

Autoreferat

dr n. med. Rafał Pęksa
Gdański Uniwersytet Medyczny
Katedra i Zakład Patomorfologii



Gdańsk 2023

I. Imię i nazwisko

Rafał Pęksa

II. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

- 1999 – 2005: **lekarz** – Akademia Medyczna w Gdańsku, Wydział Lekarski
- 2004 – 2006: Podyplomowy Kurs Pedagogiczny na Wydziale Zarządzania Politechniki Gdańskiej
- 2007 – 2012: **specjalizacja z patomorfologii** – Laboratorium Patomorfologii Klinicznej, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne w Gdańsku (tytuł specjalisty patomorfologa – 24.04.2012 r, CEM)
- 2011: **doktor nauk medycznych** – Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Lekarski, Katedra i Zakład Patomorfologii; specjalność: medycyna; praca doktorska "Ekspresja E-kadheryny i β -kateniny w ogniskach pierwotnych i przerzutach raka jelita grubego. Korelacja z wybranymi parametrami klinicznymi i morfologicznymi oraz ocena wartości rokowniczej"

III. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

- 2006 – 2011: doktorant (studia doktoranckie) – Katedra i Zakład Patomorfologii, Gdański Uniwersytet Medyczny
- 2011 – 2012: asystent – Katedra i Zakład Patomorfologii, Gdański Uniwersytet Medyczny
- 2012 –obecnie: adiunkt – Katedra i Zakład Patomorfologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

IV. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl powiązanych tematycznie publikacji, obejmujący 6 prac oryginalnych.

1. Tytuł osiągnięcia naukowego

„Ekspresja białek punktów kontrolnych układu odpornościowego w mikrośrodowisku wybranych nowotworów litych”

2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

1. Duchnowska R., Pęksa R., Radecka B., Mandat T., Trojanowski T., Jarosz B., Czartoryska-Arłukowicz B., Olszewski Wojciech P., Och W., Kalinka-Warzocho E., Kozłowski W., Kowalczyk A., Loi S., Biernat W., Jassem J. *Immune response in breast cancer brain metastases and their microenvironment: the role of the PD-1/PD-L axis*. Breast Cancer Res. 2016 : vol. 18, nr 1, s. [1-11]

IF: 6,345; KBN/MNiSW: 40

Mój wkład polegał na opracowaniu koncepcji pracy i metodologii badania oraz na przeprowadzaniu badań morfologicznych i immunohistochemicznych, walidacji badania, analizie wyników i współudziale w pisaniu manuskryptu.

2. Pęksa R., Kunc M., Popęda M., Piątek M., Bieńkowski M., Żok J., Starzyńska A., Perdyan A., Sowa M., Duchnowska R., Biernat W. *Combined assessment of immune checkpoint regulator VISTA on tumor-associated immune cells and platelet-to-lymphocyte ratio identifies advanced germ cell tumors with higher risk of unfavorable outcomes*. Cancers 2021 : vol. 13, nr 8, art. ID 1750, s. 1-21

IF: 6,575; KBN/MNiSW: 140

Mój wkład polegał na opracowaniu koncepcji pracy, metodologii badania, przeprowadzaniu badań morfologicznych i immunohistochemicznych, analizie wyników, napisaniu manuskryptu, dokumentacji fotograficznej, administracji projektu.

3. Pęksa R., Kunc M., Czapiewski P., Piątek M., Hać S., Radecka B., Biernat W. *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, art. ID 1761, s. 1-14

IF: 4,757; KBN/MNiSW: 100

Mój wkład polegał na opracowaniu koncepcji pracy, metodologii i walidacji badania, przeprowadzaniu badań morfologicznych i immunohistochemicznych, analizie wyników i napisaniu manuskryptu, dokumentacji fotograficznej, administracji projektu i pozyskaniu finansowania.

4. Adamski Ł. J., Starzyńska A., Adamska P., Kunc M., Sakowicz-Burkiewicz M., Marvaso G., Alterio D., Korwat A., Jereczek-Fossa B. A., Pęksa R. *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. Biomedicines 2021 : vol. 9, nr 9, art. ID 1132, s. 1-16

IF: 4,757; KBN/MNiSW: 100

Mój wkład polegał na opracowaniu koncepcji pracy i metodologii badania, nadzorze nad częścią informatyczną analiz, analizie wyników, przeprowadzaniu badań morfologicznych i immunohistochemicznych, walidacji badania, współudziale w napisaniu manuskryptu, nadzorze i administracji projektu.

5. Starzyńska A, Sobocki BK, Sakowicz-Burkiewicz M, Jereczek-Fossa BA, Alterio D, Szot O, Korwat A, **Pęksa R.** *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.

IF: 4,964; KBN/MNiSW: 140

Mój wkład polegał na opracowaniu koncepcji pracy, metodologii badania, nadzorze nad częścią informatyczną analiz, zgromadzeniu materiału do badań, przeprowadzaniu badań morfologicznych i immunohistochemicznych, walidacją badania, analizie wyników, dokumentacji fotograficznej, współudziale w napisaniu manuskryptu, nadzorze projektu.

6. **Pęksa R.**, Kunc M., Piątek M., Radecka B., Jereczek-Fossa BA., Starzyńska A. *Galectin-9 expression on tumor-associated immune cells is associated with favorable clinicopathological features and better outcomes in oral squamous cell carcinoma.* Contemp Oncol (Pozn). 2023; (27) (1)

IF: 0; KBN/MNiSW: 70

Mój wkład polegał na opracowaniu koncepcji pracy, metodologii i walidacji badania, przeprowadzaniu badań morfologicznych i immunohistochemicznych, analizie wyników i napisaniu manuskryptu, dokumentacji fotograficznej, administracji projektu.

Na osiągnięcie naukowe składa się sześć pełnotekstowych prac oryginalnych. W trzech z nich jestem pierwszym autorem, w dwóch ostatnim autorem (*senior author*) i w jednej drugim autorem. Łączny Impact Factor prac stanowiących osiągnięcie wynosi 27,398, a łączna liczba punktów MEiN wynosi 590. Wszystkie wymienione powyżej prace zostały opublikowane po uzyskaniu przeze mnie stopnia doktora nauk medycznych w roku 2011.

Kopie prac stanowiących osiągnięcie naukowe znajdują się w załączniku nr 4.

Badania będące podstawą przedstawionego osiągnięcia naukowego prowadziłem w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

3. Przedstawienie celu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wstęp

W ciągu ostatniej dekady duże zainteresowanie badaczy wzbudziła wielopoziomowa interakcja między guzami nowotworowymi a układem odpornościowym, w której znaczącą rolę odgrywa zarówno ogólnoustrojowa, jak i miejscowa odpowiedź zapalna. Mikrośrodowisko guza (ang. *tumor microenvironment*, TME) to dynamiczny system składający się z komórek nowotworu, komórek zrębu, naczyń krwionośnych, macierzy pozakomórkowej i różnego rodzaju komórek układu odpornościowego, między którymi zachodzą złożone procesy. Komórki nowotworowe i komórki układu immunologicznego mogą wchodzić w interakcje np. poprzez receptor programowanej śmierci komórkowej - białko 1 (PD-1) i jego ligand PD-L1 (B7-H1/CD274). Ekspresja PD-L1 na komórkach nowotworowych jest jednym z mechanizmów „unikania” odpowiedzi immunologicznej, ponieważ wiąże białko PD-1 na cytotoksycznych limfocytach T CD8+ przez co zmniejsza ich aktywność (zjawisko tzw. „wyczerpania”). Co ciekawe, PD-L1 może ulegać ekspresji na komórkach nacieku zapalnego, ale dokładna rola tego procesu nie jest do końca poznana. W niektórych nowotworach ekspresja PD-L1 na komórkach nacieku wiąże się z korzystnym rokowaniem, podczas gdy w innych ze złym. Oś PD-L1/PD-1 jest celem wielu nowych leków stosowanych w immunoterapii nowotworów litych (tzw. inhibitorów immunologicznego punktu kontrolnego). Poprawiły one znacznie przeżycie chorych na zaawansowanego niedrobnokomórkowego raka płuca i czerniaka. W nowotworach charakteryzujących się obfitym naciekiem zapalnym w zrębie (tzw. guzy immunologicznie „gorące”) oś PD-1/PD-L1 odgrywa bardzo istotną rolę w biologii guza oraz jest potencjalnym punktem uchwytu terapii, natomiast w nowotworach, w których występuje desmoplastyczne podścielisko, które ogranicza wnikanie komórek odpornościowych (określane jako immunologicznie „zimne”), rola tej osi jest ograniczona, mimo to wydaje się, że ekspresja białek PD-1/PD-L1 może mieć w nich znaczenie rokownicze.

Kolejnym elementem immunologicznego punktu kontrolnego jest supresor aktywacji limfocytów T zawierający domenę V Ig (ang. VISTA). VISTA należy do rodziny B7, jest homologiem zarówno PD-1 jak i PD-L1. Struktura cząsteczki sugeruje, że może działać zarówno jako ligand, jak i receptor w regulacji odpowiedzi immunologicznej.

Innym białkiem, które odgrywa rolę w modulowaniu odpowiedzi immunologicznych jest galektyna-9. Należy ona do rodziny białek galektyn wiążących węglowodany. Jest wielofunkcyjną cząsteczką, które pełni ważną rolę w różnych procesach biologicznych, w tym regulacji immunologicznej, adhezji komórek i apoptozie. Galektyna-9 podobnie jak białka PD-1/PD-L1 i VISTA, jest białkiem immunologicznego punktu kontrolnego, ale jako jedyna z tej grupy jest rozpuszczalna i może być czynnie wydzielana do krwi tłumiąc przeciwnowotworową odpowiedź immunologiczną w sposób układowy. Co ciekawe,

VISTA wzmacnia immunosupresyjne działanie galektyny-9 poprzez supresję produkcji IL-2 przez pomocnicze limfocyty T.

Przemiana nabłonkowo-mezenchymalna (ang. *epithelial-mesenchymal transition*, EMT) jest jednym z mechanizmów zwiększających inwazyjność i potencjał przerzutowy w guzach litych. Aktywacja EMT prowadzi do zwiększonej mobilności i utraty przylegania między komórkami nowotworowymi. Co ważne, zjawisko EMT może sprzyjać zahamowaniu odpowiedzi immunologicznej gospodarza, przyczyniając się do progresji nowotworu złośliwego. Okazuje się, że związek między EMT a osią PD-1/PD-L1 jest wzajemny. Na modelu przedklinicznym (linie komórkowe) wykazano, że ekspresja PD-L1 zwiększa przeżycie i ruchliwość komórek np. raka przełyku. Udowodniono również, że rozległemu pączkowaniu nowotworu towarzyszy zmniejszona odporność przeciwnowotworowa i wyższa ekspresja B7-H3 (CD276). W raku jelita grubego pączkowanie wysokiego stopnia pozytywnie koreluje ze zwiększoną ekspresją receptorów immunologicznych punktów kontroli i unikaniem odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Towarzysząca inwazji zakrzepica powoduje miejscowe niedotlenienie i hipoglikemię, wpływając na mikrośrodowisko guza. Niedotlenione komórki immunologiczne związane z guzem (ang. *tumor-associated immune cells*, TAIC) zmieniają swój metabolizm i mogą wykorzystywać ciała ketonowe jako źródło energii. Wiele dotychczasowych badań wykazało, że niedotlenienie indukuje ekspresję PD-L1 na komórkach nowotworowych (ang. *tumor cells*, TC) w różnych nowotworach złośliwych, umożliwiając „ucieczkę” immunologiczną. Mniej wiadomo na temat niedotlenienia i ekspresji receptorów punktów kontrolnych układu odpornościowego w TAIC. W niedotlenionym środowisku różne komórki immunosupresyjne, w tym mieloidalne komórki supresorowe, makrofagi i komórki dendrytyczne zwiększają ekspresję PD-L1, promując „unikanie” odpowiedzi immunologicznej. Wstępne wyniki badań sugerują, że hamowanie zakrzepicy i łagodzenie niedotlenienia za pomocą antykoagulantów może nasilać odpowiedź na inhibitory immunologicznego punktu kontrolnego. Nowotwór wpływa na układ odpornościowy nie tylko miejscowo, ale także wywołując ogólnoustrojowe reakcje zapalne. W praktyce klinicznej standardowo monitoruje się markery ogólnoustrojowego stanu zapalnego (CRP, prokalcytoninę, albuminę, fibrynogen itp.), a także wybrane parametry takie jak wskaźnik neutrofilów do limfocytów (ang. *neutrophil-to-lymphocyte ratio*, NLR), wskaźnik limfocytów do monocytów (ang. *lymphocyte-to-monocyte ratio*, LMR) czy też płytek krwi do limfocytów (ang. *platelet-to-lymphocyte ratio*, PLR). NLR, PLR są uważane za prostą miarę ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej i biomarkery prognostyczne i predykcyjne w nowotworach. Względna limfopenia odzwierciedlona poprzez podwyższone NLR i PLR lub obniżony LMR, może skutkować mniejszą liczbą limfocytów naciekających guz (ang. *tumor-infiltrating lymphocytes*, TILs) i osłabioną odpowiedzią przeciwnowotworową. Ogólnoustrojowe zapalenie sprzyja „ucieczce” immunologicznej guza, ułatwia inwazję i powstawanie przerzutów. Ponadto wykazano, że stan zapalny wpływa na funkcję VISTA oraz wpływa na odpowiedź na inhibitory PD-1/PD-L1. Co więcej, aktywacja płytek krwi koreluje ze szlakiem PD-1/PD-L1 i nasila proliferację limfocytów T regulatorowych. Te powiązania są prawdopodobnie wzajemne, ponieważ spadek NLR często następuje po blokadzie

immunologicznego punktu kontrolnego. Dane te u chorych na nowotwory stanowią przesłankę do łącznej oceny ogólnoustrojowych markerów stanu zapalnego i mikrośrodowiska guza. Wykazano, że wysoki NLR był związany z gorszym całkowitym przeżyciem (ang. *overall survival*, OS) i zmniejszoną podgrupą komórek CD8+/CD28- i CD4+/CD25+ u chorych na raka trzustki. W innym badaniu wykazano, że u chorych na raka trzustki rozpuszczalne PD-L1 (sPD-L1) i NLR były niezależnymi czynnikami prognostycznymi.

Cel osiągnięcia naukowego:

Cel główny:

Ocena ekspresji białek punktów kontrolnych układu odpornościowego w mikrośrodowisku i komórkach nowotworowych wybranych złośliwych nowotworów litych.

Cele szczegółowe:

1. Ocena ekspresji białek osi PD-1/PD-L1 w mikrośrodowisku immunologicznym przerzutów raka piersi w ośrodkowym układzie nerwowym z uwzględnieniem ich potencjalnego znaczenia prognostycznego (praca 1)
2. Ocena ekspresji receptorów immunologicznych punktów kontroli PD-L1 i VISTA w złośliwych nowotworach germinalnych jądra wraz z oceną ich potencjalnego znaczenia prognostycznego oraz związku z systemową reakcją zapalną mierzoną wskaźnikami NLR, PLR i LMR (praca 2)
3. Ocena ekspresji receptorów immunologicznych punktów kontroli PD-L1 i VISTA w rakach trzustki w powiązaniu z oceną wykładników EMT, zakrzepicą i markerów systemowej reakcji zapalnej (NLR, PLR, LMR) oraz z uwzględnieniem potencjalnego znaczenia prognostycznego ocenianych markerów (praca 3)
4. Ocena ekspresji receptorów immunologicznych punktów kontroli PD-L1, VISTA oraz galektyny-9 w rakach płaskonabłonkowych jamy ustnej z uwzględnieniem różnic pomiędzy różnymi obszarami anatomicznymi oraz z oceną potencjalnego znaczenia prognostycznego (praca 4, 5, 6)

W pierwszej pracy (*Immune response in breast cancer brain metastases and their microenvironment: the role of the PD-1/PD-L axis*) realizowano 1 cel szczegółowy, czyli oceniono mikrośrodowisko przerzutów raka piersi do ośrodkowego układu nerwowego i jego wpływ na OS.

Rak piersi pierwotnie nie był uważany za immunogeny typ raka. Istnieje jednak coraz więcej dowodów sugerujących, że odpowiedź immunologiczna gospodarza może znacznie wpłynąć na przebieg kliniczny tego nowotworu. Naciek limfocytów guza wiąże się z korzystnym

rokowaniem we wczesnym potrójnie ujemnym i HER2-dodatnim raku piersi i może wpływać na odpowiedź na leczenie systemowe. Dane literaturowe na temat związku między odpowiedzią immunologiczną gospodarza a kolonizacją mózgu przez komórki nowotworowe są skąpe. Ośrodkowy układ nerwowy (OUN) uważany jest za miejsce uprzywilejowane immunologicznie, tzn. toleruje obce antygeny bez wzbudzania typowej dla innych organów reakcji zapalnej. W rzeczywistości mózgowie jest wyspecjalizowanym ośrodkiem immunologicznym, podlegającym ścisłej regulacyjnej sieci kontrolnej, łączącej mikroglej, astrocyty i limfocyty. Przerzuty do mózgu w modelach przedklinicznych i klinicznych charakteryzują się wysoką proliferacją, apoptozą i rozległą glezją reaktywną. Postuluje się, że reaktywne astrocyty zmniejszają apoptozę, w której pośredniczą czynniki cytotoksyczne, poprzez sekwestrację wapnia z cytoplazmy komórek nowotworowych lub wydzielanie chemokin stymulujących przerzuty. W procesach zapalnych i zwyrodnieniowych reaktywne komórki glejowe OUN aktywnie uczestniczą w ponownej stymulacji limfocytów T poprzez wydzielanie niektórych chemokin. To zwiększa napływ regulatorowych limfocytów T (Treg), co skutkuje wyciszeniem odpowiedzi immunologicznej. Receptor białka programowanej śmierci komórki 1 (PD-1) i jego ligandy: ligand receptora programowanej śmierci komórki 1 (PD-L1) i PD-L2, znane również odpowiednio jako B7-H1 i B7-DC, odgrywają kluczową rolę w indukcji i utrzymaniu obwodowej tolerancji oraz chronią tkanki przed atakiem autoimmunologicznym. Aktywacja osi PD-1/PD-L1 jest również kluczową drogą ucieczki wielu nowotworów przed odpowiedzią immunologiczną gospodarza. Odpowiedź immunologiczna na obecność przerzutów w mózgu może być związana z rodzajem nowotworu. Lepsze zrozumienie lokalnej odpowiedzi immunologicznej towarzyszącej przerzutom raka piersi do mózgu (ang. *breast cancer brain metastases*, BCBM) może utorować drogę do opracowania nowych strategii zapobiegawczych i terapeutycznych u chorych na raka piersi.

Badanie miało na celu ocenę korelacji między wybranymi parametrami odpowiedzi immunologicznej w BCBM a ich wpływem na OS.

Grupę badaną stanowiło 84 kobiet chorych na raka piersi, u których wykonano chirurgiczną resekcję przerzutów do mózgu. Na podstawie ekspresji receptora estrogenowego α (ER α), receptora progesteronowego (PR) i receptora ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2) zidentyfikowano cztery fenotypy guza: receptory hormonów steroidowych (HR)+ i HER2- (27%), HR+ i HER2+ (25%), HR- i HER2- (25%) oraz HR- i HER2+ (23%). Spośród tych nowotworów 83% stanowiły inwazyjne raki przewodowe (bez specjalnego typu). Biorąc pod uwagę stopień zróżnicowania, 42% przypadków zostało sklasyfikowanych jako grade 2, a 46% jako grade 3. Wszystkie pacjentki przeszły radykalną resekcję guza pierwotnego. Ponadto, 62% pacjentek otrzymało chemioterapię neoadiuwantową, 42% chemioterapię adjuwantową, 32% otrzymało uzupełniającą radioterapię, a 19 (50% z 38 przypadków HER2+) otrzymało uzupełniające leczenie trastuzumabem. Czterdzieści siedem pacjentek (56%) rozwinęło BCBM jako pierwsze ognisko wznowy choroby. Średni wiek w momencie rozpoznania BCBM wynosił 53 lata (zakres 30–81 lat). Mediana czasu obserwacji w całej populacji wyniosła 61,3 miesiąca (zakres 8,7–209 miesięcy). Najczęstszymi lokalizacjami BCBM były mózdzek i płat ciemieniowy mózgu. Po wycięciu BCBM 75% pacjentek zostało poddanych radioterapii na obszar całego mózgu, 44% otrzymało chemioterapię, a 18% terapię hormonalną. Mediana OS po usunięciu BCBM wyniosła 18,3 miesiąca (zakres 0–99 miesięcy).

Dla każdego przypadku został wybrany reprezentatywny pojedynczy blok parafinowy z BCBM i poddany analizie immunohistochemicznej.

PD-L1 i PD-L2 były oceniane metodą H-score, która uwzględnia ilościowe i jakościowe cechy odczynu. Przy ostatecznej ocenie do danej intensywności odczynu określono procent ilości komórek dodatnich. Ekspresja PD-L1 była obecna na komórkach raka i jednojądrzastych komórkach nacieku zapalnego, natomiast ekspresję PD-L2 stwierdzono wyłącznie na komórkach raka.

Odczyn PD-1 oceniany był w komórkach limfoidalnych (TILs), które były identyfikowane na podstawie cech morfologicznych oraz wcześniej wykonanych odczynów CD4 i CD8, na 0 (negatywny) lub 1 (pozytywny).

Ekspresja CD4, CD8 i CD68 określona była metodą ilościową, poprzez zsumowanie ilości komórek z dwóch dużych pól widzenia we wcześniej wytypowanych obszarach o największym zagęszczeniu komórek dodatnich.

Ekspresję PD-1 na TILs w BCBM stwierdzono w 17 przypadkach (23%), częściej u starszych pacjentów (średni wiek rozpoznania przerzutów do mózgu w grupach PD-1+ i PD-1- odpowiednio 59 i 51 lat; $p = 0,003$) oraz w przypadku raka piersi z amplifikacją HER2. Ekspresja PD-1 była dodatnio skorelowana z liczbą limfocytów CD4+ ($r = 0,26$; $p = 0,028$) i CD8+ ($r = 0,33$; $p = 0,005$). Pacjentki z PD-1+ w porównaniu z pacjentkami z PD-1- miały dłuższy OS po wycięciu BCBM [mediana odpowiednio 27,9 miesiąca (zakres 0,1–88,9) vs 13,9 miesiąca (0,0–82,6; $p = 0,02$)]. Ekspresja PD-L1 i PD-L2 w BCBM była obecna odpowiednio w 41 (53%) i 28 (36%) przypadkach i nie była związana z fenotypem BCBM.

Nie stwierdzono wpływu wcześniejszych terapii uzupełniających, w tym trastuzumabu, na analizowane parametry immunologiczne mikrośrodowiska immunologicznego przerzutu. U pacjentów z HER2+ podanie trastuzumabu przed rozwojem BCBM nie wpłynęło na ilość CD4+ ($p = 0,77$), CD8+ ($p = 0,17$), CD68+ ($p = 0,77$) ani ekspresję PD-1 ($p = 0,85$), PD-L1 ($p = 0,86$), PD-L2 ($p = 0,80$). Do niekorzystnych czynników prognostycznych należał fenotyp guza pierwotnego receptora hormonalnego/HER2+ (HR = 2,6 (1,3–5,5); $p = 0,01$) oraz ekspresja HER2 w BCBM (HR = 4,9 (1,3–19,2); $p = 0,01$).

Wnioski:

Ekspresja PD-L1 i PD-L2 jest powszechna w przerzutach raka piersi do mózgu, niezależnie od fenotypu guza pierwotnego i fenotypu przerzutów. Pozytywne prognostyczne znaczenie ekspresji PD-1 w TILs sugeruje korzystną rolę aktywnego nacieku limfocytarnego w BCBM i sugeruje potencjalną rolę terapeutyczną immunoterapii w tej grupie chorych.

W drugiej pracy wchodzącej w skład osiągnięcia (*Combined assessment of immune checkpoint regulator VISTA on tumor-associated immune cells and platelet-to-lymphocyte ratio identifies advanced germ cell tumors with higher risk of unfavorable outcomes*) oceniono ekspresję receptorów punktów kontrolnych układu odpornościowego (VISTA i PD-

L1) oraz markery ogólnoustrojowego zapalenia w złośliwych guzach germinalnych jąder (ang. *germ cell tumors*, GCT) realizowano tym samym cel 2 szczegółowy osiągnięcia.

Nowotwory germinalne jądra są najczęstszym typem nowotworów złośliwych u mężczyzn w okresie dojrzewania i wczesnej dorosłości. Patoklinicznie wydziela się podstawowe dwie grupy: nasieniaka i guzy nienasieniakowe. Większość pacjentów dorosłych jest diagnozowana w I stopniu zaawansowania choroby, w którym ryzyko nawrotu choroby jest niskie, a ryzyko zgonu znikome. Ta grupa może być poddana ścisłej obserwacji lub może otrzymać chemioterapię adjuwantową. W przypadku guzów nienasieniakowych potencjalną korzyść z terapii adjuwantowej ustala się na podstawie inwazji naczyń limfatycznych (ang. *lymphovascular invasion* - LVI). Natomiast w trakcie kwalifikacji pacjentów z nasieniakiem do stosowania adjuwantowej karboplatyny, postuluje się, aby uznać inwazję sieci jądra i wielkość guza jako potencjalne czynniki ryzyka utajonej choroby przerzutowej. Choroba nawrotowa jest prawie zawsze uleczalna, jednak chirurgiczne lub systemowe leczenie nawrotu choroby niesie ze sobą ryzyko istotnych klinicznie działań niepożądanych. Zatem odpowiednia identyfikacja pacjentów zagrożonych nawrotem może poprawić leczenie choroby w stadium I. Pacjenci z zaawansowaną chorobą z przerzutami (stadium IIC-III) poddawani są stratyfikacji ryzyka zgodnie z *International Germ Cell Consensus Classification* (IGCCC), która uwzględnia umiejscowienie guza (śródpierście vs inne), obecność ognisk pozapłucnych przerzutów do narządów trzewnych oraz stężenia markerów nowotworowych w surowicy: alfa-fetoproteiny (AFP), ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (hCG) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH). Chociaż powyższa klasyfikacja jest użyteczna klinicznie i w większości odzwierciedla zaawansowanie choroby nowotworowej istnieje niezaprzeczalna potrzeba opracowania nowych funkcjonalnych biomarkerów (zarówno prognostycznych, jak i predykcyjnych) usprawniających obecne postępowanie zarówno we wczesnych (stopień I), jak i zaawansowanych (stadium II–III wg AJCC) guzach germinalnych jądra.

Celem tego badania było określenie czy istnieje zależność między ekspresją VISTA i PD-L1 w mikrośrodowisku immunologicznym guza oraz poziomami markerów ogólnoustrojowego zapalenia. Ponadto, zbadano czy te markery osobno lub w powiązaniu, mogą stanowić czynnik prognostyczny u pacjentów z GCT.

Badaną grupę stanowiło 180 przypadków po orchidektomii (97 przypadków nasieniaka, 83 przypadki nie-nasieniaków) w wieku od 17 do 66 lat. PD-L1 oceniono przy użyciu histoscore, który uwzględnia ilość komórek dodatnich (0-100%) oraz intensywność odczynu (0,1,2,3), wynik histoscore jest iloczynem komórek dodatnich i intensywności odczynu. Niski (low) uznawany był przy wynikach 0-40, wysoki 41-300. Ekspresję VISTA oceniono poprzez odsetek komórek dodatnich, a następnie klasyfikowano jako niski (0–50%) lub wysoki (51–100%) status ekspresji.

Komórki nowotworowe wykazywały wysoką ekspresję zarówno VISTA, jak i PD-L1 jedynie w przypadku kosmówczaka. W pozostałych guzach germinalnych, oba markery były negatywne w komórkach nowotworowych, z wyjątkiem 3 przypadków raka zarodkowego (ogniskowa ekspresja PD-L1). Jednocześnie zaobserwowano, że ekspresja VISTA i PD-L1 w komórkach immunologicznych związanych z nowotworem (TAIC) była częsta. Całkowity brak ekspresji PD-L1 stwierdzono jedynie w siedmiu nasieniakach (7% nasieniaków) i w trzech

przypadkach mieszanych guzów germinalnych (3,6% nie-nasieniaków). Podobnie, tylko dwa przypadki nasieniaka wykazały całkowity brak dodatnich komórek VISTA (2% nasieniaków). Wysoką ekspresję VISTA w TAIC zaobserwowano w 63 przypadkach (37%), podczas gdy wysoką ekspresję PD-L1 w 89 przypadkach (49%).

Czyste potworniaki i obszary potworniaków w guzów mieszanych charakteryzowały się niską gęstością TAIC i bardzo słabą lub nieobecną ekspresją immunologicznych punktów kontrolnych (PD-L1 histoscore < 5, odsetek komórek VISTA+ < 5%). W nasieniakach PD-L1-dodatnie TAIC były rozmieszczone głównie wzdłuż inwazyjnego frontu guza i w przegrodach włóknisto-naczyniowych, podczas gdy VISTA-dodatnie TAIC były głównie zlokalizowane w przegrodach. W nowotworach nienasieniakowych komórki VISTA-dodatnie często tworzyły małe skupiska w miększym guza lub na obwodzie guza w obrębie przegród włóknisto-naczyniowych, podczas gdy dystrybucja TAIC dodatnich PD-L1 była bardziej niejednorodna. Nienowotworowe komórki Leydiga i śródbłonek wykazywały ekspresję VISTA niezależnie od histologii guza.

Wysoka ekspresja PD-L1 była częściej stwierdzana w czystych nasieniakach niż w innych typach guzów germinalnych. Guzy z przerzutami do węzłów chłonnych lub przerzutami odległymi wykazywały niższą ekspresję PD-L1 na TAIC.

W analizie statystycznej uwzględniając markery układowego zapalenia stwierdzono, że wyższe NLR lub PLR i niższe LMR były związane z obecnością przerzutów do węzłów chłonnych lub przerzutów odległych oraz wyższym stopniem zaawansowania. Obecność martwicy nowotworu była skorelowana z wyższym NLR i niższym LMR (odpowiednio $p = 0,004$ i $0,001$; U-Mann-Whitney).

Guzy z niską ekspresją PD-L1 i VISTA na TAIC wykazywały gorszy pięcioletni czas wolny od zdarzeń (ang. *event free survival*, EFS) w porównaniu do innych guzów (74% vs 94%, $p = 0,011$). Biorąc pod uwagę przedoperacyjne ogólnoustrojowe markery stanu zapalnego, pięcioletni wskaźnik EFS był istotnie niższy w grupie wysokiego PLR (89%) niż w grupie niskiego PLR (69%) ($p = 0,018$). Nie wykazano istotnego związku NLR i PLR z przeżywalnością. Wszystkie sześć przypadków nawracających oznaczono jako VISTA niskiej ekspresji, a pięć jako PD-L1 niskiej ekspresji. W grupie pacjentów otrzymujących chemioterapię adjuwantową niska ekspresja PD-L1 była istotnie związana z czasem wolnym od wznowy (ang. *relapse-free survival*, RFS) ($p = 0,016$, log-rank), a podobny trend obserwowano dla VISTA ($p = 0,12$, log-rank), podczas gdy naciek sieci jądra, wielkość guza, LVI, rozległość guza (cecha pT) i markery ogólnoustrojowego zapalenia nie miały wpływu na RFS.

Stwierdzono 11 przypadków progresji w stadium II/III (11/18, 64%), 6 nawrotów (11,1%) i 6 zgonów związanych z nowotworem (11,1%). Wszystkie zgony wystąpiły u pacjentów o pośrednim (5/17, 29,41%) lub złym rokowaniu (1/7, 14,28%) według IGCCCG. Dlatego analizę czasu przeżycia swoistego dla nowotworu (ang. *cancer specific survival*, CSS) ograniczono do tej podgrupy, podczas gdy EFS analizowano dla wszystkich pacjentów w stadium II/III. Niska ekspresja VISTA wiązała się z wyższym ryzykiem zdarzeń i śmierci (odpowiednio $p = 0,103$ i $p = 0,054$).

Jedną z hipotez badawczych było, że łączna ocena markerów systemowej i lokalnej odpowiedzi immunologicznej może mieć dodatkowe znaczenie prognostyczne w GCT. Stwierdzono, że kombinacje VISTA i PLR stratyfikują pacjentów pod względem EFS i CSS (najgorsze wyniki w przypadkach niskiej ekspresji VISTA i wysokiego PLR, podczas gdy najlepsze w przypadkach wysokiej ekspresji VISTA). Ekspresja PD-L1 osobno lub w połączeniu z markerami zapalenia ogólnoustrojowego nie miała wpływu na EFS i OS. Łączna niska ekspresja VISTA na TAIC i wysoka PLR zostały zidentyfikowane jako niezależny predyktor nawrotu/progresji (HR 4,10; 1,48–11,36, $p = 0,006$) i śmierci (HR 15,56, 95% CI 1,78–135,51, $p = 0,001$) w wieloczynnikowej analizie regresji Coxa.

Wnioski:

Łączna ocena ekspresji VISTA na komórkach immunologicznych w mikrośrodowisku nowotworów germinalnych jądra oraz markera systemowej reakcji zapalnej PLR stanowi potencjalny czynnik prognostyczny w zaawansowanych GCT jądra o pośrednim i wysokim ryzyku. Te biomarkery można wykorzystać do stratyfikacji ryzyka progresji lub zgonu oraz do identyfikacji pacjentów wymagających bardziej agresywnego podejścia terapeutycznego. Z kolei prognostyczny efekt PD-L1 jest szczególnie widoczny w nasieniakach, co wskazuje na kluczową rolę nadzoru immunologicznego w biologii tych nowotworów. Ocenę PD-L1 można rozważyć w celu przewidywania ryzyka nawrotu choroby u pacjentów w stadium I leczonych terapią adjuwantową.

W trzeciej pracy wchodzącej w skład osiągnięcia (*Tumor budding is an independent prognostic factor in pancreatic adenocarcinoma and it positively correlates with PD-L1 expression on tumor cells*) oceniono ekspresję receptorów immunologicznych punktów kontrolnych (PD-L1 i VISTA), markery ogólnoustrojowego stanu zapalnego, zakrzepicę w guzie oraz pączkowanie guza (ang. *tumor budding*) w gruczolakoraku trzustki, realizowano tym samym cel 3 szczegółowy osiągnięcia.

Histologicznie gruczolakorak trzustki charakteryzuje się zwykle wyraźnym zrębem desmoplastycznym, częstym naciekaniem naczyń limfatycznych i nerwów, ponadto obecnością martwicy i zakrzepicy. Wszystkie te czynniki kształtują unikalne mikrośrodowisko, w którym istnieją różne populacje komórek odpornościowych, w tym limfocyty, makrofagi i granulocyty, które wchodzi w interakcje z komórkami nowotworowymi. Proporcje tych komórek w lokalnym mikrośrodowisku guza, ale także we krwi obwodowej mogą wpływać na rokowanie w raku trzustki.

Receptory immunologicznego punktu kontrolnego i ich ligandy, np. osie PD-1/PD-L1 lub P-selektyna glikoproteina ligand 1 (PSGL-1) / supresor aktywacji limfocytów T zawierający domenę V Ig (VISTA), są znanymi czynnikami predykcyjnymi i prognostycznymi w wielu nowotworach złośliwych. Mimo dużych nadziei pokładanych w immunoterapii raka trzustki, w 2012 roku w badaniu klinicznym I fazy dotyczącym leczenia anty-PD-L1 nie stwierdzono obiektywnej odpowiedzi u pacjentów z rakiem trzustki. Może to wynikać z tego, że raki trzustki należą do tzw. immunologicznie „zimnych” nowotworów.

Prognostycznie ważną cechą wielu raków jest wzorzec inwazji; zwłaszcza obecność tzw. pączkowania w inwazyjnej części guza wiąże się ze złym rokowaniem w rakach przewodu pokarmowego. Wyraźne pączkowanie odzwierciedla zwiększoną mobilność i inwazyjność komórek nowotworowych. Wreszcie, zakrzepica w obszarze guza stymuluje angiogenezę poprzez hipoksję, napędzając proliferację guza, metabolizm i unikanie odpowiedzi immunologicznej.

Badanie miało na celu kompleksową analizę znaczenia prognostycznego i wzajemnych powiązań między ekspresją receptorów immunologicznych punktów kontrolnych w mikrośrodowisku guza, markerami ogólnoustrojowego stanu zapalnego, zakrzepicą w guzie oraz stopniem pączkowania guza w 107 przypadkach raka trzustki.

Ekspresję receptorów immunologicznych punktów kontrolnych oceniano oddzielnie na komórkach raka (TC) i na komórkach odpornościowych związanych z nowotworem (TAIC), uwzględniając procent pozytywnie barwiących się komórek każdego typu. Za pozytywny w TC uznawany był całkowity odczyn błonowy, podczas gdy w TAIC zarówno odczyn błonowy, jak i cytoplazmatyczny były kwalifikowane jako pozytywne. Ekspresję PD-L1 w >3% TAIC odnotowano w 47 przypadkach (44%), podczas gdy ekspresję PD-L1 w >1% TC stwierdzono w 41 guzach (38%). Nie było związku między ekspresją PD-L1 na TAIC i TC ($p = 0,425$, chi-kwadrat). Nie zaobserwowano ekspresji VISTA na TC, ale 69 przypadków wykazało >4% VISTA-dodatnich TAIC (68%; możliwe do oceny w 101 przypadkach). Pozytywna ekspresja VISTA i PD-L1 na TAIC była dodatnio skorelowana ($p = 0,004$, chi-kwadrat), ale nie było związku między VISTA na TAIC a PD-L1 na TC ($p = 0,646$, chi-kwadrat).

Biorąc pod uwagę podstawowe parametry kliniczno-patologiczne, wysoka ekspresja PD-L1 na TAIC była rzadsza w guzach z inwazją naczyniową (39,8% vs. 71,4%, $p = 0,026$, chi-kwadrat). Guzy o wysokim stopniu złośliwości wg WHO (G3) wykazywały wysoką ekspresję PD-L1 na TC w porównaniu z przypadkami G1 i G2 ($p < 0,001$, chi-kwadrat).

Wartości przedoperacyjnego PLR i MLR oraz pooperacyjnego PLR były związane z ekspresją PD-L1 na TC.

Obecność zakrzepicy oceniano osobno wewnątrz guza i na obwodzie guza w naczyniach krwionośnych różnej średnicy. Zakrzepicę wewnątrz guza stwierdzono w 62 przypadkach (58%) i na obwodzie guza w 37 (35%). Obecność zakrzepicy wewnątrz guza była związana z niższą ekspresją PD-L1 na TAIC.

Do określenia pączkowania guza ocenie poddawano cały jego przekrój, wybierano miejsca o największym zagęszczeniu pączków (hot-spot) i na polu o powierzchni $0,785 \text{ mm}^2$ zliczano pojedyncze komórki raka oraz grupy utworzone z co najwyżej 4 komórek raka. Mediana liczby pączków guza wynosiła 11 (zakres 0–30). Przypadki z PD-L1-dodatnimi TC i przypadki VISTA-ujemne TAIC charakteryzowały się większą liczbą pączków guza (odpowiednio $p=0,008$ i $p=0,031$, test Wilcoxona). Przypadki PD-L1-dodatnie z wysokim stopniem pączkowania charakteryzowały się niższym stopniem zróżnicowania histologicznego ($p = 0,031$, chi-kwadrat), brakiem produkcji śluzu ($p = 0,02$, chi-kwadrat) i wyższym odsetkiem PD-L1-pozytywnych TC ($p = 0,064$, test Wilcoxona).

Wysoka ekspresja PD-L1 na TC była związana z gorszym OS ($p = 0,041$, log-rank). Z drugiej strony, wysoki PD-L1 lub VISTA na TAIC był skorelowany z lepszym OS (odpowiednio $p = 0,006$ i $p = 0,008$, log-rank). Co ciekawe, łączny status PD-L1 na TC i TAIC podzielił pacjentów na trzy grupy prognostyczne. Guzy charakteryzujące się niskim PD-L1 na TAIC i wysokim PD-L1 na TC wykazywały najgorsze rokowanie, podczas gdy wysoki PD-L1 na TAIC i niski PD-L1 na TC były związane z najlepszym rokowaniem ($p = 0,0039$, krzywa Kaplana-Meiera).

Wysoki stopień pączkowania guza był najsilniejszym zidentyfikowanym czynnikiem złego rokowania ($p < 0,0001$, krzywa Kaplana-Meiera). Ponadto, wysokie przedoperacyjne poziomy markerów ogólnoustrojowego stanu zapalnego, zwłaszcza PLR i MLR, były związane z gorszym OS.

Wnioski:

Przeprowadzone badania ujawniły związek pomiędzy rakami z naciekiem silnie pączkującym i wysokimi poziomami ogólnoustrojowych markerów zapalnych, a ekspresją PD-L1 na komórkach raka, jak również pomiędzy zakrzepicą w guzie a ekspresją PD-L1 na komórkach nacieku zapalnego mikrośrodowiska. W analizie jednoczynnikowej wzorce ekspresji PD-L1 i VISTA korelowały z przeżyciem. Pączkowanie guza jest silnym markerem prognostycznym w rakach trzustki. Biorąc pod uwagę prosty system oceny pączkowania może on być łatwo włączony do rutynowej praktyki histopatologicznej, podobnie jak stało się to w raku jelita grubego

O ile rak trzustki jest z reguły immunologicznie „zimny”, raki jamy ustnej charakteryzują się bardziej różnorodnym fenotypem mikrośrodowiska. Pojawienie się nowej grupy leków wpływających na białka regulujące odpowiedź immunologiczną spowodowało znaczne zainteresowanie się biomarkerami TME w tej grupie nowotworów. Kolejne prace 4, 5, 6 zajmują się oceną ekspresji receptorów immunologicznych punktów kontrolnych, które stanowią potencjalne punkty uchwytu terapii celowanej oraz oceną ich znaczenia prognostycznego w rakach płaskonabłonkowych jamy ustnej.

W czwartej pracy (*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*) oceniono ekspresję PD-L1 i IL-33 w komórkach raka płaskonabłonkowego jamy ustnej oraz w TILs.

Rak płaskonabłonkowy jamy ustnej (ang. *oral squamous cell carcinoma*, OSCC) stanowi 95% wszystkich rozwijających się nowotworów w jamie ustnej. Dotyczy głównie mężczyzn w wieku powyżej 50 lat i ma związek z paleniem tytoniu i spożywaniem alkoholu. Pomimo znacznych postępów, jakie poczyniono w leczeniu raka jamy ustnej, OS nie uległo poprawie znacząco w ciągu ostatnich kilkunastu lat. Leczenie jest kompleksowe i obejmuje m.in. operację, która zwykle jest leczeniem z wyboru. Przebieg kliniczny zależy głównie od stopnia zaawansowania, lokalizacji guza oraz możliwości przeprowadzenia radykalnej resekcji chirurgicznej. Raki języka i dna jamy ustnej są często miejscowo zaawansowane w momencie diagnozy i wykazują gorsze

rokowanie niż raki w innych częściach jamy ustnej. Czynniki związane z biologią guza i TME mogą również wpływać na rokowanie lub być celem terapii personalizowanej.

Celem badań była ocena immunohistochemiczna ekspresji PD-L1 i IL-33 w grupie 95 pacjentów z OSCC oraz korelacja badanych markerów z cechami kliniczno-patologicznymi.

Ekspresję PD-L1 uznawano za dodatnią tylko w przypadku stwierdzenia ciągłego odczynu błonowego na komórkach nowotworowych TC, podczas gdy na TILs uznawano za dodatnie odczyny cytoplazmatyczne i/lub błonowe. Ekspresję IL-33 oceniono jako pozytywną jedynie przy odczynie jądrowym.

Czterdzieści cztery przypadki (46,31%) wykazały ekspresję PD-L1 w ponad 10% komórek raka. Średni odsetek komórek dodatnich wyniósł 21,88%, mediana 10%. Guzy zlokalizowane w jamie ustnej i języku miały zwykle niższy odsetek PD-L1-dodatnich komórek raka w porównaniu z innymi lokalizacjami ($p = 0,019$, U Mann-Whitney). Zaobserwowano tendencję do niższej ekspresji PD-L1 i obecności przerzutów do węzłów chłonnych ($p = 0,015$, U Mann-Whitney). Analogiczne wyniki odnotowano, jeśli PD-L1 oceniano jako zmienną binarną (niska/wysoka ekspresja). Nie stwierdzono związku ekspresji z płcią, stopniem zaawansowania, stopniem zróżnicowania histologicznego, paleniem czy nadużywaniem alkoholu.

Piętnaście przypadków (15,79%) wykazało ekspresję IL-33 w ponad 1% jąder komórek raka (średnia 1,08%, mediana 0%, maks. 30%). W rakach języka i dna jamy ustnej ekspresja IL-33 była rzadziej obserwowana niż w innych lokalizacjach ($p = 0,001$, chi-kwadrat). W III i IV stopniu zaawansowania raka jamy ustnej guzy miały tendencję do częstszej ekspresji IL-33 niż nowotwory w niższym stadium, ale ten wynik miał graniczną istotność statystyczną ($p = 0,057$, chi-kwadrat).

Ekspresję IL-33 w limfocytach naciekających guz zaobserwowano w 18 przypadkach (19%). Średni odsetek wynosił 0,5% (mediana 0%, maksymalnie 7%). Ekspresja IL-33 w TILs była mniej powszechna w rakach języka i dna jamy ustnej ($p = 0,055$, chi-kwadrat), ale nie znaleziono żadnego innego związku między IL-33 a zmiennymi kliniczno-patologicznymi. Nie stwierdzono korelacji między ekspresją PD-L1 a IL-33.

W przeprowadzonej jednoczynnikowej analizie przeżycia w całej badanej serii przypadków stwierdzono, że ekspresja PD-L1 na TILs wiązała się z mniejszym ryzykiem zgonu (HR 0,552, 95% CI 0,306-0,902, $p=0.012$, Cox), ale zależności tej nie ujawniono w analizie wieloczynnikowej, w której jedynym czynnikiem wpływającym na rokowanie był status węzłów chłonnych. W następnym kroku przeprowadzono analizę przeżycia w zależności od lokalizacji anatomicznej w jamie ustnej. W analizie wieloczynnikowej wykazano, że ekspresja PD-L1 na TC była związana z gorszym rokowaniem (HR 2.514, 95% CI 1.977-5.282, $p=0.014$, Cox), ale tylko w rakach dna jamy ustnej i języka.

Wnioski:

Ekspresja PD-L1 w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej jest obecna w komórkach raka i w limfocytach mikrośrodowiska. Znaczenie prognostyczne ekspresji PD-L1 różni się w zależności od lokalizacji w jamie ustnej guza. Wysoka ekspresja PD-L1 na TILs była silnie związana z nieobecnością przerzutów do węzłów chłonnych, a tym samym lepszym OS

we wszystkich lokalizacjach w analizie jednoczynnikowej. Z drugiej strony, ekspresja PD-L1 na komórkach raka wydaje się mieć wyraźny wpływ na przeżywalność w raku języka i dna jamy ustnej, ale nie w innych lokalizacjach. Wynika z tego, że mikrośrodowisko immunologiczne raków jamy ustnej różni się w zależności od konkretnych lokalizacji anatomicznych. Z kolei, ekspresja IL-33 była rzadko obserwowana i nie miała znaczenia prognostycznego, ale jej ekspresja na TC była istotnie związana z lokalizacją guza.

W piątej pracy wchodzącej w skład osiągnięcia (*VISTA H-score is significantly associated with a 5-year DFS rate in oral squamous cell carcinoma*) kontynuowano badania z publikacji nr 4, oceniono ekspresję VISTA w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej.

W 71 przypadkach ekspresję ocenioną używając barwienia immunohistochemicznego metodą H-score, ponadto w 35 przypadkach dodatkowo do oceny użyto RT-qPCR.

Biorąc pod uwagę H-score, podzielono populację pacjentów na dwie grupy w zależności od ekspresji VISTA: wyższą (H-score > 45, n = 33) i niższą (H-score ≤ 45, n = 38). Oceniając mRNA VISTA, podzieliliśmy kohortę na dwie grupy z wyższą (> 0, 52, n = 16) i niższą ekspresją genu (<0, 52, n = 19). Jednak krzywa Kaplana-Meiera i test log-rank wykazały, że wpływ poziomu VISTA H-score na OS był nieistotny (log-rank, p = 0,48). Podobnie wpływ VISTA mRNA na OS był nieistotny (p = 0,396). Wpływ ekspresji VISTA na OS był ograniczony, 5-letni czas wolny od choroby (ang. *disease-free survival*, DFS) w grupie pacjentów z niższą ekspresją VISTA wynosił 2,4%, natomiast w grupie pacjentów z wyższą ekspresją VISTA 52,9%; występowała istotna różnica między grupami (p = 0,05). Chociaż zaobserwowano podobną tendencję, nie potwierdziliśmy istotnej różnicy między grupami w przypadku ekspresji genu VISTA [p = 0,62, wyższa (56,3%) vs niższa (42,1%)]. Porównując wyniki VISTA z wynikami z pracy nr 4 wykazano słabe korelacje między VISTA H-score a PD-L1 H-score (komórki nowotworowe, p = 0,027; R = 0,263) lub IL-33 H-score (komórki nowotworowe p = 0,04; R = 0,25). Zaobserwowano również umiarkowaną korelację między poziomami VISTA H-score i IL-33 H-score (limfocyty, p = 0,002; R = 0,37).

Wnioski:

Wyższy wynik VISTA H-score w limfocytach guza jest związany z wyższym wskaźnikiem 5-letniego DFS. Ponadto wykazano, że VISTA H-score koreluje z poziomami IL-33 i PD-L1 w komórkach nowotworowych oraz poziomami IL-33 w limfocytach.

W szóstej pracy wchodzącej w skład osiągnięcia (*Galectin-9 expression on tumor-associated immune cells is associated with favorable clinicopathological features and better outcomes in oral squamous cell carcinoma*) kontynuowano badania z publikacji nr 4, oceniono ekspresję galektyny-9 w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej.

Retrospektywną analizę przeprowadzono w grupie 62 pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej.

Limfocyty i makrofagi obecne na granicy guza i zrębu uznano za TAIC. Odczyn cytoplazmatyczny w TAIC został określony jako dodatni. We wszystkich przypadkach obserwowano ekspresję galektyny-9 w co najmniej 1% TAIC. Mediana procentowa komórek z ekspresją galektyny-9 wynosiła 30%.

Ekspresja galektyny-9 nie była związana z płcią ($p=0,192$, test U Manna-Whitneya), stopniem zaawansowania ($p=0,706$, test U Manna-Whitneya), paleniem ($p=0,720$, test U Manna-Whitneya) czy nadużywaniem alkoholu ($p=0,829$, test U Manna-Whitneya). Zaobserwowano natomiast wyższą ekspresję galektyny-9 w guzach mniej zaawansowanych miejscowo (niska cecha pT; $p=0,023$, test U Manna-Whitneya) i bez przerzutów do węzłów chłonnych ($p=0,014$, test U Manna-Whitneya). Co ciekawe, nie było różnicy między rakami N0 i N1, ale przypadki N2 i N3 były związane ze znacznie niższym odsetkiem komórek galektyny-9-dodatnich. Przeciwnie, istotnie niższą ekspresję badanego markera obserwowano u pacjentów z cukrzycą typu 2 ($p=0,029$, test U Manna-Whitneya). Wykazano tendencję do wyższej ekspresji galektyny-9 w rakach języka i dna jamy ustnej w porównaniu z innymi lokalizacjami ($p=0,054$, test U Manna-Whitneya).

Ze względu na potencjalne interakcje galektyny-9 z innymi białkami immunologicznego punktu kontrolnego w TME, naszym celem było również zbadanie jej korelacji z ekspresją PD-L1 na TAIC i komórkach nowotworowych. Ekspresję PD-L1 oceniono wcześniej (praca nr 4). Istniała dodatnia korelacja między ekspresją PD-L1 i galektyny-9 na TAIC ($r=0,329$, $p=0,009$, Pearson). Nie odnotowano związku z ekspresją PD-L1 na komórkach nowotworowych ($r=0,185$, $p=0,15$, Pearson).

Aby zbadać potencjał galektyny-9 jako czynnika prognostycznego w OSCC, podzieliliśmy naszą kohortę na dwie grupy w zależności od odsetka komórek galektyny-9-dodatnich. Punkt odcięcia 50% wybarwionych komórek ustalono z wykorzystaniem funkcji „surv_cutpoint” z pakietu „survminer”. Pacjenci charakteryzujący się >50% komórek galektyny-9-dodatnich charakteryzowali się korzystnym 5-letnim OS w porównaniu z grupą z niskim poziomem galektyny-9 (59% vs 30%, $p=0,029$, log-rank). Wynik ten został potwierdzony w jednoczynnikowej analizie regresji Coxa (HR = 0,446, 95% CI 0,201-0,946). Niemniej jednak było to nieistotne w wieloczynnikowym modelu regresji Coxa kontrolowanym przez kluczowe czynniki kliniczno-patologiczne (cecha pT, stan węzłów chłonnych).

Wnioski:

Wysoki poziom ekspresji galektyny-9 związany jest z obecnością korzystnych cech kliniczno-patologicznych, tj. nieobecnością przerzutów do węzłów chłonnych i mniej zaawansowanych miejscowo guzów, a tym samym lepszym 5-letnim OS. Ponadto istniała dodatnia korelacja między ekspresją galektyny-9 i PD-L1 na TAIC.

Podsumowanie

W cyklu prezentowanych powyżej prac wykazano, że białka punktów kontrolnych układu immunologicznego mają istotne znaczenie rokownicze w wielu nowotworach. Ponadto, ujawniają związek z systemową reakcją zapalną oraz oddziałują z TME m.in. naczyniami czy

zdolnością nowotworu do przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej. Wykazano korzystną prognostycznie rolę ekspresji PD-1 w TILs w przerzutach raka piersi do mózgu (publikacja 1). W guzach germinalnych jądra wykazano, że łączna ocena ekspresji VISTA na komórkach immunologicznych oraz markera systemowej reakcji zapalnej PLR stanowi potencjalny czynnik prognostyczny w zaawansowanych GCT jądra o pośrednim i wysokim ryzyku. Z kolei prognostyczny efekt PD-L1 jest szczególnie widoczny w nasieniakach (publikacja 2). Wykazano związek pomiędzy rakami trzustki z naciekiem silnie pączkującym i wysokimi poziomami ogólnoustrojowych markerów zapalnych a ekspresją PD-L1 na komórkach raka, jak również pomiędzy zakrzepicą w guzie a ekspresją PD-L1 na komórkach nacieku zapalnego mikrośrodowiska (publikacja 3). Znaczenie prognostyczne ekspresji PD-L1 różni się w zależności od lokalizacji guza w jamie ustnej. Wysoka ekspresja PD-L1 na TILs była silnie związana z nieobecnością przerzutów do węzłów chłonnych, a tym samym lepszym OS we wszystkich lokalizacjach. Natomiast ekspresja PD-L1 na komórkach raka wydaje się mieć wyraźny wpływ na przeżywalność w raku języka i dna jamy ustnej, ale nie w innych lokalizacjach. Wysoka ekspresja VISTA na TILs guza była związana z wyższym wskaźnikiem 5-letniego DFS. Natomiast wysoki poziom ekspresji galektyny-9 związany był z nieobecnością przerzutów do węzłów chłonnych, niskim stopniem miejscowego zaawansowania raka jamy ustnej oraz lepszym OS w analizie jednoczynnikowej (publikacja 4, 5, 6). Najnowsze wyniki badań translacyjnych wskazują, że oś galektyny-9 oraz innych białek immunologicznego punktu kontrolnego, a w szczególności VISTA i PD-L1, wzmagają wzajemnie swoje działanie promując unikanie odpowiedzi immunologicznej przez komórki nowotworowe. Wyniki naszych badań również sugerują, że istnieją korelacje między ekspresją tych białek.

Wnioski z przeprowadzonych badań mają znaczenie nie tylko poznawcze, ale również kliniczne. Obecność PD-1 na limfocytach w przerzutach raka sutka do mózgu wskazuje na potencjalną użyteczność terapeutyczną inhibitorów receptorów kontroli immunologicznej w tej grupie pacjentek. W guzach germinalnych ocenę PD-L1 można rozważyć w celu przewidywania ryzyka nawrotu choroby u pacjentów w stadium I leczonych terapią adjuwantową. Ekspresję VISTA oraz PLR można wykorzystać do stratyfikacji ryzyka progresji lub zgonu oraz do identyfikacji pacjentów wymagających bardziej agresywnego podejścia terapeutycznego. Pączkowanie guza (*tumor budding*) jest silnym markerem prognostycznym w rakach trzustki i powinno być oceniane w raportach histopatologicznych. Ponadto, wykryto, że mikrośrodowisko immunologiczne raków jamy ustnej różni się w zależności od konkretnych lokalizacji anatomicznych, co powinno być uwzględnione w badaniach nad immunoterapią raków jamy ustnej. Ponadto przyszłe badania powinny koncentrować się na molekularnych mechanizmach powiązań między galektyną-9 a mikrośrodowiskiem i potencjalnej przydatności leczenia ukierunkowanego na galektynę w OSCC.

4. Analiza bibliometryczna

Jestem autorem / współautorem 47 prac oryginalnych, 28 prac kazuistycznych, 2 prac poglądowych, 5 listów do redakcji.

Jestem autorem 47 streszczeń zjazdowych (36 krajowych i 11 zagranicznych).

Całkowity dorobek naukowy: IF: 219,883; MEiN: 4830

Całkowity dorobek naukowy po doktoracie: IF: 215,099; MEiN: 4677

Łączny dorobek po doktoracie bez cyklu habilitacyjnego: IF: 187,701; MEiN: 4157

Liczba cytowań wg Scopus: 511 (bez autocytowań – 498)

Liczba cytowań wg Web of Science Core Collection: 464 (bez autocytowań – 449)

Indeks Hirscha wg Scopus: 11

Indeks Hirscha wg Web of Science Core Collection: 10 (stan na dzień: 09.05.2023 r.)

5. Podsumowanie pozostałego dorobku i osiągnięć naukowych poza cyklem habilitacyjnym

Oprócz cyklu 6 prac składających się na osiągnięcie naukowe w przewodzie habilitacyjnym, uczestniczyłem w następujących badaniach:

1. Ocena szlaku PD-1/PD-L1 u chorych na inne niż wymienione w osiągnięciu nowotwory lite.

W wyniku współpracy powstała seria prac oceniających ekspresję receptorów i markerów immunologicznych punktów kontrolnych, w szczególności PD-L1, VISTA i TOX, w różnych typach nowotworów (raka nerki, sromu i RMS u dzieci) oraz ocena ich wartości prognostycznej i predykcyjnej. Prace te pokazują złożoną zależność między układem odpornościowym a guzem nowotworowym oraz potencjał inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych w poprawie wyników leczenia pacjentów.

Prace wieloosrodkowe, mój udział polegał na konsultacji materiału tkankowego - weryfikacji histologicznej, analizie immunohistochemicznej, opracowaniu metodologii i walidacji wcześniejszych analiz.

- Sznurkowski J. J., Żawrocki A., Sznurkowska K., **Pęksa R.**, Biernat W. PD-L1 expression on immune cells is a favorable prognostic factor for vulvar squamous cell carcinoma patients. *Oncotarget* 2017 : vol. 8, nr 52, s. 89903-89912; (IF: 0; MNiSW: 40)
- Gabrych A., **Pęksa R.**, Kunc M., Krawczyk M., Iżycka-Świeszewska E., Biernat W., Bień E. *The PD-L1/PD-1 axis expression on tumor-infiltrating immune cells and tumor cells in pediatric rhabdomyosarcoma*. *Pathol. Res. Pract.* 2019 : vol. 215, nr 12, s. 965-971; (IF: 2,05; MNiSW: 40)

- Zapała Ł., Kunc M., Sharma S., **Pęksa R.**, Popęda M., Biernat W., Radziszewski P. *Evaluation of PD-L1 (E1L3N, 22C3) expression in venous tumor thrombus is superior to its assessment in renal tumor in predicting overall survival in renal cell carcinoma*. Urol. Oncol.-Semin. Orig. Investig. 2022 : vol. 40, nr 5, s. 200.e1-200.e10; (IF:2,954; MNiSW: 100)
- Zapała Ł., Kunc M., Sharma S., **Pęksa R.**, Popęda M., Biernat W., Radziszewski P. *Immune checkpoint receptor VISTA on immune cells is associated with expression of T-cell exhaustion marker TOX and worse prognosis in renal cell carcinoma with venous tumor thrombus*. J. Cancer. Res. Clin. Oncol. 2022. <https://doi.org/10.1007/s00432-022-04329-y>; (IF:4,322; MNiSW: 100)

2. Patologia onkologiczna przewodu pokarmowego

Seria prac dotycząca górnego i dolnego odcinka przewodu pokarmowego, trzustki oraz dróg żółciowych. Badano ekspresję hormonów steroidowych oraz receptora ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2) jako czynników prognostycznych w rakach pęcherzyków żółciowych, a także korelację HER2 z angiogenezą w raku żołądka. Artykuł dotyczący raka trzustki miał na celu określenie optymalnej sekwencji leczenia tego nowotworu. Prace dotyczące raka jelita grubego określały ekspresją CAV1 i HTRA i ich wartość prognostyczną oraz znaczenie ekspresji cytokeratyny 7 w przerzutach. W większości tych prac o zasięgu wielośrodkowym, mój udział polegał na konsultacji materiału tkankowego - weryfikacji histologicznej, analizie immunohistochemicznej, opracowaniu metodologii i walidacji wcześniejszych analiz.

- Hryciuk B., **Pęksa R.**, Bieńkowski M., Szymanowski B., Radecka B., Winnik K., Żok J., Cichowska N., Iliszko M., Duchnowska R. *Expression of female sex hormone receptors, connective tissue growth factor and HER2 in gallbladder cancer*. Sci. Rep. 2020 : vol. 10, art. ID 1871, s. 1-7; (IF:4,38; MNiSW: 140)
- Ciesielski M., Szajewski M., **Pęksa R.**, Lewandowska M. A., Zieliński J., Walczak J., Szefel J., Kruszewski J. W. *The relationship between HER2 overexpression and angiogenesis in gastric cancer*. Medicine 2018 : vol. 97, nr 42, art. ID e12854, s. 1-6; (IF:1,87; MNiSW: 40)
- Ciesielski M., Szajewski M., Walczak J., **Pęksa R.**, Lenckowski R., Supeł M., Zieliński J., Kruszewski J. W. *Impact of chromosome 17 centromere copy number increase on patient survival and human epidermal growth factor receptor 2 expression in gastric adenocarcinoma*. Oncol. Lett. 2021 : vol. 21, nr 2, art. ID 142, s. 1-8; (IF:3,111; MNiSW: 70)
- Piątek M., Kuśnierz K., Bieńkowski M., **Pęksa R.**, Kowalczyk M., Nawrocki S. *Primarily resectable pancreatic adenocarcinoma : to operate or to refer the patient to an oncologist?* Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2019 : vol. 135, s. 95-102; (IF:5,833; MNiSW: 100)

- Kitowska A., Wesserling M., Seroczyńska B., Szutowicz A., Ronowska A., **Pęksa R.**, Pawełczyk T. *Differentiation of high-risk stage I and II colon tumors based on evaluation of CAV1 gene expression*. J. Surg. Oncol. 2015 : vol. 112, nr 4, s. 408-414; (IF:3,151; MNiSW: 30)
- Zurawa-Janicka D., Kobiela J., Ślebioda T., **Pęksa R.**, Stanisławowski M., Wierzbicki P. M., Wenta T., Lipińska B., Kmiec Z., Biernat W., Łachiński A. J., Śledziński Z. *Expression of HTRA genes and its association with microsatellite instability and survival of patients with colorectal cancer*. Int. J. Mol. Sci. 2020 : vol. 21, nr 11, art. ID 3947, s. 1-1; (IF:5,924; MNiSW: 140)
- Czapiewski P., Bobowicz M., **Pęksa R.**, Skrzypski M., Gorczyński A., Szczepańska-Michalska K., Korwat A., Jankowski M., Zegarski W., Szulgo-Paczkowska A., Polec T., Piątek M., Skokowski J., Haybaeck J., Żaczek A., Biernat W. *Keratin 7 expression in lymph node metastases but not in the primary tumour correlates with distant metastases and poor prognosis in colon carcinoma*. Pol. J. Pathol. 2016 : vol. 67, nr 3, s. 228-234; (IF:0,99; MNiSW: 15)

3. Patologia układu moczowo-płciowego

Prace dotyczące raków prostaty zajmowały się poszukiwaniem lepszych metod wykrywania, które by korelowały z Gleason score. Praca dotycząca guzów geminalnych jader wykazała, że ekspresja TdT może być potencjalną przyczyną pułapki diagnostycznej. Mój udział polegał na konsultacji materiału tkankowego - weryfikacji histologicznej, analizie immunohistochemicznej, opracowaniu metodologii i walidacji wcześniejszych analiz.

- Konopka C. J., Woźniak M., Hedhli J., Siekierzycka A., Skokowski J., **Pęksa R.**, Matuszewski M., Munirathinam G., Kajdacsy-Balla A., Dobrucki I. T., Kalinowski L., Dobrucki L. W. *Quantitative imaging of the receptor for advanced glycation end-products in prostate cancer*. Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 2020 : vol. 47, nr 11, s. 2562-2576; (IF:9,236; MNiSW: 140)
- **Pęksa R.**, Kunc M., Bieńkowski M., Popęda M., Biernat W. *Diagnostically misleading aberrant terminal deoxynucleotidyl transferase expression in germ cell tumors*. Pol. J. Pathol. 2022 : vol. 73, nr 2, s. 159-165; (IF:0,909; MNiSW: 40)
- Żurowska A., **Pęksa R.**, Grzywińska M., Panas D., Sowa M., Skrobisz K., Matuszewski M., Szurowska E. *Comparison of Diffusion Kurtosis Imaging and Standard Mono-Exponential Apparent Diffusion Coefficient in Diagnosis of Significant Prostate Cancer - A Correlation with Gleason Score Assessed on Whole-Mount Histopathology Specimens*. Diagnostics. 2023 : vol. 13(2):173; (IF:3,992; MNiSW: 70)

4. Diagnostyka guzów kory nadnerczy

We współpracy z Katedrą Endokrynologii GUMeU, powstała seria trzech pracy opisująca rolę receptorów adiponektynowych i leptynowych w guzach nadnerczy z uwzględnieniem ich potencjalnego znaczenia w diagnostyce różnicowej nowotworów łagodnych i złośliwych. Mój udział polegał na przeprowadzeniu klasyfikacji guzów nadnerczy, określeniu reprezentatywnych wycinków, ocenie i walidacji badań immunohistochemicznych.

- Babińska A., Pęksa R., Wiśniewski P., Świątkowska-Stodulska R., Sworczak K. *Diagnostic and prognostic role of SF1, IGF2, Ki67, p53, adiponectin, and leptin receptors in human adrenal cortical tumors*. J. Surg. Oncol. 2017 : vol. 116, nr 3, s. 427-433; (IF:2,886; MNiSW: 30)
- Babińska A., Pęksa R., Świątkowska-Stodulska R., Wiśniewski P., Sworczak K. *Expression of adiponectin and leptin receptors in adrenal incidentaloma patients with subclinical hormone secretion*. Cancer Biomark. 2018 : vol. 22, nr 2, s. 325-332; (IF:2,859; MNiSW: 20)
- Babińska A., Pęksa R., Wiśniewski P., Sworczak K. *Expression of adiponectin receptors 1 and 2 and the leptin receptor in human adrenal tumors*. Arch. Med. Sci. 2019 : vol. 15, nr 5, s. 1254-1260; (IF:2,807; MNiSW: 100)

5. Przerzuty nowotworowe do ośrodkowego układu nerwowego

Są to prace wieloosrodkowe, dotyczące przerzutów raków do OUN. Przedmiotem analiz były zaburzenia molekularne przerzutów raka płuca i raka jajnika. Mój udział dotyczył wyselekcjonowania materiału tkankowego do zaplanowanych badań genetycznych, weryfikacji histologicznej wybranych przypadków.

- Duchnowska R., Supernat A. M., Pęksa R., Łukasiewicz M., Stokowy T., Ronen R., Dutkowski J., Umińska M., Iżycka-Świeszewska E., Kowalczyk A., Och W., Rucińska M., Olszewski W. P., Mandat T., Jarosz B., Bieńkowski M., Biernat W., Jassem J. *Pathway-level mutation analysis in primary high-grade serous ovarian cancer and matched brain metastases*. Sci. Rep. 2022 : vol. 12, art. ID 20537, s. 1-9; (IF: 4,997; MNiSW: 140)
- Nicoś M., Harbers L., Patrucco E., Kramer-Drauberg M., Zhang X., Voena C., Kowalczyk A., Bozyk A., Pęksa R., Jarosz B., Szumiło J., Simonetti M., Żuk M., Wasąg B., Reszka K., Duchnowska R., Milanowski J., Chiarle R., Bienko M., Krawczyk P., Jassem J., Ambrogio C., Crosetto N. *Genomic profiling identifies putative pathogenic alterations in NSCLC brain metastases*. JTO Clin. Res. Rep. 2022 vol. : 3, nr 12, s. 1-16; (IF: 0; MNiSW: 5)

6. Kardiopatologia

Prace międzyuczelniane, które opisują badania bioimplantów na modelu zwierzęcym. Przeprowadziłem ocenę histologiczną interakcji pomiędzy materiałem wszczepionym a

tkankami gospodarza. **Kontrola odrzucania przeszczepów serca** - Badanie wykorzystujące biopsję płynną wolnego DNA dawcy jako alternatywę dla tradycyjnej biopsji histopatologicznej protokolarnej. Mój udział polegał na opracowaniu koncepcji pracy i ocenie histologicznej biopsji protokolarnej w badanej grupie pacjentów.

- Brzeziński M., Sejda A., **Pęksa R.**, Pawlak M., Bury K., Adamiak Z., Kowalik M., Jagielak D., Bartus K., Hoida M. K., Litwinowicz R., Rogowski J. *Evaluation of local tissue reaction after the application of a 3D printed novel holdfast device for left atrial appendage exclusion*. Ann. Biomed. Eng. 2020 : vol. 48, nr 1, s. 133-143. (IF: 3,934; MNiSW: 100)
- Kołaczowska M., Siondalski P., Kowalik M. M., **Pęksa R.**, Długa A., Zając W., Dederko P., Kołodziejka I., Malinowska-Pańczyk E., Sinkiewicz I., Staroszczyk H., Śliwińska A., Stanisławska A., Szkodo M., Pańczyńska P., Jabłoński G., Borman A., Wilczek P. *Assessment of the usefulness of bacterial cellulose produced by Gluconacetobacter xylinus E25 as a new biological implant*. Mat. Sci. Eng. C-Mater. 2019 : vol. 97, s. 302-312. (IF: 5,88; MNiSW: 140)
- Bieńkowski M., **Pęksa R.**, Popęda M., Kołaczowska M., Frankiewicz A., Żaczek A. J., Gruchała M., Biernat W., Siondalski P. *Liquid biopsy for minimally invasive heart transplant monitoring: a pilot study*. J. Clin. Pathol. 2020 : vol. 73, nr 8, s. 507-510. (IF: 3,411; MNiSW: 100)

V. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

A. Aktywność publikacyjna oraz projekty we współpracy międzynarodowej

Zaburzenia genetyczne guzów litych (Projekt ZIA BC 011427. Immunohistochemical and genomic analysis of tumors)

Współpraca z Jerzym Lasotą oraz Marku Miettinenem z National Cancer Institute, Bethesda, USA, zaowocowała opisaniem zaburzeń genetycznych występujących w guzach litych. Badania te objęło dwie grupy nowotworów: czerniaka złośliwego jamy nosa i zatok przynosowych oraz raka jelita grubego. Chociaż dotyczą różnych rodzajów nowotworów, miały wspólny cel, czyli identyfikację zmian genetycznych, które mogą być zaangażowane w rozwój i progresję tych guzów.

W czerniaku jamy nosa i zatok zostały zidentyfikowane zmiany w kluczowych szlakach sygnałowych, w tym szlakach MAPK, PI3K/AKT i Wnt, które w przyszłości mogą być celem terapeutycznym.

W raku jelita grubego zostały zidentyfikowane rzadkie przypadki z fuzją genów ALK i fuzją genów NTRK, które mogą również stanowić potencjalny cel terapeutyczny. Ponadto wykazano, że przeciwciała SP174 powszechnie stosowane do wykrywania mutacji NRAS Q61R

reaguje krzyżowo z mutacją KRAS Q61R. Oznacza to, że przeciwciało może nie być wystarczająco specyficzne, aby dokładnie wykryć mutację NRAS, a także może identyfikować przypadki z mutacją KRAS jako dodatnie pod względem mutacji NRAS. Ta potencjalna reaktywność krzyżowa może mieć ważne implikacje dla diagnozy i leczenia pacjentów z rakiem jelita grubego.

Moja rola w tym badaniu polegała na ponownej ocenie histopatologicznej przypadków, wyborze najbardziej reprezentatywnych fragmentów nowotworów, które wraz z odpowiadającymi im blokami parafinowymi posłużyły do stworzenia mikromacierzy tkankowych (ang. *tissue microarrays*, TMA). Dodatkowo skompletowałem dane kliniczno-patologiczne oraz brałem udział w pisaniu manuskryptów.

W efekcie niniejszej współpracy zostały opublikowane następujące artykuły:

1. Alterations in key signaling pathways in sinonasal tract melanoma. A molecular genetics and immunohistochemical study of 90 cases and comprehensive review of the literature.

Chłopek M, et al., **Pęksa R**, et al. [...] Miettinen M. Mod Pathol. 2022 Nov;35(11):1609-1617. doi: 10.1038/s41379-022-01122-7. (IF: 8,209; MNiSW: 140)

2. Colorectal Adenocarcinomas Harboring ALK Fusion Genes: A Clinicopathologic and Molecular Genetic Study of 12 Cases and Review of the Literature.

Lasota J, et al., **Pęksa R**, et al. [...] Miettinen M. Am J Surg Pathol. 2020 Sep;44(9):1224-1234. doi: 10.1097/PAS.0000000000001512. (IF: 6,394; MNiSW: 200)

3. Colonic Adenocarcinomas Harboring NTRK Fusion Genes: A Clinicopathologic and Molecular Genetic Study of 16 Cases and Review of the Literature.

Lasota J, et al., **Pęksa R**, et al. [...] Miettinen M. Am J Surg Pathol. 2020 Feb;44(2):162-173. doi: 10.1097/PAS.0000000000001377. (IF: 6,394; MNiSW: 200)

4. SP174, NRAS Q61R Mutant-Specific Antibody, Cross-React With KRAS Q61R Mutant Protein in Colorectal Carcinoma.

Lasota J, et al., **Pęksa R**, et al. [...] Miettinen M. Arch Pathol Lab Med. 2017 Apr;141(4):564-568. doi: 10.5858/arpa.2016-0147-OA. (IF:3,658; MNiSW: 35)

Mechanizmy przerzutowania raków do mózgu

Współpraca z Patricia Steeg z National Cancer Institute, Bethesda, USA, celem której było poznanie mechanizmów powstawania przerzutów raków do mózgu. Badania obejmowały poznanie szlaków transcytotycznych związanych z dystrybucją komórek raka piersi do mózgu oraz roli reaktywnej astrocytowej sygnalizacji S1P3 w modulowaniu bariery krew-guz w przerzutach raka do mózgu.

Moja rola w tym badaniu polegała na ponownej ocenie histopatologicznej przypadków, wyborze najbardziej reprezentatywnych fragmentów nowotworów oraz ocenie

immunohistochemicznej badanych białek (galektyna-3, receptor 3 sfingozyno-1-fosforanu) w przerzutach do mózgu.

W efekcie tej współpracy zostały opublikowane następujące artykuły:

1. Comparison of Three Transcytotic Pathways for Distribution to Brain Metastases of Breast Cancer.

Khan I, et al., **Pęksa R**, et al. [...] Steeg PS. Mol Cancer Ther. 2023 Mar 13;MCT-22-0815. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-22-0815. (IF: 6,011; MNiSW:140)

2. Reactive astrocytic S1P3 signaling modulates the blood-tumor barrier in brain metastases.

Gril B, et al., **Pęksa R**, et al. [...] Steeg PS. Nat Commun. 2018 Jul 13;9(1):2705. doi: 10.1038/s41467-018-05030-w. (IF: 11,878; MNiSW:45)

B. Członkostwo w towarzystwach naukowych

1. Nazwa organizacji lub towarzystwa: Polskie Towarzystwo Patologów (PTP)

Okres członkostwa: od 2007 r.

Pełnione funkcje w O. Gdański PTP: sekretarz 2008-2013, 2019-2022;
wiceprzewodniczący 2016-2019; przewodniczący O. Gdański PTP od 2022 r.

Moja rola polega na :

- organizacji zebrań O. Gdańskiego PTP;
- uczestnictwie w zebraniach Zarządu Głównego PTP

2. Nazwa organizacji lub towarzystwa: Polskie Towarzystwo Onkologiczne

Okres członkostwa: od 2015 r.

3. Nazwa organizacji lub towarzystwa: European Society of Pathology

Okres członkostwa: od 2010 r.

C. Członkostwo w międzynarodowych grupach roboczych

Nazwa organizacji lub towarzystwa: European Lobular Breast Cancer Consortium

Jako patolog specjalizujący się w nowotworach piersi jestem członkiem tego konsorcjum od 2019 roku. Grupa ta ma na celu lepsze zrozumienie czynników genetycznych i biochemicznych leżących u podstaw inwazyjnego zrazikowego raka piersi.

D. Odbyte zagraniczne staże zagraniczne (po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu)

Staż szkoleniowy w ramach stypendium Giordano Fellowship, European Society of Pathology (ESP) – Nottingham Breast Pathology Research Group, Nottingham City Hospital, Wielka Brytania.

Okres pobytu: 14.08. –10.09.2016 r.

Nawiązano współpracę naukową i kliniczną. Opiekun stażu: prof. Emad Rakha, Professor of Breast Pathology and Honorary Consultant Pathologist; University of Nottingham.

VI. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę lub sztukę

A. Osiągnięcia i pełnione funkcje dydaktyczne

1. Wysoka ocena (średnia > 90%) w ankiecie dydaktycznej, w której studenci corocznie oceniają jakość prowadzonych zajęć akademickich:

Prowadzone zajęcia- Ćwiczenia, zajęcia sekcyjne i seminaria z przedmiotu „Patomorfologia” dla studentów III roku kierunku lekarskiego (Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny) (od 2006–obecnie); Ćwiczenia, zajęcia sekcyjne i seminaria z przedmiotu „Pathomorphology” dla studentów III roku kierunku lekarskiego (English Division, Gdański Uniwersytet Medyczny) (2006–2012).

2. Wykładowca na kursach dla lekarzy specjalizujących się z patomorfologii z ramach kształcenia podyplomowego CMKP – Histopatologia onkologiczna. Nowotwory ślinianek 2015 r.

3. Pełnienie funkcji kierownika specjalizacji w dziedzinie patomorfologii.

– dr n. med. Michał Bieńkowski – 2017-2022 r.

– lek. Aleksandra Ciarka od 29.11.2021 r.

4. Pełnienie funkcji promotora pomocniczego w dwóch przewodach doktorskich.

a) Promotor pomocniczy lek. dent. Łukasza Jana Adamskiego, Zakład Chirurgii Stomatologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Ocena ekspresji wybranych czynników immunomodulujących w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej”, 2021

b) Promotor pomocniczy lek. Bartosza Szymanowskiego, Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Ocena czynników prognostycznych i predykcyjnych u chorych na zaawansowanego raka jajnika leczonych pochodnymi platyny”, 2022

VII. Inne informacje dotyczące kariery zawodowej

A. Nagrody i stypendia

1. Nazwa nagrody: Nagroda Naukowa Zespołowa I-go Stopnia
Rok przyznania: 2016
Nazwa organu przyznającego nagrodę: Rektor Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Określenie tytułu z jakiego została przyznana nagroda: za badania dotyczące biologicznych podstaw powstania przerzutów do mózgu w przebiegu raka piersi
2. Nazwa nagrody: Nagroda Naukowa Zespołowa II-go Stopnia
Rok przyznania: 2016
Nazwa organu przyznającego nagrodę: Rektor Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Określenie tytułu z jakiego została przyznana nagroda: za badania nad rearanżacjami strukturalnymi genomu i mutacjami w genach powiązanych z utrzymaniem stabilności genowej w nienowotworowej tkance gruczołu sutkowego u pacjentek z rakiem piersi
3. Nazwa nagrody: Nagroda Naukowa Zespołowa II-go Stopnia
Rok przyznania: 2017
Nazwa organu przyznającego nagrodę: Rektor Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Określenie tytułu z jakiego została przyznana nagroda: za badania nad znaczeniem prognostycznym poziomu ekspresji genów CAV1 i TWIST1 w raku jelita grubego
4. Nazwa nagrody: Nagroda Naukowa Zespołowa II-go Stopnia
Rok przyznania: 2018
Nazwa organu przyznającego nagrodę: Rektor Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Określenie tytułu z jakiego została przyznana nagroda: za badania nad immunologią płaskonabłonkowego raka sromu
5. Nazwa nagrody: Nagroda Naukowa Zespołowa I-go Stopnia
Rok przyznania: 2020
Nazwa organu przyznającego nagrodę: Rektor Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Określenie tytułu z jakiego została przyznana nagroda: za badania molekularnych i klinicznych aspektów raka piersi

6. Nazwa nagrody: Nagroda Specjalna

Rok przyznania: 2021

Nazwa organu przyznającego nagrodę: Rektor Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Określenie tytułu z jakiego została przyznana nagroda: za publikację pt: 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

7. Nazwa nagrody: Nagroda Specjalna

Rok przyznania: 2021

Nazwa organu przyznającego nagrodę: Rektor Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Określenie tytułu z jakiego została przyznana nagroda: za publikację pt: Combined Assessment of Immune Checkpoint Regulator VISTA on Tumor-Associated Immune Cells and Platelet-to-Lymphocyte Ratio Identifies Advanced Germ Cell Tumors with Higher Risk of Unfavorable Outcomes

8. Nazwa nagrody: Nagroda Naukowa Zespołowa II-go Stopnia

Rok przyznania: 2022

Nazwa organu przyznającego nagrodę: Rektor Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Określenie tytułu z jakiego została przyznana nagroda: za wykorzystanie do przyżyciowego celowanego obrazowania w modelach translacyjnych nowatorskiej sondy molekularnej przeciwko receptorom końcowych produktów zaawansowanej glikacji

B. Informacja o uczestnictwie w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z wyszczególnieniem statusu realizacji projektu oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów

1. Narodowe Centrum Nauki (OPUS 13); tytuł projektu: 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); kierownik projektu: dr Elżbieta Senkus-Konefka; charakter udziału: wykonawca, realizację grantu zakończono.

Efektem ww grantu była seria publikacji:

- Kunc M, Popęda M, Niemira M, Szałkowska A, Bieńkowski M, Pęksa R, Łacko A, Radecka BS, Braun M, Pikiel J, Litwiniuk M, Pogoda K, Iżycka-Świeszewska E, Krętowski A, Żaczek AJ, Biernat W, Senkus-Konefka E. *microRNA Expression Profile in Single*

Hormone Receptor-Positive Breast Cancers is Mainly Dependent on HER2 Status-A Pilot Study. Diagnostics. 2020; 20;10(9):617. doi: 10.3390/diagnostics10090617.

- Kunc M, **Pęksa R**, Cserni G, Iżycka-Świeszewska E, Łacko A, Radecka B, Braun M, Pikiel J, Litwiniuk M, Pogoda K, Sz wajkosz A, Biernat W, Senkus E. *High expression of progesterone receptor may be an adverse prognostic factor in oestrogen receptor-negative/progesterone receptor-positive breast cancer: results of comprehensive re-evaluation of multi-institutional case series.* Pathology. 2022; 21;S0031-3025(21)00542-0. doi: 10.1016/j.pathol.2021.10.003.

2. Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (II konkurs Programu Badań Stosowanych); tytuł projektu: 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); lider konsorcjum: dr hab. Piotr Siondalski; charakter udziału: wykonawca, realizację grantu zakończono.

Efektem ww. grantu był patent nr 242163 oraz publikacja:

- Kołaczowska M., Siondalski P., Kowalik M. M., **Pęksa R.**, Długa A., Zając W., Dederko P., Kołodziejska I., Malinowska-Pańczyk E., Sinkiewicz I., Staroszczyk H., Śliwińska A., Stanisławska A., Szkodo M., Pałczyńska P., Jabłoński G., Borman A., Wilczek P. *Assessment of the usefulness of bacterial cellulose produced by Gluconacetobacter xylinus E25 as a new biological implant.* Mat. Sci. Eng. C-Mater. 2019 : vol. 97, s. 302-312

3. Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego; tytuł projektu: 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); kierownik projektu: dr Jacek Sznurkowski; charakter udziału: wykonawca, realizację grantu zakończono;

Efektem ww. grantu była publikacja:

- Sznurkowski J. J., Żawrocki A., Sznurkowska K., **Pęksa R.**, Biernat W. PD-L1 expression on immune cells is a favorable prognostic factor for vulvar squamous cell carcinoma patients. Oncotarget 2017: vol. 8, nr 52, s. 89903-89912

4. Polskie Towarzystwo Onkologiczne; tytuł projektu: ocena wybranych parametrów odpowiedzi immunologicznej mikrośrodowiska mózgu u chorych na raka piersi z przerzutami do ośrodkowego układu nerwowego; kierownik projektu: dr Renata Duchnowska; charakter udziału: wykonawca, realizację grantu zakończono;

Efektem ww grantu była publikacja:

Duchnowska R., **Pęksa R.**, Radecka B., Mandat T., Trojanowski T., Jarosz B., Czartoryska-Arłukowicz B., Olszewski Wojciech P., Och W., Kalinka-Warzocha E., Kozłowski W., Kowalczyk A., Loi S., Biernat W., Jassem J. *Immune response in breast cancer brain metastases and their microenvironment: the role of the PD-1/PD-L axis*. Breast Cancer Res. 2016 : vol. 18, nr 1, s. [1-11]

5. Udział w realizacji zadań badawczych statutowych Katedry i Zakładu Patomorfologii GUMed

C. Czynny udział w kongresach, sympozjach naukowych i szkoleniach

Jestem autorem lub współautorem 47 doniesień zjazdowych przedstawianych na konferencjach w kraju i na świecie. Poniżej zamieszczono wykaz prezentacji ustnych wygłaszanych osobiście.

1. Autor/autorzy wykładu/referatu: Pęksa Rafał, Rzepko Robert, Nałęcz Adam, Żawrocki Anton, Biernat Wojciech
Rok wygłoszenia: 2010
Tytuł wykładu /referatu: „Expression of E-cadherin and beta-catenin in primary and metastatic foci of colorectal carcinoma. Correlation with selected clinical and morphological parameters and the assessment of its prognostic value”
Nazwa konferencji: Intercongress Meeting of the European Society of Pathology
Miejsce odbycia konferencji: Kraków, Polska
2. Autor/autorzy wykładu/referatu: Rafał Pęksa
Rok wygłoszenia: 2018
Tytuł wykładu /referatu: „Rola patologa w leczeniu operacyjnym raka jelita grubego”
Nazwa: Zebranie Towarzystwa Chirurgów Polskich
Miejsce: Kościerzyna, Polska
3. Autor/autorzy wykładu/referatu: Rafał Pęksa
Rok wygłoszenia: 2018
Tytuł wykładu /referatu: „Histologiczne cechy zapalenia w schorzeniach jelit przy braku wyraźnych cech choroby w obrazie endoskopowym”
Nazwa Konferencji: Wybrane problemy diagnostyczno-terapeutyczne chorób jelita grubego w praktyce gastroenterologa, Polskie Towarzystwo Gastroenterologiczne, Oddział Gdański
Miejsce: Pomlewo, Polska
4. Autor/autorzy wykładu/referatu: Rafał Pęksa
Rok wygłoszenia: 2018

Tytuł wykładu /referatu: „Propozycja konsensusu ekspertów Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) i Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (IARC) dla nowotworów neuroendokrynnych”

Nazwa: Zebranie Oddziału Gdańskiego Polskiego Towarzystwa Patologów

5. Autor/autorzy wykładu/referatu: Rafał Pęksa

Rok wygłoszenia: 2022

Tytuł wykładu /referatu: „Patolog: co możemy uzyskać z poszczególnych materiałów do badań”

Nazwa konferencji: 50. Zjazd Polskiego Towarzystwa Otorynolaryngologów Chirurgów Głowy i Szyi

Miejsce odbycia konferencji: Wrocław, Polska

6. Autor/autorzy wykładu/referatu: Rafał Pęksa

Rok wygłoszenia: 2019

Tytuł wykładu /referatu: „The prognostic value of pattern-based grading system of pancreatic cancer”

Nazwa konferencji: XXI Zjazd Polskiego Towarzystwa Patologów

7. Autor/autorzy wykładu/referatu: Rafał Pęksa

Rok wygłoszenia: 2022

Tytuł wykładu /referatu: „Guzy nerek - nowe jednostki, WHO 2022”

Nazwa: Zebranie Oddziału Gdańskiego Polskiego Towarzystwa Patologów

D. Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych

Od 2019 w czasopismach: 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

E. Inne

- uczestnictwo w cyklu badań profilaktycznych – „Białe Soboty” organizowanych przez Klinikę Chirurgii Onkologicznej.
- lekarz Hospicjum im. Ks. E. Dutkiewicza SAC w Gdańsku

Oświadczam, że nie ubiegałem się wcześniej o nadanie stopnia doktora habilitowanego.


.....
podpis