

**Prof. dr hab. Brygida Ślaska**  
Zakład Genetyki Ogólnej i Molekularnej  
Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin, dn. 05.12.2023 r.

## **Recenzja**

**rozprawy doktorskiej mgra inż. Mateusza Sypniewskiego**

**pt.: *Podstawy całogenomowej oceny ryzyka otyłości psa domowego (Canis lupus familiaris)***

**wykonanej pod kierunkiem naukowym promotora prof. dra hab. Macieja**

**Szydłowskiego w Katedrze Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt Uniwersytetu**

**Przyrodniczego w Poznaniu**

### **Podstawa prawna i ocena formalna**

Ocenę rozprawy wykonano na prośbę Prof. dr hab. Małgorzaty Szumacher czł. koresp. PAN, Dziekan Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, zgodnie z wymogami określonymi w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 ze zm.), na podstawie rozprawy doktorskiej, oświadczeń współautora raportów oraz informacji z podstawowymi danymi o Kandydacie.

### **Podstawowe dane o Kandydacie**

Mgr inż. Mateusz Sypniewski tytuł zawodowy magistra inżyniera uzyskał 14 czerwca 2018 r. na Wydziale Rolnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Kandydat nie ubiegał się uprzednio o nadanie stopnia doktora.

Praca naukowo-zawodowa Kandydata rozpoczęła się od praktyki dydaktycznej w Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu w listopadzie 2018 r. i trwała aż do maja 2023 r. Obejmowała ona prowadzenie zajęć dla studentów z analizy statystycznej, bioinformatyki oraz podstaw programowania w języku R. Równocześnie mgr inż. Mateusz Sypniewski pracował na stanowisku *bioinformatyka* w MNM Diagnostics (maj 2021 - czerwiec 2022), w Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie (lipiec 2022 - marzec 2023). Od października 2022 r. do chwili obecnej pracuje na stanowisku *inżyniera bioinformatyka* jako kontraktor w firmie Seargin dla Roche. Godnym podkreślenia jest jego udział, jako bioinformatyka, w projekcie badawczym OPUS 2016/23/B/NZ2/01762 (lipiec 2020 - sierpień 2021). Powyższe informacje świadczą o uznaniu wiedzy i umiejętności Kandydata nie tylko w macierzystym Uniwersytecie, ale również w zewnętrznych jednostkach.



## Problem naukowy i znaczenie badań

Rozprawa doktorska mgr inż. Mateusza Sypniewskiego dotyczy ważnego zagadnienia we współczesnej nauce, jakim jest określenie czynników genetycznych kształtujących ryzyko otyłości psów rasy labrador retriever. Jednocześnie wyniki analiz przyczyn otyłości psów mogą mieć realny wymiar dla zgłębienia etiopatogenezy choroby cywilizacyjnej XXI wieku – otyłości człowieka.

Otyłość psów stanowi duży problem, a częstość jej występowania w ostatnich dziesięcioleciach wzrasta i może wynosić nawet do 60% populacji. Otyłość psów jest zjawiskiem powszechnie występującym, a niepokojącym jest, że wraz z nią mogą pojawiać się poważne konsekwencje zdrowotne, jak choroby układu krążenia, insulinooporność, cukrzyca, czy zwyrodnienie stawów. Dlatego ważnym aspektem jest poznanie uwarunkowania genetycznego otyłości psów dla poprawy ich zdrowia i dobrostanu, ale też aspektów związanych ze zmniejszeniem kosztów opieki weterynaryjnej dla ich właścicieli.

Wiele lat badań etiopatogenezy otyłości człowieka i psa przyczyniło się do znaczących postępów poznania uwarunkowań schorzenia. Znamy ważne czynniki środowiskowe, jak np. nieodpowiednio zbilansowana dieta oraz zbyt niska aktywność fizyczna, które zwiększają ryzyko otyłości. Również liczne badania czynników genetycznych predyspozycji do otyłości psów doprowadziły do ważnych wniosków, jak np. stwierdzenie jej związku ze zmiennością rasową. Jednak inne czynniki genetyczne są trudne do identyfikacji, a badania uwarunkowania molekularnego otyłości u psów są nieliczne i niejednoznaczne, a identyfikacja mutacji predysponujących do otyłości – bardzo trudna. Wyniki badań innych, niż pies, gatunków ssaków wskazują, że odziedziczalność otyłości kształtuje się na średnim poziomie, dlatego podjęcie badań poszukiwania mutacji funkcjonalnych z nią związanych jest zasadne. Pomimo wielu lat badań, uwarunkowania genetyczne otyłości u psów na poziomie molekularnym są słabo poznane. Z uwagi na niewielką liczbę badań dotyczących predyspozycji otyłości u psów do chwili obecnej udało się wskazać jedynie kilka genów mogących mieć z nią związek, a jedną z niewielu mutacji jest relatywnie często występującej delecji w genie *POMC*, która znacznie zwiększa ryzyko otyłości. W dostępnym piśmiennictwie brak jest przykładów systematycznego podejścia do identyfikacji genów ryzyka otyłości u psów, w tym całogenomowych analiz asocjacyjnych. Dlatego uważam, że teza postawiona w pracy przez mgr inż. Mateusza Sypniewskiego zakładająca że obok genu *POMC*, w genomie psów rasy labrador retriever istnieją inne mutacje charakteryzujące się wysokim wpływem na ryzyko otyłości i jednocześnie wysoką częstością, jest w pełni uzasadniona, nowatorska i wartościowa.

## Charakterystyka rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska mgr inż. Mateusza Sypniewskiego została przygotowana jako polskojęzyczna praca pisemna opracowana na podstawie dwóch anglojęzycznych raportów naukowych, w tym jednego opublikowanego oryginalnego artykułu naukowego, oraz drugiego - złożonego do redakcji czasopisma naukowego. Raporty naukowe stanowią załączniki do przedłożonej rozprawy doktorskiej:

- **Raport naukowy 1.** Sypniewski, M.; Szydłowski, M. A Study of 41 canine orthologues of human genes involved in monogenic obesity reveals marker in the *ADCY3* for body weight in Labrador Retrievers. *Vet. Sci.* 2023, 10, 390. <https://doi.org/10.3390/vetsci10060390>  
2-letni IF`21 = 2.518 Punkty MEiN = 20

- **Raport naukowy 2.** Sypniewski M., Szydłowski M. Variants in *ADCY3* gene are associated with body condition score in Labrador Retrievers. Manuskrypt zgłoszony do publikacji.

Zgodnie z komunikatem Rady Doskonałości Naukowej nr 19/2020 - w sprawie składania rozpraw doktorskich z dnia 09.11.2020 r. „w świetle art. 187 ust. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce dopuszczalne jest, aby rozprawa doktorska, jako praca pisemna, składała się po części z prac opublikowanych, jak i takich, których wyniki jeszcze nie zostały opublikowane”. Wobec treści cytowanego komunikatu rozprawa doktorska mgra inż. Mateusza Sypniewskiego spełnia wskazane wymogi.

Oba raporty naukowe stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej powstały w ramach projektu badawczego (2016/23/B/NZ2/01762) finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, co wskazuje na wysoki poziom naukowy i nowatorski charakter badań przewidzianych do realizacji.

Jak wynika z oświadczeń współautora udział Doktoranta w Raportach był wiodący i obejmował: opracowanie koncepcji badań w zakresie wykorzystania dostępnych danych fenotypowych i molekularnych, wykorzystanie zestawu genów kandydujących, dobór i samodzielne wykonanie metod bioinformatycznych i statystycznych, przygotowanie manuskryptów i współredagowanie ostatecznej wersji publikacji. Udział mgra inż. Mateusza Sypniewskiego w każdym z raportów został określony na 90%.

Tytuł rozprawy doktorskiej stanowiącej podstawę ubiegania się w postępowaniu o nadanie stopnia doktora jest zgodny z badaniami w niej przedstawionymi. Jednak z uwagi na to, że oba raporty obejmowały psy rasy labrador retriever, wydaje się, że użycie w tytule nazwy gatunkowej jest zbyt dużym uogólnieniem.

Rozprawa ma układ typowy dla eksperymentalnych rozpraw doktorskich i składa się z pięciu głównych rozdziałów (wstęp, materiały i metody, wyniki, dyskusja oraz wnioski). W pracy zawarto również wykaz cytowanego piśmiennictwa źródłowego (102 pozycje), streszczenie w języku polskim i angielskim oraz wykaz skrótów. Praca jest dobrze zredagowana i klarowna. Dysertacja została napisana z zachowaniem właściwej sekwencji opisu, w której zawarte informacje przedstawione są w sposób uporządkowany.

Wprowadzeniem do rozprawy jest *Wstęp*, w którym Doktorant przedstawił problematykę ściśle związaną z hipotezą badawczą i założonym w pracy celem badań. Rozdział został prawidłowo podzielony na podrozdziały, w których mgr inż. Mateusz Sypniewski, z wykorzystaniem właściwie dobranych artykułów naukowych, w sposób pełny przedstawił aktualne zagadnienia związane z przeprowadzonymi badaniami. W syntetyczny i jasny sposób Doktorant opisał problem i miary otyłości u psów, czynniki ryzyka i podłoże genetyczne otyłości. Rzetelna znajomość tematyki z zakresu podjętych badań oraz właściwy dobór pozycji piśmiennictwa pozwolił Doktorantowi prawidłowo sformułować hipotezę badawczą i wytyczyć jasno sprecyzowany i właściwie sformułowany *cel badań*. Celem badań była identyfikacja w genomie labradorów mutacji kształtujących ryzyko otyłości, na podstawie danych fenotypowych oraz genomowych pochodzących od 50 psów rasy labrador, za pomocą narzędzi bioinformatycznych i statystycznych. Podkreślić należy wartość założeń pracy, ponieważ ich realizacja stała się gwarantem uzyskania pionierskich wyników i dodatkowo wymagała od mgra inż. Mateusza Sypniewskiego znajomości metod i technik z zakresu biologii molekularnej, bioinformatyki i statystyki.

W tym rozdziale Doktorant wykazał się bardzo dobrą orientacją w problematyce tematyki podjętych badań, co świadczy o zainteresowaniu rozpatrywanymi zagadnieniami oraz solidnym teoretycznym przygotowaniu mgr inż. Mateusza Sypniewskiego do prowadzenia analiz.

W rozdziale pt. *Materiały i metody* Doktorant przedstawił materiał i sposób przeprowadzenia badań, na podstawie których przygotował rozprawę. Informacje zawarte w tym rozdziale są prawidłowe pod względem układu doświadczenia, materiału i metod. Metody badawcze są właściwie dobrane i zastosowane. Badaniami objęto pięćdziesiąt psów rasy labrador retriever (32 samice i 18 samców) z populacji polskiej. Stwierdzono, że psy tej rasy mają predyspozycje do otyłości, więc rasa została prawidłowo wybrana do badań. Należy zaznaczyć, że materiał do analiz jest wyjątkowo wartościowy. Zgromadzenie materiału i danych od 50 osobników jednej rasy psów wymaga dużego zaangażowania. Dodać należy, że materiał jest wystarczająco liczny do przeprowadzenia kompleksowych analiz gwarantujących wiarygodność otrzymanych wyników.

Prawidłowym podejściem było przeanalizowanie ortologów psa dla 41 genów człowieka. W badaniu masy ciała zasadnie przeanalizowano 11520 wariantów przy właściwym użyciu liniowego modelu mieszanego (uwzględniającego płeć, wiek i sterylizację jako efekty stałe oraz strukturą populacji jako efekt losowy). W badaniu skali BCS celem było przeanalizowanie 1135 wariantów przy użyciu regresji logistycznej (z płcią, wiekiem, sterylizacją i 14 pz delecją *POMC* jako efektami stałymi).

Materiał i metody opisane zostały w sposób precyzyjny i możliwy do odtworzenia. Dobór materiału, zakres analizowanych parametrów oraz metody badawcze są właściwe w kontekście przyjętego celu badawczego. Należy podkreślić, że wykorzystane w pracy metody mają charakter interdyscyplinarny. Doktorant w sposób przemyślany i konsekwentny wykorzystał metody i techniki z zakresu genomiki, bioinformatyki i statystyki. Na uwagę zasługuje wykorzystanie przez Doktoranta metody permGWAS, zaproponowanej przez Johna i in. w 2022 r. do badań asocjacyjnych masy ciała. Świadczy to o znajomości najnowszego piśmiennictwa i umiejętności wykorzystania nowych metod w analizie własnych wyników. Na podkreślenie zasługuje również fakt rzetelnego opisu metod i technik wykorzystanych w pracy, co świadczy o ugruntowanej i dogłębnej wiedzy mgr inż. Mateusza Sypniewskiego z zakresu podjętej problematyki.

Do rozdziału *Materiały i metody* mam kilka pytań:

- Na str. 19 Doktorant podał: „Otyłość mierzono za pomocą pięciopunktowej skali BCS”. Czy nie byłoby zasadne przeprowadzenie tożsamyh badań dodatkowo dla 9-punktowej skali oceny? Podejście takie byłoby uzasadnione z uwagi na cytowaną w pracy pozycję piśmiennictwa – Raffan i in. (2016) i dodatkowo fakt, że w grupie psów objętych badaniami nie było żadnego, który otrzymał wg tej skali 1 lub 2 punkty. Proszę o opinię.
- Na str. 19 w rozdziale *Materiały i metody* podane jest: „W opisywanych badaniach zostały przeanalizowane ortologi psa dla 41 genów człowieka (łącznie 14510 markerów)”. Natomiast na str. 22 w rozdziale *Wyniki* – „W sumie przeanalizowałem 41 genów z 11,520 markerami”. Skąd wynika różnica w liczbie badanych markerów? Czy tylko z dodatkowej kontroli jakości z wykorzystaniem oprogramowania PLINK?
- W rozdziale *Materiały i Metody* Doktorant podał informację, że „w opisywanych badaniach zostały przeanalizowane ortologi psa dla 41 genów człowieka”, a w tab. 2 na str. 48-49 wymienione są 42 geny, co jest uzasadnione treścią Raportu 1., w którym podano informację o dodatkowym uwzględnieniu genu *RYS3*, który może być istotny dla BCS u labradora. Jednak

brak jest takiej informacji w rozprawie doktorskiej, w której konsekwentnie używana jest liczba 41 objętych badaniami ortologów.

W rozdziale pt. **Wyniki** Doktorant przedstawił w uporządkowany sposób uzyskane rezultaty z kolejnych etapów badań. Wyniki prawidłowo zestawiono w dwóch tabelach i na czterech rysunkach. Rezultaty rozprawy, o istotnym znaczeniu poznawczym, odpowiedziały na postawiony cel pracy.

Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Doktorant, zgodnie z założeniami, przeanalizował związek między otyłością definiowaną w skali BCS (*Body Condition Score*) oraz masą ciała 50 psów rasy labrador retriever, a markerami w genach związanych z otyłością monogeniczną u ludzi.

Ważnymi i nowatorskimi wynikami w badaniu masy ciała, po przeanalizowaniu 11520 wariantów ortologów psa dla 41 genów związanych z otyłością monogeniczną człowieka, była identyfikacja jednego markera w genie *ADCY3*. Wykrytym markerem jest delecja TA>T (zlokalizowana w 17: 19 222 459 w 1/20 intronie *ADCY3*). Wielkość efektu 17:19222459 TA>T wynosi 5,56 kg (SE 0,018), co oznacza, że nosiciele delecji są średnio o 5,56 kg ciężsi na jedną kopię allelu.

Na uwagę zasługują również pionierskie wyniki w badaniu skali BCS, otrzymane po przeanalizowaniu 1135 wariantów, identyfikacji dwóch wariantów, obu w genie *ADCY3*, które wykazały istotność statystyczną. Jednym z nich jest nowa mutacja C>T w pozycji 17:19167157 w intronie 8/20 (p-wartość = 0,012); drugą jest mutacja G>A w pozycji 17:19180869 (rs22557040) w intronie 2/20 (p-wartość = 0,012). Wyniki te mogą w przyszłości mieć aspekt aplikacyjny, z uwagi na to, że wystąpienie odpowiedniego wariantu jednego z dwóch nowo zidentyfikowanych markerów powoduje znacznie mniejsze szanse rozwoju otyłości psa, w porównaniu z brakiem wystąpienia u psa ww. wariantów.

Mając na uwadze powyższe, istotnym i nowatorskim wynikiem było wskazanie genu *ADCY3* jako ważnego dla otyłości psów rasy labrador retriever i czyni ten polimorfizm obiecującym celem dalszych badań.

Treść rozdziału skłania do stwierdzenia, że opis wyników świadczy o należyтым przygotowaniu mgra inż. Mateusza Sypniewskiego do problemu badawczego podjętego w rozprawie doktorskiej oraz do umiejętności kompleksowego podejścia do otrzymanych rezultatów, prawidłowej ich interpretacji i skrupulatnego opisu.

Na podstawie treści rozdziału pt. **Dyskusja** można stwierdzić, że interpretacja wyników na tle piśmiennictwa świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktoranta do problemu badawczego podjętego w pracy doktorskiej. Doktorant zacytował w nim artykuły, z których niemal wszystkie to pozycje obcojęzyczne publikowane w uznanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Ich zakres tematyczny wpisuje się w tematykę pracy i świadczy o dużym znaczeniu problemu naukowego podjętego w rozprawie. W tym rozdziale Doktorant używa wyrażania „waga ciała”, a powinien używać – „masa ciała”.

Na uwagę rozdziale *Dyskusja* zasługuje fakt, że Doktorant swobodnie prowadzi dyskusję, wyjaśnia, dementuje, stawia pytania i przedstawia rozwiązania, co świadczy o jego dużej wiedzy ogólnej i umiejętności jej wykorzystania w dyskusji. Oceniając treść merytoryczną rozdziału stwierdzam, że mgr inż. Mateusz Sypniewski wykazał się bardzo dobrą orientacją w piśmiennictwie naukowym dotyczącym problematyki badań oraz umiejętnością jego wykorzystania przy dyskusji

własnych rezultatów. Zaznaczyć należy, że przeprowadzenie rozważnej i merytorycznej dyskusji świadczy o dużej wiedzy i dojrzałości naukowej Doktoranta.

Rozprawę kończy rozdział pt. *Wnioski*, który w mojej opinii powinien być zatytułowany *Podsumowanie*. Jest on merytorycznie spójny z tytułem rozprawy, uzasadniający otrzymane wyniki i odpowiadający na postawiony cel pracy. Informacje zawarte w tym rozdziale są poprawne, tak w kontekście wyników, jak i w świetle dyskusji. Są one prawidłowo sformułowane i świadczą o dużej zdolności Doktoranta do syntetycznej analizy wyników uzyskanych w pracy.

Moja ogólna ocena wartości pracy jest wysoka. Uzasadniając wartość naukową pracy podkreślić należy oryginalność badań, ich duży zakres i fakt, że praca wnosi nowe wartości poznawcze, które poszerzyły wiedzę z zakresu dyscypliny *Zootechnika i rybactwo*. Mgr inż. Mateusz Sypniewski wykazał się bardzo dobrą znajomością przeprowadzenia pracochłonnego eksperymentu badawczego oraz umiejętnością analizy uzyskanych wyników i formułowania konkluzji. Rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktoranta w dyscyplinie *Zootechnika i rybactwo* oraz potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia przez niego pracy naukowej.

### **Wniosek końcowy**

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska mgra inż. Mateusza Sypniewskiego pt.: *Podstawy całogenomowej oceny ryzyka otyłości psa domowego (Canis lupus familiaris)* spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 ze zm.), natomiast Doktorant wykazał wszelkie umiejętności niezbędne dla otrzymania stopnia doktora nauk, a niniejsza rozprawa może stanowić podstawę do nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie *Zootechnika i rybactwo*. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu **wniosek o dopuszczenie mgra inż. Mateusza Sypniewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

