

*Prof. dr hab. inż. Sławomir Neffe,
Wydział Nowych Technologii i Chemii
Wojskowa Akademia Techniczna
0-908 Warszawa, ul. Kaliskiego 2
Tel. 261-83-93-63
Sławomir.Neffe@wat.edu.pl*



Recenzja

Przedmiotem recenzji jest rozprawa doktorska lek. wet. Sylwii Stanisławy Wilk pt.: „Ocena molekularnego mechanizmu przerzutowania komórek kostniakomięsaka psów - badania proteomiczne z uwzględnieniem zastosowania nanocząstek złota” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Agnieszki Zabielskiej-Koczywąs, prof. SGGW w Laboratorium Nanoonkologii Doświadczalnej i Klinicznej, Katedry Chorób Małych Zwierząt i Kliniki, Instytutu Medycyny Weterynaryjnej w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

1. Formalna podstawa wykonania recenzji

Podstawą wykonania recenzji jest uchwała Rady Dyscypliny Weterynarii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie nr 57/WET-2024/2025 podjęta na posiedzeniu w dniu 24 września 2025 r.

Postępowanie w sprawie nadania stopnia doktora jest prowadzone na podstawie Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.). Celem recenzji jest ocena czy rozprawa doktorska lek. wet. Sylwii Stanisławy Wilk spełnia wymagania ustawowe, a w szczególności artykułu 187 Ustawy (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późniejszymi zmianami).

Recenzję wykonałem w oparciu o egzemplarz rozprawy doktorskiej w formie papierowej oraz elektronicznej otrzymany wraz z pismem przewodnim i umową. Podczas sporządzania recenzji uwzględniłem: aktualności tematyki rozprawy, poziom naukowy, stosowaną metodykę, poprawność terminologii i trafność wnioskowania. Zwróciłem też uwagę na dobór źródeł bibliograficznych.

2. Ogólna charakterystyka rozprawy

Opiniowana rozprawa doktorska stanowi zbiór trzech powiązanych tematycznie artykułów naukowych, opublikowanych w latach 2021-2025 w międzynarodowym czasopiśmie International Journal of Molecular Sciences, które ma współczynnik wpływu (IF) 6,2 (2021) i 4,9 (2024 oraz 2025). Artykuły naukowe stanowiące podstawę ubiegania się o stopień

naukowy doktora są opatrzone opisem na 43 stronach (strony 17-59) manuskryptu tworząc jako całość rozprawę doktorską.

Rozprawa zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim, listę (wraz ze szczegółowymi opisami bibliograficznymi) trzech artykułów naukowych stanowiących merytoryczną podstawę rozprawy, wykaz stosowanych skrótów, wstęp, cele pracy, stosowane materiały i metody, uzyskane wyniki i ich dyskusję, wnioski, bibliografię oraz pełne teksty, powiązanych tematycznie artykułów naukowych. Na końcu manuskryptu Autorka umieściła podpisane oświadczenia współautorów artykułów naukowych wchodzących w skład rozprawy.

Hipoteza badawcza pracy została sformułowana następująco: "Nanocząstki złota stabilizowane glutationem (AuNPs-GSH) hamują wybrane etapy kaskady przerzutowania (migracja, angiogeneza) komórek psiego kostniakomięsaka w badaniach *in vitro* oraz *in ovo*". Badania naukowe przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej były ukierunkowane na weryfikację tej tezy.

Autorka postawiła sobie sześć bardzo ambitnych celów, z których najważniejszy to przeprowadzenie proteomicznej analizy porównawczej linii komórkowych kostniakomięsaka psów o różnych fenotypach złośliwości (OSCA-8 i OSCA-32) z komórkami psich osteoblastów (CnOb). Realizacja tego celu wymagała zebrania i przeprowadzenia krytycznej analizy doniesień literaturowych na temat molekularnych mechanizmów przerzutowania nowotworu kostniakomięsaka psów. Uzyskane na tym etapie wyniki zostały opublikowane w artykule przeglądowym opublikowanym w roku 2021¹ w czasopiśmie naukowym *International Journal of Molecular Sciences*.

Celem tego artykułu była synteza i krytyczna analiza literatury naukowej na temat genów i białek, w tym białka nowotworowego p63, przekaźnika sygnału i aktywatora transkrypcji 3 (STAT3), Snail2, ezryny, fosforylowanej ezryny-radyksyny-moezyny (p-ERM), czynnika wzrostu hepatocytów-czynnika rozproszenia (HGF-SF), receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR), miR-9 i miR-34a, których potencjalny udział w kaskadzie przerzutów kostniakomięsaka (OSA) psiego udowodniono w badaniach *in vitro*. Określenie mechanizmów molekularnych choroby przerzutowej może usprawnić rozwój nowych strategii terapeutycznych. Nowotwór ten jest bardzo agresywny, a większość psów umiera z powodu przerzutów, zwłaszcza do płuc. Proces przerzutowy jest złożony i składa się z kilku głównych etapów. Autorzy artykułu wykazali, że ocena molekularnych mechanizmów przerzutów kostniakomięsaka psów wymaga badań *in vitro*, a następnie *in vivo*, co powinno umożliwić

¹ Wilk, S. S., Zabielska-Koczywas, K. A. (2021). Molecular Mechanisms of Canine Osteosarcoma Metastasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3639. IF=6,2; 140 pkt. MNiSW.

zrozumienie i właściwą ocenę tego procesu. Sformułowano tezę, że molekularne i biologiczne podobieństwo psiego OSA do jego ludzkiego odpowiednika mogłoby umożliwić wykorzystanie psów jako spontanicznego modelu tej choroby u ludzi.

W artykule autorzy odwołali się do 111 doniesień literaturowych. Analiza dostępnych danych literaturowych umożliwiła kandydatce sformułowanie tezy i celów pracy doktorskiej oraz poszczególnych etapów jej realizacji. Dobrano również metody badawcze a także ścieżki dochodzenia do wartościowych wniosków. Artykuł ten był do tej pory (25.11.2025) zacytowany 21 razy. Z informacji umieszczonych w artykule oraz oświadczenia współautorki (dr hab. K. A. Zabielskiej-Koczywąg) wynika, że merytoryczny udział kandydatki stworzeniu artykułu jest co najmniej w 50% samodzielny i istotny. Kandydatka przeprowadziła analizę literatury, przygotowała tabele i rysunki oraz napisała ważną część manuskryptu. Na końcu artykułu umieszczona jest informacja, że artykuł jest częścią rozprawy doktorskiej Kandydatki.

Opierając się na wnioskach z artykułu przeglądowego Autorka rozprawy zaprojektowała i wykonała badania eksperymentalne, których wyniki zostały zawarte w oryginalnym artykule naukowym opublikowanym w 2024 roku w czasopiśmie *International Journal of Molecular Sciences*². Wyniki badań opisane w tym artykule zostały syntetycznie przedyskutowane w części opisowej rozprawy. Zwraca uwagę bardzo dobra umiejętność Autorki przeprowadzenia krytycznej analizy uzyskanych wyników. Szczególnie wartościowa w tym artykule jest walidacja przeciwciała A2M MAB1938 (Bio-Techne, Minneapolis, Minnesota, USA) metodą simple western dla linii komórkowych kostniakomięsaka psów (OSCA-8 i OSCA-32) oraz osteoblastów psów (CnOb). W przypadku badanych linii komórkowych (OSCA-8, OSCA-32 i CnOb) wykazano zakres liniowy dla stężeń białka od 0,2 do 0,5 mg/ml, przy stężeniu przeciwciała 1:6,25, gdy saturacja wynosiła co najmniej 90%. Nasycenie przeciwciała, kontrola dodatnia z rekombinowanym ludzkim białkiem alfa-2-makroglobuliny 10952-H08B. W artykule tym poza Kandydatką autorami jest czworo współautorów, w tym promotor rozprawy doktorskiej dr hab. K. A. Zabielska-Koczywąg. Z analizy treści artykułu oraz oświadczeń współautorów wynika, że rola Kandydatki w przeprowadzeniu badań i napisaniu artykułu była wiodąca. W podziękowaniach na końcu artykułu umieszczona jest informacja, że artykuł stanowi część pracy doktorskiej Kandydatki (S. S. Wilk). Część wyników badań zawartych w omawianym artykule została w 2022 roku zaprezentowana przez

² Wilk, S. S., Michalak, K., Owczarek, E. P., Winiarczyk, S., & Zabielska-Koczywąg, K. A. (2024). *Proteomic Analyses Reveal the Role of Alpha-2-Macroglobulin in Canine Osteosarcoma Cell Migration*. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(7), 3989. <https://doi.org/10.3390/ijms25073989> IF=4,9; 140 pkt. MNiSW

Kandydatkę podczas Międzynarodowego Kongresu Naukowego w Łodzi³, a następnie w roku 2023 podczas Międzynarodowej Konferencji Nanobiomedica w Warszawie⁴.

Trzeci artykuł wchodzący w skład rozprawy doktorskiej został również opublikowany w czasopiśmie naukowym *International Journal of Molecular Sciences* w 2025 roku⁵. W artykule tym opisano hamujące przerzutowanie nanocząsteczek złota stabilizowanych glutationem. Opisano wyniki wstępnych badań na liniach komórkowych psiego kostniakomięsaka, które były rezultatem obszernych badań *in vitro* przeprowadzonych przez kandydatkę oraz członków zespołu badawczego dr hab. K. A. Zabielskiej-Koczywąs. Również w przypadku tego artykułu nie ulega wątpliwości wiodąca rola kandydatki w zaprojektowaniu i realizacji badań *in vitro* przeprowadzonych przy użyciu linii komórkowych.

Artykuły naukowe stanowiące merytoryczną podstawę dysertacji zostały poddane procesowi recenzowania, następnie obróbki redakcyjnej i opublikowane w systemie „open access”. Artykuły te są poddawane ocenie przez międzynarodowe środowiska naukowe. Wskazuje to na wysoką wartość naukową dysertacji co potwierdzam w mojej opinii.

3. Ocena aktualności tematyki rozprawy

Znaczenia badań nad zastosowaniem stabilizowanych nanocząstek złota w terapii nowotworowej kostniakomięsaka psów nie sposób przecenić. Podjęcie się zadania poznania i oceny molekularnego mechanizmu przerzutowania komórek nowotworowych w obecności nanocząstek złota uważam, za niezwykle ambitne. Zespół naukowy pod kierunkiem dr hab. K. A. Zabielskiej-Koczywąs zajmuje się tym problemem od kilku lat i osiąga w tej dziedzinie spektakularne sukcesy naukowe w skali międzynarodowej.

Badania takie są prowadzone w licznych ośrodkach naukowych na świecie. Uzyskane wyniki oraz sformułowane na ich podstawie wnioski mogą być wykorzystane w terapii antynowotworowej zwierząt a w przyszłości najprawdopodobniej również u ludzi. W ostatnim dziesięcioleciu nabrały szczególnego znaczenia z uwagi na dostępność doskonalszych metod badawczych, interdyscyplinarnego podejścia do rozwiązywania problemów, a także szybkiego rozwoju metod modelowania i uczenia maszynowego.

³ International Congress of Small Animal Medicine PSAVA 2022 on 17 November 2022 in Łódź, “*Proteomic analysis of canine osteosarcoma cells derived from tumours with various degrees of malignancy*”

⁴ Nanobiomedica Conference on 21 September 2023 in Warsaw, “*The assessment of molecular mechanisms in canine osteosarcoma cell metastasis*”, and as poster presentations “*Proteomic analysis of canine osteosarcoma cells with different molecular phenotypes*”.

⁵ Wilk, S. S., Kukier, K. I., Michałowski, A. M., Wojnicki, M., Smereczyński, B., Wójcik, M., Zabielska-Koczywąs, K. A. (2025). *The Anti-Metastatic Properties of Glutathione-Stabilized Gold Nanoparticles—A Preliminary Study on Canine Osteosarcoma Cell Lines*. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(13), 6102.

Badania nad poznaniem molekularnego mechanizmu hamowania rozwoju komórek nowotworowych z użyciem nanotechnologii, a w szczególności zastosowania nanocząstek złota i innych metali są niezwykle wartościowe i potrzebne. Zrozumienie tego mechanizmu (mechanizmów) stanowi warunek konieczny do projektowania procedur leczniczych i terapeutycznych. Metoda leczenia niektórych nowotworów u zwierząt i najprawdopodobniej również u ludzi, z zastosowaniem stabilizowanych nanocząstek złota może w przyszłości pomóc pacjentom uniknąć efektów ubocznych związanych z chemioterapią i radioterapią. Ważny jest w tym przypadku rozmiar nanocząstek, ich kształt oraz sposób modyfikacji i stabilizacji powierzchni.

4. Ocena merytoryczna rozprawy

Recenzowana dysertacja zawiera wiele danych eksperymentalnych, które mogą pomóc w lepszym zrozumieniu molekularnego mechanizmu hamowania przerzutowania komórek nowotworowych z użyciem nanotechnologii, a w szczególności zastosowaniem nanocząstek złota. Tezy i hipotezy przedstawione w pracy są dobrze sformułowane. Badania zostały właściwie zaprojektowane i szczegółowo opisane zarówno w artykułach naukowych nr 2 i 3, jak i w części opisowej. Autorka bardzo dobrze scharakteryzowała i dobrała badane materiały oraz stosowane metody instrumentalne i analityczne. Wyniki badań są bardzo dobrze udokumentowane. Opisane badania są kompletne, a ich zakres jest adekwatny do postawionego celu pracy.

Do najważniejszych osiągnięć Autorki dysertacji zaliczam:

- Podjęcie aktualnego, ważnego i trudnego, zarówno pod względem pojęciowym, jak i interpretacyjnym, tematu dotyczącego roli stabilizowanych nanocząstek złota w mechanizmie przerzutowania komórek nowotworowych kostniakomięsaka psów.
- Opracowanie metodyki badań interdyscyplinarnego zagadnienia badawczego należącego do obszaru weterynarii, proteomiki, analizy chemicznej oraz inżynierii materiałowej.
- Wniesienie istotnego wkładu do nowoczesnego opracowania stanu wiedzy z zakresu będącego przedmiotem rozprawy i opublikowanie artykułu w specjalistycznym czasopiśmie naukowym (Artykuł nr 1.)
- Zastosowanie do rozwiązania postawionego celu badawczego właściwie dobranych, najnowocześniejszych metod badawczych i analitycznych: MALDI/TOF-MS, TEM, metoda simple westerni i innych (Artykuły 2 i 3).

- Przeprowadzenie analizy statystycznej wyników za pomocą programu GraphPad Prism 9.0, testu ANOVA oraz testu Tukey'a.
- Merytoryczne opracowanie wszystkich danych eksperymentalnych w części opisowej rozprawy, polegające na syntezie wyników i wniosków opisanych w cyklu artykułów naukowych nr 1, 2 i 3, które wchodzi w skład rozprawy.
- Sformułowanie kierunków dalszych badań nad zagadnieniem roli nanocząstek złota w mechanizmie przerzutowania komórek kostniakomięsaka psów.

5. Uwagi krytyczne

W manuskrypcie znalazłem nieliczne niedoskonałości w postaci drobnych błędów literowanych i stylistycznych, które nie umniejszają wartości naukowej dysertacji. Autorka stosuje dość hermetyczny język, a tekst zawiera dużo symboli, skrótów i akronimów, które w większości są objaśnione na początku rozprawy (str. 14-16).

W części opisowej dysertacji Autorka wielokrotnie umieszcza pełny opis bibliograficzny artykułów naukowych stanowiących podstawę dysertacji. Wymienia autorów, tytuły, nazwę czasopisma oraz inne dane umożliwiające zidentyfikowanie artykułu. Spowodowało to zwiększenie objętości części opisowej. Moim zdaniem wystarczyło tylko raz podać opis bibliograficzny tych artykułów, a w dalszej części tekstu powoływać się na nie.

W części opisowej zabrakło mi graficznego przedstawienia roli nanocząstek złota w molekularnym mechanizmie przerzutowania komórek kostniakomięsaka. Sugeruję, aby Kandydatka pojęła próbę przedstawienia takiego mechanizmu w formie graficznej podczas publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

6. Ocena strony edytorskiej rozprawy

Pod względem językowym i graficznym oceniana rozprawa jest napisana bardzo starannie. Autorka stosuje poprawną terminologię naukową. Tekst części opisowej napisany jest dość hermetycznym językiem, ale jest zrozumiały i jednoznaczny. Wyniki przeprowadzonych badań są bardzo dobrze udokumentowane i graficznie zobrazowane. Błędy korektorskie i interpunkcyjne praktycznie nie występują.

7. Wniosek końcowy

Recenzowana rozprawa doktorska jest oryginalnym opracowaniem naukowym wyodrębnionego problemu badawczego o dużym znaczeniu praktycznym. Wartość

merytoryczną rozprawy oceniam wysoko i uważam, że wnosi ona istotny wkład naukowy do dyscypliny weterynaria.

Na podstawie analizy tekstu rozprawy doktorskiej oraz opublikowanego dorobku naukowego jestem przekonany, że lek. wet. Sylwia Stanisława Wilk opanowała wiedzę teoretyczną i metody badawcze oraz umiejętności formułowania tez i wniosków niezbędne do samodzielnego prowadzenia badań naukowych i publikowania ich wyników, w szczególności w dyscyplinie naukowej weterynaria, a także w obszarze innych dziedzin i dyscyplin naukowych.

Reasumując stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska lek. wet. Sylwii Stanisławy Wilk spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.) w dyscyplinie weterynaria. W związku z tym wnioskuję do Rady Dyscypliny Weterynaria Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

Uwzględniając naukowe i publikacyjne osiągnięcia Doktorantki z przekonaniem zgłaszam tę pracę do wyróżnienia.



Warszawa, 4 grudnia 2025 r.

Nadu

Prof. dr hab. inż. Sławomir Neffe
Wojskowa Akademia Techniczna
im. Jarosława Dąbrowskiego
Wydział Nowych Technologii
i Chemii
Ul. gen. Sylwestra Kaliskiego
00-908 Warszawa 2

Biurowo Obsługi Nauki
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie
ul. Nowoursynowska 166
02-787 Warszawa

R

(00)759007734152346746


(00)759007734152346746
Poczta Polska
Opłata pobrana 8 zł 45 gr

2025

08 12 2025

KANCELARIA GŁÓWNA SGGW
2025-12-10
WPEŁNIŁO DNIA -6-


RPW/36008/2025 N
Data: 2025-12-10