

Bydgoszcz, dn. 09.01.2024 r.

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Dariusz Grzanka  
Katedra Patomorfologii Klinicznej  
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera  
w Bydgoszczy, UMK w Toruniu

**Recenzja osiągnięcia naukowego pt.**

” Ekspresja białek punktów kontrolnych układu odpornościowego w mikrośrodkowisku  
wybranych nowotworów litych”

**oraz dorobku naukowego, dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego**

dr n. med. Rafała Pęksy

ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych  
i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne

**Podstawa formalna recenzji.** Niniejszą recenzję sporządziłem na zlecenie podmiotu habilitującego, tj. Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (Uchwała Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego nr 266/2023 z dnia 26 października 2023 roku). Oceny dokonałem kierując się kryteriami określonymi w art. 219 ust. 1 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r., poz. 478 z póź. zm), w oparciu o przedłożony mi wykaz publikacji, ze szczególnym uwzględnieniem cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe, wykaz dorobku naukowego, dydaktycznego i działalności organizacyjnej, kopie dyplomów, oświadczenia współautorów oraz autoreferat Habilitanta. Postępowanie wszczęto w dniu 22 maja 2023 roku w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauk medycznych.

Przedstawiona mi do oceny dokumentacja sporządzona została z należytą starannością i rzetelnością, w sposób umożliwiający sformułowanie opinii na temat osiągnięcia naukowego oraz pozostałego dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego Kandydata do stopnia doktora habilitowanego. **Stwierdzam, że wniosek odpowiada pod względem formalnym wymogom Ustawy.**

### **Ważniejsze dane biograficzne i działalność zawodowa.**

Dr Pęksa ukończył studia medyczne na Akademii Medycznej w Gdańsku, uzyskując tytuł lekarza w 2005 roku. Jeszcze w trakcie studiów w 2004 roku rozpoczął Podyplomowy Kurs Pedagogiczny na wydziale Zarządzania Politechniki Gdańskiej, który ukończył w roku 2006. W latach 2007 – 2012 odbył szkolenie specjalizacyjne w Laboratorium Patomorfologii Klinicznej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku uzyskując tytuł specjalisty patomorfologa (2012). Sześć lat od zakończenia studiów, w roku 2011, uzyskał stopień doktora nauk medycznych w zakresie medycyny na podstawie rozprawy pt. „Ekspresji E-kadheryny i  $\beta$ -kateniny w ogniskach pierwotnych i przerzutach raka jelita grubego. Korelacja z wybranymi parametrami klinicznymi i morfologicznymi oraz ocena wartości rokowniczej" realizowanej w ramach studiów doktoranckich w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego pod opieką prof. dr hab. Wojciecha Biernata. Jego kariera zawodowa obejmuje stanowisko asystenta (2011-2012), a następnie adiunkta w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, gdzie pracuje do dnia dzisiejszego. **Można, wobec tego podsumować, że habilitant konsekwentnie i dynamicznie przechodził przez kolejne szczeble kariery lekarskiej i akademickiej.** Zgodnie z oświadczeniem nie ubiegał się dotychczas o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

**Ocena osiągnięcia naukowego:** W charakterze głównego osiągnięcia naukowego Kandydat przedstawił cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych zatytułowany „Ekspresja białek punktów kontrolnych układu odpornościowego w mikrośrodowisku wybranych nowotworów litych” Cykl ten składa się z 6 oryginalnych artykułów naukowych o charakterze współautorskim opublikowanych w latach 2016-2023 w międzynarodowych i polskim czasopismach naukowych indeksowanych w bazie *Journal Citation Reports* (JCR). Sumaryczna ocena parametryczna tych prac jest pozytywna i wynosi zgodnie z załączoną informacją Biblioteki Głównej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego: 590 pkt MEiN (zakres: 40-140 pkt MEiN) oraz 27.398 IF (zakres: 0-6.575). Należy jednak zauważyć, że obecny wskaźnik IF czasopisma *Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia* zgodnie z bazą *Journal Citation Reports* 2022 wynosi 1,8 IF, co zmienia sumaryczny IF do 29.198 (zakres: 0-6.575). W trzech publikacjach Habilitant jest pierwszym autorem, w dwóch ostatnim autorem (*senior author*), natomiast w jednej drugim autorem. Według przedstawionych oświadczeń, Habilitant uczestniczył w opracowaniu koncepcji i metodologii badań (publikacje 1-6), w przeprowadzaniu badań morfologicznych i immunohistochemicznych (publikacje 1-6), w analizie wyników (publikacje 1-6), w nadzorze nad częścią informatyczną analiz (publikacja 4, 5), w pisaniu i współudziale w pisaniu manuskryptu (publikacje 1-6), w walidacji badania (publikacje 1, 3, 4, 5, 6), w wykonaniu dokumentacji fotograficznej (publikacje 2, 3, 5, 6), w administracji projektu (publikacje 2, 3, 4, 5, 6) oraz w zgromadzeniu materiału do badań (publikacja 5) i w pozyskiwaniu finansowania dla tych badań (publikacja 3). Trzykrotnie pełnił też funkcję autora korespondencyjnego (publikacje 2, 3 i 6). Należy więc uznać, że **wkład Habilitanta w przygotowanie całego recenzowanego osiągnięcia naukowego jest znaczący.** Na podkreślenie zasługuje przede wszystkim każdorazowo istotny udział Pana dr w

opracowaniu koncepcji i metodologii badań oraz powstawaniu tekstu publikacji. Publikacje będące składowymi wskazanego osiągnięcia są pracami współautorskimi, powstałymi w efekcie współpracy z klinicystami i mającymi w tym aspekcie wymiar multidyscyplinarny i translacyjny. Oparcie trzonu wszystkich prac na metodach morfologicznych i immunohistochemicznych, w odniesieniu do specjalizacji Pana dr i uzyskanych wyników **potwierdza Jego wiodącą rolę w procesie powstania prac**, a równocześnie podkreśla kompetencje w zakresie współpracy zespołowej. Warto tu również docenić zaangażowanie Pana dr w część badań dotyczącą walidacji metod oraz przeprowadzeniu oceny i analizy wyników, która zwłaszcza w przypadku metod immunohistochemicznych dotyczących interakcji pomiędzy guzem i mikrośrodowiskiem jest niezwykle żmudna i wymaga dojrzałego warsztatu badawczego. Ocena oznaczeń immunohistochemicznych w złożonym otoczeniu guza składającego się z komórek zrębu, macierzy pozakomórkowej, naczyń krwionośnych i szeregu komórek układu odpornościowego stanowi spore wyzwanie, wymaga znacznego doświadczenia w zakresie patomorfologii, a równocześnie dogłębnego rozumienia złożonych interakcji i procesów zachodzących pomiędzy jego poszczególnymi elementami. Umiejętność analizy i łączenia tak uzyskanych wyników z danymi klinicznymi oraz wyciąganie właściwych wniosków, mających potencjalne przełożenie na postępowanie kliniczne **świadczy o dojrzałości naukowej Habilitanta** i jego gotowości do rozwiązywania złożonych problemów naukowych.

Motywnym przewodnim łączącym różne części ocenianego osiągnięcia naukowego są interakcje białek punktów kontrolnych układu odpornościowego w mikrośrodowisku wybranych nowotworów litych, mające istotne znaczenie w kontekście współczesnych badań nad interakcją między guzami nowotworowymi a układem odpornościowym. W dobie, gdy immunoterapia i personalizowana medycyna stają się kluczowymi elementami w leczeniu nowotworów, zrozumienie tej złożonej dynamiki nabiera szczególnej wagi. Podejście Habilitanta, skupiające się na badaniu różnych aspektów interakcji guza z układem odpornościowym, odgrywa znaczącą rolę w rozwijaniu naszej wiedzy na temat tego, jak układ odpornościowy reaguje na obecność guza, zarówno na poziomie ogólnoustrojowym, jak i lokalnym. Biorąc również pod uwagę, że badania wskazane przez Habilitanta jako osiągnięcie naukowe niosą odpowiedni stopień nowatorstwa, mają znaczenie nie tylko poznawcze, ale również kliniczne oraz wyznaczają kierunki kolejnych badań, pozwala mi to **pozytywnie zaopiniować osiągnięcie naukowe w odniesieniu do** ustawowej przesłanki dotyczącej **wnoszenia „istotnego wkładu w rozwój dyscypliny” nauk medycznych**. Opinię tę wspiera dodatkowo stosunkowo duża liczba cytowań prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, wynosząca według Web of Science 95, pomimo że pięć spośród nich zostało opublikowanych w ciągu ostatnich trzech lat oraz odpowiedni prestiż czasopism podkreślony wysokimi wskaźnikami bibliometrycznymi.

Odnosnie autoreferatu chciałbym zaznaczyć, że **przedstawiony w nim „cel główny” oraz „cele szczegółowe” oceniam jako dobrze sformułowane w odniesieniu do zrealizowanych badań**. Pozytywnie oceniam również **wartościowy wstęp, uzasadniający**

**równocześnie podjęcie się poszczególnych zadań badawczych, jak i syntetyczny opis uzyskanych wyników** poszczególnych prac.

W pierwszej pracy opublikowanej w Breast Cancer Res. 2016: vol. 18, nr 1, s. 1-11 dr n. med. Rafał Pęksa i współautorzy koncentrują się na ocenie mikrośrodowiska przerzutów raka piersi do ośrodkowego układu nerwowego (BCBM) i jego wpływie na ogólne przeżycie (OS) pacjentek. Badanie to motywowane było skąpyimi danymi literaturowymi na temat związku między odpowiedzią immunologiczną gospodarza a kolonizacją mózgu przez komórki nowotworowe raka piersi, który pierwotnie nie był uznawany za immunogeny typ raka. Badanie objęło 84 pacjentki z rakiem piersi, które przeszły chirurgiczną resekcję przerzutów do mózgu, zdiagnozowanych i leczonych między 1990 a 2014 rokiem w ośmiu ośrodkach onkologicznych w Polsce. W badaniu zidentyfikowano cztery fenotypy pierwotnego guza raka piersi na podstawie ekspresji ER $\alpha$ , PR i HER2. Wykorzystano oznaczenia immunohistochemiczne w celu oceny limfocytów naciekających guz (TILs: CD4, CD8, CTLA4), makrofagów/mikrogleju (CD68), receptora białka programowanej śmierci komórki 1 (PD-1) i jego ligandów PD-L1, PD-L2 oraz białka GFAP w przerzutach i ich mikrośrodowisku. Wyniki wykazały, że ekspresja PD-1 na TILs w BCBM obecna była w 17 przypadkach (23%) i częściej występowała u starszych pacjentek oraz w przypadkach raka piersi z amplifikacją HER2. Ekspresja PD-1 była dodatnio skorelowana z liczbą limfocytów CD4+ i CD8+. Zdecydowanie istotną obserwacją było, że pacjentki z PD-1+ charakteryzowały się dłuższym czasem przeżycia po chirurgicznej resekcji BCBM w porównaniu z pacjentkami PD-1-. Autorzy nie stwierdzili korelacji między ekspresją PD-1 na TILs a ligandami PD-1 w BCBM. Ekspresja PD-L1 i PD-L2 w BCBM była obecna w części przypadków i nie była związana z fenotypem przerzutu raka. Analiza wykazała także, że wcześniejsza terapia adiuwantowa, w tym trastuzumab, nie miała wpływu na analizowane parametry odpowiedzi immunologicznej w mózgu. W przypadkach HER2+ podanie trastuzumabu przed rozwojem BCBM nie wpłynęło na ilość komórek CD4+, CD8+, CD68+ ani ekspresję PD-1, PD-L1, PD-L2. Wnioski z tego badania wskazują, że oś PD-1/PD-L może odgrywać ważną rolę w lokalnej odpowiedzi immunologicznej towarzyszącej BCBM, a **obecność PD-1 na limfocytach, których obecność w środowisku BCBM jest zjawiskiem częstym i niezależnym od fenotypu oraz wcześniejszych terapii, wskazuje na potencjalną użyteczność terapeutyczną inhibitorów receptorów kontroli immunologicznej w tej grupie pacjentek.**

Bezsprzecznym walorem tej pracy jest **idealne wpisanie się Autorów w istniejącą lukę w piśmiennictwie odnośnie** odpowiedzi immunologicznej w przerzutach raka piersi do mózgu, mając zwłaszcza na uwadze jego (ówczesną i obecną) potencjalną użyteczność kliniczną. Patrząc też na późniejsze cytowania pracy Autorów, niekiedy w wysoko punktowanych publikacjach podejmujących i rozszerzających tą tematykę, chciałbym wskazać na **jej istotny odzew w środowisku naukowym.**

Druga praca dr. Rafała Pęksy opublikowana w Cancers 2021 : vol. 13, nr 8, s. 1-21, miała na celu ocenę ekspresji receptorów punktów kontrolnych układu odpornościowego (VISTA i PD-L1) oraz markerów ogólnoustrojowego zapalenia w złośliwych guzach grominalnych jąder (GCT). Praca ta stanowiła odpowiedź Autorów na potrzebę poszukiwania

nowych markerów prognostycznych i predykcyjnych w leczeniu zarówno wczesnych, jak i zaawansowanych guzów germinalnych jądra. **Uważam, że mocną stroną pracy jest duża i właściwie dobrana grupa włączona do badania obejmując 180 nowotworów, w tym 97 przypadków nasieniaków i 83 nie-nasieniaków.** Analizując skonstruowane mikromacierze tkankowe (TMAs) znakowane immunohistochemicznie użyto metody histoscore do oceny ekspresji PD-L1, a ekspresję VISTA określano na podstawie odsetka komórek dodatnich. Wysoka ekspresja VISTA i PD-L1 w komórkach nacieku zapalnego związanego z nowotworem (TAIC) była częsta (37% dla VISTA, 49% dla PD-L1) oraz opisano charakterystyczny rozkład komórek dodatnich w poszczególnych grupach nowotworów. Stwierdzono, że niska ekspresja PD-L1 i VISTA na TAIC koreluje z gorszym pięcioletnim czasem wolnym od zdarzeń (EFS), szczególnie w przypadku wysokiego współczynnika PLR (platelet-to-lymphocyte ratio). Celem badania było zbadanie, czy istnieje zależność między ekspresją VISTA i PD-L1 w mikrośrodowisku immunologicznym guza oraz poziomami markerów ogólnoustrojowego zapalenia, a także czy te markery mogą stanowić czynnik prognostyczny u pacjentów z GCT. Badanie wykazało, że łączna niska ekspresja VISTA na TAIC i wysoka PLR to niezależny predyktor nawrotu/progresji i śmierci w wieloczynnikowej analizie regresji Coxa. Ta **ciekawa koncepcja pracy** pozwoliła Autorom wskazać na potencjalny nowy czynnik prognostyczny w zaawansowanych GCT jądra o pośrednim i wysokim ryzyku, co może pomóc w identyfikacji pacjentów wymagających bardziej agresywnego podejścia terapeutycznego. Wyniki te podkreślają również znaczenie nadzoru immunologicznego w biologii nasieniaków, sugerując, że ocena PD-L1 może być użyteczna do przewidywania ryzyka nawrotu choroby u pacjentów w stadium I leczonych terapią adjuwantową.

Kolejna praca włączona do cyklu to "Tumor Budding is an Independent Prognostic Factor in Pancreatic Adenocarcinoma and It Positively Correlates with PD-L1 Expression on Tumor Cells" *Biomedicines* 2022: vol. 10, nr 7, s. 1-14. **Jest to złożone opracowanie na gruczolaka trzustki**, w którym autorzy koncentrują się na ocenie ekspresji receptorów immunologicznych punktów kontrolnych (PD-L1 i VISTA), markerów ogólnoustrojowego stanu zapalnego, zakrzepicy w guzie oraz charakterystycznemu wzorcowi inwazji tzw. pączkowaniu. Praca wykorzystuje doświadczenie autora zdobyte w trakcie realizowania poprzednich projektów i wykorzystuje nowe parametry. Głównym celem badania było zrozumienie złożonych powiązań między lokalnym mikrośrodowiskiem guza a ogólnoustrojową odpowiedzią zapalną oraz ich wpływem na rokowanie w raku trzustki. Gruczolak trzustki, często opisywany jako immunologicznie "zimny" nowotwór, charakteryzuje się desmoplastycznym zrębem, częstym naciekiem naczyń limfatycznych i nerwów, a także obecnością martwicy i zakrzepicy, co kształtuje unikalne mikrośrodowisko guza. W badaniu kolejny raz oceniono ekspresję PD-L1 i VISTA zarówno na komórkach raka (TC), jak i na komórkach odpornościowych związanych z nowotworem (TAIC), przy czym szczególną uwagę poświęcono wzorcom ekspresji tych receptorów i ich związku z rokowaniem. Ekspresję PD-L1 stwierdzono w 47 przypadkach (44%) na TAIC i w 41 guzach (38%) na TC, podczas gdy ekspresja VISTA była obserwowana głównie na TAIC. Badanie wykazało również, że wysoka ekspresja PD-L1 na TC była związana z gorszym ogólnym

przeżyciem (OS), podczas gdy wysoki PD-L1 lub VISTA na TAIC były skorelowane z lepszym OS. **Bardzo ciekawą obserwacją było zidentyfikowanie silnego związku między pączkowaniem guza a rokowaniem, z wysokim stopniem pączkowania guza jako najsilniejszym czynnikiem złego rokowania.** Wysokie poziomy ogólnoustrojowych markerów zapalnych, zwłaszcza PLR i MLR, były również związane z gorszym OS. Podsumowując, badanie ujawniło, że wzorce ekspresji PD-L1 i VISTA oraz pączkowanie guza mogą być ważnymi markerami prognostycznymi w rakach trzustki, sugerując ich potencjalne znaczenie w indywidualizacji terapii i ocenie rokowania. Wyniki te podkreślają złożoność interakcji między lokalnym mikrośrodowiskiem guza a ogólnoustrojową odpowiedzią zapalną, a także **rolę pączkowania guza jako istotnego czynnika prognostycznego, który powinien zostać włączony do rutynowej praktyki histopatologicznej.**

Kolejne prace z cyklu dotyczą **ekspresji receptorów immunologicznych punktów kontrolnych w rakach jamy ustnej.** "High PD-L1 Expression on Tumor Cells Indicates Worse Overall Survival in Advanced Oral Squamous Cell Carcinomas of the Tongue and the Floor of the Mouth but Not in Other Oral Compartments", to kolejne badanie opublikowane w czasopiśmie Biomedicines (Biomedicines 2021 : vol. 9, nr 9, s. 1-16), w której autorzy skupili się na immunohistochemicznej ocenie ekspresji PD-L1 i IL-33 w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej (OSCC) oraz ich korelacji z cechami kliniczno-patologicznymi. Badanie obejmowało 95 pacjentów z OSCC, gdzie ekspresję PD-L1 uznawano za dodatnią przy ciągłym odczynie błonowym na komórkach nowotworowych (TC), a na limfocytach naciekających guz (TILs) przy odczynach cytoplazmatycznych i/lub błonowych. Ekspresję IL-33 oceniano tylko przy odczynie jądrowym. Stwierdzono, że 44 przypadki (46,31%) wykazały ekspresję PD-L1 w ponad 10% komórek raka, a ekspresję IL-33 na komórkach raka zaobserwowano w 15 przypadkach (15,79%). Wyższa ekspresja PD-L1 w TILs była związana z mniejszym ryzykiem zgonu w jednoczynnikowej analizie przeżycia (HR 0,552), lecz nie znaleziono takiej zależności w analizie wieloczynnikowej. Zauważono, że w rakach języka i dna jamy ustnej ekspresja PD-L1 na komórkach raka była związana z gorszym rokowaniem, co nie zostało stwierdzone w innych lokalizacjach. Wnioski z pracy sugerują, że **ekspresja PD-L1 w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej różni się w zależności od lokalizacji anatomicznej guza, przy czym wysoka ekspresja PD-L1 na TILs jest silnie związana z nieobecnością przerzutów do węzłów chłonnych i lepszym OS.** Z kolei, ekspresja IL-33 była rzadko obserwowana i nie wykazała znaczenia prognostycznego, ale jej obecność na komórkach nowotworowych była istotnie związana z lokalizacją guza. **Wyniki zaprezentowane przez autorów wyraźnie wskazują na różnice w mikrośrodowisku immunologicznym raków jamy ustnej w zależności od konkretnych lokalizacji anatomicznych.**

Piąta praca dr. Rafała Pęksy, "VISTA H-score is Significantly Associated with a 5-Year DFS Rate in Oral Squamous Cell Carcinoma" J Clin Med. 2023 Feb 17;12(4):1619, stanowi kontynuację badań z czwartej publikacji, skupiając się na ocenie ekspresji VISTA w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej. W badaniu wykorzystano ocenę oznaczeń immunohistochemicznych w oparciu o metodę H-score w 71 przypadkach, a dodatkowo w 35 przypadkach zastosowano RT-qPCR do oceny ekspresji mRNA VISTA. Analiza przeżycia z

użyciem krzywych Kaplana-Meiera i testu log-rank wykazała, że poziom VISTA H-score nie miał istotnego wpływu na ogólne przeżycie (OS), podobnie jak poziomy mRNA VISTA. Jednakże, istotna różnica została zauważona w 5-letnim czasie wolnym od choroby (DFS), gdzie grupa z niższą ekspresją VISTA wykazała DFS na poziomie 2,4%, w porównaniu do 52,9% w grupie z wyższą ekspresją VISTA ( $p = 0,05$ ). Analiza ekspresji genu VISTA nie wykazała jednak istotnych różnic między grupami. Dodatkowo, porównując wyniki VISTA z danymi z pracy nr 4, stwierdzono słabe korelacje między VISTA H-score a PD-L1 H-score na komórkach nowotworowych oraz Il-33 H-score na komórkach nowotworowych. Obserwowano również umiarkowaną korelację między poziomami VISTA H-score i Il-33 H-score w limfocytach. Wnioski z badania wskazują, że wyższy wynik VISTA H-score w limfocytach guza jest związany z wyższym wskaźnikiem 5-letniego DFS. Badanie to również podkreśla, że VISTA H-score koreluje z poziomami Il-33 i PD-L1 w komórkach nowotworowych oraz poziomami Il-33 w limfocytach, co może mieć znaczenie w kontekście przewidywania rokowania i planowania leczenia raka płaskonabłonkowego jamy ustnej.

Ostatnia praca z cyklu, "Galectin-9 Expression on Tumor-Associated Immune Cells is Associated with Favorable Clinicopathological Features and Better Outcomes in Oral Squamous Cell Carcinoma" Contemp Oncol. 2023, kontynuuje badania z publikacji nr 4, koncentrując się tym razem na ocenie ekspresji galektyny-9 w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej. W badaniu zaobserwowano ekspresję galektyny-9 w co najmniej 1% TAIC we wszystkich przypadkach, z medianą ekspresji wynoszącą 30%. Stwierdzono, że wyższa ekspresja galektyny-9 była związana z guzami mniej zaawansowanymi miejscowo i bez przerzutów do węzłów chłonnych, co wskazuje na potencjalnie korzystne cechy kliniczno-patologiczne. Badanie wykazało również dodatnią korelację między ekspresją galektyny-9 na TAIC a ekspresją PD-L1 na tych samych komórkach, co może sugerować potencjalne współdziałanie między tymi dwoma białkami w mikrośrodowisku guza. Natomiast nie odnotowano związku z ekspresją PD-L1 na komórkach nowotworowych. **Pacjenci z wyższą ekspresją galektyny-9 charakteryzowali się korzystnym 5-letnim ogólnym przeżyciem (OS) w porównaniu z grupą z niskim poziomem galektyny-9**, co potwierdziła jednoczynnikowa analiza regresji Coxa. Jednakże, w wieloczynnikowym modelu regresji Coxa, kontrolującym kluczowe czynniki kliniczno-patologiczne, wpływ ekspresji galektyny-9 na OS nie był już istotny. Podsumowując, wyniki badań sugerują, że **wysoki poziom ekspresji galektyny-9 jest związany z obecnością korzystnych cech kliniczno-patologicznych, takich jak brak przerzutów do węzłów chłonnych oraz mniej zaawansowane miejscowo guzy, co może wiązać się z lepszym 5-letnim OS. Dodatnia korelacja między ekspresją galektyny-9 i PD-L1 na TAIC może również wskazywać na ich wspólną rolę w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej.**

Podsumowując, **publikacje będące podstawą osiągnięcia habilitacyjnego oceniam pozytywnie, zwłaszcza w kontekście nowatorstwa i tematyki prowadzonych badań. Udział Habilitanta w ich powstaniu jest znaczący, a przedstawione prace są spójne tematycznie i konsekwentnie rozwijają wiedzę w zakresie tematu badawczego. Pan dr swoimi badaniami wniósł istotny wkład w rozwój reprezentowanej przez siebie dyscypliny naukowej, jaką są**

nauki medyczne, w obszarze **patomorfologii i immunologii w kontekście interakcji między guzami nowotworowymi a układem odpornościowym**. Duży walor poznawczy dotyczy oceny ekspresji receptorów immunologicznych punktów kontrolnych w różnych nowotworach litych i ich powiązanie z danymi patokinicznymi, a ponadto wskazuje potencjalne punkty uchwytu terapii celowanej oraz ich znaczenie prognostyczne w tych nowotworach.

**Ocena dorobku naukowego:** Zgodnie z przedstawioną analizą bibliometryczną **przed uzyskaniem stopnia doktora** nauk medycznych Pan dr Rafał Pęksa opublikował **dwanaście prac**, w tym trzy oryginalne, siedem kazuistycznych oraz dwie w suplementach czasopism o łącznej pkt MEiN równej 83 oraz łącznej wartości IF 4,784. W dwóch z powyższych publikacji był pierwszym autorem. **Po uzyskaniu stopnia doktora** Jego **dorobek znacząco się wzbogacił** i objął łącznie **78 prac twórczych**, w tym 50 prac oryginalnych (z czego 6 włączonych zostało do cyklu w ramach osiągnięcia naukowego), 2 poglądowe, 21 prac kazuistycznych oraz 5 listów do redakcji czasopism o łącznej wartości IF 215,099 oraz MNiE 4747 (IF 187,701 i MNiE 4157 z wyłączeniem prac włączonych do cyklu w ramach osiągnięcia naukowego). Wartość IF za prace, w których Habilitant jest pierwszym autorem po doktoracie włączając cykl publikacji to IF 13,382. Reasumując, **całkowity dorobek naukowy Pana dr stanowi 90 publikacji naukowych o sumarycznym współczynniku wpływu IF 219,883 oraz punktach ministerialnych 4830**. Dorobek wzbogaca ponadto 47 streszczeń ze zjazdów naukowych, w tym 11 zagranicznych oraz 36 krajowych, z czego 7 wygłosił osobiście. Sumaryczny indeks cytowań prac Habilitanta (z pominięciem autocytowań) wynosi wg bazy Web of Science Core Collection oraz Scopus, odpowiednio 449 i 498, a indeks Hirscha 10 i 11. Dr Pęksa pełnił także rolę recenzenta dla czasopism tj. *Frontiers in oncology* (IF=6.244), *Diagnostics* (IF=3.992), *Cells* (IF=7.666), *Current oncology* (IF=3.109), *Medicina* (IF=2.948), *Cancers* (IF=6.575), *Folia Neuropathologica* (IF=2,949), *Contemporary oncology* (IF=1,8). W swojej dziedzinie naukowej **Autor cieszy się zatem uznaniem i dobrą rozpoznawalnością na arenie międzynarodowej i krajowej**. Pod względem ilościowym wykaz publikacji Habilitanta jest bardzo dobry, zwłaszcza gdy uwzględni się fakt, że jest On aktywnym zawodowo lekarzem oraz pracownikiem dydaktycznym Uniwersytetu. **Działalność badawcza i publikacyjna Kandydata aż ośmiokrotnie wyróżniona została nagrodami Rektora I i II stopnia oraz nagrodami specjalnymi za publikacje**. Reasumując, należy uznać, że kandydat wykazuje się istotną aktywnością naukową.

Habilitant nie był dotychczas kierownikiem grantu finansowanego ze środków zewnętrznych, **uczestniczył natomiast czterokrotnie jako wykonawca w pracach zespołów badawczych realizujących projekty naukowe finansowane w drodze konkursów krajowych i zagranicznych**. Jego aktywność w realizacji zadań tych zespołów potwierdza bycie **współautorem publikacji powstałych w wyniku ich realizacji**. Kolejne realizowane projekty to: „Analiza kliniczno-patologiczna raków piersi wykazujących ekspresję jednego receptora hormonalnego z uwzględnieniem ilościowej oceny ekspresji receptorów estrogenowych i progesteronowych oraz profilu ekspresji mikroRNA.” (2017/25/B/NZ5/00656) w ramach



konkursu OPUS 13, Narodowego Centrum Nauki; „Przedkliniczne badania możliwości zastosowania oryginalnej, polskiej bionanocelulozy (BNC) w medycynie regeneracyjnej w aspekcie bioimplantów w kardiochirurgii i chirurgii naczyniowej, akronim: KARDIO BNC” (PBS2/A7/16/2013); w ramach II konkurs Programu Badań Stosowanych, Narodowe Centrum Badań i Rozwoju; „Analiza ekspresji antygenów MAGE-A4, MAGE-A1, NY-ESO-1, w raku sromu wraz z oceną naciekania jego guzów limfocytami T: związek z czynnikami prognostycznymi, potencjalne cele dla immunoterapii.” (N 407 283536), Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego; „Ocena wybranych parametrów odpowiedzi immunologicznej mikrośrodowiska mózgu u chorych na raka piersi z przerzutami do ośrodkowego układu nerwowego.” Polskiego Towarzystwa Onkologicznego; Brał także udział w realizacji zadań statutowych Katedry i Zakładu Patomorfologii GUMed.

**Tematyka przedstawiona w pozostałym dorobku naukowym Habilitanta** obejmuje szereg kierunków badawczych. Pozostający w Jego głównym nurcie zainteresowań jest kierunek **oceny szlaku PD-1/PD-L1 u chorych na inne niż wymienione w osiągnięciu nowotwory lite**. Stanowi on cenne rozwinięcie obserwacji przedstawionych w cyklu publikacji i obejmowały ekspresję receptorów i markerów immunologicznych punktów kontrolnych, w tym PD-L1, VISTA i TOX, w różnych typach nowotworów, takich jak rak nerki, sromu i RMS u dzieci. Podkreślić należy, że **badania te były wielośrodkowe** i miały na celu ocenę wartości prognostycznej i predykcyjnej tych markerów. Efektem ich realizacji są cztery publikacje. Kolejny kierunek badań wielośrodkowych dotyczący **patologii onkologicznej przewodu pokarmowego** zaowocował siedmioma publikacjami dotyczącymi szeregu czynników prognostycznych w nowotworach przewodu pokarmowego, pęcherzyka żółciowego i trzustki. Następnymi dwoma tematami badawczymi były **patologia układu moczowo-płciowego** oraz **diagnostyka guzów kory nadnerczy**. Prace te skupiały się na poszukiwaniu lepszych metod diagnostycznych i potencjalnych pułapek diagnostycznych w rakach gruczołu krokowego oraz guzach germinalnych jąder (trzy publikacje). W tym nurcie ciekawe są trzy kolejne publikacje dotyczące receptorów adiponektynowych i leptynowych w guzach nadnerczy, analizujące ich potencjalne znaczenie w diagnostyce różnicowej nowotworów łagodnych i złośliwych. Kolejne prace wielośrodkowe poświęcone są analizie zaburzenia molekularne **przerzutów** raka płuca i raka jajnika **do ośrodkowego układu nerwowego** (dwie publikacje). Bardzo ciekawym, interdyscyplinarnym kierunkiem badań jest w dorobku dr Pęksy są trzy prace międzyuczelniane z zakresu **kardiopatologii**. Obejmowały one badania bioimplantów na modelu zwierzęcym oraz ocenę histologiczną interakcji między materiałem wszczepionym a tkankami gospodarza. Szczególnie ciekawa jest praca w J. Clin. Pathol. dotycząca kontroli odrzucania przeszczepów serca wykorzystując biopsję płynną wolnego DNA dawcy jako alternatywę dla tradycyjnej biopsji histopatologicznej. Mnogość przedstawionych kierunków badawczych oraz ich efekt publikacyjny oraz międzyośrodkowy charakter prac świadczy o **istotnej, wielokierunkowej i dojrzałej aktywności naukowej Habilitanta oraz umiejętności współpracy zespołowej**.

Istotnym elementem działalności naukowej Dr Rafała Pęksy była **współpraca z międzynarodowymi zespołami badawczymi**. Jego współpraca z **National Cancer Institute**, (Bethesda, USA) obejmowała dwa główne tematy badań. Pierwszym są **zaburzenia genetyczne guzów litych**: W ramach projektu Immunohistochemical and genomic analysis of tumors (ZIA BC 011427), współpraca z autorytetami w tej dziedzinie, **Jerzym Lasotą i Markiem Miettinenem**, zaowocowała badaniami nad zmianami genetycznymi w czerniaku jamy nosa i zatok przynosowych oraz raku jelita grubego. W badaniach tych zidentyfikowano zmiany w kluczowych szlakach sygnałowych (w tym szlakach MAPK, PI3K/AKT, Wnt) w czerniaku oraz rzadkie przypadki fuzji genów ALK i NTRK w raku jelita grubego, które mogą stanowić potencjalne cele terapeutyczne. Dodatkowo, zidentyfikowano potencjalną reaktywność krzyżową przeciwciała SP174, co ma znaczenie dla diagnostyki i leczenia raka jelita grubego. Dr Pęksa brał udział w ponownej ocenie histopatologicznej, wyborze fragmentów nowotworów dla mikromacierzy tkankowych i opracowywaniu danych kliniczno-patologicznych, a także w pisaniu manuskryptów. **Efektom tej współpracy są cztery publikacje w renomowanych czasopismach naukowych**, w których jest współautorem. Drugim tematem podjętym we współpracy międzynarodowej są **mechanizmy przerzutowania raków do mózgu**. Współpraca z **Patricią Steeg z National Cancer Institute** skupiła się na szlakach transcytotycznych związanych z dystrybucją komórek raka piersi do mózgu oraz na roli reaktywnej astrocytowej sygnalizacji S1P3 w modulowaniu bariery krew-guz. Dr Pęksa odgrywał rolę w ocenie histopatologicznej i ocenie immunohistochemicznej badanych białek. Kolejne **dwie ważne publikacje były efektem tej współpracy**. Kolejnym wyrazem międzynarodowego zaangażowania Habilitanta jest członkostwo od 2019 roku w konsorcjum European Lobular Breast Cancer Consortium. Celem tej grupy badawczej jest pogłębienie wiedzy na temat genetycznych i biochemicznych mechanizmów, które są kluczowe dla rozwoju i progresji inwazyjnego zrazikowego raka piersi. W roku 2016 Kandydat odbył niespełna miesięczny staż szkoleniowy w ramach stypendium Giordano Fellowship, European Society of Pathology (ESP), w Nottingham Breast Pathology Research Group, Nottingham City Hospital w Wielkiej Brytanii gdzie nawiązał współpracę naukową i kliniczną. Opiekunem stażu był prof. Emad Rakha (Breast Pathology and Honorary Consultant Pathologist). Analizując powyższą aktywność stwierdzam, że w mojej opinii **Kandydat spełnia ustawowy warunek (art. 219 p.s.w.n.) wykazania się „istotną aktywnością naukową (...) realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej (...)”.**

Podsumowując ocenę w zakresie rozwoju naukowego Pana dr n. med. Rafała Pęksy stwierdzam, że jest on **ukierunkowany i systematyczny, a sam Habilitant jest aktywny naukowo, łatwo nawiązuje współpracę oraz przekłada ją na efekty publikacyjne**. Rezultatem dotychczasowej aktywności Pana dr jest **dobry pod względem ilościowym i jakościowym dorobek naukowy**.

**Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej.** Pan dr w punkcie szóstym swojego autoreferatu prezentuje w sposób syntetyczny osiągnięcia dydaktyczne. Swoją przygodę z pracą ze studentami rozpoczął w 2006 roku jako uczestnik studiów doktoranckich, w czasie

których związany był z Katedrą i Zakładem Patomorfologii GUMed. Jako nauczyciel akademicki kształcił studentów z zakresu patomorfologii (ćwiczenia, zajęcia sekcyjne, i seminaria) dla studentów III roku kierunku lekarskiego oraz z przedmiotu „Pathomorphology” dla studentów III roku kierunku lekarskiego (English Division) w latach 2006–2012. Był także wykładowcą na kursach dla lekarzy specjalizujących się z patomorfologii z ramach kształcenia podyplomowego CMKP – Histopatologia onkologiczna. (Nowotwory ślinianek) w 2015 roku. Istotnym elementem działalności zawodowej było też pełnienie funkcji kierownika specjalizacji dwojga lekarzy w trakcie specjalizacji z patomorfologii. Co istotne, Habilitant była promotorem pomocniczym w dwóch zakończonych przewodach doktorskich.

W zakresie Jego działalności organizacyjnej warto wymienić uczestnictwo w cyklu badań profilaktycznych „Białe Soboty” organizowanych przez Klinikę Chirurgii Onkologicznej oraz pracę na rzecz Hospicjum im. Ks. E. Dutkiewicza SAC w Gdańsku. Ważne też jest aktywne uczestnictwo w towarzystwach naukowych tj. Polskie Towarzystwo Patologów (PTP) od 2007 r., Polskie Towarzystwo Onkologiczne (od 2015 r.), European Society of Pathology (od 2010r.). Podkreślić należy pełnione przez Niego **funkcje sekretarza, wiceprzewodniczącego i przewodniczącego w ramach oddziału Gdańskiego PTP.**

Podsumowując tą część osiągnięć stwierdzam, że **dorobek dydaktyczno-organizacyjny Habilitanta w pełni spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.**

**Wniosek końcowy.** Po ocenie cyklu prac na tle całościowego dorobku naukowego, organizacyjnego i dydaktycznego stwierdzam, że Pan dr n. med. Rafał Pęksa **spełnia wszystkie wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego w myśl art. 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)**. Bardzo aktualna tematyka podjętych badań oraz poznawczy i praktyczny charakter uzyskanych wyników świadczą, że stanowią one istotny wkład w rozwój dyscypliny nauk medycznych. Doceniając wartościowy i nowatorski charakter wyników prac badawczych Habilitanta, zwracam się do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o kontynuowanie postępowania habilitacyjnego dr n. med. Rafała Pęksy.

