

Dolnośląskie Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii



Wydział Medyczny Politechniki Wrocławskiej



Politechnika Wrocławska



Wydział
Medyczny

Recenzja pracy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu pt. „Znaczenie ekspresji ligandu PD-L1 oraz nacieku limfocytarnego w ocenie rokowania raka nerkowokomórkowego”

lek. Maciej Łuba

Podjęcie przez Doktoranta badań dotyczących znaczenia ekspresji ligandu PD-L1 oraz nacieku limfocytarnego w ocenie rokowania raka nerkowokomórkowego (RCC) ma ogromną wartość poznawczą. Uzyskane wyniki mogą być bowiem podstawą do prowadzenia dalszych badań dotyczących określenia czynników predykcyjnych odpowiedzi na leczenie systemowe, przede wszystkim na immunoterapię, która jest obecnie jedną z najważniejszych form terapii chorych na raka nerki.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pana Macieja Łuby posiada układ typowy dla rozpraw doktorskich. Na początku manuskryptu przedstawiony jest spis treści, wykaz użytych skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, w dalszej kolejności znajduje się właściwa treść rozprawy doktorskiej, która została podzielona na sześć rozdziałów (wstęp, cele

pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja oraz wnioski). Na końcu pracy znajduje się bibliografia, spis rysunków i spis tabel. Rozprawa obejmuje łącznie 85 stron wydruku, 11 tabel i 28 rycin umieszczonych chronologicznie w tekście. Bibliografia obejmuje łącznie 100 pozycji.

We Wstępie Doktorant przedstawia dane epidemiologiczne dotyczące zachorowań na raka nerki i klasyfikację histopatologiczną. Następnie skupia się na diagnostyce, ocenie stopnia zaawansowania oraz modelach prognostycznych raka jasnokomórkowego nerki (ccRCC). W dalszej części opisuje metody i strategie terapeutyczne dotyczące leczenia chorych na raka nerki. Niezwykle ważną kwestią poruszoną przez Doktoranta w tym rozdziale są definicje aktywnej obserwacji (ang. active surveillance, AS) oraz bacznej obserwacji (ang. watchful waiting, WW). W obecnych czasach problem niepotrzebnych badań, które niejednokrotnie są bardzo obciążające dla chorych, a nie zmieniają sposobu leczenia, jest ogromny.

Doktorant formuje cztery cele badawcze dotyczące znaczenia rokowniczego wykładników stanu immunologicznego gospodarza na przebieg ccRCC. Pierwszy dotyczy oceny ekspresji ligandu PD-L1 w komórkach ccRCC, drugi nacieku limfocytów T CD4 i CD8 w mikrośrodowisku guza, trzeci wpływu mutacji *PBRM1* na nacieki limfocytów T w ccRCC, czwarty zmian w zakresie wykładników krwi obwodowej (poziomu płytek krwi oraz stosunku liczby neutrofilów do limfocytów).

Badanie obejmowało 161 chorych, w tym 60 chorych z chorobą pierwotnie ograniczoną do narządu i bez cech rozsiewu w co najmniej 5-letniej obserwacji; 49 z chorobą pierwotnie ograniczoną do narządu z cechami rozsiewu w co najmniej 5-letniej obserwacji (recenzujący pyta i prosi o odpowiedź, czy opis tej grupy nie powinien brzmieć „w 5-letniej obserwacji”, ponieważ wydaje się, że jest to błąd językowy, a Doktorantowi chodzi o grupę chorych, u których doszło do rozsiewu w ciągu 5 lat od rozpoznania) oraz 52 chorych z pierwotnie uogólnionym ccRCC.

W rozdziale Materiał i metody Doktorant dokładnie i precyzyjnie opisuje użytą aparaturę, wykorzystane materiały oraz odczynniki. Następnie w sposób zwięzły opisuje metodologię przeprowadzonych badań oraz analiz statystycznych. Brakuje natomiast informacji określającej punkt czasowy, w którym pobierano krew na badania laboratoryjne oraz liczono czas przeżycia chorych w badanych grupach.

W rozdziale Wyniki przedstawiono wyniki analizy ekspresji PD-L1, CTLA-4 oraz CD-4 i CD8A z danych wielkoskalowych dostępnych w Gene Expression Omnibus database oraz

TCGA. W kolejnych podrozdziałach przedstawiono charakterystykę oraz wyniki badań, które zostały przeprowadzone na materiale od 161 chorych leczonych i obserwowanych w NIO-PIB w Warszawie. Wśród tych chorych wyróżniono trzy grupy, chorzy bez wznowy w ciągu 5 lat, chorzy ze wznową w ciągu 5 lat oraz chorzy pierwotnie rozsiani. W tych grupach określono nacieki limfocytów T w mikrośrodowisku guza. Zaobserwowano, że najwięcej limfocytów T CD8 naciekających guz było w grupie z pierwotnie rozsianym rakiem nerki. Wykazano także, że ekspresja PD-L1 wzrastała w komórkach ccRCC w porównaniu do tkanek zdrowych oraz wzrost był niezależny od obecności mutacji w genie *PBRM1*. Przedstawiono również wyniki pozytywnej korelacji ekspresji RRM2 tylko z ekspresją markerów limfocytów T CD4. Przedstawiono wyniki dotyczące braku korelacji w ilości przerzutów z naciekiem limfocytów CD4 i CD8 oraz lokalizacji przerzutów w zależności od stosunku nacieku limfocytów T CD4 do CD8. Niestety nie podano, dla której z badanych grup dokonano tych analiz, dlatego proszę o uzupełnienie tych danych. Wyniki analizy dotyczące PD-L1 wykazały, że w większości nie było nadekspresji PD-L1 w komórkach nowotworowych. W analizie czynników ryzyka wykazano, że ilość płytek krwi we krwi obwodowej oraz stosunek liczby neutrofilów do limfocytów T, wiek w czasie operacji oraz jądrowa lokalizacja PD-L1 mają znaczenie rokownicze i wpływają na czas przeżycia pacjentów z rozpoznanym ccRCC. Niemniej jednak brakuje w tym podrozdziale informacji dotyczącej czasu przeżycia chorych, dlatego proszę o uzupełnienie i wyjaśnienie tej kwestii. Być może jest to wynikiem braku jednej z tabel/rycin, ponieważ informacje w tekście nie są spójne z numerami tabel (Rozdział IV. 8 i IV. 9).

Po przeanalizowaniu wyników badań Doktorant wysunął następujące wnioski:

1. Jądrowa lokalizacja PD-L1 w komórkach nowotworowych przeważała u pacjentów z pierwotnie rozsianym ccRCC.
2. Błonowa ekspresja PD-L1 na komórkach ccRCC występowała w pojedynczych przypadkach i nie stwierdzono korelacji jej występowania z żadną z grup pacjentów.
3. Limfocyty T CD4 występują w większej ilości niż limfocyty T CD8 w mikrośrodowisku jasnokomórkowego raka nerki.
4. Wraz ze wzrostem zaawansowania choroby zwiększa się nacieki limfocytów T CD8 i maleje stosunek limfocytów T CD4 do CD8.
5. Stosunek CD4/CD8 może być w przyszłości dobrym markerem predykcyjnym u pacjentów z ccRCC jednak wymaga to walidacji na większej grupie pacjentów.
6. Mutacja w genie *PBRM1* w ccRCC powoduje znaczące zmniejszenie infiltracji limfocytów T CD8, ale nie CD4.

7. Ilość płytek krwi we krwi obwodowej oraz stosunek liczby neutrofili do limfocytów T mają znaczenie rokownicze i wpływają na czas przeżycia pacjentów z rozpoznanym ccRCC.

Sumując, przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma znaczną wartość naukową i, co należy podkreślić, został w niej zawarty unikalny materiał. Dyskusja jest napisana w sposób metodyczny i uwzględnia publikacje w zakresie analizowanej tematyki. Doktorant dobrze omawia znaczenie uzyskanych wyników w aspekcie klinicznym. Streszczenia w języku polskim i angielskim napisane są w sposób prawidłowy.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska przygotowana przez pana Macieją Łubę pt. „Znaczenie ekspresji ligandu PD-L1 oraz nacieku limfocytarnego w ocenie rokowania raka nerkowokomórkowego” pod kierunkiem promotora dr hab. n. med. Pawła Wiechno, prof. NIO-PIB oraz promotora pomocniczego dr. n. biol. Natalii Rustetskiej spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1. o ust. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a Doktorant wykazał się wiedzą teoretyczną w prezentowanej dyscyplinie oraz posiada umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych. W związku z powyższym pracę **opiniuję pozytywnie** i przedkładam Radzie Naukowej NIO-PIB wniosek o dopuszczenie pana Macieja Łuby do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław 07.04.2024,

dr hab. n. med. Bożena Cybulska-Stopa, prof. PWr