



Prof. dr hab. inż. Artur Gurgul  
Katedra Nauk Podstawowych  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej  
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie  
ul. Rędzina 1C, 30-248 Kraków

Kraków, 6.12.2025

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Anny Steg**  
**pt.: „Wpływ suplementacji witaminą D3 diety świń na transkryptom i proteom w wybranych tkankach”**

**Ogólna charakterystyka pracy**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Biologii Molekularnej Zwierząt Instytutu Zootechniki PIB, pod opieką naukową dr hab. Marii Oczkowicz, prof. IZ oraz promotora pomocniczego dr Grzegorza Smołucha. Rozprawę doktorską stanowią trzy opublikowane artykuły naukowe, w tym jedna praca przeglądowa oraz dwie oryginalne prace naukowe. Wszystkie artykuły zostały opublikowane w czasopismach z listy Journal Citation Reports, których łączny wskaźnik IF (zgodnie z rokiem publikacji) wynosi 10,8 a Punktacja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego wynosi 340 pkt.

Artykuły wchodzące w skład dysertacji:

1. A. Steg, M. Oczkowicz, G. Smołucha. Omics as a tool to help determine the effectiveness of supplements. *Nutrients* (2022), 14(24), 5305; <https://doi.org/10.3390/nu14245305>  
IF (2022) = 5,9; pkt = 140
2. A. Steg, M. Oczkowicz, M. Świątkiewicz, Effects of high-dose vitamin D<sub>3</sub> supplementation on pig performance, vitamin D content in meat, and muscle transcriptome in pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* (2024), 109(2), 560-573; <https://doi.org/10.1111/jpn.14066>  
IF (2024) = 2,4; pkt = 100
3. A. Steg, G. Smołucha, M. Świątkiewicz, M. Oczkowicz, Very high-dose vitamin D<sub>3</sub> supplementation reduces the expression of genes and proteins engaged in  $\beta$ -oxidation in healthy

IF (2025) = 2,5; pkt = 100

W/w prace powstały w ramach finansowania ze środków projektu Narodowego Centrum Nauki PRELUDIUM BIS pt.: „Wpływ suplementacji witaminą D3 diety świń na transkryptom i proteom w wybranych tkankach”. Wszystkie prace są współautorskie, opublikowane z udziałem jedynie dwójki lub trójki współautorów, a Doktorantka jest w nich pierwszym autorem. Udział Doktorantki w przygotowaniu publikacji został przez nią jasno określony i obejmował: udział w opracowaniu założeń koncepcyjnych pracy, opracowaniu metodologii, pobraniu materiału badawczego, przeprowadzeniu badań eksperymentalnych, analizie statystycznej i zarządzaniu otrzymanymi danymi, wizualizację wyników, przygotowanie oryginalnej wersji tekstu publikacji oraz edycji manuskryptu, co w mojej ocenie świadczy o wiodącym udziale Autorki w przygotowaniu wszystkich publikacji.

Prace stanowiące podstawę dysertacji zostały opatrzone obszernym opracowaniem w języku polskim, w którego skład wchodzi: streszczenie (w języku polskim i angielskim), wstęp, cel pracy doktorskiej, streszczenie wyników badań uzyskanych w poszczególnych publikacjach, materiał i metody oraz sekcja obejmująca połączone podsumowanie wyników i dyskusję. Opracowanie polskojęzyczne kończą wnioski wyciągnięte ze wszystkich omawianych publikacji, opis ograniczeń opisanych badań oraz opis planu przyszłych badań, a także wykaz cytowanej literatury i oświadczenia współautorów. Opracowanie obejmuje także kopie opublikowanych prac naukowych, będących podstawą ocenianej rozprawy. Łącznie dysertacja liczy 126 stron, zawiera cztery rysunki, jedną tabelę (nie licząc oryginalnych tekstów publikacji) i cytuje 98 pozycji najnowszej literatury.

### **Ocena opracowania w języku polskim**

Opracowanie w języku polskim zostało opatrzone tytułem spinającym tematykę wszystkich prac oryginalnych, tj.: „Wpływ suplementacji witaminą D3 diety świń na transkryptom i proteom w wybranych tkankach”. Temat dobrze odwzorowuje zagadnienia poruszone w dwóch pracach oryginalnych, jednak nie do końca jest spójny z tematyką pracy przeglądowej. Generalnie, praca przeglądowa nawiązuje do tematyki omawianych prac badawczych, jednak traktuje problem suplementacji znacznie szerzej, opisując inne stosowane suplementy oraz inne niż zawarte w tytule pracy techniki badawcze. Rozumiem jednak, że przeprowadzony przegląd literatury służył lepszemu zaplanowaniu dalszych badań i właściwemu doborowi metodyki badawczej, i jako taki, może stanowić wartościowy element ocenianej dysertacji.

Jednostronicowe streszczenie dobrze opisuje całość prac badawczych, pomijając jednocześnie tematykę pracy przeglądowej.

We wstępnych częściach opracowania, Autorka wprowadza czytelnika w zagadnienie supremacji witaminą D<sub>3</sub>. Omawia mechanizm działania witaminy D<sub>3</sub> i jej metabolizm, rolę witaminy D<sub>3</sub> w organizmie oraz jej wpływ na będące przedmiotem badań tkanki wątroby, mięśni i tkankę tłuszczową. Opisuje także sposoby i cele suplementacji witaminą D<sub>3</sub> u ludzi i zwierząt oraz skutki przedawkowania. Tą część pracy oceniam bardzo wysoko, ponieważ Autorka w dojrzały sposób ukierunkowała przegląd literatury na zagadnienia, tkanki i mechanizmy analizowane w dalszej części pracy. Opis daje dobre podstawy do oceny celowości prowadzonych badań, prawidłowości doboru tkanek oraz prawidłowości wyboru technik badawczych i wykorzystanych dawek witaminy D<sub>3</sub>. Rozwiewa tym samym moje początkowe obawy odnośnie zasadności doboru tkanek, jako, że witamina D<sub>3</sub> jest istotna przede wszystkim dla funkcjonowania układu kostnego i układu odpornościowego. We wstępie znajduje się także obszerne uzasadnienie założeń pracy, doboru metod badawczych oraz wyboru modelu badawczego, co dodatkowo utwierdza mnie w przekonaniu o celowości przeprowadzonych badań oraz sugeruję przemyślaną konstrukcję prac badawczych. Podoba mi się także krytyczne spojrzenie na dotychczasowe wyniki badań i wskazanie luk w wiedzy, które Autorka planuje wypełnić za pomocą otrzymanych wyników, lub dalszych planowanych prac badawczych. Oprócz drobnych potknięć językowych nie znajduję w tej części pracy żadnych podstaw do negatywnej krytyki recenzenckiej.

Kolejny rozdział pracy stanowią cele pracy doktorskiej. W mojej ocenie są one sformułowane prawidłowo, zgodnie z zaprezentowanymi wcześniej tezami, zarysowując ciekawy i oryginalny kierunek badawczy. Mogłyby jednak dodatkowo obejmować cel włączenia do dysertacji pracy przeglądowej. W tym rozdziale zamieszczono także hipotezę badawczą, która dobrze odzwierciedla cele badań i, co najważniejsze, jest realistyczna i zakłada mierzalne rezultaty. Drobna uwaga techniczna odnośnie tego rozdziału odnosi się do użytego określenia „parametry krwi”, które mogłoby zostać doprecyzowane, np. jako „parametry morfologiczne”, lub/i „parametry biochemiczne” krwi.

W dalszej części dysertacji, w skrótowy sposób, Autorka opasuje zawartość merytoryczną każdej z prac będących podstawą dysertacji. W tym miejscu, nieco niespodziewanie, dołączone jest doniesienie konferencyjne, jako dodatkowa publikacja wyników, nie zamieszczona w pierwotnym wykazie publikacji. Ten sposób prezentacji wyników jest w mojej ocenie dopuszczalny, choć równie dobrze mógłby być zastąpiony opisem „pozostałych niepublikowanych wyników badań” w dalszej części pracy.

Kolejny rozdział pracy przedstawia materiał i metodykę badań. Dobór grupy badawczej uznaję zasadniczo za prawidłowy. Podobnie jak ogólne założenia eksperymentu. Zastosowane dawki witaminy

D<sub>3</sub>, które są dosyć wysokie jak na badania stosowane, powinny zachęcić Autorkę do opisu w wynikach raczej w aspektach przedawkowania witaminy D<sub>3</sub> i jej potencjalnej toksyczności, niż prawidłowej suplementacji. W opisach nie znajduję uzasadnienia wyboru płci oraz wieku początkowego badanych osobników, choć rozumiem, że badanie miało dotyczyć okresu tuczu, a więc okresu intensywnego wzrostu i rozwoju prosiąt. Ten fakt powinien być przedyskutowany w pracy, szczególnie gdy Autorka często odnosi się do badań na ludziach, w których utrzymywany jest ścisły podział na badania na osobach dorosłych i młodzieży czy dzieciach w fazie wzrostu i rozwoju. Ta uwaga odnosi się jedynie do sposobu dyskusji z uzyskanymi wynikami i szerszego kontekstu opisywanych badań, uwzględniającego odniesienia do stanu fizjologicznego i różnic we właściwościach i zapotrzebowaniu na witaminę D<sub>3</sub> w różnych okresach życia. Wpływ płci i zabiegu kastracji także mógłby zostać uwzględniony w dyskusji. Zastanawiam się również, czy 10 powtórzeń biologicznych w grupie było niezbędnych dla uzyskania zaprezentowanych wyników i czy liczba ta jest zgodna z zasadą 3R.

Zastosowane metody badawcze oraz ich opis są w mojej ocenie prawidłowe. Zauważyłem jednak drobne niekonsekwencje w układzie analiz. Przykładowo, analizę poziomu witaminy D<sub>3</sub> przeprowadzono w próbkach mięśni i tłuszczu, jednak nie w wątrobie, która jest tkanką kluczową w metabolizmie witaminy D<sub>3</sub>. Podobnie, oznaczenia zawartości wapnia przeprowadzono jedynie w nerkach, podczas gdy jego poziom np. w mięśniach jest niezwykle istotny i może być pośrednio regulowany przez poziom witaminy D<sub>3</sub>. Niewielkie zastrzeżenie mam także do samego opisu analiz bioinformatycznych, a dotyczą one stosowania kalek z języka angielskiego, szczególnie używania określenia „*pipeline*” oraz anglojęzycznej konstrukcji zdań. Opis analizy qPCR nie uwzględnia wykazu analizowanych genów, metod i racjonalności ich wyboru oraz zastosowanych kontroli endogennych. Informacje te są jednak zaprezentowane w odpowiednich pracach oryginalnych. W analizie proteomicznej wykorzystano nominalną wartość prawdopodobieństwa testu statystycznego do identyfikacji istotnych zmian w poziomie białek, podczas gdy bardziej prawidłowe było by zastosowanie poprawki na wielokrotne testowanie. Znalazłbym jeszcze kilka drobnych potknięć w opisie materiału i metod, niemniej jednak, nie chciałbym, żeby wykaz drobnych błędów przyćmił wysoką jakość i zaawansowanie technologiczne przeprowadzonych analiz.

Kolejny podrozdział stanowią połączone wyniki i dyskusja. Otrzymane wyniki są nowatorskie, interesujące i poprawnie opisane. Nie mam większych uwag do tej części opisów i przyznam, że czytałem je z dużym zaciekawieniem. Każdy aspekt badań jest opisany w osobnym podrozdziale, który kończy się próbą merytorycznego uzasadnienia otrzymanych wyników i zaprezentowania mechanizmów, leżących u podstaw poszczególnych obserwacji. Opis ten przeprowadzony jest w sposób ciekawy, merytoryczny i dojrzały. Niemniej jednak, szereg zawartych tu stwierdzeń wymagałby potwierdzenia empirycznego, lub cytowania dostępnej literatury, tak aby uniknąć wrażenia spekulacji.

Dodanie odpowiednich cytowań prac badawczych udoskonaliłoby omawiany tekst i spowodowałoby, że stałby się on kompletnym i profesjonalnym opracowaniem naukowym. Wskazując z obowiązku recenzenta drobne niedociągnięcia, zwróciłem także uwagę na brak w wynikach qPCR oceny globalnej zgodności tych wyników z winiakami RNA-Seq oraz wykorzystywanie surowych wartości CT do oceny poziomu ekspresji genu (strona 41). Autorka mogłaby także przenieść z prac oryginalnych więcej tabel czy wykresów, ułatwiających śledzenie omawianych wyników. Wskazanie niedociągnięcia nie umniejsza jednak jakości i wartości tej części pracy oraz opisanych wyników.

Zastrzeżeń merytorycznych nie mam także do przedstawionych dalej wniosków. Są one w mojej ocenie poprawnie sformułowane, obejmują najważniejsze wyniki opisane w pracy i konkretnie podsumowują otrzymane wyniki badań, bez zbędnych spekulacji. Ciekawym elementem pracy jest kolejny podrozdział opasujący ograniczenia zaprezentowanych badań i przyszłe plany badawcze, który co ważne, odnosi się także krytycznie do zastosowanych wysokich dawek witaminy D<sub>3</sub>, mogących mieć efekty toksyczne u badanych zwierząt.

Podsumowując polskojęzyczne opracowanie, stwierdzam, że pomimo drobnych niedociągnięć, które z obowiązku recenzenta zawarłem w niniejszym opisie, zasługuje ono na wysoką ocenę, a zawarte w nim wiadomości są wystarczające, choć nieco uboższe niż zaprezentowane w opublikowanych pracach. Opis jest czytelny, przejrzysty, jasny dla czytelnika, a język opracowania jest poprawny i wystarczająco ścisły. Świadczy to o dobrej znajomości technik badawczych i tematyki badań, czyniąc Autorkę obiecującym kandydatem na pracownika naukowego. Na uwagę zasługuje także złożoność przeprowadzonych analiz oraz ich poziom zawansowania, które dodatkowo uzasadniają pozytywną ocenę niniejszej pracy.

### **Wartość merytoryczna publikacji naukowych**

Suplementacja witaminą D<sub>3</sub> odgrywa istotną rolę w utrzymaniu zdrowia zwierząt hodowlanych. Witamina D<sub>3</sub> jest kluczowa dla prawidłowej regulacji metabolizmu wapnia i fosforu, co warunkuje właściwy rozwój kości i zębów. U świń jej niedobór może prowadzić do schorzeń takich jak krzywica, osteomalacja czy osłabienie odporności. Systematyczne podawanie witaminy D<sub>3</sub> wspiera profilaktykę chorób układu kostnego i ogólną kondycję zdrowotną zwierząt, co przekłada się na lepsze wyniki hodowlane. W przypadku świń, które mają ograniczony dostęp do światła słonecznego, suplementacja jest szczególnie istotna, ponieważ naturalna synteza witaminy D<sub>3</sub> w skórze jest niewystarczająca. Zapotrzebowanie na witaminę D<sub>3</sub> może różnić się w zależności od takich czynników jak płeć, wiek, dieta, stan fizjologiczny czy system hodowli. Jej metabolizm i aktywność mogą też zmieniać się w różnych tkankach i przy odmiennych stanach fizjologicznych. Na przykład samce i samice, różniące się

proporcjami tkanki tłuszczowej i mięśniowej, mogą inaczej magazynować i wykorzystywać witaminę D<sub>3</sub>, a jej działanie może być modyfikowane przez specyficzne warunki biochemiczne i środowiskowe. Dlatego też ważne jest wypracowanie nowatorskich metod molekularnych pozwalających na ocenę skuteczności suplementacji i skutków niedoboru lub przedawkowania tej witaminy.

Prace oryginalne autorstwa Steg i współpracowników dobrze wpisują się w tą tematykę badawczą. Mają one wysoką wartość naukową i prezentują solidną jakość metodologiczną. Łącznie, zaprezentowane prace pokazują wielowymiarowe podejście Autorów do badań nad witaminą D<sub>3</sub>, łącząc aspekty praktyczne, molekularne i metodologiczne, przyczyniając się do pogłębienia wiedzy w dziedzinie żywienia, suplementacji i metabolizmu witaminy D<sub>3</sub> w żywieniu zwierząt gospodarskich.

Wskaźniki bibliometryczne prac wchodzących w skład dysertacji oceniam bardzo wysoko. Łączna liczba punktów ministerialnych za opublikowane prace wynosi 340, a łączny wskaźnik impact factor to 10,8. Tak imponujące wyniki znacząco przewyższają typowe wartości osiągane w ramach postępowania o stopień doktora. Na uwagę zasługuje tutaj praca przeglądowa, opublikowana w czasopiśmie Nutrients, które w roku publikacji miało wartość wskaźnika IF = 5,9.

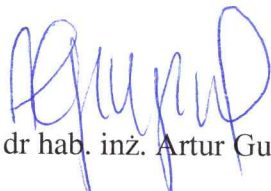
## Podsumowanie

Pomimo pewnych niedociągnięć, które z obowiązku recenzenta wykazałem w polskojęzycznym opracowaniu, całość dysertacji oceniam bardzo pozytywnie. Wartość punktowa publikacji wchodzących w skład dysertacji jest bardzo wysoka. Oryginały wkład i jakość opisu zaprezentowanych prac czyni je w mojej ocenie więcej niż wystarczającymi do promocji Autorki na stopień naukowy doktora.

## Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny praca pt.: „*Wpływ suplementacji witaminą D<sub>3</sub> diety świń na transkryptom i proteom w wybranych tkankach*” w mojej ocenie spełnia wymagania określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t. j. Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.), i niniejszym wnoszę do Wysokiej Rady Instytutu Zootechniki PIB o dopuszczenie Pani Anny Steg do dalszych etapów procedury ubiegania się o stopień naukowy doktora.

Wnoszę także do Wysokiej Rady Instytutu Zootechniki PIB o wyróżnienie ocenianej pracy doktorskiej i przyznanie Autorce regulaminowej nagrody.

  
Prof. dr hab. inż. Artur Gurgul