

Gdańsk, 8.08.2022

**Recenzja w postępowaniu habilitacyjnym dr n. med Marzeny Garley, w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.**

- I. **Dane ogólne:** Habilitantka jest absolwentką Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Akademii Medycznej w Białymstoku, kierunku Analityka Medyczna. Stopień doktora nauk medycznych uzyskała w roku 2009, na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku. Od roku 2009 zajmowała następujące stanowiska w Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku, w Zakładzie Immunologii Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej: doktorant, asystent i adiunkt.
  
- II. **Ocena osiągnięcia naukowego „Znaczenie zmian w formowaniu zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych (NETs) i polaryzacji neutrofilów w przebiegu raka płaskonabłonkowego jamy ustnej”.**

Osiągnięcie naukowe stanowi 7 prac: 5 oryginalnych i 2 prace poglądowe o łącznym współczynniku oddziaływania 21,204 i 710 punktach MNiSW. Prace zostały opublikowane w latach 2016-2022. We wszystkich pracach kandydatka jest pierwszym i korespondującym autorem. Wszystkie prace oryginalne są wieloautorskie – od 6 do 11 autorów, ale udział kandydatki jest wyraźnie najważniejszy, chociaż nie określa tego procentowo; na podstawie oświadczenia habilitantki, że jej wkład polegał na postawieniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu badań, przeprowadzeniu doświadczeń, przeprowadzeniu analiz statystycznych i interpretacji wyników badań, napisaniu i korekcie manuskryptów. Do dokumentacji dołączono oświadczenia współautorów deklarujące ich udział w poszczególnych pracach, co jest zgodne z oświadczeniem kandydatki. Prace poglądowe są dwuautorskie, pierwsza praca

stanowi dobry i ważny wstęp do badań będących osiągnięciem naukowym, druga praca podsumowuje bardzo ciekawe i nowe informacje dotyczące heterogenności neutrofilów. Tematyka prac jest zgodna z tytułem osiągnięcia naukowego.

**W pierwszej pracy poglądowej** Habilitantka zestawia dostępną wiedzę na temat formowania NETs opublikowaną przez różnych autorów, co doprowadziło do podjęcia własnych badań na ten temat, w szczególności uwzględniając zdolności do tworzenia sieci neutrofilowych w przebiegu choroby nowotworowej. Praca ta stanowi początek cyklu prac, a wnioski z niej wyciągnięte pozwoliły na zaplanowanie oryginalnych doświadczeń.

**Pierwsza praca oryginalna** to opracowanie przez Habilitantkę własnej wiarygodnej metody oceny procesu formowania NETs (poprzez zastosowanie dobrej metody izolacji neutrofilów z krwi obwodowej - sortowanie w polu magnetycznym) oraz ustalenie parametrów technicznych w systemie mikroskopowym umożliwiającym wykonanie zdjęć struktur NETs. Habilitantka dodatkowo wykazała obecność głównego białka - mieloperoksydazy (MPO) w strukturach NETs, a także analizowała ekspresję tego enzymu w neutrofilach krwi obwodowej. W pracy tej został wykazany zróżnicowany obraz struktur NETs w obecności różnych cytokin: IL-15, IL-17, IL-18, IL-10 oraz egzogenego fMLP (*N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine*). Wyniki te stały się podstawą do sformułowania hipotezy o różnym sposobie uwalniania sieci na zewnątrz komórki, w sposób gwałtowny lub powolny. Ciekawym aspektem tej pracy jest wykazanie skutków tworzenia sieci neutrofilowych zawierających zewnątrzkomórkową MPO - czyli istnienie 2 subpopulacji neutrofilów o niskiej i wysokiej ekspresji MPO; co wydaje się wskazywać na heterogenność neutrofilów, uważanych dotychczas za homogenną populację komórek.

**W drugiej pracy oryginalnej** Habilitantka przeprowadziła badania nad procesem formowania sieci neutrofilowych u pacjentów ze stanem zapalnym jamy ustnej oraz pacjentów z nowotworem jamy ustnej (rak płaskonabłonkowy jamy ustnej). Wyniki wykazały, że zjawisko formowania sieci neutrofilowych występuje zarówno w stanie zapalnym, jak i u

pacjentów z nowotworem w jamie ustnej. U pacjentów z rakiem jamy ustnej zwiększone formowanie NETs stwierdzono tylko u pacjentów z I/II stadium zaawansowania raka. Stymulacja LPS i rhIL-17 powodowała wzrost tworzenia sieci we wszystkich badanych grupach. Konsekwencją zwiększonego tworzenia NETs było uwolnienie wolnego cyrkulującego DNA (cfDNA) – chociaż słowo cyrkulujący można było zastąpić krążącego. Zwiększone stężenia cfDNA stwierdzono zarówno w supernatantach z nad neutrofilów, jak i w surowicy chorych na raka. W tej pracy potwierdzono, że tworzenie NETs było nasilone przy stymulacji LPS i IL-17. Wyniki tej pracy skłoniły Habilitantkę do kontynuacji badań nad tworzeniem NETs u chorych na raka jamy ustnej w odpowiedzi na kontakt z komórkami linii komórkowych raka płaskonabłonkowego (SCC) w porównaniu do osób zdrowych oraz stymulacji supernatantem z hodowli SCC. W tej pracy (H5) wykazano zwiększenie tworzenia sieci neutrofilowych u osób z rakiem jamy ustnej po kontakcie z komórkami linii komórkowej raka płaskonabłonkowego, ale co ciekawsze i ważniejsze, także po stymulacji supernatantem z tej linii. Ta druga obserwacja wydaje się mieć większe znaczenie kliniczne, ponieważ wskazuje na silny wpływ czynników uwalnianych z guza pierwotnego na formowanie NETs, co może sprzyjać tworzeniu przerzutów nowotworowych. Pozostaje jednak pytanie, czy w supernatancie z linii komórkowych raka są podobne aktywne biologicznie substancje jak te wydzielane przez guz pierwotny. (rzecz do dyskusji). W tej samej pracy Habilitantka wykazała istnienie nieco innego mechanizmu aktywacji NETs u osób chorych na raka płaskonabłonkowego niż u osób zdrowych – aktywacja kinazy Akt z towarzyszącą niską aktywacją PIK3, co wydaje się ciekawym aspektem następnych badań.

**W następnej pracy oryginalnej (H7) Habilitantka badała mechanizmy tworzenia sieci zewnątrzkomórkowych neutrofilowych w przebiegu choroby nowotworowej w różnych materiałach biologicznych: w tkance guza, neutrofilach, ślinie oraz surowicy. Najcenniejszą i pionierską obserwacją było stwierdzenie występowania zewnętrznych NETs w tkance guza u pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym błony śluzowej jamy ustnej. W tkance guza zaobserwowano też naciek neutrofilów i zewnątrzkomórkową lokalizację MPO i histonów**



**wplecionych w nici DNA sieci w obrębie guza co wskazuje na miejscowe tworzenie NETs.** Intensywność tworzenia NETs była związana z większymi rozmiarami guza i występowaniem przerzutów do węzłów chłonnych. **Jest to bardzo ważna obserwacja dodająca nowy potencjalny mechanizm tworzenia przerzutów w tym raku.** Badanie licznych markerów związanych z aktywacją NETs w surowicy krwi i ślinie pacjentów wykazało podwyższone stężenia tych markerów w surowicy krwi, i obniżone stężenia w ślinie. Znaczenie tych badań jest jeszcze niejasne, może świadczyć o zaburzonej homeostazie w jamie ustnej pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej.

Następna praca w **cyklu jest pracą poglądową** dotyczącą heterogenności neutrofilów. Habilitantka zebrała w niej informacje dotyczące różnych aspektów różnorodności neutrofilów: subpopulacji o różnym czasie przeżycia, subpopulacjach o różnych funkcjach immunoregulujących, subpopulacjach różnie odpowiadających na *Staphylococcus aureus*, subpopulacjach o różnej roli w procesie zapalnym, subpopulacjach o niskiej i normalnej gęstości, subpopulacjach o różnej roli w procesie nowotworowym (obecnych w tkance guzów – TANs – tumor-associated neutrophils). Praca ta jest dobrym wstępem do następnej pracy oryginalnej dotyczącej zjawiska polaryzacji neutrofilów w przebiegu procesu nowotworowego. Habilitantka potwierdziła istnienie 2 subpopulacji neutrofilów różniących się gęstością: neutrofile o niskiej gęstości (LDNs) i neutrofile o normalnej gęstości (NDNs), oraz zwiększoną ekspresję IL-17 w komórkach LDNs oraz wykazała, że u pacjentów we wczesnej fazie raka płaskonabłonkowego jamy ustnej odsetek neutrofilów o niskiej gęstości jest istotnie wyższy. Źródłem IL-17 są także limfocyty Th17, których zwiększony odsetek wykazano u pacjentów z nowotworem.

Jedyną uwagę dotyczącą przedstawienia osiągnięcia habilitacyjnego mam do kolejności publikacji w tym osiągnięciu, rozumiem, że pierwotna numeracja wynikała z roku publikacji; natomiast logiczna całość w autoreferacie jest trochę inna, ale zostało to jasno przedstawione i moim zdaniem znacznie logiczniej. To jest tylko uwaga techniczna.

Podsumowując cykl prac zgłoszonych jako osiągnięcie habilitacyjne – prace oryginalne, z większościowym udziałem Kandydatki, wykonane metodycznie starannie, z zastosowaniem licznych technik laboratoryjnych: izolacji immunomagnetycznej neutrofilów; tworzenie NETs od osób zdrowych, pacjentów chorych na raka oraz stymulowanie tworzenie sieci przez różne substancje endo- i egzogenne; izolacji wolno krążącego DNA; badanie elementów aktywacji sieci pozakomórkowych neutrofilów – metodami cytometrii przepływowej, mikroskopii fluorescencyjnej i ELISA; badanie mechanizmów aktywacji kinaz towarzyszących tworzeniu NETs – metodą Western Blot – wymagające współpracy z innymi naukowcami – świadczą o rozwiniętym warsztacie badawczym i świadczą o umiejętności współpracy.

Prace opisujące nowe aspekty zaangażowania neutrofilów w proces biologii nowotworów, podważające starą koncepcję krótko żyjących homogennych neutrofilów, a dowodzące istotnego znaczenia tworzenia się NETs oraz polaryzacji neutrofilów w patomechanizmie raka płaskonabłonkowego jamy ustnej są logicznym i konsekwentnym dziełem spełniającym kryteria ustawy odnośnie prac habilitacyjnych. Jest to cykl 7 prac powiązanych tematycznie, stanowiących istotny wkład Autorki w nowoczesne badania nad znaczeniem neutrofilów w procesie nowotworowym.

### III. Ocena dorobku naukowego

Dorobek naukowy wg analizy bibliometrycznej na dzień 28 grudnia 2021 roku – przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora: 3 prace oryginalne, o łącznym IF=2,439 i punktach MNiSW=240. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora: 41 prac oryginalnych i 8 prace przeglądowe o łącznym IF=113,849, punktach MNiSW=3830. Zestawienie dorobku naukowego przed uzyskaniem stopnia doktora i po jego uzyskaniu wykazuje znaczny przyrost tego dorobku, który spełnia kryteria znacznej aktywności naukowej.

**Tematyka badawcza kandydatki jest heterogenna (aczkolwiek dominują w niej neutrofile) i wiąże się z licznymi współpracami naukowymi i zaangażowaniem Habilitantki w liczne projekty naukowe.**

Obszar 1 – Badanie białek rodziny IL-17 u chorych ze stanami zapalnymi okołoszczękowymi oraz chorych na raka jamy ustnej – to temat zrealizowany jako praca doktorska. W tym obszarze 4 publikacje.

Obszar 2 – badanie apoptozy neutrofilów w przebiegu choroby nowotworowej; pacjenci chorzy na raka płaskonabłonkowego jamy ustnej, praca w zespole prof. Ewy Jabłońskiej. W tym obszarze 5 publikacji.

Obszar 3 – badanie immunomodulacyjnego wpływ bisfenolu A na funkcje ludzkich neutrofilów, w zespole kierowanym przez Dr hab. Wiolettę Ratajczak-Wronę. W tym obszarze 3 publikacje.

Obszar 4 – badanie wpływu NDMA na transdukcję sygnału w ludzkich leukocytach, w zespole kierowanym przez Dr hab. Wiolettę Ratajczak-Wronę. W tym obszarze 6 publikacji.

Oprócz zdefiniowanych 4 obszarów badawczych Habilitantka była zaangażowana w liczne mniejsze współprace, których wynikiem jest współautorstwo kilkudziesięciu prac oryginalnych.

**Kandydatka ma imponujący zakres współprac naukowych zarówno w obrębie Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (5 jednostek: Zakład Medycyny Rodzinnej, Klinika Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych, Zakład Zdrowia Publicznego, Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Zakład Chemii Nieorganicznej); jak i poza nim m.in. z Regionalnym Centrum Krwiodawstwa w Białymstoku; Zakładem Biologii i Patologii Rozrodu Człowieka, Instytutem Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie, Medycznym Laboratorium Diagnostycznym Beskidzkiego Centrum Medycznego w Bielsku-Białej.**



**Prace Habilitantki zostały zacytowane łącznie 279 razy w według bazy Web of Science Core Collection (bez autocytowań), a indeks Hirscha według bazy Web of Science Core Collection =10.**

**Podsumowując dorobek naukowy dr Marzeny Garley uważam, że Habilitantka posiada bardzo dobry dorobek naukowy, spełniający kryteria znaczącej aktywności naukowej do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego; Habilitantka wykazuje stały rozwój naukowy po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych.**

#### **IV. Ocena dorobku dydaktycznego, współpracy z organizacjami, instytucjami i towarzystwami naukowymi oraz działalności popularyzującej naukę**

Habilitantka od początku rozwoju naukowego była aktywnym uczestnikiem różnych projektów; była kierownikiem 11 projektów badawczych finansowanych z dotacji statutowej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, i **współwykonawcą w 39)! Jest to imponująca liczba projektów, świadczy o dużych kompetencjach współpracy z innymi naukowcami.**

Habilitantka była wykonawcą w kilku projektach finansowanych ze środków zewnętrznych:

1. Wykonawca w projekcie ImPRESS „International Interdisciplinary PhD studies in Biomedical Research and Biostatistics” w ramach konkursu COFUND Doctoral Programmes w Akcjach Marii Skłodowskiej-Curie w programie ramowym Horyzont 2020 oraz Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach ‘Projektów Międzynarodowych Współfinansowanych” rok 2021.

2. Wykonawca w projekcie „Kannabidiol jako potencjalny czynnik terapeutyczny w łuszczycy oraz jego rola w stabilizacji fizjologicznego poziomu mediatorów lipidowych”, OPUS 12 – rok 2016.

3. Wykonawcą w projekcie 'Zbadanie estrogeno-podobnego mechanizmu działania parabenów w kontekście oceny ich wpływu na funkcje i czas życia ludzkich neutrofilów' PRELUDIUM 16 – rok 2018.

4. Współwykonawca w projekcie „Czynniki transkrypcyjne regulujące ekspresję indukowanej syntazy tlenu azotu (iNOS) w ludzkich neutrofilach ekspozowanych na działanie N-nitrozodimetylaminy (NDMA), w ramach „luventus Plus”. 2010-2011.

Niestety 6 projektów składanych jako kierownik projektu – w latach 2010-2021 nie uzyskały finansowania. Nie jest to zarzut, tylko stwierdzenie faktu. Życzę Habilitantce więcej szczęścia w następnych latach.

**Tak duże zaangażowanie w projekty badawcze jest dobrym wskaźnikiem rozwoju naukowego i rokuje dalszy rozwój kariery naukowej.**

Dr Marzena Garley brała aktywny udział w 10 konferencjach zagranicznych i 29 krajowych.

Dr Marzena Garley odbyła tylko 1 krótkoterminowy staż w ośrodku zagranicznym, ale patrząc na jej zaangażowanie w pracę naukową, dydaktyczną organizacyjną, wolontarną i popularyzatorską – moim zdaniem jej działalność kompensuje brak długoterminowego wyjazdu. Moim zdaniem dowodzi, że przy takim szerokim zaangażowaniu w sprawy lokalne i umiejętnościach zorganizowania miejsca pracy w UMB na poziomie światowych badań, nie ma bezwzględnej konieczności długoterminowych wyjazdów zagranicznych.

#### **Dydaktyka:**

##### **Dydaktyka przeddyplomowa:**

Habilitantka była kierownikiem 16 prac magisterskich studentów kierunku Analizy Medycznej.



Habilitantka bierze aktywny udział w organizacji zajęć dydaktycznych dla studentów poprzez m.in. współtworzenie sylabusów, planowaniu zajęć dydaktycznych oraz ich bieżącej organizacji. Prowadzi ćwiczenia i seminaria dla studentów Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z kilku przedmiotów” „Immunologia”, „Immunopatologia z immunodiagnostyką”, „Serologia grup krwi i transfuzjologia”, „Praktyczna nauka zawodu – Serologia grup krwi”. Prowadzi też zajęcia fakultatywne. Na które studenci zapisują się dobrowolnie, co podkreśla jakość prowadzonych przez nią zajęć.

#### **Dydaktyka podyplomowa:**

Kandydatka prowadzi zajęcia praktyczne z przedmiotu „Zastosowanie technik immunoblotingu w badaniach biomedyczo-farmaceutycznych” dla studentów **Studiów Doktoranckich PL i Międzynarodowych ED**. Przygotowała i przeprowadziła zajęcia w języku angielskim z przedmiotu „Immunology” i „Facultative Advances Courses in Immunology”.

Habilitantka bierze aktywny udział w szkoleniu podyplomowym, **w ramach specjalizacji dla Diagnostów Laboratoryjnych** specjalizujących się w dziedzinie Laboratoryjnej diagnostyce medycznej oraz Laboratoryjnej immunologii medycznej. Od 2017 jest kierownikiem specjalizacji 3 diagnostów laboratoryjnych.

#### **Samokształcenie:**

**Habilitantka kształci się nieustannie na bardzo różnych polach: zawodowych:** specjalizacja z Diagnostyki laboratoryjnej; dydaktycznie uczestnicząc w szkoleniach dotyczących m.in. tutoring; metodycznie – kursy dotyczące technik laboratoryjnych; prawnie – regulacje prawne zawodu diagnosty laboratoryjnego; naukowych itd.

**Nie sposób wymienić wszystkich osiągnięć dydaktycznych Kandydatki, więc podsumuję krótko – dorobek dydaktyczny jest imponujący i przekraczający wszelkie wymagania do stopnia doktora habilitowanego.**

#### **Działanie organizacyjne:**

Kandydatka jest członkiem 2 towarzystw naukowych: Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych i Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej. W latach 2010-2017 pełniła funkcję skarbnika Białostockiego Oddziału PTIDiK. W roku 2021 była członkiem Komitetu Organizacyjnego Międzynarodowego XVII Zjazdu PTIDiK w Białymstoku, (on-line).

Habilitantka jest opiekunem Studenckiego Koła Naukowego przy Zakładzie Immunologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku; uczestniczyła w prowadzeniu i przygotowaniu III Ogólnopolskich Symulacji Diagnostycznych dla studentów Analityki Medycznej (2017); brała udział w obradach Jury podczas 6 International Medical Congress for Young Scientists (2011-2019); rokrocznie bierze udział w Ogólnopolskiej Konferencji Studentów Medycyny Laboratoryjnej i Młodych Diagnostów ‘Wschodząca Diagnostyka’ .

W latach 2013-2016 była członkiem grupy roboczej Wydziałowego Zespołu do Spraw Zapewnienia i Doskonalenia Jakości Kształcenia Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej UMB; od 2016 jest członkiem Rady Programowej Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej UMB na kierunku Analityka Medyczna w charakterze koordynatora z zakresu praktyk zawodowych, a od 2020 pełni funkcję Koordynatora praktyk zawodowych.

Habilitantka wykonuje świadczenie wolontarystyczne w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Białymstoku.

**Podsumowując: Habilitantka ma imponujący dorobek organizacyjny, zarówno w Uczelni, jak i poza Uczelnią.**

### **Działalność popularyzatorska**

Kandydatka prowadzi rokrocznie warsztaty podczas Podlaskiego Festiwalu Nauki i Sztuki w Białymstoku od roku 2014. Koordynuje akcję promocyjną 'Studiuj w UMB' i prowadzi zajęcia z uczniami szkół gimnazjalnych i ponadgimnazjalnych od 2015 roku.

Dr Marzena Garley wielokrotnie recenzował manuskrypty do kilkunastu międzynarodowych czasopism naukowych.

**Podsumowując tę część dorobku – bardzo dobry dorobek o charakterze współpracy z instytucjami naukowymi i czasopismami, bardzo dobre zaangażowanie w projekty naukowe, bardzo aktywny udział w dydaktyce.**

### **Podsumowanie końcowe**

Cykl 7 prac zgłoszonych jako osiągnięcie habilitacyjne – 5 prac oryginalnych, z większościowym udziałem Kandydata, wykonane metodycznie starannie, z zastosowaniem licznych technik laboratoryjnych opisujące nowo odkryte mechanizmy aktywacji neutrofilów u pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej jest logicznym i konsekwentnym dziełem spełniającym kryteria ustawy odnośnie prac habilitacyjnych. 2 prace pogładowe są bardzo wartościowe i ich włączenie w osiągnięcie jest niezbędnym elementem.

Cykl 7 prac powiązanych tematycznie stanowi istotny wkład Autorki w rozwój badań nad udziałem neutrofilów w biologii nowotworów.



**Dorobek naukowy dr Marzeny Garley poza osiągnięciem habilitacyjnym uważam za bardzo dobry, spełniający kryteria znaczącej aktywności naukowej do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego.**

**Bardzo dobry dorobek o charakterze współpracy z instytucjami naukowymi i czasopismami, bardzo dobre zaangażowanie w projekty naukowe, imponujący dorobek dydaktyczny, organizacyjny i popularyzatorski.**

**Podsumowując całość przedstawionych dokumentów stwierdzam, że Kandydatka spełnia kryteria do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego według art. 219 ust 1 pkt 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 ze zm).**

**W związku z tym wnioskuję do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie dr Marzeny Garley do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.**

**W związku z tym, że osiągnięcia habilitantki we wszystkich obszarach oceny przekraczają wymagania do uzyskania stopnia doktora habilitowanego wnioskuję o wyróżnienie tej habilitacji, o ile Senat Uniwersytetu medycznego w Białymstoku przewiduje taką możliwość.**

Prof. dr hab. Ewa Bryl

  
**KIEROWNIK**  
**Zakładu Patologii i Reumatologii Doświadczalnej**  
*prof. dr hab. med. Ewa Bryl*