

Szczecin, 7.01.2026

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Iwony Moniki Szopy pt.: „Opracowanie metod aktywacji i różnicowania limfocytów T izolowanych z krwi obwodowej psów domowych (*Canis lupus familiaris*)”, którą wykonała pod kierunkiem Pani dr hab. Małgorzaty Gajewskiej, prof. SGGW w Katedrze Nauk Fizjologicznych Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

Recenzja została wykonana na zlecenie Rady Dyscypliny Weterynaria SGGW, zgodnie z pismem z dnia 2.12.2025 r. podpisanym przez Przewodniczącego Rady Dyscypliny Weterynaria SGGW w Warszawie – dr hab. Tomasza Sadkowskiego, prof. SGGW.

I. Ogólna ocena układu rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Iwony Szopy opiera się na dwóch opublikowanych oryginalnych pracach naukowych. Z analizy dokumentacji przedłożonej przez Doktorantkę jednoznacznie wynika, że w obu publikacjach pełniła ona rolę pierwszego autora, a w jednej z nich także autora korespondencyjnego. Zakres jej udziału w realizacji i powstaniu tych prac został potwierdzony stosownymi oświadczeniami wszystkich współautorów, co pozwala bez wątpliwości stwierdzić, iż wkład Doktorantki miał kluczowe znaczenie. Obie publikacje ukazały się w renomowanych czasopismach naukowych znajdujących się na liście JCR, powszechnie uznawanych w dyscyplinie reprezentowanej przez Doktorantkę. Poniżej przedstawiono zestawienie prac wraz z danymi bibliometrycznymi oraz szczegółowym udziałem Doktorantki, zgodnie z załączonymi oświadczeniami:

1. **Szopa IM.**, Granica M., Bujak JK., Łabędź A., Błaszczyk M., Paulos CM., Majchrzak-Kuligowska K.: Effective Activation and Expansion of Canine Lymphocytes Using a Novel Nano-Sized Magnetic Beads Approach. *Front. Immunol.* 2021, 12: 604066 (IF₂₀₂₁ 8,786; punkty MNiSW 140)

W publikacji tej Doktorantka opracowała koncepcję i projekt badań, sformułowała hipotezę badawczą oraz określiła cele badawcze, opracowała także metodykę, wykonała lwią część doświadczeń (izolacja PBMC, hodowle komórkowe, aktywacja limfocytów T, analiza ekspresji genów metodą real-time PCR, analizy cytometryczne: poziom cząsteczki CD25, proliferacja komórek, apoptoza, analiza syntezy cytokin, fenotypu komórek pamięci, ekspansji limfocytów T). Ponadto Doktorantka wykonała analizę statystyczną uzyskanych danych, przygotowała ryciny, zinterpretowała wyniki, opracowała tekst publikacji oraz uczestniczyła w procesie wydawniczym, udzielając odpowiedzi na recenzje.

2. **Szopa IM.**, Majchrzak-Kuligowska K., Pingwara R., Kulka M., Tasdemir M., Gajewska M.: A New Method of Canine CD4⁺ T Lymphocyte Differentiation Towards the Th17 Phenotype with Analysis of Properties and Mitochondrial Activity. *Int. J. Mol. Sci.* 2025, 26(10): 4946 (IF₂₀₂₅ 4,9; punkty MNiSW 140)

Zgodnie z oświadczeniem Doktorantki, jej udział w powstaniu pracy polegał na opracowaniu koncepcji i projektu badań, a także pozyskała finansowanie w ramach programu Preludium NCN, którym kierowała. Sformułowała hipotezę, określiła cele badawcze, opracowała metodykę oraz przeprowadziła doświadczenia, w zakresie: izolacji PMBC, limfocytów Th, hodowli komórkowych, aktywacji i różnicowania limfocytów Th, analiz cytometrycznych dotyczących analizy

poziomu cząsteczki CD25, syntezy cytokin i poziomu czynników transkrypcyjnych, fenotypu komórek pamięci oraz funkcji mitochondrialnych, analizy metabolizmu komórkowego metodą Seahorse. Ponadto Doktorantka przeprowadziła analizę statystyczną danych, przygotowała ryciny, zinterpretowała wyniki, opracowała tekst manuskryptu, a także udzielała odpowiedzi na recenzję w procesie redakcyjnych.

Podsumowując ocenę struktury i układu rozprawy doktorskiej należy stwierdzić, że zostały one zaprojektowane w sposób poprawny, logiczny i przejrzysty. Prace składające się na cykl publikacji, stanowiący podstawę rozprawy doktorskiej, tworzą spójną całość zarówno pod względem merytorycznym, jak i tematycznym, konsekwentnie realizując założony cel badawczy. Analiza dokumentacji oraz treści poszczególnych publikacji jednoznacznie wskazuje na wiodącą i kluczową rolę Doktorantki na każdym etapie realizacji badań, co nie budzi żadnych wątpliwości. Całość pracy świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

II. Ocena celu pracy

Celem pracy było opracowanie metod aktywacji i ekspansji psich limfocytów T izolowanych z krwi obwodowej oraz określenie warunków niezbędnych do różnicowania limfocytów pomocniczych w kierunku fenotypu Th17. Cele szczegółowe określono jako:

- 1) Opracowanie i optymalizacja warunków aktywacji psi limfocytów T w warunkach *in vitro*, ze szczególnym uwzględnieniem wpływu określonych typów mikrokulek magnetycznych;
- 2) Określenie wpływu proporcji mikrokulek magnetycznych do liczby komórek na skuteczność aktywacji psich limfocytów izolowanych z krwi obwodowej, ich zdolność do proliferacji, indukcję apoptozy oraz nabywanie fenotypu pamięci;

- 3) Ocena wpływu stymulacji psich limfocytów na syntezę cytokin efektorowych oraz aktywację wybranych szlaków sygnałowych;
- 4) Określenie wpływu temperatury na skuteczność aktywacji psich limfocytów izolowanych z krwi obwodowej;
- 5) Określenie optymalnej proporcji mikrokulek magnetycznych do liczby psich limfocytów T CD4⁺ w celu ich efektywnej aktywacji z zachowaniem wysokiej żywotności;
- 6) Opracowanie protokołu różnicowania psich limfocytów T CD4⁺ w kierunku fenotypu w warunkach *in vitro*;
- 7) Zbadanie wpływu modulatorów szlaku Wnt/ β -katenina (indometacyna, TWSS119, XAV939) na proces różnicowania psich limfocytów Th17;
- 8) Scharakteryzowanie fenotypowych i metabolicznych cech psich limfocytów Th17 różnicowanych z zastosowaniem modulatorów szlaku Wnt/ β -katenina.

Należy stwierdzić, że wyniki zaprezentowane w publikacjach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Iwony Szopy w sposób kompletny i spójny realizują założone cele badawcze, a jednocześnie odpowiadają najwyższym wymaganiom stawianym pracom naukowym. Uzyskane rezultaty cechują się wysoką jakością merytoryczną, rzetelnością metodologiczną oraz poprawnością interpretacyjną, co potwierdza ich znaczącą wartość naukową.

Warto zwrócić uwagę na fakt, że badania dotyczące opracowania metod aktywacji i ekspansji psich limfocytów T są unikatowe i wciąż niewiele jest prac tak kompleksowo rozwiązujących metodyczne i merytoryczne problemy związane z właściwym opracowaniem tego wartościowego materiału badawczego. Opracowana przez Doktorantkę metoda umożliwia uzyskanie komórek o bardzo wysokiej jakości biologicznej, charakteryzujących się zdolnością do intensywnej proliferacji, wysoką żywotnością oraz zachowaną funkcjonalnością. Co

szczególnie istotne, jest to metoda o najwyższej jak dotąd opisanej w piśmiennictwie efektywności, stanowiąca niewątpliwie istotny postęp metodologiczny w tej dziedzinie. Uzyskane wyniki w sposób znaczący poszerzają aktualny stan wiedzy na temat biologii psich limfocytów T, a jednocześnie posiadają wyraźny i bardzo obiecujący potencjał aplikacyjny, w szczególności w kontekście rozwoju adoptywnej immunoterapii weterynaryjnej. Na szczególne podkreślenie zasługuje również trafny wybór modelu badawczego – pies stanowi niezwykle wartościowy i coraz szerzej doceniany model w badaniach immunoonkologicznych, przede wszystkim ze względu na duże podobieństwo układu odpornościowego psów i ludzi. W określonych aspektach model psi wykazuje nawet przewagę nad klasycznie stosowanymi modelami gryzoni (mysz, szczur), gdyż nowotwory u psów rozwijają się najczęściej spontanicznie, a częstość ich występowania wzrasta wraz z wiekiem, co w sposób bardziej wierny odzwierciedla warunki kliniczne obserwowane u ludzi. Zaletą jest także podobny stopień odpowiedzi na leczenie. Z tych względów zaproponowane podejście badawcze należy uznać za wyjątkowo trafne, nowatorskie i zasługujące na dalszy rozwój oraz pogłębione badania.

Pracę cechuje dojrzałe podejście Doktorantki do tematu, zarówno w aspektach metodycznych, jak i merytorycznych, dlatego też uważam, że jest ona świadectwem dojrzałości naukowej i dobrego przygotowania do pracy naukowej.

III. Ocena merytoryczna pracy z omówieniem poszczególnych prac składających się na rozprawę doktorską

Praca 1: *Szopa IM., Granica M., Bujak JK., Łabędź A., Błaszczyk M., Paulos CM., Majchrzak-Kuligowska K.: Effective Activation and Expansion of Canine Lymphocytes Using a Novel Nano-Sized Magnetic Beads Approach. Front. Immunol. 2021, 12: 604066*

Praca dotyczy opracowania i optymalizacji nowej, skutecznej metody aktywacji oraz ekspansji limfocytów T izolowanych z krwi obwodowej psów z wykorzystaniem nanocząsteczek magnetycznych pełniących rolę sztucznych komórek prezentujących antygen. Autorzy, z dominującą rolą Doktorantki, koncentrują się na przezwycięzeniu ograniczeń dotychczas stosowanych podejść, które – w przeciwieństwie do dobrze scharakteryzowanych protokołów ludzkich – cechują się niską efektywnością w przypadku komórek psich. W pracy wykazano, że zastosowanie kulek magnetycznych opłaszczonych przeciwciałami anti-CD3 i anti-CD28 umożliwia szybką i wydajną aktywację psich limfocytów T, prowadząc do ich proliferacji, zachowania wysokiej żywotności oraz pełnej funkcjonalności efektorowej. Ponadto szczegółowo przeanalizowano warunki stymulacji, w tym siłę sygnału aktywacyjnego i temperaturę hodowli, oraz porównano nową metodę z klasyczną stymulacją mitogenem, wykazując jej wyraźne zalety. Praca podkreśla znaczenie psa jako wartościowego modelu w immuno-onkologii i medycynie porównawczej oraz wskazuje na potencjalne zastosowanie opracowanej platformy zarówno w badaniach podstawowych, jak i w rozwoju adoptywnej immunoterapii weterynaryjnej oraz projektowaniu nowoczesnych badań klinicznych u ludzi. Chcąc nawiązać naukową dyskusję z Doktorantką, ciekawa jestem opinii, jakie są główne ograniczenia opracowanej platformy ekspansji psich limfocytów T w kontekście jej potencjalnego zastosowania klinicznego w adoptywnej immunoterapii, oraz jakie dalsze modyfikacje metody uważa Pani za kluczowe dla zwiększenia jej translacyjnego znaczenia – zarówno w medycynie weterynaryjnej, jak i porównawczej?

Praca 2: Szopa IM., Majchrzak-Kuligowska K., Pingwara R., Kulka M., Tasdemir M., Gajewska M.: *A New Method of Canine CD4⁺ T Lymphocyte Differentiation Towards the Th17 Phenotype with Analysis of Properties and Mitochondrial Activity. Int. J. Mol. Sci. 2025, 26(10): 4946*

Praca opisuje opracowanie skutecznego protokołu aktywacji i różnicowania psich limfocytów T CD4⁺ w kierunku fenotypu Th17, a także na identyfikacji mechanizmów molekularnych regulujących ten proces. Szczególną uwagę poświęcono roli szlaku sygnałowego Wnt/ β -katenina w modulowaniu efektywności różnicowania komórek Th17. W pracy wykazano, że odpowiednia stymulacja komórek T z wykorzystaniem kulek magnetycznych oraz modyfikacja warunków hodowli, w tym farmakologiczne hamowanie szlaku Wnt/ β -katenina, istotnie zwiększają produkcję IL-17 i sprzyjają zmianom metabolicznym charakterystycznym dla komórek Th17. Uzyskane wyniki dostarczają nowych informacji na temat biologii psich limfocytów Th17 oraz podkreślają potencjał psa jako modelu w medycynie porównawczej i badaniach nad immunoterapiami opartymi na komórkach. Jestem ciekawa, jakie znaczenie – zdaniem Doktorantki - ma modulacja szlaku Wnt/ β -katenina dla stabilności i funkcjonalności uzyskanych limfocytów Th17 u psów *in vivo*, oraz jakie są potencjalne ograniczenia przeniesienia opracowanego protokołu do zastosowań terapeutycznych w immunoterapii nowotworów?

Na podstawie prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, Pani mgr inż. Iwona Szopa sformułowała następujące wnioski:

- 1) Zastosowanie mikrokulek magnetycznych pokrytych przeciwciałami skierowanymi przeciwko CD3 i CD8 skutecznie indukuje aktywację psich limfocytów T *in vitro*, a efektywność metody aktywacji zależy od rodzaju komórek znajdujących się w hodowli *in vitro*;
- 2) Limfocyty Th wyizolowane z krwi obwodowej psów można skutecznie różnicować do fenotypu komórek Th17, stosując opracowany protokół oparty na aktywacji limfocytów T CD4⁺ z zastosowaniem mikrokulek magnetycznych oraz hodowli w odpowiednie pożywce różnicującej;
- 3) Zahamowanie szlaku Wnt/ β -katenina przez indometacynę wspiera różnicowanie limfocytów Th17, a użycie TSW119 hamuje ten proces;

- 4) Uzyskano komórki zdolne do proliferacji, o wysokiej żywotności i funkcjonalności.

Wnioski zostały wyciągnięte właściwie, zgodnie ze sztuką, nie są one przeinterpretowane, a odpowiadają założonym celom i wynikom badań. Całość przeprowadzona jest w sposób konsekwentny i rzetelny oraz merytorycznie uzasadniony. Jednocześnie zwracam szczególną uwagę na podjęty temat badawczy, który jest unikatowy i bardzo ważny dla rozwoju medycyny translacyjnej. Poszukiwanie dobrych modeli to nieustająca droga do postępu i dobrych jakościowo badań naukowych, służących nowym terapiom w służbie zwierzętom i ludziom. Praca jest dobrym świadectwem przygotowania Doktorantki do samodzielnej pracy naukowej.

IV. Ocena końcowa pracy

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Iwony Moniki Szopy pt. „*Opracowanie metod aktywacji i różnicowania limfocytów T izolowanych z krwi obwodowej psów domowych (Canis lupus familiaris)*” jest autonomicznym, nowatorskim i merytorycznie bardzo wartościowym opracowaniem ważnego zagadnienia badawczego. Przedstawiona praca charakteryzuje się wysokim poziomem naukowym, a przyjęte cele badawcze są ambitne, jasno określone i w pełni zrealizowane w sposób logiczny i konsekwentny. Zaprezentowane wnioski są przemyślane, oryginalne i adekwatne do postawionych problemów badawczych, a jednocześnie stanowią istotny wkład w rozwój wiedzy w danej dyscyplinie. Na szczególne podkreślenie zasługuje również wyraźny potencjał aplikacyjny uzyskanych wyników, który nadaje przeprowadzonym badaniom wymiar praktyczny i zwiększa ich znaczenie naukowe.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Iwony Moniki Szopy pt.: „*Opracowanie metod aktywacji i różnicowania limfocytów T izolowanych z krwi obwodowej psów domowych (Canis lupus familiaris)*”, którą wykonała pod kierunkiem Pani dr hab. Małgorzaty Gajewskiej, prof. SGGW w Katedrze Nauk Fizjologicznych Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie **spełnia** wszystkie warunki określone w art.

187 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r., poz. 1571). Wnoszę zatem o dopuszczenie Pani mgr inż. Iwony Moniki Szopy do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Jednocześnie, z uwagi na bardzo wysoką jakość przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej, a w szczególności:

- podjęcie interesującego, niszowego, a jednocześnie jasno i precyzyjnie zdefiniowanego problemu badawczego;
- zastosowanie właściwego, spójnego i kompleksowego podejścia metodologicznego, adekwatnego do postawionych celów;
- sformułowanie trafnych i logicznych wniosków, w pełni odpowiadających założeniom pracy, popartych umiejętną i krytyczną dyskusją wyników;
- wysoki poziom biegłości w przygotowywaniu manuskryptów naukowych publikowanych w renomowanych czasopismach specjalistycznych;
- wyraźny potencjał aplikacyjny przeprowadzonych badań, podkreślający ich praktyczne znaczenie.

wnioskuję o stosowne wyróżnienie.

dr hab. Paulina Niedzwiedzka-Rystwej, prof. US
DYREKTOR
Centrum Immunologii Doświadczalnej
oraz Immunobiologii Chorób
Zakaźnych i Nowotworowych
Uniwersytet Szczeciński

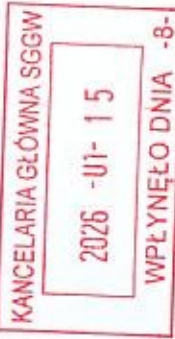




UNIWERSYTET SZCZECIŃSKI

Uniwersytet Szczeciński
al. Papieża Jana Pawła II 22a
70-453 Szczecin

Niedźwiedzka-Rystwej Paulina
Instytut Biologii



OPLATA POBRANA
TAXE PERÇUE-POLOGNE
Umowa z Poczta Polską S.A.
Nr A-ZP.384.195.2023 z dnia 18.12.2023 r.
F



RPJ/1011/2026 N
Data: 2026-01-15



44908 09.01.2026 00

Sekretariat Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Szkoła
Główna Gospodarstwa Wiejskiego
Nowoursynowska 159
02-776 Warszawa

09.01.2026