

KATEDRA NAUK PRZEDKLINICZNYCH

DEPARTMENT OF PRECLINICAL SCIENCES

Division of Immunology

Zakład Immunologii

Faculty of Veterinary Medicine
Warsaw University of Life Sciences-SGGW
Ciszewskiego Str. 8, 02-786 Warsaw, Poland
Tel/Fax: (+48-22) 59 360 66
marek_niemialtowski@sggw.pl

Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa
Tel/Fax: (+22) 59 360 66
marek_niemialtowski@sggw.pl

Wet. KNP 2/273/2013

13 grudnia 2013

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

mgr. Piotra Szpakowskiego

p.t.

**„Fenotyp komórki dendrytycznej
w indukowanej prątkami *M. bovis* BCG
synapsie immunologicznej
z limfocytami w środowisku interleukiny 18”**

Promotor: prof.dr hab.Wiesława Rudnicka

Promotor pomocniczy: dr Magdalena Kowalewicz-Kulbat

Rozprawa doktorska pod w/w tytułem została wykonana w Katedrze Immunologii i Biologii Infekcyjnej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego i wydana w Łodzi w 2013 r. Liczy 94 strony, 42 ryciny, 5 tabel i 90 pozycji piśmiennictwa. Praca została napisana w układzie tradycyjnym w następującej kolejności: tytuł pracy, promotorzy, spis treści, wykaz skrótów, wstęp, cel pracy, materiały, metody, wyniki, dyskusja wyników, podsumowanie i wnioski, streszczenie, summary i bibliografia.

Gruźlica to od tysięcy lat jeden z najważniejszych problemów epidemiologicznych związany nie tylko z naszym gatunkiem - podkreśla to wagę problemu naukowego przedstawionego przez mgr. Piotra Szpakowskiego w ocenianej pracy doktorskiej, problemu tym bardziej istotnego ze względu na szybkie narastanie lekooporności prątków gruźlicy krążących w przyrodzie. Lepsze poznanie mechanizmów związanych z układem odpornościowym ssaków podczas zakażenia prątkami gruźlicy stwarza możliwość opracowania nowych lub ulepszenia istniejących do tej pory strategii walki z tą groźną chorobą zakaźną.

Komórki dendrytyczne i limfocyty będące bohaterami recenzowanej rozprawy to wyjątkowo ważni przedstawiciele komórek efektorowych układu odpornościowego w organizmach ssaków. Biorą one aktywny udział w komórkowych i molekularnych mechanizmach obronnych podczas niszczenia czynników zakaźnych, w tym badanych w pracy doktorskiej prątków gruźlicy bydłowej BCG (*Mycobacterium bovis* BCG [*Bacillus Calmette-Guérin*]), które w 1921 r. zostały zastosowane do szczepienia przeciwko gruźlicy u ludzi głównie w Europie i niektórych tzw. krajach rozwijających się, ale nie w USA ze względu na występujący tam odmienny szczep prątków gruźlicy, jak i inne czynniki (np. prątki środowiskowe) wpływające na niekorzystnie na proces szczepień, co czyni w tym kraju szczepionkę „europejską” praktycznie mało skuteczną/nieskuteczną pod względem profilaktycznym. Warto przypomnieć, że pomimo wielkiego historycznego sukcesu jaki odniosła szczepionka BCG nie jest ona szczepionką idealną jakkolwiek ryzyko zachorowania na gruźlicę po jej zastosowaniu zmniejsza się o tylko/aż o 50 %.

Mgr Piotr Szpakowski w wykonanej przez siebie pracy doktorskiej podjął udaną próbę pogłębienia istniejącej wiedzy na temat skomplikowanych relacji komórkowych i molekularnych podczas odpowiedzi mechanizmów efektorowych układu odpornościowego indukowanych przez *M. bovis* BCG. Powstająca wówczas pomiędzy niektórymi komórkami efektorowymi układu odpornościowego synapsa immunologiczna to unikalna platforma molekularna w której odbywa się prezentacja obcych antygenów (np. antygenów czynnika zakaźnego przez komórki dendrytyczne będące komórkami docelowymi, które ulegają zniszczeniu) komórkom efektorowym zakażonego organizmu - komórki te to głównie limfocyty T i B oraz komórki NK. Reakcje w synapsie immunologicznej zachodzą w środowisku w którym wiodącą rolę pełnią różnego rodzaju molekuly komunikacyjne, w tym integryny (np. ICAM-1 [KD] z LFA-1 [limfocyt T]) i cytokiny czego przykładem jest IL-18 badana przez doktoranta, jak i inne cytokiny w tym wytwarzane przez komórki dendrytyczne (np. IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-23).

Odnosząc się do poszczególnych części pracy doktorskiej uważam, że:

Tytuł określa zawartość pracy doktorskiej jakkolwiek brak wyjaśnienia o jakie limfocyty autorowi chodzi - o „T” czy „B”, czy o jedno i drugie, co też powinno być jasno napisane szczególnie w tytule ! Koresponduje merytorycznie z ‘Celami pracy’ oraz ‘Podsumowaniem i wnioskami’;

Spis treści został przedstawiony szczegółowo w punktach i podpunktach spełniając kryteria stawiane tego typu pracom eksperymentalnym;

Wykaz stosowanych w pracy skrótów jest dobrze opracowany i spełnia swoją rolę znacznie ułatwiając czytelnikowi przyswajanie treści rozprawy.

We **Wstępie** liczącym 15 stron mgr Piotr Szpakowski opisał historię odkrycia i właściwości komórek dendrytycznych (Nobel 2011 dla ich odkrywcy prof. Ralpa Steinmana, USA), jak również scharakteryzował niedojrzałe komórki dendrytyczne i ich dojrzewanie oraz przedstawił prezentację antygenów prątków gruźlicy limfocytom w węzłach chłonnych oraz interakcje komórek dendrytycznych z tymi bakteriami. Doktorant przypomniał o częstym współzakażeniu prątkami gruźlicy występującym u pacjentów HIV⁺/AIDS⁺, co zwiększa jeszcze bardziej wagę i złożoność problemu w jego aspekcie naukowo-aplikacyjnym.

Ten rozdział pracy doktorskiej jest napisany ciekawie i w sposób znakomicie przybliżający temat dysertacji choć, co oczywiste, jest to opis bardzo skrótowy, ale tłumaczy to olbrzymia liczba coraz to nowych informacji pochodzących z licznych laboratoriów zajmujących się problemami naukowymi opisanymi w pracy doktorskiej. Doktorant, moim zdaniem, powinien dokonać kosmetyki nazw limfocytów gdyż pisząc o limfocytach T CD4⁺ czy też CD8⁺ używa określenia cyt. „limfocyty CD4⁺” i „limfocyty CD8⁺” (strona 14. w 5. wierszu od góry [CD4⁺] i w 6. wierszu od góry [CD8⁺]). Wiadomo, oczywiście, że limfocyty CD4⁺ czy też CD8⁺ to, odpowiednio, limfocyty T CD4⁺ i T CD8⁺ ale, pomimo tego, w pracy naukowej powinniśmy być precyzyjni. Uważam, że we ‘Wstępie’ ocenianej rozprawy doktorskiej powinno być trochę więcej informacji na temat synaps immunologicznych jako fascynującego zjawiska biologicznego związanego z rozpoznawaniem przez układ odpornościowy zagrożenia organizmu gospodarza na płaszczyźnie „swoj/obcy”.

Jako **cel pracy** mgr Piotr Szpakowski zaplanował podjęcie cyt. „*prób charakterystyki wzbudzonej antygenami prątków synapsy immunologicznej KD (komórek dendrytycznych – przypisek recenzenta) z komórkami limfoidalnymi izolowanymi od zdrowych dorosłych osób, szczepionych w dzieciństwie BCG, które wykazywały zróżnicowaną zdolność rozwijania reakcji nadwrażliwości późnej na tuberkulinę, z jednoczesnym uwzględnieniem roli IL-18 w badanych reakcjach odpornościowych*”. Cel pracy autor zrealizował w 5 zadaniach badawczych, które precyzyjnie określił na stronach 16. i 17. dysertacji.

W sekcji **Materiały** doktorant opisał: materiał badany, testy tuberkulinowe, użyte podłoża, antygeny, odczynniki chemiczne, zestawy aparatury użytej do badań, testy ELISA do oznaczania cytokin, surowice i przeciwciała zastosowane w cystometrii przepływowej i w teście Western Blot, bufony i roztwory użyte w badaniach, galanterię plastykową i inny sprzęt.

Natomiast w dziale **Metody** autor przybliżył czytelnikowi:

◆ metody hodowli prątków *M. bovis* BCG i rekombinowanego szczepu *M. bovis* BCG z ekspresją ludzkiej IL-18 (rBCGhIL-18),

- ◆ test na określenie produkcji IL-18 przez rekombinowane prątki rBCGhIL-18, sposoby przygotowania zawiesin *M. bovis* BCG i prątków rBCGhIL-18,
- ◆ pozyskiwanie krwi obwodowej od dawców (za zgodą Lokalnej Komisji Bioetyki ds. Badań u Ludzi) oraz metodę izolacji leukocytów jednojądrzastych z krwi obwodowej (Peripheral Blood Mononuclear Cell Leukocyte [Lymphocytes], PBML) metodą różnicowego wirowania w gradiencie gęstości,
- ◆ izolację monocytów (CD14⁺) z frakcji PBML metodą separacji magnetycznej,
- ◆ otrzymywanie niedojrzałych komórek dendrytycznych pochodzenia monocytarnego,
- ◆ hodowlę komórek dendrytycznych stymulowanych antygenami mykobakterii lub LPS,
- ◆ ocenę ekspresji receptorów powierzchniowych i produkcję cytokin przez komórki dendrytyczne stymulowane antygenami mykobakterii.

Autor zbadał ponadto:

- ◆ poziom produkcji i wydzielania cytokin przez limfocyty stymulowane komórkami dendrytycznymi pulsowanymi antygenami mykobakterii,
- ◆ wewnątrzkomórkową produkcję IFN- γ przez limfocyty stymulowane autologicznymi komórkami dendrytycznymi znakowanymi antygenami mykobakterii,
- ◆ barwienie wewnątrzkomórkowe,
- ◆ poziom cytokin (IL-10, IL-12p70, IFN- γ i IL-23) w supernatantach hodowli przy użyciu komercyjnych testów ELISA, jak również stężenie chemokiny CXCL10 (IP-10) w supernatantach hodowli za pomocą komercyjnego testu ELISA DuoSet.

Ważnym składnikiem każdej pracy doświadczalnej w zakresie nauk eksperymentalnych jest analiza statystyczna otrzymanych wyników co mgr Piotr Szpakowski opisał w swojej dysertacji w oparciu o programy statystyczne FlowJo 7.2 i Statistica 10.0 PL. Autor wyznaczył dla wszystkich grup danych średnią, medianę i odchylenie standardowe. Do oceny różnic między średnimi wykorzystał nieparametryczny test U-Manna Whitneya. Analizę korelacji doktorant wykonał poprzez wyznaczenie współczynnika korelacji R-Spearmana. Do porównania częstości występowania cechy wykorzystał test χ^2 lub test Fishera.

Jako recenzent mam trochę niedosytu związanego ze zdawkowo potraktowanym, choć, moim zdaniem, szalenie istotnym dla wiarygodności pracy doktorskiej, opisem punktu III.2.4. „Pozyskiwanie krwi obwodowej”. Nie znalazłem bowiem istotnej w tym miejscu pracy doktorskiej informacji dotyczącej dawców krwi tj. ich wieku (dopiero na str. 41 jest informacja, że byli to studenci i pracownicy Uniwersytetu Łódzkiego w wieku od 18 - 30 lat [czy 18 – 36 /?/ lat, jak podano w

‘Streszczeniu/Sumary’ na stronach 81- 82 i 83 - 84], szczepieni szczepionką BCG, u których wykonano test tuberkulinowy będący miernikiem nadwrażliwości późnej na oczyszczony preparat tuberkuliny [PPD]). Nie rozumiem też dlaczego dopiero pod koniec pracy w ‘Streszczeniu/Sumary’ (strony 81-84) podano liczbę dawców (71 zdrowych ochotników) co powinno być dokonane na stronie 18. w sekcji ‘Materiały’? Brak jest, moim zdaniem, danych związanych ze stanem zdrowotnym dawców krwi i historią ich chorób jak, na przykład, czy wśród nich byli dawcy chorzy na choroby metaboliczne jak chociażby cukrzycę wpływającą istotnie na parametry immunologiczne komórek układu odpornościowego, a szczególnie jaka jest u każdego dawcy historia chorób zakaźnych w kontekście doświadczenia immunologicznego badanych komórek, które mogłyby wpływać w sposób istotny na wyniki przeprowadzonych badań. Czyli zabrakło w przedstawionym opisie danych uzyskanych w prostym wywiadzie lekarskim bardzo pomocnym w analizie tego rodzaju żmudnych i czasochłonnych badań, jakie wykonał i opisał autor w swojej pracy doktorskiej (a tak na marginesie to najczęściej nie ma takich opisów w ukazujących się publikacjach nawet w bardzo renomowanych czasopismach, co powinno być korygowane na etapie recenzji, co czynię awansem na tym etapie analizy wyników badań licząc przy okazji na dobrą publikację po obronie pracy doktorskiej). Napisałem w tym akapicie o sytuacji która powinna być powszechną z myślą zwrócenia uwagi doktorantowi na Jego ewentualne przyszłe badania naukowe. Uwaga ta nie umniejsza wartości wyników uzyskanych przez mgr. Piotra Szpakowskiego.

Wyniki przedstawił doktorant na 25 stronach rozprawy. Stosując nowoczesne i wiarygodne metody badawcze używane w badaniach immunologicznych oraz bogatą dokumentację w oparciu o zastosowane metody statystyczne uwiarygodnione licznymi, dobrze opracowanymi rycinami autor, między innymi:

- ocenił przy pomocy cytometrii przepływowej zastosowanie LPS *E.coli* O55:B5 jako stymulatora i indykatora dojrzewania komórek dendrytycznych oraz zmian zachodzących w morfologii tych komórek pod wpływem tego czynnika. W badaniach tych oceniono ekspresję receptorów kostymulujących CD40, CD 80 i CD86 oraz adhezyny DC-SIGN (CD209), jak również cząsteczek HLA-DR. Autor stwierdził, że zmiany fenotypu komórek dendrytycznych zaindukowane użyciem LPS cyt. „*wskazują na ich właściwe dojrzewanie wymagane dla skutecznego procesu tworzenia synapsy immunologicznej z limfocytami i prezentacji antygenów, potwierdzając jednocześnie prawidłowość przyjętego modelu badawczego*”. Proszę doktoranta o wyjaśnienie podczas publicznej obrony pracy doktorskiej na czym oparł to stwierdzenie;
- zbadał ekspresję receptorów CD40, CD80, CD86 oraz cząsteczek HLA-DR i DC-SIGN w synapsie immunologicznej, związaną ze zmiennością ekspresji cząsteczek DC-SIGN i HLA-DR na komórkach dendrytycznych stymulowanych PPD, BCG lub rBCGhIL-18. Na stronie 44 w ostatnim akapicie autor stwierdza, że cyt. „*Szczegółowa analiza wartości MFI*

- (mediany intensywności fluorescencji - przypisek recenzenta) *receptora CD86 wykazała jednak silne zróżnicowanie osobnicze odpowiedzi komórek dendrytycznych na poszczególne antygeny prątków*". Czy doktorant nie uważa, że to silne zróżnicowanie osobnicze może wynikać, między innymi, ze wspomnianej przeze mnie wcześniej „historii osobniczej” różnych chorób, które przeszli lub przechodzą dawcy krwi obwodowej (z pewnością mają też na to wpływ inne uwarunkowania osobnicze, w tym genetyczne) ?;
- ◆ określił produkcję IL-10, IL-12p70 i IL-23 oraz chemokinę CXCL10 (IP-10) przez komórki dendrytyczne pochodzenia monocytarnego stymulowane LPS - stwierdził, że w wyniku tej stymulacji dochodzi do wzrostu, w porównaniu ze spontanicznym wytwarzaniem (kontrola ujemna), aktywności sekrecyjnej badanych cytokin i chemokiny przez komórki dendrytyczne;
 - ◆ wykazał, że badane komórki dendrytyczne stymulowane żywymi prątkami BCG lub rBCGhIL-18 zwiększyły znacząco statystycznie wytwarzanie IL-10 w hodowlach z limfocytami (autor powinien, dla porządku, podać jakimi limfocytami T czy B) jakkolwiek znacznie bardziej wydajna była stymulacja LPS;
 - ◆ stwierdził występowanie, jak określił, cyt. „*pozytywnej korelacji pomiędzy produkcją IFN- γ i IL-10 w hodowlach limfocytów (jakich ?) stymulowanych przez 24 godziny komórkami dendrytycznymi pulsowanymi żywymi prątkami BCG lub rBCGhIL-18*". Wydłużenie czasu hodowli do 96 godzin nasiliło w sposób istotny produkcję IFN- γ zarówno spontaniczną (kontrola), jak i stymulowaną PPD, BCG, rBCGhIL-18 lub LPS;
 - ◆ ocenił produkcję wewnątrzkomórkowego IFN- γ wytwarzanego przez limfocyty odpowiadające na antygeny mykobakterii prezentowane przez autologiczne komórki dendrytyczne stwierdzając, że jedynie komórki dendrytyczne pulsowane żywymi prątkami, szczególnie rekombinowanymi IL-18⁺ lub LPS *E. coli* powodowały istotny statystycznie wzrost odsetka limfocytów autologicznych z IFN- γ wewnątrzkomórkowym;
 - ◆ dokonał identyfikacji fenotypu limfocytów (ponownie: jakich ?) odpowiadających produkcją IFN- γ na antygeny prezentowane na autologiczne komórki dendrytyczne.

Zaprezentowane przez doktoranta wyniki uważam za wiarygodne w kontekście, jak stwierdziłem wcześniej, zastosowanych metod badawczych i dokonanej analizy statystycznej w odniesieniu do zaproponowanego modelu badawczego. Potwierdziły one jednoznacznie wiodącą rolę zjawisk molekularnych towarzyszących w synapsie immunologicznej prezentacji obcych antygenów mechanizmom efektorowym związanych z antygenowo-swoistą odpowiedzią na ten antygen/antygeny.

W części **Dyskusja** przedstawionej na 12 stronach dysertacji autor w interesujący sposób przedstawia przemyślenia wynikające z uzyskanych wyników badań w nawiązaniu do osiągnięć innych autorów. Podkreślił wagę komórek dendrytycznych jako ważnego łącznika komórkowych i molekularnych mechanizmów warunkujących niebywałą wręcz skuteczność prawidłowo

funkcjonującego układu odpornościowego w zapewnieniu ochrony organizmu człowieka, a szerzej mówiąc – ssaków. Doktorant - jako jeden z nielicznych w Polsce - odniósł się w swoich badaniach do wiodącej roli jaką w prezentacji obcego antygeny pełni synapsa immunologiczna. Gruntowniejsze poznanie unikalnej roli komórek dendrytycznych i określenie roli jaką pełnią w/w synapsy w przekazywaniu sygnałów komórkom efektorowym układu odpornościowego doprowadzić może, w co głęboko wierzą naukowcy, do nowego spojrzenia na wiele mechanizmów warunkujących skuteczną obronę przed, na przykład, zakażeniami różnymi czynnikami patogennymi, w tym bakteriami wśród których ważne miejsce zajmują prątki gruźlicy. A zatem może się spełnić marzenie o likwidacji wielu z groźnych chorób zakaźnych, w tym gruźlicy - warto w tym miejscu przypomnieć, że ludzkość odniosła/odnosi wielkie korzyści ze stosowania szczepień czego znakomitym przykładem było zwalczenie wirusa ospy ludzkiej (co WHO ogłosiła w 1980 r.) czy też znaczące ograniczenie w skali świata zachorowań na polio (w tym praktycznie likwidację tej choroby w Polsce dzięki przekazaniu do naszego kraju 9 milionów dawek szczepionki przez prof. Hilarego Koprowskiego w latach 60. XX w.). Mnogość wyników wynikających z przeprowadzonych badań została w tej części pracy poddana interesującej dyskusji dotyczącej, na przykład, roli cytokin (np. IL-18) i chemokin (na wybranym przykładzie) w zachodzącym w synapsie immunologicznej zjawiskom związanych z prezentacją antygenów prątków gruźlicy. Autor zwrócił w swoich przemyśleniach uwagę na ważną kwestię zwalczania gruźlicy w przyszłości - szczególną rolę widzi w możliwości profilaktycznego zastosowania rekombinowanych prątków rBCG_{hIL-18} jako alternatywy dla stosowanych obecnie szczepionek.

Dyskusja dotyczy wielu istotnych zagadnień naukowych. Autor, co szczególnie cenne, jest bardzo krytycznym recenzentem własnych wyników badań opisanych w pracy doktorskiej, co świadczy bardzo dobrze o Jego dojrzałości naukowej i perspektywach na przyszłość związanych z ewentualną karierą naukową. Jestem przekonany, że doktorant powinien zamieścić w dyskusji nie tylko konkluzje z badań już wykonanych, ale i zarys przyszłych badań, które, moim zdaniem, powinny być kontynuowane.

Podsumowanie i wnioski. Autor przedstawił 4. główne „wnioski/obszary badawcze”, a w każdym z nich po kilka podwniosków/podsumowań (w sumie 12 !). Takie ujęcie tematu wyniknęło, jak rozumiem, z mnogości uzyskanych wyników jako pochodnej szeroko zakrojonych i skomplikowanych badań bardzo ciekawych pod względem naukowym w obszarze nowoczesnej immunologii molekularnej związanej z prezentacją obcego antygeny w przestrzeni synaptycznej (ang. „cleft”) pomiędzy komórką docelową i niszczącymi ją komórkami efektorowymi gospodarza. I tak „**wniosek 1**” dotyczy fenotypu komórek dendrytycznych pochodzenia monocytarnego, „**wniosek 2**” wydajności badanych komórek dendrytycznych w pełnieniu funkcji prezentowania antygenów mykobakterii limfocytom (autor konsekwentnie nie podaje jakim limfocytom T czy B, czy też T i B !), „**wniosek 3**” propozycji uznania prątków

rBCG_{hIL-18} wydzielających IL-18 za prototyp zoptymalizowanej szczepionki BCG i „wniosek 4” stwierdzający, że cyt. „ *Oczyszczony preparat białek tuberkulinowych PPD stanowi zbyt słaby sygnał dla ujawnienia się pełnej funkcji komórek dendrytycznych w zakresie prezentacji antygenów i regulowania odpowiedzi cytokinowej pobudzanych limfocytów, ale jest wystarczający dla wyzwalania efektorowej reakcji nadwrażliwości późnej ocenianej w odczynie tuberkulinowym u ponad połowy osób, które w dzieciństwie otrzymywały atenuowane prątki *M. bovis* BCG*”. Wnioski te odnoszą się do zagadnień ważnych dla każdego z obywateli RP ze względu na powszechność stosowania szczepionki opartej na prątkach *M. bovis* BCG i zostaną z pewnością przedstawione oraz poddane publicznej dyskusji podczas obrony pracy doktorskiej.

Streszczenie - dopiero pod koniec pracy (dlaczego w tym miejscu ?) - w języku polskim i angielskim. W sumie dobrze odzwierciedla założenia i cele pracy oraz uzyskane wyniki, ale dane związane z wiekiem dawców krwi obwodowej wymagają wyjaśnienia, co zaznaczyłem wcześniej.

Bibliografia liczy 90 pozycji piśmiennictwa opublikowanego głównie w ostatnich latach w prestiżowych czasopismach naukowych. Piśmiennictwo to zostało dobrze wyselekcjonowane w odniesieniu do zagadnień naukowych przedstawionych w pracy doktorskiej.



Na podstawie przeprowadzonej analizy merytorycznej i formalnej pracy doktorskiej mgr. Piotra Szpakowskiego stwierdzam z całym przekonaniem, że stanowi ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego wnosząc nowe dane do naszej wiedzy o immunobiologii komórek dendrytycznych i limfocytów oraz prezentacji antygenów prątków gruźlicy *M. bovis* BCG zachodzącej na poziomie molekularnym w synapsie immunologicznej mechanizmom efektorowym zakażonego organizmu. Kandydat wykazał się samodzielnością badawczą oraz umiejętnością dyskusji opartą o dobrą znajomość piśmiennictwa z zakresu związanego z pracą doktorską.

Uważam, że oceniana praca doktorska spełnia wymogi prawa wynikające z Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

Wnoszę zatem do wysokiej Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie mgr. Piotra Szpakowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnoszę również o wyróżnienie w/w pracy stosowną nagrodą w przypadku publikacji wyników badań w wysokiej rangi czasopiśmie naukowym.


.....
Prof.dr hab. Marek Niemiałtowski

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ
KATEDRA NAUK PRZEDKLINICZNYCH
ZAKŁAD IMMUNOLOGII