

Lublin, 13.06.2024

Dr hab. n. o zdr. Marta Kinga Lemieszek, prof. IMW
Zakład Biologii Medycznej
Instytut Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Alicji Wierzbickiej pt.: „*Analiza czynników modulujących efekty suplementacji witaminą D: perspektywa literaturowa, badania transkryptomiczne i epigenomiczne*”

Rozprawa doktorska pt.: „*Analiza czynników modulujących efekty suplementacji witaminą D: perspektywa literaturowa, badania transkryptomiczne i epigenomiczne*” autorstwa mgr inż. Alicji Wierzbickiej została przygotowana w Zakładzie Biologii Molekularnej Zwierząt Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego pod opieką promotora dr hab. Marii Oczkiewicz, prof. IZ oraz promotora pomocniczej dr inż. Anny Koseniuk.

Przez dziesięciolecia witamina D3 kojarzona była niemal wyłącznie z regulacją równowagi wapniowo-fosforowej organizmu i wpływem na układ szkieletowy. Badania ostatnich lat udowodniły plejotropowe działania witaminy D3, która odgrywa kluczową rolę w prawidłowym funkcjonowaniu układu odpornościowego, nerwowego, rozrodczego, krążenia, oddechowego oraz mięśniowo-szkieletowego. Chociaż istnieją dwa niezależne sposoby pozyskiwania witaminy D3 przez zwierzęta (endogenna synteza oraz pożywienie), powszechność występowania jej niedoborów oraz będących ich następstwem chorób przybrało skalę pandemii. Na pierwszy rzut oka najprostszym sposobem na utrzymanie fizjologicznego stężenia witaminy D3 w organizmie wydaje się ekspozycja skóry na słońce, jednak rosnąca świadomość społeczeństwa na temat wpływu promieniowania UVB na rozwój nowotworów oraz proces starzenia, a także wiele czynników zakłócających proces jej endogennej syntezy spowodowały, że większość strategii neutralizacji niedoborów witaminy D3 opiera się na jej suplementacji drogą pokarmową. Niestety również ta strategia ma szereg ograniczeń, w tym w szczególności, brak jednoznacznych wytycznych co do dawek i formy witaminy D3 rekomendowanych osobom zdrowym oraz cierpiącym na schorzenia związane z

zaburzeniami jej metabolizmu. Opracowanie takich wytycznych z uwagi na szereg czynników modulujących proces syntezy oraz aktywność biologiczną witaminy D3 jest trudne, ale tym bardziej zasługuje na podjęcie stosownych działań. Pomimo, że w przypadku zwierząt hodowlanych istnieje znacznie większa możliwość kontrolowania czynników modulujących poziom witaminy D3 w organizmie, również i tu napotykamy na podobne wyzwania, których podjęcie utrudnia ograniczona ilość danych literaturowych dedykowanych tej tematyce. Dalszych analiz wymaga również poznanie mechanizmów molekularnych leżących u podłoża aktywności biologicznej witaminy D3, zwłaszcza u zdrowych osobników. Próba odpowiedzi na wskazane wyzwania jest rozprawa doktorska mgr inż. Alicji Wierzbickiej i w tym kontekście zagadnienia w niej poruszone są unikatowe a uzyskane wyniki istotne dla poszerzenia skromnych zasobów wiedzy z tego obszaru.

Rozprawa doktorska mgr inż. Alicji Wierzbickiej ma postać spójnego tematycznie cyklu czterech publikacji, poświęconych analizie wpływu paszy wzbogaconej różnymi dawkami cholekalcyferolu, kalcydiolu oraz ich kombinacji na transkryptom mięśni szkieletowych i tkanki płuc świń oraz przemiany epigenetyczne w tkance płuc świń. Dodatkowo Doktorantka podjęła próbę analizy transkryptomu i epigenomu w kontekście różnic płciowych. Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w latach 2022-2024 a ich łączny współczynnik cytowań IF wynosi 15.5. We wszystkich publikacjach mgr inż. Alicja Wierzbicka jest pierwszym autorem, który jak wynika z informacji zawartych w manuskryptach odpowiedzialny był za: przeprowadzenie badań; analizę, opracowanie, wizualizację oraz interpretacji wyników badań; organizację i integrację danych; przygotowanie roboczej wersji manuskryptu oraz jego późniejszą korektę i edycję. Do rozprawy zostały dołączone oświadczeniach wszystkich współautorów prac określające ich indywidualny wkład w powstanie publikacji. Wśród oświadczeń zabrakło informacji o roli Doktorantki w pracach tworzących rozprawę doktorską, niemniej jednak dane zawarte w treści manuskryptów, jednoznacznie wskazują na Jej wiodący wkład w ich powstanie.

Rozprawa doktorska ma nietypową strukturę obejmującą następujące rozdziały: Spis treści; Streszczenie w języku polskim oraz angielskim; Wstęp; Cele pracy doktorskiej; Cykl publikacji naukowych; Wnioski; Bibliografię. Do rozprawy zostały dołączone wspomniane oświadczenia współautorów określające ich wkład w powstanie poszczególnych publikacji oraz pełne teksty artykułów stanowiących monotematyczny zbiór publikacji. Niestety do

rozprawy nie zostały dołączone materiały dodatkowe powiązane z opublikowanymi pracami badawczymi, pomimo iż w rozprawie pojawiają się odniesienia do wyników w nich zawartych. Omówienie prac badawczych ma niefortunną strukturę. Doktorantka w pierwszej kolejności przedstawia wykorzystane materiały i metody a dopiero po nich cel badań oraz kluczowe wyniki i wnioski. Uważam, że korzystniejszym byłoby wyodrębnienie rozdziału dedykowanego omówieniu wykorzystanych materiałów i technik badawczych, a w omówieniu publikacji skupienie się wyłącznie na uzyskanych wynikach, ich interpretacji oraz konfrontacji z danymi literaturowymi. Ponadto, wskazanym byłoby zamieszczenie w rozprawie wykazu stosowanych skrótów.

We „Wstępie”, który stanowi wprowadzenie w tematykę rozprawy doktorskiej mgr inż. Alicja Wierzbicka przedstawiła najważniejsze informacje o syntezie witaminy D3, głównych czynnikach wpływających na jej poziom w organizmie oraz zasygnalizowała konsekwencje zdrowotne jej niedoborów. Ponadto, zarysowała główne z zagadnień rozprawy doktorskiej tj. różnice w poziomie i aktywności biologicznej witaminy D3 u samic i samców i ich następstwa zdrowotne; sprzeczne rekomendacje dotyczące dawek i form witaminy D3 w żywieniu ludzi i trzody chlewnej; brak wytycznych dotyczących suplementacji witaminy D3 uwzględniających czynniki modulujące jej poziom i aktywność biologiczną. Jednocześnie wskazała na potrzebę lepszego poznania mechanizmów molekularnych działania witaminy D3, zwłaszcza u zdrowych osobników.

W rozdziale „Cele pracy doktorskiej” mgr inż. Alicja Wierzbicka przedstawiała cztery cele szczegółowe nawiązujące do wskazanych we „Wstępie” problemów badawczych, rozwiązaniem których jest prezentowana rozprawa. Z obowiązku recenzenta prosiłabym o klarowne sformułowanie nadrzędnego celu omawianej pracy doktorskiej.

Główną część rozprawy doktorskiej stanowi omówienie czterech publikacji naukowych wchodzących w skład cyklu pod wspólnym tytułem „*Analiza czynników modulujących efekty suplementacji witaminą D: perspektywa literaturowa, badania transkryptomyczne i epigenomiczne*”

Pierwsza publikacja cyklu jest pracą przeglądową, w której szczegółowo omówiono zagadnienia poruszone we „Wstępie”. W zasadniczej części manuskryptu mgr inż. Alicja Wierzbicka dokonała przeglądu wyników badań, przede wszystkim z ostatnich 20 lat,

wskazujących na związki między poziomem witaminy D3 rejestrowanym u kobiet i mężczyzn a występowaniem i przebiegiem nowotworów, zaburzeń metabolicznych, chorób autoimmunologicznych oraz chorób układów kostno-szkieletowego, mięśniowego, krążenia i nerwowego. Mając na uwadze nadrzędny cel publikacji za szczególnie cenne uważam zaprezentowanie przez Doktorantkę wyników badań w których poziom witaminy D3 oraz jej następstwa zdrowotne korelowano z poziomem hormonów płciowych. Ze względu na wielość oraz różnorodność czynników modulujących poziom oraz aktywność biologiczną witaminy D3, właściwa interpretacja większości wyników badań zaprezentowanych przez Doktorantkę nie pozwoliła na sformułowanie jednoznacznych wniosków na temat związku omawianych zagadnień z płcią. Godnym docenienia jest jednak fakt, że mgr inż. Alicja Wierzbicka w wielu przypadkach była w stanie dostrzec i wskazać na ograniczenia opisywanych badań uniemożliwiające ustalenie rzeczywistego wpływu różnic międzypłciowych na metabolizm i funkcje biologiczne witaminy D3. Niemniej jednak, część z tych ograniczeń Doktorantka mogła w pewnym zakresie zniwelować poprzez bardziej szczegółową charakterystykę grup badanych, a w szczególności precyzyjne określenie rejestrowanych w surowicy stężeń kalcydiolu. Danych tych zabrakło mi w podrozdziale „Różnice płciowe w poziomie witaminy D w surowicy” a w szczególności w Tabeli 1. stanowiącej jego podsumowanie. Istotnych wniosków w zakresie omawianego zagadnienia mogłaby również dostarczyć analiza wyników badań na zwierzętach prowadzonych równoległe na samcach i samicach w ściśle kontrolowanych warunkach, które pozwalają na niwelowanie wpływu większości czynników niezwiązanych z płcią na syntezę i aktywność witaminy D3. Pomimo kilku uwag oraz zastrzeżeń, praca otwierająca cykl publikacji stanowi nie tylko doskonałe podsumowanie istniejącego stanu wiedzy w zakresie plejotropowego działania witaminy D3 oraz jej znaczenia dla prawidłowego funkcjonowania organizmu, ale jak słusznie zauważyła sama Doktorantka wskazuje na *„potrzebę przeprowadzenia badań klinicznych i eksperymentów na modelach zwierzęcych w celu określenia roli czynników innych niż środowiskowe, w tym różnic międzypłciowych w działaniu witaminy D”*. *„Poszerzenie wiedzy w tym obszarze może prowadzić do powstania rekomendacji dietetycznych dostosowanych do płci”* o kluczowym znaczeniu z punktu widzenia dobrostanu ludzi i zwierząt.

W drugiej publikacji mgr inż. Alicja Wierzbicka zaprezentowała unikatowe wyniki z analizy wpływu paszy wzbogaconej różnymi dawkami cholekalcyferolu, kalcydiolu oraz ich kombinacji na jakość wieprzowiny oraz transkryptom mięśni szkieletowych świń. Z nieznanych mi powodów najciekawsza część wyników wskazująca na korzystny wpływ paszy

wzbogaconej kalcydiolem na wytrzymałość, spistość i sprężystość wieprzowiny przy braku istotnych zmian w składzie chemicznym mięsa, jak również wykazanie bezpieczeństwa stosowania wyższych dawek cholekalcyferolu, została pominięta w rozprawie doktorskiej. Doktorantka skupiła się natomiast na porównaniu transkryptomów mięśni szkieletowych świń karmionych paszą o różnym składzie i stężeniu metabolitów witaminy D3. Pomimo, że wyniki NGS ujawniły zmiany w poziomie ekspresji pięciu genów, dalsze analizy z wykorzystaniem metody qPCR nie potwierdziły istotności statystycznej prezentowanych danych. W tym kontekście zaskoczyło mnie, bardzo szczegółowe omówienie wyników ze wspomnianych 5 genów jak również dyskusja danych z 13 innych genów o współczynnikiem $P_{adj} = 0.052$ (wyniki nieistotne statystycznie). O ile doceniam wysiłek intelektualny, włożony przez Doktorantkę w próby prognozowania skutków „zidentyfikowanych zmian w poziomie ekspresji genów”, pragnę zwrócić uwagę, że omawianie i dyskutowanie zmian nieistotnych statystycznie nie ma wartości naukowej a do tego zaciemnia odbiór pozostał danych. W tym miejscu jestem zobowiązana również zwrócić uwagę na potrzebę przerehabilitacji wniosków z omawianego badania by jednoznacznie wskazywały na brak wpływu analizowanych sposobów żywienia tuczników na transkryptom mięśni szkieletowych.

W trzeciej publikacji zaprezentowano unikatowe wyniki z analizy wpływu paszy wzbogaconej różnymi dawkami cholekalcyferolu, kalcydiolu oraz ich kombinacji na ekspresję miRNA w tkance płuc świń. Mgr inż. Alicja Wierzbicka udowodniła, że całkowite zastąpienie cholekalcyferolu przez kalcydiol w paszy tuczników, najskuteczniej ze wszystkich testowanych kombinacji, podnosi poziom 25(OH)-witaminy D3 w surowicy (wzrost z 39.67 ng/ml do 133.5 ng/ml) jednocześnie nie powodując żadnych zmian w poziomie ekspresji miRNA w tkance płuc analizowanych zwierząt. Jednocześnie Doktorantka wykazała, że dwukrotne zwiększenie poziomu cholekalcyferolu w paszy świń powoduje dwukrotny wzrost poziomu 25(OH)-witaminy D3 w surowicy (wzrost z 39.67 ng/ml do 63.96 ng/ml) oraz znaczący wzrost ekspresji miR-215 (\log_2 Fold Change = 2.65), co z uwagi na sugerowaną możliwość promowania włóknienia płuc stanowi ostrzeżenie przed stosowaniem tej suplementacji. Z drugiej jednak strony Doktorantka wykazała, że zwiększenie poziomu witaminy D3 w paszy poprzez użycie kombinacji cholekalcyferolu i kalcydiolu wyraźnie hamuje ekspresję wspomnianego miR-215. Niezwykle ciekawych wyników dostarczyło również porównanie profili miRNA płuc świń karmionych mieszanką cholekalcyferolu i kalcydiolu z danymi z pozostałych grup żywieniowych. Szczególnie interesujące wydaje się być wzrost ekspresji miR-150, miR-193a oraz miR-574, który powtarzał się w zestawieniu

wyników uzyskanych w Grupie 3 z pozostałymi Grupami badanymi. W oparciu o przegląd danych literaturowych Doktorantka powiązała ww. zmiany z potencjalnym korzystnym wpływem na supresję nowotworów (miR-193), odpowiedź immunologiczną na infekcje wirusowe i bakteryjne (miR-150) oraz zmniejszeniem uszkodzeń płuc w przebiegu sepsy (miR-574). Niezwykle ciekawych wyników dostarczyła również analiza funkcjonalna wskazująca, że zamiana standardowej dawki cholekalcyferolu lub kalcydiolu na podwyższoną dawkę kombinacji obu metabolitów aktywuje odpowiednio 15 i 13 ścieżek biologicznych. Spośród 10 szlaków wspólnych dla przeprowadzonych porównań, Doktorantka bliżej omówiła zmiany w szlakach bezpośrednio lub pośrednio związanych z procesem nowotworzenia. Mgr inż. Alicja Wierzbicka przeprowadziła pogłębioną dyskusję wyników wskazujących na potencjalny wpływ łącznej suplementacji cholekalcyferolu i kalcydiolu na szlaki sygnałowe odpowiedzialne za regulację pluripotencji komórek macierzystych (wpływ poprzez miR-340, miR-381); szlak sygnałowy TGF- β (zmiany w ekspresji miR-381, miR-101, miR-340); szlak sygnałowy estrogenu (zmiany w ekspresji miR-96, miR-181a, miR-181b i miR-193a), szlaki metaboliczne proteoglykanów w nowotworach (miR-381, miR-96, miR-340). Za interesujące oraz godne docenienia uważam również próby wyjaśnienia wpływu suplementacji cholekalcyferolem i kalcydiolem na syntezę i metabolizm glukanów poprzez analizę zmian w ekspresji genów *NEUI* oraz *FUT1* (niestety nie wykryto istotnych statystycznie różnic). Zabrakło mi natomiast omówienia wpływu suplementacji cholekalcyferolem i kalcydiolem na poziom miR-450a (zmiany wykryte w porównaniach wyników Gr. 3 vs Gr. 1 oraz Gr. 3 vs Gr 4.) łączony z metabolizmem ksenobiotyków przez udziale cytochrom P450.

Czwarta publikacja koncentruje się na ocenie wpływu paszy o standardowej i zwiększonej dawce cholekalcyferolu na transkryptom i metylom tkanki płuc świń. W oparciu o wyniki sekwencjonowania mRNA, Doktorantka wykazała, że zwiększenie zawartości witaminy D3 w diecie świń wpłynęło na ekspresję 195 genów, z czego 168 miało obniżoną ekspresję. Natomiast w oparciu o wyniki sekwencjonowania RRBS, mgr inż. Alicja Wierzbicka, zidentyfikowano w DNA 1116 różnie metylowanych miejsc związanych z genami oraz z sekwencjami regulatorowymi genów, z czego 628 uległo hipermetylacji a pozostałe a 487 hypometylacji. Zidentyfikowane miejsca o zmienionym poziomie metylacji znajdowały się głównie w intronach (47.17%) a jedynie 5.24% w eksonach. Przeprowadzona integralna analiza wyników mRNA-seq oraz methyl-seq wyłoniła 11 genów (*ITIH2*, *HSD17B6*, *CYP3A22*, *TTPA*, *SHMT1*, *MIPEP*, *PSMA1*, *HDLBP*, *KLHL3*, *BHMT* i *UGT1A6*),

których poziom ekspresja oraz metylacji uległ zmianie w odpowiedzi na zwiększenie dawki cholekalcyferolu w paszy świń. Pogłębiona analiza funkcjonalna zmian obserwowanych we wskazanym panelu 11 genów sugerowała ochronny wpływ zwiększonej dawki cholekalcyferoli na procesy włóknienia (zmiany w genach *SHMT1*, *UGT1A6* i *ITIH2*) oraz nowotworzenia (zmiany w genach *SHMT1*, *UGT1A6*, *ITIH2*, *KLHL3* i *TTPA*). Podobnie jak w dwóch poprzednich pracach badawczych, również i w tym wypadku Doktorantka wykazała się dużą wnikliwością i zacięciem naukowym w próbie zrozumienia i wyjaśnienia zaobserwowanych zmian w transkryptomie i metylomie.

Z uwagi na wykryte zależności, sposób prezentacji wyników i ich interpretację moją uwagę przykuły przede wszystkim trzecia oraz czwarta publikacja z cyklu. Pragnę podkreślić klarowny sposób prezentacji koncepcji badań oraz przedstawienie wyjaśnień podstaw kluczowych decyzji dotyczących zaniechania lub rozszerzenia analiz, która to działania pozwalają prześledzić kolejne etapy realizacji założonych celów badawczych. Niemniej jednak, jestem zmuszona zwrócić uwagę na zbyt daleko idącą interpretację niektórych z wyników badań zaprezentowanych we wskazanych publikacjach. Prognozowanie na podstawie wyników analiz transkryptomu czy też zmian epigenetycznych następstw funkcjonalnych jest niezwykle interesujące i pouczające, ale powinno zostać opatrzone stosownym komentarzem informującym, że są to jedynie przewidywania a nie twarde dowody na wystąpienie zakładanych zmian. W tym kontekście część wniosków sformułowanych w oparciu o wyniki publikacji 3 i 4 powinna zostać przereklamowana.

Pomimo, że skrócony opis osiągnięcia nie zawiera wyodrębnionej Dyskusji, na wzór publikacji została ona poprowadzona równoległe z opisem wyników. Doktorantka z dużą swobodą porusza się w obrębie literatury przedmiotu, trafnie przywołuje wyniki uzyskane przez innych badaczy i na ich tle pozycjonuje wyniki własne. Należy podkreślić, że Doktorantka nie boi się przywoływać danych literaturowych wskazujących na odmienną od zaprezentowanej przez Nią interpretację niektórych wyników analiz biologicznych. W każdym takim przypadku była w stanie merytorycznie odnieść się do wskazanych różnic co świadczy o Jej dojrzałości naukowej i krytycznym spojrzeniu na wyniki własne.

W mojej ocenie, Doktoranta osiągnęła założone cele szczegółowe, których realizację podsumowała w 4 wnioskach bezpośrednio do nich nawiązujących. Niemniej jednak, kolejny raz zwracam uwagę, że wnioski znacznie odbiegające od uzyskanych i zaprezentowanych

wyników powinny zostać przereklamowane a ich wydźwięk złagodzony. Jednocześnie, zważywszy na duży potencjał wdrożeniowy uzyskanych wyników, rekomendowałabym rozszerzenie wniosków konkluzyjnych o postulatywne wskazujące na implementacje praktyczne otrzymanych danych.

Piśmiennictwo wykorzystane do omówienia najistotniejszych wyników badań obejmuje 93 pozycje literaturowe przygotowane w języku angielskim, spośród których aż 70% pochodzi z ostatnich dziesięciu lat. Dobór literatury, jej cytowanie w tekście rozprawy jak również sposób przygotowania samego wykazu nie budzą moich zastrzeżeń.

Oprócz wcześniej zasygnalizowanych drobnych niedociągnięć i wskazanych rekomendacji, prosiłabym Doktorantkę o wyjaśnienie następujących kwestii:

W publikacji otwierającej cykl, Doktorantka zwróciła uwagę na wpływ płci a w szczególności hormonów płciowych na syntezę i aktywność biologiczną witaminy D3 w organizmie. Niestety w mojej ocenie kwestia ta została zmarginalizowana w prezentowanych pracach badawczych. Wprawdzie w omówieniu wyników drugiej i trzeciej publikacji cyklu pojawiła się informacja o przeprowadzeniu analiz PCA (Principal Component Analysis), które wykazały brak zależnych od płci zmian w profilach mRNA tkanki mięśni szkieletowych oraz profilach miRNA tkanki płuc zwierząt karmionych paszami o różnej zawartości i składzie cholekalcyferolu i kalcydiolu. Niemniej jedna, zwracam uwagę, że w trzeciej publikacji cyklu nie ma wzmianki o analizie PCA profili miRNA, natomiast wyniki PCA z drugiej publikacji znajdują się w materiałach dodatkowych nie dołączonych do rozprawy. Bardzo prosiłabym o wyjaśnienie tych kwestii. Dodatkowo pozostając w temacie różnic płciowych w aktywności biologicznej witaminy D3, chciałabym zrozumieć jaki jest sens prowadzenia badań na wykastrowanych samcach?

Z uwagi na wskazane przez samą Doktorantkę niejednoznaczne rekomendacje dotyczące dawek oraz form witaminy D3 zalecanych w żywieniu trzody chlewnej, proszę o wyjaśnienie na jakiej podstawie zostały wybrane dawki cholekalcyferolu oraz kalcydiolu użyte w doświadczeniach.

W drugiej oraz w trzeciej publikacji cyklu zawarte zostały wyniki z pomiaru poziomu 25(OH)-witaminy D3 w surowicy świń karmionych paszą o różnym składzie i zawartości metabolitów witaminy D3. Uzyskane wyniki Doktorantka zdawkowo omówiła przy okazji analizy zmian w ekspresji miRNA płuc świń. W mojej ocenie są one na tyle ciekawe, że

warto byłoby je omówić w szerszym kontekście m.in. z wynikami z drugiej publikacji (z oceny wpływu na jakość mięsa) i w oparciu o nie spróbować stworzyć rekomendacje dla hodowców zwierząt.

Z obowiązku Recenzenta jest również zmuszona zwrócić uwagę na liczne skróty myślowe spośród których najbardziej raziły mnie następujące sformułowania: „*Efektom tych zmian są często diagnozowane, poważne, sezonowe deficyty witaminy D w osoczu*”; „*suplementacja kalcydiolem może być skuteczniejsza w podnoszeniu poziomu witaminy D w osoczu*”; „*Obecnie niewystarczająca koncentracja witaminy D w osoczu krwi ludzi jest globalnym problemem, który osiągnął status pandemii*”. Jestem przekonana, że Doktorantka jest świadoma, że poziom 25(OH)-witaminy D₃ w surowicy jest powszechnie stosowany jako marker poziomu witaminy D₃ w organizmie i w konsekwencji używa się go do tworzenia rekomendacji dotyczących suplementacji witaminy D₃, ale nie jest on w stanie odzwierciedlić rzeczywistego poziomu aktywnej biologicznie formy witaminy D₃. Sformułowania użyte przez Doktorantkę, sugerują, że niski poziom 25(OH)-witaminy D₃ w surowicy jest zaburzeniem czy wręcz jednostką chorobową, a nie jedynie wskaźnikiem (do tego bardzo niedoskonałym) niedoboru witaminy D₃.

Jestem również bardzo ciekawa co Doktorantka miała na myśli pisząc: „*nienaturalny tryb życia, który często charakteryzuje kraje rozwinięte*” (str. 7), oraz czym są „*mitochondrialne komórki nerek*” (str. 9), „*status witaminy D*” (str. 17), „*rak hematologiczny*” (str. 17), „*transport elektronów oddechowych*” (str. 24).

Obok skrótów myślowych raziło mnie również rozpoczynanie zdania małą literą (zauważyłam 6 takich potknięć językowych) lub spójnikiem „co więcej”, „i tak” oraz stosowanie kalek językowych np. „*koncentracja witaminy D*” zamiast „*stężenie witaminy D*”; „*istotność witaminy D*” zamiast „*znaczenie witaminy D*”.

Zgłoszone uwagi krytyczne nie umniejszają wartości naukowej omawianej rozprawy, która ze względu na unikatową problematykę oraz wykorzystane narzędzia badawcze ma duży potencjał wdrożeniowy. Waler poznawczy rozprawy podkreśla również fakt opublikowania prezentowanych wyników badań w renomowanych czasopismach naukowych o wysokich wskaźnikach wpływu. Pragnę również zwrócić uwagę, że zgodnie z informacjami zawartymi w treści manuskryptów, mgr inż. Alicja Wierzbicka opanował i wykonał większość zaprezentowanych w rozprawie analiz, umiejętnie przedstawiła uzyskane wyniki i co

najistotniejsze przeprowadziła ich dojrzałą dyskusję. Na pochwałę zasługuje również graficzna strona publikacji wchodzących w skład cyklu. Obok starannie przygotowanych rycin i wykresów, moją uwagę zwrócił schemat przedstawiający różnice płciowe w syntezie i aktywności biologicznej witaminy D3 oraz rycina prezentująca potencjalny wpływ zwiększonych dawek witaminy D3 na mechanizmy molekularne leżące u podłoża rozwój raka płuca oraz włóknienia płuc.

Na podstawie lektury rozprawy doktorskiej pt. *„Analiza czynników modulujących efekty suplementacji witaminą D: perspektywa literaturowa, badania transkryptomyczne i epigenomiczne”* stwierdzam, że mgr inż. Alicja Wierzbicka posiada ogólną wiedzę teoretyczną w zakresie dyscypliny zootechnika i rybactwo oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych a przygotowana przez Nią rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego przedstawionego we wstępie pracy. W związku ze spełnieniem wymogów formalnych określonych w Art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.) wnoszę o przyjęcie rozprawy doktorskiej mgr inż. Alicji Wierzbickiej i dopuszczenie jej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Marta Lemieszek

Dr hab. n. o zdr. Marta Lemieszek, prof. IMW