

Recenzja
osiągnięć Pani doktor Marzanny Łusiak-Szelachowskiej
w związku z postępowaniem w sprawie nadania Jej stopnia
doktora habilitowanego nauk ścisłych i przyrodniczych,
w dyscyplinie nauki biologiczne

Ocena formalna

Niniejszą recenzję przygotowałam na podstawie dostarczonych mi dokumentów w wersji elektronicznej, wśród których znalazły się:

- (1) wniosek do Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu,
- (2) autoreferat zawierający opis przebiegu kariery zawodowej Habilitantki, omówienie artykułów naukowych wchodzących w skład przedstawionego do oceny osiągnięcia habilitacyjnego oraz informacje na temat Jej aktywności naukowej poza jednostką macierzystą,
- (3) wykaz osiągnięć,
- (4) kopia dokumentu potwierdzającego nadanie Pani Marzannie Łusiak-Szelachowskiej stopnia doktora nauk biologicznych w 1999 roku,
- (5) kopia prac naukowych stanowiących osiągnięcie habilitacyjne,
- (6) oświadczenia Habilitantki oraz współautorów o ich indywidualnym wkładzie w publikacje wchodzące w skład osiągnięcia,
- (7) dokumenty dodatkowe potwierdzające aktywność naukową Habilitantki.

Po przeanalizowaniu otrzymanych przeze mnie materiałów stwierdzam, iż zawierają one informacje niezbędne do dokonania oceny osiągnięć Pani dr Marzanny Łusiak-Szelachowskiej i Jej aktywności naukowej. Z kolei złożone przez współautorów oświadczenia jednoznacznie określają udział Habilitantki w poddanych ocenie publikacjach naukowych. Według mnie przedstawione dokumenty spełniają wymogi formalne określone w art. 220 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.) oraz punkcie nr 8 *Szczegółowego trybu postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego* przyjętego przez Radę Naukową Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu.

Ocena merytoryczna

I. Ocena dorobku Habilitantki pod kątem uzyskania osiągnięć naukowych stanowiących znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne

Jako wymagane przepisami Ustawy osiągnięcie habilitacyjne, Pani dr Marzanna Łusiak-Szelachowska wskazała cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych pod wspólnym tytułem: „*Aktywność antyfazogowa surowic chorych poddanych terapii fazowej*”. Na cykl ten składają się 4 publikacje będące pracami oryginalnymi oraz 1 rozdział w książce, podsumowujący uzyskane przez Habilitantkę wyniki i obserwacje. Artykuły eksperymentalne opublikowane zostały w uznanych międzynarodowych czasopismach naukowych takich jak: *Viral Immunology*, *Frontiers in Microbiology*, *Future Microbiology* oraz *Folia Microbiologica*, z kolei rozdział pod tytułem: „*Humoral immune response to phage-based therapeutics*” ukazał się w książce „*Phage Therapy: A Practical Approach*” wydawnictwa Springer. W trzech z wymienionych powyżej pracach oryginalnych Habilitantka jest pierwszą autorką, w jednej z nich opublikowanej w 2017 roku jest także dodatkowo autorką korespondencyjną i to ta praca uzyskała wyróżnienie Dyrektora IITD PAN za wysoką cytowalność (49 cytowań na dzień 23.05.2022 r. wg WoS). Z kolei w czwartej pracy oraz we wspomnianym rozdziale Habilitantka zajmuje drugie miejsce wśród współautorów. Prace te zostały opublikowane w latach 2014-2021 i są chętnie przywoływane przez innych naukowców na co wskazuje wysoka, ogólna liczba cytowań - 214 wg WoS. Z kolei sumaryczny *Impact Factor* czasopism, w których ukazały się wymienione powyżej publikacje jest dość niski i wynosi 10,8.

Tematyka prac wchodzących w skład przedstawionego do oceny przez Habilitantkę osiągnięcia dotyczy bardzo ważnego aspektu, a mianowicie zdolności bakteriofagów stosowanych w terapii fazowej do stymulowania układu odpornościowego człowieka. W efekcie takiej interakcji dochodzi do produkcji przeciwciał antyfazogowych, które mogą neutralizować cząstki fazowe i tym samym hamować aktywność stosowanych w terapii fagów. W odniesieniu do tych zależności i wcześniejszych obserwacji innych naukowców, Habilitantka podjęła się ciekawego, aczkolwiek też bardzo sprecyzowanego a nawet rzekłabym mocno ograniczonego pod względem metodologicznym zadania, którego celem było sprawdzenie, czy poziom antyfazogowej aktywności surowic (AAS) pochodzących od chorych, u których zastosowano terapię fazową, jest uzależniony od typu infekcji, na którą pacjent był leczony, stanu immunologicznego pacjenta, rodzaju i dawki preparatu fazowego, drogi jego podania oraz czasu trwania samej terapii fazowej. Ponadto sprawdziła, czy istnieje korelacja pomiędzy poziomem AAS i poziomem obecnych w surowicach przeciwciał antyfazogowych (w czasie terapii) a skutecznością takiej terapii. Chociaż opisane we wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego publikacjach działania naukowe zostały zaplanowane w imponujący sposób i przeprowadzone z dużym rozmachem albowiem obejmowały zarówno prowadzenie terapii fazowej u całkiem pokaźnej liczby pacjentów, ocenę jej skuteczności, przygotowanie zarówno lizatów, jak i wysoko oczyszczonych preparatów fazowych dla pacjentów, badanie poziomu przeciwciał antyfazogowych oraz badanie poziomu inaktywacji fagów przez surowice pozyskane od chorych, to złożone przez Habilitantkę i pozostałych współautorów oświadczenia jasno wskazują, że Pani dr Marzanna Łusiak-Szelachowska była

zaangażowana głównie w ostatni aspekt tych badań. Z oświadczeń o indywidualnym wkładzie współautorów w poddane ocenie prace wynika, że zakres prowadzonych przez Habilitantkę badań był we wszystkich tych pracach identyczny i obejmował planowanie i prowadzenie prac badawczych mających na celu określenie poziomu współczynnika inaktywacji faga (K) będącego miarą aktywności antyfagowej w surowicach osób zdrowych oraz chorych poddanych terapii fagowej. Prowadzone przez Habilitantkę analizy sprowadzały się do zastosowania stosunkowo prostej i nieskomplikowanej techniki badawczej zwanej płytkowym testem neutralizacji fagów. Niestety przy ocenie osiągnięcia naukowego Habilitantki muszę wziąć pod uwagę również metodologię zaplanowanych i prowadzonych przez Nią badań i pod tym względem oceniam je bardzo słabo. Uważam, że Habilitantka w bardzo okrojony sposób podeszła do analizy jakże ważnego materiału, który udało się pozyskać wskutek przeprowadzenia terapii fagowej u sporej grupy pacjentów. Test, który Pani Doktor zaplanowała i wykonała, w mojej ocenie prowadzony był dość krótko (fagi miały kontakt z surowicą zaledwie 30 minut) i śmiało można było wykonać dodatkową analizę po dłuższym czasie inkubacji, tym bardziej, że źródła podają, że czas inkubacji jest jednym z istotnych czynników reakcji antygen-przeciwciała (Reverberi & Reverberi 2007, DOI: [10.2450/2007.0047-07](https://doi.org/10.2450/2007.0047-07); Andersson *et al.*, 2010, DOI: [10.1038/npre.2010.5218.1](https://doi.org/10.1038/npre.2010.5218.1)). Nasuwa się tu pytanie, czy Habilitantka przeprowadziła jakieś badania wstępne w tym zakresie i dlaczego zdecydowała się na 30-minutową inkubację? Niestety odpowiedzi na to pytanie nie znalazłam ani w autoreferacie, ani w publikacjach. Poza tym nie zgodzę się ze stosowanym w autoreferacie stwierdzeniem, że oszacowane w teście neutralizacji miano faga świadczyło o jego aktywności. Moim zdaniem świadczyło ono bardziej o poziomie stabilności (ewentualnie stopniu przetrwania) wirionów w obecności przeciwciał antyfagowych i innych składników surowicy, natomiast aby określić aktywność faga w takim teście należało wprowadzić dodatkowy wariant, w którym w surowicy byłyby inkubowane zarówno fagi, jak i wrażliwe na nie komórki bakteryjne. Analizując liczbę komórek (Cfu/ml) przed i po inkubacji z fagiem w obecności surowicy można było sprawdzić, czy fag był zdolny do infekcji bakterii w tych warunkach i czy stopień tej aktywności był podobny do jego aktywności w warunkach kontrolnych (np. bulion). W mojej ocenie taka dodatkowa analiza dostarczyłaby wielu istotnych wyników i żałuję, że Pani Doktor nie pokusiła się o jej przeprowadzenie. Doceniam jednak fakt, iż w autoreferacie oraz oświadczeniach Habilitantka jednoznacznie i precyzyjnie określiła swoje zaangażowanie otwarcie przyznając się do udziału w planowaniu, wykonaniu oraz analizie wyników określonego typu doświadczeń we wszystkich przedstawionych do oceny pracach.

Z tego względu w dalszej części mojej recenzji skupiłam się głównie na omówieniu uzyskanych przez Habilitantkę wyników i oceniłam ich istotność. Analizując poszczególne artykuły, zauważyłam, że liczba przebadanych pod kątem aktywności antyfagowej surowic pobranych od pacjentów różniła się w poszczególnych pracach dość znacznie, aczkolwiek mogło to wynikać z przepisów i istniejących ograniczeń w stosowaniu terapii fagowej, która wciąż jest tylko terapią eksperymentalną, stopnia skomplikowania procedury kwalifikującej pacjenta do badania, a także indywidualnych zgód pacjentów, bądź ich braku. W efekcie przebadano w sumie około 230 surowic pochodzących od chorych, u których zdiagnozowano różne infekcje bakteryjne (takie jak np. infekcja dróg moczowo-płciowych, kości, tkanek miękkich, zatok czy dróg oddechowych) i poddano terapii z wykorzystaniem fagów w Ośrodku

Terapii Fagowej IITD we Wrocławiu, w latach 2010-2013 (praca nr 1), 2014-2015 (praca nr 3) oraz 2010-2019 (praca nr 4 i 2). Pacjentów w poszczególnych grupach badawczych charakteryzowała duża liczba zmiennych, jak np. rodzaj infekcji, gatunek bakterii wywołującej infekcję, a tym samym zastosowany szczep fagowy. Badane grupy były również dość istotnie zróżnicowane pod względem liczbowym (w niektórych było zaledwie 2 pacjentów), co z pewnością nie ułatwiło interpretacji wyników i mogło mieć wpływ na obserwowane zależności. W pracach zabrakło też podstawowych danych na temat pacjentów w danej grupie badawczej, jak np. wiek (od którego zależy m.in. stan immunologiczny pacjenta), płeć, podstawowe parametry krwi, skład surowicy (w tym poziom albumin, które mogą hamować proces adsorpcji fagów do komórek bakteryjnych), informacje o przebytych oraz ewentualnie trwających w czasie badania koinfekcjach czy też przyjmowanych lekach, w tym również antywirusowych oraz antybakteryjnych, stosowanych przed lub w trakcie terapii, jeśli takie były. Zabrakło mi również szerszej dyskusji na temat stanu zdrowia i medycznej historii pacjentów, od których pobrano surowice oraz analizy występowania u nich ewentualnych czynników stymulujących lub hamujących układ odpornościowy i ich potencjalnego wpływu na obserwowany poziom antyfagowej aktywności poszczególnych surowic.

Niezależnie od problemów z jakimi Autorzy borykali się podczas „kompletowania” poszczególnych grup badawczych i braku szerszego odniesienia do osobniczych, medycznych uwarunkowań pacjentów, analiza z wykorzystaniem płytkowego testu neutralizacji fagów pozwalająca wyznaczyć współczynnik inaktywacji K, wykazała pewne istotne zależności, na których omówieniu skupię się w dalszej części mojej recenzji. Po pierwsze analiza przeprowadzona przez Habilitantkę pozwoliła zauważyć, że poziom aktywności antyfagowej surowic pobranych od osób zdrowych i pacjentów przed zastosowaniem terapii fagowej (PT) był niski ($K < 5$) i wzrastał u pacjentów w trakcie trwania terapii (publikacja nr 1, tabela nr 3, publikacja nr 3). Co ciekawe, wyniki badań wykazały, że pewien wpływ na poziom AAS miała też droga podania preparatu fagowego. W pierwszej pracy wykazano, że w surowicach wszystkich pacjentów (100%), którym podano preparaty fagowe doustnie ($n = 27$) lub doustnie i doodbytniczo ($n = 2$), niezależnie od rodzaju infekcji na którą byli leczeni, wartość współczynnika K utrzymywała się na niskim poziomie w trakcie trwania terapii, podczas gdy w przypadku 9% ($n = 5$) i 23,2% ($n = 13$) surowic pozyskanych od pacjentów, którym zaaplikowano fagi miejscowo obserwowano, odpowiednio, średni ($K = 5-18$) i wysoki ($K > 18$) poziom aktywności antyfagowej (tabela 1 i 2, publikacja nr 1). Z kolei w pracy nr 3 (tabela nr 2) niską wartość współczynnika K odnotowano u wszystkich pacjentów (100%), którym podano preparat fagowy doustnie ($n = 20$), doustnie i zarazem miejscowo ($n = 13$) oraz doodbytniczo ($n = 11$). Wysokie wartości współczynnika K otrzymano przy zastosowaniu surowic pochodzących od 40% pacjentów leczonych miejscowo ($n = 8/20$), przy czym (podobnie jak w publikacji nr 1) większość pacjentów z tej grupy przechodziło infekcję wywołaną bakterią *Staphylococcus aureus* (tabela nr 3, publikacja nr 3). Biorąc pod uwagę całkowitą liczbę pacjentów, u których zastosowano terapię fagową w pierwszym podejściu ($n = 122$) zaobserwowano wysoki poziom AAS u 15 z nich, co stanowiło 12,3%, z kolei surowice kolejnych 6 (4,9%) wykazywały aktywność antyfagową na średnim poziomie. W kolejnym podejściu ($n = 62$) było to odpowiednio 12,9 % oraz 1,6 % (publikacja nr 3). Co istotne, aktywność antyfagowa surowic chorych leczonych za pomocą terapii fagowej spadała z poziomu wysokiego oraz średniego do niskiego, po zakończeniu terapii. Czas powrotu do

niskiego poziomu był różny w zależności od użytego do leczenia faga oraz czasu leczenia i wynosił od 40 dni do nawet 4 miesięcy (publikacja nr 1). Warto podkreślić, że analiza poziomu AAS po odbytej terapii była nowością w tamtym czasie. Ponadto dowiedziono, że poziom AAS zależy również od zastosowanego szczepu fagowego, bowiem wysokie współczynniki K stwierdzono u pacjentów leczonych fagami specyficznymi wobec szczepów trzech gatunków bakterii: *S. aureus*, *P. aeruginosa* i *E. faecalis*, przy czym należy zaznaczyć, że infekcje tymi bakteriami były najliczniej reprezentowane wśród poddanych terapii pacjentów. Wykazano również, że fagi obecne w stosowanym podczas terapii koktajlu fagowym charakteryzują się różnym poziomem immunogenności i mogą stymulować aktywność antyfagową na różnym poziomie, od niskiego do wysokiego (rycina nr 2, publikacja nr 1). Poza tym uzyskane wyniki wskazują, że znaczenie ma też miano użytego preparatu, zdecydowanie bardziej immunogeny okazał się oczyszczony preparat OPMS-1 o mianie 10^9 Pfu/ml niż nieoczyszczony koktajl fagowy MS-1 złożony z tych samych fagów, ale o niższym mianie (10^6 - 10^8 Pfu/ml), przy czym należy zaznaczyć, że Autorzy nie ustalili jaki wpływ na uzyskany efekt miała sama procedura oczyszczenia preparatu (publikacja nr 3, tabela nr 4) sugerując jednak delikatnie w dyskusji publikacji, że mogło to wpłynąć na wyższą immunogenność preparatu OPMS-1, co w mojej ocenie jest jednak mało prawdopodobne.

Do najbardziej istotnych wyników Habilitantki w odniesieniu do dalszych prac w kierunku wprowadzenia terapii fagowej jako standardowej metody leczenia, należą w moim odczuciu wyniki z pracy 3 (w której Pani dr Marzanna Łusiak-Szelachowska jest autorką korespondencyjną) oraz pracy 2 i 4, świadczące o braku korelacji pomiędzy poziomem antyfagowej aktywności surowic pobranych od pacjentów poddanych terapii fagowej a wynikiem i skutecznością samej terapii. Uzyskane przez Habilitantkę wyniki dowodzą, że dobre efekty terapii fagowej (kategoria A-C) po podaniu miejscowym fagów zaobserwowano u około 40% pacjentów, których surowice wykazywały wysoki współczynnik inaktywacji fagów $K > 18$, a także u 40% pacjentów o niskiej AAS ($K < 5$). Podobny wynik uzyskano dla pacjentów, którym podano fagi doustnie (44%) a nieco wyższy dla pacjentów, którzy otrzymali fagi zarówno doustnie, jak i miejscowo oraz doodbytniczo (po około 54%), przy czym ich surowice również wykazywały niski poziom inaktywacji fagów (praca nr 3, tabele nr 2 i 3). Korelacji pomiędzy wartością współczynnika inaktywacji K a skutecznością terapii nie wykazano również u pacjentów leczonych fagami na przewlekłe zapalenie zatok ($n = 25$), którym fagi podano drogą doustną albo doustną i miejscowo do nosa. Niezależnie od poziomu AAS, terapia zakończyła się pozytywnym wynikiem (kategoria A-C) w około 30% przypadków (tabele 1,2,3 – praca nr 4). Analogiczne wyniki świadczące o braku korelacji pomiędzy poziomem AAS a wynikiem terapii uzyskano po podaniu koktajlu fagowego MS-1 doustnie lub miejscowo dwudziestu pacjentom cierpiącym na różne infekcje (tabela nr 1, praca nr 2). Poza tym praca nr 2 dostarczyła ciekawych wyników świadczących o istnieniu korelacji pomiędzy wysokim poziomem współczynnika K a podwyższonym poziomem antyfagowych przeciwciał klasy IgG i IgM wykrytych testem ELISA.

Omówione powyżej Wyniki dają pewne nadzieje na powodzenie prób klinicznych oraz w przyszłości powszechne stosowanie terapii fagowej jako metody leczenia, gdyż nie potwierdziły obaw, że obserwowana w niektórych przypadkach wysoka immunogenność fagów oraz obecność w surowicach przeciwciał antyfagowych mogą wpłynąć negatywnie na stabilność fagów w badanym układzie i efekty działania samej terapii. Niemniej jednak

uważam, że do pełnego obrazu istotne jest jeszcze określenie np. aktywności fagów wobec komórek bakteryjnych w obecności przeciwciał antyfagowych i innych składników surowicy w tym albumin, które ze względu na swe zdolności wiązania jonów dwuwartościowych mogą działać hamująco na adsorpcję fagów do komórek bakteryjnych, gdyż niektóre z fagów potrzebują jonów do efektywnego związania się z komórką bakteryjną. Wyniki takiej analizy pozwoliłyby określić poziom aktywności fagów w surowicy i być może doszacować dawkę podanych fagów, w szczególności w przypadkach, w których terapia nie powiodła się, co wzbogaciłoby całe osiągnięcie. Takich dodatkowych analiz można byłoby przeprowadzić dużo więcej, gdyż wokół kwestii stosowania fagów do celów medycznych jest jeszcze wiele wątpliwości i chociaż nie oczekuję od Habilitantki wyjaśnienia ich wszystkich, to jednak uważam, że w swych analizach mogła pójść trochę głębiej i pokusić się o dodatkowe, nawet niewyszukane eksperymenty, których wyniki mogłyby dużo więcej wnieść do naszej obecnej wiedzy na temat interakcji fagi-ludzki układ immunologiczny.

Jeśli chodzi o pozostałą aktywność naukową Pani dr Marzanny Łusiak-Szelachowskiej, poza pracami wchodzącymi w skład głównego osiągnięcia naukowego, są to 43 artykuły opublikowane w czasopiśmie naukowych (w tym, w uznanych czasopiśmie anglojęzycznych np. *Viral Immunology*, *Frontiers in Microbiology*, *Future Microbiology*, *Virus Research*, *Cellular & Molecular Biology Letters*, *Future Virology* czy *Journal of Immunology Research*), z których 17 stanowią prace oryginalne, a 26 to publikacje przeglądowe. Habilitantka jest pierwszą autorką w 9 z nich, z czego 6 to prace przeglądowe. Wszystkie prace, których Habilitantka jest współautorką zostały zacytowane łącznie blisko 1000 razy (wg WoS, na dzień 23.05.2023 r.) co przełożyło się na bardzo wysoki Indeks Hirscha równy 18. Z kolei sumaryczny *Impact Factor* czasopism, w których ukazały się prace Jej autorstwa wynosi 107. Oprócz tego Pani dr Marzanna Łusiak-Szelachowska jest także współautorką 4 rozdziałów w książkach. Na Jej dorobek składają się również 44 komunikaty zjazdowe w formie plakatów (z których 35 zostało zaprezentowanych na konferencjach zagranicznych) oraz 2 referaty ustne. Poza tym wygłosiła dwa wykłady i uczestniczyła w 7 pokazach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki. Chociaż nie sprawowała funkcji kierownika w żadnym projekcie, to uczestniczyła jako wykonawca w 11 grantach i opiekowała się studentami odbywającymi praktyki w jednostce oraz wykonującymi prace dyplomowe. Jest również współautorką 1 patentu międzynarodowego, 1 patentu krajowego i 1 zgłoszenia patentowego z 2019 r.

W mojej ocenie jest to bardzo dobry dorobek jak na ten etap kariery naukowej, aczkolwiek nie bez znaczenia jest tu pewnie fakt, że Pani Doktor pracuje w prężnym i bardzo dobrze publikującym zespole badawczym, którego kierownikiem jest wybitny specjalista w dziedzinie bakteriofagów i terapii fagowej, Pan prof. dr hab. n. med. Andrzej Górski. Niewątpliwie Habilitantka miała bardzo dobre wzorce i świetne warunki do uzyskania tak imponującego dorobku, niemniej jednak Jej osiągnięcia świadczą o tym, że potrafiła swoją szansę bardzo dobrze wykorzystać. Chociaż na podstawie informacji zawartych w autoreferacie oraz w wykazie nie jestem w stanie ocenić jaki był wkład Pani Doktor w poszczególne prace, to jednak fakt, że Jej nazwisko jest wymieniane w dużej liczbie prac w pierwszej trójce współautorów może wskazywać na to, że był on jednak znaczący. Na pochwałę zasługuje również imponująca liczba komunikatów naukowych w formie plakatów, których Habilitantka jest współautorką. Świadczy to niewątpliwie o dużym zainteresowaniu naukowców tematyką badań prowadzonych przez Habilitantkę i innych członków tego prężnie działającego zespołu.

Jeśli chodzi o moje uwagi krytyczne do dorobku Pani Doktor, to najpoważniejsza dotyczy braku grantu, w którym Pani doktor pełniłaby rolę kierownika i który świadczyłby o Jej samodzielności naukowej i gotowości do kierowania zespołem badawczym. Poza tym w przesłanych materiałach nie znalazłam informacji o tym, że Pani Doktor pełniła kiedykolwiek rolę recenzenta artykułów przesyłanych do krajowych oraz międzynarodowych czasopism naukowych. Uważam, że na tym etapie kariery tego typu aktywność jest już bardzo pożądana.

Analizując z kolei inne niż te opisane w cyklu publikacji badania, w które Habilitantka angażowała się w trakcie swojej dotychczasowej kariery, z przykrością muszę stwierdzić, iż nie było ich zbyt wiele biorąc pod uwagę czas jaki upłynął od uzyskania stopnia doktora (1999 r.). Korzystnie jednak wypada analiza efektów jakie udało się Jej wypracować w ramach pracy w innych, aczkolwiek również dotyczących fagów tematach badawczych. Na szczególną uwagę pod tym względem, zasługują moim zdaniem prace, w których Habilitantka skupiła się na poznaniu roli fagów *E. coli* występujących w ludzkim przewodzie pokarmowym. Ten wątek badawczy zaowocował jedną pracą oryginalną oraz dwoma pracami przeglądowymi. Co ważne, we wszystkich tych pracach Habilitantka jest pierwszą autorką. Badania przeprowadzono na grupie 353 osób, w tym zdrowych ochotników oraz pacjentów ze stanami predysponującymi do rozwoju nowotworów (polipy jelitowe, choroba Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego) oraz chorych na raka jelita grubego, których próbki kału poddano badaniu pod kątem częstości występowania i poziomu stężenia bakteriofagów *E. coli*. Z ciekawszych obserwacji będących efektem przeprowadzonych badań i analiz, wynika, że częstość występowania kolifagów dla szczepu *E. coli* B była mniejsza w próbkach kału pobranych od pacjentów ze stanami predysponującymi do rozwoju raka jelita grubego i odbytnicy, w porównaniu z osobami zdrowymi. Stwierdzono również rzadszą niż u osób zdrowych obecność fagów infekujących szczep *E. coli* 1962 w próbkach kału pacjentów z polipami jelit, chorobą Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego. Wyniki te wskazują poniekąd na istnienie pewnych zależności pomiędzy obecnością fagów w przewodzie pokarmowym i niektórymi chorobami układu pokarmowego. Można chyba uznać, iż przeprowadzone przez Habilitantkę badania oraz analizy podjęte w pracach przeglądowych w pewnym stopniu przyczyniły się do lepszego zrozumienia znaczenia fagów w ludzkim organizmie i w regulacji populacji bakterii zasiedlających ludzki przewód pokarmowy. Prace te były prowadzone we współpracy z Kliniką Gastroenterologii i Hepatologii Wrocławskiego Uniwersytetu Medycznego oraz z Kliniką Gastroenterologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Świadczy to o otwartości Habilitantki na nowe wyzwania i współpracy oraz, co również ważne, o Jej efektywnym angażowaniu się w różne tematy i wątki badawcze dotyczące bakteriofagów. Jeśli chodzi o uwagi krytyczne, to w autoreferacie zabrakło mi zdecydowanie, szerszego opisu dalszych planów badawczych Habilitantki. Zaledwie kilkuzdaniowego opisu dowiedziałam się, że zamierza kontynuować prace w głównym temacie swoich badań, czyli dotyczącym antyfagowej aktywności surowic, niestety zabrakło szczegółowych informacji, również w kwestii planów dotyczących aplikowania o granty. Generalnie, nisko oceniam również przygotowanie autoreferatu, który w mojej ocenie został napisany zbyt skrótowo, w szczególności część, w której Habilitantka omawia wyniki swoich badań. Większość informacji, które zawarłam w recenzji zaczerpnęłam bezpośrednio z publikacji, w których to wyniki zostały opisane w dużo bardziej przystępny sposób.

W tym miejscu mojej recenzji podsumuję ocenę dorobku Habilitantki pod kątem uzyskania osiągnięć naukowych stanowiących znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne i przytoczę kilka najważniejszych spostrzeżeń z mojej analizy. Biorąc pod uwagę fakt, iż Ustawodawca nie określa sposobu oraz stopnia skomplikowania i zaawansowania metod, za pomocą których ma być osiągnięty istotny wkład Habilitanta w rozwój danej dyscypliny naukowej, postanowiłam podczas mojej oceny skupić się bardziej na ocenie wyników uzyskanych przez Panią dr Marzannę Łusiak-Szelachowską niż na analizie metod, a właściwie metody, która posłużyła Jej do ich osiągnięcia. Po głębokiej analizie doszłam do wniosku, że przeprowadzone badania, mimo że oparte na prostych, niewyszukanych i powtarzających się technikach są spójne tematycznie i dostarczyły ostatecznie interesujących i istotnych wyników. Z drugiej strony ewidentnie zabrakło szerszego spojrzenia i odniesienia do osobniczych uwarunkowań pacjentów, które mogłyby wytłumaczyć pewne rozbieżności w poziomie antyfogowej aktywności surowic pochodzących od pacjentów z tej samej grupy badawczej. Poza tym obserwacje Habilitantki na temat zależności pomiędzy poziomem AAS a dawką, składem i drogą podania preparatów fagowych oraz typem infekcji (prace nr 1, 3 i 5 jako podsumowanie) straciły na znaczeniu w momencie gdy dowiodła, że nie ma korelacji pomiędzy poziomem AAS a wynikiem prowadzonej terapii fagowej (prace nr 2, 3, 4). Ten ostatni z wymienionych wniosków okazał się jednak bardzo istotny z punktu widzenia terapii fagowej i możliwości jej efektywnego działania pomimo wysokich poziomów AAS. Dodatkowo w mojej ostatecznej ocenie pod uwagę wzięłam również bogaty dorobek Habilitantki i Jej osiągnięcia naukowe poza zgłoszonym cyklem publikacji. Finalnie, po długich i wnikliwych rozważaniach uznałam, że zgodnie z wymogiem zapisanym w art. 219 ust.1 pkt 2, Pani dr Marzanna Łusiak-Szelachowska **posiada** w swoim dorobku osiągnięcia naukowe stanowiące znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne, w tym wymagany przepisami cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych.

II. Ocena aktywności naukowej Habilitantki realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej

Analizując aktywność naukową Habilitantki na innych uczelniach najwyżej oceniam miesięczny staż naukowy, który odbyła na Uniwersytecie Wrocławskim w Zakładzie Biologii Patogenów i Immunologii. Pani Doktor trafiła do bardzo dobrego zespołu, którego kierownikiem jest światowej klasy specjalistka w dziedzinie mikrobiologii, Pani prof. dr hab. Zuzanna Drulis-Kawa. Podczas stażu, Pani dr Marzanna Łusiak-Szelachowska poznała szereg interesujących metod, takich jak np. oznaczanie aktywności depolimeraz fagowych wobec kolekcji szczepów z rodzaju *Klebsiella*, techniki umożliwiające produkcję rekombinowanych depolimeraz fagowych oraz wprowadzanie mutacji w ich genach, techniki klonowania genów oraz metody oczyszczania białek. Jej praca badawcza na Uniwersytecie Wrocławskim zaowocowała jak dotąd jednym, napisanym wspólnie artykułem przeglądowym opublikowanym w czasopiśmie *Journal of Biomedical Science*, którego współczynnik *Impact Factor* jest bardzo wysoki i wynosi aż 12,7. W pracy tej Habilitantka jest pierwszą i jednocześnie korespondencyjną autorką i skupia się na fenomenie synergicznego działania fagów i antybiotyków. W pracy omówiono potencjalne mechanizmy współdziałania fagów i

antybiotyków (w tym te uwzględniające działanie depolimeraz) oraz odniesiono się do badań przeprowadzonych na modelu biofilmu bakteryjnego, które wykazały, że połączenie fagów z antybiotykami może zwiększyć usuwanie bakterii, a leczenie sekwencyjne, polegające na podaniu faga, a następnie antybiotyku, jest skuteczne w eliminowaniu biofilmów. Sama jestem również zainteresowana tym tematem, mam podobne obserwacje z własnych badań i uważam, że terapia łączona fagi + antybiotyki ma duże szanse powodzenia zarówno w medycynie, jak i innych sektorach gospodarki. Poza tym nowe doświadczenie i umiejętności, w szczególności metodologiczne, które Habilitantka zdobyła podczas stażu oraz nawiązana współpraca z sąsiadującą jednostką pozwalają przypuszczać, że w przyszłości Habilitantka sięgnie po nowe techniki w swych badaniach, również te bardziej molekularne, co z pewnością zaowocuje ciekawymi wynikami. Z tych względów uznałam aktywność Habilitantki za istotną. Z drugiej strony jednak, staż wydał mi się zdecydowanie zbyt krótki (trwał zaledwie 1 miesiąc), tym bardziej, że uczestnictwo w nim nie wymagało od Habilitantki wyjazdu do innego miasta. Poza tym ilość poznanych przez Habilitantkę metod badawczych (w tym, jak wynika z załączonego zaświadczenia, również tych bardziej zaawansowanych pod względem technicznym) jest bardzo duża jak na tak krótki pobyt, co może wskazywać na ograniczony stopień ich opanowania i problemy w ich samodzielnym zastosowaniu. Krytycznie oceniam również brak w dorobku Habilitantki pracy oryginalnej będącej efektem jej stażu na Uniwersytecie Wrocławskim oraz brak w poddanych ocenie materiałach informacji na temat kontynuacji współpracy z zespołem Pani prof. dr hab. Zuzanny Drulis-Kawy i dalszych, wspólnych planów publikacyjnych. Ponadto pomimo wskazania przez Habilitantkę kilku innych prac w dorobku, które powstały we współpracy z różnymi jednostkami badawczymi (np. z Kliniką Gastroenterologii i Hepatologii Wrocławskiego Uniwersytetu Medycznego, z Kliniką Gastroenterologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, z Katedrą Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z Instytutem Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego czy z Katedrą i Kliniką Dermatologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu), nie przedstawiła ona dowodów ani nawet informacji, że wiązały się one z Jej choćby krótkim pobytem w tych jednostkach. Co więcej, we wszystkich tych pracach Pani dr Marzanna Łusiak-Szelachowska widnieje jako współautorka z afiliacją Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu, poza tym wszystkie z wymienionych są to jednostki krajowe. Jako swą aktywność na innych uczelniach/instytucjach naukowych Pani Doktor wskazała również udział w kilku grantach jako wykonawca. Granty te były realizowane we współpracy m.in. z Instytutem Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie, Wojskowym Instytutem Higieny i Epidemiologii w Warszawie czy z Politechniką Śląską w Gliwicach, jednak Habilitantka nie przedstawiła informacji o zakresie tej współpracy i w związku z tym nie mogłam ocenić na ile istotna była to aktywność. W swojej ocenie końcowej biorę również pod uwagę dojrzały wiek Habilitantki (53 l.), długi czas jaki upłynął od uzyskania przez Nią stopnia doktora i fakt, że wymagana obecnymi przepisami aktywność realizowana w innych uczelniach, instytucjach naukowych, jest stosunkowo „świeżym” warunkiem koniecznym do uzyskania stopnia doktora habilitowanego. Biorąc powyższe pod wnikliwą rozwagę, uznałam, iż aktywność naukowa Habilitantki realizowana na więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej jest **wystarczająco istotna**.


Wniosek końcowy

Podsumowując przedstawione mi do oceny osiągnięcia Pani dr Marzanny Łusiak-Szelachowskiej stwierdzam, że:

- uzyskała ona stopień doktora nauk biologicznych w 1999 roku,
- posiada w swoim dorobku osiągnięcia naukowe stanowiące znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne, z których główne stanowi cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, opublikowanych w czasopismach naukowych ujętych w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b, ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.),
- wykazała się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej.

Biorąc powyższe pod uwagę uznaję, że przedstawione osiągnięcia Pani dr Marzanny Łusiak-Szelachowskiej spełniają kryteria określone w art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.), oceniam je **pozytywnie** i popieram wniosek o nadanie Jej stopnia doktora habilitowanego nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Z poważaniem,

 UNIWERSYTET GDAŃSKI
Katedra Biologii Molekularnej
B. Nejman - Faleńczyk
dr hab. Bożena Nejman-Faleńczyk