

Prof. dr hab. n. med. Zenon Czuba

Zabrze 26.07.2023r

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii

ul. H. Jordana 19

41-808 Zabrze

E-mail: zczuba@sum.edu.pl

RECENZJA

**w postępowaniu w sprawie nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego
dr n. med. Marzenie Garley
z Zakładu Immunologii, Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny
Laboratoryjnej, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**

Dane biograficzne i działalność naukowa

Doktor Marzena Garley jest absolwentką Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, wówczas Akademii Medycznej w Białymstoku. gdzie w latach 2000 – 2005 studiowała na kierunku Analityka Medyczna. W 2005 roku uzyskała tytuł zawodowy magistra Analityki Medycznej. Następnie rozpoczęła studia doktoranckie na macierzystym Wydziale, które ukończyła w 2009 roku i obroniła pracę doktorską „Białka rodziny IL-17 w neutrofilach chorych ze stanami okołoszczękowymi oraz chorych na raka jamy ustnej” uzyskując stopień naukowy doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej. Promotorem w przewodzie doktorskim była prof. dr hab. Ewa Jabłońska, a recenzentami prof. dr hab. Jolanta Wysocka i prof. dr hab. Henryk Tchórzewski. Rozpoczęte badania naukowe przy realizacji pracy doktorskiej, związane z neutrofilami, pozostały wiodącym tematem Kandydatki do stopnia doktora habilitowanego. W 2009 roku uzyskała Prawo wykonywania zawodu diagnosty laboratoryjnego, a w 2016 roku tytuł specjalisty w dziedzinie Laboratoryjnej immunologii medycznej.

W roku 2009 Kandydatka rozpoczęła pracę w Zakładzie Immunologii Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku na stanowisku asystenta, a następnie adiunkta, gdzie pracuje do chwili obecnej.

Osiągnięcia naukowe o których mowa w art.219 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023r. poz. 742 z późn. zm.).

Doktor Marzena Garley uzyskała stopień doktora wypełniając tym samym ust. 1 powyższej Ustawy. Jako osiągnięcie naukowe Kandydatka przedstawiła cykl 7 powiązanych tematycznie artykułów naukowych, opublikowanych w czasopiśmie naukowych, których suma współczynników oddziaływania IF wynosi 12,204, a liczba punktów MNiSW = 710 (dane z listy z 2021r.).

Zaproponowany tytuł osiągnięcia naukowego to „Znaczenie zmian w formowaniu zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych (NETs) i polaryzacji neutrofilów w przebiegu raka płaskonabłonkowego jamy ustnej”.

W skład cyklu wchodzi następujące publikacje przedstawione **chronologicznie**:

1. **M. Garley**, E. Jablonska and D. Dabrowska, NETs in cancer, *TUMOR Biol.* 37 (2016) 14355–14361.; DOI:10.1007/s13277-016-5328-z (**IF=3,650, MNiSW=100**)
2. **M. Garley**, E. Jabłońska, A. Surażyński, K. Grubczak, W. Ratajczak-Wrona, A. Iwaniuk, D. Dabrowska, J. A. Palka and M. Moniuszko, Cytokine Network & NETs., *Folia Biol. (Praha)*. 63 (2017) 182–189. (**IF=1,044, MNiSW=100**)
3. **M. Garley**, D. Dziemianczyk-Pakiela, K. Grubczak, A. Surazynski, D. Dabrowska, W. Ratajczak-Wrona, J. Sawicka-Powierza, J. Borys, M. Moniuszko, J. A. Palka and E. Jablonska, Differences and similarities in the phenomenon of NETs formation in oral inflammation and in oral squamous cell carcinoma, *J. CANCER* 9 (2018) 1958–1965.; DOI:10.7150/jca.24238 (**IF=3,182, MNiSW=70**)
4. **M. Garley** and E. Jablonska, Heterogeneity Among Neutrophils, *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 66 (2018) 21–30.; DOI:10.1007/s00005-017-0476-4 (**IF=2,878, MNiSW=140**)
5. **M. Garley**, E. Jablonska, W. Miltyk, K. Grubczak, A. Surazynski, W. Ratajczak-Wrona, M. Grudzinska, K. H. Nowacka, M. Moniuszko, J. A. Palka, J. Borys and D. Dziemianczyk-Pakiela, Cancers Cells in Traps? The Pathways of NETs Formation in Response to OSCC in Humans-A Pilot Study, *CANCER Control* 27 (2020).; DOI:10.1177/1073274820960473 (**IF= 3,302, MNiSW=100**)
6. **M. Garley**, E. Jabłońska, D. Dziemianczyk-Pakiela, W. Miltyk, W. Ratajczak-Wrona, J. Borys, M. Moniuszko and K. Grubczak, LDGs versus NDGs in patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC)., *Cytokine* 137 (2021) 155311.; DOI:10.1016/j.cyto.2020.155311 (**IF= 3,861, MNiSW=100**)
7. **M. Garley**, D. Dziemianczyk-Pakiela, W. Ratajczak-Wrona, A. Pryczynicz, K. Nowak, B. Lazarczyk and E. Jablonska, NETs biomarkers in saliva and serum OSCC patients: One hypothesis, two conclusions, *Adv. Med. Sci.* 67 (2022) 45–54.; DOI:10.1016/j.advms.2021.12.004 (**IF= 3,287, MNiSW=100**)

W każdej zaproponowanej pracy cyklu Kandydatka jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym. Publikacje 1 i 4 są poglądowe, pozostałe oryginalne. Z dołączonych oświadczeń współautorów wynika, że dr Marzena Garley jest autorem hipotez badawczych i jej udział w prowadzonych badaniach jest dominujący.

Pierwsza praca stanowi podsumowanie wiedzy opartej na wynikach doświadczalnych innych badaczy na temat zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych (NETs) w przebiegu choroby nowotworowej. Pisząc tę pracę Habilitantka mogła zapoznać się z mechanizmami tworzenia NETs oraz uzyskać cenne wskazówki do przygotowania własnego warsztatu naukowego oraz zwrócenia uwagi na potencjalne trudności w planowanych badaniach. Prawdopodobnie bardzo pomocna w planowaniu przyszłych badań z wykorzystaniem neutrofilów była wcześniejsza wiedza uzyskana podczas przygotowywania rozprawy doktorskiej poświęconej także neutrofilom. Publikacja ta była jednym z pierwszych opracowań na forum międzynarodowym i została zacytowana 41 razy (Web of Science, dane z dnia 26.07.2023r.).

Druga publikacja zawiera istotne dane doświadczalne dotyczące izolacji neutrofilów z krwi obwodowej. Zastosowanie dodatkowego oczyszczania z wykorzystaniem kulek paramagnetycznych sprzężonych z przeciwciałami skierowanych do antygenów powierzchniowych tych komórek umożliwiło uzyskanie zawiesiny neutrofilów o dużo większej

czystości. Zastosowanie takiej metody również nie spowodowało aktywacji neutrofilów. Takie postępowanie pomogło uwidocznić powstające NETs przy wyeliminowaniu jasno fluoryzujących jąder innych komórek stanowiących zanieczyszczenie. Tematem wiodącym pracy była ocena ważnych w procesie zapalnych cytokin prozapalnych IL-15, IL-17, IL-18 i antyzapalnej IL-10. W badaniu neutrofile stymulowano także IL-8, która jest znanym czynnikiem regulującym formowanie NETs. Jako dodatkowych stymulatorów użyto lipopolisacharydu (LPS) oraz peptydu pochodzenia bakteryjnego fMLP. Zastosowane interleukiny prozapalne stymulowały z podobną intensywnością formowanie NETs w porównaniu do IL-8. Stymulacja uwalniania NETs przez IL-18 charakteryzowała się wolniejszym procesem prowadzącym do powstawania długich nici. Zaskakujące było tworzenie z opóźnieniem NETs pod wpływem IL-10 znanej jako cytokina hamująca proces zapalny. Skutkiem formowania NETs było obniżenie zawartości mieloperoksydazy (MPO) w neutrofilach, co potwierdzono w badaniu w cytometrze przepływowym z wykorzystaniem przeciwciał anti-MPO. Ponadto stwierdzono istnienie dwóch populacji neutrofilów o różnej zawartości MPO (niskiej – MPO_{low} i wysokiej – MPO_{high}) oraz uwzględniając wielkość populacje neutrofilów FSC_{low} i FSC_{high}. Najsilniejszymi stymulatorami NETs w obu populacjach neutrofilów okazały się LPS i fMLP. Uzyskane wyniki potwierdziły znaczenie lokalnych cytokin w formowaniu NETs.

W trzeciej pracy badacze skupili się na formowaniu NETs w stanie zapalnym w jamie ustnej i w chorobie nowotworowej w tej lokalizacji. Udowodniono nasilenie tworzenia NETs zarówno w stanie zapalnym jak i w chorobie nowotworowej. Ponadto potwierdzono, że krążący wolny DNA (cfDNA) pochodzi z neutrofilów oraz wykazano duży udział IL-17 w zaawansowanym stadium nowotworu.

Kolejna chronologicznie praca nr 4 jest pracą poglądową uwzględniającą uzyskane wyniki własnych badań i poszukiwaniem heterogenności neutrofilów w publikacjach innych autorów. W pracy powstaje hipoteza, że aktywność neutrofilów jest związana z heterogennością tych komórek. Publikacja spotkała się z zainteresowaniem i została zacytowana 42 razy (Web of Science, 26.07.2023r.).

Praca nr 5 opisuje wyniki ko-hodowli neutrofilów prawidłowych oraz izolowanych z krwi osób chorych na raka płaskonabłonkowego błony śluzowej jamy ustnej z komórkami linii raka płaskonabłonkowego (SCC – squamous cell carcinoma). Wykonano także hodowle neutrofilów z supernatantem z hodowli SCC. Wykazano tworzenie NETs po stymulacji neutrofilów wyizolowanych od osób chorych zarówno po stymulacji komórkami SCC, jak i po dodaniu supernatantu z hodowli hodowli SCC w odniesieniu do neutrofilów osób zdrowych. Odnotowano także wzrost aktywności MPO i cfDNA w hodowli neutrofilów stymulowanych supernatantem z hodowli SCC. Dowiedziono istnienie mechanizmu aktywacji kinazy Akt, niezależnego od PI3K, który prowadzi do formowania NETs u osób chorych na raka płaskonabłonkowego.

W pracy nr 6 badano populacje neutrofilów o niskiej (LDNs) i normalnej gęstości (NDNs) z oznaczeniem ekspresji IL-17 oraz uwzględniano komórki Th17 u chorych na raka płaskonabłonkowego jamy ustnej i określano wpływ rhIL-17 na stopień proliferacji komórek linii SCC. Potwierdzono istnienie u osób chorych dwóch populacji LDNs i NDNs wśród neutrofilów oraz wykazano związek IL-17 z przebiegiem raka płaskonabłonkowego jamy

ustnej. Dowiedziono, że nadreaktywne LDNs w bezpośrednim kontakcie z komórkami środowiska nowotworowego mogą produkować mediatory uczestniczące w progresji guza.

Ostania (7) publikacja osiągnięcia naukowego dotyczy mechanizmów tworzenia NETs w przebiegu rozwoju raka płaskonabłonkowego jamy ustnej. W badaniach oceniano nie tylko biomarkery NETs w neutrofilach ale także w tkance guza, surowicy i w ślinie. Wykazano zależność między aktywacją oksydazy NADPH a formowaniem NETs. Niskie stężenia oksydazy NADPH w ślinie pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej sugerują, że aktywacja i udział oksydazy NADPH w formowaniu NETs nie są wystarczające i mogą być przyczyną zaburzeń odporności przeciwwzakaznej prowadząc do rozwoju stanu zapalnego i w konsekwencji ryzyka progresji choroby nowotworowej. Zlokalizowano NETs w tkance guza. Wysokim stężeniem DNazy w surowicy towarzyszyło niskie stężenie tego enzymu w ślinie, co ograniczało degradację DNA NETs u chorych z nowotworem. Wysokie stężenia biomarkerów NETs w surowicy chorych z nowotworem w porównaniu z niskimi ich stężeniami w ślinie wskazują na odmienny charakter reakcji odpornościowej na obwodzie w odniesieniu od reakcji miejscowej.

W mojej ocenie osiągnięcie naukowe w postaci cyklu 7 publikacji ma wysoką wartość naukową i spełnia warunki Art.219, ust. 2b ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023r. poz. 742 z późn. zm.). Badania naukowe zrealizowane przez Habilitantkę zostały dobrze zaprojektowane i wykonane. Przedstawione prace są cytowane przez innych autorów publikacji, co podkreśla ich znaczenie w świecie naukowym. Wykonanie badań zawartych w powyższych publikacjach i ich zakres oraz analiza wyników w odniesieniu do uzyskanych przez innych autorów podkreśla dojrzałość naukową Habilitantki.

Informacja o wykazaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

1. Dr Marzena Garley brała udział w projekcie ERASMUS+ STT 2019/2020, który umożliwił Jej odbycie szkolenia naukowego w Adnan Menderes Universitesi, Aydin, Turcja w terminie 2.12.2019r. – 5.01.2020r. (dane potwierdzone przez Ośrodek w Turcji i Prorektora ds. Nauki i Rozwoju Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku). Podczas pobytu brała udział w pracach badawczych z zakresu immunologii infekcyjnej oraz wygłosiła wykład: „Life and death of neutrophils in a microscope”.
2. Współpraca naukowa podczas prac nad wnioskiem o dofinansowanie projektu „Odmowa szczepień jako wyzwanie dla polityki zdrowotnej państwa, zaufania społecznego, zdrowia publicznego oraz polityki rodzinnej i społecznej” (dane potwierdzone przez Prorektora ds. Nauki i Rozwoju Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku). Projekt przygotowano we współpracy Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z Uniwersytetem w Białymstoku, Śląskim Uniwersytetem Medycznym w Katowicach oraz przewidzianym w realizacji projektu The Chancellor, Masters and Scholars of the University of Cambridge, United Kingdom.
3. Współpraca naukowa z lekarzami Otolaryngologii i Chirurgii Szczerkowo-Twarzowej Wojewódzkiego Szpitala Zespołowego im. Jędrzeja Śniadeckiego w Białymstoku (współpraca potwierdzona dostarczonym załącznikiem). Współpraca z dr Dziemiańczyk-Pakielą oraz z dr Bogdanem Łazarczykiem z którym realizuje

projekt statutowy zakładający ocenę genów odpowiedzialnych za regulację zjawiska formowania zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych (NETs) u chorych na raka płaskonabłonkowego jamy ustnej.

4. Świadczenia wolontariackie oraz współpraca naukowa z Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Białymstoku (od 18 października 2019r. do chwili obecnej) (dane potwierdzone dostarczonym załącznikiem).
5. Współpraca naukowa z mgr Justyną Pastuszek z Medycznego Laboratorium Diagnostycznego Beskidzkiego Centrum Medycznego w Bielsku Białej (dane potwierdzone dostarczonym załącznikiem). Współpraca dotyczy NETs i chorób z autoimmunizacji.
6. Współpraca naukowa z dr Janem Czernieckim z Zakładu Biologii i Patologii Rozrodu Człowieka, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie (dane potwierdzone dostarczonym załącznikiem), dotycząca skutków narażenia organizmu człowieka na bisfenol A.

Współpraca naukowa została potwierdzona licznymi publikacjami naukowymi. Według mojej oceny powyższa współpraca naukowa, pobyt naukowy w Adnan Menderes Universitesi, Aydin, Turcja oraz wolontariat połączony ze współpracą naukową wypełniają Art.219 ust.3 Ustawy.

Informacje o osiągnięciach dydaktycznych i organizacyjnych

1. W ramach obowiązków dydaktycznych Habilitantka prowadzi liczne zajęcia dydaktyczne związane między innymi z immunologią i serologią, transfuzjologią, immunopatologią i immunodiagnostyką, immunoblotingiem, dla różnych kierunków kształcenia, realizowane przez Zakład Immunologii. Ponadto prowadziła zajęcia z dydaktyczne ze studentami studiów doktoranckich i międzynarodowych studiów doktoranckich.
2. Swoje umiejętności dydaktyczne, także w języku angielskim, doskonaliła na licznych kursach.
3. W latach 2015-20 pełniła funkcję promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim Doroty Dąbrowskiej-Zagroby pt. "Wpływ flawonoidów oraz witaminy C na formowanie zewnątrz komórkowych sieci neutrofilowych (NETs) u chorych na miażdżycę".
4. Była kierownikiem 16 prac magisterskich oraz recenzentem pracy magisterskiej.
5. Jest opiekunem Studenckiego Koła naukowego przy Zakładzie Immunologii.
6. Pełniła funkcję opiekuna zawodowych praktyk wakacyjnych studentów oraz opiekuna studentów stażystów.
7. Angażuje się w liczne inicjatywy organizowane przez studentów.
8. Jej praca dydaktyczna została doceniona przez studentów i wyróżniona drugim miejscem w konkursie przeprowadzonym przez Kapitułę Studencką na „Najlepszego Nauczyciela Akademickiego” w roku 2016/2017 na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku oraz trzecim miejscem w roku 2015/2016, czego konsekwencją były dwie nagrody dydaktyczne II i III stopnia JM Rektora UM.
9. Była członkiem Wydziałowego Zespołu do Spraw Zapewnienia i Doskonalenia Jakości Kształcenia Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej UM w Białymstoku oraz członkiem Zespołu kontrolującego praktyki zawodowe i członkiem Komisji przeprowadzającej egzamin wstępny na I rok studiów.

10. Od 2009 roku jest członkiem Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych.
11. Bierze udział w kształceniu podyplomowym w ramach specjalizacji dla Diagnostów Laboratoryjnych specjalizujących się w Laboratoryjnej diagnostyce medycznej oraz Laboratoryjnej immunologii medycznej i od 2017 roku jest Kierownikiem Specjalizacji trzech diagnostów laboratoryjnych.
12. Od 2005 roku jest członkiem Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, a w latach 2010-17 pełniła funkcję skarbnika Białostockiego Oddziału tego Towarzystwa. Brała udział w organizacji (członek Komitetu Organizacyjnego) XVII Congress of the Polish Society of Experimental and Clinical Immunology.
13. W ramach popularyzacji nauki rokrocznie prowadzi warsztaty podczas Podlaskiego Festiwalu Nauki i Sztuki w Białymstoku (od 2014r.)
14. Podczas pobytu na stażu w Aydin w Turcji (2019r.) wygłosiła także wykład na spotkaniu związku nauczycieli pt. „Medical University of Białystok in the education system in Poland”.

Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze

Inne osiągnięcia naukowe zrealizowane przez Habilitantkę to między innymi:

1. Apoptoza neutrofilów w przebiegu choroby nowotworowej.
2. Immunomodulujący wpływ bisfenolu A na ludzkie neutrofile.
3. Wpływ N-nitrozodiaminy (NDMA) na transdukcję sygnału w ludzkich leukocytach.

Powyższe osiągnięcia naukowe zostały potwierdzone licznymi publikacjami.

Habilitantka była wykonawcą jednego projektu międzynarodowego, dwóch z NCN oraz jednego MNiSW oraz aplikowała, jako kierownik projektu, o granty NCN, które nie uzyskały finansowania.

Recenzowała prace innych autorów na zaproszenie licznych redakcji (19 czasopism).

Brała udział w licznych szkoleniach, kursach i stażach.

Za swoją działalność otrzymała 6 nagród naukowych i 3 nagrody dydaktyczne JM Rektora UM. Ponadto została wyróżniona trzema stypendiami (w 2010r. i dwa w 2012r.).

Dorobek poza publikacjami wskazanego osiągnięcia naukowego liczy **44** prace oraz **39** streszczeń z konferencji. Suma punktów całości dorobku naukowego wynosi: **IF=116,288** i liczba punktów **MEiN = 4070**. Liczba cytowań wg. **Web of Science** wynosi **314**, a **h-index=10**.

Wniosek końcowy

Osiągnięcie naukowe dr Marzeny Garley pt. „Znaczenie zmian w formowaniu zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych (NETs) i polaryzacji neutrofilów w przebiegu raka płaskonabłonkowego jamy ustnej” na podstawie 7 publikacji i Jej współpracę naukową oraz pozostały dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny **oceniłam bardzo wysoko** i uważam, że spełnia wszystkie kryteria stawiane w Art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023r., poz. 742 ze zm.).

W związku w powyższym mam zaszczyt wnioskować do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie dr Marzeny Garley do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Mikrobiologii i Immunologii
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Z. Czuba
prof. dr hab. n. med. Zenon Czuba