

prof. dr hab. Bożena Szafrńska, prof. zw.
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Biologii i Biotechnologii
Katedra Anatomii i Fizjologii Zwierząt
10-719 Olsztyn-Kortowo
ul. Oczapowskiego 1A / 222

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Agaty Sikorskiej
pt. „Analiza molekularna genów *TP53*, *CSF1R* i *WISP1* świń będących modelem
rodzinnej polipowatości jelita grubego człowieka”

Charakterystyka ogólna

Rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, pod kierunkiem promotora Pana prof. dr hab. Marka Świtońskiego oraz ko-promotora dr hab. Krzysztofa Flisikowskiego (School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University Munich, Freising, Germany).

Podstawą rozprawy są 2 publikacje w czasopismach z listy *Journal Citation Reports (JCR)*, o znaczącej łącznej wartości wskaźników biblio-metrycznych (IF2018–20=4,656; 5-letni IF2019–20=5,011; MNiSW2019–20=170 pkt.):

- 1) Sikorska A, Flisikowska T, Stachowiak M, Kind A, Schnieke A, Flisikowski K, Switonski M. (2018) Elevated expression of p53 in early colon polyps in a pig model of human familial adenomatous polyposis. *J Appl Genet.* 59(4): 485–491 (IF5L 1.954/100 pkt.).
- 2) Sikorska A, Stachowiak M, Flisikowska T, Stachecka J, Flisikowski K, Switonski M. (2020) Polymorphisms of CSF1R and WISP1 genes are associated with severity of familial adenomatous polyposis in APC¹³¹¹ pigs. *Gene* 759: 144988. doi: 10.1016/j.gene.2020 (IF5L 2.702/70 pkt.).

Doktorantka jest pierwszym autorem w ww. publikacjach, z powodu znaczącego udziału, wynikającego z oświadczeń współautorów. Udział Doktorantki obejmował m.in.: izolacje gDNA i RNA z części prób, zaprojektowanie starterów, optymalizacje warunków PCR, sekwencjonowanie amplikonów wybranych genów, przygotowanie i przeprowadzenie odwrotnej transkrypcji i PCR w czasie rzeczywistym prób kontrolnych, testu SEAP (ang. *secreted embryonic alkaline phosphatase* – sekrecyjnej zarodkowej fosfatazy alkalicznej), analiz bioinformatycznych, identyfikację polimorfizmów (SNPs – ang. *single nucleotide polymorphism*) wybranych genów, interpretacji wyników oraz udział w przygotowaniu manuskryptów i odpowiedziach na recenzje. Badania Doktorantki finansowano z funduszy NCN (HARMONIA 2013/10/M/NZ2/00284) – którego kierownikiem był promotor.

Tematyka publikacji obejmuje nurt badań prowadzonych przez zespół kierowany przez Pana Prof. dr hab. Marka Świtońskiego, który jest niekwestionowanym autorytetem w skali międzynarodowej w zakresie genomiki zwierząt domowych i towarzyszących, wśród których świnia stała się gatunkiem modelowym – do badania rodzinnej polipowatości gruczolakowatej (ang. *familial adenomatous polyposis* – FAP) jelita grubego człowieka. FAB jest dziedzicznym zespołem predyspozycji do powstawania polipów okrężnicy, prowadzących do nowotworu jelita grubego (ang. *colorectal cancer* – CRC).

O zasadności podjętych badań świadczy fakt, że FAP występuje z częstością ok. 1/10 000 w Polsce, a w Unii Europejskiej nawet 1/11 300–37 600 żywo urodzonych, niezależnie od płci. Polipy występują już w 15 roku życia – u 50%, a w wieku 35 lat – u 95% pacjentów.

Przyczyną FAP (opisaną w 1991 r.) są mutacje germinalne w genie supresorowym APC (ang. *adenomatous polyposis coli*). Dotychczas zidentyfikowano >1000 mutacji, najliczniejszą grupę stanowią małe delecje (>350), SNPs (transwersje / tranzycje, insercje / delecje – indels), ponadto mutacje „*splicingowe*” oraz mutacje w regionach regulatorowych. Progresywne akumulacje mutacji w różnych genach powodują zmianę polipowatości w transformacje nowotworowe.

Na uwagę zasługuje możliwość zastosowania atrakcyjnych materiałów badawczych, pochodzących od potomstwa genetycznie zmodyfikowanych świń z mutacją terminującą translację w kodonie 1311 genu APC (*APC^{1311/+}*), ortologiczną do dominującej mutacji u człowieka (*APC¹³⁰⁹*). Świnie *APC^{1311/+}* stanowiły pionierski model gatunku zwierząt gospodarskich, bardziej użyteczny niż gryzonie, do badania nasilenia polipowatości u ludzi (Flisikowska i wsp. 2012).

W kolejnych pokoleniach świń *APC^{1311/+}* wyselekcjonowano dwie linie o zróżnicowanym stopniu nasilenia polipowatości (Flisikowska i wsp. 2017), w zależności od udziału genów rasy pietrain, sklasyfikowanych jako zwierząt o: niskiej (ang. *low polyps* – LP, z większym udziałem genów rasy pietrain) lub wysokiej polipowatości (ang. *high polyps* – HP, z mniejszym udziałem genów rasy pietrain). Uzyskanie linii LP i HP umożliwiło poszukiwanie związku między zmiennością polipowatości u świń *APC^{1311/+}* z polimorfizmem i ekspresją wytypowanych trzech genów kandydujących (*TP53*, *CSF1R* i *WISP1*) – co było ambitnym celem badań Doktorantki i współpracowników.

Z uznaniem mogę stwierdzić, że problematyka podjęta w dysertacji mgr. Agaty Sikorskiej jest niezwykle aktualna, ponieważ dotyczy nowatorskiego poszukiwania markerów – jako potencjalnych wskaźników do genotypowania i efektywnej diagnostyki biopatów polipów u pacjentów z FAP / CRC.

Ocena merytoryczna

Przedstawiona do oceny dysertacja doktorska jest obszernym opracowaniem (68 stron), zawierającym dodatkową dokumentację (w suplemencie: 9 tabel i 1 rycina). Typowy układ dysertacji obejmuje rozdziały: streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp/wprowadzenie, hipotezę, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski i piśmiennictwo (115), głównie z ostatnich lat. Dokumentacja zawiera również oświadczenia współautorów i kopie ww. publikacji – stanowiących osiągnięcie naukowe.

Publikacja 1 – Sikorska A i wsp. (2018)

Celem badań była identyfikacja germinalnych wariantów DNA oraz porównanie ekspresji mRNA *TP53* (ang. *tumor protein 53*) u świń *APC^{1311/+}* z linii LP i HP.

Gen *TP53* wytypowano z powodu kluczowej funkcji kodowanego białka w kontroli proliferacji komórek nowotworowych. Badano związek polimorfizmów i ekspresji *TP53* z poziomem polipowatości i progresji polipów we wczesnym stadium FAP u świń *APC^{1311/+}*. Łącznie, zidentyfikowano 19 SNPs, w tym: 7 w sekwencji promotorowej 10 w kodującej (ORF 1161 bp) i dwa w 3'UTR (548 bp).

De novo zidentyfikowano dwa polimorfizmy: ss3035653873 w promotorze – w rejonie potencjalnego wiązania czynnika transkrypcyjnego Ets2; oraz ss3035653869 w eksonie 8 – powodujący substytucje (Pro271Leu) aminokwasową (aa). W sekwencji ORF, stwierdzono ponadto trzy polimorfizmy zmiany sensu,

powodujące substytucje aa: rs333840391 / p.Glu2Asp, rs345539529 / p.Ser4Ala oraz ss3035653869 / p.Pro271Leu.

Ponadto, *in silico* wykazano, że trzy SNPs, w tym dwa w sekwencji promotorowej, w rejonie potencjalnego wiązania czynników transkrypcyjnych Ets2 i p53 – zidentyfikowane poprzednio (Wang i El-Deiry 2006); oraz jeden nowy (ss303565873).

U świń *APC^{1311/+}* linii LP i HP, stwierdzono 10 polimorfizmów, w tym: jeden SNP w sekwencji promotorowej (rs343616038) i 9 w ORF (rs333840391 / p.Glu2Asp, rs345539529 / p.Ser4Ala, rs81211694, rs345021946, rs324980623, rs334394956, rs81211695, rs318253531, rs81211696), zidentyfikowane poprzednio przez innych autorów. Nie stwierdzono istotnych różnic rozkładu genotypów u świń linii LP i HP.

Analizowano również względny poziom transkryptu *p53* (wg. Tab. 1: qPCR ampikonów 269 bp wobec 117 bp *RPS23* – ang. *ribosomal protein S23*) w tkankach pozyskanych od grup tj.: świń kontrolnych – z prawidłową błoną śluzową jelita grubego; u ras: pbz (n=5) oraz wbp, Pi i Hamp (n=7 / grupę) oraz polipów świń *APC^{1311/+}* (linie LP i HP; n=20 / grupę), a także świń *APC^{1311/+}* z polipami sklasyfikowanymi histologicznie z niskim (LG-IEN – ang. *low-grade intraepithelial dysplasia*) lub wysokim stopniu dysplazji śródbłonna (HG-IEN – ang. *high-grade intraepithelial dysplasia*; n=20 / grupę).

Stwierdzono istotnie zwiększony poziom mRNA *p53* w tkankach polipów grupy HG-IEN (1,79-krotnie, $p=0,012$), niż grupy LG-IEN, jednakże Podobną tendencję obserwowano między poziomem transkryptu w nabłonku jelita grubego świń LP i HP, jednak nieistotną statystycznie.

Podsumowując publikację uważam, że chociaż nie wykazano związku zidentyfikowanych polimorfizmów genu *TP53* z polipowatością u świń linii LP i HP, jednakże stwierdzono zaangażowanie mRNA *p53* podczas wczesnego stadium przednowotworowego rozwoju polipów jelita grubego. Zatem, linie świń *APC^{1311/+}* (LP i HP oraz LG-IEN i HG-IEN) dostarczają modelu użytecznego do przedklinicznych badań porównawczych biopłatów w różnym etapie zaawansowania rozwoju polipów ludzkich w stadium poprzedzającym transformację nowotworową CRC.

Publikacja 2 – Sikorska i wsp. (2020)

Kolejne dwa badane geny (*CSF1R* – ang. *colony stimulating factor 1 receptor*; oraz *WISP1* – ang. *WNT1 inducible signaling pathway protein*) wytypowano na podstawie wyników analiz RNA-seq. Wśród >300 analizowanych genów; o zróżnicowanej ekspresji w tkankach polipów świń, zmniejszoną ekspresję stwierdzono dla 192 genów w grupie HG-IEN niż LG-IEN (Flisikowska i in. 2017). Tkanki polipów tych grup stały się użytecznym źródłem materiałów do kontynuacji badań ekspresji wybranych genów.

Celem badań Doktorantki i wsp. była identyfikacja polimorficznych wariantów genów *CSF1R* i *WISP1* wraz z regionami regulatorowymi, wpływu na zróżnicowanie stopnia polipowatości w liniach LP i HP świń *APC^{1311/+}* oraz dystrybucji zidentyfikowanych wariantów u świń kontrolnych różnych ras.

Do badania polimorfizmu sekwencji 5'-, 3'-UTR i ORF zastosowano cDNA świń *APC^{1311/+}* z linii LP (n=8) i HP (n=13) oraz świń kontrolnych z ras tj.: wbp i pbz (n=6/grupę), Hamp (n=8) oraz Pi i linii syntetycznej 990 (n=10/grupę).

Z kolei, do badania polimorfizmu regionów promotorowych obydwu genów oraz 5'UTR genu *WISP1* (bogaty w GC – trudny do amplifikacji) zastosowano gDNA świń:

linii LP (n=14) i HP (n=11); ras tj.: wbp (n=31), pbz (n=28), Hamp (n=9), Pi (n=28), Duroc (n=23); oraz syntetycznej linii 990 (n=12).

In silico zidentyfikowano 32 SNP w genie *CSF1R*, w tym 9 w promotorze, 20 w ORF oraz 3 w 3'UTR. *De novo* zidentyfikowano 8, w tym 6 w ORF (ss5669714756, ss5669714757, ss5669714758, ss3035653830, ss3035653827, ss3035653823); oraz 2 w 3'UTR (ss3035653818, ss3035653817). W regionie 5'flankującym stwierdzono 6 SNP, głównie w miejscach potencjalnego wiązania czynników transkrypcyjnych JUN (ang. *Jun proto-oncogen*), CREB (ang. *cAMP responsive element binding protein 1*), LRRFIP1 (ang. *LRR binding FLH interacting protein 1*), E2F, GC-Box i SP1 (ang. *specificity protein 1*).

Stwierdzono cztery SNPs (rs690451459, rs706367515, rs701094809, rs790281618) w regionie promotorowym *CSF1R*, podlegające ko-segregacji w formie haplotypów, z których dwa (GGTG i AAAA) były istotnie ($p=0,028$) związane z polipowością świń linii LP i HP *APC*^{1311/+}.

Aktywność promotora *CSF1R* analizowano (testem SEAP) z użyciem transfekowanych ludzkich komórek gruczolaka jelita grubego (SW480) i trzech wariantów konstruktów sekwencji tj.: promotora (pcDNA3.1_SEAP_CSF1R), referencyjnej (pcDNA3.1_CSF1R_ref; NC_010444.4) i kontrolnej – wektor bez insertu (pcDNA3.1_CSF1R_empty). Warianty promotora obejmowały dwa haplotypy (H1_AAAA, pcDNA3.1_CSF1R_v.1 i H2_(GGTG, pcDNA3.1_CSF1R_ref) i dwie sekwencje referencyjne z fragmentami o różnej długości: pcDNA3.1_CSF1R_v.2 – zawierający 181 pz następujących po miejscu startu transkrypcji – TSS (ang. *transcription start site*); oraz pcDNA3.1_CSF1R_v.3 – zawierający 416 pz poprzedzających TSS (wg. STab. 2). Stwierdzono istotnie zwiększoną ($p=0,037$) aktywność promotora wyłącznie konstruktowi pcDNA3.1_CSF1R_v.2, w porównaniu do konstruktowi pcDNA3.1_CSF1R_ref.

W sekwencji genu *WISP1* zidentyfikowano 36 polimorfizmów: 34 SNPs (7 w promotorze, 11 w ORF, jeden SNP w 5'UTR i 17 (w tym jeden indel) w 3'UTR).

Wśród czterech synonimicznych SNPs: dwa nowe (ss5594356114 T>C, ss5594356113 G>A); oraz dwa poprzednio poznane (rs321314687 G>A, rs336134577 G>A) w ORF *WISP1*. Wśród SNPs specyficznych dla linii HP, segregujących jako trzy haplotypy (CAAA, TGGG i CAGA), stwierdzono istotne zróżnicowanie częstości występowania pierwszych ww. dwóch między liniami LP i HP. Wśród pięciu SNPs, dwóch synonimicznych (rs344687033, rs323138319) w ORF; i trzech w 3'UTR (rs341120213, rs333107415, rs334222777), segregujących w postaci pięciu haplotypów (TCATA, CGTGG, TCTGG, CCTGG, CGATA), istotnie różnice częstości występowania w liniach HP i LP stwierdzono wyłącznie jednego (TCTGG).

In silico wykazano zwiększoną minimalną energię swobodną (MFE – ang. *minimum free energy*) dla trzech SNPs występujących w ORF i 3'UTR *WISP1* (rs321314687 G>A, rs323138319 G>C, rs334222777 A>G), w porównaniu do sekwencji referencyjnej, co sugeruje redukcje stabilności struktury i konformacji mRNA.

Podsumowując publikację uważam, że stwierdzony polimorfizm genów *CSF1R* i *WISP1* można uznać za obiecujące markery do genotypowania predyspozycji i zaawansowania rozwoju polipów jelita grubego u świń *APC*^{1311/+}, a linie LP i HP są wartościowym i użytecznym modelem do badań biomedycznych – bioptatów i wyjaśnienia etiopatogenezy transformacji polipów w stadia nowotworowe.

Ponieważ wyniki uzyskane w ramach pracy doktorskiej przeszły już pozytywną ocenę recenzencką uznanych redakcji naukowych, to rola recenzenta była znacznie ułatwiona, jednakże lektura publikacji skłania do zadania kilku pytań o charakterze dyskusyjnym, natomiast uwagi dotyczące nieprecyzyjnego i niefortunnego nazewnictwa przedstawię po ocenie opracowania polskojęzycznego:

- 1) Kolejnym genem ludzkim związanym z polipowatością (zidentyfikowanym w 2002 r.) jest mutY homolog (*MUTYH*), którego mutacje (>80 patogennych) prowadzą do MAP (ang. *MUTYH-associated polyposis*). Szczególnie interesujące są dwie mutacje powodujące substytucje aa (c.536A>G / p.Y179C oraz c.1187G>A / p.G396D), zidentyfikowane w 70–80% przypadków pacjentów o pochodzeniu europejskim. Ponieważ geny *MUTYH* sklonowano również u różnych gatunków zwierząt gospodarskich, czy były jakieś plany analizy również mutacji *MUTYH* u świń ?
- 2) Ponieważ nie znalazłam informacji metodycznej, czy amplikony były sekwencjonowane jedno- czy dwu-kierunkowo, tzn. nici sensownej i antysensownej ?

Lektura omówienia polskojęzycznego skłania również do kilku uwag i sugestii.

W obszernym *Wstępie* (17 stron), Doktorantka zwięźle, ale wyczerpująco opisuje osiem zagadnień, tj.: 1) świnię jako model w badaniach biomedycznych; 2) podłoże molekularne rodzinnej polipowatości jelita grubego człowieka; 3) budowę i ekspresję genu *APC*; 4) funkcje i działanie białka *APC* w szlaku Wnt/ β -katenina; 5) modyfikacje genetyczne myszy do uzyskania modelu polipowatości jelita grubego i nowotworu jelita grubego człowieka; 6) tło genetyczne wpływające na zmienność fenotypową *FAP*; 7) modyfikację genetyczną świń w *locus APC* (*APC¹³¹¹*) – model polipowatości jelita grubego człowieka; oraz 8) charakterystykę wybranych genów kandydujących (*TP53*, *CSF1R*, *WISP1*) związanych ze zmiennością polipowatości jelita grubego świń *APC^{1311/+}*.

Uważam, że tekst *Wstępu* generalnie dobrze wprowadza czytelnika w problematykę badań prowadzonych przez Doktorantkę z zachowaniem proporcji typowych w pracach doktorskich. Można przypuszczać, że opracowanie polskojęzyczne stanowi dobry materiał do napisania pracy przeglądowej, jednakże dopiero po koniecznym uwzględnieniu sugestii – przedstawionych po zakończeniu oceny opracowania.

W rozdziale *Materiał i metody* (5 stron), Doktorantka zwięźle opisała ...„próby”... (choć nie podając czy to cDNA czy gDNA) pochodzące z linii świń *APC^{1311/+}* i różnych ras, odsyłając czytelnika do „dokładnej” liczebności w publikacjach.

W rozdziale *Wyniki* (6 stron), Doktorantka opisała zwięźle zakres badań opublikowanych w dwóch publikacjach oraz udział własny. Uważam, że imponująca liczba wykonanych analiz (każdego genu docelowego w każdej grupie eksperymentalnej wobec grupy kontrolnej), a także specyficzność zastosowanych metod, jak również duży stopień trudności badań kompleksowych (szczególnie walidacyjnych) wskazuje na szeroki zakres umiejętności Doktorantki.

W zwięzłej *Dyskusji* (4 strony), Doktorantka omówiła uzyskane wyniki w nawiązaniu do dotychczasowego stanu wiedzy dotyczącej badanych genów (*TP53*, *CSF1R* i *WISP1*).

W rozdziale *Wnioski* przedstawiono sześć sformułowań, które mają charakter syntetycznych podsumowań uzyskanych wyników i nawiązują do przyjętych celów badań kompleksowych.

Uważam, należy jednoznacznie stwierdzić, że uzyskane wyniki badań kompleksowych dostarczają nowych i cennych informacji oraz rozszerzają dotychczasową wiedzę dotyczącą poszukiwania nowych markerów do wiarygodnych testów diagnozowania predyspozycji do CRC.

Ponadto uważam, że różnorodność wykonanych analiz (każdego genu docelowego w każdej grupie eksperymentalnej wobec grupy kontrolnej różnych ras), a także specyficzność i stopień trudności zastosowanych metod badawczych (szczególnie walidacyjnych), umiejętność wnikliwej analizy wyników wskazuje na szeroki zakres umiejętności Doktorantki.

Znaczącym sukcesem są niektóre wyniki, ponieważ po raz pierwszy zidentyfikowano mutacje genu *TP53*, powodującą substytucję pPro271Leu, wykrytej u świni z linii syntetycznej 990; których potomstwo może stanowić w przyszłości atrakcyjny model do badań biomedycznych etiopatogenezy CRC.

UWAGI dotyczące struktury tekstu oraz nieprecyzyjnego i niefortunnego nazewnictwa stosowanego przez Doktorantkę, sugeruje zatem np.:

- a) wprowadzenie rycin i schematów poglądowych, które przypuszczam, że zostaną umieszczone w prezentacji podczas obrony dysertacji;
- b) podanie cytacji w paragrafie 1–3 Wprowadzenia (str. 11);
- c) unikanie wielokrotnego powtarzania pełnych nazw chorób i genów, po wcześniejszym wprowadzeniu skrótów;
- d) unikanie kontrowersyjnego nazewnictwa, np.„Mutacje substytucji”... (str. 15);
- e) unikanie stosowania niefortunnego nazewnictwa np.„Komórki te migrują w górę w uporządkowany sposób, Prolifercja zostaje zatrzymana po osiągnięciu przez nie górnej części krypty”... (np. str. 16–17);
- f) poprawienie długości transkryptów w „nt”, zamiast„pz”... (np. APC na str. 16);
- g) używanie nazwy amplicony, zamiast„produkty PCR...”,„Produkt reakcji sekwencjonowania... Oczyszczanie produktów sekwencjonowania”... (np. str. 30 i 32);
- h) korektę niefortunnego nazewnictwa „substytucji” (np. str. 34, 38 itd.) na tranzycje (A<->G lub C <->T) i transwersje (A<->C, A<->T, G<->C, G<->T), ponieważ substytucje dotyczą aminokwasów;
- i) SNP – to polimorfizm pojedynczych nukleotydów, a nie są to„substytucje pojedynczego nukleotydu”... (str. 38);
- j) unikanie powtórzeń / określeń typu:„reakcji PCR”... (np. str. 36 itd.) – co oznacza reakcja reakcji; lub„polimorfizmów SNP”... (np. str. 44 W5) – co oznacza polimorfizm polimorfizmu;
- k) TSS – to miejsce startu transkrypcji, a nie„translacji”... (str. 38 L5);
- l) unikanie nieprecyzyjnego nazewnictwa„180 pz powyżej ...poniżej TSS”... (np. str. 38), lepiej stosować określenie – 180 pz poprzedzających TSS;
- m) unikanie nieprawidłowych określeń np.„Mutacje te (p.Pro271Leu) wykryto”... (np. str. 40), ponieważ to substytucja aa;
- n) w wykazie Piśmiennictwa zabrakło publikacji Sikorska i wsp. 2020.

Uważam, że Doktorantka wykazała się bardzo dobrym opanowaniem wnikliwej analizy rozpatrywanych problemów, jak również znajomością piśmiennictwa z zakresu tematyki prowadzonych badań. Niezaprzeczalnym atutem ocenianej pracy jest strona metodyczna, co niewątpliwie świadczy o świetnie opanowanym przez Doktorantkę

warsztacie badawczym. Mogę stwierdzić, że Doktorantka posiada niezwykle ważne cechy, tj.: wyjątkowa pracowitość i dociekliwość, natomiast wskazane niedostatki, przytoczone z obowiązku recenzenckiego, nie zmieniają pozytywnej oceny dysertacji, jednakże powinny być uwzględnione podczas przygotowywania kolejnych publikacji.

WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawiona do oceny praca doktorska, zatytułowana „Analiza molekularna genów *TP53*, *CSF1R* i *WISP1* świń będących modelem rodzinnej polipowatości jelita grubego człowieka” przedstawia bardzo cenne wyniki badań ze względu na kompleksowe podejście do rozpatrywanego problemu, które zrealizowano nowoczesnymi metodami molekularnymi.

Uważam, że praca doktorska mgr. Agaty Sikorskiej jest bardzo wartościowym osiągnięciem naukowym, które spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim – określone w Ustawie o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz Stopniach i Tytule i w Zakresie Sztuki z 14 marca 2003 r. (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm., Art. 13).

W związku z powyższym, zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Naukowej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauki o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu – z wnioskiem o dopuszczenie mgr. Agaty Sikorskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy. W uzasadnieniu merytorycznym muszę podkreślić:

- ✓ znaczne walory poznawcze;
- ✓ kompleksowe podejście do podjętego problemu badawczego;
- ✓ szeroki zakres zastosowanych metod;
- ✓ opublikowanie wyników badań w uznanych czasopismach naukowych.

Bożena Szafrńska

prof. dr hab. Bożena Szafrńska

