Narodowy
Instytut
Onkologii
im. Marii Skłodowskiej-Curie
Państwowy Instytut Badawczy

Dr hab. n. med. Jakub Kucharz, prof. NIO-PIB
specjalista onkologii klinicznej
Klinika Nowotworów Układu Moczowego
Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej - Curie
Państwowy Instytut Badawczy

Recenzja
rozprawy pracy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne
pt. „Analiza wartości prognostycznej markerów molekularnych raka nerkowokomórkowego z czopem w układzie żylnym"
lek. Sumit Sharma

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska poświęcona jest analizie znaczenia prognostycznego wybranych markerów molekularnych oraz elementów mikrośrodowiska w raku nerkowokomórkowym z czopem nowotworowym w układzie żylnym. Tematyka pracy wpisuje się w jeden z najbardziej aktualnych kierunków współczesnej onkologii translacyjnej, polegający na poszukiwaniu biologicznych determinant przebiegu klinicznego nowotworów i identyfikacji markerów umożliwiających personalizację leczenia.

Rak nerkowokomórkowy (RCC) z czopem nowotworowym w układzie żylnym pozostaje szczególnym wyzwaniem klinicznym. Mimo że zagadnienie to od wielu lat stanowi przedmiot zainteresowania urologów, większość badań koncentrowała się dotychczas na aspektach technicznych leczenia operacyjnego, klasyfikacji zasięgu czopa oraz wynikach leczenia chirurgicznego. Znacznie mniej uwagi poświęcono biologii samego czopa nowotworowego, jego mikrośrodowisku oraz potencjalnym różnicom molekularnym pomiędzy czopem a guzem pierwotnym.

Autor rozprawy podejmuje próbę odpowiedzi na pytanie, czy czop nowotworowy jest jedynie anatomicznym przedłużeniem guza pierwotnego, czy też stanowi odrębny kompartyment biologiczny o własnych cechach molekularnych i immunologicznych. Uważam, że jest to pytanie naukowo istotne i dobrze uzasadnione.

Przedstawiona rozprawa doktorska powstała w Klinice Urologii Ogólnej, Onkologicznej i Czynnościowej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, a promotorem jest dr hab. n. med. i n. o zdr. Łukasz Zapała, specjalista urologii, FEBU.

Cele pracy obejmowały:

1. Usystematyzowanie aktualnego stanu wiedzy dotyczącego biologii czopa nowotworowego w raku nerki, w tym jego histopatologii, uwarunkowań molekularnych oraz mikrośrodowiska immunologicznego, w kontekście możliwości dalszego rozwoju spersonalizowanych strategii leczenia.
2. Ocenę ekspresji PSGL-1 w komórkach nowotworowych i komórkach układu odpornościowego w obu kompartymentach nowotworu, w celu analizy jej możliwej roli rokowniczej.
3. Ocenę ekspresji wybranych innych markerów immunologicznych, w szczególności STING, w guzie pierwotnym oraz w czopie nowotworowym oraz ich potencjalnego związku z agresywnym przebiegiem choroby.
4. Porównanie profilu immunologicznego guza pierwotnego i czopa nowotworowego, ze zwróceniem uwagi na potencjalne różnice, które mogłyby tłumaczyć obserwowaną heterogeniczność kliniczną chorych z podobnym zaawansowaniem choroby.
5. Ocenę znaczenia prognostycznego badanych markerów w odniesieniu do przeżycia całkowitego chorych, z perspektywy ich możliwej użyteczności w codziennej praktyce klinicznej.

Na ocenianą pracę doktorską składa się cykl trzech spójnych tematycznie publikacji pod wspólnym tytułem **„Analiza wartości prognostycznej markerów molekularnych raka nerkowokomórkowego z czopem w układzie żylnym"**

1. Sumit Sharma, Michał Kunc, Mieszko Czaplinski, Weronika Łyzińska, Rafał Pęksa, Le Qu, Piotr Radziszewski, Łukasz Zapała. *Biology of renal cancer tumor thrombus - towards the personalized approach.* Critical Reviews in Oncology/Hematology; 2025; 211 (104731): 1–9. DOI: https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2025.104731. Współczynnik oddziaływania (IF) 5.6; punktacja MNiSW 100.

2. Rafał Pęksa*, Sumit Sharma* (equal first), Michał Kunc, Marta Popęda, Le Qu, Mikołaj Frankiewicz, Marcin Folwarski, Piotr Radziszewski, Łukasz Zapała. *P-selectin glycoprotein ligand-1 is diversely expressed in the primary tumour and venous thrombus of clear cell renal cancer and correlates with poor overall survival.* *These authors contributed equally to this work. Contemporary Oncology; 2024; 28(3): 253–259. DOI: https://doi.org/10.5114/wo.2024.144225. Współczynnik oddziaływania (IF) 1.3; punktacja MNiSW 70.

3. Sumit Sharma*, Michał Kunc, Rafał Pęksa, Aleksandra Ciarka, Weronika Łyzińska, Le Qu, Piotr Radziszewski, Łukasz Zapała. *Increased immunohistochemical expression of stimulator of interferon genes (STING) in renal cancer with venous tumor thrombus is associated with worse prognosis.* *Corresponding author. Biomedicines; 2025; 13 (2674): 1–12. DOI: https://doi.org/10.3390/biomedicines13112674. Współczynnik oddziaływania (IF) 3.9; punktacja MNiSW 100.

Publikacje ukazały się w czasopismach o uznanej pozycji naukowej, tj. Critical Reviews in Oncology/Hematology, Biomedicines oraz Contemporary Oncology. Sam fakt opublikowania wyników badań w recenzowanych czasopismach międzynarodowych stanowi istotny argument przemawiający za ich wartością naukową.

Należy podkreślić, że przedstawiony cykl nie jest przypadkowym zestawieniem publikacji. Wszystkie prace podporządkowane są wspólnej hipotezie badawczej i konsekwentnie rozwijają zagadnienie biologii RCC z żylnym czopem nowotworowym. W mojej ocenie jest to jedna z mocniejszych stron rozprawy.

W pierwszej publikacji, stanowiącej wstęp do przedstawionego cyklu, autor omawia:
- epidemiologię RCC,
- klasyfikację i kliniczne znaczenie VTT,
- mechanizmy molekularne w RCC,
- dane pochodzące z badań filogenetycznych, w tym projektu TRACERx,
- rolę mikrośrodowiska guza (TME),
- potencjalne znaczenie biomarkerów immunologicznych.

Publikacja została przygotowana bardzo starannie i świadczy o dobrej orientacji autora w omawianym obszarze. Na szczególne uznanie zasługuje przedstawienie czopa nowotworowego nie jako biernej struktury związanej z guzem pierwotnym, lecz jako potencjalnie aktywnego biologicznie elementu procesu nowotworowego. Autor umiejętnie wykorzystuje aktualną literaturę, aby uzasadnić potrzebę prowadzenia badań nad mikrośrodowiskiem VTT. Przegląd piśmiennictwa jest obszerny, aktualny i dobrze uporządkowany, stanowiąc logiczne uzasadnienie dalszych badań.

Publikacje oryginalne powstały w oparciu o materiał pochodzący z leczenia operacyjnego prowadzonego w latach 2012-2019 w dwóch wysoce wyspecjalizowanych ośrodkach i stanowią kontynuację wcześniejszych badań autorów, które oceniały w tej kohorcie m. in. ekspresję PD-L1 oraz VISTA w guzie pierwotnym oraz czopie nowotworowym.

W drugiej z publikacji składających się na pracę doktorską oceniono ekspresję PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1) w guzie pierwotnym oraz czopie nowotworowym. Głównym celem była ocena czy ekspresja PSGL-1 wiąże się z cechami kliniczno-patologicznymi i czasem przeżycia całkowitego.

Stwierdzono, że:

- Komórki nowotworowe (TC) częściej wykazują ekspresję PSGL-1 w VTT niż w guzie pierwotnym.
- Komórki immunologiczne związane z nowotworem (TAIC) częściej wykazują ekspresję PSGL-1 w guzie pierwotnym niż w VTT.
- Ekspresja PSGL-1 w komórkach nowotworowych zakrzepu była związana z wysokim stopniem złośliwości histologicznej.
- Ekspresja PSGL-1 w komórkach immunologicznych zakrzepu była związana z obecnością martwicy nowotworu.
- Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy ekspresją PSGL-1 i VISTA w komórkach immunologicznych (TAIC), co może sugerować udział obu markerów w immunosupresyjnym mikrośrodowisku nowotworu.
- Ekspresja PSGL-1 w TAIC VTT wiązała się z krótszym OS,
- Ekspresja PSGL-1 w TC PT również wiązała się z krótszym OS,
- PSGL-1 utracił istotność statystyczną w analizie wieloczynnikowej.

PSGL-1 jest markerem związanym z agresywnym fenotypem nowotworu i gorszym przeżyciem w analizach jednoczynnikowych, ale nie wykazano, że jest niezależnym czynnikiem prognostycznym.

Ograniczenia pracy, na które należy zwrócić uwagę to przede wszystkim:

- stosunkowo mała grupa badana, przy czym ponad 97% stanowili pacjenci z zaawansowaniem pT3a, a jednocześnie ponad 28% stanowili chorzy z cechą M1, jednocześnie brak jest informacji jak byli leczeni chorzy M1 (co w oczywisty sposób wpływa na rokowanie),
- brak walidacji zewnętrznej,
- brak szczegółowej oceny TAIC – w pracy translacyjnej, dotyczącej immunologii nowotworów oraz mikrośrodowiska jest to element istotny.

Trzecia z prac jest poświęcona ocenie prognostycznego znaczenia ekspresji STING w guzie pierwotnym oraz VTT.

W analizach stwierdzono, że:

- Ekspresja STING w guzie pierwotnym i VTT była podobna,
- Wysoka ekspresja STING w VTT korelowała z obecnością martwicy,
- W guzie pierwotnym ekspresja PD-L1 korelowała z ekspresją STING,
- W VTT ekspresja VISTA korelowała z ekspresją STING,
- TIL występowały u 47,6% chorych w guzie pierwotnym i 42,7% w VTT,
- W guzie pierwotnym obecność TIL korelowała również z ekspresją STING,
- Ekspresja STING w guzie pierwotnym nie miała wpływu na czas przeżycia całkowitego,
- Wysoka ekspresja STING w VTT korelowała z krótszym czasem przeżycia całkowitego,
- Obecność TIL była związana z czasem przeżycia całkowitego.

Jednak w analizie wieloczynnikowej nie potwierdzono prognostycznego znaczenia ekspresji STING ani obecności TIL, a niezależnymi czynnikami prognostycznymi pozostały zajęcie węzłów chłonnych oraz wysoki stopień złośliwości.

Ograniczenia pracy, na które należy zwrócić uwagę to przede wszystkim:

- Mała liczebność próby przy takich samych ograniczeniach wynikających z charakterystyki badanej populacji jakie wymienione zostały w odniesieniu do pierwszej publikacji,
- Brak walidacji zewnętrznej,
- Arbitralnie przyjęty punkt odcięcia ekspresji STING „low vs high",
- TIL oceniano jedynie jako „obecne" lub „nieobecne" przy progu 1%, bez ilościowej charakterystyki nacieku,
- Brak analizy subpopulacji TIL, co ogranicza interpretację biologiczną wyników.

Największą wartością rozprawy jest odejście od tradycyjnego postrzegania czopa nowotworowego jako biernego elementu zaawansowania miejscowego.

Doktorant zrealizował większość założonych celów badawczych, należy jednak zaznaczyć pewne ograniczenia i nieścisłości:

1. Pewne wątpliwości budzi wybór punktu końcowego tj. czas przeżycia całkowitego, jeżeli wziąć pod uwagę niejednorodność grupy (pacjenci M0 oraz M1). Chorzy z wyjściowo uogólnioną chorobą z definicji mają gorsze rokowanie, a czas przeżycia całkowitego istotnie zależy od sposobu leczenia – np. leczenie miejscowe w chorobie oligometastatycznej; leczenie systemowe w przypadku jego stosowania (monoterapia VEGFR-TKI, schematy oparte o IO).
2. Przyjęcie arbitralnego punktu odcięcia dla niskiej/wysokiej ekspresji STING oraz brak korekty dla porównań wielokrotnych
3. Brak szczegółowych analiz TILs
4. W trzeciej publikacji skrót TILs jest rozwinięty jako „Tumor Infiltrating Leukocytes", a zatem przyjmuję, że autor ma na myśli różne populacje linii białokrwinkowej, natomiast w opisie metod we wspomnianej pracy (punkt 2.2) autor opisuje „the presence of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) was assessed dichotomously as present (at least 1% of stromal TILs) or absent (less than 1% of stromal TILs). The 1% cutoff was implemented due to practical reasons, as it dichotomously differentiates tumors with no lymphocytes and those with at least some lymphocytic infiltration, resulting in satisfactory reproducibility", w drugiej publikacji oceniano TAIC
5. Doktorant nie ustrzegł się przed błędami edytorskimi i językowymi:
   - skrót Nox4 został rozwinięty jako „oksydaza 4 (ang. Oxidase-4, Nox4)" zamiast NADPH oxidase 4
   na stronie 24 „To z kolei może być powiązane z ryzykiem przeżycia i potencjalnie ograniczać skuteczność immunoterapii",
   - na stronie 26 „(...) fibryna odgrywa role w przerzutach (...)", „wzrost czynnika tkankowego", „(...) spadek TF"

Wniosek końcowy

Recenzowana praca wpisuje się w nurt badań nad heterogennością nowotworów i mikrośrodowiskiem guza, a jej wyniki mogą mieć znaczenie dla przyszłych badań. Doktorat wykazał się odpowiednią znajomością zagadnienia, wnikliwością oraz dojrzałością naukową.

Mając na uwadze powyższe jednoznacznie stwierdzam, że rozprawa doktorska pt. **Analiza wartości prognostycznej markerów molekularnych raka nerkowokomórkowego z czopem w układzie żylnym"** spełnia warunki określone w Art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. z 2018 poz. 1668). Na tej podstawie zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z **wnioskiem o dopuszczenie lek. Sumita Sharmy do dalszych etapów przewodu doktorskiego**.

Z wyrazami szacunku.

dr hab. n. med. Jakub Kucharz, prof. NIO-PIB