

dr hab., prof. UG
Sylwia Rodziewicz-Motowidło
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański

Gdańsk, 5.10.2015 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Adama Ząbka

pt. „*Charakterystyka metaboliczna wybranych grzybów chorobotwórczych z pomocą narzędzi metabolomicznych*” wykonanej w Zakładzie Chemii Bioorganicznej na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej

(promotor: dr hab. Piotr Młynarz, prof. PWr)

Tematyka dysertacji opiera się na zastosowaniu w niej wybranego elementu tzw. biologii systemowej a mianowicie metabolomiki, jako doskonałego narzędzia badawczego do śledzenia szlaków metabolicznych u grzybów chorobotwórczych. Metabolomika wraz z proteomiką, transkryptomiką i genomiką zajmują się badaniem złożonych oddziaływań jakie zachodzą w systemach biologicznych. Wyniki badań pochodzące z tych dziedzin nauki (tzw. „-omiki”) będą dawały w przyszłości pełen obraz funkcjonowania organizmów żywych. Metabolomika zajmuje się badaniem i analizą metabolitów (pierwotnych i wtórnych) w komórkach i w tkankach żywych organizmów do których należą niskocząsteczkowe związki, pochodne aminokwasów, lipidów, węglowodanów, nukleotydów czy hormonów. Dziedzinę tą określa się czasami jako systematyczne badanie specyficznych markerów chemicznych, które powstają podczas różnych reakcji zachodzących w żywej komórce. Zastosowanie metabolomiki w odniesieniu do ludzi daje możliwości znalezienia biomarkerów stanów chorobowych lub też monitorowania metabolizmu leków lub produktów naturalnych pobieranych z dietą. Badania prowadzone przez mgr inż. Adama Ząbka dotyczą zagadnień badania składu metabolitów u chorobotwórczych dla człowieka grzybów. Poznanie profili metabolicznych chorobotwórczych grzybów jest niezbędne dla poznania ich przebiegu procesów życiowych. Okazuje się bowiem, że pomimo dotychczas przeprowadzonych wielu badań, procesy życiowe grzybów, zdolnych do zakażenia tkanek ustrojów wyższych, nie są dobrze poznane. Przekłada się to na niewielką ilość skutecznych leków przeciwgrzybiczych a tym samym na duże trudności w leczeniu grzybic u ludzi, szczególnie ustrojowych. Dodatkowo, w ostatnich latach obserwuje się wzrost zachorowań na grzybice wśród ludzi w związku z powstawaniem szczepów oportunistycznych. Dlatego podjęta przez Doktoranta tematyka pracy doktorskiej jest bardzo aktualna zarówno w aspekcie problematyki badawczej (badanie przyczyny oporności oraz poszukiwanie nowych substancji przeciwgrzybiczych) a także w aspekcie wyboru nowoczesnego narzędzia badawczego (metabolomika) jak i w aspekcie wyboru obiektu badawczego (chorobotwórcze grzyby). Rozprawa doktorska została wykonana w grupie dr hab. Piotra Młynarza, prof. PWr na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Dr hab. Piotr Młynarz od wielu lat prowadzi badania nad określaniem profili metabolicznych w kontekście zastosowań ich w diagnostyce medycznej.

Rozprawa obejmuje 145 stron maszynopisu i podzielona jest na 8 rozdziałów. Rozdziały te poprzedza streszczenie pracy, cele pracy oraz przewodnik po układzie pracy. Na końcu znajduje się lista publikacji Doktoranta

oraz spis piśmiennictwa, który obejmuje 262 pozycje (20 stron). W pracy umieszczono 10 tabel i 38 rysunków. Praca ma układ nietypowy, który wynika najprawdopodobniej z czterech różnych podjętych przez Doktoranta problemów badawczych z wykorzystaniem tych samych narzędzi badawczych i w zakresie tych samych obiektów badawczych. Nietypowy układ pracy polega na fakcie, iż po wprowadzeniu i po opisie wykorzystanych materiałów i metod badawczych znajdują się cztery osobne rozdziały ze szczegółowym uzasadnieniem problemu i celu badawczego (podrozdział zatytułowany „Wstęp”) oraz z omówieniem uzyskanych wyników badawczych dotyczących postawionego problemu. Praca w całości jest spójna a nietypowy układ pracy jest przemyślany przez Autora. Po przeczytaniu otrzymanej do recenzji pracy, w związku z jej nietypowym układem, nasza mnie refleksja. Refleksja ta dotyczy **przyzwyczajenia** do powszechnego i ogólnie przyjętego układu pracy dyplomowej czy doktorskiej tj. wstęp teoretyczny, cel pracy, wyniki i wnioski. Z jednej strony przyzwyczajenie, pewne nawyki i rutyna dają poczucie bezpieczeństwa i stabilności bez których trudno jest funkcjonować. Z drugiej jednak strony rutyna (również związek organiczny z grupy flawonoidów) wycisza kreatywność u człowieka tak potrzebną naukowcom. To dzięki osobom, które czuły się zagubione w rutynie, zaczynało im czegoś brakować, pragnąc wrażeń i szaleństwa, zrobili coś niepowtarzalnego, odkrywali nowe kontynenty czy nowe pierwiastki. Warto więc wypaść czasami z rutyny dla dobra nauki o czym przypomniał mi nietypowy układ pracy Pana Adama Ząbka.

Doktorant, na początku swojej pracy przedstawił główne cele badawcze, do których należało:

- (1) Zbadanie istotnych różnic metabolicznych wśród lekoopornych i lekowrażliwych szczepów *Candida*,
- (2) Określenie profili metabolicznych wśród trzech gatunków chorobotwórczych grzybów strzępkowych i wyznaczenie zależności pomiędzy prezentowanym składem metabolitów a patogennością grzybów,
- (3) Zbadanie metabolicznych podstaw tworzenia biofilmu przez grzyby z gatunku *Aspergillus fumigatus* oraz wpływ kwasu arachidonowego na wzrost i metabolizm biofilmu,
- (4) Analiza metabolomiczna przeciwgrzybiczej aktywności olejku grejpfrutowego na grzyby z gatunku *Aspergillus fumigatus*.

Następnie w obszernym opracowaniu Doktorant przedstawił wprowadzenie teoretyczne, w którym syntetycznie ujął najważniejsze informacje i definicje na temat pochodzenia taksonomicznego grzybów oraz ich negatywnego wpływu na życie człowieka (tylko tych patogennych). Rozdział ten zawiera również ciekawe informacje na temat metabolomiki w aspekcie innych nauk „-omicznych”. Na uwagę zasługuje w mojej opinii fragment dotyczący przetwarzania danych NMR, który posiada znamiona instrukcji postępowania. Jest to niezwykle cenny fragment pracy, gdyż po pierwsze pokazuje „alkową techniczną” przetwarzania danych NMR stosowaną przez Autora. Po drugie lektura tego fragmentu pokazuje jak bardzo, na końcowy wynik badania wpłynąć może wiele czynności pośrednich (np. korekcja fazy, linii bazowej czy sygnałów rezonansowych widm NMR). Doktorant nieco szerzej omówił we wstępie stosowane aparaty matematyczne a mianowicie analizę chemometryczną i statystyczną, w tym analizę składowych głównych PCA oraz analizę dyskryminacyjną. Na zakończenie tej części pracy mgr inż. Ząbek krótko opisał w jaki sposób dokonuje się analizy szlaków biochemicznych. Ta część pracy wzbogacona została kolorowymi schematami co w znaczny sposób ułatwiło lekturę.

Po wstępie teoretycznym Doktorant w sposób zwięzły scharakteryzował wykorzystywane przez siebie techniki eksperymentalne. Na podstawie tego opisu można z całą pewnością stwierdzić, iż zdobył On warsztat badawczy w zakresie: hodowli różnych szczepów grzybów w tym hodowli planktonicznej i hodowli biofilmu; izolacji metabolitów z wyhodowanych wcześniej grzybów; rejestracji widm ^1H NMR; przetwarzania i statystycznej analizy danych. W rozdziale tym znajduje się również opis przygotowania materiału do pomiarów skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM). Z opisu jednak nie można wywnioskować czy pomiary te zostały wykonane samodzielnie przez

Doktoranta czy przez inną osobę. Rozdział ten (podobnie jak i następne rozdziały) napisany został w formie bezosobowej (np. przygotowano, prowadzono), co sprawia wrażenie że doświadczenia zaplanowane i przeprowadzone przeciw przez Doktoranta nie były wykonane samodzielnie. Moim zdaniem w tej części jak i w następnych rozdziałach pracy Doktorant powinien stosować formę osobową w odniesieniu do czynności wykonanych przez siebie.

W rozdziale „Charakterystyka metabolomiczna lekoopornych i lekowrażliwych szczepów z rodzaju *Candida*” Autor w sposób syntetyczny opisał najważniejsze wyniki z przeprowadzonych badań osobno dla lekoopornych oraz lekowrażliwych szczepów *Candida albicans* i *Candida glabrata*. Stosowanym lekiem przeciwgrzybiczym podczas badań był fukoza. Wyniki badań metabolomicznych zostały przez Doktoranta opisane bardzo dokładnie i zrozumiale. Doktorant pokazał w swojej pracy, iż lekooporne szczepy *Candida* charakteryzują się podwyższonym stężeniem octanu, mrówczanu oraz winianu podczas gdy obniżone stężenia względem lekowrażliwych szczepów wykazały histydyna, glicyna, trehaloza, *myo*-inozytol, bursztynian, pirogronian, glutaminian, 4-aminomaślan, alanina oraz mleczan. Wyniki te wskazują na fakt, iż zmiany poszczególnych metabolitów u lekoopornych szczepów *Candida* mogą być związane m.in. z aktywacją szlaków biochemicznych odpowiedzialnych za uzupełnianie energetyczne przy wykorzystaniu źródeł węgla innych niż glukoza. Autor pokazał również, iż lekooporne szczepy *Candida* szybciej przystosowują się do trudnych warunków ograniczonej dostępności tlenu niż szczepy lekowrażliwe. Doktorant przeprowadził kompleksową dyskusję wyników w świetle najnowszej literatury fachowej. Ta część pracy zawiera wiele tabel i rysunków ułatwiających analizę uzyskanych przez Doktoranta wyników.

W kolejnej części pracy zatytułowanej „Charakterystyka metabolomiczna wybranych patogennych gatunków grzybów strzępkowych” mgr inż. Ząbek wyznaczył profile metaboliczne trzech gatunków grzybów (tj. *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxysporum* i *Geotrichum candidum*). Oznaczone profile metaboliczne posłużyły Doktorantowi do wyznaczenia podobieństw i różnic taksonomicznych pomiędzy badanymi grzybami, należącymi do trzech ww. różnych gatunków. W swojej pracy Doktorant pokazał, iż metabolomika jest doskonałym narzędziem taksonomicznym do znajdowania niewielkich różnic pomiędzy ewolucyjnie spokrewnionymi organizmami. Dodatkowo Autor podjął próbę oceny, na podstawie profilu metabolicznego, który z przebadanych grzybów jest najbardziej patogenny. Zauważył, iż najbardziej chorobotwórczym grzybem jest gatunek *Aspergillus fumigatus*, który w przeciwieństwie do pozostałych, badanych gatunków, swój metabolizm ukierunkowuje na ochronę ściany i błony komórkowej oraz na gromadzenie substancji zapasowych.

Trzeci podrozdział pracy doktorskiej mgr inż. Ząbka, zatytułowany „Mechanizm *Quorum sensing* na przykładzie kwasu arachidonowego u *Aspergillus fumigatus*”, dotyczy problemu formowania biofilmu przez grzyby oraz wpływu kwasu arachidonowego na wzrost i metabolizm biofilmu. W tej części pracy Doktorant zbadał profil metaboliczny (według metodologii „odcisk ręki” i „odcisk stopy”) grzyba z gatunku *Aspergillus fumigatus* w trakcie wzrostu jego biofilmu. Zbadał również wpływ kwasu arachidonowego, cząsteczki zaliczanej do substancji sygnałowej *Quorum sensing*, na profil metaboliczny grzybów z gatunku *Aspergillus fumigatus*. Uzyskane przez Doktoranta wyniki pokazują, iż wzrost biofilmu jest procesem dynamicznym który w zależności od „wieku” biofilmu różni się metabolizmem błon i ścian komórkowych grzybów. Doktorant pokazał, iż w trakcie tworzenia biofilmu podstawowe mechanizmy szlaków biochemicznych są wyciszane. Dodatkowo Autor udowodnił, iż obecność kwasu arachidonowego w pożywce znacząco wpływa na stymulowanie wzrostu biofilmu u *Aspergillus fumigatus* ale dopiero po upływie 48 godzin hodowli. Podobnie obecność kwasu arachidonowego w hodowli planktonicznej również wzmacnia aktywność metabolomiczną komórek grzybów w porównaniu do komórek nie stymulowanych. Z uzyskanych wyników jasno wynika, że obecność kwasu arachidonowego w miejscach infekcji grzybiczych powodować może wzmożone tworzenie lekoopornych biofilmów. Okazuje się bowiem, że spośród wielu czynników

zjadliwości kontrolowanych przez *Quorum sensing*, uwagę badaczy przykuwa tworzenie biofilmu. Biofilm to skupisko komórek grzybiczych przylegających do siebie lub osiadłych na podłożu, osadzonych w macierzy zbudowanej z polimerycznych substancji zewnątrzkomórkowych (EPS). Biofilm może być utworzony z grzybów należących do różnych gatunków. Mikroorganizmy, które go budują, wykazują duże różnice w porównaniu do pojedynczych osobników tego samego gatunku. Wyróżniają się one np. zwiększoną tolerancją na terapie antymikrobiotyczne oraz wywołują wzmożoną odpowiedź immunologiczną, co może być przyczyną chronicznych infekcji. Dlatego poznanie profilu metabolicznego oraz wpływu substancji sygnałowych na zjawiska *Quorum sensing* w odniesieniu do tworzenia biofilmu u grzybów wydaje się bardzo istotne z punktu widzenia epidemiologicznego. Tę część pracy Doktoranta uważam za najbardziej wartościową pod względem naukowym i społecznym a uzyskane wyniki zostały bardzo dobrze przedyskutowane na tle literatury fachowej.

W czwartym podrozdziale, zatytułowanym „Metabolomiczne podstawy aktywności przeciwgrzybiczej olejku grejpfrutowego na przykładzie *Aspergillus fumigatus*” Doktorant zbadał profil metaboliczny (według metodologii „odcisk ręki” i „odcisk stopy”) grzyba z gatunku *Aspergillus fumigatus* w trakcie wzrostu bez dodatku olejku grejpfrutowego oraz z jego dodatkiem. Na podstawie uzyskanych wyników Doktorant wnioskuje, iż olejek grejpfrutowy posiada potencjalne działanie przeciwgrzybicze i znacząco wpływa na zmiany cech metabolicznych komórek pleśni. Niestety mechanizm działania przeciwgrzybiczego olejku grejpfrutowego jest wciąż nieznan. Doktorant, na podstawie uzyskanych przez siebie wyników, wnioskuje, iż zaburza on syntezę składników ściany komórkowej i/lub błony komórkowej, zaburza szlaki związane z oddychaniem tlenowym, wpływa na mechanizm degradacji białek (wewnątrz- i zewnątrzkomórkowo), powoduje zahamowanie syntezy kwasów nukleinowych oraz aktywuje mechanizmy przeciwutleniające. W zasadzie wydaje się, iż zaburzone są wszystkie szlaki metaboliczne ważne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu żywego. W tym miejscu pojawia się pytanie: który składnik (lub składniki) olejku grejpfrutowego jest związkami aktywnymi? Olejek grejpfrutowy składa się w 83,4% z limonenu, który posiada potwierdzoną aktywność przeciwgrzybiczą. Czy zatem pozostałe 16,6% składników olejku nie ma wpływu na aktywność przeciwgrzybiczą olejku? Pod względem składu chemicznego olejek grejpfrutowy jest mieszaniną ketonów, aldehydów, alkoholi, estrów, laktonów, terpenów i innych związków organicznych. W mojej opinii warto więc sprawdzić wpływ głównego składnika olejku grejpfrutowego tj. limonenu na szlaki metaboliczne grzybów z gatunku *Aspergillus fumigatus*. Ciekawe jest również, dlaczego do badań wybrany został olejek grejpfrutowy spośród innych dostępnych na rynku olejków o działaniu przeciwgrzybiczym tj.: z drzewa herbacianego, sandałowego, lawendowy, jałowcowy czy geraniowy. Zastanawiając się nad wyborem Doktoranta dotyczącego olejku grapefruitowego a nie innego znalazłam następującą informację (http://magiazapachow.com.pl/olejek_eteryczny/ah/grejpfrutowy): „olejek grejpfrutowy posiada świeży, cytrusowy zapach, który wskazuje pozytywne działanie na nasz układ nerwowy. Polecany jest szczególnie osobom cierpiącym na depresję, stany lękowe czy napięcie nerwowe. Ma pozytywny wpływ na układ pokarmowy – reguluje apetyt, stymuluje pracę narządów. Pomaga walczyć z cellulitem i otyłością”. Czyżby to te właśnie właściwości w sposób szczególny zachęciły Doktoranta do pracy z tym a nie innym olejkiem?

W ostatnim podrozdziale opracowania mgr inż. Ząbek podsumował wyniki swoich badań, w których pokazał jak zmieniają się szlaki metaboliczne grzybów patogennych pod wpływem różnych czynników lub warunków. Do najważniejszych osiągnięć pracy stanowiących jednocześnie element nowości naukowej zaliczam:

- (1) Wykorzystanie innowacyjnej w skali krajowej metodologii analizy metabolizmu grzybów patogennych opartej o spektroskopię NMR i narzędzia chemometryczne,
- (2) Charakterystyka profili metabolicznych oraz wykazanie istotnych różnic pomiędzy nimi dla lekoopornych i lekowrażliwych szczepów grzybów chorobotwórczych z rodzaju *Candida*,

- (3) Pokazanie różnic w profilach metabolicznych dla trzech gatunków strzępkowych grzybów patogennych oraz wykazanie, iż gatunek *Aspergillus fumigatus* jest grzybem najbardziej chorobotwórczym,
- (4) Wykazanie, że zjawisko *Quorum sensing* może leżeć u podstaw patogenności grzybów,
- (5) Udowodnienie, że kwas arachidonowy ma wpływ na formowanie się szkodliwego biofilmu,
- (6) Pokazanie aktywności przeciwgrzybiczej olejku grapefruitowego względem chorobotwórczych grzybów z gatunku *Aspergillus fumigatus*.

Uważam, że część doświadczalna pracy doktorskiej została dobrze zaplanowana a prezentacja i omówienie wyników są przeprowadzone poprawnie. Poniżej, z obowiązku recenzenta, wymieniłam najważniejsze pytania oraz drobne uwagi dotyczące dysertacji:

- (1) Na stronie 54, rozdział 2.6 w części dotyczącej stosowanej metodyki pojawia się znieacka rozdział zatytułowany: skaningowa mikroskopia elektronowa, co stanowi dla czytelnika małe zaskoczenie. W dalszej części pracy (rozdział 5.2.1 zatytułowany „Otrzymane wyniki”) znajdują się zdjęcia struktury biofilmu uzyskane metodą SEM. W rozdziale tym jak i w podsumowaniu brak jest szczegółowego opisu czy wniosków na temat uzyskanych struktur morfologicznych biofilmu. Czy zdjęcia biofilmu były wykonywane również podczas jego wzrostu?
- (2) w związku z trudnością w ocenie istniejących warunków hodowli grzybów z rodziny *Candida*, czy Doktorant uważa, iż warto podjąć próbę hodowli grzybów lekoopornych i lekowrażliwych w warunkach beztlenowych?
- 1) w spisie treści, znajdującym się na początku pracy, moim zdaniem nie powinna znajdować się pozycja „Spis treści” gdyż stanowi to swojego rodzaju logiczne zapętlenie,
- 2) w pracy znajduje się kilka niefortunnnych zapisów np: „Terapie wykorzystują pięć kategorii związków...” (str. 56) czy terapie mogą wykorzystywać związki?; „Uzyskane wyniki badań koncentrują się przede wszystkim na ...” (str. 65) – to „badania koncentrują się na” a nie uzyskane w ich trakcie wyniki; „Metabolity podwyższone” (str. 67) – autor miał na myśli z pewnością podwyższone stężenia metabolitów; Rysunek 5.1 (str. 87) pokazuje zdjęcie struktury biofilmu a nie „skaningową mikroskopie elektronową”; „Według otrzymanych wyników [...] zauważono, że...” (str. 89) - powinno być na podstawie otrzymanych wyników zauważono, że; w kilku miejscach dysertacji pojawiają się na rysunkach opisy dotyczące kolorów których na rysunkach nie ma i na odwrót (na przykład rys. 3.2, str. 60 lub rys. 5.3 str. 89). W wielu miejscach rysunki są za małe i przez to mało czytelne. Na kilku rysunkach stosowane są opisy w języku angielskim; „W pracy wskazano jedynie na małą cząstkę najważniejszych problemów” (str. 117) – powinno być raczej „część najważniejszych problemów” a nie „cząstka problemów”, tym bardziej że w świecie nauk przyrodniczych „cząstka” posiada znaczenie zgoła inne. Jakże?; „Otrzymanie [...] profili metabolicznych w czasie ekspozycji pleśni na olejek grejpfrutowy” (str. 117) – ekspozycja (synonimy tego słowa to: pokaz, wystawa, biennale, triennale, impreza) na olejek sugeruje wpływ jedynie zapachu olejku na profil metaboliczny a nie bezpośredni kontakt badanych grzybów ze składnikami olejku,
- 3) w pracy występuje niejednolita forma zapisu gatunków i rodzajów grzybów. W tym względzie zabrakło konsekwencji i staranności na etapie redakcji ostatecznej wersji maszynopisu. Proszę również o wyjaśnienie w jaki sposób powinno się prawidłowo zapisywać nazwy grzybów?

- 4) na stronie 97 znajduje się zapis iż, „podstawową cechą biofilmów grzybiczych jest nitkowata forma biofilmu, wymagana podczas rozwoju inwazyjnych aspergilloz”. Czy nitkowata forma biofilmu jest wymagana podczas rozwoju aspergilloz czy może powstaje podczas rozwoju biofilmu?
- 5) w podsumowaniu i wnioskach Doktorant pisze „że patogenność grzybów może leżeć u podstaw zjawiska jakim jest *Quorum sensing*” (str. 118). Czy rzeczywiście tak jest?

Przytoczone uwagi krytyczne oraz kwestie dyskusyjne nie mają istotnego charakteru i nie podważają w żadnej mierze wartości rozprawy i mojej bardzo pozytywnej jej oceny. Reasumując, uważam, że cele pracy zostały w pełni zrealizowane. Rozprawa mgr inż. Adama Ząbka zawiera bogaty, solidny i wartościowy materiał doświadczalny, uzyskany dla otrzymanych hodowli grzybów patogennych. Kandydat wykazał się ponadto znajomością nowatorskiej, w skali krajowej, eksperymentalnej techniki metabolomicznej opartej o dane NMR. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż uzyskane wyniki badań zgłoszone zostały do opublikowania (prace w trakcie recenzji stan na dzień 7 lipca 2015 roku) w czasopiśmie *PLoS ONE*. Na opublikowany dorobek mgr inż. Adama Ząbka łącznie składają się 3 artykuły opublikowane w czasopismach indeksowanych w JCR, 3 artykuły w czasopismach o zasięgu krajowym oraz 6 artykułów będących w trakcie recenzji. W przypadku czterech artykułów, które stanowią podstawę rozprawy doktorskiej, Pan Adam Ząbek jest pierwszym Autorem, co świadczy o jej wiodącej roli w prowadzonych badaniach. W tym miejscu z pełnym przekonaniem mogę potwierdzić zdobycie przez Doktoranta „małego Everestu” o którym Autor pisze na początku swojej dysertacji, cytując Krzysztofa Wielickiego. Niewątpliwie w zdobyciu „małego Everestu” pomógł Doktorantowi Promotor, dr hab. Piotr Młynarz, prof. PWr.

Biorąc pod uwagę powyższe fakty z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa spełnia ustawowe i zwyczajowe kryteria stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym z późn. zm. W tym odniesieniu wnoszę do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie mgr inż. Adama Ząbka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, mając na względzie wkład pracy Doktoranta, zastosowanie nowatorskiej techniki analitycznej w skali krajowej a także , zwracam się także do Wysokiej Rady z wnioskiem o wyróżnienie tej rozprawy.

Z poważaniem

