

Diagnostyka molekularna chorób dziedzicznych psa we współczesnej weterynarii

Marek Świtoński, Weronika Loba

z Katedry Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Molecular diagnostics of canine hereditary diseases in modern veterinary medicine

Świtoński M., Loba W., Department of Genetics and Animal Breeding, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Poznań University of Life Sciences

This article aims at the presentation of modern veterinary medicine approach to the canine genetic diseases. An extensive progress of the knowledge on canine genome organization and polymorphism, has facilitated molecular identification of numerous mutations responsible for hereditary diseases or disorders. According to the Online Mendelian Inheritance in Animals (OMIA) database (<https://omia.org/home/>), the number of known causative mutations in dogs (297), is the highest among livestock and companion animal species. Molecular testing focused on detection of the causative gene mutations is crucial for a precise veterinary diagnosis of the affected dogs. Moreover, identification of healthy carriers brings the breeders an opportunity for responsible mating animals and decrease incidence of the undesired traits.

Keywords: dogs, hereditary diseases, genes, mutations.

Ogromne zróżnicowanie fenotypowe ras psów jest efektem pracy hodowlanej prowadzonej w minionych 200–300 latach. Wiele ras wyprowadzono z niewielkiej grupy założycieli w celu utrwalenia na drodze selekcji szeregu cech, które niejednokrotnie były w istocie wadami rozwojowymi (np. brachycefalia lub achondroplazja), na co wskazuje porównanie z fenotypem wilka. Z drugiej strony, praca hodowlana sprawiła, że w pulach genowych wielu ras utrwalone zostały niepożądane mutacje odpowiadające za wady i choroby dziedziczne, które są poważnym problemem weterynaryjnym i hodowlanym (1).

Dynamiczny rozwój wiedzy z zakresu genomiki i genetyki zwierząt gospodarskich i towarzyszących umożliwił identyfikację podłoża molekularnego wielu chorób i wad dziedzicznych, które mogą być wywołane przez mutację jednego genu (podłoże monogenowe) lub zależą od wariantów wielu genów (podłoże poligenowe) oraz wpływu czynników pozagenetycznych. Większość chorób monogenowych jest spowodowana przez recesywne mutacje autosomalne, które ujawniają się tylko u osobników posiadających dwa nieprawidłowe warianty (allele) genu – układ homozygotyczny, a osobniki z jednym nieprawidłowym wariantem – układ heterozygotyczny, są zdrowymi nosicielami. Znacznie mniej chorób monogenowych zależy od mutacji genów położonych w chromosomie X, które określone są jako sprzężone z płcią.

Diagnostyka molekularna chorób monogenowych ma podwójne znaczenie. Po pierwsze, pozwala na jednoznaczne sformułowanie diagnozy, czyli powiązanie obrazu klinicznego z przyczyną choroby. Natomiast z punktu widzenia hodowlanego szczególnie znaczenie ma identyfikacja układu heterozygotycznego u zdrowych osobników, które poprzez udział w reprodukcji rozprzestrzeniają niepożądany allel w populacji (rasie). Wiedza ta pozwala na przyjęcie strategii hodowlanej ukierunkowanej na ograniczenie częstości takiej mutacji w ramach danej rasy. Rozprzestrzenianie się mutacji wywołujących choroby monogenowe jest efektem wykorzystywania w reprodukcji zdrowych nosicieli mutacji. Przy braku działań zapobiegających wykorzystaniu nosicieli w reprodukcji można oszacować częstość takich zwierząt, które fenotypowo nie różnią się od zwierząt wolnych od mutacji (układ homozygotyczny, dominujący), w oparciu o prawo równowagi genetycznej Hardy-Weinberga, jeśli znana jest częstość zwierząt obciążonych chorobą/wadą monogenową (układ homozygotyczny, recesywny). Przykładowo, jeśli częstość chorych zwierząt wynosi 1:1000 (0,1%), to częstość zdrowych nosicieli (układ heterozygotyczny) wynosi w tej rasie/populacji ok. 6% (6 zwierząt na 100). Sytuacja ta może ulec istotnemu pogorszeniu, jeśli ceniony reproduktor jest nosicielem takiej mutacji, bowiem połowa jego potomstwa odziedziczy niepożądany wariant genu.

W przypadku chorób i wad wrodzonych o poligenowym (złożonym) podłożu, takich jak np. cukrzyca typu 2, otyłość, dysplazja stawu biodrowego czy wnetrostwo, sytuacja jest bardziej skomplikowana. Choroby te w różnym stopniu są zależne również od czynników pozagenetycznych (np. żywienie, przebyte choroby, aktywność ruchowa, przebieg ciąży itp.), a ich znaczenie wyraża współczynnik odziedziczalności (h^2), którego wartość mieści się w zakresie od 0 do 1. Współczynnik ten jest szacowany dla populacji i wskazuje, w jakim stopniu zmienność obrazu klinicznego danej choroby/wady (zmienność fenotypowa) zależy od zróżnicowania genetycznego (zmienności genetycznej) osobników danej populacji. Przykładowo, odziedziczalność otyłości ludzi wyrażana wskaźnikiem BMI (body mass index) jest szacowana na poziomie co najmniej 0,5. Oznacza to, że zróżnicowanie wskaźnika BMI jest w ponad 50% związana z różnicami genetycznymi (genotypami) pomiędzy ludźmi. Badania podłoża molekularnego chorób poligenowych sprowadzają się do poszukiwania wariantów różnych genów, które zwiększają ryzyko rozwoju danej choroby.

Genom psa i jego polimorfizm

Diploidalna liczba chromosomów psa ($2n = 78$) jest duża w porównaniu z innymi ssakami domowymi – np. 38 (kot i świnia), 60 (bydło) i 64 (koń). Z kolei wielkość genomu psa, wyrażona liczbą par zasad w cząsteczkach DNA haploidalnego zestawu chromosomów (n), jest nieco mniejsza niż w wymienionych powyżej gatunkach i wynosi ok. 2,5 mld par zasad (2,5 Gpz). Sekwencję genomową psa opisano po raz pierwszy już kilkanaście lat temu, a dwie kluczowe publikacje ukazały się w latach 2003 i 2005. Najnowsze opracowanie omawiające organizację i polimorfizm genomu tego gatunku ukazało się w lutym 2021 r. (2). Badania te, podobnie jak w przypadku innych gatunków, wykazują ogromną zmienność związaną z obecnością wariantów sekwencji DNA, wśród których na specjalną uwagę zasługują równomiernie rozproszone podstawienia jednonukleotydowe (SNP – single nucleotide polymorphism). Analiza 722 sekwencji genomowych gatunków z rodziny psowatych (668 psów i 54 osobniki reprezentujące 6 gatunków z rodziny psowatych) ujawniła ponad 91 mln wariantów DNA, w tym najwięcej typu SNP, a badania sekwencji genomowej zaledwie 27 psów z 19 ras wskazały na obecność ponad 22 mln wariantów DNA, wśród których ponownie przeważały warianty SNP (2).

Warianty SNP są niezwykle cennymi markerami genetycznymi wykorzystywanymi w analizie genetycznej przy pomocy tzw. mikromacierzy SNP, które umożliwiają ustalenie genotypu jednego osobnika w ponad 170 tysiącach miejsc SNP, o znanej lokalizacji genomowej. Zastosowanie tego nowoczesnego narzędzia badawczego do tzw. skanowania genomu – GWAS (genome wide association study) pozwoliło na identyfikację wielu regionów chromosomowych, w których zidentyfikowano mutacje wywołujące choroby monogenowe. W przypadku chorób poligenowych dotychczasowe osiągnięcia w zakresie identyfikacji silnych markerów DNA związanych z ryzykiem rozwoju takich chorób są bardzo skromne.

Baza OMIA – ważne źródło wiedzy o chorobach dziedzicznych zwierząt

25 lat temu została utworzona ogólnodostępna baza danych o chorobach dziedzicznych zwierząt domowych, w tym psa. Bazę tę (OMIA – Online Mendelian Inheritance in Animals, <https://www.omia.org/home/>) założył profesor Frank Nicholas z Uniwersytetu w Sydney (Australia) i jest ona w sposób ciągły aktualizowana. W bazie tej, poza informacjami o chorobach dziedzicznych, są również zawarte informacje o znanych wariantach genowych odpowiedzialnych za różne cechy monogenowe, takie jak umaszczenie czy kształt włosów. Podkreślić należy, że większość chorób psa (ponad 470) ma odpowiedniki w chorobach ludzi i dlatego pies jest uznawany za cenny gatunek modelowy w badaniach przedklinicznych, np. terapii genowej chorób monogenowych człowieka (3).

Aktualny stan wiedzy (luty 2021) zaprezentowany w bazie OMIA obejmuje 784 choroby i cechy monogenowe psa, w tym dla 297 znane jest podłoże

molekularne. Mutacje odpowiedzialne za choroby monogenowe opisano w 262 genach, a najczęściej zmutowanych genów zidentyfikowano w rasie labrador retriever (tab. 1 i 2).

Warto zauważyć, że liczba znanych chorób monogenowych z opisaniem podłoża molekularnym w poszczególnych rasach może być jeszcze większa niż wskazuje na to baza OMIA. Przykładowo, najbardziej rozpowszechnioną chorobą monogenową

Tabela 1. Rasy, w których wykryto mutacje wywołujące choroby monogenowe w co najmniej 10 genach (wg bazy OMIA, luty 2021)

Rasa	Liczba genów
Labrador retriever	26
Owczarek niemiecki	14
Golden retriever	13
Beagle	12

Tabela 2. Choroby monogenowe labradorów i geny, w których występują sprawcze mutacje (wg bazy OMIA, luty 2021)

Choroba*	Symbol genu
Miopatia wrodzona (miopatia centralno-jądrowa)	<i>HACD1</i>
Cystynuria	<i>SLC3A1</i>
Hemofilia B	<i>F9</i>
Narkolepsja	<i>HCRTR2</i>
Miopatia miotubularna typu 1	<i>MTM1</i>
Dysplazja oczno-szkieletowa typu 1	<i>COL9A3</i>
Dystrofia mięśniowa	<i>DMD</i>
Niedobór kinazy pirogronianowej	<i>PKLR</i>
Dysplazja szkieletowa typu 2	<i>COL11A2</i>
Parakeratoza płytki nosowej	<i>SUV39H2</i>
Wrodzony zespół miasteniczny	<i>LOC608697</i>
Achromatopsja typu 2	<i>CNGA3</i>
Choroba Aleksandra	<i>GFAP</i>
Dystrofia plamkowa rogówki	<i>LOC489707</i>
Choroba Menkesa	<i>ATP7A</i>
Choroba Wilsona	<i>ATP7B</i>
Wrodzone zaburzenie rogowacenia	<i>NSDHL</i>
Miotonia wrodzona	<i>CLCN1</i>
Choroba Stargarda	<i>ABCA4</i>
Zespół Ehlersa-Danlosa typu 1	<i>COL5A1</i>
Dystrofia mięśniowa związana z mutacją kolagenu typu VI	<i>COL6A3</i>
Dystrofia mięśniowa sprzężona z płcią	<i>DMD</i>
Porażenie krtni i polineuropatia	<i>CNTNAP1</i>
Postępujące zwyrodnienie czopków i pręcików	<i>PRCD</i>
Zapaść wysiłkowa	<i>DNM1</i>
Hipertermia złośliwa	<i>RYR1</i>

* Wykaz nie obejmuje wszystkich znanych chorób monogenowych labradorów (np. mielopatii degeneracyjnej występującej w ponad 130 rasach i spowodowanej przez tę samą mutację genu *SOD1*).

jest mielopatia degeneracyjna spowodowana mutacją genu *SOD1*, którą opisano w co najmniej 134 rasach (4). Tymczasem w bazie OMIA opis tej choroby (OMIA 000263–9615) nie zawiera wzmianki o jej występowaniu u labradorów i wielu innych ras. Sytuacja ta jest spowodowana tym, że do bazy OMIA nie są wprowadzane dane pochodzące ze wszystkich dostępnych publikacji naukowych. Zatem bazę OMIA należy uznać za bardzo wartościowe źródło wiedzy o podłożu molekularnym chorób monogenowych psa i innych gatunków zwierząt, natomiast nie ma tam informacji o częstości występowania sprawczych mutacji w poszczególnych rasach.

Choroby monogenowe

Większość chorób monogenowych psa zalicza się do kategorii chorób rzadkich, choć przez długi czas brakowało badań przesiewowych, które pozwoliłyby określić dokładniej skalę problemu. W tym kontekście za przełomową należy uznać publikację, w której opisano częstość występowania mutacji wywołujących 152 choroby monogenowe wśród ponad 100 tys. psów, w tym 18 tys. psów rasowych (330 ras) i 83 tys. mieszanów (5). W badaniach wykorzystano zaawansowaną technikę badawczą opartą o tzw. chip SNP, która pozwala na ustalenie genotypu w odniesieniu do znanych mutacji odpowiedzialnych za analizowane choroby. Autorzy analizowali liczbę zmutowanych wariantów niezależnie od tego, czy wystąpiły one w układzie homo- czy heterozygotycznym. Ogółem wykryto 127 wariantów sprawczych (84%, 127/152). Wśród nich 95 (63%, 95/152) wystąpiło od 1 do 100 razy, przy czym 30 najczęstszych wariantów stanowiło aż 96% wszystkich wariantów stwierdzonych w badanej grupie. Największą częstość wśród mieszanów oraz w grupie obejmującej psy rasowe odnotowano dla mutacji wywołujących następujące choroby: (a) mielopatia degeneracyjna – 7,8% i 5,4%, (b) dystrofia pręcikowo-czopkowa – 3,7% i 1,5%; (c) postępująca degeneracja pręcikowo-czopkowa – 3,4% i 1,7%; (d) hiperurykozuria wśród mieszanów – 2,2% i choroba von Willebranda typu 1 wśród psów rasowych – 1,5% oraz (e) anomalia oczu collie wśród mieszanów – 1,6% i hiperurykozuria wśród psów rasowych – 1,3%. Powyższe przytoczone frekwencje dotyczą występowania wariantów u zdrowych nosicieli (heterozygoty) i ewentualnie chorych zwierząt (homozygoty recesywne). Niestety w pracy tej nie określono częstości występowania sprawczych mutacji w różnych rasach i dlatego nie można na podstawie tych wyników wnioskować o rozprzestrzenieniu tych niepożądanych wariantów genowych w poszczególnych rasach.

Zróżnicowanie rasowe pod względem częstości występowania wariantów odpowiedzialnych za choroby dziedziczne jest bardzo duże. Szereg chorób monogenowych jest wywołanych pojedynczą mutacją, którą zidentyfikowano tylko w jednej rasie. Przykładowo, recesywna, autosomalna mutacja genu *AMHR2*, odpowiedzialna za zespół przetrwałych przewodów Müllera (PMDS) i obserwowana tylko u chromosomowych samców (XY), została wykryta tylko w rasie

miniaturowych sznauceerów (6). Wykonane w Belgii badania 216 miniaturowych sznauceerów (83 samce i 133 samic) ujawniły szerokie rozprzestrzenienie sprawczej mutacji, bowiem aż 27% zbadanych zwierząt okazało się zdrowymi nosicielami (heterozygoty) tej mutacji, a 4 zwierzęta (1,9%) – 2 zdrowe samice i 2 chore samce, były homozygotami recesywnymi (7). Na marginesie, wadę PMDS spowodowaną tą mutacją zidentyfikowano również u sznauceerów hodowanych w Polsce (8).

Z drugiej strony są i takie mutacje, których obecność opisano w wielu rasach. Przykładem takiej choroby jest mielopatia degeneracyjna wywołana przez mutację genu *SOD1* stwierdzoną w ponad 130 rasach. W przypadku tej mutacji należy podkreślić, że charakteryzuje się ona niepełną penetracją, co oznacza, że nie każdy osobnik będący homozygotą recesywną będzie dotknięty tą chorobą. Mutacja sprawcza polega na zmianie jednego nukleotydu. Wariant prawidłowy (c.118G – obecność nukleotydu z guaniną w pozycji 118 sekwencji kodującej) związany jest z wystąpieniem lizyny na pozycji 40 aminokwasu w kodowanym białku. Natomiast wariant nieprawidłowy (c.118A, nukleotyd z adeniną) odpowiada za włączenie w kodowanym białku aminokwasu lizyna. Szerokie badania dotyczące częstości występowania sprawczej mutacji (c.118A), obejmujące ponad 33 tys. psów reprezentujących 222 rasy, ujawniły ogromną zmienność częstości tej mutacji (4). Mutację wykryto w 134 rasach, a jej częstość oszacowana dla ras, dla których analizą objęto co najmniej 50 psów, zawierała się w przedziale od 0,01 (rat terier) do 0,72 (bokser), 0,79 (pembroke welsh corgi) i aż 0,94 (foksterier szorstkowłosy). Wysokie częstości mutacji nie oznaczają bardzo częstego występowania tej choroby, bowiem jak wcześniej wspomniano, sprawcza mutacja nie wykazuje pełnej penetracji.

Na uwagę zasługują choroby monogenowe, które są wywołane różnymi mutacjami tego samego genu, a poszczególne mutacje są utrwalone w pulach genowych różnych ras. Przykładem takiej choroby jest dystrofia mięśniowa, która jest spowodowana recesywnymi mutacjami sprzężonego z płcią genu kodującego dystrofina. Podłoże molekularne tej choroby opisano dotąd w 16 rasach, m.in. golden retriever, labrador retriever, cocker spaniel, border collie, jack russell terrier (baza OMIA 001081–9615). Wśród 16 sprawczych mutacji przeważają delecje – 8, ale są również mutacje typu insercji – 2, inwersji – 2, zaburzenia procesu wycinania intronów – 2 czy podstawienia pojedynczych nukleotydów wywołujących pojawienie się przedwczesnego kodonu stop – mutacje nonsensowne – 2.

Choroby poligenowe

Postęp wiedzy o uwarunkowaniu molekularnym chorób poligenowych jest znacznie mniejszy niż w przypadku chorób monogenowych. W przypadku tych chorób i wad poszukiwane są warianty genowe, które w znaczący sposób związane są z ryzykiem ich pojawienia się. Do tej pory dość dużo badań skoncentrowanych było na otyłości i dysplazji stawu biodrowego.

Najbardziej spektakularnym osiągnięciem w odniesieniu do chorób poligenowych psa było zidentyfikowanie 14-nukleotydowej delecji w genie *POMC* labradorów, która istotnie wpływa na rozwój otyłości, mierzony masą ciała oraz wskaźnikiem BCS – body condition score (9). Mutacja w układzie homozygotycznym wiąże się ze wzrostem masy ciała o ok. 4 kg i podwyższeniem wskaźnika BCS o jedną jednostkę, w skali 7-stopniowej. Występowanie tej mutacji potwierdzono również w polskiej populacji labradorów (10). Podkreślić należy, że mutacje te stwierdzono tylko u labradorów i w pokrewnej rasie – retriever gładkowłosa (flat coated retriever).

Ważną wadą o poligenowym podłożu, występującą głównie w dużych rasach, jest dysplazja stawu biodrowego. Najnowsze wyniki badań wskazują, że niektóre polimorfizmy DNA są związane z predyspozycją do rozwoju tej wady (11). Autorzy ocenili znaczenie 52 wariantów DNA typu SNP, wskazanych we wcześniejszych publikacjach jako markery predyspozycji do dysplazji biodrowej. Ogółem badaniami objęto 1600 psów z 10 ras. Efektem tych szerokich analiz było wskazanie, że 20 wariantów jest związanych z tą wadą w różnych rasach, a cztery spośród nich wykazały taki związek we wszystkich badanych rasach.

Kolejną, poligenową wadą rozwojową jest wnetrostwo. Niestety dotąd nie udało się wskazać markerów genetycznych, których wykorzystanie do oceny ryzyka wystąpienia tej wady byłoby uzasadnione.

Podsumowanie

Szeroka wiedza o podłożu molekularnym chorób monogenowych umożliwiła opracowanie testów diagnostycznych, których wykonanie można zlecić wyspecjalizowanym laboratoriom. Korzystanie z tej możliwości coraz częściej staje się rutynowym działaniem wykorzystywanym w praktyce weterynaryjnej i hodowlanej (12). Można zatem stwierdzić, że diagnostyka molekularna, obok diagnostyki cytogenetycznej (13), stała się istotnym narzędziem diagnostyki genetycznej stosowanym we współczesnej weterynarii.

Piśmiennictwo

- Schollenberger A. (red.): *Wybrane wrodzone wady rozwojowe i choroby dziedziczne u psów i kotów*. Przewodnik PSLWMZ. Wydawnictwo Galaktyka sp. z o.o. 2017.
- Wang C., Wallerman O., Arendt M.L., Sundström E., Karlsson Å., Nordin J., Mäkeläinen S., Pielberg G.R., Hanson J., Ohlsson Å., Saelström S., Rönnberg H., Ljungvall I., Häggström J., Bergström T.F., Hedhammar Å., Meadows J.R.S., Lindblad-Toh K.: A novel canine reference genome resolves genomic architecture and uncovers transcript complexity. *Commun. Biol.* 2021, **4**(1), 185.
- Switonski M.: Impact of gene therapy for canine monogenic diseases on the progress of preclinical studies. *J. Appl. Genet.* 2020, **61**(2), 179–186.
- Zeng R., Coates J.R., Johnson G.C., Hansen L., Awano T., Kolichski A., Ivansson E., Perloski M., Lindblad-Toh K., O'Brien D.P., Guo J., Katz M.L., Johnson G.S.: Breed distribution of *SOD1* alleles previously associated with canine degenerative myelopathy. *J. Vet. Intern. Med.* 2014, **28**(2), 515–521.
- Donner J., Anderson H., Davison S., Hughes A.M., Bouirmane J., Lindqvist J., Lytle K.M., Ganesan B., Ottka C., Ruotanen P., Kaukonen M., Forman O.P., Fretwell N., Cole C.A., Lohi H.: Frequency and distribution of 152 genetic disease variants in over 100,000 mixed breed and purebred dogs. *PLoS Genet.* 2018, **14**(4), e1007361.
- Wu X., Wan S., Pujar S., Haskins M.E., Schlafer D.H., Lee M.M., Meyers-Wallen V.N.: A single base pair mutation encoding a premature stop codon in the MIS type II receptor is responsible for canine persistent Müllerian duct syndrome. *J. Androl.* 2009, **30**(1), 46–56.
- Smit M.M., Ekenstedt K.J., Minor K.M., Lim C.K., Leegwater P., Furrow E.: Prevalence of the *AMHR2* mutation in Miniature Schnauzers and genetic investigation of a Belgian Malinois with persistent Müllerian duct syndrome. *Reprod. Domest. Anim.* 2018, **53**(2), 371–376.
- Dzimira S., Wydooghe E., Van Soom A., Van Brantegem L., Nowacka-Woszek J., Szczerbal I., Switonski M.: Sertoli Cell Tumour and Uterine Leiomyoma in Miniature Schnauzer Dogs with Persistent Müllerian Duct Syndrome Caused by Mutation in the *AMHR2* Gene. *J. Comp. Pathol.* 2018, **161**, 20–24.
- Raffan E., Dennis R.J., O'Donovan C.J., Becker J.M., Scott R.A., Smith S.P., Withers D.J., Wood C.J., Conci E., Clements D.N., Summers K.M., German A.J., Mellersh C.S., Arendt M.L., Iyemere V.P., Withers E., Söder J., Wernersson S., Andersson G., Lindblad-Toh K., Yeo G.S., O'Rahilly S.: A Deletion in the Canine *POMC* Gene Is Associated with Weight and Appetite in Obesity-Prone Labrador Retriever Dogs. *Cell Metab.* 2016, **23**(5), 893–900.
- Mankowska M., Krzeminska P., Graczyk M., Switonski M.: Confirmation that a deletion in the *POMC* gene is associated with body weight of Labrador Retriever dogs. *Res. Vet. Sci.* 2017, **112**, 116–118.
- Mikkola L., Kyöstilä K., Donner J., Lappalainen A.K., Hytönen M.K., Lohi H., Iivanainen A.: An across-breed validation study of 46 genetic markers in canine hip dysplasia. *BMC Genomics* 2021, **22**(1):68.
- Rokhsar J.L., Canino J., Raj K., Yuhnke S., Slutsky J., Giger U.: Web resource on available DNA variant tests for hereditary diseases and genetic predispositions in dogs and cats: An Update. *Hum. Genet.* 2021(w druku). Doi: 10.1007/s00439-021-02256-5
- Szczerbal I., Switonski M.L. Clinical Cytogenetics of the Dog: A Review. *Animals (Basel)* 2021, **11**(4), 947.

Prof. dr hab. Marek Światoński, czł. koresp. PAN,
e-mail: marek.switonski@up.poznan.pl