

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Urszuli Semeniuk

pt.: „Ocena stężenia serotoniny i histaminy w szpiku kostnym pacjentów z chorobami hematologicznymi”

**wykonanej pod kierunkiem:
promotora, prof. dr hab. n. med. Krzysztofa Borowiaka
oraz
promotora pomocniczego, dr n. med. Tomasza Janusa**

**na Wydziale Medycyny i Stomatologii Pomorskiego Uniwersytetu
Medycznego w Szczecinie**

Przedłożona do recenzji praca doktorska dotyczy aktualnego problemu różnicowania chorób układu krwiotwórczego. W Polsce na choroby hematologiczne o podłożu nowotworowym każdego roku zapada kilkanaście tysięcy osób. Duża część chorych może jednak być skutecznie leczona, lecz kluczowe dla powodzenia terapii jest wczesne rozpoznanie rodzaju choroby. Skuteczność leczenia tych chorób zależy także między innymi od wdrożenia ukierunkowanej terapii. Ta zaś wymaga diagnostyki o jak najwyższym stopniu specyficzności. Podstawowe badanie, jakim jest morfologia krwi obwodowej jest mało specyficzne, dlatego dokładne rozpoznanie wykonywane jest w oparciu o dodatkowe markery. W ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat została zgromadzona znaczna wiedza na temat patomechanizmów chorób hematologicznych, głównie dzięki badaniom na poziomie molekularnym. Ośrodki hematologiczne dysponują także wieloma zaawansowanymi technikami analitycznymi. Mimo to nadal zdarzają się przypadki, w których ostateczna diagnoza napotyka na trudne do pokonania bariery, stąd też stale poszukiwane są nowe, bardziej wydajne biomarkery.

W ten obszar badań klinicznych wpisuje się recenzowana praca, w której Autorka opracowała, zoptymalizowała, przeprowadziła miarodajną walidację, jak również wdrożyła do praktycznego zastosowania nowoczesną technikę równoczesnego oznaczania histaminy i serotoniny w szpiku kostnym a następnie z jej pomocą dokonała oceny ich stężeń, jako potencjalnych biomarkerów różnicowania nowotworów mieloproliferacyjnych, zespołów mielodysplastycznych, ostrych białaczek, chorób limfoproliferacyjnych, innych chorób

hematologicznych bez cech nowotworzenia oraz mastocytozy. Należy podkreślić, że mgr Urszula Semeniuk zainteresowała się zmiennym poziomem histaminy w szpiku pacjentów z chorobami hematologicznymi jeszcze na etapie tworzenia pracy dyplomowej i już wówczas zwróciła uwagę na to, że istnieje luka informacyjna w tym zakresie. Drugim aspektem założeń dysertacji jest stale dokonujący się postęp w zakresie zrozumienia roli histaminy i serotoniny w procesie krwiotwórczym. Autorka w swojej pracy nie poprzestała na zwyczajnym określeniu relacji między rodzajami zaburzeń a poziomami substancji biologicznie czynnych, lecz także podjęła próby wyjaśnienia procesów, które za nimi stoją.

Tematykę naukową przedłożonej do recenzji pracy doktorskiej można więc określić jako nowatorską, a w ocenie wartości naukowej podjętego tematu badawczego należy uznać, że jest aktualny i odpowiadający obecnym potrzebom diagnostycznym, ma przy tym istotny walor poznawczy oraz wyraźnie określony aspekt praktyczny.

Cele rozprawy doktorskiej zostały sprecyzowane w zwięzłej postaci i są ściśle powiązane z tytułem. Wiodącymi celami badawczymi była ocena stężeń histaminy i serotoniny w szpiku kostnym u pacjentów z sześcioma chorobami hematologicznymi oraz ocena korelacji tych stężeń z parametrami morfologii krwi. Zamiar ten Autorka osiągnęła dzięki wdrożeniu odpowiedniego narzędzia badawczego, jakim było opracowanie selektywnej procedury równoczesnego oznaczania histaminy i serotoniny w szpiku kostnym z zastosowaniem chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas typu potrójny liniowy kwadrupol. Wyraźnie określone, trzy cele dysertacji świadczą o dojrzałości koncepcyjnej skupionej na osiągnięciu wymiernych efektów naukowych. W kilku zdaniach Autorka precyzyjnie określiła, co zamierza wykonać i jakie wyniki będą spełniać jej oczekiwania. Pomyślna ich realizacja wymagała jednak nie tylko sporego nakładu pracy i zaangażowania znacznych środków, ale przede wszystkim posiadania znacznych umiejętności w zakresie praktyki laboratoryjnej, a ponadto wiedzy specjalistycznej w zakresie biochemii, analityki chemicznej oraz diagnostyki medycznej i biostatystyki.

Badania zostały przeprowadzone zgodnie ze standardami bioetycznymi i zostały pozytywnie zaopiniowane przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu.

Od strony formalnej, struktura pracy doktorskiej mgr Urszuli Semeniuk jest zgodna z powszechnie przyjętym wzorcem. Została przygotowana, jako monografia z zachowaniem podziału na rozdziały i podrozdziały obejmujące: wykaz skrótów, wstęp, założenia i cele pracy, a następnie część doświadczalna obejmująca materiały i metody, rozdział przedstawiający wyniki, dyskusja oraz wnioski. Na końcu znajdują się zwięzłe streszczenia w języku polskim

i angielskim oraz wykaz piśmiennictwa. Praca liczy 115 stron wydruku komputerowego. Zawiera 28 rycin, 23 tabele oraz obejmuje 116 pozycji ponumerowanego piśmiennictwa ułożonego w kolejności cytowania.

Praca została napisana poprawnie formalno-językowo, stylistycznie oraz interpunkcyjnie. Czytanie dysertacji znakomicie ułatwia zwężłość tekstu, który jest spójny, logiczny i poprawny stylistycznie oraz właściwie wyważony między objętością tekstu a ilością tabel i grafik. Czytelnik niebędący specjalistą w dziedzinie reprezentowanej przez Doktorantkę łatwo może zaznajomić się ze wszystkimi aspektami dysertacji bez męczącego natężenia uwagi. Dobrze wyselekcjonowane piśmiennictwo w zdecydowanej większości składa się z prac anglojęzycznych o zasięgu międzynarodowym, a także opublikowanych nie dawniej niż 10 lat temu.

We wstępie liczącym 21 stron, Autorka przystępnym językiem w oparciu o aktualną wiedzę omówiła strukturę chemiczną, właściwości fizyko-chemiczne, funkcje biologiczne oraz metabolizm histaminy i serotoniny ze szczególnym naciskiem na wpływ tych amin biogennych na hematopoezę. W następnej części przedstawiła anatomię i fizjologię szpiku kostnego z uwzględnieniem jego roli w diagnostyce chorób hematologicznych, które omówiła nawiązując do celów pracy. Istotny fragment wstępu stanowi omówienie metod instrumentalnych mających zastosowanie w bioanalizie. W tej części Doktorantka skupiła się na trzech aspektach: wysoko selektywnej detekcji z zastosowaniem spektrometrii mas w układach sprzężonych, technikach rozdzielania chromatograficznego właściwego dla analitów o charakterze polarnym oraz elektrorozpylaniu, jako metodzie jonizacji biomolekuł w spektrometrii mas. W sposób przystępny, a zarazem niepozbawiony istotnych szczegółów przedstawiła opis techniczny i zasady działania spektrometrów mas wyposażonych w analizatory tandemowe, zasady oddziaływań hydrofilowych w procesach rozdzielania chromatograficznego oraz ograniczenia i tzw. pułapki analityczne związane z wpływem matrycy biologicznej na wytwarzanie zjonizowanych form oznaczanego związku. Informacje przedstawione w części teoretycznej znalazły następnie odzwierciedlenie w części eksperymentalnej.

Część teoretyczna rozprawy została bardzo dobrze zaplanowana: przedstawiane treści wyczerpująco omawiają dany temat, podrozdziały zachowują odpowiednie proporcje, a cytowane piśmiennictwo naukowe jest aktualne i odpowiednio zestawione. Należy ocenić, że wstęp dysertacji został opracowany w oparciu o aktualną wiedzę, zawiera sporą dawkę szczegółowych informacji, lecz jednocześnie w ilości adekwatnej do zrozumienia istoty tematu

badawczego. We wstępie Autorka zawarła też cenne uwagi praktyczne dotyczące kolumn typu HILIC, które wynikają z własnego doświadczenia. Wszystko to razem świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym i praktycznym Doktorantki.

Część doświadczalna zaczyna się od opisu materiału badawczego, którym był szpik kostny pobrany w sposób standardowy metodą biopsji aspiracyjnej od 100 pacjentów Kliniki Hematologii, Onkologii i Radioterapii. Próbkę była pozostałością po rutynowych badaniach klinicznych. Istotną częścią badań było także rozpoznanie jednostki chorobowej oraz analiza morfologiczna krwi, którą przeprowadzono w dniu przyjęcia pacjentów na oddział. Badania morfologii krwi obejmowały: liczbę krwinek białych, procentowy skład leukocytów, liczbę krwinek czerwonych, liczbę płytek krwi, hematokryt, stężenie hemoglobiny, średnią objętość krwinki czerwonej, średnią wagę hemoglobiny w krwince oraz średnie stężenie hemoglobiny w krwinkach. W tej części dysertacji daje się zauważyć brak chociażby w formie skrótowej opisu metody badań morfologii krwi oraz kryteriów w oparciu o które rozpoznano jednostki chorobowe i względem których później dokonano oceny statystycznej wyników badań szpiku. Z kontekstu czytelnik może jedynie się domyślić, że informacje te pochodziły z rutynowych badań klinicznych prowadzonych w Klinice Hematologii, Onkologii i Radioterapii.

Na następnych 13 stronach Doktorantka przedstawiła autorską metodę równoczesnego oznaczania histaminy i serotoniny w szpiku kostnym z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas z jonizacją przez rozpylanie w polu elektrycznym. Była to kluczowa część pracy badawczej obejmująca całą procedurę: od ekstrakcji z użyciem deuterowanej histaminy i serotoniny, jako standardów wewnętrznych, poprzez rozdział chromatograficzny z użyciem kolumny typu HILIC-Amide i specyficzną detekcję w trybie MRM, aż do szczegółów procedury walidacyjnej w tym tworzenia krzywej kalibracyjnej mimo braku dostępności tzw. zerowego materiału odniesieniowego. Czytelnik ma możliwość zapoznania się ze wszystkimi detalami, które decydują o skuteczności metody i minimalizacji wpływu matrycy biologicznej, co umożliwia implementację procedury w laboratorium wyposażonym w analogiczny sprzęt. Na szczególne uznanie zasługuje optymalizacja parametrów rozdziału serotoniny i histaminy z optymalizacją pracy spektrometru, który musiał podołać specyficznej detekcji z pełną powtarzalnością. Autorka osiągnęła zamierzony cel dużym nakładem pracy poprzez wielokrotnie powtarzane próby. Opracowanie metodyki zostało uwieńczone pełną walidacją całej procedury, którą Doktorantka przeprowadziła zgodnie z zasadami powszechnie przyjętymi w krajach europejskich. Skuteczność procesu optymalizacji całej procedury mgr Urszula Semenik w pełni udokumentowała zarówno w części metodycznej jak i w części poświęconej wynikom badań.

Opracowana metoda posłużyła do analizy próbek szpiku kostnego, który został podzielony na 6 grup zgodnie ze zdiagnozowanymi wcześniej jednostkami chorobowymi: tj. nowotwory mieloproliferacyjne (20 przypadków), zespoły mielodysplastyczne (10 przypadków), ostre białaczki (13 przypadków), choroby limfoproliferacyjne (22 przypadki), inne choroby hematologiczne bez cech nowotworzenia (33 przypadki) oraz mastocytozy (2 przypadki). Próbkę dodatkowo zostały podzielony na 3 przedziały stężeń histaminy i serotoniny, które można określić, jako niskie - poniżej limitu oznaczalności, średnie oraz wysokie. Uzyskane wyniki Doktorantka poddała ocenie statycznej za pomocą języka programowania R, spopularyzowanego w bioinformatyce środowiska do obliczeń statystycznych oraz wizualizacji wyników. Wykonała typowe obliczenia zmiennych ilościowych jak średnia, mediana, odchylenia standardowe i kwartyle, oraz zmiennych jakościowych jak liczebności i odsetki. Następnie oceniła różnice w grupach testem Kruskala-Wallisa a między-grupowe istotności statystyczne oceniła testem post-hoc Dunna. Do oceny korelacji zmiennych ilościowych zastosowała model korelacji rang Spearmana, zaś do analizy zmiennych między przedziałami stężeń a jednostkami chorobowymi użyła dokładnego testu Fishera.

Rezultaty badań wraz z oceną statystyczną opisową oraz oceną zależności i korelacji Autorka przedstawiła w 23 tabelach oraz na 28 rycinach. W oparciu o piśmiennictwo naukowe Doktorantka oceniła, że przekrój pacjentów pod kątem wieku, płci, liczebności poszczególnych jednostek chorobowych nie odbiegał od danych statystycznych dotyczących zachorowalności zaś parametry morfologii krwi za wyjątkiem nieznacznie większej liczby białych krwinek mieściły się w zakresach referencyjnych. Mgr Urszula Semeniuk stwierdziła, że we wszystkich próbkach szpiku kostnego obecna była histamina, jej średnie stężenie wynosiło ponad 300 ng/ml zaś 67 % przypadków mieściło się określonym przez Autorkę zakresie stężeń od 20 do 200 ng/ml. Natomiast stężenie serotoniny w większości przypadków, ponad 80 % było bardzo niskie, poniżej limitu oznaczalności 0,2 ng/ml.

W ocenie zależności między stężeniem histaminy a jednostkami chorobowymi najważniejszymi obserwacjami dokonanymi przez Autorkę było statystycznie istotne wyższe stężenie w przypadku występowania mastocytozy w porównaniu do zespołów mielodysplastycznych, ostrych białaczek, nowotworów limfoproliferacyjnych lub innych chorób hematologicznych bez cech nowotworzenia oraz istotne wyższe stężenie histaminy w przypadkach nowotworów mieloproliferacyjnych w porównaniu do zespołów mielodysplastycznych, ostrych białaczek oraz nowotworów limfoproliferacyjnych. Natomiast w zakresie korelacji między stężeniem histaminy a parametrami morfologicznymi krwi

Autorka stwierdziła istotną statystycznie dodatnią korelację z liczbą krwinek białych, liczbą płytek krwi oraz odsetkami neutrofilii, eozynofili i bazofili, zaś korelację ujemną z limfocytami. W ocenie grup stężeń histaminy w szpiku: <20 ng/ml, $20 - 200$ ng/ml oraz >200 ng/ml stwierdziła, że oba przypadki mastocytozy wystąpiły w grupie wysokich stężeń, a przypadki nowotworów mieloproliferacyjnych w zakresie średnim (14 pacjentów) i wysokim (6 pacjentów). Oceniając zależności między stężeniem histaminy a parametrami morfologicznymi krwi Autorce udało się ustalić, że w grupie przypadków o wysokim stężeniu histaminy (>200 ng/ml) podwyższona była liczba krwinek białych i jednocześnie niższy odsetek limfocytów, w grupie stężeń średnich ($20 - 200$ ng/ml) hematokryt był wyższy niż w grupie o niskim poziomie histaminy (<20 ng/ml), a w niej z kolei istotnie niższy był poziom płytek krwi.

Autorka nie stwierdziła żadnych statystycznie istotnych zależności między stężeniem serotoniny a jednostkami chorobowymi. Z uwagi na to, że ponad 80 % przypadków miało stężenie serotoniny poniżej LOQ = 0,2 ng/ml także podział na grupy stężeń nie wniósł dodatkowych informacji. Natomiast podobnie jak dla histaminy Doktorantka wykazała istotną dodatnią korelację stężenia serotoniny z liczbami krwinek białych i płytek krwi oraz ujemną z liczbą limfocytów a ponadto ujemną korelację ze średnim stężeniem hemoglobiny w krwinkach. Oceniając ewentualne zależności między stężeniem serotoniny a parametrami morfologicznymi krwi Autorce udało się stwierdzić, że w grupie przypadków o podwyższonym stężeniu serotoniny (>1 ng/ml) istotnie wyższa była liczba krwinek białych i płytek w porównaniu z grupą o niskim poziomie serotoniny oraz istotnie wyższy poziom bazofilów względem pozostałych grup stężeń. Natomiast w grupie stężeń $<0,2$ ng/ml w porównaniu do grupy $0,2 - 1$ ng/ml istotnie wyższe było średnie stężenie hemoglobiny w krwinkach oraz odsetek limfocytów, zaś odsetek neutrofilii - niższy.

Oceniając wartość naukową rezultatów badań należy wyróżnić część badawczo-rozwojową, jaką jest opracowanie autorskiej metody równoczesnego oznaczania serotoniny i histaminy w szpiku kostnym. Popularne w diagnostyce klinicznej testy immunochemiczne ELISA w przypadku badań materiału niestandardowego, a takim jest szpik kostny, bardzo często dają wyniki obarczone niedokładnością i ryzykiem reakcji krzyżowych. Dlatego w praktyce nie nadają się do badań naukowych, których celem jest określenie wartości diagnostycznej biomarkerów. Mgr Urszula Semeniuk musiała więc stworzyć odpowiednie narzędzie badawcze. Realizując ten cel, opracowała metodę mającą charakter referencyjny, czyli umożliwiającą uzyskanie wyników o najwyższy poziomie pewności. Autorka musiała pokonać kilka bardzo trudnych problemów technicznych związanych z właściwościami

fizykochemicznymi analitów oraz niekorzystnym wpływem matrycy biologicznej. W dyskusji Autorka zawarła wiele cennych, praktycznych uwag dotyczących przebiegu optymalizowania procesu analitycznego od doboru kolumn do parametrów elucji, ponadto, niejako „przy okazji” zidentyfikowała problem wynikający z zalecanej, lecz błędnej noty aplikacyjnej producenta kolumny typu HILIC. Dla analityka zajmującego się tego typu analizami uwagi Autorki mają dużą wartość praktyczną. Dzięki znacznemu nakładowi pracy, obejmującemu między innymi kilkuset analiz w trakcie samej optymalizacji Doktorantka uzyskała metodę powtarzalną i odtwarzalną, co jest bardzo trudne w przypadku układu HILIC. Należy ocenić, że mgr Urszula Semeniuk z powodzeniem pokonała znane ograniczenia i wady tego układu analitycznego. Istotnym problemem, z którym musiała zmierzyć się Autorka to także brak odpowiedniego materiału odniesieniowego o zerowej zawartości analitów, tzw. blankowej matrycy biologicznej koniecznej do przeprowadzenia procesu walidacji. W tym przypadku z powodzeniem zastosowała materiał zastępczy w postaci osocza krwi.

Oceniając wyniki części badawczej dysertacji należy podkreślić pionierski charakter przeprowadzonych badań szpiku kostnego za pomocą opracowanej techniki referencyjnej. Badania przeprowadziła na grupie 100 pacjentów ze zdiagnozowanymi chorobami układu krwiotwórczego. Należy uznać, iż jest to dostatecznie liczna grupa badawcza, gdyż ten rodzaj materiału biologicznego jest bardzo trudny do pozyskania a same badania wymagały przewyciężenia trudnych do pokonania barier technicznych. Jako pewien mankament można jedynie wymienić brak grupy kontrolnej, tj. próbek szpiku pobranych od osób zdrowych. Jednak zarazem trudno uznać to za istotną wadę przeprowadzonych badań zwłaszcza, że mają one charakter pionierski a pobranie szpiku jest inwazyjne i wykonywane jest w przypadkach uzasadnionych ze wskazaniem do biopsji aspiracyjnej. Można mieć jednak nadzieję, że w przyszłości będzie możliwe pozyskanie odpowiednich próbek i stosując metodę opracowaną przez Doktorantkę uda się określić dokładne wartości referencyjne poziomu histaminy i serotoniny w szpiku kostnym osób zdrowych.

Podział na przedziały stężeń histaminy i serotoniny Autorka dokonała w oparciu o znane wartości normatywne w surowicy lub osoczu krwi dla metod ELISA. Było to wprawdzie wymuszone brakiem znanych wartości referencyjnych dla szpiku, ale należy docenić to, że jest to pierwsza tego rodzaju praca a zastosowane kryterium spełniło swoją rolę. Można uznać, że w tym zakresie Autorka przetrąła szlak dla przyszłych badań. W dyskusji omówiła wszystkie stwierdzone zależności oraz podjęła próby ich wyjaśnienia. Jedynie nieliczne pozostawiła bez wytłumaczenia, co jednak było efektem braku odpowiednich publikacji. W przypadkach, gdy wyniki nie były zgodne z oczekiwaniem wynikającym z cytowanego piśmiennictwa Autorka

każdorzazowo wnikliwie omawiała możliwe przyczyny ich powstania. Należy ocenić, iż dyskusja została przeprowadzona kompetentnie i zwięźle w oparciu o bardzo dobrą znajomość aktualnego piśmiennictwa naukowego.

W rozdziale „Wnioski” mgr Urszula Semeniuk zawarła pięć najważniejszych tez odpowiadających celom, które Autorka przedstawiła na wstępie dysertacji. Są one efektem merytorycznej oceny uzyskanych wyników badań, do których doprowadziły konsekwentnie zrealizowane cele badawcze. Wykazała między innymi, że histamina jest syntetyzowana i magazynowana w komórkach szpiku kostnego i wskazała na możliwość uznania podwyższonego poziomu histaminy, jako obiecującego biomarkera mastocytozy, lecz dopiero po wykonaniu badań na większej próbie, gdyż jej badania objęły jedynie dwa przypadki. Także obiecująco przedstawiają się wnioski wynikające z dodatniej korelacji między stężeniem serotoniny a liczba płytek, co sugeruje możliwość jej syntezy przez megakariocyty, a tym samym możliwość uznania podwyższonego poziomu serotoniny w szpiku kostnym, jako biomarkera nieprawidłowości o charakterze mieloprolifacyjnym. Mgr Urszula Semeniuk przedstawiła tylko istotne wnioski, mimo, iż stwierdziła występowanie różnych zależności, co świadczy o dojrzałości naukowej Kandydatki.

Badania szpiku kostnego przeprowadzone przez mgr Urszulę Semeniuk należy uznać za innowacyjne w zakresie zastosowanej techniki analitycznej. Zwraca uwagę dobrze zaplanowany i przemyślany układ dysertacji, Autorka umiejętnie wprowadza czytelnika w istotne elementy pracy, co ułatwia tzw. czytanie ze zrozumieniem. Na szczególne podkreślenie zasługuje bardzo dobry wybór piśmiennictwa naukowego. Podczas lektury rozprawy nie napotkano wartych wzmianki błędów pisarskich i językowych. W tekście dysertacji dopatrzone są kilku tzw. literówek niewykrywalnych przez system MS Office, a z tzw. obowiązku recenzenta można wskazać jedynie drobne mankamenty, które w żaden sposób nie utrudniają zrozumienia tekstu, np.: na karcie 47 język i środowisko programowania R opisała, jako program komputerowy a na kartach 87 i 90 użyła określenia „najbardziej optymalny”, co jest tzw. pułapką tautologiczną. Oprócz tego na k. 48 wkradły się pomyłki w numerach rycin (jest 14 i 16 a powinno być 15 i 17) oraz numerze tabeli (jest 7 a powinno być 8), zaś na karcie 95 w linii 14 powinna być pozycja piśmiennictwa 113 zamiast 103.

W podsumowaniu należy podkreślić, że zamierzone cele Doktorantka osiągnęła z powodzeniem. Wnioski wynikające z przeprowadzonych badań są dobrym przykładem wykorzystania umiejętności praktycznych oraz znacznej wiedzy w zakresie analityki klinicznej. Uzyskane dane oraz wnioski z dyskusji są też dobrym przyczynkiem do

kontynuowania prac badawczych. Autorka wykorzystała potencjał dostępnej, nowatorskiej metody analitycznej oraz tzw. alternatywnego wobec krwi materiału badawczego. Przedłożoną do oceny rozprawę cechują więc istotne walory poznawcze i praktyczne oraz stanowi ona znaczącą pozycję naukową. Wszystko to składa się na wysoką ocenę rozprawy doktorskiej.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. z 2022 r., poz. 85 z późniejszymi zmianami).

Na tej podstawie wnoszę o dopuszczenie mgr Urszuli Semeniuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Lublin, 4 lipca 2022 r.

Prof. dr hab. n. med. Grzegorz Buszewicz



PODPIS ZAUFANY

GRZEGORZ
BUSZEWICZ

28.07.2022 11:31:31 [GMT+2]

Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym