

Dr hab. n.med. Marek Zadrożny  
Prof. nadzwyczajny Instytutu  
Centrum Zdrowia Matki Polki

Łódź, 24.06.2015

## OCENA

rozprawy doktorskiej lekarza ŁUKASZA PAKUŁY  
pt. „ Badanie ekspresji hamulców immunologicznych CTLA-4 i PD-1  
w limfocytach T w okresie okołoperacyjnym u chorych na raka piersi”

Klasyczne pooperacyjne badanie histopatologiczne raka piersi obejmujące ocenę złośliwości guza pierwotnego, stopień zaawansowania nowotworu z oceną węzłów chłonnych pachowych w dzisiejszych czasach nie dostarcza już wystarczających informacji koniecznych do zaplanowania leczenia skojarzonego. Dzięki rozwojowi badań molekularnych i genetycznych wprowadzono do praktyki klinicznej szereg nowych czynników prognostycznych i predykcyjnych takich jak: ekspresja receptorów ER, PR, HER2, wskaźnik proliferacji Ki67. Pozwoliło to na wyodrębnienie nowych podtypów raka piersi o różnym przebiegu klinicznym, warunkujących wdrożenie odpowiedniego leczenia skojarzonego.

Elementem klasycznego badania histopatologicznego guza gruczołu piersiowego jest od lat ocena obecności nacieków limfocytarnych wokół guza bądź w jego obrębie. Mimo tego dotychczas rak piersi nie był uznany za nowotwór immunogeny.

Najnowsze badania w dziedzinie immunologii zaowocowały odkryciami udowadniającymi ważną rolę procesów immunologicznych w takich nowotworach jak czerniak złośliwy, niektóre postacie raka płuca, czy rak nerki. Nie ma jeszcze istotnych dowodów immunogenności raka piersi. W związku z tym wybór tematu badań naukowych lekarza Łukasza Pakuły uważam za w pełni uzasadniony, trafny i jak najbardziej aktualny. Większość doniesień na temat ekspresji hamulców immunologicznych CTLA-4 i PD-1 w limfocytach T to wyniki badań z ostatnich pięciu lat

Rozprawa doktorska lekarza Łukasza Pakuły ma typowy układ dla prac naukowych, składa się z jedenastu rozdziałów, jest wydana bardzo starannie.

W zwięzłym Wstępie Doktorant omawia koncepcję immunogenności raka piersi, charakteryzuje badane przez siebie dwa rodzaje tzw. hamulców immunologicznych CTLA-4 (*cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4*) i PD-1 (*PD-1 programmed cell death protein 1*) opierając się na doniesieniach najnowszego piśmiennictwa, głównie z lat 2012-2014. Charakterystykę tę ilustruje trzema barwnymi rycinami ułatwiającymi zrozumienie wysoce specjalistycznego tekstu.

Ponadto Autor omawia ewolucję zakresu resekcji węzłów chłonnych pachowych u chorych na raka piersi, przedstawiając między innymi kontrowersyjną hipotezę o wpływie usuwania węzłów wartowniczych na nadzór immunologiczny i modulację układu immunologicznego chorej na raka piersi.

Cele pracy zostały jasno sprecyzowane. Po pierwsze obejmowały ocenę CTLA-4 i PD-1 u chorych na raka piersi i zdrowych. Ponadto oceniano związki między CTLA-4 i PD-1 a typowymi czynnikami kliniczno-patologicznymi raka piersi.

Badaniom poddano 35 chorych na raka piersi operowanych w szpitalu im. M. Kopernika w Łodzi. W mojej opinii jest to wystarczająca liczebnie grupa

choć mogłaby być większa. Poziomy ekspresji CTLA-4 i PD-1 zostały oznaczone metodą cytometrii przepływowej, ocenę czynników kliniczno-patologicznych przeprowadzono według standardów nowoczesnej histopatologii. W opinii oceniającego nie było konieczności umieszczania nazwisk i tytułów naukowych pracowników wykonujących te badania, a tym bardziej nazwisk i tytułów naukowych kierowników zakładów, w których te badania wykonano.

Zastosowane nowoczesne metody analizy statystycznej nie budzą zastrzeżeń.

Uzyskane wyniki przedstawione zostały w formie rycin i tabel opatrzonych zwięzłym komentarzem. Autor stwierdził istotną różnicę ekspresji PD-1 u chorych na raka piersi przed operacją w porównaniu z kobietami zdrowymi. Zanotował również statystycznie istotną różnicę poziomów PD-1 przed-, w trakcie i po 24 godzinach od zabiegu operacyjnego. Ekspresja CTLA-4 była związana z wiekiem chorych na raka piersi. Bardzo interesująca dla oceniającego – chirurga onkologa okazała się różnica w poziomach PD-1 w przypadku zmienionego przerzutowo bądź zdrowego węzła wartowniczego.

W rozdziale Dyskusja, w mojej opinii bardzo interesującym i wartościowym, Doktorant szczegółowo omawia uzyskane przez siebie wyniki, porównując je z licznymi pozycjami najnowszego piśmiennictwa w tym doniesieniami zjazdowymi ostatnich konferencji raka piersi St. Gallen i San Antonio. Udowadnia tym, że posiada najnowszą wiedzę w dziedzinie naukowej którą się zajmuje.

Moim zdaniem rozdział Dyskusja stanowi małe kompendium najnowszej wiedzy o badaniach immunologii nowotworów, ciekawe nawet dla specjalisty zajmującego się tym zagadnieniem.

Wnioski wyciągnięte przez Autora na podstawie uzyskanych wyników badań są wyważone i przemyślane. Doktorant jest świadomy, że wyniki jego pracy, aczkolwiek

bardzo ciekawe, nie mogą być podstawą wyciągania zbyt radykalnych wniosków i wymagają dalszych wielośrodkowych badań na dużych grupach chorych. Świadczy to o dojrzałości Autora.

W mojej opinii lekarz Łukasz Pakuła w pełni udowodnił, że posiada dużą wiedzę teoretyczną w wybranej przez siebie dziedzinie badań i potrafi samodzielnie przeprowadzić badanie naukowe.

Przedstawiona do oceny Praca w pełni spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim w myśl obowiązującej ustawy o stopniach i tytule naukowym.

W związku z tym przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lekarza Łukasza Pakuły do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Michał Zachary