



dr hab. n. med. Hanna Czajka, prof. UR

**Uniwersytet Rzeszowski – Collegium Medicum
Wydział Nauk Medycznych – Katedra Pediatrii**

Rzeszów, dnia 31 marca 2026

RECENZJA

rozprawy na stopień naukowy doktora nauk biologicznych
autorstwa pani mgr Magdaleny JURCZAK
pt. *Szczepionka BCG jako immunomodulator odpowiedzi odpornościowej
dzieci na antygeny wirusowych patogenów dróg oddechowych*

Niniejsza recenzja została sporządzona na podstawie otrzymanego w dniu 02 lutego 2026 pisma Przewodniczącej Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne pani prof. dr hab. Agnieszki Marczak z dnia 11.12.2025 znajdującego oparcie w decyzji Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne z dn. 11.12.2025 roku.

Przedstawiona do zrecenzowania rozprawa na stopień doktora nauk biologicznych została opracowana pod opieką promotora pani dr hab. Magdaleny Druszczyńskiej, prof. UŁ w Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzkiego.

Układ rozprawy doktorskiej

Rozprawa obejmuje łącznie 128 stron i składa się z typowych części: strony tytułowej, podziękowań, spisu treści, wykazu publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej wstępu, hipotezy badawczej, celu pracy, metodyki pracy, wyników, podsumowania i wniosku oraz streszczeń w językach polskim i angielskim, a także wykazu piśmiennictwa (literatury) (41 pozycji) w układzie alfabetycznym wg nazwisk pierwszych autorów. Integralnym elementem recenzowanej rozprawy są cztery publikacje stanowiące jej podstawę przytoczone w formie kopii ich wydruków w formacie PDF. Sumaryczny Impact Factor tych publikacji osiągnął poziom 12,9, a łączna liczba punktów MNiSW wyniosła 480. Do końcowej części ocenianej dysertacji jej Autorka dołącza wykaz pozostałego dorobku naukowego obejmującego 8 publikacji, których współautorem jest pani mgr Magdalena Jurczak oraz wykaz komunikatów zjazdowych (10 pozycji), których pierwszym autorem jest Doktorantka. Na zakończenie Autorka dołącza oświadczenia swoje oraz pozostałych współautorów publikacji stanowiących

podstawę ocenianej rozprawy doktorskiej obrazujące ich udział w stworzenie tych artykułów. We wszystkich tych publikacjach wkład autorski Doktorantki przekracza 50%.

Merytoryczna ocena rozprawy

Stanowiący merytoryczną podstawę recenzowanej rozprawy cykl czterech publikacji w języku angielskim z lat 2022 i 2025 obejmuje:

1. Jurczak, M., & Druszczyńska, M. (2025). **Beyond Tuberculosis: The Surprising Immunological Benefits of the Bacillus Calmette–Guérin (BCG) Vaccine in Infectious, Auto-Immune, and Inflammatory Diseases.** *Pathogens*, 14(2), 196. doi: 10.3390/pathogens14020196.
2. Godkowicz, M., & Druszczyńska, M. (2022). **NOD1, NOD2, and NLRC5 Receptors in Antiviral and Antymycobacterial Immunity.** *Vaccines*, 10(9), 1487. doi: 10.3390/vaccines10091487.
3. Jurczak, M., Kaczmarek, J., Kowalewska-Pietrzak, M. & Druszczyńska, M. (2025). **Immunomodulatory Effect of the Bacillus Calmette–Guérin (BCG) Vaccine on the In Vitro Interferon Response Induced by Respiratory Syncytial Virus (RSV) and Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Antigens.** *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 73(1), 2025. doi: 10.2478/aite-2025-0007.
4. Jurczak, M., Kaczmarek, J., Kowalewska-Pietrzak, M., Stelmach, P., & Druszczyńska, M. (2025). **NOD2 (Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Containing Protein 2)-Mediated Modulation of the Immune Response Induced by BCG (Bacillus Calmette-Guérin) Bacilli.** *Pathogens*, 14(7), 683. doi: 10.3390/pathogens14070683.

W treści powyższych artykułów, a w konsekwencji także w treści recenzowanej rozprawy Autorka porusza interesujący badaczy od ponad 50 lat problem niespecyficznego efektów immunologicznych szczepienia BCG. Badania dotyczące treningu immunologicznego, wywołanego podaniem szczepionki BCG początkowo wykazywały trzymiesięczny okres takiego jej działania. Opublikowany w 2014 roku artykuł z ośrodków badawczych w Stanach Zjednoczonych i Niderlandach wykazał długoterminowy efekt heterologiczny wzrastania odpowiedzi immunologicznej Th1 i Th17, trwający rok po szczepieniu BCG.

Doktorantka postawiła hipotezę, że immunizacja dzieci w okresie noworodkowym preparatami szczepionkowymi BCG o właściwościach immunomodulujących powoduje trwałe zmiany w komórkach odporności wrodzonej, które mogą ujawniać się i być wykrywalne wiele lat później, w wieku szkolnym. Zmiany te mogą zachodzić w komórkach leukocytów krwi

obwodowej dzieci na poziomie regulacji genowej (ekspresja mRNA) i na poziomie funkcjonalnym (sekrecja cytokin pro- i przeciwzapalnych oraz interferonów). Może także występować ekspresja wybranych receptorów powierzchniowych odzwierciedlających stan aktywacji i zdolności efektorowe komórek, po ekspozycji na antygeny czynników zakaźnych zarówno homologicznych (prątki BCG) jak i heterologicznych (antygeny wirusów RSV lub SARS-CoV-2) w hodowlach in vitro. Charakterystyka komórek odporności wrodzonej dzieci szczepionych BCG pod względem efektywności przebytego treningu odpornościowego w modelu in vitro może dostarczyć cennych informacji na temat gotowości immunologicznej tych komórek do zwalczania różnych zagrożeń infekcyjnych.

Pani mgr Magdalena Jurczak postawiła sobie za cel **dokonanie oceny nieswoistej odpowiedzi immunologicznej u dzieci w wieku 6-12 lat, szczepionych BCG w okresie noworodkowym.**

Do realizacji założonego celu zastosowano model hodowli komórkowej in vitro oparty na stymulacji leukocytów pełnej krwi obwodowej dzieci prątkami szczepionkowymi BCG lub antygenami wirusów oddechowych RSV lub SARS-CoV-2, niezależnie lub łącznie. W badaniu uwzględniono status serologiczny dzieci w zakresie przeciwciał przeciwko RSV i/lub SARS-CoV-2. Jako wyznaczniki odpowiedzi odpornościowej nieswoistej u badanych dzieci przyjęto: zdolność leukocytów do wytwarzania kluczowych cytokin pro- (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α) (interleukina) i przeciwzapalnych (IL-4, IL-10), odpowiedź interferonową w zakresie wytwarzania IFN- α , IFN- β (odpowiedź przeciwwirusowa), IFN- γ (działanie immunomodulujące), nasilenie ekspresji receptorów powierzchniowych na monocytach, w tym CD14 (receptor typu PRR), CD11b (adhezyna powierzchniowa), HLA-DR (cząsteczka biorąca udział w prezentacji antygenów), CD206 (receptor mannozy) oraz receptor NOD2 pełniący m.in. rolę sensora komponentów ściany komórkowej prątków. Uwzględniono także ocenę zmienności genetycznej receptora NOD2, która może wpływać na przebieg odpowiedzi immunologicznej, zakładając że może być to pomocne w wyjaśnieniu różnic w aktywności komórek immunokompetentnych badanych osób. Takie podejście łączy możliwość oceny nieswoistych efektów szczepienia BCG z badaniem indywidualnych determinant odporności wrodzonej, istotnych w epidemiologii zakażeń wirusowych u dzieci.

Zastosowany model komórkowy in vitro umożliwił przeprowadzenie oceny wybranych molekularnych i komórkowych wyznaczników odpowiedzi immunologicznej, w warunkach kontrolowanych, pozwalając ocenić zależność pomiędzy immunizacją BCG

a odpowiedzią na antygeny wirusowe, co stanowi unikalny aspekt w badaniach nad nieswoistymi efektami szczepionki BCG w populacji pediatrycznej.

Badaniem objęto 48 zdrowych dzieci, które otrzymały szczepionkę *Mycobacterium bovis* BCG Moreau (Biomed Lublin, Polska), w pierwszej dobie życia, zgodnie z polskim Programem Szczepień Ochronnych (PSO). Wszystkie dzieci, za zgodą prawnych opiekunów, zostały zakwalifikowane do badania przez konsultantów chorób zakaźnych, w tym Wojewódzkiego Konsultanta ds. Pulmonologii Dziecięcej w Wojewódzkim Specjalistycznym Szpitalu Gruźlicy, Chorób Płuc i Rehabilitacji w Łodzi. Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (Nr RNN/122/22/KE).

Wśród dzieci uczestniczących w badaniu wyróżniono na podstawie historii zakażenia RSV i SARS-CoV-2 cztery grupy:

Grupa 1: RSV(-)SARS-CoV-2(-) – grupa dzieci seronegatywnych pod względem przeciwciał przeciwko RSV i SARS-CoV-2;

Grupa 2: RSV(+) – grupa dzieci po przebytych zakażeniu RSV, seropozytywnych pod względem przeciwciał przeciwko RSV;

Grupa 3: SARS-CoV-2(+) – grupa dzieci po przebytych zakażeniu SARS-CoV-2, seropozytywnych pod względem przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2;

Grupa 4: RSV(+)SARS-CoV-2(+) – grupa dzieci po przebytych zakażeniu RSV i SARS-CoV-2, seropozytywnych pod względem przeciwciał przeciwko RSV i SARS-CoV-2.

W części badawczej recenzowanej pracy jej Autorka wskazała 5 celów szczegółowych obejmujących:

- 1) charakterystykę odpowiedzi leukocytów krwi obwodowej dawców immunizowanych prątkami BCG, seronegatywnych pod względem przeciwciał przeciwko RSV i SARS-CoV-2, na antygeny prątków (czynnik homologiczny) na podstawie ekspresji mRNA cytokin i powierzchniowych receptorów komórkowych.
- 2) ocenę odpowiedzi leukocytów krwi obwodowej dzieci immunizowanych prątkami BCG, seronegatywnych w zakresie przeciwciał anti-RSV i/lub anti-SARS-CoV-2, na antygeny prątków (czynnik homologiczny) i/lub antygeny RSV/SARS-CoV-2 (czynnik heterologiczny) na podstawie ekspresji mRNA cytokin, w tym interferonów i powierzchniowych receptorów komórkowych.

- 3) wyznaczenie profilu odpowiedzi cytokinowej leukocytów krwi obwodowej dzieci immunizowanych prątkami BCG, seropozytywnych pod względem przeciwciał przeciwko RSV i/lub SARS-CoV-2.
- 4) ocenę zależności między szczepieniem BCG w okresie noworodkowym a nieswoistą odpowiedzią immunologiczną na antygeny wirusowe (SARS-CoV-2 i/lub RSV).
- 5) ocenę związku między ekspresją receptora NOD2 indukowaną przez prątki BCG a odpowiedzią leukocytów na antygeny SARS-CoV-2 i/lub RSV.

Zarówno wybór jak i kolejność realizacji celów szczegółowych ocenianej dysertacji są logiczne i prawidłowe

Do realizacji ww. celów Doktorantka zastosowała 12 rodzajów badań laboratoryjnych, które obejmowały:

- hodowlę prątków *Mycobacterium bovis* BCG (Biomed Lublin, Polska) na podłożu płynnym Middlebrooka 7H9 (Becton Dickinson, Sparks, USA) z dodatkiem 5% Tween 80 oraz ODAC w temperaturze 37°C, w atmosferze 5% CO₂.
- spektrofotometryczną ocenę gęstości zawiesiny bakterii przy długości fali $\lambda = 600$ nm.
- ocenę obecności i miana surowiczych przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 z wykorzystaniem testu DiaSorin LIASON® SARS-CoV-2 TrimericS IgG (DiaSorin, Salzwater, MN, USA).
- ocenę obecności i miana surowiczych przeciwciał przeciwko RSV z wykorzystaniem testu Respiratory Syncy al Virus IgG ELISA kit (Serion-Diagnos cs, Würzburg, Niemcy).
- prowadzenie hodowli leukocytów pełnej krwi obwodowej w obecności żywych prątków *Mycobacterium bovis* BCG (Biomed Lublin, Polska), antygenów SARS-CoV-2 (PepTivator SARS-CoV-2, MiltenyiBiotec, Niemcy) lub RSV (PepTivator RSV, MiltenyiBiotec, Niemcy) (48 godzin, 37°C, 5% CO₂).
- ocenę poziomu cytokin - IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , IFN- α , IFN- β i IFN- γ w surowicach oraz supernatantach pochodzących w teście immunoenzymatycznym ELISA, z wykorzystaniem zestawów DuoSet® ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), Quan FERON – TB Gold Plus ELISA (Qiagen, Hilden, Niemcy) oraz techniki multiplex ELISA Bio-Plex Pro Human Cytokine 8-plex Assay (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , GM-CSF) (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

- izolację genomowego DNA z komórek krwi obwodowej dzieci z wykorzystaniem zestawu EXTRACTME DNA BLOOD KIT (Blirt, Gdańsk, Polska) oraz ocenę stężenia i jakości uzyskanych izolatów DNA metodą spektrofotometryczną (NanoDrop, Holliston, MA, USA).
- ocenę wariantów polimorficznych genu nod2 - R702W (rs2066844), G908R (rs2066845) oraz 1007fs (rs5743293) techniką PCR-RFLP w połączeniu z elektroforezą w żelu poliakrylamidowym (Heliö i in. 2003).
- izolację RNA z hodowli leukocytów krwi obwodowej dawców, które prowadzono w obecności prątków BCG i/lub antygenów SARS-CoV-2/RSV z wykorzystaniem zestawu QIAamp RNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Niemcy), ocenę stężenia RNA metodą spektrofotometryczną (NanoDrop, Holliston, MA, USA) i stopnia jego degradacji w elektroforezie, w żelu agarozowym.
- syntezę cDNA metodą odwrotnej transkrypcji z wykorzystaniem zestawu iScript™ cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).
- ocenę ekspresji mRNA IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , IFN- α , IFN- β oraz IFN γ w hodowlach komórek krwi obwodowej dawców, które prowadzono w obecności prątków BCG i/lub antygenów SARS-CoV-2/RSV z wykorzystaniem techniki qPCR.
- ocenę ekspresji powierzchniowych receptorów CD14, HLA-DR, CD-11b oraz CD206 na komórkach monocytów krwi obwodowej dawców, które pochodziły z hodowli prowadzonych w obecności prątków BCG i/lub antygenów SARS-CoV-2/RSV metodą cytometrii przepływowej (FAC Symphony™ A1, BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA).

Uzyskane wyniki wskazują zdaniem Autorki, że **szczepionka BCG wywołuje u osób immunizowanych w okresie noworodkowym trwale zmiany w komórkach odporności wrodzonej**. Zmiany te manifestują się zwiększoną reaktywnością leukocytów na antygeny homologicznego czynnika infekcyjnego (prątki BCG) w hodowlach in vitro.

Tym samym wspierają one koncepcję, że **immunizacja prątkami szczepionkowymi BCG w okresie noworodkowym pozostawia długotrwały „śląd immunologiczny”**. Oznacza to gotowość komórek immunokompetentnych do efektywnego i zrównoważonego reagowania na późniejsze wyzwania infekcyjne, **co może mieć istotne znaczenie w kontekście profilaktyki chorób zakaźnych w populacji pediatrycznej**. Dalej uzyskane wyniki sugerują, że **BCG działa jako nieswoisty modulator odpowiedzi przeciwwirusowej, zdolny zarówno do wzmacniania mechanizmów wrodzonej odporności, jaki i do ich modulowania**

w zależności od wtórnego infekcyjnego bodźca. Różnice w odpowiedzi leukocytów na antygeny RSV lub SARS-CoV-2 wskazują, że rodzaj patogenu może w znacznym stopniu determinować efekt wytrenowanej odporności, inicjowanej przez prątki szczepionkowe BCG.

Ponadto wskazują one, że **ekspozycja organizmu gospodarza na RSV lub SARS-CoV-2 in vivo może mieć wpływ na aktywność komórek odporności wrodzonej, które podlegały treningowi odpornościowemu wskutek immunizacji BCG.** Aktywność prozapalna i przeciwwirusowa takich komórek może ulegać nasileniu lub być nakierowana na równoważenie odpowiedzi zapalnej i przeciwwirusowej w zależności od rodzaju wirusa oraz statusu immunologicznego gospodarza.

Zdaniem Doktorantki, uzyskane wyniki wskazują, że **receptor NOD2 jest zaangażowany w kształtowanie odpowiedzi odpornościowej na prątki BCG i antygeny SARS-CoV-2 i RSV.** Wykazane zależności pomiędzy ekspresją mRNA NOD2 a mRNA badanych cytokin: IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 i TNF- α sugerują, że **NOD2 może działać jako regulator kaskad cytokinowych, wpływając na odpowiedź zapalną i regulacyjną.** W zależności od wcześniejszej ekspozycji gospodarza na zakażenie wirusem SARS-CoV-2 lub RSV, NOD2 obecny w leukocytach może wspierać aktywację szlaków prozapalnych (np. poprzez IL-6), promować regulacyjne mechanizmy ograniczające nadmierną odpowiedź (np. poprzez IL10), co pozostaje w związku z hamowaniem nadmiernego wydzielania cytokin prozapalnych (np. IL-1 β , IL-8). **Tym samym NOD2 może stanowić istotny element komórkowy modulujący wytrenowaną odporność indukowaną przez BCG, w sposób zależny od statusu immunologicznego gospodarza.**

Uzyskane wyniki pozwalają Autorce postawić wniosek, że „ślad immunologiczny” pozostawiony po szczepieniu BCG podkreśla znaczenie wytrenowanej odporności jako mechanizmu wspierającego odporność populacyjną wobec różnych patogenów oraz **wskazuje na potencjał tej szczepionki jako narzędzia immunomodulacyjnego w profilaktyce chorób zakaźnych.**

W związku z tym chciałabym uzyskać odpowiedź Doktorantki na pytanie *czy rewakcynacja może mieć wpływ na wzmocnienie efektu szczepienia BCG wykonanego w okresie noworodkowym?* Interesuje mnie także to, *czy okres utrzymywania się wytrenowanej odporności wynosi co najmniej 12 lat?*

Podsumowując, część doświadczalna przedmiotowej pracy stanowi w moim przekonaniu oryginalne rozwiązanie celu naukowego, a jednocześnie dostarcza wartościowych

przesłanek do ewentualnych zastosowań praktycznych i dalszych badań. Należy zauważyć, że opiniowana dysertacja ma wyjątkową wartość z uwagi na jej nowatorski w skali naszego kraju charakter. Stanowi ona także istotny element w międzynarodowej dyskusji na temat wyjątkowej roli szczepionki BCG w stymulowaniu nieswoistej odpowiedzi immunologicznej.

Zgadzam się w pełni z Autorką recenzowanej dysertacji, że uzyskane wyniki otwierają możliwości do dalszych badań porównawczych, które mogłyby obejmować większą populację dzieci, w tym także nieszczepionych dotąd przeciw gruźlicy. Podzielałam opinię, że tego typu analizy pozwoliłyby bardziej jednoznacznie określić udział szczepienia BCG w kształtowaniu obserwowanych efektów immunologicznych oraz pogłębić zrozumienie mechanizmów wytrenowanej odporności oraz lepiej określić jej znaczenie w odporności populacyjnej.

Uważam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska pani mgr Magdaleny Jurczak pt. *Szczepionka BCG jako immunomodulator odpowiedzi odpornościowej dzieci na antygeny wirusowych patogenów dróg oddechowych*” spełnia formalne wymagania stawiane pracy doktorskiej w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t. jednolity Dz.U. z 2024 r. poz. 1571).

Mam jednocześnie zaszczyt zwrócić się do Szanownej Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie mgr Magdaleny Jurczak do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Z poważaniem



dr hab. n. med. Hanna Czajka
profesor Uniwersytetu Rzeszowskiego