



UNIwersYTET MEDYCZNY

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

**Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi
i Transplantacji Szpiku**
ul. Pasteura 4, 50-367 Wrocław
Tel.: 71.784.25.76

Wrocław, 10.09.2022r.

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Natalii Potockiej
p.t. „Ocena zależności wariantów polimorficznych wybranych genów warunkujących
sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie u studentów polskich uczelni”

Pomimo olbrzymiej liczby genów tworzących genom człowieka, występowanie unikalnych cech fizycznych spowodowane jest różnicami międzysobniczymi wynikającymi z polimorfizmu zaledwie niewielkiej ich liczby (poniżej 1%). W ostatnich latach badanie polimorfizmu genów, a więc jednoczesnego występowania w populacji genomów co najmniej 2 różnych alleli w danym locus z częstością większą niż 1% staje się przedmiotem coraz większej liczby badań. Występowanie określonych polimorfizmów w genach kodujących enzymy naprawy DNA jest z jednej strony związane z szybkością i wydajnością naprawy DNA i może prowadzić do otyłości lub zwiększać ryzyko rozwoju chorób, w tym nowotworów, z drugiej natomiast może służyć do określenia cech niezwiązanych z chorobami jak np. procesy starzenia czy sprawność fizyczna. Geny wpływające na sprawność fizyczną można podzielić na grupy, które są odpowiedzialne za sprawność energetyczną mięśni, wytrzymałość mięśni, sprawność sercowo-oddechową, podatność na kontuzje i warunki psychiczne. Taka kategoryzacja doprowadziła do zidentyfikowania co najmniej 155 markerów genetycznych powiązanych ze statusem sportowca, z czego 93 związane są z wytrzymałością, a 62 z siłą/mocą. Należy jednak pamiętać, że na sprawność fizyczną poza predyspozycjami genetycznymi wpływają także czynniki niedziedziczne, modelowane przez mechanizmy epigenetyczne, takie jak metylacja w promotorach genów, wpływ acetylacji i

deacetylacji histonów, regulowanie ekspresji genów przez mikroRNA i długie cząsteczki niekodującego RNA, jak również nawyki prowadzące do prozdrowotnego trybu życia lub też brak aktywności fizycznej, prowadzący do zmniejszenia wydolności organizmu. Dotychczas nie badano wpływu genów na sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie poprzez modelowanie cech antropometrycznych i parametrów opisujących sprawność krążeniowo-oddechową. Wydaje się więc, że podjęcie przez Doktorantkę badań dotyczących oceny zależności wariantów polimorficznych wybranych genów warunkujących sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie u studentów polskich uczelni jest w pełni uzasadniony.

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Natalii Potockiej p.t. „**Ocena zależności wariantów polimorficznych wybranych genów warunkujących sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie u studentów polskich uczelni**” liczy 225 stron maszynopisu i ma typowy dla rozpraw doktorskich układ, składając się z wykazu najczęściej używanych skrótów, spisu treści oraz rozdziałów zatytułowanych: Wstęp, Założenia i cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Podsumowanie, Streszczenie w języku polskim i angielskim oraz Piśmiennictwo. Na końcu dysertacji Doktorantka umieściła Spis tabel, rycin i wykresów oraz wykaz publikacji i doniesień konferencyjnych.

W rozbudowanym, liczącym 42 strony rozdziale p.t. „Wstęp” Doktorantka wnikliwie i szczegółowo omawia dwa zagadnienia dotyczące sprawności fizycznej. Z jednej strony omawia je w kontekście ukierunkowania na zdrowie, z drugiej natomiast w odniesieniu do podłoża genetycznego. W podrozdziale dotyczącym sprawności fizycznej ukierunkowanej na zdrowie Doktorantka zwraca uwagę na komponenty morfologiczne, krążeniowo-oddechowe, mięśniowo-szkieletowe, metaboliczne oraz motoryczne. Podrozdział dotyczący genetycznego podłoża sprawności fizycznej zawiera z kolei część dotyczącą polimorfizmu oraz charakterystykę ośmiu badanych genów: genu konwertazy angiotensyny (*ACE*), genu alfa-aktyniny 3 (*ADRB2*), genu adrenoreceptora $\beta 2$ (*ADRB2*), – genu adrenoreceptora $\beta 3$ (*ADRB3*), genu kinazy kreatynowej typu mięśniowego (*CKM*), genu α receptora aktywowanego proliferatorami peroksysomów (*PPARA*), genu receptora aktywowanego przez proliferatory peroksysomów- γ koaktywator 1- α (*PPARGC1A*) oraz genu transportera 1 kwasów monokarboksylowych (*LC16A1*). Cały omawiany rozdział napisany jest jasnym i zrozumiałym językiem i świadczy o znakomitej znajomości Doktorantki zarówno zagadnień fizjologii, jak również skomplikowanych mechanizmów molekularnych leżących u podstaw polimorfizmu genów. Doktorantka wykazała się umiejętnością krytycznego korzystania z piśmiennictwa naukowego i rozległą, wystarczającą do podjęcia ambitnie zakreślonych badań

wiedzą na badany przez siebie temat. Rozdział ilustrowany jest kilkoma przejrzystymi rycinami i tabelami.

Kolejny rozdział rozprawy poświęcony jest określeniu celów pracy. Zostały one ujęte w czterech punktach poprzedzonych krótkim wprowadzeniem podkreślającym zarówno niewątpliwą istotność badanych zagadnień, jak i trafność zakresu badań. Doktorantka sformułowała hipotezę roboczą, że polimorfizmy genetyczne w wybranych genach wpływają na sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie, poprzez modulowanie cech antropometrycznych i parametrów opisujących sprawność krążeniowo-oddechową. Na uznanie zasługuje fakt, że Doktorantka stawia sobie zarówno cele ściśle poznawcze jak i cele mające znaczenie praktyczne.

Rozdział „Materiał i metody” otwiera podrozdział zawierający kryteria doboru grupy badanej. W kolejnych podrozdziałach przedstawiona została metoda izolacji DNA ze śliny, zasady przeprowadzania analizy jakościowej i ilościowej wyizolowanego DNA oraz metody oznaczania polimorfizmów genów. Wśród metod oznaczania polimorfizmów Autorka omawia jedną z podstawowych metod wykorzystywanych w biologii molekularnej, jaką jest PCR, uwzględniając również elektroforezę w żelu agarowym, metodę HRM (High resolution melting) umożliwiającą szybką charakterystykę próbek DNA w oparciu o krzywe topnienia produktu powstałego podczas amplifikacji PCR oraz metodę PCR-RELP (polymerase chain reaction- restriction fragments length polymorphism), wykorzystywaną powszechnie w biologii molekularnej m.in. do wykrywania znanych już polimorfizmów lub identyfikacji mutacji punktowych, a w epidemiologii do różnicowania szczepów w obrębie jednego gatunku. Doktorantka opisała także sposób weryfikacji wyników otrzymanych metodą HRM oraz zastosowane metody analizy statystycznej. Dobór metod nie budzi zastrzeżeń, jest bardzo nowoczesny, adekwatny do postawionych celów, a ich opis świadczy o bardzo dobrym ich opanowaniu praktycznym przez Doktorantkę.

Rozdział Wyniki rozpoczyna charakterystyka grupy badanej z uwzględnieniem podziału na kobiety i mężczyzn. W celu sprawdzenia równowagi Hardy’ego-Weinberga Doktorantka zastosowała test chi-kwadrat przedstawiając rozkład częstości występowania poszczególnych genotypów dla badanych polimorfizmów. Analiza ta nie wykazała statystycznie istotnych odstępstw od równowagi Hardy’ego-Weinberga, z wyjątkiem odstępstw dla punktu polimorficznego rs1042714 w genie *ADRB2*. W kolejnych podrozdziałach Doktorantka analizowała zależności pomiędzy poszczególnymi polimorfizmami w genach *ACE*, *ADRB3*, *CKM*, *PPARA* i *PPARGC1A* a cechami antropometrycznymi, wydolnością krążeniowo-oddechową i poziomem aktywności fizycznej.

Doktorantka wykazała wpływ polimorfizmu rs1799742 w genie *ACE* na większą zawartość beztłuszczowej masy ciała oraz zawartość wody w grupie badanych kobiet. Wykazała także statystycznie istotną zależność pomiędzy występowaniem genotypu TT polimorfizmu rs49994 w genie *ADRB3* a występowaniem wyższych wartości obwodu talii, bioder i zawartości tłuszczu. Podobne obserwacje dotyczyły wskaźników masy ciała, obwodu talii do wysokości ciała oraz otluszczenia ciała w grupie badanych mężczyzn. Polimorfizmy w genach *ACE*, *ADRB3* oraz *CKM* wykazywały związek z typem budowy ciała, natomiast polimorfizmy w genach *ACE*, *ACTN3*, *ADRB2*, *ADRB3*, *CKM*, *PPARGC1A* i *SLC16A1* korelowały z parametrami opisującymi wydolność krążeniowo-oddechową. Doktorantka wykazała ponadto, że poprzez modulowanie cech antropometrycznych i paramentów opisujących sprawność krążeniowo-oddechową badane polimorfizmy genetyczne wpływają na sprawność fizyczną ukierunkowana na zdrowie. Wyniki badań zostały przedstawione opisowo oraz w formie przejrzystych i dobrze skonstruowanych tabel, oraz w formie wykresów. Kolejność prezentacji wyników jest przejrzysta logiczna. Jedyną uwagą jaką mam do tego rozdziału dotyczy charakterystyki grupy badanej, która została całościowo przedstawiona jako cała populacja badania w rozdziale Materiały i metody, natomiast podział w zależności od płci i dotyczący tych samych parametrów znalazł się w rozdziale Wyniki. Moim zdaniem przygotowując pracę do publikacji obydwie tabelki należałoby połączyć.

W rozdziale „Dyskusja” Doktorantka omawia otrzymane wyniki w szeroko zakreślonym kontekście danych literaturowych poświęconych badanemu zagadnieniu. Związek badanych polimorfizmów z cechami budowy ciała, typem budowy ciała, z wydolnością krążeniowo-oddechową oraz z poziomem aktywności fizycznej analizuje w kolejnych podrozdziałach. Odrębny podrozdział dotyczy związku haplotypów z komponentami sprawności ukierunkowanej na zdrowie. Doktorantka stara się zinterpretować poczynione przez siebie obserwacje w świetle opublikowanego na ten temat piśmiennictwa dotyczącego polimorfizmu genów oraz, co jest szczególnie cenne, z uwzględnieniem ograniczeń stosowanych przez siebie metod badawczych, których jest w pełni świadoma. Doktorantka analizuje uzyskane wyniki w sposób bardzo ostrożny, wyważony, świadczący o dużej dojrzałości naukowej. Lektura tego rozdziału po raz kolejny przekonuje czytelnika rozprawy o głębokiej wiedzy Doktorantki i Jej umiejętności twórczego i krytycznego korzystania z piśmiennictwa światowego. Zastrzeżenia, które mam do tego rozdziału, są głównie natury edytorskiej.

Rozdział zatytułowany „Wnioski” zawiera rekapitulację uzyskanych wyników badań, ale także próbę ostrożnej ich interpretacji. Zawarte tam stwierdzenia mają pełne pokrycie w

uzyskanych wynikach badań i dowodzą realizacji przez Doktorantkę celów pracy sformułowanych w rozdziale II. Rozdział ten powinien być jednak raczej zatytułowany Obserwacje natomiast moim zdaniem wnioskiem w ścisłym znaczeniu tego słowa jest zdanie „W wyniku przeprowadzonych analiz wykazano, że badane polimorfizmy genetyczne, poprzez modulowanie cech antropometrycznych i parametrów opisujących wydolność krążeniowo-oddechową wpływają na sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie” umieszczone pod koniec rozdziału zatytułowanego Podsumowanie.

Rozprawę kończy streszczenie w języku polskimi angielskim, spis 374 pozycji piśmiennictwa ułożonych w kolejności cytowań, trafnie dobranych i poprawnie cytowanych w tekście oraz spis 58 tabel i 27 rycin.

Sformułowane powyżej drobne uwagi nie mają charakteru zarzutów merytorycznych, a jedynie sugestii nie umniejszających w żaden sposób wartości rozprawy, którą oceniam bardzo wysoko. Temat pracy jest bardzo aktualny i ważny z punktu widzenia naukowego, poznawczego oraz praktycznego. Realizując ją Doktorantka wykazała dojrzałość naukową i udowodniła umiejętność korzystania z piśmiennictwa naukowego, planowania badań, ich realizacji z doбором odpowiednich metod oraz krytycznej i rzetelnej analizy poczynionych obserwacji. Wyływający z pracy wniosek jest nowatorski i ma duże znaczenie poznawcze. Praca zredagowana jest przejrzystym i zrozumiałym językiem.

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Natalii Potockiej p.t. **„Ocena zależności wariantów polimorficznych wybranych genów warunkujących sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie u studentów polskich uczelni”** stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wskazuje na ogromną teoretyczną i praktyczną wiedzę Doktorantki w zakresie biologii medycznej oraz na znakomite opanowanie przez nią twórczego i krytycznego korzystania z piśmiennictwa naukowego. Tym samym spełnia ona wszystkie ustawowe i zwyczajowe wymogi stawiane rozprawom doktorskim.

Mam więc zaszczyt i przyjemność wnioskować do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr Natalii Potockiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i, zgodnie z zasadami przyjętymi przez UM w Łodzi, o wyróżnienie pracy.

M. Wołowicz

Prof. dr hab. Dariusz Wołowicz

7470927 Prof. dr hab. n. med. DARIUSZ WOŁOWIEC
specjalista chorób wewnętrznych
specjalista hematolog
50-519 Wrocław, ul. Gajowa 38/9
tel. 0.71/784.25.76