

Akceptuję
A M

Gdańsk, 30 kwietnia 2026 r.

dr hab. n. med. Krzysztof Rębała
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej
Gdański Uniwersytet Medyczny
ul. Marii Skłodowskiej-Curie 3A
80-210 Gdańsk

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. inż. Krzysztofa Żaka
„Optymalizacja procesu identyfikacji genetycznej NN zwłok i szczątków ludzkich”,
sporządzona zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
z dnia 18.02.2026 r.

Jednym z częstych zadań w praktyce genetyka sądowego jest identyfikacja zwłok i szczątków osób o nieustalonej tożsamości. Proces ten jest szczególnie utrudniony w przypadkach, kiedy badania dotyczą archiwalnego materiału kostnego sprzed wielu lat, dla którego materiał porównawczy pochodzi niekiedy od bardzo odległych współcześnie żyjących krewnych. Największym wyzwaniem jest wówczas określenie profilu genetycznego z materiału genetycznego o niskiej ilości i jakości, wykazującego cechy silnej degradacji, jak również uzyskanie wartości dowodu z badań DNA odpowiednio wysokiej dla wydania opinii identyfikacyjnej przy dalekim stopniu spokrewnienia badanych domniemanych członków rodziny w stosunku do poszukiwanej osoby. Z taką sytuacją genetycy sądowi mają często do czynienia w przypadkach identyfikacji ofiar wojen i totalitaryzmów, których szczątki nierzadko ujawniane są w formie pochówków masowych. Optymalizacja metod identyfikacji genetycznej zwłok i szczątków ludzkich ze szczególnym uwzględnieniem dalszego pokrewieństwa, charakterystycznych dla badań identyfikacyjnych materiału archiwalnego, stała się tematem przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej.

Rozprawa doktorska mgr. inż. Krzysztofa Żaka stanowi klasyczną dysertację w formie maszynopisu. Liczy 167 stron i 194 pozycje w spisie cytowanego piśmiennictwa, w tym liczne prace z ostatnich lat, które uwzględniają aktualny stan wiedzy i najnowsze osiągnięcia w dziedzinie nauki, której dotyczą badania zrealizowane przez doktoranta. Pod względem struktury praca odpowiada ogólnie przyjętym normom dla eksperymentalnych prac dyplomowych, zawiera spis treści, rycin i tabel, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, założenia i cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusję, wnioski oraz wspomniany wcześniej spis literatury.

We wstępie doktorant przedstawił wyczerpująco kontekst historyczny wielkiego terroru w Związku Radzieckim, w szczególności na terenie wchodzącej w skład Gruzji Adżarii, w której odkryto jamę grobową datowaną na okres wielkiego terroru, zawierającą szczątki 28 mężczyzn, poddanych w niniejszej pracy identyfikacji genetycznej. Następnie scharakteryzował metody i markery genetyczne wykorzystywane w identyfikacji osobniczej z podziałem uwzględniającym rodzaj polimorfizmu (STR, SNP) i lokalizację (autosomy, chromosomy płci, genom mitochondrialny). W dalszej części przedstawił możliwości wykorzystania analizy polimorfizmu DNA w badaniu pochodzenia biogeograficznego. Na koniec omówił trudności w identyfikacji genetycznej materiału archiwalnego, związane m.in. z degradacją DNA, ograniczoną dostępnością materiału porównawczego od najbliższych krewnych czy wyborem genetycznej bazy populacyjnej pod kątem oceny wartości dowodu z badań DNA na pokrewieństwo między porównywanymi osobami. W rozdziale tym autor w sposób wyczerpujący nakreślił aktualny stan wiedzy w temacie identyfikacji genetycznej zwłok i szczątków ludzkich i naświetlił potrzebę podjęcia badań zawartych w tytule pracy.

Zasadniczym celem rozprawy doktorskiej mgr. inż. Krzysztofa Żaka było opracowanie i optymalizacja procedury identyfikacji genetycznej zwłok i szczątków osób o nieustalonej tożsamości w oparciu o materiał archiwalny sprzed wieludziesięciu lat o znacznym stopniu degradacji DNA i materiał porównawczy dostępny często wyłącznie od dalszych krewnych osób poszukiwanych. Poza celem głównym autor określił szereg celów szczegółowych. Objęły one opracowanie schematu decyzyjnego w identyfikacji archiwalnego materiału kostnego, ocenę przydatności pod tym kątem różnych zestawów markerów genetycznych i różnych programów statystycznych, weryfikację możliwości zastosowania symulacji pokrewieństw w interpretacji wyników w złożonych strukturach genealogicznych, a także opracowanie rekomendacji dotyczących optymalnego wyboru metod i narzędzi dla potrzeb identyfikacji genetycznej materiałów archiwalnych.

Do realizacji założonych celów autor wykorzystał materiał kostny pochodzący od 28 mężczyzn z grobu masowego z okresu wielkiego terroru, odkrytego w 2021 r. na terenie Adżarii w Gruzji, oraz materiał porównawczy pobrany od 58 osób należących do 20 rodzin, wytypowanych na podstawie danych pozagenetycznych jako krewni ekshumowanych ofiar. W rozdziale „Materiał i metody” doktorant gruntownie opisał wykorzystany w badaniach warsztat badawczy, obejmujący izolację DNA z materiału kostnego i referencyjnego, pomiar stężenia i stopnia degradacji DNA z użyciem qPCR, badanie polimorfizmu STR (amplifikacja, elektroforeza) i SNP (konstruowanie bibliotek, masowe sekwencjonowanie równoległe), ocenę wartości dowodu z badań DNA w oparciu o iloraz wiarygodności LR z uwzględnieniem sprzężeń genetycznych między badanymi markerami, symulację alternatywnych struktur pokrewieństwa oraz predykcję haplogrup chromosomu Y w oparciu o polimorfizm STR. Należy podkreślić, że

dużą część badań doktorant zrealizował w ramach współpracy naukowej z Zakładem Genomiki i Genetyki Sądowej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie i Laboratorium Diagnostyki Molekularnej GenMed w Poznaniu.

Na kolejnych stronach dysertacji autor bardzo szczegółowo opisał wyniki przeprowadzonych analiz statystycznych dla każdej z 20 badanych rodzin, które objęły obliczenia LR dla różnych zestawów markerów bez uwzględniania i z uwzględnieniem sprzężeń między markerami przy użyciu dwóch różnych programów komputerowych oraz symulacje rozkładu LR dla różnych zestawów markerów i symulacje różnych alternatywnych struktur pokrewieństwa między badanymi członkami rodzin osób zaginionych. Co ciekawe, w dwóch rodzinach doktorant wykazał jako bardziej prawdopodobny inny rodzaj pokrewieństwa między badanymi krewnymi niż założony na podstawie posiadanych danych o relacjach rodzinnych. Skłoniło to autora do wystosowania prośby o weryfikację założeń genealogicznych przez stronę gruzińską, która poinformowała o trudności w jednoznacznym określeniu relacji rodzinnej w przypadku jednego z krewnych w pierwszej rodzinie oraz skorygowała relację rodzinną między dwoma krewnymi w drugiej rodzinie.

Na podstawie przeprowadzonych analiz doktorat wykazał, że w przypadku 7 ofiar możliwa była identyfikacja na podstawie badania zestawów pierwszego rzutu (GlobalFiler dla polimorfizmu STR autosomów i Yfiler Plus dla polimorfizmu STR chromosomu Y), w przypadku kolejnych 7 ofiar do identyfikacji konieczne okazało się rozszerzenie badania o dodatkowe markery STR autosomów z zestawu KinFinder, a tożsamość ostatnich 3 ofiar została potwierdzona dopiero po włączeniu do analizy polimorfizmu SNP z zestawu Precision ID Identity. W przypadku 3 rodzin autor nie znalazł dopasowania dla żadnego z badanych szkieletów, co okazało się zgodne z danymi pozagenetycznymi, jako że rodziny te poszukiwały ofiar spoza listy egzekucyjnej 28 mężczyzn, przypisanej do badanego grobu.

Dodatkowo na podstawie analizy polimorfizmu STR chromosomu Y autor przeprowadził predykcję przynależności haplogrupowej 28 mężczyzn, których szkielety ujawniono w badanej jamie grobowej. Na podstawie zbliżonych częstości dwóch najczęstszych haplogrup w badanej próbce populacyjnej i u mężczyzn zamieszkujących sąsiedni region Megrelii potwierdził wstępną hipotezę o gruzińskim pochodzeniu osób pochowanych w badanej mogile.

W kolejnym etapie autor porównał przydatność różnych zestawów markerów genetycznych pod kątem identyfikacji archiwalnego materiału kostnego. Wykazał, że największy potencjał w tym zakresie posiada zestaw GlobalFiler, który charakteryzował się wysoką skutecznością w uzyskiwaniu pełnych profili genetycznych nawet w przypadku silnie zdegradowanego DNA oraz relatywnie wysokimi wartościami LR dla dalekich pokrewieństw. Mimo że zestaw KinFinder był w stanie generować najwyższą

wartość dowodu z badań DNA na pokrewieństwo, jego przydatność okazała się ograniczona z uwagi na wrażliwość na niską ilość i jakość materiału genetycznego, objawiającą się utratą informacji genetycznej dla dłuższych fragmentów DNA i zjawiskiem wypadania alleli. Z kolei zestaw Precision ID Identity doskonale radził sobie z profilowaniem zdegradowanego DNA, jednak z uwagi na niską zmienność genetyczną markerów SNP uzyskiwane przy użyciu tego zestawu wartości LR miały dość ograniczoną wartość dowodową.

Na podstawie uzyskanych wyników autor zaproponował schemat decyzyjny doboru zestawów markerów genetycznych w identyfikacji archiwalnego materiału kostnego w oparciu o materiał porównawczy pochodzący od dalszych krewnych, w którym jako zestawy pierwszego rzutu używane są zestawy GlobalFiler i Yfiler Plus, natomiast zestawy KinFinder i Precision ID Identity są sukcesywnie dołączane do analizy na podstawie ilorazu wiarygodności aż do uzyskania wartości wystarczającej do wydania opinii identyfikacyjnej.

W dyskusji doktorant w sposób wyczerpujący odniósł uzyskane w toku pracy wyniki do danych literaturowych na temat wpływu stopnia degradacji materiału kostnego na uzyskiwane profile, skuteczności różnego rodzaju markerów genetycznych w identyfikacji zwłok i szczątków ludzkich oraz doboru bazy populacyjnej na analizę statystyczną i wartość dowodową wyników. Jako najbardziej skuteczne podejście w identyfikacji archiwalnego materiału kostnego w niniejszej pracy wskazał integrację danych dla markerów STR autosomów i chromosomu Y oraz markerów SNP. Niezwykle cennym uzupełnieniem procesu identyfikacji okazała się symulacja alternatywnych struktur genealogicznych, która umożliwiła zidentyfikowanie błędnych deklaracji pokrewieństwa w dostarczonych przez rodziny informacjach o pokrewieństwie. Opracowany przez doktoranta schemat decyzyjny może w przyszłości posłużyć jako standard postępowania w tego typu projektach, skuteczny zarówno pod względem analitycznym, jak i ekonomicznym. Wyniki zaprezentowane przez mgr. inż. Krzysztofa Żaka potwierdzają skuteczność zastosowanej strategii identyfikacyjnej i podkreślają znaczenie skoordynowanych działań w zakresie pozyskiwania i weryfikacji materiału porównawczego.

Jako recenzent zobowiązany jestem zwrócić uwagę na kilka błędów merytorycznych i niedociągnięć w ocenianej dysertacji.

1. Na stronie 28 autor tłumaczy, że główną funkcją markerów Y-STR jest umożliwienie rozróżnienia osób wywodzących się z tej samej linii męskiej, podczas gdy możliwości tych markerów w tym zakresie są ograniczone do sytuacji, kiedy mężczyzna posiada chromosom Y inny niż pozostali krewni w linii męskiej na skutek mutacji. Głównym celem analizy polimorfizmu STR

chromosomu Y w genetyce sądowej jest różnicowanie mężczyzn wywodzących się z różnych linii męskich.


2. Na stronie 33 autor wyjaśnia, że promieniowanie ultrafioletowe może powodować uszkodzenia wiązań krzyżowych w DNA, podczas gdy promieniowanie to nie uszkadza tych wiązań, tylko generuje ich tworzenie.
3. Na stronie 46 autor podaje wzór na prawdopodobieństwo pokrewieństwa, obliczane na podstawie wartości ilorazu wiarygodności. W rzeczywistości jest to uproszczony wzór na prawdopodobieństwo pokrewieństwa *a posteriori* (uwzględniającego wyniki badań DNA) przy założeniu prawdopodobieństwa *a priori* (przed wykonaniem badań DNA) na poziomie 50%. W genetyce sądowej prawidłowe jest przyjmowanie prawdopodobieństwa *a priori* na tym poziomie tylko w sprawach cywilnych dochodzenia spornego ojcostwa, kiedy przyjmuje się pozycje stron pozywającej i pozwanej za równoważne. W większości spraw identyfikacyjnych dotyczących zwłok i szczątków osób o nieustalonej tożsamości przyjęcie prawdopodobieństwa *a priori* na poziomie 50% nie jest uzasadnione. W rzeczywistości może być ono znacznie wyższe niż 50% (gdy dane pozagenetyczne silnie przemawiają za typowaną tożsamością) lub znacznie niższe (np. w sytuacji, gdy identyfikacja dotyczy 28 szkieletów ludzkich z tego samego stanowiska i żaden nie został jeszcze zidentyfikowany).
4. Bliskość genetyczną chromosomów Y szkieletów ujawnionych w grobie masowym w Adżarii w stosunku do mieszkańców sąsiedniej Megrelii autor wywnioskował wyłącznie na podstawie zaobserwowania zbliżonych częstości dwóch najczęstszych haplogrup. Naukowiec takie wnioski powinien wyciągać nie na podstawie podobieństwa, tylko na podstawie oceny statystycznej różnic w rozkładzie częstości haplogrup chromosomu Y w obu grupach, np. w oparciu o analizę wariancji molekularnej AMOVA.
5. Bardzo wartościowym uzupełnieniem wyników przedstawionych w tabeli 24 byłoby ich odzwierciedlenie na wykresach zależności liczby oznaczonych markerów od stężenia i wskaźnika degradacji DNA.

Wspomniane braki i uwagi nie umniejszają wartości pracy naukowej mgr. inż. Krzysztofa Żaka. Oceniana rozprawa stanowi oryginalne i nowatorskie rozwiązanie problemu naukowego o dużej wartości praktycznej, spełniając warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) i uzasadniając nadanie mgr. inż. Krzysztofowi Żakowi stopnia naukowego doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne. Na szczególne uznanie zasługuje fakt, że wyniki zaprezentowane w rozprawie doktorskiej mgr. inż. Krzysztofa Żaka zostały 10 dni temu opublikowane w

formie oryginalnego artykułu w czasopiśmie „*Forensic Science International: Genetics*”, które jest jednym z najlepszych na świecie czasopism poświęconych zagadnieniom medyczno-sądowym. W związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie mgr. inż. Krzysztofa Żaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę wartość naukową i praktyczną przedłożonej rozprawy, wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o jej wyróżnienie.

10877

dr hab. n. med. KRZYSZTOF RĘBAŁA



DIAGNOSTA LABORATORYJNY
specjalista laboratoryjnej genetyki medycznej
i laboratoryjnej chemii sądowej