

Prof. dr hab. Monika Załęska-Radziwiłł
Wydział Instalacji Budowlanych, Hydrotechniki
i Inżynierii Środowiska
Politechnika Warszawska
Ul. Nowowiejska 20
00-653 Warszawa

Warszawa, 25.06.2021 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej **mgr inż. Marceliny Jureczko**

**pt. „Badania ekotoksyczności wybranych leków cytostatycznych
i możliwości wykorzystania grzybów do ich usuwania”.**

Promotor:

dr hab. inż. Wioletta Przysaś, prof. Pol. Śl.

Podstawa formalna

Podstawą formalną opracowania recenzji rozprawy doktorskiej mgr inż. Marceliny Jureczko była uchwała Rady Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Politechniki Śląskiej w Gliwicach z dnia 29.04. 2021 r. oraz pismo Pana Przewodniczącego prof. dr hab. inż. Andrzeja Rusina z dnia 17.05. 2021 r. (RIE-BD/4/299/2020/2021).

Celowość podjęcia tematu

Szerokie stosowanie leków w terapii ludzi i zwierząt hodowlanych zaowocowało pojawieniem się farmaceutyków w elementach środowiska. Część leków wykazuje oporność na działanie czynników abio- i biotycznych. Nie są one usuwane w procesie oczyszczania ścieków, samooczyszczania wód i wykrywane są w wodach powierzchniowych i przeznaczonych do spożycia. Farmaceutyki dostające się do wód powierzchniowych wywołują różnorodne efekty ekotoksykologiczne u organizmów wodnych, a obecne w wodzie przeznaczonej do spożycia mogą szkodliwie wpływać na zdrowie konsumentów. Leki oraz produkty ich przemian dostając się do zbiorników wodnych wykazują zwykle działanie długotrwałe na organizmy, co w konsekwencji może prowadzić do istotnych zmian w strukturze i funkcjonowaniu biocenozy. W kartach charakterystyki substancji aktywnych leków najczęściej dostępne są nieliczne dane toksykologiczne, brak jest natomiast wyników badań ekotoksyczności i

biodegradacji Dla większości substancji farmaceutycznych wciąż nie istnieje wiarygodna ocena ryzyka ekologicznego – głównie ze względu na brak danych informujących o chronicznych efektach ekotoksykologicznych, z badań wielogatunkowych oraz badań na poziomie molekularnym, w tym dotyczących homeostazy hormonalnej oraz genotoksyczności. Problem ten dotyczy między innymi cytostatyków – leków powszechnie stosowanych w terapii antynowotworowej, których ogólna zasada działania polega na zaburzaniu cyklu komórkowego prowadzącego do śmierci komórek lub zahamowaniu ich podziałów. Cytostatyki uważane są za genotoksyczne, mutagenne, kancerogenne, teratogenne i embriotoksyczne. Choć nie są one produkowane w ilościach odpowiadających antybiotykowi i lekom przeciwbólowym, mogą powodować duże zagrożenie dla środowiska. Biorąc powyższe pod uwagę, wybór tematyki rozprawy doktorskiej uważam za w pełni uzasadniony.

Analiza treści pracy i ocena merytoryczna

Rozprawa doktorska została złożona w formie jednotematycznego cyklu publikacji pod wspólnym tytułem: „**Badania ekotoksyczności wybranych leków cytostatycznych i możliwości wykorzystania grzybów do ich usuwania**” opublikowanych w latach 2019-2021:

Publikacja 1. Jureczko M., Kalka J. Cytostatic pharmaceuticals as water contaminants. Eur. J. Pharmacol. 2020: 866: 172816, DOI:10.1016/j.ejphar.2019.172816, (IF: 3,263, MNiSW: 100 pkt.);

Publikacja 2. Jureczko M., Przysaś W. Ecotoxicity risk of presence of two cytostatic drugs: bleomycin and vincristine and their binary mixture in aquatic environment. Ecotoxicol. Environ. Saf. 2019: 172: 210-215, DOI:10.1016/j.ecoenv.2019.01.074, (IF: 4,872, MNiSW: 100 pkt.);

Publikacja 3. Jureczko M., Przysaś W., Urbaniak M., Banach-Wiśniewska A., Stępień Ł. Tolerance to cytostatic drugs bleomycin and vincristine by white rot fungi. Arch. Environ. Prot. 2020: 46 (3): 99-104, DOI:10.24425/aep.2020.134540, (IF: 1,775, MNiSW: 100 pkt.);

Publikacja 4. Jureczko M., Przysaś W. Removal of two cytostatic drugs: bleomycin and vincristine by white-rot fungi – a sorption study. J. Environ. Health Sci. Eng. 2021, DOI: 10.1007/s40201-021-00635-8, (IF: 2,179, MNiSW: 100 pkt.);

Publikacja 5. Jureczko M., Przysaś W., Krawczyk T., Gonciarz W., Rudnicka K. White-rot fungi-mediated biodegradation of cytostatic drugs - bleomycin and vincristine. J. Hazard. Mater. 2021: 407: 124632, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.124632, (IF: 9,038, MNiSW: 200 pkt.).

Sumaryczny IF: 21,121

Sumaryczna punktacja MNiSW: 600 pkt.

Załączone publikacje zostały poprzedzone przewodnikiem zawierającym kolejno: przedmowę, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz 7 rozdziałów: Wprowadzenie (1), Tezę badawczą, cel i zakres pracy (2), Metodykę i plan badań (3), Podsumowanie (4), Wnioski (5), Proponowane dalsze kierunki badań (6), Spis literatury, Publikacje będące podstawą rozprawy doktorskiej (7).

Pani mgr inż. Marcelina Jureczko jest pierwszą autorką wszystkich wymienionych w rozprawie artykułów, a Jej udział merytoryczny, potwierdzony załączonymi oświadczeniami, wynosił od 60% do 70%. Dane te wskazują na wiodącą rolę Doktorantki w ich opublikowaniu. Wkład ten polegał na zaplanowaniu i wykonywaniu badań eksperymentalnych, analizie i opracowaniu wyników oraz dyskusji, a także przygotowaniu publikacji.

Celem dysertacji było uzyskanie danych na temat ekotoksyczności wybranych leków cytostatycznych i ich mieszaniny w środowisku wodnym oraz ocena przydatności grzybów do usuwania tych substancji ze środowiska. Doktorantka sformułowała dwie tezy badawcze: 1) cytostatyki mogą być toksyczne dla organizmów nie będących docelowym przedmiotem ich działania, zatem istnieje konieczność ich eliminacji ze ścieków; 2) grzyby, rozkładające wiele ksenobiotyków o strukturze pierścieniowej ze względu na produkcję szeregu enzymów o niskiej specyficzności, mogą skutecznie usuwać także leki przeciwnowotworowe o takiej właśnie budowie. Tak zaproponowane tezy badawcze i cel pracy były efektem dogłębnej analizy aktualnego piśmiennictwa na temat zagrożeń wynikających z emisji substancji farmaceutycznych do elementów środowiska naturalnego, w tym szczególnie leków stosowanych w terapii antynowotworowej. Brak danych ekotoksykologicznych oraz dotyczących biodegradacji dla dwóch cytostatyków naturalnych: bleomycyny i winkrystyny skłoniło Doktorantkę do podjęcia kompleksowych badań tych związków.

W celu weryfikacji przedstawionych tez Doktorantka wykonała szereg eksperymentów obejmujących:

- ✓ testy ekotoksyczności dwóch substancji aktywnych wybranych leków cytostaticznych oraz ich mieszaniny,
- ✓ selekcję i identyfikację gatunków grzybów potencjalnie użytecznych w eliminacji cytostatyków z roztworów wodnych,
- ✓ testy sorpcji cytostatyków przez żywą i martwą grzybnię,
- ✓ testy biodegradacji cytostatyków z zastosowaniem wybranych gatunków grzybów ,
- ✓ analizę aktywności głównych enzymów ligninolitycznych w trakcie biochemicznego rozkładu cytostatyków przez grzyby,
- ✓ kontrolę ekotoksyczności i cytotoksyczności próbek po procesie usuwania cytostatyków przez aktywną biomasę wybranych gatunków grzybów.

Badania ekotoksyczności bleomycyny i winkrystyny obejmowały testy wzrostowe z zastosowaniem wodnej rośliny wyższej *Lemna minor*, bakterii *Pseudomonas putida* oraz test immobilizacji ze skorupiakami *Daphnia magna* i przeprowadzone zostały według procedur OECD i ISO. Parametrami opisującymi ekotoksyczność w odniesieniu do efektów ostrych były wartości EC₅₀, obliczone po określonym czasie kontaktu organizmów testowych z substancjami, zgodnie z metodyką testów. W badaniach mieszaniny farmaceutyków do interpretacji wyników dodatkowo zastosowano modele: CA (ang. *Concentration Addition*), RA (ang. *Response Additivity*) i IA (ang. *Independent Action*). Dla dwóch ostatnich modeli określono również indeks CI (ang. *Combination Index*).

Na podstawie analizy gatunków grzybów wytwarzających egzoenzymy zdolne do rozkładu związków refrakcyjnych, do badań nad usuwaniem bleomycyny i winkrystyny z roztworów wodnych wytypowano pięć gatunków grzybów białej zgnilizny drewna: *Fomes fomentarius* (szczep CB13), *Hypholoma fasciculare* (szczep CB15), *Phyllotopsis nidulans* (szczep CB14), *Pleurotus ostreatus* (szczep BWPH) i *Trametes versicolor* (szczep CB8). Uzyskane z owocników czyste kultury poddano identyfikacji metodami biologii molekularnej. Ocenę wzrostu grzybów w obecności badanych farmaceutyków przeprowadzono na dwóch podłożach stałych: MEA (ang. *Malt Extract Agar*) – bogatego w źródło węgla i azotu i MSB (ang. *Mineral Salt Broth*) – ubogiego w te pierwiastki a uzyskane wyniki zinterpretowano w oparciu o wartości EC₅₀.

Testy sorpcji bleomycyny i winkrystyny przez grzybnię (5 szczepów) wykonano, na żywej i martwej biomasie. Ubytek substancji aktywnych leków mierzono z wykorzystaniem spektrofotometru UV-Vis (ang. *Ultraviolet-Visible Spectroscopy*). Dla

grzybów usuwających farmaceutyki z największą efektywnością przeprowadzono badania nad wpływem początkowego stężenia leku (5mg/l, 10mg/l, i 15 mg/l), temperatury (15,4 °C – 29,6 °C) i pH (3,2 – 8,8) na ich eliminację z roztworów wodnych. Dokonano także analizy kinetyki biosorpcji cytostatyków stosując modele pseudo-pierwszego rzędu, pseudo-drugiego rzędu oraz Elovicha. Dane z eksperymentów analizowano również stosując izotermy Langmuira, Freundlicha i Redlich-Petersona a także określono parametry termodynamiczne procesu sorpcji. W testach biodegradacji cytostatyki w stężeniach 10 mg/l umieszczano w pożywce organicznej, po czym zaszczipiano grzybnią i inkubowano przez 14 dni. Pomiary stężenia farmaceutyków w czasie wykonywano z wykorzystaniem ultrasprawnej chromatografii cieczowej (ang. *Ultra-Performance Liquid Chromatography* , UPLC) w połączeniu z spektrometrią mas (ang. *Mass Spectrometry*, MS) po 4, 9 i 14 dniach procesu. Określano również intensywność wzrostu biomasy w obecności cytostatyków oraz zidentyfikowano produkty rozkładu winkrystyny. Dodatkowo, w trakcie badań na biochemicznym rozkładem cytostatyków zbadano aktywność enzymów ligninolitycznych: lakazy, peroksydazy manganozależnej (MnP) i peroksydazy ligninowej (LiP). Po procesie biodegradacji, przeprowadzono kontrolę toksykologiczną próbek stosując testy ekotoksyczności z *Lemna minor*, *Daphnia magna* i *Pseudomonas putida* oraz cytotoksyczności z zastosowaniem mysich fibroblastów L927. Wyniki przedstawiono odpowiednio jako: EC₅₀, IC₅₀.

Warsztat badawczy zaprezentowany w metodyce badań reprezentuje wysoki poziom merytoryczny.

Obszerna część teoretyczna rozprawy zawarta w publikacji 1 a także w pozostałych artykułach i przewodniku, uwzględniająca dane z najnowszych pozycji piśmiennictwa, stanowi bardzo dobre wprowadzenie do badań własnych Doktorantki. Analiza piśmiennictwa pozwoliła Autorce na wskazanie istotnych problemów związanych z zapewnieniem skutecznej eliminacji substancji cytostatycznych i metabolitów ich rozkładu ze ścieków oraz potencjalnych zagrożeń dla organizmów zasiedlających ekosystemy i zdrowia ludzi w wyniku ich emisji do elementów środowiska. Na podstawie dostępnych w literaturze danych ekotoksykologicznych z testów jednogatunkowych dla 10 cytostatyków o różnym mechanizmie działania, Doktorantka podjęła próbę wyznaczenia stężenia niebezpiecznego dla 5 % gatunków, (ang. *Hazardous Concentration for 5 % of species*)- HC₅ według modelu Aldenberga i

Jaworskiej.

W testach ekotoksyczności pojedynczych substancji aktywnych leków Autorka wykazała, że bleomycyna była bardzo toksyczna dla *Lemna minor* i *Daphnia magna* (EC_{50} po 7 dniach = 0,20 mg/l i EC_{50} -po 48h = 0,77mg/l) i toksyczna dla *Pseudomonas putida* (EC_{50} po 16h = 7,27 mg/l). Winkrystyna natomiast była toksyczna tylko dla skorupiaków *Daphnia magna* (EC_{50} po 48h =7,74 mg/l).

Badania ekotoksyczności mieszaniny cytostatyków wykazały ich antagonistyczne działanie wobec wszystkich bioindykatorów. Potwierdziły to również wyniki uzyskane we wszystkich modelach oraz wyznaczonym indeksie CI.

W kolejnym etapie badań Doktorantka wytypowała grzyby białej zgnilizny drewna do eliminacji cytostatyków z roztworów wodnych. Wybór tych organizmów nie był przypadkowy, ponieważ wiadomo, że wytwarzają one egzoenzymy zdolne do rozkładu ksenobiotyków o budowie pierścieniowej, głównie na drodze kometabolizmu. Wyniki badań nad tolerancją 5 gatunków grzybów wobec badanych substancji farmaceutycznych potwierdziły potencjalną zdolność wybranych szczepów do rozkładu związków, szczególnie w obecności łatwo ulegających biodegradacji źródeł węgla.

Eksperymenty nad eliminacją cytostatyków z roztworów wodnych Doktorantka słusznie rozpoczęła od zbadania właściwości sorpcyjnych grzybní. Uzyskane wyniki badań były bardzo interesujące zarówno dla żywej i martwej grzybní. Już po 4 godzinach uległo sorpcji 38 % bleomycyny przez martwą biomasę *F. fomentarius* (szczep CB13) i 23 % przez żywą grzybníę *T. versicolor* (szczep CB8). Po tym czasie stwierdzono około 20 % sorpcję winkrystyny przez żywą grzybníę *P. nidulans* (szczep CB14) i martwą *T. versicolor* (szczep CB8). W dalszych badaniach Doktorantka wykazała, że w przypadku szczepów CB8 i CB 14 proces sorpcji przez żywą grzybníę można skrócić bez znaczącej utraty wydajności a w optymalnych warunkach temperatury i pH eliminację bleomycyny można zwiększyć do 59% i winkrystyny do 26% po 3 godzinach eksperymentu. Z przeprowadzonych przez Doktorantkę dalszych analiz wynika, że zbadany proces można opisać modelem kinetycznym pseudo-drugiego rzędu oraz, że dla bleomycyny najlepsze dopasowanie wykazała izoterma Redlich-Petersona a dla winkrystyny Langmuira. Doktorantka wykazała, że w przypadku bleomycyny zachodziła endotermiczna chemisorpcja a winkrystyny egzotermiczna fizysorpcja.

Bardzo obiecujące wyniki Autorka uzyskała w badaniach nad przydatnością

grzybów białej zgnilizny drewna do biochemicznego rozkładu badanych cytostatyków, a szczególnie winkrystyny. Już po 4 dniach procesu biodegradacji osiągnięto eliminację tej substancji w 94-97 % przez szczepy *F. fomentarius* (szczep CB13), *H. fasciculare* (szczep CB15) i *T. versicolor* (szczep CB8) a wydłużenie czasu kontaktu cytostatyka z grzybnią pozwoliło na jego eliminację w ponad 99 %. Dodatkowo rozpoznano trzy produkty rozkładu tego cytostatyka. W przypadku bleomycyny po 9 dniach procesu uzyskano 36 % usunięcie ksenobiotyku przez grzyby *T. versicolor* (szczep CB8) i 25 % z przez *H. fasciculare* (szczep CB15).

W badaniach nad aktywnością enzymów ligninolitycznych okazało się, że głównym enzymem odpowiedzialnym za biochemiczny rozkład substancji farmaceutycznych była lakaza. Nie zaobserwowano istotnej aktywności obydwu peroksydaz.

W testach ekotoksyczności próbek po procesie biodegradacji cytostatyków zaobserwowano zróżnicowaną reakcję bioindykatorów. Próbkę z bleomycyną wykazały zmniejszoną ekotoksyczność w stosunku do *Lemna minor* w przypadku 4 gatunków grzybów, a wobec *Daphnia magna* dla dwóch gatunków. Biochemiczny rozkład winkrystyny przez grzyby spowodował spadek ekotoksyczności w 3 próbkach zarówno w odniesieniu do rośliny i do skorupiaków. Wszystkie badane próbki testowe nie hamowały namnażania komórek bakterii *Pseudomonas putida*.

Należy również zaznaczyć, że dla niektórych szczepów grzybów stwierdzono wzrost ekotoksyczności po procesie rozkładu cytostatyków. Podobne efekty zaobserwowano w niektórych próbkach bez dodatku substancji aktywnych.

W badaniach cytotoksyczności wobec mysich fibroblastów zauważono zarówno wzrost i spadek szkodliwości wód po testach biodegradacji. Niższą cytotoksyczność stwierdzono w próbkach z bleomycyną zaszczerpionych grzybami *P. nidulans* (szczep CB14) oraz *F. fomentarius* (szczep CB13). Niewielką detoksykację wód po rozkładzie winkrystyny stwierdzono w przypadku trzech próbek. Obydwie wody po testach indukowały szereg zmian morfologicznych w fibroblastach. Zmiany obserwowano również w próbkach z grzybami *P. ostreatus* (szczep BWPH) bez cytostatyków, co wskazuje na możliwość syntezy toksycznych metabolitów przez ten gatunek.

Przedstawione w dysertacji wyniki badań zostały bardzo dobrze opracowane statystycznie i potwierdziły obie tezy badawcze. Doktorantka odniosła je do aktualnych danych literaturowych i wnikliwie przedyskutowała.

Do najważniejszych, oryginalnych osiągnięć rozprawy doktorskiej należy zaliczyć:

- ✓ potwierdzenie, że bleomycyna i winkrystyna podobnie jak inne cytostatyki stosowane w terapii antynowotworowej mogą oddziaływać szkodliwie na organizmy ekosystemów wodnych,
- ✓ wykazanie w badaniach ekotoksyczności, że obydwie substancje aktywne leków cytostatycznych w mieszaninie działają antagonistycznie, stąd informacje o łącznym działaniu cytostatyków mogą mieć istotne znaczenie w realistycznej ocenie ryzyka ekologicznego,
- ✓ zidentyfikowanie pięciu gatunków grzybów białej zgnilizny drewna wykazujących dużą tolerancję na obecność bleomycyny i winkrystyny w podłożu hodowlanym z dużą zawartością węgla, wskazując tym samym na potencjalną zdolność do rozkładu przez nie cytostatyków na drodze kometabolizmu,
- ✓ wykazanie, że przy odpowiednio dobranych parametrach procesu sorpcji cytostatyków przez grzyby, w krótkim czasie można uzyskać istotną eliminację bleomycyny i winkrystyny z roztworów wodnych (*T. versicolor*, szczep CB8 i *P. nidulans*, szczep CB14),
- ✓ udowodnienie, że grzyby białej zgnilizny (*T. versicolor*, szczep CB8 i *H. fasciculare*, szczep CB15) efektywnie rozkładały cytostatyki w procesie biodegradacji zmniejszając najczęściej ekotoksyczność i toksyczność próbek,
- ✓ wykazanie, że istotną rolę w procesie biochemicznego rozkładu cytostatyków odgrywały lakazy.

Uwagi dyskusyjne

1. W publikacji 1 Doktorantka wyznaczyła HC₅ dla wszystkich cytostatyków stosując model ekstrapolacyjny Aldenberga-Jaworskiej. Wykorzystano do tego dostępne w literaturze wartości NOEC dla 10 różnych substancji aktywnych cytostatyków. Niewątpliwie jest to ciekawe podejście, ale należy zdawać sobie sprawę, że ten rodzaj ekstrapolacji jest możliwy dla substancji o takim samym mechanizmie działania. Z analizy użytych danych (wartości NOEC dla jednego gatunku w tym samym teście dla wybranych farmaceutyków różnią się nawet o kilka rzędów wielkości) oraz z badań własnych Autorki (Publikacja 2) wynika, że ten warunek nie został spełniony. Oprócz zmienności we wrażliwości gatunków (uwzględnioną w modelu) wprowadzono dodatkową w obrębie jednego gatunku dla którego mierzony jest ten sam punkt końcowy reakcji testowej Kolejna

dodatkowa niepewność w tym modelowaniu wynika z faktu, że część wartości NOEC nie pochodziła z badań chronicznych lecz z ekstrapolacji z toksyczności ostrej na chroniczną. Stosując modele ekstrapolacyjne należy bardzo dokładnie przeanalizować dane aby nie wprowadzać dodatkowej niepewności, którą i tak obarczone są procedury ekstrapolacyjne. Dlatego też, w mojej ocenie, obliczoną wartość HC₅ dla cytostatyków należy potraktować z wielką ostrożnością.

2. Do badań ekotoksyczności wybrano testy: inhibicji wzrostu z *Lemna minor* i *Pseudomonas putia* oraz immobilizacji z *Daphnia magna* słusznie argumentując, że organizmy te reprezentują wszystkie ogniwa łańcucha pokarmowego w ekosystemie wodnym. Parametrami opisującymi ekotoksyczność były wartości EC₅₀ informujące o efektach ostrych cytostatyków. Tymczasem zakres badań do oceny ryzyka wywołanego obecnością produktów leczniczych w środowisku wodnym określony w wytycznych Europejskiej Agencji Leków EMA (ang. *European Medicines Agency*) w Fazie IIA obejmuje testy ekotoksykologiczne z zastosowaniem glonów, skorupiaków i ryb a przypadku testowania antybiotyków glony należy zastąpić sinicami ze względu na ich większą wrażliwość. Ten zakres różni się od standardowej oceny ryzyka dla związków chemicznych, gdyż od początku wymaga prowadzenia testów chronicznych. Wynika to z wysokiej śmiertelności organizmów w testach chronicznych z wykorzystaniem wielu farmaceutyków oraz możliwości wywoływania przez leki odległych efektów u organizmów wodnych stale narażonych na dopływ ścieków z oczyszczalni. Stąd też sugeruję, żeby w przyszłych badaniach rozszerzyć baterię testów uwzględniając zalecenia EMA.

Powyższe uwagi nie obniżają wartości merytorycznej rozprawy, którą oceniam w pełni pozytywnie. Realizacja pracy umożliwiła przeprowadzenie oceny ekotoksykologicznej dwóch cytostatyków oraz udowodniła zdolność grzybów białej zgnilizny drewna do ich biochemicznego rozkładu. Doktorantka wykazała się umiejętnością rozwiązywania trudnych problemów badawczych z dziedziny ekotoksykologii, mikrobiologii, fizyki i biochemii. Uzyskane dane dotyczące ekotoksyczności, sorpcji oraz biodegradacji bleomycyny i winkrystyny mogą być wykorzystane w kartach charakterystyki substancji aktywnych leków i w pracach nad

usprawnieniem oceny ryzyka ekologicznego związanego z obecnością cytostatyków w wodach powierzchniowych. Zaproponowana biotechnologiczna metoda eliminacji cytostatyków z roztworów wodnych z wykorzystaniem grzybów białej zgnilizny drewna jest interesującą alternatywą dla metod konwencjonalnych stosowanych w inżynierii środowiska i może stanowić podstawę do dalszych badań nad usuwaniem tych związków ze ścieków.

Szeroki zakres badań, nowoczesny warsztat badawczy i wysoki poziom merytoryczny wpływa na dużą wartość poznawczą pracy doktorskiej Pani mgr inż. Marceliny Jureczko, stąd uważam, że powinna być wyróżniona.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że praca pt. **„Badania ekotoksyczności wybranych leków cytostatycznych i możliwości wykorzystania grzybów do ich usuwania”** spełnia wymagania zawarte w Ustawie z dnia 14.03.2003 r. O stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003 Nr 65 poz. 595 z późn. zm.) oraz w związku z ustawą z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1669) i niniejszym wnoszę o dopuszczenie Pani mgr inż. Marceliny Jureczko do dalszych etapów procedury ubiegania się o stopień naukowy doktora.

Przedstawiona rozprawa doktorska mieści się w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych (odpowiadającej dziedzinie *nauk technicznych* wg Rozporządzenia MNiSW z 2011 roku), w dyscyplinie inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka (odpowiadającej dyscyplinie *inżynieria środowiska* wg Rozporządzenia MNiSW z 2011 roku).

