



Bydgoszcz, 25 sierpnia 2023

Prof. dr hab. inż. Maria Siwek – Gapińska  
Katedra Biotechnologii i Genetyki Zwierząt  
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt  
Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

### RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr inż. Justyny Ciechańskiej z tytułowanej: „**Analiza genetycznego podłoża wrodzonej głuchoty psów**” zrealizowanej pod kierunkiem dr hab. Wojciecha Kruszyńskiego prof. uczelni i promotor pomocniczej dr hab. inż. Magdaleny Zatoń – Dobrowolskiej, prof. uczelni wykonana na zlecenie Przewodniczącego Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu dr hab. inż. Heliodora Wierzbickiego, profesora uczelni.

Identyfikacja genetycznych podstaw wrodzonej głuchoty u psów stanowi wyzwanie dla wielu badaczy na całym świecie. Poznanie ścieżki dziedziczenia tego schorzenia u psów jest ważne ze względu na pogłębienie wiedzy dotyczącej *loci* związanych z głuchotą wrodzoną u gatunku uznanego jako modelowy. Ponadto identyfikacja genów i mutacji powiązanych z wrodzoną głuchotą ma bardzo ważne znaczenie aplikacyjne dla hodowców i opiekunów psów. Dotychczasowe wyniki badań wskazują na kompleksowy mechanizm dziedziczenia głuchoty wrodzonej, przy czym często schorzenie to jest powiązane z brakiem pigmentacji. Test diagnostyczny BAER stosowany w identyfikacji schorzenia umożliwia wskazanie osobników dotkniętych zarówno jednostronną jak i obustronną głuchotą. Sam test diagnostyczny nie jest jednak wystarczająco efektywny aby pozwolić na wyeliminowanie z hodowli osobników nosicieli w przypadku recesywnego typu dziedziczenia schorzenia.

Analizy molekularne prowadzone są w oparciu o różnorodne techniki i markery DNA: markery mikrosatelitarne, markery SNP, skanowanie całego genomu, analiza pojedynczych mutacji. Zidentyfikowane do tej pory mechanizmy dziedziczenia różnią się w zależności od rasy psów. U rotweillerów i bulterierów rozpoznano mechanizm autosomalny recesywny. W przypadku dalmatyńczyków zaproponowanych zostało kilka mechanizmów: powiązanie z chromosomem X, model dwóch *loci* recesywnych z niepełną penetracją, kodowanie wielogenowe.

Zasadnym zatem jest prowadzenie badań dotyczących genetycznego podłoża głuchoty wrodzonej dla poszczególnych ras psów. W tym kontekście badania przeprowadzone w ramach rozprawy doktorskiej mgr inż. Justynę Ciechańską mają wydźwięk zarówno poznawczy jak i praktyczny.

## 1. Uwagi ogólne i charakterystyka pracy

Przedstawiona do oceny dysertacja doktorska ma charakter eksperymentalny, napisana została w sposób zrozumiały, precyzyjny i poprawny od strony językowej. Dysertacja ma układ typowy dla tego typu prac. Całość dysertacji zawarta jest na 129 stronach. Praca podzielona jest na 5 podstawowych rozdziałów: „Wstęp” „Przegląd literatury” zakończony podrozdziałem dotyczącym celu badań, „Materiał i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja wyników”, „Podsumowanie i Wnioski” i „Literatura”. Pracę uzupełniają streszczenie w języku polskim i angielskim oraz załączniki.

## 2. Analiza poszczególnych części pracy

Rozdział „Wstęp” wprowadza czytelnika w tematykę dysertacji doktorskiej. Autorka prezentuje w nim krótką charakterystykę problemu dziedzicznej głuchoty wrodzonej, kładąc nacisk na słabo poznane kwestie związane z dziedziczeniem tej jednostki chorobowej zwłaszcza u gatunków zwierząt innych niż myszy. Cechą charakterystyczną dziedzicznej głuchoty jest jej powiązanie z *loci* białej pigmentacji, aczkolwiek znane są również przypadki głuchoty niezależne od pigmentacji. Identyfikacja podłoża genetycznego głuchoty dziedzicznej jest procesem długotrwałym, a jej postępy są niewielkie. Droga poznania podłoża genetycznego dziedzicznej głuchoty wrodzonej prowadzi przez identyfikację genów związanych z brakiem pigmentacji, których obecność skutkuje różnymi fenotypami umaszczenia jak również może stanowić przesłankę do obecności głuchoty dziedzicznej.

Rozdział „Przegląd literatury” to rzetelny opis schorzenia jakim jest głuchota, prezentacja klasyfikacji schorzenia w zależności od przyjętych kryteriów. W kolejnych podrozdziałach Autorka dokonuje charakterystyki znanych *loci* odpowiedzialnych za głuchotę u ludzi, jak również omawia schorzenie wrodzonej głuchoty u psa jako gatunku modelowego. Na podkreślenie zasługuje fakt iż, identyfikacja tak wielu *loci* powiązanych z utratą słuchu u człowieka, była możliwa dzięki badaniom na modelach zwierzęcych. Problemowi wrodzonej głuchoty i brakowi pigmentacji u innych gatunków zwierząt poświęcony jest kolejny podrozdział dysertacji doktorskiej. Do diagnostyki wrodzonej głuchoty wykorzystuje się test BAER (brainstem auditory evoked response). Zasada działania tego testu i znaczenie w diagnostyce głuchoty u psów została opisana w ostatnim podrozdziale przeglądu literatury.

Rozdział „Cel badań” zgodnie z wskazaniem w tytule prezentuje cel główny i dodatkowe cele pracy.

Rozdział „Materiał i metody” to 9 stron, na których po pierwsze scharakteryzowane zostały próby wykorzystane w badaniach wraz z podziałem na rasy, płęć, poziom słuchu. Kolejne podrozdziały przedstawiają zastosowane: analizy molekularne (izolacja DNA, ilościowa i jakościowa ocena DNA, amplifikacja sekwencji mikrosatelitarnych, analiza jakościowa produktów PCR, genotypowanie produktów PCR) i analizy statystyczne. Rozdział jest uzupełniony czterema zestawieniami tabelarycznymi przedstawiającymi: udział poszczególnych osobników z zachowaniem podziału na rasy i płęć (Tabela 2), poziom słuchu poszczególnych osobników z zachowaniem podziału na rasy (Tabela 3), poziom słuchu poszczególnych osobników z zachowaniem podziału na płęć (Tabela 4), charakterystyka markerów mikrosatelitarnych wybranych do amplifikacji (Tabela 5).

Wyniki przeprowadzonych analiz przedstawione są w 63 tabelach i 14 rycinach umieszczonych w rozdziale „Wyniki”.

W rozdziale „Dyskusja” Autorka w kolejnych podrozdziałach ustosunkowuje się do: Analizy wybranych markerów mikrosatelitarnych (Podrozdział 4.1); Analizy czynników wpływających na wystąpienie głuchoty (Podrozdział 4.2).

Wnioski są sformułowane precyzyjnie, przedstawione prawidłowo i wynikają z rezultatów uzyskanych w trakcie realizacji doświadczeń.

Rozdział „Literatura” obejmuje 109 pozycji literatury zarówno krajowej jak i zagranicznej.

Dysertację uzupełniają trzy załączniki.

### 3. Uwagi krytyczne

Do zadań recenzenta należy również wskazanie ewentualnych merytorycznych i formalnych nieścisłości zauważonych w ocenianej dysertacji. Nieścisłości te omówione są poniżej w kolejności chronologicznej:

- Na stronie 7 dysertacji Autorka wskazuje, że głuchota czuciowo – nerwowa, zwana też obwodową jest „zwykle dziedziczna”, ale może także wynikać z innych przyczyn. W tym kontekście w charakterystyce osobników wytypowanych do badań brakuje informacji dotyczącej stanu klinicznego psa.
- W podrozdziale dotyczącym znaczenia testu BAER w diagnostyce głuchoty u psów Autorka wskazuje, iż dla prawidłowej interpretacji wyniku testu istotnym jest czy badanie było wykonane po raz pierwszy czy kolejny i jaki był wynik poprzedniego testu. Podczas zbierania materiałów do ocenianej dysertacji przebadane zostały 152 osobniki. W pracy nie wskazano czy dla tych osobników był to pierwszy czy kolejny test i w jakim wieku były osobniki wytypowane do badań.

- W pracy brakuje jasno sformułowanej hipotezy badawczej
- Celem dysertacji była „...analiza 15 markerów mikrosatelitarnych”. W mojej ocenie markery mikrosatelitarne są jedynie narzędziem do analizy podłoża wrodzonej głuchoty u psów. Autorka nie wskazuje pozycji literaturowych z jakich wytypowane zostały markery mikrosatelitarne do analiz. Informacja ta jest szczególnie ważna w kontekście dyskusji wyników własnych z danymi literaturowymi.
- W 2004 opatentowany został test genetyczny głuchoty u psów (EP1659185A1) opracowany przez zespół prof. Distl. W swojej pracy Autorka cytuje publikacje autorstwa tego zespołu dotyczące wrodzonej głuchoty u psów. W pracy nie ma odniesienia do wspomnianego patentu, w którym zastosowane są m. in. *loci* analizowane przez Autorkę dysertacji.
- Rycina na 1, na stronie 15, ma błędnie przypisane Autorstwo. Rycina pochodzi z publikacji George Strain, *Fron. Vet. Sci* 2015.

Wymienione uwagi mają charakter polemiczny i mają na celu zainicjowanie dyskusji w czasie obrony pracy doktorskiej. Zastosowane przez mgr Justynę Ciechańską metody badawcze, dobór materiału do badań, analiza i późniejsza interpretacja uzyskanych wyników wskazuje iż Autorka dysertacji wykazała się bardzo dobrym przygotowaniem merytorycznym i opanowaniem warsztatu badawczego.

#### 4. Wartość merytoryczna pracy

Przedłożona do recenzji dysertacja doktorska ma charakter eksperymentalny. Autorka wykorzystuje w niej sprawdzone narzędzia molekularne jakimi są markery mikrosatelitarne. Uzyskane dane genotypowe i fenotypowe są przeanalizowane z zastosowaniem kompleksowych narzędzi statystycznych. Z przedstawionego opracowania wynika, że Mgr inż. Justyna Ciechańska posługuje się zarówno technikami genetyki molekularnej jak i narzędziami statystycznej analizy danych.

Dysertacja doktorska mgr inż. Justyny Ciechańskiej ma dużą wartość poznawczą jak i znaczenie praktyczne dla hodowli i opiekunów psów. Na szczególne podkreślenie zasługuje:

- Rzetelne zebranie reprezentatywnego materiału doświadczalnego
- Charakterystyka polimorfizmu zastosowanych markerów DNA w poszczególnych rasach psów
- Zastosowanie kompleksowymi analiz i testów statystycznych

- Wytypowanie markerów DNA dla których wykazano genotypy występujące prawie wyłącznie u osobników jednostronnie lub obustronnie głuchych
- Potwierdzenie, że schorzenie jakim jest wrodzona głuchota jest wysoce powiązane z białym umaszczeniem

Uzyskane w pracy wyniki dostarczają nowej wiedzy dotyczącej głuchoty wrodzonej u psów ras: bultelier, seter angielski, dog argentyński, bokser i australijski pies pasterski. Przedstawione rezultaty analiz są niewątpliwie cennymi wskazówkami, które mogą zostać wykorzystane zarówno przez hodowców jak i opiekunów psów.

## 5. Wnioski końcowe

Dysertacja doktorska mgr inż. Justyny Ciechańskiej zatytułowana: „**Analiza genetycznego podłoża wrodzonej głuchoty psów**” spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora określone w Ustawie *O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach 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 2018 pozycja 1669).

Uwzględniając wartość merytoryczną ocenianej rozprawy uważam, że stanowi ona osiągnięcie naukowe spełniające wymagania postawione pracom naukowym zarówno w zakresie dotychczasowych dyscyplin i dziedziny (dziedzina nauk: nauki rolnicze, dyscyplina: zootechnika) jak również dyscyplin i dziedzin wg. nowej klasyfikacji (dziedzina: nauki rolnicze, dyscyplina: zootechnika i rybactwo). W związku z powyższym wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr inż. Justyny Ciechańskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Maria Siwek – Gapińska  
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt

