

Dr hab. n. med. Tomasz Ząbkowski, Profesor Instytutu
Klinika Urologii Ogólnej, Czynnościowej i Onkologicznej
Wojskowy Instytut Medyczny- Państwowy Instytut Badawczy
W Warszawie

Warszawa, 03.11.2024

WOJSKOWY INSTYTUT MEDYCZNY
Klinika Urologii Ogólnej, Czynnościowej
i Onkologicznej CSK MON
04-141 Warszawa, ul. Szaserów 128
Regon: 015294487; NIP: 113-23-93-221

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Grzegorza Stawarz pt. „Zmiany molekularne w jasnokomórkowym raku nerki”

Promotorem rozprawy doktorskiej jest Pani dr hab. Elżbieta Sarnowska, Profesor Instytutu, Narodowy Instytut Onkologii, Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie.

Promotor pomocniczy dr hab. Natalia Rusetska, Narodowy Instytut Onkologii Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie

Jasnokomórkowy rak nerki to nowotwór, który pomimo częściowo poznanej etiologii i zidentyfikowanych czynników ryzyka, nadal stanowi wyzwanie kliniczne, zwłaszcza w stadium przerzutowym. Dane z ostatnich dwóch dekad wskazują na wzrost zachorowalności na jasnokomórkowego raka nerki – średnio o 2% rocznie zarówno w Europie, jak i na świecie. W związku z tym kluczowe staje się poszukiwanie nowych ścieżek terapeutycznych dla tego typu nowotworu. O ile ograniczone do narządu guzy nerkowe dobrze odpowiadają na stosowane leczenie, to przerzuty odległe, które mogą pojawić się nawet wiele lat po zakończeniu terapii, stanowią duże wyzwanie dla współczesnej medycyny. Oporność na dotychczasowe schematy terapeutyczne wydaje się wynikać z ciągłej ewolucji nowotworu oraz dużej heterogenności komórek nowotworowych. Tym bardziej konieczne jest zgłębienie molekularnych podstaw patogenezy, by odkryć nowe potencjalne metody leczenia.

Obecne badania nad nowotworami koncentrują się nie tylko na mutacjach genetycznych, które pełnią rolę inicjatorów procesu karcynogenezy, lecz także na „relacji” nowotworu z układem immunologicznym pacjenta. Wobec licznych niepowodzeń klasycznej chemioterapii i radioterapii oraz ich poważnych skutków ubocznych, immunoterapia wydaje się nadzieją nie tylko dla systemów opieki zdrowotnej, ale przede wszystkim dla pacjentów onkologicznych, którzy liczą na przekształcenie raka przynajmniej w chorobę przewlekłą. Choć schematy immunoterapeutyczne dla jasnokomórkowego raka nerki są już stosowane, ich skuteczność nadal pozostaje niezadowalająca, szczególnie w zaawansowanym stadium choroby. W związku z tym nieustannie pogłębianą jest wiedza na temat zaburzeń molekularnych w jasnokomórkowym raku nerki, co może nas przybliżyć do opracowania skutecznych schematów terapeutycznych dla zaawansowanych przypadków.

Temat pracy podjęty przez doktoranta jest więc niezwykle istotny i aktualny. Doktorant analizował obecność zmian molekularnych w jasnokomórkowym raku nerki w korelacji z naciekiem limfocytarnym w mikrośrodowisku tego nowotworu.

Celem pracy było ustalenie, czy zidentyfikowane zmiany molekularne w jasnokomórkowym raku nerki mogą stanowić potencjalny punkt uchwytu do opracowania terapii opartych na immunoterapii.

W oparciu o przeprowadzone analizy, można wyciągnąć następujące wnioski dotyczące roli białek OSMR, IDO-1 oraz TMPRSS2 w jasno komórkowym raku nerki (ccRCC). Po pierwsze, obecność OSMR jest charakterystyczna zarówno dla komórek nowotworowych, jak i limfocytów T infiltrujących środowisko guza, co sugeruje jego istotną rolę w interakcjach pomiędzy nowotworem a układem immunologicznym. Po drugie, wysoki poziom limfocytów T z dodatnią ekspresją OSMR koreluje z wyższym stopniem zaawansowania choroby, osiągając maksymalne wartości w stadium przerzutowym. Dodatkowo, stwierdzono, że podwyższony poziom OSMR w komórkach nowotworowych również jest związany z zaawansowaniem ccRCC. W kontekście innych białek, ccRCC charakteryzuje się zaburzeniami ekspresji IDO-1 oraz TMPRSS2. Chociaż ekspresja IDO-1 w jasno komórkowym raku nerki jest relatywnie niska, to jej poziom wykazuje dodatnią korelację z zaawansowaniem choroby w stadium TNM. Co więcej, białko TMPRSS2 występuje zarówno w limfocytach T naciekających nowotwór, jak i w komórkach nowotworowych, co podkreśla jego potencjalną rolę w patogenezie ccRCC.

Przedstawione wnioski z badania potwierdzają istotność podjętej tematyki. Uzyskane wyniki mogą stanowić podstawę do przeprowadzenia szerszych badań nad zaburzeniami molekularnymi jasno komórkowego raka nerki oraz przyczynić się do opracowania skutecznej immunoterapii dla tego nowotworu w stadium przerzutowym.

1. Ocena merytoryczna.

A. Trafność podjętej problematyki badawczej i jej oryginalność

Praca badawcza Doktoranta ma charakter retrospektywny i została przeprowadzona jako badanie jednośrodkowe. Poruszona problematyka badawcza jest niezwykle wartościowa i posiada dużą wagę naukową. Projekt ten uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Narodowym Instytucie Onkologii – Państwowym Instytucie Badawczym, zarejestrowaną pod numerem 20/2020, wydaną 21 maja 2020 roku. Materiał badawczy stanowiły bloczki parafinowe pobrane od 161 pacjentów z jasno komórkowym rakiem nerki, którzy byli leczeni i obserwowani w NIO-PIB w Warszawie w latach 2014–2020.

Badana grupa została podzielona na trzy podgrupy według następującego schematu: 60 pacjentów z chorobą ograniczoną do narządu, u których w co najmniej 5-letniej obserwacji nie doszło do rozsiewu; 49 pacjentów z chorobą początkowo ograniczoną do narządu, u których w co najmniej 5-letniej obserwacji doszło do rozsiewu, oraz 52 pacjentów z chorobą przerzutową od momentu rozpoznania. Próby poddano analizie immunohistochemicznej oraz transkryptomicznej, a uzyskane wyniki zestawiono z danymi kliniczno-patologicznymi, takimi jak płeć, wiek i stopień złośliwości histologicznej.

Wzrost zachorowalności na jasno komórkowego raka nerki, a także rosnąca liczba pacjentów w stadium przerzutowym, podkreślają znaczenie poszukiwania nowych punktów uchwytu dla potencjalnych schematów immunoterapeutycznych. Co więcej, w dostępnej literaturze wciąż brakuje badań dotyczących reakcji układu odpornościowego na proces nowotworowy w przebiegu jasno komórkowego raka nerki, co czyni to zagadnienie szczególnie istotnym naukowo.

B. Ocena uzyskanych rezultatów i ich znaczenie dla nauki i praktyki

Ocena uzyskanych rezultatów przedstawionych w rozprawie doktorskiej ma kluczowe znaczenie zarówno dla nauki, jak i praktyki klinicznej w obszarze urologii onkologicznej. Przeprowadzone

badania na 161 próbkach guzów jasnokomórkowego raka nerki (ccRCC) dostarczają cennych informacji na temat obecności białek OSMR, IDO-1 i TMRSS2 oraz ich korelacji z danymi klinicznymi pacjentów, w tym klasyfikacją TNM. Analiza tych białek w kontekście postępu choroby i odpowiedzi na leczenie może otworzyć nowe perspektywy w diagnostyce i terapii tego nowotworu.

Zastosowane metody immunohistochemiczne, przeprowadzone w renomowanym Zakładzie Immunoterapii Eksperymentalnej NIO-PIB pozwoliły na szczegółową analizę molekularnych mechanizmów, które towarzyszą rozwojowi i progresji ccRCC. Dzięki precyzyjnemu oznaczeniu białek w tkankach nowotworowych, możliwe było zidentyfikowanie różnic w ich ekspresji w zależności od zaawansowania choroby, co ma fundamentalne znaczenie dla zrozumienia biologii tego nowotworu.

Uzyskane wyniki nie tylko wzbogacają naszą wiedzę na temat jasnokomórkowego raka nerki, ale mogą również przyczynić się do wyznaczenia nowych biomarkerów prognostycznych i terapeutycznych. Biomarkery te mogą stać się podstawą do opracowania bardziej zindywidualizowanych strategii leczenia, które będą bardziej skuteczne w obliczu różnorodności biologicznej tego nowotworu.

Planowana analiza wpływu zidentyfikowanych czynników na przeżycie całkowite pacjentów, oparta na danych z Krajowego Rejestru Nowotworów, umożliwi lepsze rokowanie oraz optymalizację strategii leczenia. Zrozumienie, jak różne czynniki molekularne wpływają na prognozy przeżycia jest niezbędne do tworzenia skutecznych planów terapeutycznych, które mogą poprawić wyniki leczenia pacjentów z ccRCC.

Wykorzystane metody statystyczne, w tym analiza regresji Coxa, są adekwatne do celu pracy i umożliwią zbudowanie modelu wskazującego na istotność poszczególnych czynników w kontekście przeżycia pacjentów. Taki model nie tylko wspiera proces podejmowania decyzji klinicznych, ale także może być podstawą dla dalszych badań naukowych.

Całość przeprowadzonych badań podkreśla wysoką wartość naukową rozprawy, a ich wyniki mogą mieć istotne znaczenie dla praktyki klinicznej oraz dalszych badań. Wnioski płynące z tej pracy mogą stanowić istotny krok w kierunku lepszego zrozumienia jasnokomórkowego raka nerki i wskazywać na nowe kierunki w badaniach nad terapią tego nowotworu.

C. Poprawność formalno-językowa, stylistyczna, interpunkcyjna

Monografia lek. Grzegorza Stawarz jest starannie wydana i nie budzi większych zastrzeżeń pod względem edytorskim. Razem ze spisem treści i bibliografią liczy 125 stron. Praca cechuje się klarownym, logicznym i uporządkowanym sposobem prezentacji. Zawarte w niej tabele i ryciny są czytelne i intuicyjnie zrozumiałe. Autor nie uniknął drobnych błędów językowych i interpunkcyjnych, jednak nie wpływają one na pozytywną ocenę pracy pod kątem poprawności formalno-językowej.

2. Ocena metodologiczna

A. Dobór literatury, umiejętności wykorzystywania źródeł

Doktorat opiera się na 193 pozycjach bibliograficznych, z czego 192 (99,5%) to publikacje w języku angielskim, a jedna (0,5%) w języku polskim. Przeważająca część źródeł pochodzi z renomowanych czasopism naukowych z całego świata i została opublikowana po 2010 roku, co

świadczy o umiejętności autora w doborze aktualnej literatury naukowej. Wykorzystane źródła zostały starannie wyselekcjonowane i zróżnicowane, aby przedstawić najnowsze stanowiska oraz wyniki badań z zakresu tematyki pracy.

B. Poprawność formułowania problemów i hipotez (założenia badawcze).

Głównym celem pracy była ocena zaburzeń molekularnych występujących w jasnokomórkowym raku nerki, uwzględniająca analizę ilościową białek OSMR, IDO-1 oraz TMPRSS2 zarówno w limfocytach naciekających nowotwór, jak i w guzie pierwotnym ccRCC w trzech grupach pacjentów: bez wznowy, z wznową oraz z chorobą pierwotnie rozsianą. Dodatkowo oceniono zależność między uzyskanymi wynikami ekspresji tych białek a danymi kliniczno-patologicznymi pacjentów z okresu obserwacji. Odpowiedzi na postawione cele znalazły swoje odzwierciedlenie w wynikach i wnioskach pracy, a cele i wnioski zostały sformułowane poprawnie.

C. Trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętności ich zachowania

Dobór metod i narzędzi badawczych w przedstawionej pracy wykazuje wysoką trafność oraz świadczy o umiejętnościach precyzyjnego ich stosowania przez doktoranta. Proces przygotowania próbek, obejmujący krojenie bloczków parafinowych, odparafinowanie oraz dalszą analizę immunohistochemiczną został przeprowadzony zgodnie z rygorystycznymi standardami laboratoryjnymi. Materiał pozyskany w trakcie operacji przeszedł kompleksowy proces utrwalenia w formalinie, odwodnienia oraz zatopienia w parafinie w Zakładzie Patomorfologii NIO-PIB. Dzięki tym starannie dobranym etapom uzyskano wysokiej jakości preparaty, które umożliwiły wiarygodną analizę białek OSMR, IDO-1 oraz TMPRSS2 w różnych grupach pacjentów. Następnie przeprowadzono pełną procedurę odparafinowania z użyciem ksyłenu i etanolu o stopniowo malejącym stężeniu, co umożliwiło dalsze odsłonięcie miejsc antygenowych w preparatach.

Doktorant zastosował również odpowiednie techniki statystyczne, takie jak analiza przy użyciu oprogramowania R, które umożliwiły obiektywną ocenę wyników. Przy analizie danych zastosowano odpowiednie testy statystyczne, w tym test Shapiro-Wilka, test Kruskala-Wallisa, ANOVA oraz współczynnik korelacji Kendalla, co pozwoliło na trafne porównania międzygrupowe i ocenę zależności między zmiennymi. Metody graficzne, takie jak wykresy w programie GraphPad Prism i ilustracje stworzone za pomocą Biorender, dopełniły przejrzystość prezentacji wyników. Całość pracy potwierdza profesjonalne podejście doktoranta do wykorzystania nowoczesnych narzędzi badawczych oraz jego zaawansowaną znajomość technik histologicznych i statystycznych.

D. Poprawność układu pracy i struktury podziału treści

Przedstawiona do recenzji praca ma typowy układ. Liczy 125 stron i składa się z części teoretycznej (wstępu), podzielonej na sześć rozdziałów, w których autor omówił anatomię nerki, szczegółowo opisał jasnokomórkowego raka nerki oraz zgłębił zagadnienie immunoterapii. Następnie przedstawiono cel pracy, a kolejny rozdział poświęcono metodologii badań. W dalszej części doktorant zaprezentował wyniki, dyskusję oraz wnioski. Praca zawiera spis tabel, rycin, skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz bibliografię. Odpowiednia część pracy została poświęcona opisowi wyników, analizie statystycznej i dyskusji. Struktura oraz układ pracy zasługują na ocenę wzorową.

3. Wniosek końcowy (konkluzja)

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych, tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1669 z późn. zm.).

Tym samym mam zaszczyt i przyjemność zwrócić się do Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie z prośbą o dopuszczenie lekarza Grzegorza Stawarza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Do najważniejszych walorów tej pracy należą:

- oryginalny charakter,
- badanie przeprowadzone w renomowanym ośrodku o najwyższym stopniu referencyjności,
- bardzo liczna grupa badana,
- klarowna struktura i przejrzystość pracy.

W związku z powyższym zgłaszam wniosek o wyróżnienie pracy.

Tomasz Ząbkowski
dr hab. n. med. Profesor Instytutu
CHIRURG
SPECJALISTA UROLOG
9892866



Dr hab. n. med. Tomasz Ząbkowski, Profesor Instytutu

WOJSKOWY INSTYTUT MEDYCZNY
Klinika Urologii Ogólnej, Czynnościowej
i Onkologicznej CCK MIM
04-141 Warszawa, ul. Sz. Szerów 128
Regon: 015294487; NIP: 113-23-93-221