

Prof dr hab. n. med. i n. o zdr. Jacek Mackiewicz
Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej,
Instytut Onkologii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu;
Zakład Diagnostyki i Immunologii Nowotworów,
Wielkopolskie Centrum Onkologii

Recenzja rozprawy doktorskiej

Lekarza Macieja Gryziaka pt.: „Analiza mikrośrodowiska guza oraz parametrów laboratoryjnych jako potencjalnych czynników prognostycznych u pacjentów chorych na raka wątrobowokomórkowego”

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została wykonana pod kierunkiem Prof. dr hab. n. med. Rafała Steca (promotor pomocniczy: Dr n. med. Leszek Kraj)

Praca doktorska stanowi cykl czterech prac naukowych opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej, mianowicie:

1. Gryziak M, Woźniak K, Kraj L, Stec R. Milestones in the treatment of hepatocellular carcinoma: A systematic review. Crit Rev Oncol Hematol. 2021 Jan;157:103179. doi: 10.1016/j.critrevonc.2020.103179; Q1, **IF 6,625; 100 punktów MEiN**
2. Gryziak M, Kraj L, Stec R. The role of tumor-associated macrophages in hepatocellular carcinoma-from bench to bedside: A review. J Gastroenterol Hepatol. 2024 Aug;39(8):1489-1499. doi: 10.1111/jgh.16564; Q2, **IF 3,7; 100 punktów MEiN**
3. Gryziak M, Stec R, Woźniak K, Szczepankiewicz B, Krasnodębski. Prognostic factors for hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation or resection - single-center experience. Heliyon. 2024 NovNov 13;10(22):e40228. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e40228; Q1, **IF 3,4; 40 punktów MEiN**

4. Kraj L, Chmiel P, Gryziak M, Grabowska-Derlatka L, Szymański Ł, Wysokińska E. Impact of Thrombocytopenia on Survival in Patients with Hepatocellular Carcinoma: Updated Meta-Analysis and Systematic Review. *Cancers (Basel)*. 2024 Mar 27;16(7):1293. doi: 10.3390/cancers16071293; Q1, IF 4,5; 140 punktów MEiN

Łącznie Impact Factor 18,225 oraz 380 punktów MEiN

Prezentowany cykl prac stanowią cztery tematycznie powiązane publikacje stanowiące rozprawę doktorską dotyczącą czynników prognostycznych u chorych na raka wątrobowokomórkowego (HCC). W trzech publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem, w jednej trzecim. Są to czasopisma recenzowane w związku z tym opublikowane w nich prace w tym również prace lek Macieja Gryziaka są wysokiej jakości.

Pierwsza praca ma charakter przeglądowy opisujący postępy w leczeniu systemowym oraz zasady leczenia zabiegowego u chorych na HCC. Autorzy wskazują, że odpowiedź w wyniku zastosowanego leczenia różni się wśród pacjentów, przy czym czynniki predykcyjne nie są w pełni zdefiniowane. Ponadto, jednym z kluczowych czynników w rozwoju nowotworu oraz odpowiedzi na leczenie może być mikrośrodowisko guza i obecne w nim komórki układu immunologicznego. Warto zauważyć, że w ostatnich latach obserwowany jest dynamiczny rozwój tego obszaru i pojawia się coraz więcej opcji terapeutycznych.

Druga praca również ma charakter przeglądowy i przedstawia podsumowanie aktualnej wiedzy dotyczącej makrofagów związanych z nowotworem (tumor-associated-macrophages, TAM). Zgodnie z dostępnymi danymi w literaturze, komórki te mogą wywierać zarówno wpływ przeciwnowotworowy jak i promujący rozwój guza. Wyniki kilku badań sugerują, że TAM mogłyby służyć jako markery prognostyczne. Z drugiej strony, mogą mieć one wpływ na odpowiedź na leczenie, w tym na immunoterapię. W pracy tej zwrócono również uwagę na populację TAM CD68. Autorzy dyskutują na temat wartości prognostycznej i predykcyjnej TAM CD68 przytaczając dane z literatury. Ponadto, wydaje się również, że istnieje wzajemne oddziaływanie między TAM CD68, a ekspresją ligandu zaprogramowanej śmierci 1 (PD-L1) i odpowiedzią immunologiczną w obrębie TME. Stwierdzono, że komórki CD68 PD-L1 mogą być powiązane z aktywowanym immunologicznym mikrośrodowiskiem guza z wysokim poziomem limfocytów T CD8.

Trzecia publikacja jest pracą oryginalną. Celem pracy była ocena czynników prognostycznych związanych ze zwiększonym ryzykiem nawrotu raka wątrobowokomórkowego (HCC) po radykalnym leczeniu. Jest to retrospektywna, jednoośrodkowa analiza danych dotyczących nawrotów HCC i przeżycia u pacjentów poddanych radykalnemu leczeniu – resekcji lub przeszczepowi. Do analizy włączono 111 pacjentów spełniających kryteria włączenia: 52 po przeszczepieniu wątroby, 59 po resekcji. W badaniu oceniano w korelacji do przeżycia wolnego od nawrotu (recurrence-free survival, RFS) i czasu przeżycia całkowitego (overall survival, OS) następujące parametry: wielkość i liczba guzów nowotworowych, metoda leczenia (resekcja/transplantacja/leczenie systemowe), status zakażenia HBV, HCV; wyjściowe parametry laboratoryjne: AFP, WBC (white blood cell), NLR (neutrophil-to-lymphocyte ratio), PLR (platelet-to-lymphocyte ratio), ALBI (albumin-bilirubin), PALBI (platelet-albumin-bilirubin), bilirubina; ocena ekspresji PD-L1, CD68, TILs. Mediana okresu obserwacji wyniosła 47,95 miesięcy. Wznowę po resekcji zanotowano u 69% chorych i po przeszczepieniu wątroby u 21% badanych. Mediana RFS wyniosła 20,5 miesięcy, a OS po leczeniu pierwotnym w przypadku nawrotu choroby 30 miesięcy. W analizie wieloczynnikowej jedynie mikroinwazja naczyń (obecna lub nieobecna), wyjściowy poziom AFP i WBC były zmiennymi negatywnymi czynnikami prognostycznymi w populacji ogólnej. Wśród pacjentów po przeszczepieniu wątroby w analizie wieloczynnikowej statystycznie istotna okazała się inwazja mikronaczyń oraz stopień zróżnicowania. Wśród pacjentów po resekcji wątroby analiza wieloczynnikowa nie potwierdziła jednak istotności statystycznej dla badanych parametrów. Ekspresję PD-L1 potwierdzono u 4 chorych w całej populacji, u wszystkich tych chorych doszło do nawrotu choroby. Mała liczba pacjentów, u których stwierdzono ekspresję PD-L1 powoduje, że należy zachować ostrożność w interpretacji tej obserwacji, chociaż w analizie statystycznej nie wiązało się to z istotnie zwiększonym ryzykiem nawrotu choroby ($p=0,053$) lub zgonu. Ekspresję PD-L1 wykryto także na makrofagach towarzyszących nowotworowi (TAM) i/lub limfocytach naciekających guz (TIL) u 55 pacjentów: 17 pacjentów po przeszczepieniu wątroby i 31 po resekcji, w tym 8 leczonych później systemowo. Nie miało to jednak związku z rokowaniem w żadnej z podgrup pacjentów. We wszystkich próbkach tkanek przeprowadzono barwienie CD68, a obecność makrofagów towarzyszących nowotworowi CD68 potwierdzono w 62 przypadkach w zakresie od 5% do 40%. Analiza wykazała, że CD68 nie wiązało się z ryzykiem nawrotu HCC. Limfocyty naciekające guz (TIL) zaobserwowano w 19 przypadkach. Obecność TIL nie była związana z rokowaniem w żadnej z podgrup ani w populacji ogólnej. Analiza wykazała, że ekspresja CD68 nie wiązała się jed-

LI i CD68 w połączeniu z charakterystyką kliniczną pacjentów chorujących na raka wątrobowokomórkowego w populacji Europy Środkowej, która obejmowała pacjentów po przeszczepieniu wątroby.

W trakcie czytania tej pracy nasunęły mi się pytania, na które chciałbym żeby Doktorant odpowiedział podczas obrony pracy doktorskiej:

1. Dlaczego analizie poddano jedynie TAM (dlaczego wybrano właśnie te komórki) a nie wzięto pod uwagę innych immunosupresyjnych komórek w guzie tj. MDSC czy limfocyty T regulatorowe czy limfocytów T CD8, CD4, komórek NK? Jakie znaczenie dla uzyskanych wyników mogłoby mieć przeanalizowanie pozostałych w/w komórek? Jakie inne badania w obrębie mikrośrodowiska guza albo we krwi warto by zrobić Pana zdaniem (które mogłyby mieć wartość prognostyczną), żeby wzmocnić wartość naukową tej pracy?

Podsumowując, wysoko oceniam jakość merytoryczną rozprawy doktorskiej lekarza Macieja Gryziaka. Uzyskane wyniki są oryginalne. Spełnia ona w pełni wymogi art. 187 ust. 1 i 2. Ustawy z dnia 20.07.2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. 2018 póź. 1668 ze zm.). Na tej podstawie zwracam się do Radę Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lekarza Macieja Gryziaka do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora oraz ze względu na wysoką wartość naukową rozprawy w mojej ocenie powinna być wyróżniona.

Z poważaniem,