

Prof. dr hab. Brygida Ślaska
Zakład Genetyki Ogólnej i Molekularnej
Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin, dn. 18.09.2025 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgra Jakuba Woźniaka

**pt.: „Identyfikacja markerów genetycznych i epigenetycznych związanych z
występowaniem przepukliny pępkowej świń”**

**wykonanej pod kierunkiem naukowym promotora prof. dr hab. Joanny Nowackiej-
Woszek w Katedrze Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt Uniwersytetu
Przyrodniczego w Poznaniu**

Podstawa prawna i ocena formalna

Ocenę rozprawy wykonano na prośbę Prof. dr hab. Małgorzaty Szumacher czł. koresp. PAN, Dziekan Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, zgodnie z wymogami określonymi w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.), na podstawie rozprawy doktorskiej, oświadczeń współautorów publikacji oraz informacji z danymi o Kandydacie.

Podstawowe dane o Kandydacie

Mgr Jakub Woźniak uzyskał tytuł zawodowy magistra w dniu 4 grudnia 2017 roku na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi. Kandydat nie ubiegał się wcześniej o nadanie stopnia doktora.

Po ukończeniu studiów mgr Woźniak rozwijał swoją działalność zawodową i naukową w kilku jednostkach. W latach 2018-2019 był zatrudniony na stanowisku Młodsze Specjalisty Kontroli Jakości w firmie Takeda Pharmaceutical Co. Ltd. W 2019 r. pracował jako Młodszy Asystent Medyczny w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Kaliszu. Od 2025 r. pełni funkcję bioinformatyka we własnej firmie *Initium BioData*, a także współpracuje z Instytutem Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu.

Charakterystyka rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska mgra Jakuba Woźniaka została przygotowana jako polskojęzyczna praca pisemna opracowana na podstawie dwóch opublikowanych oryginalnych prac



naukowych, trzeciej - złożonej do redakcji czasopisma naukowego oraz nieopublikowanych wyników badań spójnych z wynikami z prac. Opublikowane artykuły stanowią załączniki do przedłożonej rozprawy doktorskiej:

1. Wozniak, J., Loba, W., Iskrzak, P., Pszczola, M., Wojtczak, J., Switonski, M., & Nowacka-Woszuk, J. (2023). A confirmed association between DNA variants in *CAPN9*, *OSM*, and *ITGAM* candidate genes and the risk of umbilical hernia in pigs. *Animal Genetics*, 54(3), 307–314. <https://doi.org/10.1111/age.13307> (Punkty MNiSW=140, 5-letni Impact Factor=2,6)
2. Wozniak, J., Loba, W., Wysocka, A., Dzimira, S., Prządka, P., Switonski, M., & Nowacka-Woszuk, J. (2023). Altered transcript levels of *MMP13* and *VIT* genes in the muscle and connective tissue of pigs with umbilical hernia. *Genes*, 14(10), 1903. <https://doi.org/10.3390/genes14101903> (Punkty MNiSW=100, 5-letni Impact Factor=3,3)
3. Praca złożona do BMC Genomics w 2025 r.: Wozniak, J., Szabelska-Berejewicz, A., Zyprech-Walczak, J., Niemyjski, R., Dudek, K., Stachowiak, M., & Nowacka-Woszuk, J. Genetic and epigenetic markers in the *METTL21C* gene associated with umbilical hernia in pigs.
4. Niepublikowane wyniki badań dotyczące związku zaobserwowanych wariantów DNA w genach *MYO19*, *MYH2*, *MYH8*, *ZNF646* i *ZNF713* z występowaniem przepukliny pępkowej świń.

Prace naukowe stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej powstały w ramach projektu badawczego OPUS nr 2019/33/B/NZ9/00654 (Kierownik: prof. dr hab. Joanna Nowacka – Woszuk) finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki, co wskazuje na wysoki poziom naukowy i nowatorski charakter realizowanych badań.

Jak wynika z oświadczenia Doktoranta, jego udział w publikacjach był wiodący i obejmował: udział w analizach laboratoryjnych, analizach statystycznych, interpretacji wyników, przygotowaniu manuskryptów i współredagowaniu oraz odpowiedzi na recenzje i wynosił 55 i 60% odpowiednio dla pierwszej i drugiej publikacji. Oświadczenia współautorów również potwierdzają wysoki wkład pracy Doktoranta w publikacje.

Tytuł rozprawy doktorskiej, będącej podstawą postępowania o nadanie stopnia doktora, pozostaje spójny z szerokim zakresem badań przedstawionych w pracy doktorskiej i stosownie odzwierciedla jej treść merytoryczną.

Rozprawa ma układ typowy dla eksperymentalnych rozpraw doktorskich i składa się z sześciu głównych rozdziałów (wprowadzenie, hipotezy i cele badań, materiał i metody badawcze, wyniki, dyskusja oraz podsumowanie dyskusji i wnioski). W pracy zawarto również wykaz cytowanego piśmiennictwa źródłowego (100 pozycji), streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów oraz spis 21 tabel i 12 rycin. Rozprawa została starannie zredagowana, a na podkreślenie zasługuje fakt przedstawienia skomplikowanych zagadnień w umiejętny sposób. Dysertacja została napisana z zachowaniem logicznej i właściwej sekwencji opisu, a zawarte w niej informacje są przedstawione w sposób przejrzysty i uporządkowany, uwzględniając zarówno wyniki opublikowane w artykułach, jak i rezultaty badań dotychczas nieopublikowanych.

Rozprawę otwiera rozdział pt. „Wprowadzenie”, w którym Doktorant umiejętnie przedstawił problematykę badawczą, ściśle powiązaną z postawionymi hipotezami oraz celami pracy. Rozdział został prawidłowo podzielony na podrozdziały, w których mgr Jakub Woźniak, posługując się trafnie dobranymi i merytorycznie powiązanymi z tematyką rozprawy publikacjami naukowymi, przedstawił aktualny stan wiedzy w obszarze objętym badaniami. W sposób syntetyczny i klarowny scharakteryzował problem badawczy, jego znaczenie oraz przyczyny rozwoju przepukliny pępkowej.

Rzetelna znajomość problematyki badawczej oraz trafny dobór pozycji piśmiennictwa umożliwiły Doktorantowi prawidłowo sformułować hipotezy badawcze i wytyczyć jasno sprecyzowane i właściwie sformułowane cele badań w każdym z czterech eksperymentów. Ogólnym celem badań była identyfikacja i charakterystyka czynników genetycznych i epigenetycznych wpływających na ryzyko występowania przepukliny pępkowej świń oraz określenie, w jaki sposób różnice w obrębie tkanki mięśniowej i łącznej wpływają na podatność na tę wadę rozwojową. Cele szczegółowe obejmowały: weryfikację związku między wcześniej zidentyfikowanymi wariantami DNA w wybranych genach, a występowaniem przepukliny pępkowej świń, analizę różnic w poziomie transkryptów wybranych genów pomiędzy świnią z przepukliną pępkową a zdrowymi osobnikami, analizę wpływu stopnia metylacji DNA w regionach regulatorowych wybranych genów na poziomy ich transkryptów, określenie poziomu transkryptów wybranych genów w tkance mięśniowej świń z przepukliną pachwinową, identyfikację genów różnicujących się pod względem poziomu ekspresji w tkance mięśniowej z okolicy pępka u świń z przepukliną pępkową oraz u zdrowych osobników, analizę poziomu metylacji DNA w regionach regulatorowych genów potencjalnie zaangażowanych w rozwój przepukliny pępkowej i ocenę ich wpływu na regulację ekspresji tych genów, identyfikację polimorfizmów w regionach regulatorowych genów, które mogą mieć związek z różnicami w ich ekspresji, weryfikację związku między wcześniej zidentyfikowanymi wariantami DNA w wybranych genach a występowaniem przepukliny pępkowej u świń reprezentujących populacje mieszańców o zróżnicowanym udziale ras.

Cele badawcze niniejszej dysertacji zostały sformułowane w sposób szeroki i wielopoziomowy, co pozwoliło zarówno na pełną weryfikację hipotez oraz uzyskanie wyników o nowatorskim znaczeniu. Ich realizacja wymagała od mgra Jakuba Woźniaka zaawansowanej wiedzy i umiejętności praktycznych w zakresie biologii molekularnej, bioinformatyki oraz statystyki.

W rozdziale pt. „Materiały i metody” Doktorant w każdym z czterech eksperymentów przedstawił materiał i sposób przeprowadzenia badań, na podstawie których przygotował rozprawę. Podlegały one już recenzji w przypadku dwóch opublikowanych artykułów podczas procesu publikacyjnego. W mojej opinii zarówno informacje zawarte w pracach, które zostały opublikowane, jak też dotychczas nieopublikowane, są prawidłowe pod względem układu doświadczenia, materiału i metod.

W poszczególnych eksperymentach zastosowano zróżnicowaną liczebność świń, przy czym w każdym przypadku materiał badawczy był odpowiednio liczny, aby zapewnić wiarygodność uzyskanych wyników. Wśród zastosowanych metod znalazły się m.in.: sekwencjonowanie Sangera, i ddPCR (analiza występowania CNV), RNA-seq, qPCR (analiza

poziomu RNA), pirosekwencjonowanie (analiza poziomu metylacji DNA) oraz Western blot (analiza poziomu białka). Wykorzystane szerokie spektrum metod badawczych zostało właściwie dobrane i prawidłowo zastosowane, co świadczy o dużej wiedzy, rzetelności naukowej oraz wysokiej jakości uzyskanych wyników.

W niniejszej dysertacji zastosowano wieloaspektowe, kompleksowe ujęcie zagadnienia przepukliny pępkowej. Analiza prowadzona w tak szerokim ujęciu pozwala na bardziej precyzyjne określenie zależności między poszczególnymi czynnikami oraz umożliwia sformułowanie wniosków o szerszym zakresie merytorycznym. Tym samym przyjęte metody istotnie podniosły wartość naukową i poznawczą oraz oryginalność przeprowadzonych analiz.

W rozdziale pt. „Wyniki” Doktorant przedstawił w uporządkowany sposób uzyskane rezultaty z czterech kolejnych etapów badań, które w pełni odpowiadały na założone cele pracy. Zaletą rozprawy jest „graficzne podsumowanie wyników” poszczególnych eksperymentów, które w czytelny i schematyczny sposób eksponuje najważniejsze rezultaty, co znacząco wspomaga ich odbiór i analizę.

Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Doktorant, zgodnie z założeniami, przeanalizował asocjację markerów genetycznych i epigenetycznych związanych z ryzykiem występowania przepukliny pępkowej świń. Przeprowadzone badania miały charakter kompleksowy i obejmowały wykorzystanie nowoczesnych metod biologii molekularnej i bioinformatyki prawidłowo dobranych do założeń pracy, co zagwarantowało rzetelność otrzymanych wyników.

W pierwszym eksperymencie (artykuł – *Animal Genetics* 2023) potwierdzono związek wariantów genetycznych w trzech genach (*CAPN9*, *OSM* i *ITGAM*) z ryzykiem występowania przepukliny pępkowej, wskazując przy tym na rolę haplotypów w modulacji tego ryzyka. Haplotypy CAGGA (gen *OSM*) i AT (gen *ITGAM*) zostały zidentyfikowane jako potencjalne markery zmniejszające podatność na wystąpienie wady, co może mieć znaczenie praktyczne w opracowaniu narzędzi wspomagających selekcję w hodowli świń i ograniczających występowanie wady.

W przypadku genu *NUGGC* nie potwierdzono istotnych różnic w liczbie kopii, co sugeruje możliwość odmiennej genezy przepukliny w zależności od rasy lub populacji. Uzyskane wyniki podkreślają złożony charakter badania oraz znaczenie interakcji haplotypów i płci w dalszych analizach molekularnych.

Ważna i nowatorskie wyniki przedstawiono w drugim eksperymencie (artykuł – *Genes* 2023), w którym wykazano różnice w poziomach transkryptów dwóch genów (*MMP13* i *VIT*) dla zwierząt z przepukliną pępkową, zależne od rodzaju tkanki (łączna, mięśniowa), a także różnice w metylacji DNA (gen *MMP13*). Stwierdzono, że obniżona ekspresja genu *MMP13* w tkance łącznej może sprzyjać rozwojowi przepukliny pępkowej, natomiast podwyższona w tkance mięśniowej prawdopodobnie odzwierciedla procesy naprawcze. W przypadku genu *VIT* zwiększona ekspresja w tkance mięśniowej również wskazała na udział mechanizmów regeneracyjnych, co różni się od wcześniejszych doniesień opartych na analizie mieszaniny tkanek. Praca ta po raz pierwszy ukazała istotność zróżnicowania ekspresji genów w zależności od rodzaju tkanki pobranej z miejsca wystąpienia przepukliny.

W trzecim eksperymencie (artykuł w recenzji – *BMC Genomics* 2025) wykazano różnice w ekspresji genów, poziomach metylacji oraz obecności polimorfizmów między grupą świń z przepukliną pępkową a grupą kontrolną. Kompleksowe analizy pozwoliły na identyfikację czterech genów o podwyższonej (*SIM1*, *PITX1*, *HOXA7*, *METTL21C*) i czterech – o obniżonej ekspresji (*PVALB*, *ALX1*, *EYA2*, *TBX1*), wskazując na znaczenie regulacji epigenetycznej, szczególnie dla trzech genów (*TBX1*, *METTL21C* i *HOXA7*).

Na uwagę zasługuje wykrycie polimorfizmu rs330073569 w genie *METTL21C*, mogącego wpływać na wiązanie czynników transkrypcyjnych. Są to pionierskie wyniki wskazujące nieopisany wcześniej gen kandydujący o znaczeniu regulacyjnym w ekspresji i metylacji DNA. Wyniki potwierdzają rolę interakcji genetyczno-epigenetycznych w rozwoju przepukliny pępkowej i stanowią podstawę do dalszych badań nad markerami ryzyka.

W eksperymencie dodatkowym (dane nieopublikowane) potwierdzono związek wariantu w genie *MYO19* z ryzykiem występowania przepukliny, jednak istotność statystyczną uzyskano wyłącznie dla jednego panelu, a pozostałe analizowane SNP nie wykazały związku z wadą, co wskazuje na złożony, wielogenowy charakter przepukliny.

Uzyskane wielopłaszczyznowe wyniki znacząco poszerzają wiedzę z zakresu molekularnych mechanizmów etiologii przepukliny pępkowej. Częściowo weryfikują one istniejące już doniesienia, częściowo stanowią pionierskie rezultaty, jak wskazano powyżej.

Doktorant w rozprawie doktorskiej skromnie odnosi się do możliwości wykorzystania uzyskanych wyników w badaniach innych gatunków zwierząt i człowieka. Czy jest to przyszłościowa perspektywa? Czy Doktorant planuje dalsze analizy na innych rasach świń i innych gatunkach zwierząt celem weryfikacji otrzymanych wyników? Proszę o rozwinięcie.

Interesujące byłoby również odniesienie się do możliwości potraktowania uzyskanych wyników badań bardziej uniwersalnie, nie tylko jako pomocnych i możliwych do wykorzystania w przyszłości w ewentualnej pracy hodowlanej świń, ale jako podstawę do wyjaśnienia procesów biologicznych związanych z tkanką łączną i mięśniową? Proszę o opinię.

Rozdział pt. „Dyskusja” został opracowany w oparciu o bogate piśmiennictwo, głównie anglojęzyczne, opublikowane w renomowanych czasopismach międzynarodowych, ściśle powiązane z uzyskanymi wynikami. Świadczy to o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym mgra Jakuba Woźniaka, jego orientacji w problematyce badawczej oraz dojrzałości naukowej w interpretacji i dyskusji rezultatów.

Rozprawę kończy rozdział pt. „Podsumowanie dyskusji i wnioski”, w którym przedstawiono podsumowania i wnioski dla każdego z czterech eksperymentów oraz wnioski ogólne rozprawy doktorskiej. Są one merytorycznie poprawne, spójne z tytułem rozprawy, interpretują uzyskane wyniki i są odpowiedzią na założone cele pracy. Treść rozdziału świadczy o umiejętności Doktoranta do dogłębnej analizy wyników uzyskanych w pracy.

Moja ogólna ocena wartości pracy jest wysoka. Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Uzasadniając podkreślić należy nowatorstwo badań, ich wielopłaszczyznowość i fakt, że praca wnosi nowe wartości poznawcze, które poszerzyły wiedzę z zakresu dyscypliny zootechnika i rybactwo. Mgr Jakub Woźniak wykazał się bardzo dobrą znajomością przeprowadzenia praco- i czasochłonnego eksperymentu badawczego oraz

umiejętnością analizy uzyskanych wyników i formułowania konkluzji. Rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktoranta w dyscyplinie zootechnika i rybactwo oraz potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia przez niego pracy naukowej.

Wniosek końcowy

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska mgra Jakuba Woźniaka pt.: „Identyfikacja markerów genetycznych i epigenetycznych związanych z występowaniem przepukliny pępkowej świń” spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.), natomiast Doktorant wykazał wszelkie umiejętności niezbędne dla otrzymania stopnia doktora nauk, a niniejsza rozprawa może stanowić podstawę do nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie zootechnika i rybactwo. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu **wniosek o dopuszczenie mgra Jakuba Woźniaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Wniosek dodatkowy

Biorąc pod uwagę znakomity poziom badań opisanych w rozprawie, bardzo duże znaczenie wyników uzyskanych przez Doktoranta dla zrozumienia genetycznego uwarunkowania przepukliny pępkowej świń, aktualność problematyki badawczej, zastosowane współczesne metody badawcze i kompleksowość opracowania, pozwalam sobie złożyć wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgra Jakuba Woźniaka stosowną nagrodą.

