



KATEDRA
BIOFIZYKI

Lublin, 22 lipca 2023 r.

Dr hab. Wojciech Henryk Grudziński, prof. UMCS
Katedra Biofizyki, Instytut Fizyki
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
w Lublinie

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Marii Błaszczyk
pt. „Związki hamujące biosyntezę cholesterolu jako modulatory
aktywności przeciwnowotworowej leków przeciwpsychotycznych
i przeciwdepresyjnych w komórkach raka jelita grubego
– badania *in vitro*”**

Choroby onkologiczne stanowią jeden z ważniejszych problemów współczesnego społeczeństwa. Poszukiwania nowych leków i nowych sposobów na pokonanie nowotworów to czasochłonne i niestety bardzo kosztowne przedsięwzięcie. W związku z tym poszukiwanie możliwości wykorzystania dopuszczonych już do obrotu leków w innych jednostkach chorobowych niż pierwotne jest bardzo obiecującym podejściem. Choroby związane z dobrostanem psychicznym i depresją również stały się coraz bardziej powszechnym problemem, a co za tym idzie pojawiły się już kolejne generacje leków przeciwpsychotycznych i przeciwdepresyjnych. Głównym celem recenzowanej pracy doktorskiej jest spojrzenie na nowo na leki antydepresyjne, a przede wszystkim znalezienie substancji (z grupy hamujących syntezę cholesterolu), które w taki sposób modyfikują działanie leków przeciwpsychotycznych aby możliwe było ponowne ich wykorzystanie do terapii nowotworów jelita grubego. Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Marii Błaszczyk pozwala zajrzeć do badawczej kuchni, w której trwają prace nad poszukiwaniem nowych możliwości dla istniejących leków.

Biorąc pod uwagę powyższe, zdecydowanie można stwierdzić, że przedłożona praca jest opracowaniem nie tylko interesującym, ale przede wszystkim ważnym. W mojej ocenie wartość merytoryczna osiągnięć przedstawionych w pracy jest wysoka, nie tylko z czysto poznawczego punktu widzenia, ale także w związku ze stosunkowo dużym potencjałem wdrożeniowym.

Recenzowana praca doktorska została wykonana w Katedrze i Zakładzie Biofizyki i Neurobiologii, Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu pod kierunkiem dr hab. Olgi Wesołowskiej promotora rozprawy oraz dr inż. Anny Palko-Łabuz promotora pomocniczego. Katedra i Zakład Biofizyki i Neurologii UMW to znane w środowisku biofizycznym laboratorium, z ogromnym doświadczeniem badawczym. W przedstawionej pracy doktorskiej znakomicie widać wykorzystanie przez Autorkę potencjału badawczego jednostki i oferowanych przez nią możliwości związanych zarówno z zapleczem aparaturowym jak też doświadczonym zespołem naukowców.

Rozprawę doktorską stanowi bardzo dobrze napisane opracowanie, zredagowane w języku polskim na 186 stronach, obejmujące: osiem rozdziałów poprzedzonych spisem treści, wykazem skrótów oraz streszczeniami w języku polskim i angielskim. Pracę kończą: spisy rysunków i tabel oraz obszerna literatura (niemal 280 pozycji, wśród których jest jedynie po kilka prac sprzed roku 2000, czy starszych niż 40 lat; większość to prace współczesne wśród czego połowa to prace nie starsze niż 5 lat). Zabrakło mi informacji o aktywności naukowej Autorki, tj. wykazu dorobku naukowego (wg WoS: 4 artykuły), udziału w konferencjach naukowych (wg Polska Platforma Medyczna Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (PPM-UMW): 8 konferencji).

Rozprawę rozpoczyna rozdział zatytułowany Część teoretyczna, który płynnie zapoznaje czytelnika z głównymi bohaterami prowadzonych badań: (i) nowotworem jelita grubego (w tym bardzo szczegółowy opis podtypów molekularnych wraz z ich charakterystyką, rokowaniem i różnicami w stosowanych terapiach, a także omówieniem modelowych linii komórkowych raka jelita grubego RJG: HT29 i COLO205); (ii) cholesterolem (m.in. szlak syntezy i główne punkty na tej ścieżce, które mają istotne znaczenie w kontekście regulacji produkcji cholesterolu, oraz rola jaką odgrywa cholesterol w komórkach nowotworowych, i jaki ma wpływ na rozwój raka, przerzutowanie i potencjalne szanse na w projektowaniu terapii celowanej związanej z cholesterolem); (iii) trójglicerydami (szczególnie rola trójglicerydów



lipidowych w procesach migracji komórek nowotworowych) i układami modelowymi typu GUV (grupa, w której Autorka wykonywała prace pod kierunkiem Pani dr hab. Olgi Wesołowskiej ma bardzo duże, a nawet można powiedzieć gigantyczne doświadczenie w badaniach z użyciem GUV); (iv) statynami i ich działaniem przeciwnowotworowym (m.in. bardzo ciekawe badania nad fragmentacją DNA w komórkach rakowych różnych nowotworów pod wpływem simwastatyny wraz z przytoczeniem trwających badań klinicznych, omówiono również użyteczność BETuliny i kwasu betulinowego w leczeniu, nie tylko wielu linii nowotworowych, ale również chorób metabolicznych, czy chorób zakaźnych); (v) leki przeciwpsychotyczne i przeciwdepresyjne (ich charakterystykę i właściwości przeciwnowotworowe oraz omówiono szczegółowo wpływ leków z tej grupy na homeostazę cholesterolu jako jeden z mechanizmów ich cytotoksycznego działania na nowotwory; w tym podrozdziale postawiono i uzasadniono główne pytania badawcze, na które w niniejszej pracy Autorka odpowiada). W tej części pracy Autorka opisała również repozycjonowanie leków i terapie kombinowane w onkologii jako uzasadnienie dla prowadzonych przez nią badań w kontekście późniejszego rozszerzenia stosowania leków przeciwdepresyjnych i przeciwpsychotycznych w terapii nowotworów. Ta część pracy zawiera interesujący, kompletny i aktualny (wiele odniesień do literatury z ostatnich kilku lat) przegląd prac pokazujący stanu badań (zarówno *stricte* naukowych jak i klinicznych) poświęconych możliwości włączenia leków przeciwpsychotycznych i przeciwdepresyjnych do terapii przeciwnowotworowej.

Na początku rozdziału drugiego *Część doświadczalna* Autorka przedstawia główne cele pracy doktorskiej. Autorka w tym miejscu nie tylko prezentuje postawione cele, uzasadnia ich istotność, ale też, niejako z wyprzedzeniem, wspomina co w ramach pracy udało jej się dokonać. Utrudniło to syntetyczne wyodrębnienie zamierzeń badawczych, które sobie postawiła Pani magister inżynier Maria Błaszczuk, a były to wg mnie:

- zidentyfikowanie grupy nowych związków wielopierścieniowych zdolnych do selektywnego hamowania wzrostu komórek raka jelita grubego;
- określenie wpływu badanych leków przeciwpsychotycznych na mikrodomeny błonowe wzbogacone w cholesterol i sfingomielinę (tzw. tratwy lipidowe) w układach modelowych;
- przeprowadzenie badań w poszukiwaniu synergii pomiędzy simwastatyną lub betuliną (substancjami o udokumentowanym wpływie na metabolizm



cholesterolu) oraz pochodnymi betuliny a badanymi lekami przeciwpsychotycznymi;

- scharakteryzowanie oddziaływania badanych związków z dwuwarstwami lipidowymi oraz ich zachowania w błonie komórkowej za pomocą narzędzi bioinformatycznych.

W kolejnych podrozdziałach *Części doświadczalnej* opisane zostały używane materiały (linie komórkowe, startery DNA, główne badane związki: 17 leków i dwie pochodne betuliny zsyntetyzowane we współpracy z dr inż. Agatą Koziół z Zakładu Chemii i Immunochemii, Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu) i stosowane metody oraz narzędzia, których było niemal dwadzieścia. Omówienie to jest bardzo precyzyjne i szczegółowe np. zwraca uwagę szczerzy zapis w punkcie 4 opisu testu SRB, który uważam za cenny gdyż historia nauki pokazuje, że tego typu drobiazgi prowadziły czasem do ważnych odkryć. W tym miejscu chciałbym podkreślić, że szereg, opisanych przez Autorkę, badań nie byłby możliwy do zrealizowania gdyby nie potrafiła ona wykorzystać w swojej pracy tak wielu, tak zaawansowanych narzędzi i metod badawczych.

Trzeci rozdział pracy to *Wyniki*, który mógłby w zasadzie stanowić fragment *Części doświadczalnej*, ale zawiera tak dużo danych (niemal 80 stron), że rozumiem powody jego wyodrębnienia. W rozdziale tym Autorka metodycznie prezentuje wyniki uzyskane z poszczególnych prowadzonych badań i analiz. Spośród uzyskanych danych, szczególnie istotne wydają się wyniki m.in. pomiaru indeksu selektywności, które pokazały, że badane leki (w najwyższym stopniu te oznaczone jako FLU, RIS i TFP) posiadają zdolność do selektywnego hamowania wzrostu komórek nowotworowych (selektywność była wyższa wobec linii COLO205 niż HT29), w małym stopniu wpływając na komórki prawidłowe. Większą toksycznością charakteryzowały się leki tzw. pierwszej generacji niż leki przeciwpsychotyczne drugiej generacji.

Badania nad cytotoksycznością w stosunku do komórek linii HT29 analizowanych leków w połączeniu z SIM, wyodrębniły leki (TFP, FLP oraz IMP) wykazujące synergię działania z tym inhibitorem biosyntezy Chol. Szczegółowe badania nad cytotoksycznością tych leków (Autorka dołączyła do tej grupy również KLZ, RIS i FLU) wobec linii nienowotworowych pokazały, że wszystkie z nich odznaczały się selektywną cytotoksycznością wobec komórek nowotworowych w porównaniu z liniami prawidłowego nabłonka jelita grubego. Wszystkie



badane leki (poza RIS), posiadały zdolność do indukcji ekspresji genów lipogennych i mogą wpływać na homeostazę Chol w komórkach nowotworowych. W badaniach nad cytotoksycznym działaniem wobec linii HT29 leków przeciwpsychotycznych stosowanych w połączeniu ze związkami hamującymi biosyntezę Chol (SIM oraz BET) synergicznie (silniejsze działanie cytotoksyczne niż zastosowana pojedynczo) wykazały TFP, IMP oraz FLP w obecności SIM i jedynie TFP w obecności BET.

W trakcie analiz poziomu wolnego (niezestryfikowanego) cholesterolu w komórkach RJG Autorka udowodniła, że oprócz SIM, również FLU, TFP oraz FLP obniżały poziom tego sterolu w błonach (BET, w przeciwieństwie jej pochodnych B1 i B2 nie wykazała takiej zdolności). Co ważne przypadku TFP, FLP oraz B1 Autorka zaobserwowała nierównomierny rozkład fluorescencyjnie wybarwionego cholesterolu na powierzchni komórek HT29, co wskazuje, że leki te wpływają nie tylko na ilość, ale też na rozmieszczenie cholesterolu w błonie komórkowej. Wynika z tego, że obniżenie poziomu cholesterolu w komórce przez leki może sprzyjać ich właściwościom cytotoksycznym, a także zwiększać ich synergicznie z modulatorami poziomu cholesterolu, np. SIM (przeciwnie KLZ, podnosząc poziom cholesterolu w komórkach RJG, w połączeniu z SIM charakteryzowała się antagonistycznym działaniem przeciwnowotworowym). Potwierdziły to badania na ogromnych jednowarstwowych liposomach (GUV) podczas, których Pani mgr Maria Błaszczuk dowiodła, że badane związki wpływają na zmniejszenie pola powierzchni domen lipidowych, a niektóre z nich także na ich liczbę (najsilniej TFP oraz IMP) oraz kształt (IMP oraz BET). Ważnym i nowym stwierdzeniem jest to, że związki, dla których obserwowano synergicznie działania z SIM, z pewnością wpływają na mikrodomeny lipidowe zawierające cholesterol w układach modelowych co pozwala przypuszczać, że podobny mechanizm może funkcjonować także w komórkach. Kończąc warto zaznaczyć, że w całości tego rozdziału, w zamieszczonych tabelach i na wykresach konsekwentnie prezentowane są niepewności pomiarowe i poziomy istotności statystycznej.

Rozdział IV to *Dyskusja* wyników, gdzie Autorka zwięźle zarysowuje kontekst badań, bardzo precyzyjnie i obszernie omawia wyniki przeprowadzonych analiz odnosząc się do aktualnego stanu badań oraz trafnie formułuje wnioski. Pani mgr inż. Błaszczuk zaznacza też w tym rozdziale stopień realizacji postawionych celów. W tej części pracy szczególnie zwraca uwagę fragment w którym Autorka dyskutuje możliwe mechanizmy, które mogą



decydować o przeciwnowotworowym działaniu badanych leków przeciwpsychotycznych, a w szczególności o występowaniu synergii między nimi a związkami hamującymi biosyntezę cholesterolu. Autorka wskazuje, że za uzyskane obserwacje odpowiadać może różnica we wpływie SIM i BET na poziom wolnego cholesterolu w komórkach nowotworowych i przypuszcza ona, że za cytotoksycznym działaniem TFP, FLU, FLP oraz prawdopodobnie B1 stać może mechanizm związany z pozbawieniem komórki odpowiedniej ilości cholesterolu oraz wpływem na rozmieszczenie cholesterolu w błonie komórkowej (TFP, FLP oraz B1). Z drugiej strony, Autorka zaznacza, że synergia z SIM była obserwowana także dla IMP, który to związek nie wpływał istotnie na poziom wolnego cholesterolu w komórkach, co świadczy wg niej o tym, że w tym przypadku za obserwowanym efektem musi stać inny mechanizm. Podsumowując, Autorka stwierdza, że uzyskane wyniki wskazują na istnienie – w badanej grupie leków – powiązania pomiędzy wpływem związków na poziom cholesterolu w komórce, a ich aktywnością przeciwnowotworową oraz, że zmniejszenie ilości wolnego cholesterolu w komórkach może modyfikować zarówno fizyczne (np. płynność i przepuszczalność), jak i funkcjonalne parametry błony komórkowej (np. aktywność białek błonowych), w ten sposób sprawiając, że komórki nowotworowe stają się bardziej podatne na toksyczne działanie leków. W perspektywie recenzenta ważne wydaje się też zaznaczenie przez Autorkę jak bardzo dobrym układem modelowym do badania separacji faz w układach lipidowych i oddziaływania różnych związków z błonami są olbrzymie liposomy jednowarstwowe typu GUV, w czym macierzyste laboratorium Autorki ma duże dokonania.

W tej części pracy docenić należy duży krytycyzm Autorki, która rzetelnie przedstawia wyniki swoich badań, nie idąc zbyt daleko w ich interpretacji. Tam gdzie dane nie są jednoznaczne Autorka wyraźnie to zaznacza, pokazując jednocześnie kierunki działań, które mogłyby prowadzić do pełniejszego obrazu. Ta część pracy bardzo dobrze pokazuje znajomość przedmiotu badań, krytycyzm w analizie wyników i dojrzałość naukową Autorki.

Rozprawę doktorską Pani mgr inż. Marii Błaszcyk kończy rozdział V *Podsumowanie pracy*, gdzie streszczono najważniejsze wyniki i VI *Wnioski* gdzie wypunktowano najważniejsze dokonania pracy.

Wyniki zaprezentowane w rozprawie dostarczają niewątpliwie interesujących informacji o oddziaływaniu badanych leków z substancjami mającymi wpływ na szlak syntezy cholesterolu, ale nasuwają jednocześnie pewne pytania czy komentarze:



1. Skoro stężenia leków przeciwpsychotycznych, które wpływają na zmianę ekspresji genów lipogennych, były ok. 10-100 razy większe niż ich stężenia w osoczu osiągnane w leczeniu chorób psychicznych, to dlaczego warto rozważyć stosowanie tych leków w innych rodzajach terapii?
2. Do obliczenia deskryptorów molekularnych opisujących badane związki użyto oprogramowania Titan, program ten korzysta z metody półempirycznej AM1. W metodzie tej przed właściwymi obliczeniami należy zoptymalizować geometrię analizowanej cząsteczki. W jaki sposób przeprowadzano tę optymalizację i jak weryfikowano jej wyniki.
3. Analizy oddziaływania między związkami (synergizm, antagonizm) przeprowadzono za pomocą dwu różnych narzędzi. W przypadku programu CompuSyn parametr CI został jasno zdefiniowany (wzór na stronie 52), w oprogramowaniu Combenefit, korzystano z modelu HSA. W związku z tym, że wyniki, które uzyskano z tych dwu programów dla niektórych kombinacji związków są niespójne, należałoby określić źródło tych różnic.
4. Do ilościowej analizy i wizualizacji pasywnego przenikania aktywnych biologicznie związków przez modelowe błony lipidowe użyto narzędzia PerMM. Opis stosowania tej metody zawiera trudne do zrozumienia zdanie: „Transfer energii w odniesieniu do zmiennych rotacyjnych cząsteczki w każdym punkcie (z) odbywał się wzdłuż normalnej błony.”
5. W części pracy Autorka prowadziła badania oparte o obliczenia fizykochemiczne i modelowanie molekularne. Jakie elementy tych analiz opierały się o gotowe procedury/metody istniejące w wykorzystywanych narzędziach (np. Titan, OSIRIS, PerMM), a co Autorka napisała samodzielnie (np. zakodowała, sparametryzowała, zmodyfikowała w trakcie obliczeń).
6. Kilka powyższych uwag dotyczy stosowania metod obliczeniowych i gotowych narzędzi. W odczuciu recenzenta, który podobnie jak Autorka pracy jest doświadczalnikiem, należałoby z większą rezerwą podchodzić do wyników tych obliczeń, tam gdzie to możliwe weryfikować je i odnosić do dostępnych danych eksperymentalnych (np. spektroskopowych). W mojej opinii niniejsza praca w zupełności mogłaby bazować na wynikach badań doświadczalnych prowadzonych



przez Panią mgr inż. Błaszczyk. Spora część danych uzyskanych z narzędzi obliczeniowych nie daje jednoznacznych, nie budzących wątpliwości wyników.

7. Na czym polegała analiza zdjęć z elektroforezy DNA w programie ImageJ? W podrozdziale 3.9 Autorka opisuje, że „Po rozdziale i wybarwieniu, mierzono intensywność fluorescencji emitowanej z poszczególnych prążków”. Wspominany jest też system Uvitec Cambridge MiniHD9.
8. Rysunki 20 i 22 są zbyt hermetyczne i surowe. Bez wprowadzenia, opisu osi, czytelnikowi, trudno wydobyć właściwe informacje z tych wykresów.
9. Czy na wykresach z rysunku 35 przebiegi zależności dla DPPC nie powinny być zbliżone? Wygląda na to, że różnice pomiędzy przebiegami dla DPPC w A, B i C są porównywalne do analizowanych różnic w odniesieniu do BET, B1 i B2.
10. W oparciu o jakie przesłanki dobierano stężenia (osiem różnych wartości) w oznaczeniach cytotoksyczności (test SRB).
11. Doceniam, że w wielu miejscach pracy Autorka prezentuje wszystkie uzyskane wyniki, pomimo tego, że wiele z nich nie zawiera istotnych statystycznie różnic. Pokazuje to jak bardzo złożony układ jest analizowany i jak duży wkład pracy został włożony aby wydobyć dane istotne dla wskazania związków/leków do dalszych prac.
12. Jakie struktury lipidowe uzyskano w procedurze przygotowania próbek do badań kalorymetrycznych (osuszony film lipidowy uwodniono, mieszano i ogrzano do temp. 50°C). W jaki sposób weryfikowano, że są to oczekiwane modelowe dwuwarstwy.
13. Toksyna cholery to standardowy dodatek do pożywki, do czego jest on potrzebny, jaka jest jego rola?
14. Czy jest współpraca/zainteresowanie firm z branży farmaceutycznej prowadzonymi badaniami? Czy jest szansa na wykorzystanie wyników i dalsze badania komercyjne?
15. Czy planowane są badania/projekt/grant pozwalający na kontynuację badań aż do weryfikację klinicznej użyteczności?

Na podkreślenie zasługuje dobry poziom edytorski rozprawy. Praca jest estetyczna, z elegancką szatą graficzną. Napisana z dużą dbałością o precyzję sformułowań, tekst zawiera grafiki i schematy, które są dobrze wybrane i znacząco pomagają czytelnikowi w zrozumieniu zarówno zagadnień prezentowanych w części teoretycznej jak i wyników badań. Mógłbym jednak zaproponować Autorce kilka poprawek natury edytorsko-redakcyjnej:



1. Na rysunku 3 nie znalazłem dwu wzorów strukturalnych dla SN-38 i simwastydyny.
2. Część oznaczeń na kilku grafikach np. rys.20, 22, 28, 30 jest na granicy czytelności. Dodatkowo przykładowe zdjęcia komórek (rys. 28) czy liposomów (rys. 30) można zaprezentować tak aby bardziej uwypuklić (zaznaczyć) omawiane różnice i poprawić czytelność (scale bar).
3. W podpunkcie 2.3.15 na stronie 61 w opisie przygotowania próbki znalazł się zapis dotyczący szczeliny o wartości 2,5 nm. W tym miejscu zaskakuje on czytelnika i jest niezrozumiały.
4. W opisie tłumaczącym czym jest polaryzacja uogólniona GP, rysunek z dwoma widmami laurdanu w fazie płynnej i żelowej znakomicie uzupełniłby wyjaśnienie istoty przytoczonego wzoru na GP.
5. Zdarza się, że rysunek/tabela jest umieszczony na dwu stronach, w szczególności podpis rysunku na innej stronie niż część rysunku utrudnia czytanie pracy (patrz np. str. 68/69, 112/113 czy 73/74).
6. Na rys. 34 kolejność paneli jest zmieniona (B,A,C).
7. Na str. 14, 32, 58 i 147 czy 62 słowo „ilość” zamieniłbym na „liczba” gdy dotyczy ono obiektów policzalnych (odpowiednio: zgonów, dowodów, komórek, domen).
8. W pracy wzorów jest co prawda niewiele, ale należałoby je numerować.
9. Drobne literówki (str. 52 „wykorzystano programu”).
10. W bardzo wielu miejscach pojawiły się spójniki i przyimki na końcu wersów (m.in. w tytule pracy).

Powyższe uwagi natury edytorskiej absolutnie nie umniejszają jakości merytorycznej przedstawionej do recenzji rozprawy. Chcę, że rozprawę doktorską Pani mgr inż. Błaszcyk czyta się z przyjemnością i z pewną lekkością, co zaskakuje jeśli się weźmie pod uwagę fakt, jak trudne i skomplikowane zagadnienia są w niej omawiane.

Podsumowując, chciałbym stwierdzić, iż Pani mgr inż. Maria Błaszcyk przedstawiła bardzo wartościową rozprawę doktorską, w której połączyła warsztat doświadczalny z danymi uzyskanymi z obliczeń a uzupełniła analizą statystyczną. Badania zaprezentowane w pracy zostały wykonane bez zastrzeżeń co do wybranej metodologii a dodatkowo wymagały swobodnego korzystania z wielu narzędzi obliczeniowych oraz dobrej organizacji i dużej



pracowitości. Sposób, w jaki Autorka analizowała wyniki badań i z ostrożnością formułowała wnioski dowodzi dojrzałości naukowej Doktorantki.

W mojej opinii oceniana rozprawa spełnia wymagania stawiane w postępowaniach doktorskich oraz warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 r. poz. 1668). Niniejszym składam wniosek do Rady Dyscypliny Nauki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora, w tym do publicznej obrony.

Mając na uwadze wartość merytoryczną pracy oraz jej interdyscyplinarny charakter (połączenie badań z pogranicza farmacji, biochemii, biofizyki, spektroskopii, dynamiki molekularnej itd.), a także możliwość wykorzystania badań zawartych w tej pracy doktorskiej w celu repositionowania istniejących leków a co za tym idzie znaczny potencjał wdrożeniowy badań przeprowadzonych przez mgr inż. Marię Błaszczuk, uprzejmie **wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Medycznej o rozważenie możliwości uznania przedmiotowej rozprawy doktorskiej za wyróżniającą.**

Gratuluje Doktorantce oraz Państwu Promotorom tak cennych rezultatów badań.

Wojciech Gwidonki

