

## **Recenzja** **rozprawy doktorskiej mgr inż. Sławomira Sadkowskiego** **pt. „ Profile otluszczenia świń oraz ich uwarunkowanie genetyczne”**

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska dotyczy doskonalenia cech użytkowych świń z wykorzystaniem technik genetyki molekularnej. Zagadnienie genetycznych uwarunkowań cech tucznych i rzeźnych jest od wielu lat przedmiotem badań w różnych ośrodkach naukowych. Poszukiwane są geny o dużym wpływie na zmienność tych cech, które mogą być przydatne w doskonaleniu świń. Szczególnym zainteresowaniem badaczy cieszy się zawartość tłuszczu w tuszy, zarówno w aspekcie chudości jak i jakości tuszy. Jednak mimo mnogości badań, dotychczas nie zidentyfikowano pojedynczego genu o dużym wpływie na cechy otluszczenia tuszy, wytypowano natomiast sporą liczbę genów kandydujących. Rozprawa doktorska mgr inż. Sławomira Sadkowskiego wpisuje się w ten kierunek badań.

W badaniach genetycznego uwarunkowania cech otluszczenia pojawił się także inny aspekt – wykorzystanie świni jako zwierzęcia modelowego dla nadmiernego gromadzenia tłuszczu u ludzi, skutkującego otyłością, która często przyczynia się do rozwoju innych chorób. Zdefiniowanie przez mgr inż. Sadkowskiego nowej cechy „profil otluszczenia” u świni, odpowiadającej „typowi otyłości” u ludzi, i podjęcie badań jej związku z polimorfizmem wybranych genów są nowatorskim podejściem do tego zagadnienia.

Rozprawa doktorska mgr inż. Sławomira Sadkowskiego została wykonana w Katedrze Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Ma układ typowy dla rozpraw doktorskich, liczy 105 stron i składa się z rozdziałów: Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wstęp (22 strony), Hipotezy badawcze, Cele badań, Materiał (6 stron), Metody (4,25 strony), Wyniki i dyskusja (28 stron), Podsumowanie i wnioski (2,25 strony), Wykaz tabel, Wykaz rycin, Bibliografia oraz Suplement-skrypty (schematy tworzenia zestawu profili otluszczenia i profili otluszczenia dla osobników).

### **OCENA PRACY**

Tytuł rozprawy zwięźle i jasno określa problematykę badawczą. W obszernym **Wstępie** mgr inż. Sadkowski najwięcej uwagi poświęcił genetycznemu uwarunkowaniu cech otluszczenia świni. Szczegółowo omówił te cechy i zasygnalizował czynniki wpływające na ich zmienność. Przedstawione zostały także wyniki badań ukierunkowanych na identyfikację regionów chromosomowych oraz genów o dużym wpływie na cechy użytkowe świń. Niektóre z tych genów (*FTO*, *MC4R*, *LEP*, *LEPR*, *ADIPOQ*, *RETN*, *FABP3*, *FABP4*, *CART*) zostały przez Doktoranta opisane szczegółowo, ich budowa, asocjacje z cechami otluszczenia a także rodzaje i biologiczna rola kodowanych przez nie białek. Ta część Wstępu jest szczególnie interesująca i uzasadnia celowość przeprowadzonych przez mgr inż. Sadkowskiego badań.

Nawiązując do wykorzystania świni jako zwierzęcia modelowego dla otyłości u człowieka Doktorant podał krótkie informacje o głównych typach otyłości u ludzi i roli otyłości w patogenezie różnych chorób, a w podrozdziale „Znaczenie świni domowej w badaniach

biomedycznych” zamieścił ogólne stwierdzenia o przydatności świń do takich badań. Moim zdaniem zagadnienie to można było omówić szerzej ponieważ podkreśla ono znaczenie badań przeprowadzonych przez Autora rozprawy nie tylko dla hodowli i użytkowania świń ale także dla wyjaśnienia podłoża otyłości u ludzi.

Rozdział kończy krótka informacja o uogólnionych modelach liniowych, w tym o regresji logistycznej i analizach odchyień, zastosowanych przez Doktoranta w celu weryfikacji hipotez badawczych.

We Wstępie oraz w całej rozprawie wykorzystano 172 pozycje literatury, opublikowane głównie w bieżącym wieku. Moją uwagę zwróciła niewielka liczba prac z lat 2018-2019 przy całkowitym braku publikacji z 2020 roku. Tymczasem w dostępnych naukowych czasopismach jest wiele prac zawierających ciekawe wyniki badań z zakresu tematyki rozprawy, np. z 2020 r.: Fu i wsp., *Animal Genetics* 51(5); Crespo-Piazuelo i wsp., *Scientific Reports*, 10; Xu i wsp., *Animal Genetics* 51 (2); Flores-Derantes i wsp., *Frontiers in Neuroscience* 14.

Mgr inż. Sadkowski sformułował **dwie hipotezy badawcze i dwa cele badań**. Hipotezy zakładały różną predyspozycję świń do odkładania tkanki tłuszczowej oraz jej genetyczne uwarunkowanie, w którym rolę pełnią pojedyncze geny. Natomiast celami badań było zdefiniowanie nowej, wielowymiarowej cechy – „profil otluszczenia”, która powinna odzwierciedlać predyspozycje do odkładania tłuszczu w określonych miejscach, oraz ocena jej ewentualnego związku z polimorfizmem wybranych genów. Jest to oryginalne pod względem naukowym, kompleksowe podejście do problematyki genetycznego podłoża cech otluszczenia. Badania, prowadzone dotychczas w wielu ośrodkach, dotyczyły każdej cechy otluszczenia osobno.

**Badania** zostały przeprowadzone na 641 loszkach z dwóch ras – wielka biała polska (192 loszki), polska biała zwisłoucha (232 loszki) i z linii syntetycznej 990 (217 loszek). Dane dotyczące cech użytkowości rzeźnej tych loszek pochodziły ze Stacji Kontroli Użytkowości Rzeźnej Trzody Chlewnej w Pawłowicach i zawierały wyniki pomiarów dziewięciu cech otluszczenia, wykonanych w latach 2001-2003 w ramach rutynowej oceny poubojowej. Badania molekularne, identyfikujące 54 polimorfizmy w 26 genach kandydujących dla cech otluszczenia, zostały przeprowadzone wcześniej w ramach pięciu projektów badawczych (finansowanych przez KBN i NCN) zrealizowanych w macierzystej Katedrze Doktoranta, których kierownikiem był prof. dr hab. Marek Świtoński. Polimorfizmy te zostały przez mgr inż. Sadkowskiego dokładnie opisane na podstawie publikacji naukowych oraz internetowej bazy danych – dbSNP.

Wykorzystując metodę regresji logistycznej, Doktorant przeprowadził kilka analiz – dla całego materiału łącznie, dla poszczególnych ras oraz dla ogólnego otluszczenia. W podstawowej analizie uwzględnione zostały stałe efekty rasy, genotypu w poz. 1843 genu *RYRI*, genotypu w badanym polimorfizmie wybranych genów oraz wiek loszki i jej masę w dniu uboju. W zależności od celu poszczególnych analiz ich modele były modyfikowane w zakresie uwzględnianych efektów stałych.

Dla potwierdzenia wiarygodności uzyskanych wyników i zminimalizowania ryzyka błędnego wyniku weryfikacji hipotezy mgr inż. Sadkowski wykorzystał metodę FDR (ang. false discovery rate) dla porównań wielokrotnych.

Oszacowane zostały współczynniki odziedziczalności dla poszczególnych cech otluszczenia i cechy „profil otluszczenia” a także współczynniki korelacji liniowej Pearsona. W analizach tych wykorzystano pakiet stats i pakiet MCMCg1mm dla środowiska R.

Zastosowana przez Doktoranta podwójna standaryzacja (w obrębie populacji i osobnika), wyrażonych w różnych jednostkach miary cech otluszczenia oraz metoda k-średnich pozwoliły na utworzenie dwóch zestawów profili otluszczenia (1 i 2), które zawierały pomiary cech otluszczenia u wszystkich ras łącznie. Zestaw 1 tworzyło 8 cech otluszczenia (grubość słoniny zmierzona w 7 punktach i masa tłuszczu trzewnego), zestaw 2 zawierał dodatkową cechę -

zawartość tłuszczu śródmięśniowego w mięśni najdłuższym grzbiecie. Przeprowadzona analiza, z zastosowaniem testu chi-kwadrat, nie wykazała istotnych statystycznie różnic w liczebności profili otłuszczenia w grupach rasowych.

Metody statystyczne zostały dobrane prawidłowo, ale w moim odczuciu ich opis jest zbyt skrótowy i nieco chaotyczny a kolejność analiz statystycznych i odwołanie do tabel (numery: 6, 4) odwrócone w stosunku do logicznej kolejności omówienia uzyskanych wyników w rozdziale 8.

Uzyskane w pracy wyniki mgr inż. Sadkowski przedstawił w rozdziale **Wyniki i dyskusja**, omawiając je na tle rezultatów badań innych autorów.

Pierwszym etapem przeprowadzonych analiz była ocena zmienności cech otłuszczenia i oszacowanie ich parametrów genetycznych. Zmienność badanych cech u wszystkich loszek łącznie była na poziomie 20-43%, nieco większe zróżnicowanie zaobserwowano między rasami. W omówieniu tego zróżnicowania jest sprzeczność z danymi w tabeli 3. Ostatnie zdanie na str. 42: „Z kolei loszki rasy wbp posiadały najniższe wartości dla wszystkich cech otłuszczenia z wyjątkiem pomiaru grubości słoniny nad łopatką, który był wyższy w pozostałych grupach zwierząt” nie ma potwierdzenia w danych z tabeli, które wskazują, że grubość słoniny nad łopatką u loszek rasy wbp była wyższa niż u loszek rasy pbz, a masa tłuszczu trzewnego wyższa niż u loszek linii 990.

Oszacowane współczynniki odziedziczalności wykazały bardzo dużą rozpiętość wartości, od 0,09 (GS6 u świń rasy wbp) do 0,9 (średnia grubość słoniny z 7 pomiarów u loszek pbz). Zaskakujące są różnice międzyrasowe odziedziczalności tej samej cechy. Na przykład dla cechy GS6 – 0,6 dla pbz (232 loszki), 0,09 dla wbp (192 loszki) i 0,22 dla 990 (217 loszek), dla cechy GS7 – 0,07 dla 990, 0,3 dla wbp i 0,74 dla pbz. Niestety mgr inż. Sadkowski nie skomentował tych różnic. Mam zastrzeżenie do omówienia (str. 45) oszacowanych wartości odziedziczalności w odniesieniu do ras, jest ono nieprecyzyjne, nie wszystkie informacje w tekście mają potwierdzenie w danych w tabeli 5.

Współczynniki odziedziczalności profilu otłuszczenia dla zestawów rasowych (1A-C, 2A-C) wykazują mniejsze zróżnicowanie wartości (zestaw 1 – 0,20-0,29, zestaw 2 – 0,37-0,56) co wskazuje na możliwość wykorzystania tej cechy w selekcji świń.

Ze względu na niejasności w tekście oraz różnice między wartościami omawianymi w tekście i podanymi w tabelach podrozdział 8.1. Charakterystyka cech otłuszczenia uważam za niedopracowany.

Ciekawych informacji dostarczyła analiza częstości występowania profili otłuszczenia, w której mgr inż. Sadkowski wykorzystał standaryzowane wartości cech otłuszczenia u badanych loszek. Profil otłuszczenia nazwany przez Doktoranta otrzewnowo-łędźwiowym, charakteryzujący się gromadzeniem tłuszczu przede wszystkim w postaci sadła trzewnego oraz słoniny w okolicach łędźwi, zaobserwowano u ponad 60% loszek rasy pbz i wbp. Z kolei profil otłuszczenia „grzbietowy”, w którym tłuszcz jest gromadzony na całej długości grzbiecie, z niewielkim udziałem tłuszczu podskórnego w okolicach łędźwi i tłuszczu trzewnego, występował u ponad 60% loszek linii 990. Statystyczna weryfikacja związku między profilem otłuszczenia a rasą, przeprowadzona z zastosowaniem testu chi-kwadrat na wszystkich loszkach (wbp, pbz, 990), potwierdziła wysoko istotny wpływ rasy na odkładanie tkanki tłuszczowej w określonym miejscu. Wpływ rasy nie został jednak potwierdzony w analizie, z której wykluczono loszki linii 990, co może wskazywać na zróżnicowanie między loszkami czystorasowymi i mieszańcowymi.

Przeprowadzona analiza asocjacji między polimorfizmami wybranych genów kandydujących a cechami otłuszczenia wykazała istotność tego związku dla 11 polimorfizmów w 7 genach (*ADRB3*, *CART*, *FABP3*, *FASN*, *IL6*, *LEPR*, *MC4R*). Białka kodowane przez te geny są związane z homeostazą energetyczną organizmu, gospodarką lipidową, procesami biochemicznymi kwasów tłuszczowych, regulacją apetytu, termogenezą. Jednak wyniki te nie są jednoznaczne,

bowiem badane asocjacje były istotne tylko dla 4 polimorfizmów (w 3 genach) w zestawie 1 (641 loszek, 8 cech otluszczenia) i 2 polimorfizmów w zestawie 2 (341 loszek, 9 cech otluszczenia). Ponadto wyniki te nie uzyskały potwierdzenia w teście dla porównań wielokrotnych (FDR).

W rozdziale Wyniki i dyskusja mgr inż. Sadkowski poświęcił sporo miejsca zagadnieniu otyłości u ludzi i wpływowi poszczególnych genów na jej występowanie, cytując wiele publikacji z tego zakresu. Uważam, że część tych informacji powinna znaleźć się we Wstępie.

Podsumowując uzyskane wyniki, w rozdziale **Podsumowanie i wnioski** Doktorant skupił się głównie na metodyce tworzenia zestawów profili otluszczenia. Uważam, że tę część rozdziału można było pominąć. Ze sformułowanych 8 wniosków, za najważniejsze uważam 4 i 5, które nawiązują do celów badań, dotyczą zdefiniowanej przez Doktoranta cechy „profil otluszczenia”, jej odziedziczalności i asocjacji z wybranymi genami.

Oszacowany współczynnik odziedziczalności nowej cechy wskazuje na możliwość włączenia jej do kryteriów selekcyjnych i skutecznego jej doskonalenia. Wykazane asocjacje między 11 polimorfizmami a profilem otluszczenia, jakkolwiek nie zostały potwierdzone po zastosowaniu metody dla porównań wielokrotnych, ukazują tendencje obserwowane w badaniach genetycznego tła otyłości u ludzi i potwierdzają celowość dalszych badań.

Wnioski 7 i 8 są próbą wskazania przyczyny uzyskania niejednoznacznych wyników przeprowadzonych analiz, w moim odczuciu są one zbędne. Zwracam także uwagę na błąd w oddzieleniu wniosków 5 i 6 – początek pierwszego zdania wniosku 6 zaczyna się we wniosku 5.

## PODSUMOWANIE

Rozprawę doktorską mgr inż. Sławomira Sadkowskiego oceniam pozytywnie zarówno pod względem koncepcyjnym jak i zastosowanych metod badawczych. Zamieszczone przeze mnie uwagi i zastrzeżenia nie mają charakteru jednoznacznie krytycznego, nie obniżają wartości rozprawy ale mogą być pomocne w przygotowaniu publikacji. Tematyka przeprowadzonych badań jest nie tylko ważna dla doskonalenia świń i ekonomiki produkcji żywca wieprzowego, mieści się także w nurcie badań - świnia jako zwierzę modelowe dla otyłości u ludzi. Doktorant, wykorzystując rutynowo wykonywane w SKURTCCh pomiary cech otluszczenia świń, ujął je w nową cechę „profil otluszczenia”. Cecha ta ukazuje miejsca gromadzenia się tłuszczu u świni podczas tuczu i może odpowiadać cesze „rodzaj otyłości” u ludzi. Wyniki przeprowadzonych przez Doktoranta badań mogą wzbogacić wiedzę na temat genetycznych uwarunkowań otyłości u ludzi. Mgr inż. Sadkowski dobrał właściwe metody statystyczne, opracował kryteria kwalifikacji zwierząt do danego profilu otluszczenia, przeprowadził prawidłowo badania, wykazując dobrą wiedzę z zakresu genetycznych uwarunkowań cech użytkowych świń oraz metod statystycznych a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

## WNIOSEK KOŃCOWY

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską mgr inż. Sławomira Sadkowskiego stwierdzam, że spełnia ona wymagania określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. Nr 65, poz. 595) z późniejszymi zmianami. Wnoszę zatem do Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i rybactwo Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Sławomira Sadkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Suzanna Szczerba*