

Kraków, 09.09.2019

Dr hab. n. o zdr. Mariusz Duplaga, Prof. UJ  
Zakład Promocji Zdrowia  
Instytut Zdrowia Publicznego  
Wydział Nauk o Zdrowiu  
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM  
MEDICUM

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Anny Jagielskiej  
pt. „Ocena skuteczności immunologicznej oraz tolerancji  
tetrawalentnej szczepionki przeciw grypie u dorosłych z otyłością”**

**Promotor: dr hab. n. med. Aneta Nitsch-Osuch**

**Podstawa prawna: Uchwała Rady I Wydziału Lekarskiego  
WUM z 19.06.2019 roku.**

Praca przesłana do recenzji skupia się na dwóch istotnych wyzwaniach dla zdrowia publicznego: otyłości i grypy sezonowej. Rosnące występowanie otyłości w wielu krajach na świecie i jej wielowymiarowe niekorzystne skutki zdrowotne sprawiają, że jest ona często nazywaną epidemią XXI wieku. Otyłość prowadzi do lub nasila wiele schorzeń przewlekłych i w efekcie, jest obecnie jednym z głównych czynników odpowiadających za zwiększoną zachorowalność i umieralność na świecie, szczególnie w krajach o wysokim poziomie rozwoju. Wiadomo także, że otyłość zmienia skuteczność mechanizmów obronnych organizmu przed chorobami zakaźnymi i dlatego osoby otyłe są bardziej narażone na ich powikłania niż osoby z prawidłową masą ciała. Dzieje się tak także w przypadku grypy. Wiele badań potwierdziło, że otyłość sprzyja występowaniu ciężkich postaci choroby grypopodobnej, hospitalizacji z powodu powikłań płucnych, a także zgonom w przebiegu zakażenia wirusem grypy. Te zagrożenia wynikają często ze współistniejących u osób z otyłością schorzeń przewlekłych, ale w części badań wykazano także, że otyłość była niezależnym czynnikiem ryzyka, np. hospitalizacji z powodu zapalenia płuc. Ponadto, jak się wydaje zagrożenie niekorzystnym przebiegiem grypy zwiększa się w zależności od stopnia otyłości.

Wydział

Nauk o Zdrowiu

Instytut

Zdrowia Publicznego

Zakład Promocji Zdrowia

ul. Grzegórzecka 20

PL 31-531 Kraków

tel. +48(12) 433 28 01

fax +48(12) 421 74 47

sekretariat@izp.cm-uj.krakow.pl

www.izp.wnz.cm.uj.edu.pl

Niekorzystne rokowanie w przebiegu zakażenia wirusem grypy u osób z otyłością sprawia, że zrozumiałe zainteresowanie budzą możliwości jej zapobiegania w tej grupie. Stąd pytanie czy szczepienia przeciwko grypie są tak samo skuteczne u osób z otyłością jak u osób z prawidłową masą ciała. Tak więc temat pracy doktorskiej wybrany przez Doktorantkę, a dotyczący oceny skuteczności odpowiedzi immunologicznej po szczepieniu przeciwko grypie u osób z otyłością jest uzasadniony zarówno ze względu na jego znaczenie dla dziedziny zdrowia publicznego, brak jednoznacznych obserwacji w tym obszarze i potencjalne praktyczne znaczenie uzyskanych wyników.

W pracy zachowano typowy układ obejmujących Wstęp, Cele pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusję, Wnioski i Piśmiennictwo. Nie zabrakło w niej także streszczenia w wersji polskiej i angielskiej, listy skrótów oraz spisu rycin zawierającego 26 pozycji i tabel – 36 pozycji. Uzupełnieniem pracy są trzy załączniki: Opinia Komisji Bioetycznej, Ulotka produktu leczniczego Vaxigrip Tetra oraz Kwestionariusz zastosowany do oceny tolerancji szczepienia i przebiegu okresu poszczepiennego.

Wstęp zajmuje 37 stron i skupia się na dwóch podstawowych dla tematyki pracy zagadnieniach tj. grypie i otyłości. W pierwszej części Wstępu, Doktorantka przedstawiła kluczowe zagadnienia związane z zakażeniem wirusem grypy, jego charakterystykę, epidemiologię grypy, obraz kliniczny, diagnostykę oraz leczenie i profilaktykę. W drugiej części zaprezentowała podstawowe informacje dotyczące otyłości w typowym układzie dla opisu jednostek chorobowych. We Wstępie znalazł się także podrozdział przedstawiających odrębności przebiegu klinicznego grypy u osób otyłych oraz syntezę wiedzy na temat szczepień przeciwko grypie w tej grupie. W tym ostatnim podrozdziale Doktorantka przedstawiła wyniki badań nad wpływem otyłości na odpowiedź immunologiczną po szczepieniu na grypę podkreślając fakt, że mechanizmy tego oddziaływania nie są jeszcze w pełni poznane. Takie stwierdzenie jest uprawnione ze względu na szereg badań, w tym badania przeprowadzone przez Sheridan i wsp. oraz Paich i wsp.. Nie potwierdziły one gorszej odpowiedzi immunologicznej ocenianej zgodnie z kryteriami zawartymi w wytycznych *Committee for Proprietary Medicinal Products/European Medicine Agency (CPMP/EMA)* u osób z otyłością po podaniu trójwalentnej szczepionki przeciwko grypie. Z drugiej jednak strony, Doktorantka zwróciła uwagę, że odległa obserwacja części uczestników cytowanych badań, wykazała, że po upływie roku od szczepienia poziom przeciwciał indukowanych szczepionką był istotnie niższy. Zbieżne wyniki uzyskali inni autorzy, którzy nieprawidłowym przebiegiem aktywacji układu immunologicznego osób otyłych tłumaczyli fakt większej zachorowalności na grypę wśród takich pacjentów po szczepieniu. W

podsumowaniu Doktorantka podkreśliła, że wyniki dotychczasowych badań nie pozwalają na jednoznaczne wyjaśnienie wpływu procesów zapalnych spowodowanych nadmierną ilością tkanki tłuszczowej na immunogenność szczepionek przeciw grypie, przynajmniej w przypadku szczepionki trójwalentnej.

Opis celów badania Doktorantka poprzedziła krótkim rozdziałem prezentującym przesłanki do badania. Zwróciła w nim uwagę, że zarówno grypa jak i otyłość są dużymi wyzwaniami dla zdrowia publicznego w krajach rozwiniętych. Ponadto, grypa zwiększa ryzyko hospitalizacji i zgonu u pacjentów z niezakaźnymi chorobami przewlekłym. Należy się zgodzić z Doktorantką, że przy uwzględnieniu charakterystyki epidemiologicznej obydwu schorzeń, w tym dużego zagrożenia ich współwystępowaniem, odpowiedź na pytanie czy reakcja immunologiczna u osób otyłych na szczepienie przeciwko grypie jest wystarczająca, ma niezwykle istotne znaczenie.

Na koniec, warto podkreślić, że zagadnienia ujęte we Wstępie zostały przedstawione w oparciu o adekwatnie dobrane, aktualne piśmiennictwo. Poszczególne tematy zostały opisane w sposób przejrzysty, bez niepotrzebnej rozwlekłości.

W opisie celów pracy Doktorantka wskazała ocenę trzech zjawisk: skuteczności immunologicznej inaktywowanej szczepionki tetrawalentnej przeciwko grypie u osób dorosłych z otyłością, zależności pomiędzy stopniem otyłości a immunogennością szczepionki oraz tolerancji tej szczepionki w docelowej grupie objętej badaniem. Taki dobór celów badania jest zgodny z jej tytułem i z przeprowadzonymi oznaczeniami i analizą danych.

Rozdział Materiał i metody zawiera opis schematu badania, charakterystykę grupy pacjentów objętych badaniem, metodologię oceny skuteczności i tolerancji immunologicznej tetrawalentnej szczepionki przeciwko grypie zastosowanej w grupie objętej badaniem, metody pomiarów antropometrycznych i oceny składu ciała oraz krótkie omówienie zastosowanych metod statystycznych.

Schemat badania obejmował dwa etapy: w pierwszym, u każdego z pacjentów wykonano badanie podmiotowe i przedmiotowe, pomiary antropometryczne, badanie składu ciała oraz pobrano próbkę krwi do oznaczenia wyjściowego stężenia przeciwciał przeciwko hemaglutyninie. Następnie pacjenta szczepiono przeciwko grypie tetrawalentną szczepionką Vaxigrip Tetra firmy Sanofi Pasteur w dawce 0,5 ml o składzie zgodnym z zaleceniem ŚOZ na rok 2017/2018 dla półkuli północnej. W drugim etapie, po 4-8 tygodni od podania szczepionki, u każdego pacjenta wykonywano badanie podmiotowe obejmujące także zebranie przy pomocy autorskiego kwestionariusza informacji na temat tolerancji szczepienia i przebiegu okresu poszczepiennego, badanie przedmiotowe oraz pobierano ponownie próbkę krwi na oznaczenie

poszczepiennego stężenia przeciwciał przeciw hemaglutyninie. Doktorantka uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Badawczego (opinia nr KB/165/2017) na przeprowadzenie badania.

Warto podkreślić i docenić, że praca została zrealizowana przy udziale dwóch placówek: Poradni Chorób Metabolicznych Instytutu Żywności i Żywienia i Zakładu Badania Wirusów Grypy, Krajowego Ośrodka ds. Grypy, Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny. Pacjenci zakwalifikowani do badania pozostawali pod opieką Poradni Chorób Metabolicznych IŻŻ, a oznaczenia wskaźników serologicznych wykorzystane w pracy zostały dokonane w Zakładzie Badania Wirusów Grypy.

Ocena skuteczności immunologicznej szczepionki została przeprowadzona zgodnie z wytycznymi CPMP/EMA dla osób z grup wiekowych 16-60 i powyżej 60 lat. Podstawą oceny były oznaczenia poziomów przeciwciał antyhemaglutyninowych testem odczynu zahamowania hemaglutynacji. W teście wykorzystano antygeny wirusa grypy przygotowane zgodnie z protokołem Światowej Organizacji Zdrowia w Zakładzie Badania Wirusów Grypy Krajowego Ośrodka ds. Grypy. W analizie odpowiedzi humoralnej, zgodnie z wcześniej wskazanymi kryteriami CPMP/EMA, wykorzystano wskaźniki obejmujące: średnią geometryczną mian przeciwciał, średni wzrost poziomu przeciwciał, współczynniki ochrony oraz współczynnik odpowiedzi.

Ocena tolerancji szczepionki opierała się na wynikach kwestionariusza przygotowanego przez Doktorantkę i wypełnianego przez pacjentów zakwalifikowanych do badania przy okazji badania podmiotowego wykonywanego po 4-8 tygodni od szczepienia.

Do oceny stopnia otyłości u pacjentów wykorzystano pomiary masy ciała i wysokości ciała, obwodu talii, obwodu ramienia kończyny górnej oraz grubości fałdu skórno-tłuszczowego nad mięśniem trójgłowym kończyn górnej. Do oceny składu ciała i pomiaru brzusznej tkanki tłuszczowej zastosowano analizator Maltron.

Wyniki uzyskane przez Doktorantkę zostały przedstawione na 33 stronach z uwzględnieniem licznych tabel i rycin. Rozdział posiada strukturę odzwierciedlającą 3 główne obszary uwzględnione w opisie celów. Ostatecznie na udział w badaniu zgodę wyraziło 53 pacjentów spośród 123, do których Doktorantka zwróciła się z zaproszeniem do badania. Średni wiek pacjentów objętych badaniem wynosił  $54 \pm 11,19$  lat, a kobiety stanowiły 52,8%.

Analiza danych wynikających z oznaczeń serologicznych wykazała, że w badanej grupie uzyskano w wyniku szczepienia szczepionką tetrawalentną przeciwko grypie efekt ochronny wg kryteriów CPMP/EMA. Doktorantka nie wykazała natomiast zależności indukowanej reakcji immunologicznej od stopnia otyłości ani od wieku pacjentów w żadnym z oznaczonych typów

przeciwciał. Ponadto, nie potwierdziła korelacji pomiędzy uśrednionymi wskaźnikami immunogenności a zmiennymi antropometrycznymi i wyniki oceny składu ciała analiza zależności. Nie było też istotnych zależności pomiędzy zmiennymi antropometrycznymi i wynikami oceny składu ciała a zmianą poziomu przeciwciał poza przeciwciałem anty-H3. W tym przypadku stwierdzono związek zmiany poziomu przeciwciał z masą tkanki tłuszczowej i udziałem tkanki tłuszczowej oraz udziałem beztłuszczowej masy ciała i całkowitej wody w organizmie. Analiza potencjalnego wpływu chorób przewlekłych występujących u pacjentów na immunogenność szczepionki została ograniczona do analizy korelacji pomiędzy liczbą takich chorób i zmianą oznaczanych przeciwciał. Rozumiejąc wyzwania wynikające z analizy tego typu danych, można zadać jednak pytanie czy liczba chorób jest najlepszym wskaźnikiem potencjalnych obciążeń i ewentualnych skutków dla reakcji immunologicznej.

W analizie uwzględniono także ocenę zależności pomiędzy skutecznością immunologiczną szczepionki a grubością podskórnej tkanki tłuszczowej w miejsca wykonania zastrzyku. Nie stwierdzono różnic w zakresie analizowanych wskaźników skuteczności ani w zależności od grubości podskórnej tkanki tłuszczowej ani od sposobu podania szczepionki dla żadnego z czterech oznaczonych przeciwciał. Cennym uzupełnieniem wyników jest przeprowadzenie analizy skupień zmian poziomu poszczególnych przeciwciał, a następnie ocena czy wyodrębnione skupienia mają związek ze zmiennymi demograficznymi, antropometrycznymi i występowaniem chorób przewlekłych. Ocena tego związku nie potwierdziła istotnych statystycznie zależności. Ocena tolerancji wykazała, że szczepionka była dobrze tolerowana przez uczestników badania; niepożądane odczyny poszczepienne były nieliczne i miały łagodny charakter.

Dyskusja zajmuje 20 stron; zawiera szczegółowe podsumowanie uzyskanych wyników skonfrontowane z licznymi, dobrze dobranymi i aktualnymi pozycjami piśmiennictwa. Trzy wnioski odpowiadają wyróżnionym celom badania i odzwierciedlają uzyskane wyniki. W pracy wykorzystano 147 pozycje piśmiennictwa, które właściwie ilustrują tematykę badania.

Praca jest napisana starannym i zrozumiałym językiem. Można się dopatrzeć się jedynie nielicznych nieścisłości w opisie wyników, np. cyt.: „... wzrost zmiany tych przeciwciał były powiązane ze wzrostem: masy tkanki tłuszczowej i odsetka tkanki tłuszczowej ...” (str.94). Poza pewną niezręcznością stylistyczną, nie chodzi chyba o wzrost masy tkanki tłuszczowej, tylko po prostu o masę tkanki tłuszczowej i odsetek tkanki tłuszczowej zmierzone przed wykonaniem szczepienia. Przy opisie analizowanych zależności bardziej poprawne jest stosowanie pojęcia „zmiennie” a nie „dane” (str. 103).

Ogólnie, zwraca także uwagę bardzo przejrzyste i eleganckie edycyjne przygotowanie

pracy. Należy podkreślić staranną strukturyzację tekstu i przejrzyste wyróżnienie hierarchii podrozdziałów. Szkoda, że Spis treści zawiera tylko ograniczoną liczbę poziomów podrozdziałów. Narzucona hierarchia jest zrozumiała i logiczna; pewne wątpliwości budzi jedynie sposób numeracji rozdziałów oznaczonych aktualnie jako 11.2.2.2.4. oraz 11.2.3. Być może dla opisu tych zależności można było wyróżnić wspólny podrozdział.

#### Podsumowanie i wniosek końcowy

W podsumowaniu, należy stwierdzić, że praca Pani Dr Anny Jagielskiej jest oryginalnym opracowaniem istotnego problemu poznawczego mającego duże odniesienie do działań praktycznych. W pracy zastosowano przemyślane metody badawcze mające odniesienie do standardów międzynarodowych. Grupa objęta badaniem jest adekwatna do postawionego problemu badawczego. Analiza danych uzyskanych w trakcie sondażu jest poprawna i dostarcza ciekawych, wartościowych spostrzeżeń. W Dyskusji dokonano konfrontacji wyników własnych z wynikami adekwatnie dobranych licznych badań przeprowadzonych przez innych autorów.

Przekazana mi do recenzji praca doktorska, Pani lek. med. Anny Jagielskiej, spełnia warunki określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2019 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.). W związku z tym wnoszę do Wysokiej Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pani lek. med. Anny Jagielskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Instytut Zdrowia Publicznego UJ CM  
Zakład Promocji Zdrowia  
  
dr hab. Mariusz Duplaga  
Kierownik Zakładu