

Prof. dr hab. Wanda Olech-Piasecka
Katedra Genetyki i Ochrony Zwierząt
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie

Ocena

pracy doktorskiej mgr inż. Justyny Ciechańskiej
pt. "Analiza genetycznego podłoża głuchoty psów"

wykonanej w Katedrze Genetyki, Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt,
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu,
pod kierunkiem dr hab. Wojciecha Kruszyńskiego, prof. UP we Wrocławiu.

Rozprawa doktorska mgr inż. Justyny Ciechańskiej doskonale wpisuje się w nurt badań z zakresu hodowli zwierząt, gdyż diagnoza genetycznego podłoża chorób ma ogromne znaczenie w prowadzeniu pracy hodowlanej. Problem analizowany w pracy to głuchota wrodzona i związane z jej występowaniem markery. Tematyką dziedzicznej głuchoty wrodzonej zajmowało się wiele zespołów badawczych przede wszystkim u ludzi, ale również u różnych gatunków zwierząt. Jednak do tej pory nie udało się określić żadnego genu jednoznacznie odpowiadającego za to schorzenie u psów. Z tego względu podjęcie przez Doktorantkę badań genetycznego podłoża wrodzonej głuchoty u psów jest bardzo cenne.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska obejmuje łącznie 104 strony maszynopisu z 68 tabelami i 19 rycinami, podzielonymi na logiczne podrozdziały ułatwiające czytanie i analizę zawartych w pracy wyników. Do pracy dodano jako załączniki *Protokół izolacji DNA* oraz *Wielkość markerów mikrosatelitarnych*. Spis piśmiennictwa obejmuje 109 pozycji literatury obcojęzycznej, przy czym ponad 40% cytowanych prac opublikowano w okresie ostatnich pięciu lat.

Rozdział *Przegląd literatury* to część dysertacji, w której opisana jest głuchota jako schorzenie, które może być nabyte lub wrodzone, częściowe lub całkowite, syndromiczne lub nie. Autorka skupia się na wrodzonej głuchocie, przy czym, jak podaje, około pół promila wrodzonej głuchoty u ludzi ma podłoże genetyczne oraz do tej pory określono u ludzi ponad 120 *loci* odpowiedzialnych za to schorzenie. Najczęstsze mutacje powiązane z wrodzoną głuchotą Autorka zebrała w formie tabeli. Co ciekawe to myszy były modelem badania przyczyn tego schorzenia, choć

podobieństwo wariantów głuchoty było niewielkie i dlatego lepszym modelem może okazać się pies, którego genom jest w 78% podobny do genomu człowieka. Dodatkowo w tworzeniu ras psów utrwalane były różne warianty genów, co powoduje bardzo dużą zmienność między rasami przy ograniczonej zmienności wewnątrz ras. U niektórych ras psów głuchota pojawia się częściej niż u innych, choć wiedza o mutacjach ją powodujących jest ograniczona. U psów, jak i u innych gatunków zwierząt, stwierdzono związek pomiędzy głuchotą a brakiem pigmentu na ciele oraz niebieską tęczęwką. U koni schorzenie dotyka zwierzęta o umaszczeniu srokatym typu *overo* oraz *sabino*. U koni opisano siedemnaście genów białego umaszczenia, z których niektóre są powiązane z głuchotą. U bydła głuchota była po raz pierwszy stwierdzona u białej odmiany rasy hereford, u której z dużą częstością występował światłowstręt i niedosłuch lub głuchota. Podobne obserwacje potwierdzono u innych gatunków, w tym również u psa. Autorka obszernie opisuje badania prowadzone do tej pory na różnych rasach psów i podaje informacje o markerach powiązanych ze schorzeniem. Jednak, co zostało podkreślone, zróżnicowanie między rasami psów powoduje różny efekt tych samych alleli, zatem poszukiwanie *loci* powiązanych z głuchotą musi być prowadzone w obrębie każdej z ras. Opisana jest również metoda elektrodiagnostyczna BAER, przy pomocy której już w wieku 5 tygodni można ocenić szczenięcia.

W rozdziale *Cel badań* Autorka planuje analizę 15 *loci* mikrosatelitarnych znajdujących się w pobliżu genów odpowiedzialnych za głuchotę u ludzi oraz zamierza poszukać różnic między rasami psów, ocenić wpływ płci i umaszczenia na częstość schorzenia.

W rozdziale *Materiał i metody* Autorka podaje, że zebrano krew lub włosy od 152 psów, wśród których 97 było zdrowych, 36 jednostronnie oraz 19 obustronnie głuchych. Wszystkie osobniki były diagnozowane przy użyciu testu BAER. Psy należały do pięciu ras, przy czym Największą częścią, ponad $\frac{2}{3}$ całej próby, były psy ras bulterier i seter angielski. Na stronie 32 podano, że zbadano 58 bulterierów, wśród których 52 były białe a 33 barwne (razem 85), podobnie wśród 44 seterów angielskich 19 miało umaszczenie blue belton, 22 orange belton i 19 tricolor (razem 60). Jest to prawdopodobnie pomyłka, gdyż w tabelach 2 oraz 3 łączna liczba zbadanych psów wynosi tych ras wynosi 58 oraz 44.

Kolejnym elementem rozdziału są zastosowane metody izolacji DNA, amplifikacji wybranych fragmentów wraz ze szczegółowym podaniem zastosowanych primerów. Opisane są również metody analizy statystycznej, ze względu na rodzaj wyników, opartej na testach nieparametrycznych. Podkreślić należy, że wybór markerów oparty na literaturze jak również dobór testów statystycznych są właściwe. Dodatkowo porównanie grup pod względem struktury wzbogacone jest o prezentacje graficzne analiz PCA.

W kolejnym rozdziale *Wyniki*, Autorka przedstawia liczebności określonych genotypów wraz z liczbą psów zdrowych i głuchych, w tabelach 7-20 oraz takie same wyniki w obrębie najliczniejszych ras, czyli bulterier i seter angielski. Szkoda, że w tabeli nie zawarto procentowego udziału psów głuchych dla genotypu, co pozwalałoby łatwiej zauważyć różnice między genotypami. Jak podaje Autorka, w tabelach uwzględniono jedynie genotypy, które wystąpiły u co najmniej 5 psów, zatem jasne jest, że liczba chorych i zdrowych psów łącznie jest niższa niż 152, w tym 97 zdrowych. Zatem jak wyjaśnić, że w obrębie MYH9_MS1 jest 146 zdrowych i 65 chorych (tab. 10), w obrębie MYH9_MS2 jest 145 zdrowych (tab. 11), w obrębie KIT_MS1 są 144 zdrowe (tab. 12), w obrębie EDNRB_MS1 146 zdrowych (tab. 13), dla COL11A2_MS1 - 133 zdrowe (tab. 14), w obrębie COL11A2_MS2 - 127 zdrowych (tab. 15) i podobnie dla pozostałych markerów. Podobne pomyłki można stwierdzić w tabelach dla rasy bulterier, np. w tabeli 24 suma liczb to 64 zdrowe i 21 głuchych osobników, a w tej rasie łącznie badano 58 psów. Dla rasy seter angielski od tego samego markeru MYH9_MS1 liczby podane w tabeli są również nieprawidłowe - 44 zdrowe i 16 chorych (tab. 36) a badano 44 osobniki. W żadnej z tabel nie podsumowano kolumn, co pozwoliłoby na zauważenie pomyłek.

W kolejnym rozdziale Autorka poszukuje zależności między rasami, ale w tabelach 47 i 48 liczebności psów zdrowych ras bulterier, dog oraz seter angielski są inne niż w tabeli 5. Podobnie jest z liczebnościami zdrowych osobników w obrębie płci.

Generalnie dla celów publikacji wyników powinno się połączyć tabele, aby wyniki były bardziej przejrzyste liczebności weryfikowalne. Pomimo zbyt dużej liczby tabel i najprawdopodobniej pomyłek w podawaniu liczebności należy przyznać, że wyniki przedstawione są rzeczowo a wzbogacenie o wykresy analizy składowych zwiększa czytelność porównań. Co najważniejsze wyniki są omówione w rozdziale *Dyskusja* w sposób logiczny prowadzący do wysuwanych wniosków.

W kolejnym rozdziale *Podsumowanie i wnioski* przedstawiono w sposób zwięzły 8 stwierdzeń i wniosków bazujących na wynikach przeprowadzonych badań. Zaletą jest następczość wniosków, co powoduje, że podsumowanie jest logiczne i przejrzyste. Stwierdzono istotną zależność między genotypem psa a wystąpieniem głuchoty oraz wskazano genotypy które znacznie częściej miały zwierzęta chore lub zdrowe. Istotne jest również, że potwierdzono pozytywną korelację między częstościami białego umaszczenia i wystąpienia schorzenia.

Reasumując należy stwierdzić, że przedstawiona do recenzji rozprawa jest bardzo interesująca, wielowątkowa i przydatna w dyskusji na temat powiązania głuchoty z wybranymi *loci* mikrosatelitarnymi. Wynikające z obowiązku recenzenta uwagi i pytania nie umniejszają wartości merytorycznej pracy. Obszerne badania zostały

wykonane metodycznie, poprawnie, z użyciem właściwych metod i technik badawczych, a Doktorantka wykazała się odpowiednią wiedzą merytoryczną oraz umiejętnością samodzielnego planowania i prowadzenia badań oraz opracowywania ich wyników. Przedstawiony opis badań jest przygotowany bardzo starannie. Nie ma błędów literowych i interpunkcyjnych, a język jest przejrzysty i czytelny. A co ważne, informacje podawane są konkretnie i w celowy sposób.

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Justyny Ciechańskiej pt. *Analiza genetycznego podłoża głuchoty psów* spełnia wymogi określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r. nr 65 poz. 595 ze zm.), w zw. z art. 179 ust. 1 oraz z art. 179 ust. 3 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. - przepisy wprowadzające ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.) i może być podstawą do nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Wnoszę, zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr inż. Justyny Ciechańskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. Wanda Olech-Piasecka

Warszawa 09 września 2023 r.