. 16) oraz następujące wnioski z nich wynikające:

1. Na podstawie przeprowadzonego badania oraz analizy statystycznej uzyskanych wyników można przedstawić jako główny wniosek, że rewakcyacja szczepionką BCG nie ma wpływu na zachorowalność na COVID-19 wśród pracowników ochrony zdrowia w Polsce.
2. Szczepienie BCG nie podnosi także stężenia przeciwciał po podaniu szczepionki przeciw COVID-19.
3. Z uwagi na niejednoznaczne rezultaty badań przeprowadzonych w tym samym czasie w innych krajach, działanie szczepionki BCG wymaga dalszych badań, w tym poszerzenia wiedzy na temat mechanizmów molekularnych i komórkowych odpowiedzi immunologicznej na patogeny inne niż prątek gruźlicy.

Recenzent stwierdza, że sformułowane wnioski odpowiadają celowi ogólnemu i celom szczegółowym rozprawy doktorskiej i są uzasadnione uzyskanymi wynikami badań.

W rozprawie doktorskiej Autor zamieścił także wykaz piśmiennictwa (28 pozycji) prawidłowo dobranych i właściwie wykorzystanych w rozprawie oraz streszczenie dysertacji w języku polskim i angielskim.

Rozprawa zawiera także niezbędne elementy formalne, w tym informacje o zgodzie Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Rzeszowskiego na prowadzenie badań, a także zgody współautorów publikacji wchodzących w skład cyklu na ich użycie jako osiągnięcie naukowe Pawła Zapolnika będące podstawą ubiegania się o stopień doktora w dyscyplinie nauk medycznych.

Ocena rozprawy doktorskiej

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska dotyczy bardzo ważnego i ciekawego z poznawczego punktu widzenia zagadnienia nieswoistego oddziaływania szczepionki BCG na układ odpornościowy człowieka. Pandemia COVID-19 stworzyła nowe możliwości badania tego zjawiska, które Doktorant bardzo dobrze wykorzystał. Dzięki przyznanemu przez Agencję Badań Medycznych finansowaniu przedłożonego projektu możliwe było uzyskanie wyników metodą stojącą bardzo wysoko w hierarchii wiarygodności wyników badań naukowych – badaniem randomizowanym, podwójnie zaślepionym z użyciem placebo w grupie kontrolnej. Przeprowadzenie badania w grupie pracowników ochrony zdrowia pozwoliło z jednej strony na uzyskanie grupy

bardziej jednorodnej, a z drugiej strony umożliwiło prowadzenie projektu w warunkach ograniczeń wprowadzonych w Polsce w okresie pandemii COVID-19.

Autor jako przedmiot swoich badań wybrał bardzo aktualny problem naukowy, dlatego za bardzo słuszny wybór należy uznać opublikowanie wyników badań każdego z etapów projektu na bieżąco. Należy z uznaniem podkreślić, że prace oryginalne, a także praca pogładowa zostały opublikowane w renomowanych czasopismach fachowych, o czym świadczy wartość punktowa całego cyklu. Biorąc pod uwagę surowy często proces kwalifikacji zgłaszanych prac do druku w tych periodykach, stanowi to dowód istotnej wartości naukowej całego cyklu. Godna podkreślenia jest szeroka analiza uzyskanych wyników zawarta w opublikowanych pracach oryginalnych, co wskazuje na bardzo rzetelne podejście do rozwiązania postawionego problemu naukowego.

Dowodem dojrzałości Doktoranta jest niewątpliwie świadomość ograniczeń w interpretacji wyników badań. Autor porusza ten problem zarówno w dysertacji, jak i w publikacjach oryginalnych wskazując, że w warunkach Polski praktycznie nie było możliwe stworzenie grupy kontrolnej nigdy nie szczepionej przeciwko gruźlicy. Autor jednak starał się w dobrze dobrany sposób zmniejszyć znaczenie tej przeszkody wykonując próbę tuberkulinową u wszystkich uczestników badania oraz analizując nie tylko zachorowanie na COVID-19, ale także odpowiedź na szczepienie przeciwko tej chorobie.

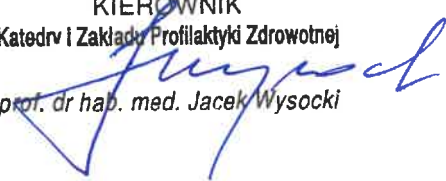
Recenzent pragnie zwrócić uwagę także na staranne zredagowanie rozprawy bez błędów merytorycznych i językowych. Na uznanie zasługuje zwarta prezentacja rozprawy, która ze względu na dołączenie publikacji oryginalnych mogła być ograniczona do najbardziej istotnych kwestii.

Poza oceną samej rozprawy doktorskiej recenzent chciałby podkreślić imponujący jak na młodego badacza dorobek naukowy uzyskany poza cyklem prac wchodzących w skład dysertacji. Stanowi to istotny argument potwierdzający dojrzałość naukową Doktoranta.

Podsumowanie recenzji

Na podstawie dokonanej recenzji przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej lek. Pawła Zapólnika stwierdzam, że dysertacja spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.) i dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie lek. Pawła Zapólnika do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauk medycznych. Biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy rozprawy doktorskiej potwierdzony publikacją artykułów wchodzących w skład cyklu publikacji wnoszę o wyróżnienie tej rozprawy doktorskiej.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Profilaktyki Zdrowotnej


prof. dr hab. med. Jacek Wysocki