

Bydgoszcz, 8 grudnia 2025

dr hab. inż. Aleksandra Dunisławska, prof. PBŚ
Katedra Biotechnologii i Genetyki Zwierząt
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt
Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Anny Steg

pt. „Wpływ suplementacji witaminą D3 diety świń na transkryptom i proteom w wybranych tkankach”

Podstawę przygotowania recenzji stanowi pismo RN/I/6/25 z dnia 29.09.2025 roku skierowane przez Dyrektora Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego w Balicach - dr inż. Tomasza Jacka. Praca doktorska Pani mgr Anny Steg powstała pod kierunkiem promotora - dr hab. Marii Oczkowicz, prof. IZ oraz promotora pomocniczego - dr Grzegorza Smołuchy. Postępowanie w sprawie o nadanie stopnia naukowego doktora realizowane jest w dyscyplinie **zootechnika i rybactwo**.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr Anny Steg stanowi wartościową, zwartą i nowatorską pracę naukową, która obejmuje kompleksową ocenę wpływu suplementacji wysokimi dawkami witaminy D₃ na zdrowe świnię, z zastosowaniem metod omicznych - transkryptomiki oraz proteomiki - w trzech kluczowych tkankach: wątrobie, mięśniach i tkance tłuszczowej.

Rozprawa doktorska składa się z trzech opublikowanych i powiązanych ze sobą tematycznie artykułów naukowych, które ukazały się w latach 2022-2025. Dwie prace cyklu publikacyjnego stanowią oryginalne prace badawcze, natomiast jedna z prac jest pracą przeglądową stanowiącą wprowadzenie w tematykę dotyczącą wykorzystania technik

omicznych w ocenie efektów suplementacji. Wszystkie artykuły zawarte w cyklu opublikowane zostały w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, a tym samym przeszły staranną weryfikację redakcyjną - formalną oraz merytoryczną. Łączna wartość wskaźnika *Impact Factor* prac przedstawionych w cyklu wynosi **13**, a liczba punktów zgodnie z wykazem czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego za rok ukazania się wynosi **340**. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Deklarowany wkład Pani mgr Anny Steg w powstanie prac jest wiodący, a na podkreślenie zasługuje udział Doktorantki we współtworzeniu koncepcji oraz metodyk badawczych, wykonywaniu części eksperymentalnej, a także przygotowaniu manuskryptu. Świadczy to o dużej dojrzałości naukowej oraz samodzielności w organizacji warsztatu badawczego.

Oceny dokonano na podstawie egzemplarza rozprawy doktorskiej z załączonymi trzema ilustrowanymi, anglojęzycznymi kopiami artykułów naukowych, będącymi podstawą ocenianej pracy. Rozprawa składa się z autoreferatu stanowiącego syntezę wyżej wspomnianych publikacji. Na autoreferat składa się 67 stron, podzielone na 10 rozdziałów zgodnie ze standardami dla tego typu opracowań, tj.: wprowadzenie, cele pracy badawczej, streszczenie prac naukowych stanowiących cykl, metodyka, podsumowanie wyników i dyskusja, wnioski, a także piśmiennictwo. Za bardzo cenny uważam rozdział dotyczący ograniczeń pracy oraz planów dotyczących przyszłych badań. Warto również nadmienić, iż praca powstała w ramach projektu Preledium BIS finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, co podkreśla jej wysoki standard organizacyjny i merytoryczny. Tematyka rozprawy jest aktualna, ważna zarówno z punktu widzenia zootechniki, jak i medycyny translacyjnej oraz wpisuje się w światowy trend badań nad molekularnymi efektami suplementów diety.

Autorka trafnie uzasadniła wybór tematu, wskazując na rosnące stosowanie wysokich dawek witaminy D u ludzi i zwierząt, a jednocześnie wyraźny brak danych dotyczących bezpieczeństwa i molekularnych konsekwencji jej długotrwałej suplementacji u zdrowych osobników bez wyjściowego niedoboru. Witamina D od wielu lat pozostaje w centrum zainteresowania nauk biologicznych i medycznych ze względu na swoją wyjątkową, wielokierunkową rolę w organizmie. Choć tradycyjnie kojarzona jest głównie z regulacją gospodarki wapniowo-fosforanowej i prawidłową mineralizacją kości, współczesne badania jednoznacznie wskazują, że jej działanie wykracza daleko poza układ szkieletowy. Receptory witaminy D obecne są w licznych tkankach i narządach, a jej wpływ dotyczy procesów

immunologicznych, metabolicznych, endokrynnych i mięśniowych. Z tego powodu witamina D uznawana jest za jeden z kluczowych regulatorów homeostazy ustrojowej.

Jednocześnie w populacjach ludzi i zwierząt powszechnie obserwuje się niedobory witaminy D, wynikające m.in. z ograniczonej ekspozycji na światło słoneczne, zmian trybu życia oraz niewystarczającej podaży w diecie. Zjawisko to doprowadziło do dynamicznego rozwoju rynku suplementów oraz intensyfikacji badań nad skutkami ich stosowania. Coraz częściej stosuje się dawki przekraczające tradycyjne zalecenia żywieniowe, zarówno w profilaktyce zdrowotnej, jak i w produkcji zwierzęcej, gdzie prowadzi się prace nad biofortyfikacją produktów pochodzenia zwierzęcego. Pomimo tego rosnącego zainteresowania, nadal stosunkowo niewiele wiadomo o molekularnych konsekwencjach długotrwałego dostarczania organizmowi zwiększonych ilości witaminy D, zwłaszcza u osobników zdrowych, niewykazujących niedoboru.

Zrozumienie sposobu działania witaminy D w różnych tkankach oraz jej wpływu na ekspresję genów i białek ma kluczowe znaczenie zarówno dla nauk podstawowych, jak i praktyki zootechnicznej oraz medycyny człowieka. Złożoność mechanizmów regulacyjnych, obejmujących zarówno klasyczne szlaki genomowe, jak i szybkie odpowiedzi pozagenomowe, sprawia, że temat ten wymaga nowoczesnych metod badawczych, zdolnych do uchwycenia subtelnych zmian w funkcjonowaniu komórek i całych tkanek.

Doktorantka zaproponowała w swojej pracy nowatorskie podejście, polegające na analizie trzech tkanek (wątroby, mięśni i tkanki tłuszczowej) oraz integracji danych transkryptomicznych i proteomicznych, co należy uznać za szczególną zaletę pracy. Cele rozprawy zostały sformułowane jasno i logicznie. Obejmują ocenę parametrów zdrowotnych świń, możliwość biofortyfikacji mięsa w witaminę D, analizę transkryptomiczną wątroby, mięśni i tkanki tłuszczowej oraz analizę proteomiczną wątroby. Zakres celów jest ambitny, a ich realizacja została przeprowadzona konsekwentnie i w pełni. Postawiona hipoteza badawcza ma charakter testowalny i jest prawidłowo powiązana z obranymi metodami badawczymi.

Pierwsza publikacja wchodząca w cykl publikacyjny ma charakter przeglądowy i stanowi szerokie omówienie zastosowania nowoczesnych technik omicznych (transkryptomiki, proteomiki, metabolomiki) oraz podejść integracyjnych w badaniach nad suplementami diety. Artykuł podkreśla znaczenie metod wysokoprzepustowych w ocenie jakości, bezpieczeństwa i rzeczywistego działania suplementów, co jest szczególnie istotne w kontekście niejednorodnych regulacji prawnych i dużej zmienności składu preparatów dostępnych na rynku. Autorzy pracy prezentują liczne przykłady badań, w których omika pozwoliła na identyfikację molekularnych

efektów składników suplementów oraz weryfikację ich deklarowanych właściwości. Szczególne miejsce zajmuje omówienie witaminy D jako związku o złożonym, wielokierunkowym działaniu, którego efekty trudno uchwycić za pomocą klasycznych metod. Publikacja stanowi wartościowe, teoretyczne wprowadzenie do badań prowadzonych w ramach rozprawy oraz podkreśla potrzebę stosowania podejść systemowych w nutrigenomice.

Druga publikacja ma charakter doświadczalny i prezentuje wyniki badań dotyczących wpływu wysokich dawek witaminy D₃ na zdrowe świny w kontekście parametrów produkcyjnych oraz zawartości witaminy D w mięśniach. Oceniono również zmiany w transkryptomie tkanki mięśniowej metodą RNA-seq. Artykuł wykazał, że suplementacja na poziomie 5000 i 10 000 IU/kg nie wpływała na wzrost zwierząt ani pobranie paszy, ale powodowała zależny od dawki wzrost zawartości witaminy D zarówno w mięśniach, jak i w tłuszczu. Jednocześnie stężenia te okazały się niewystarczające, aby traktować mięso jako istotne źródło witaminy D w diecie człowieka. Analiza transkryptomu mięśni wykazała natomiast stosunkowo niewielką liczbę genów o zmienionej ekspresji, co sugeruje, że tkanka mięśniowa zdrowych świń wykazuje ograniczoną odpowiedź molekularną na wysoką podaż witaminy D przy braku niedoboru. Publikacja ta stanowi ważny element rozprawy, gdyż dokumentuje zarówno efekty fizjologiczne, jak i molekularne w jednym z kluczowych narządów.

Trzecia publikacja wydaje się być najważniejszym elementem cyklu publikacyjnego, prezentując szczegółową analizę transkryptomiczną i proteomiczną wątroby świń suplementowanych bardzo wysokimi dawkami witaminy D₃. Badanie wykazało, że nadmiar witaminy D istotnie zmienia ekspresję genów i białek zaangażowanych w kluczowe procesy metaboliczne, przede wszystkim w β -oksydację kwasów tłuszczowych, metabolizm lipidów oraz odpowiedź antyoksydacyjną. Zaobserwowano obniżenie poziomów wielu elementów łańcucha mitochondrialnego i antyoksydantów, co może odzwierciedlać subtelną dysfunkcję metaboliczną w warunkach braku niedoboru witaminy D. Integracja transkryptomu i proteomu stanowi silną stronę pracy - pozwala na zweryfikowanie zmian na dwóch poziomach regulacji i wskazuje na ich biologiczne znaczenie. Publikacja jest nowatorska, ponieważ po raz pierwszy tak kompleksowo opisuje tkankowe skutki wysokodawkowej suplementacji witaminy D u zdrowych organizmów.

Pod względem metodycznym rozprawa reprezentuje bardzo wysoki poziom. Dokonano precyzyjnego opisu doświadczenia żywieniowego, zastosowanych oznaczeń biochemicznych, procedur izolacji kwasów nukleinowych, sekwencjonowania NGS i analizy bioinformatycznej. Uzupełnieniem danych transkryptomicznych są analizy proteomiczne oparte

na elektroforezie dwuwymiarowej i metodzie Western blot. Metody te są adekwatne do celów badawczych, a ich zastosowanie świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Autorki w zakresie technik biologii molekularnej. Na uwagę zasługuje spójność podejść analitycznych oraz właściwa interpretacja otrzymanych danych.

Z ciekawości naukowej, jak i z obowiązków recenzenta chciałabym zapytać co skłoniło Doktorantkę do wyboru takich dawek witaminy D₃ jako poziomów suplementacji oraz czy możliwe są efekty sezonowe lub środowiskowe, które mogły wpływać na poziom witaminy D w organizmie zwierząt?

Podsumowanie

Przedłożona rozprawa doktorska mgr Anny Steg stanowi spójne, rzetelnie zrealizowane i wartościowe opracowanie naukowe dotyczące wpływu wysokich dawek witaminy D₃ na organizm zwierzęcia, analizowane na poziomie fizjologicznym, biochemicznym, transkryptomycznym i proteomicznym. Autorka w sposób konsekwentny i dobrze przemyślany zrealizowała ambitny plan badawczy, wykorzystując nowoczesne techniki molekularne, które znacząco wzbogacają wiedzę o pleiotropowym działaniu witaminy D. Wyniki uzyskane w doświadczeniach żywieniowych dostarczają cennych informacji o bezpieczeństwie suplementacji i ograniczeniach biofortyfikacji produktów pochodzenia zwierzęcego, natomiast analizy omiczne w różnych tkankach ujawniają zróżnicowaną wrażliwość narządów na nadmiar witaminy D, ze szczególnie wyraźną odpowiedzią w wątrobie.

Przeprowadzone przez Doktorantkę badania dowodzą, że suplementacja wysokimi dawkami witaminy D₃, choć nie wywołuje klasycznych objawów toksyczności, prowadzi do subtelnych, ale biologicznie istotnych zmian w metabolizmie lipidów, energetyki komórkowej i procesów antyoksydacyjnych. Odkrycie represji β -oksydacji na poziomie zarówno ekspresji genów, jak i białek stanowi nowe i ważne spostrzeżenie, mogące mieć konsekwencje dla oceny bezpieczeństwa długotrwałej suplementacji u osób zdrowych. Całość dorobku publikacyjnego stanowiącego cykl publikacyjny w niniejszej rozprawie potwierdza wysoki poziom pracy, a spójność wyników oraz ich wnikliwa interpretacja świadczą o dojrzałości naukowej Doktorantki. Rozprawa jest kompletna, poprawna metodycznie i wnosi istotny wkład do wiedzy z zakresu biologii molekularnej, żywienia zwierząt i medycyny translacyjnej. Przedstawione wyniki stanowią doskonały fundament dalszych badań nad metabolicznymi skutkami suplementacji witaminy D.

W świetle przytoczonych argumentów stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska autorstwa mgr Anny Steg pt. „**Wpływ suplementacji witaminą D3 diety świń na transkryptom i proteom w wybranych tkankach**” spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. 2022 r. poz. 574 z późn. zm.).

Na podstawie przedłożonej rozprawy doktorskiej można stwierdzić jednoznacznie, iż zgodnie z art. 187,

pkt 1. Rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata do stopnia doktora w dyscyplinie zootechnika i rybactwo oraz samodzielnego prowadzenia prac naukowych;

pkt 2. Przedmiotem rozprawy jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego;

pkt 3. Rozprawę doktorską stanowi praca pisemna w formie zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych;

pkt 4. Do rozprawy doktorskiej dołączono streszczenie w języku angielskim.

Tym samym **wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Anny Steg do dalszych etapów w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.** Na podstawie wysokiej wartości naukowej oraz nowatorskiego charakteru badań **wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego w Balicach o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Steg.**