

Siedlce, 2025-08-01

Prof. dr hab. n. med. Lubomir Bodnar,
Instytut Nauk o Zdrowiu
Wydział Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu
Uniwersytet w Siedlcach

Sz. Pani

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Marta Struga
Przewodnicząca Rady Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Recenzja pracy doktorskiej lek. Macieja Gryziaka: Analiza mikrośrodowiska guza oraz parametrów laboratoryjnych jako potencjalnych czynników prognostycznych u pacjentów chorych na raka wątrobowokomórkowego.

Rak wątrobowokomórkowy (HCC) jest najczęstszym pierwotnym nowotworem wątroby, odpowiadając za około 75–85% przypadków, i zwykle wiąże się z niekorzystnym rokowaniem. Szacuje się, że nowotwory wątroby zajmują szóste miejsce pod względem częstości rozpoznania i czwarte miejsce wśród przyczyn zgonów nowotworowych na świecie. Najwięcej zachorowań występuje w Afryce i Azji, co jest ściśle skorelowane z występowaniem wirusowych zapaleń wątroby typu B i C, dwóch głównych przyczyn przewlekłej choroby wątroby prowadzącej do rozwoju HCC. W krajach wysoko rozwiniętych na znaczeniu zyskuje niealkoholowa

stłuszczeniowa choroba wątroby (NAFLD), której wzrastająca częstość jest związana z epidemią otyłości i cukrzycy typu 2. HCC zazwyczaj rozwija się w następstwie przewlekłego uszkodzenia wątroby i utrzymującego się stanu zapalnego, a marskość – niezależnie od etiologii – jest jednym z głównych czynników ryzyka. Około 90% przypadków HCC jest związanych z przewlekłym zapaleniem, włóknieniem i/lub marskością.

Patogeneza i progresja HCC obejmuje złożone interakcje zachodzące w miększu wątroby, szczególnie dotyczące komórek gwiaździstych i komórek Kupffera. Komórki gwiaździste, aktywowane w odpowiedzi na uszkodzenie, przekształcają się w miofibroblasty, co sprzyja odkładaniu białek macierzy pozakomórkowej (ECM), uwalnianiu cytokin i czynników różnicujących oraz powstawaniu reaktywnych form tlenu (ROS). Proces ten prowadzi do powstania prozapalnego mikrośrodowiska guza (tumor microenvironment, TME), które sprzyja dalszemu włóknieniu i usztywnieniu marskiej wątroby. Dodatkowo interakcje między komórkami nowotworu, TME i układem krzepnięcia zaburzają hemodynamikę wątroby, wspierając proliferację i progresję HCC.

W ostatnich latach nastąpił dynamiczny rozwój terapii ukierunkowanych molekularnie oraz immunoterapii w leczeniu HCC. Zatwierdzenie inhibitorów punktów kontrolnych układu immunologicznego (immune checkpoint inhibitors, ICIs) – przeciwciał anty-PD-1, anty-PD-L1, takich jak niwolumab, pembrolizumab oraz atezolizumab – istotnie poszerzyło możliwości terapeutyczne. Leczenie systemowe HCC ewoluuje w kierunku terapii skojarzonych, łączących ICIs z lekami antyangiogennymi lub inhibitorami kinaz tyrozynowych. Wyniki najnowszych badań klinicznych i analiz wyników z codziennej praktyki wskazują, że takie schematy mogą poprawiać odsetki odpowiedzi i wyniki przeżycia u chorych na zaawansowane HCC.



Mimo postępów w diagnostyce i leczeniu, HCC charakteryzuje się wysokim odsetkiem nawrotów sięgającym około 70% oraz brakiem istotnej poprawy przeżycia całkowitego w ciągu ostatnich dwóch dekad, a narzędzia pozwalające na prognozowanie odpowiedzi na leczenie i ryzyka nawrotu pozostają ograniczone. Dlatego szczególnie cenna jest każda próba identyfikacji biomarkerów mogących mieć znaczenie prognostyczne, zwłaszcza takich, które mogą być łatwo zaadaptowane do codziennej praktyki klinicznej.

Z satysfakcją zapoznałem się z przedłożoną rozprawą doktorską lek. Macieja Gryziaka przygotowaną pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Rafała W. Steca oraz dr n. med. Leszka Kraja. Praca poświęcona została analizie molekularnych i hematologicznych czynników prognostycznych u pacjentów z HCC, ze szczególnym uwzględnieniem mikrośrodowiska guza, ekspresji PD-L1 oraz obecności makrofagów CD68+.

Poniżej przedstawiam komentarze i wnioski wynikające z oceny formalnej i merytorycznej.

Ocena formalna i układ pracy

Rozprawa została przygotowana zgodnie z obowiązującymi standardami: zawiera przejrzysty spis treści, wykaz skrótów, streszczenia w językach polskim i angielskim, przegląd piśmiennictwa, opis metodologii, prezentację wyników, ich omówienie, wnioski, a także załączniki w postaci publikacji naukowych. Całość liczy łącznie 119 stron (wraz z kopiami artykułów).

Rozprawa jest cyklem czterech powiązanych tematycznie prac naukowych w tym trzech przeglądowych- narracyjnego, systematycznego oraz metaanalizy- oraz jednej oryginalnej (praca badawcza), opublikowanych w recenzowanych czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) o łącznej punktacji współczynnika oddziaływania Impact Factor 18,225 oraz

wg MEiN 380. W trzech artykułach lek. Maciej Gryziak jest pierwszym autorem a w jednym trzecim z zadeklarowanym dominującym wkładem własnym.

W rozprawie Autor umieścił streszczenie w języku polskim i angielskim, główne założenia, cele, materiał badawczy, metodologię zastosowaną w pracach przeglądowych i pracy badawczej, uzyskane wyniki, wnioski oraz omówienie prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, a także wykaz skrótów i piśmiennictwo.

Dodatkowo Doktorant spełnił obowiązek i przedłożył oświadczenia wszystkich współautorów, którzy wyrazili zgodę na wykorzystanie poszczególnych publikacji jako części rozprawy doktorskiej lek. Macieja Gryziaka a także potwierdzili jego indywidualny wkład w prezentowanych pracach.

Nie mam żadnych formalnych uwag do pracy.

Ocena merytoryczna

W rozprawie Autor podjął się szerokiej, wieloaspektowej analizy wybranych białek uczestniczących w odpowiedzi immunologicznej, parametrów patoklinicznych i laboratoryjnych związanych z rokowaniem u chorych na raka wątrobowokomórkowego. Cykl obejmuje cztery publikacje, z których jedna jest pracą oryginalną, natomiast pozostałe trzy to prace przeglądowe – przegląd systematyczny, przegląd narracyjny oraz metaanaliza.

Pierwszy załączony artykuł stanowi przegląd systematyczny, którego celem było zebranie oraz przeanalizowanie aktualnej wiedzy dotyczącej aktualnych możliwości terapeutycznych HCC. Przeanalizowano 23 opublikowane badania III fazy oraz 2 doniesienia zjazdowe dotyczące leczenia systemowego HCC w I i II linii u dorosłych pacjentów. Omówiono zarówno terapie skuteczne, jak i wyniki badań negatywnych a także najnowsze osiągnięcia w immunoterapii.

W drugiej pracy, która jest przeglądem narracyjnym przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat roli makrofagów związanych z guzem (TAMs) w raku wątrobowokomórkowym, omawiając ich podział na fenotypy M1 wykazujące efekt przeciwnowotworowy i M2 promujące progresję choroby. Podkreślono znaczenie TAMs jako potencjalnych markerów prognostycznych i predykcyjnych, m.in. w odniesieniu do skuteczności immunoterapii oraz oporności na leczenie systemowe. W artykule omówiono także strategie terapeutyczne ukierunkowane na modulację TAMs, w tym modyfikację ich polaryzacji i zastosowanie nowych leków biologicznych, z odniesieniem do trwających badań klinicznych.

Głównym celem pracy oryginalnej, będącej trzecim z załączonych artykułów było określenie, które parametry kliniczne, molekularne i laboratoryjne mogą mieć znaczenie prognostyczne w HCC, w tym m.in. wielkość i liczba guzów, metoda leczenia (resekcja, transplantacja, leczenie systemowe), status infekcji HBV i HCV, markery biochemiczne (AFP), wskaźniki oparte na morfologii krwi (NLR, PLR, WBC), skale ALBI i PALBI, a także ekspresja PD-L1, CD68 i obecność limfocytów naciekających guz (TILs). W prezentowanym retrospektywnym badaniu po przeanalizowaniu danych 227 kolejnych pacjentów z HCC leczonych w jednym ośrodku akademickim, do ostatecznej analizy włączono 111 chorych (52 po transplantacji wątroby, 59 po resekcji). Analizy wykonano zarówno w całej włączonej populacji oraz w podgrupach. Wykazano, że kluczowymi negatywnymi czynnikami prognostycznymi były: obecność mikroinwazji naczyniowej, podwyższony poziom AFP i WBC. W grupach po transplantacji i resekcji szczegółowe analizy pozwoliły wskazać dodatkowe czynniki o istotnym znaczeniu, takie jak NLR czy stopień histologicznej złośliwości guza. W dalszej części pracy przedstawiono wyniki analiz ekspresji wybranych białek uczestniczących w procesach odpowiedzi

immunologicznej w tym PD-L1, obecności makrofagów CD68⁺ oraz TILs w tkankach nowotworowych, jednak ze względu na niewielką liczbę przypadków z dodatnią ekspresją PD-L1 oraz brak wyraźnych korelacji z rokowaniem, wyniki te należy interpretować ostrożnie.

Czwarty artykuł cyklu oparty jest na przeglądzie systematycznym i metaanalizie dotyczącej wpływu liczby płytek krwi (PLT) na przeżycie w HCC. Na podstawie 26 badań obejmujących 9403 pacjentów wykazano, że trombocytopenia ($<100 \times 10^9/L$) jest istotnym czynnikiem niekorzystnym w leczeniu radykalnym, natomiast w leczeniu paliatywnym obserwowano trend odwrotny. Wyniki te sugerują potencjalną rolę płytek krwi i ich mediatorów w progresji HCC oraz ich możliwą przydatność jako prostego, dostępnego markera prognostycznego.

Całość rozprawy doktorskiej jest spójna tematycznie, a jej mocną stroną jest połączenie dużej jednorodnej kohorty chorych z własnego ośrodka akademickiego z analizami danych literaturowych o szerokim zakresie. Autor wykazał się dużymi umiejętnościami w zakresie analizy statystycznej, interpretacji wyników oraz krytycznej oceny piśmiennictwa.

Ogólnym celem rozprawy była ocena zależności pomiędzy stanem układu odpornościowego, charakterystyką mikrośrodowiska guza a możliwością przewidywania rokowania u pacjentów z HCC.

Doktorant sformułował trzy następujące cele szczegółowe:

1. Opisanie charakterystyki molekularnej chorych na HCC leczonych w UCK WUM.
2. Ocena odległych wyników leczenia oraz poszukiwanie czynników prognostycznych związanych z nawrotem HCC po przeszczepieniu wątroby, resekcji leczniczej lub w grupie pacjentów kwalifikowanych do leczenia systemowego.

3. Ocena możliwości zastosowania określonych oznaczeń molekularnych oraz parametrów laboratoryjnych jako czynników prognostycznych u pacjentów chorych na HCC.

Cele te zostały zrealizowane poprzez wykonanie przeglądu systematycznego, przeglądu narracyjnego i metaanalizy, a także poprzez przeprowadzenie badań własnych w oparciu o kohortę pacjentów leczonych w jednym ośrodku akademickim. Uzyskane wyniki pozwoliły na sformułowanie wniosków stanowiących bezpośrednią odpowiedź na postawione cele badawcze.

Podsumowanie recenzji

W związku z faktem, że wyniki pracy oryginalnej oraz trzech prac przeglądowych przeprowadzonych przez Doktoranta zostały już opublikowane w recenzowanych, wysoko punktowanych i prestiżowych czasopismach naukowych o łącznym wysokim współczynniku oddziaływania *Impact Factor* 18,225 oraz łącznej punktacji wg MEiN 380, moja rola jako recenzenta jest znacznie ułatwiona. Zwraca uwagę wysoka wartość poznawcza prac, międzynarodowy zasięg publikacji oraz bogaty warsztat metodyczny. Po szczegółowym zapoznaniu się ze wszystkimi pracami włączonymi do dysertacji nie stwierdzam żadnych błędów formalnych ani merytorycznych. Temat rozprawy jest nowatorski i może mieć istotne znaczenie praktyczne w identyfikacji przede wszystkim parametrów patoklinicznych, a w mniejszym stopniu – jak wykazały wyniki pracy – parametrów molekularnych o potencjalnym znaczeniu rokowniczym u pacjentów z HCC.

Z perspektywy ośrodka akademickiego naturalnym oczekiwaniem jest, aby w ramach rozprawy doktorskiej istotny udział miały również badania własne o charakterze eksperymentalnym lub oryginalnym klinicznym. W niniejszej dysertacji przeważają prace przeglądowe, co nie umniejsza ich wartości merytorycznej, lecz sugeruje, że w przyszłości rozszerzenie tego dorobku



o kolejne projekty badawcze mogłoby jeszcze bardziej wzmocnić znaczenie naukowe i aplikacyjne cyklu.

Podsumowując, pomimo drobnych uwag, przedstawiona do oceny rozprawa stanowi wartościowe rozwiązanie ważnego zagadnienia naukowego i jest istotnym przyczynkiem do poszerzenia wiedzy na temat roli mikrośrodowiska guza oraz parametrów laboratoryjnych jako potencjalnych czynników prognostycznych u pacjentów chorych na raka wątrobowokomórkowego. Praca ta w pełni spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim. Na podstawie powyższej oceny wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego **o dopuszczenie lek. Macieja Gryziaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**