

Olsztyn, 29 stycznia 2025 r.

Prof. dr hab. Aneta Andronowska
Zespół Mechanizmów Działania Hormonów
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności
Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

Ocena rozprawy doktorskiej

Pani mgr Zuzanny Kopeć pt. „*Molekularne mechanizmy transportu żelaza przez łożysko a regulacja metabolizmu żelaza noworodków świni domowej i dzika: badania porównawcze.*”

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Zuzanny Kopeć została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Pawła Lipińskiego w Instytucie Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk w Jastrzębcu. Badania sfinansowano ze środków projektu badawczego NCN (Opus-17, ed. 33) nr. 2019/33/B/NZ9/02566.

Niedokrwistość wynikająca z niedoborów żelaza to częsty problem zdrowotny młodych zwierząt odżywiających się wyłącznie mlekiem matki. U prosiąt świni domowej noworodkowa niedokrwistość spowodowana niedoborem żelaza jest uważana za zjawisko fizjologiczne. Po raz pierwszy niedokrwistość u prosiąt została opisana przez Braascha w 1891 roku w Niemczech, jednak nie była ona kojarzona z niedoborem żelaza. Dopiero w 1924 roku McGowan i Crichton powiązali opisaną wcześniej niedokrwistość z niedoborem żelaza. Omawiane zjawisko fizjologiczne dotyczy prosiąt wszystkich ras, niezależnie od sposobu żywienia macior i systemu utrzymania prosiąt przed odsadzeniem od matek.

Problematyka przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej jest próbą wyjaśnienia przyczyn noworodkowej niedoborowej niedokrwistości prosiąt świni domowej (*Sus scrofa domestica* L.) poprzez porównanie parametrów czerwonych krwinek oraz żelazowych u loszek i prosiąt świni domowej oraz jej dzikiego przodka – dzika (*Sus scrofa*), u którego dotychczas nie opisano problemu niedokrwistości niedoborowej.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska ma formę spójnego tematycznie cyklu trzech publikacji (jednej przeglądowej oraz dwóch eksperymentalnych) pod wspólnym tytułem „*Molekularne mechanizmy transportu żelaza przez łożysko a regulacja metabolizmu żelaza noworodków świni domowej i dzika: badania porównawcze*” poprzedzonego 60-cio stronicową częścią opisową. Część opisowa obejmuje: wykaz publikacji stanowiących

Andrzej

podstawę rozprawy doktorskiej (1 strona), streszczenie w języku polskim (2 strony), streszczenie w języku angielskim (2 strony), wstęp (14 stron), hipotezy i cele pracy (1 strona), materiał i metody (13 stron), wyniki i dyskusja (11 stron), bibliografia (11 stron). Załącznikami do części opisowej są: Informacje o charakterze udziału i wkładzie autorów w publikacjach (6 stron) oraz załączone kopie 3 publikacji.

1. Kopec Z, Starzyński RR, Jończy A, Mazgaj R, Lipiński P. „*Role of iron metabolism-related genes in prenatal development: Insights from mouse transgenic models*”. Genes (Basel). 2021 Sep 2;12(9):1382. doi:10.3390/genes12091382. PMID: 34573364; PMCID: PMC8465470.

IF= 4,141 MNiSW=100

2. Kopec Z, Mazgaj R, Starzyński RR, Wang X, Opiela J, Smorąg Z, Gajda B, Nicpoń J, Lenartowicz M, Ogłuszka M, Gralak MA, Lipiński P. „*Impact of litter size on the hematological and iron status of gilts, sows and newborn piglets: a comparative study of domestic pigs and wild boars*”. BMC Vet Res. 2024 Feb 23;20(1):64. doi: 10.1186/s12917-024-03905-3. PMID: 38389107; PMCID: PMC10885442.

IF= 2,3 MNiSW=140

3. Kopec Z, Starzyński RR, Lenartowicz M, Grzesiak M, Opiela J, Smorąg Z, Gajda B, Nicpoń J, Ogłuszka M, Wang X, Mazgaj R, Stankiewicz A, Płonka W, Pirga-Niemiec N, Herman S, Lipiński P. „*Comparison of molecular potential for iron transfer across the placenta in domestic pigs with varied litter sizes and wild boars*”. Int J Mol Sci. 2024 Sep 5;25(17):9638. doi: 10.3390/ijms25179638. PMID:39273585; PMCID: PMC11395084

IF= 4,9 MNiSW=140.

Prace powyższego cyklu zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych: w czasopiśmie Genes (Basel) [IF= 4,141 MNiSW=100], w czasopiśmie BMC Veterinary Research [IF= 2,3 MNiSW=140] oraz czasopiśmie International Journal of Molecular Sciences [IF= 4,9 MNiSW=140]. Publikacje są wieloautorskie, i chociaż brak jest podpisanych przez współautorów oświadczeń, to jednak jak wynika z załączonych zestawień w formie „*informacji o charakterze udziału i wkładu autorów w publikacjach*” rola doktorantki jest wiodąca a jej indywidualny wkład w każdą publikację został określony na 60%. We wszystkich publikacjach mgr Zuzanna Kopec jest pierwszym autorem, co świadczy



o dojrzałości naukowej, dobrym przygotowaniu merytorycznym oraz umiejętności współpracy w zespole badawczym.

We **Wstępie** części opisowej rozprawy doktorskiej oraz w opublikowanych pracach Doktorantka przedstawiła dotychczasowy stan wiedzy w zakresie podjętych badań. Na tej podstawie Doktorantka przedstawiła 3 hipotezy badawcze oraz wyznaczyła 3 cele badawcze w celu weryfikacji postawionych hipotez.

Celem przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej było porównanie :
1/ parametrów czerwonokrwinkowych oraz statusu żelaza i jego regulacji między prosiętami dzika i prosiętami świni rasy Wielka Biała Polska (WBP) pochodzącymi z miotów o różnej liczebności, 2/ parametrów czerwonokrwinkowych oraz statusu żelaza między lochami dzika i lochami świni WBP, oraz 3/ ekspresji genów oraz lokalizacji białek uczestniczących w transporcie żelaza przez łożysko między lochami dzika i lochami świni WBP posiadającymi mioty o różnej liczebności.

W rozdziale **Materiał i Metody** Doktorantka opisała model doświadczalny oraz przedstawiła stosowane metody. Do badań wykorzystano loszki i prosięta rasy WBP oraz loszki i prosięta dzika. Loszki świni domowej podzielono na grupy o małych i dużych miotach uzyskanych poprzez transfer zarodków oraz sztuczne zapłodnienie. W opisie doświadczeń zauważono niezgodność w liczbie użytych loszek od których uzyskano mały miot (wg. opisu na stronie 27 – małe mioty uzyskano od 7 loszek, natomiast w tabeli 1 – jest 8), niezgodność dotyczy również liczby loszek dzika. W badaniach doktorantka skupiła się na analizie parametrów czerwonokrwinkowych, zawartości żelaza i czynników z nim związanych w osoczu krwi, zawartości żelaza w łożysku, wątrobie, w siarce a także analizie ekspresji genów związanych z żelazem w łożyskach loszek świni domowej i dzika metodą sekwencjonowania nowej generacji. Układ doświadczalny jest dobrze zaplanowany i pozwala na realizację przedstawionych celów. Opisane metody badań są prawidłowe i znajdują odzwierciedlenie w literaturze naukowej. Realizując zaplanowane badania i posługując się opisanymi metodami Doktorantka pozyskała nowe umiejętności i kompetencje związane z pracą zespołową w różnych ośrodkach badawczych.

W kolejnym rozdziale rozprawy doktorskiej pt. „Wyniki i Dyskusja” Doktorantka omówiła uzyskane w pracach eksperymentalnych wyniki (publikacja 2 i 3) odnosząc je do danych literaturowych.

Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki należy:

- wykazanie iż u potomstwa dzika nie występuje niedokrwistość na tle niedoboru żelaza;

- wykazanie iż wartości wskaźników krwinek czerwonych (Red Blood Cells, RBC), wskazujące na niedokrwistość z niedoboru żelaza, u prosiąt rasy WBP nie zależą od wielkości miotu z którego pochodzą;
- wykazanie wyższych wartości wskaźników RBC u prosiąt dzika niż u prosiąt rasy WBP;
- stwierdzenie niższego poziomu żelaza w osoczu krwi prosiąt dzika niż u prosiąt rasy WBP;
- wykazanie wyższej ekspresji erytropoetyny w nerkach u prosiąt dzika;
- stwierdzenie wyższego poziomu erytroferronu (Erfe) w osoczu prosiąt dzika;
- stwierdzenie, iż u loch mających małą ilość prosiąt w miocie liczba erytrocytów, stężenie hemoglobiny oraz wartość hematokrytu są wyższe niż u loch z dużymi miotami oraz loch poddanych rutynowej sztucznej inseminacji;
- wykazanie tendencji wzrostowej zawartości żelaza w łożysku u loch dzika;
- wykazanie istotnego wzrostu ekspresji w łożysku dzika w porównaniu do łożyska świni domowej genów: *Heph11*, *Cp*, i *Heph* kodujących miedziozależne ferrokasydazy;
- stwierdzenie wyższej ekspresji białka Dmt1 w łożysku dzika w porównaniu do łożyska świni WBP niezależnie od wielkości miotu;
- wykazanie istotnie wyższej ekspresji genu *Atp7b* w łożyskach loch dzików w porównaniu z łożyskami loch WBP z małymi miotami oraz łożyskami loch z dużymi miotami po sztucznej inseminacji;
- wskazanie ceruloplazminy jako głównej ferrokasydazy w łożyskach dzików i świń WBP (analiza IF) ;
- określenie lokalizacji ceruloplazminy w apikalnej części komórek nabłonkowych endometrium;
- stwierdzenie kolokalizacji ceruloplazminy oraz ferroportyny i cyklopeny, sugerując ich rolę w transporcie żelaza z łożyska do płodów;

Przeprowadzone przez Doktorantkę badania pozwoliły na przeprowadzenie analizy porównawczej dwu spokrewnionych gatunków w poszukiwaniu podłoża niedokrwistości niedoborowej u gatunku hodowlanego. Zgromadzone przez Doktorantkę dane są cenne i mogą być podstawą dalszych badań w tym kierunku.

W rozdziale **Wnioski** Doktorantka podsumowuje wyniki obu prac eksperymentalnych formułując 5 wniosków. Przedstawione wnioski pokrywają się z wersją anglojęzyczną i opisują najważniejsze efekty przeprowadzonych badań i odnoszą się do określonych celów badawczych przedstawionych w załączonych publikacjach (publikacja 2 i 3) .

Lektura przedstawionych do oceny publikacji była dla mnie satysfakcjonująca i nie mam właściwie żadnych uwag merytorycznych. Publikacje opublikowane w renomowanych

czasopismach z listy JCR ułatwiają zadanie recenzentowi. Zarówno strona merytoryczna, jak i wartość naukowa uzyskanych wyników została poddana wnikliwej ocenie oraz potwierdzona przez Recenzentów i Edytorów czasopism, którzy zaakceptowali prace do druku. Prace stanowią logiczny układ, są napisane zrozumiale z jasno postawionymi celami, szczegółowym opisem metod oraz wyników, a także prawidłowo przeprowadzoną dyskusją. Jednakże z funkcji Recenzenta proszę aby Doktorantka ustosunkowała się do następujących kwestii:

- 1/ Dlaczego Doktorantka włączyła w cykl prac stanowiących rozprawę doktorską pracę przeglądową w której przedstawia aktualny stan wiedzy na temat roli genów związanych z metabolizmem żelaza w rozwoju prenatalnym na przykładzie badań na transgenicznym myszach. Zdaniem recenzenta informacje zawarte w tej pracy powinny znaleźć się we wstępie. W całym opracowaniu polskojęzycznym nie znalazłam cytowania publikacji 1.
- 2/ Jaki problem badawczy, który wyłonił się w trakcie realizacji badań, uważa Pani za interesujący i wymagający dalszych badań.
- 3/ Czy są dane literaturowe opisujące metabolizm i transport jonów żelaza w błonach płodowych w różnych okresach ciąży u świni domowej?
- 4/ Jakie są objawy oraz konsekwencje niedokrwistości spowodowanej niedoborem żelaza.

Przedstawioną do oceny rozprawę doktorską mgr Zuzanny Kopeć, stanowiącą oryginalne osiągnięcie naukowe, oceniam jednoznacznie pozytywnie. Podjęty przez Doktorantkę temat jest istotny nie tylko pod względem naukowym ale także aplikacyjnym. Z pełnym przekonaniem stwierdzam, iż oceniana rozprawa doktorska mgr Zuzanny Kopeć zatytułowana „*Molekularne mechanizmy transportu żelaza przez łożysko a regulacja metabolizmu żelaza noworodków świni domowej i dzika: badania porównawcze*”, spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora określone w Ustawie *O stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki* z dnia 14 marca 2003 r (Dz.U. Nr 65, poz.595, z późniejszymi zmianami) , oraz art. 179 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r poz. 1669). W związku z powyższym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk w Jastrzębcu o dopuszczenie Pani mgr Zuzanny Kopeć do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

