



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
IM. LUDWIKI HIRSZFELDA  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
Centrum Doskonałości: IMMUNE  
Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA  
Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71  
www.iitd.pan.wroc.pl

INSTYTUT IMMUNOLOGII  
I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
im. Ludwika Hirsztfelda  
Polskiej Akademii Nauk  
ZAKŁAD TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
LABORATORIUM IMMUNOPATOLOGII  
53-114 Wrocław, ul. Rudolfa Weigla 12  
NIP: 896-000-56-96

Wrocław, dnia 01.09.2022 r.

### Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani mgr. Natalii Potockiej

pt. „Ocena zależności wariantów polimorficznych wybranych genów warunkujących sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie u studentów polskich uczelni”

“The evaluation of the relation between the polymorphic variants of the selected genes determining health-related fitness among the university students in Poland”

wykonanej w  
Laboratorium Biologii Molekularnej  
Przyrodniczo–Medycznego Centrum Badań Innowacyjnych  
Uniwersytetu Rzeszowskiego

pod opieką:

Promotor: prof. dr hab. n.med. Izabeli Zawlik

Promotor pomocniczy: dr n. biol. Marii Zadarko-Domaradzka

### OCENA METODOLOGICZNA I FORMALNA PRACY

#### Ocena formalna

Przedstawiona do recenzji dysertacja Pani mgr. Natalii Potockiej ma postać monografii i posiada tradycyjny układ: na 226 stronach zawiera spis treści, 15 rozdziałów, zakończona jest wnioskami, podsumowaniem, streszczeniami w języku polskim i angielskim, spisem tabel, rycin, opatrzona wykazem skrótów, wykazem publikacji i doniesień konferencyjnych oraz zgodą Komisji Bioetycznej. Dwadzieścia siedem rycin oraz 58 tabel jest dobrej jakości i odpowiednio ilustruje wyniki.

Wstęp zawarty jest na 44 stronach. Jest napisany przejrzysto, zawiera podstawowe informacje dotyczące sprawności fizycznej oraz genetycznego podłoża sprawności fizycznej z





uwzględnieniem definicji polimorfizmu genetycznego jak i charakterystykę wybranych genów zaangażowanych w procesy związane ze sprawnością fizyczną.

Na kolejnych 2 stronach Doktorantka przedstawia założenia i cel pracy oraz hipotezę postawioną w pracy. Kolejne 36 stron zawiera opis materiałów i metod, a na kolejnych 61 - sprawozdaje wyniki badań posługując się wykresami i tabelami czytelnie ilustrującymi uzyskane dane.

Dyskusja spisana jest na 30 stronach – jest oparta o najnowsze doniesienia naukowe. Podobnie jak wstęp pracy jest merytoryczna. Wnioski spisano na 4 stronach. Podsumowując - układ i podział pracy są prawidłowe.

Rozprawa wykazuje indywidualny wkład Kandydatki przy tworzeniu koncepcji, wykonywaniu części badawczej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy. Rozprawa spełnia również kryteria formalne (art.187) Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2020 poz. 85 z późn. zm.).

### **Poprawność formułowania problemów, hipotez, założeń badawczych**

Cele badań – główny i 4 szczegółowe - sprecyzowano jednoznacznie i rzeczowo.

Głównym celem badania, była ocena zależności pomiędzy występowaniem polimorfizmu w wybranych genach a czynnikami związanymi ze sprawnością fizyczną ukierunkowaną na zdrowie. Doktorantka główny cel badania osiągnęła realizując 4 cele szczegółowe:

1. Analizę częstości występowania genotypów i alleli w poszczególnych miejscach polimorficznych wybranych genów (polimorfizm rs1799752 zlokalizowany w genie konwertazy angiotensyny (*ACE*); polimorfizm rs1815739 zlokalizowany w genie alfa-aktyniny 3 (*ACTN3*); polimorfizmy rs1042713 oraz rs1042714 zlokalizowane w genie adrenoreceptora  $\beta 2$  (*ADRB2*); polimorfizm rs4994 zlokalizowany w genie adrenoreceptora  $\beta 3$  (*ADRB3*); polimorfizm rs8111989 zlokalizowany w genie kinazy kreatynowej typu M (*CKM*); polimorfizm rs4253778 zlokalizowany w genie  $\alpha$  receptora aktywowanego proliferatorami peroksysomów (*PPARA*); polimorfizm rs8192678 zlokalizowany w genie receptora aktywowanego przez proliferatory peroksysomów- $\gamma$  koaktywator 1- $\alpha$  (*PPARGC1A*); polimorfizm rs1049434 zlokalizowany w genie transportera 1 kwasów monokarboksylowych (*SLC16A1*).
2. Analizę częstości współwystępowania poszczególnych alleli i genotypów wybranych polimorfizmów w badanej grupie.
3. Analizę korelacji pomiędzy badanymi polimorfizmami genetycznymi a parametrami opisującymi komponenty ciała, somatotypem, sprawnością krążeniowo-oddechową i poziomem aktywności fizycznej.



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
IM. LUDWIKI HIRSZTFELDA  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA

Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71

www.iitd.pan.wroc.pl

4. Analizę wpływu różnych kombinacji genotypów i układów alleli w badanych genach na parametry opisujące komponenty ciała, somatotyp, sprawność krążeniowo–oddechową i poziom aktywności fizycznej.

Dane biologiczno-doświadczalne są starannie udokumentowane i opisane. Wnioski są jednoznaczną odpowiedzią na ustalone cele pracy.

#### **Trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętność ich zastosowania**

Założenia i metody pracy, dobór technik molekularnych i analiza uzyskanych wyników nie budzą zastrzeżeń. Warsztat technik molekularnych jest wyważony, zapewnia uzyskanie jednoznacznych wyników przy przyjętych metodach walidacji i weryfikacji. Świadczy o dużej wiedzy Doktorantki oraz odpowiedzialności naukowej.

Wnioski są wyważone i wynikają z przeprowadzonych badań, wyników i ich analizy. Doktorantka podkreśla poznawcze i praktyczne implikacje wyników pracy poparte danymi z piśmiennictwa.

#### **Dobór piśmiennictwa, umiejętność wykorzystywania źródeł**

Piśmiennictwo obejmuje 374 pozycje bezpośrednio związane z tematyką pracy - są właściwie dobrane i odpowiednio cytowane. Autorka poprawnie prezentuje swoje poglądy oraz jest w stanie sprawnie je wspierać posługując się wynikami badań własnych oraz piśmiennictwem.

### **OCENA MERYTORYCZNA PRACY**

#### **Temat pracy, trafność podjętej problematyki badawczej i jej oryginalność**

Wychodząc z koncepcji Health-Related Fitness (H-RF) zakładającej wieloczynnikowe podstawy sprawności fizycznej Autorka podjęła się przeprowadzić ocenę zależności wariantów polimorficznych wybranych genów warunkujących sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie u studentów polskich uczelni.

Po przeprowadzeniu wnikliwej, skrupulatnej i krytycznej analizy dostępnych danych literaturowych wybrała polimorfizmy genetyczne zlokalizowane w genach zaangażowanych w procesy związane ze sprawnością fizyczną (geny kandydatów). Punktem wyjścia były badania z zakresu genomiki sportowej wskazujące na około 66% udział genów w kształtowaniu sukcesu sportowego. Finalnie Doktorantka skonstruowała koncepcję rozprawy doktorskiej opartą na wzajemnym oddziaływaniu pomiędzy genami kandydatami oraz pomiędzy genami kandydatami a stylem życia i czynnikami środowiskowymi. Selekcja genów kandydatów oparta była również o wyniki Human Gene Map for Performance and Health-Related Fitness Phenotypes (2001), gdzie zebrano szereg genów, których polimorfizmy wykazały związek z fenotypami sprawności fizycznej lub sprawności związanej ze zdrowiem. W zestawieniu





uwzględniono geny, które zostały zidentyfikowane jako związane z wydajnością ćwiczeń i odpowiedzią na trening fizyczny. Geny te warunkują wiele cech fizjologicznych związanych ze stabilnością układu oddechowego i sercowo-naczyniowego, budową i składem ciała - zwłaszcza masą i siłą mięśni, ale także metabolizmem węglowodanów i lipidów.

Mocną stroną badań przeprowadzonych w ramach prezentowanej rozprawy jest dobrze dobrana grupa badana, która jest homogenna pod względem wieku, pochodzenia geograficznego i regularności w uprawianiu aktywności. Dodatkowym aspektem wartym odnotowania jest potencjał badanej grupy, którą stanowią młode, zdrowe osoby, jako grupy kontrolnej dla podobnych badań. Wielkość przebadanej grupy pod względem parametrów fizycznych, CRF oraz poziomu aktywności fizycznej, jak również liczba oznaczonych polimorfizmów są mocnymi stronami niniejszej rozprawy. Świadczy to o dobrym przygotowaniu Doktorantki do tematyki pracy doktorskiej, przemyślanym i krytycznym planowaniu badania, skrupulatnej analizie dostępnych danych literaturowych.

Autorka w krytycznej dyskusji uwzględniła wymagania związane z badaniami asocjacyjnymi. Im większa grupa badana, tym łatwiej znaleźć istotne zależności genotyp – fenotyp. Mając powyższe na uwadze, zaznaczyć należy, że zwiększenie liczebności badanej populacji najprawdopodobniej pozytywnie wpłynęłoby na uzyskane analizy.

W ramach przeprowadzonych badań molekularnych w niniejszej pracy doktorskiej oznaczono dziewięć polimorfizmów w ośmiu różnych genach. Uzyskane wyniki wykorzystano do określenia wpływu czynników genetycznych na wybrane komponenty sprawności fizycznej ukierunkowanej na zdrowie. Jak sama Autorka wskazuje, czynnikiem limitującym dla samych badań molekularnych okazała się wybrana metoda genotypowania (HRM), którą cechowała czasochłonność pod względem optymalizacji, jak i w późniejszej analizie uzyskanych wyników. Niemniej jednak HRM jest metodą jak najbardziej wiarygodną dla tego typu oznaczeń. Niemniej jednak zaznaczyć należy, iż mocnymi stronami przeprowadzonych badań są dobrze sparametryzowana grupa oraz liczba oznaczonych polimorfizmów, co istotnie przełożyło się na szereg obszernych, interesujących i oryginalnych (**odnotowanych przez Autorkę po raz pierwszy**) asocjacji związanych ze sprawnością fizyczną ukierunkowaną na zdrowie.

Tak więc, podjęcie tematu badawczego będącego tematem niniejszej dysertacji zaowocowało oryginalnymi i ciekawymi wynikami naukowymi istotnie wzbogacającymi wiedzę naukową w dyscyplinie.

### Uzyskane rezultaty i ich znaczenie dla nauki i praktyki

W wyniku przeprowadzonych badań i analizy wyników podsumowanych w 5 podrozdziałach Doktorantka sformułowała 3 wnioski będące jednoznaczną odpowiedzią na ustalone cele pracy. Wyniki i wnioski wskazują m. in., że na komponenty opisujące sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie w różnym stopniu wpływają predyspozycje genetyczne. Co istotne modulowanie komponentów H-RF zależne jest od wzajemnego współdziałania czynników genetycznych i środowiskowych.



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA

Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71

www.iitd.pan.wroc.pl

Badania przeprowadzone przez mgr Potocką mają zatem istotne implikacje poznawcze i kliniczne: Autorka wskazała swoiste haplotypy wpływające na komponenty H-RF i sprzyjające:

- osiągnięciu niskich wartości wskaźnika otuszczenia ciała – Haplotyp I

*ACE* rs1799752 I, *ACTN3* rs1815739 C, *ADRB2* rs1042713 A i rs1042714 C, *ADRB3* rs4994 T, *CKM* rs8111989 A, *PPARA* rs4253778 G, *PPARGC1A* rs8192678 A, *SLC16A1* rs1049434 A, (I-C-A-C-T-A-G-A-A)

- osiągnięciu niższych wartości tętna wysiłkowego – Haplotyp II

*ACE* rs1799752 I, *ACTN3* rs1815739 C, *ADRB2* rs1042713 G i rs1042714 G, *ADRB3* rs4994 T, *CKM* rs8111989 G, *PPARA* rs4253778 G, *PPARGC1A* rs8192678 G, *SLC16A1* rs1049434 T, (I-C-G-G-T-G-G-G-T)

- wolniejsze tempo restytucji – Haplotyp III

*ACE* rs1799752 D, *ACTN3* rs1815739 T, *ADRB2* rs1042713 G i rs1042714 G, *ADRB3* rs4994 T, *CKM* rs8111989 A, *PPARA* rs4253778 G, *PPARGC1A* rs8192678 G, *SLC16A1* rs1049434 A, (D-T-G-G-A-G-G-G-A)

**Jest to element nowości, stanowiący oryginalne osiągnięcie doktorantki.**

Ponadto, w wyniku przeprowadzonych analiz korelacji parametrów opisujących komponenty ciała, somatotyp, sprawność krążeniowo-oddechową i poziom aktywności fizycznej z występowaniem badanych polimorfizmów genetycznych Doktorantka wykazała następujące zależności dla poszczególnych genów:

a. Gen *ACE* rs1799752

Doktorantka zaobserwowała pozytywny wpływ allelu I w subpopulacji kobiet na cechy antropometryczne, CRF i restytucję. Wykazała, że genotyp II daje ponad dwukrotnie większą szansę na osiągnięcie wyższego tempa restytucji niezależnie od płci, co nie zostało do tej pory opisane w literaturze. Ponadto allel I sprzyja utrzymaniu somatotypu ekto-endomorficznego w subpopulacji kobiet. Wyższy poziom aktywności fizycznej w zakresie wysiłków o niskiej intensywności korelował z występowaniem allelu D tylko w grupie mężczyzn.

b. Gen *ACTN3* rs1815739

W subpopulacji kobiet stwierdziła wpływ allelu C (R577) na uzyskanie niższego tętna maksymalnego oraz korzystny wpływ na restytucję, natomiast polimorfizm ten nie wpływał na cechy antropometryczne oraz na typ budowy ciała.





W subpopulacji mężczyzn wykazała jedynie wpływ polimorfizmu R577X na poziom aktywności fizycznej - mężczyźni z genotypem TT (X577X) wykazywali wyższy poziom aktywności fizycznej w zakresie wysiłków o dużej intensywności.

c. Gen *ADRB2* rs1042713 i rs1042714

Doktorantka stwierdziła korelację allelu G (Gly) w miejscu polimorficznym rs1042713 z niższymi wartościami tętna maksymalnego w grupie mężczyzn.

Wykazała niezależny od płci związek allelu C (Gln) w miejscu polimorficznym rs1042714 z wydolnością krążeniowo-oddechową dla całej badanej populacji.

Nie stwierdziła związku obu badanych polimorfizmów zlokalizowanych w genie *ADRB2* z pozostałymi cechami CRF, budową ciała i somatotypem jak i poziomem aktywności fizycznej.

d. Gen *ADRB3* rs4994

W subpopulacji mężczyzn stwierdzono negatywny wpływ allelu T (Trp) na cechy antropometryczne oraz wykazano pozytywną korelację allelu T z parametrami opisującymi wydolność fizyczną. Ponadto allelu C (Arg) genu *ADRB3* korelował negatywnie z poziomem aktywności fizycznej w zakresie wysiłków o wyższej intensywności. W subpopulacji kobiet allelu T (Trp) korelował z niższym poziomem aktywności fizycznej w zakresie wysiłków o średniej intensywności, natomiast nie wpływał na cechy budowy ciała i wydolność krążeniowo-oddechową.

e. Gen *CKM* rs8111989

**Po raz pierwszy** Doktorantka wykazała pozytywny wpływ allelu A na cechy antropometryczne zarówno w subpopulacji kobiet jak i mężczyzn.

Co istotne Autorka wskazała na wzmocnienie cech somatotypu endomorficznego u kobiet wywołanego przez allelu G. Z kolei allelu A pozytywnie wpływał na wydolność fizyczną wśród kobiet.

Wśród mężczyzn korzystny wpływ na szybkość restytucji wywierał allelu.

Co ciekawe, wykazano niezależną od płci ponad dwukrotnie większą szansę na spadek pułapu tlenowego wyrażonego w L/min u osób posiadających genotyp GG.

f. Gen *PPARA* rs4253778

Autorka wskazała na niejednoznaczne, a wręcz sprzeczne wyniki wpływu allelu G na cechy antropometryczne w grupach badanych kobiet i mężczyzn. Ponadto wykazała korelację tego allelu z niższym poziomem aktywności fizycznej w zakresie wysiłków o średniej intensywności w grupie mężczyzn. Nie stwierdziła wpływu polimorfizmu 7G/C na somatotyp oraz na cechy związane z wydolnością krążeniowo-oddechową.

g. Gen *PPARGC1A* rs8192678

Doktorantka wykazała pozytywny wpływ allelu G (Gly) na cechy antropometryczne w subpopulacji mężczyzn.



**Stwierdziła po raz pierwszy** wpływ allelu A (Ser) na wyższe wartości tętna maksymalnego u kobiet. Nie wykazała korelacji polimorfizmu Gly482Ser z pozostałymi parametrami opisującymi wydolność krążeniowo–oddechową oraz z poziomem aktywności fizycznej.

h. Gen *SLC16A1* rs1049434

**Po raz pierwszy** Autorka wskazała na korelację allelu T (Asp) z szybszym tempem restytucji. Wpływał on również korzystnie na cechy związane z wydolnością fizyczną oraz poziomem aktywności fizycznej w zakresie wysiłków o wyższej intensywności w subpopulacji mężczyzn. Nie stwierdziła wpływu polimorfizmu Glu490Asp na cechy związane z budową ciała.

Podsumowując wyniki przeprowadzonych badań, mgr Natalia Potocka wykazała związek pomiędzy polimorfizmami w genach *ACE*, *ACTN3*, *ADRB3*, *SLC16A1* oraz *PPARA* i poziomem aktywności fizycznej

Autorka wskazała, iż w kształtowaniu sprawności fizycznej istotną rolę ogrywają czynniki genetyczne. Podkreśliła również, iż analizowane czynniki są modulatorami szeregu procesów zaangażowanych w sprawność fizyczną.

### **Poprawność językowa, stylistyczna i interpunkcyjna**

Rozprawa doktorska napisana jest poprawnym językiem z użyciem prawidłowej stylistyki i terminologii. Wartość merytoryczna publikacji idzie w parze z umiejętnością argumentacji i polemiki. Edycja pracy jest prawidłowa i bardzo staranna.

### **UWAGI I PROPOZYCJE**

Z obowiązku Recenzenta chciałabym zwrócić uwagę i uściślić następujące kwestie:

1. W rozdziale Materiały i metody Autorka opisując warsztat badawczy szczegółowo opisuje wszystkie procedury z uwzględnieniem składu wykorzystywanych mieszanin i buforów, m.in. w rozdziale 3.6 Elektroforeza w żelu agarozowym. Zamieszczenie szczegółowego składu buforów w odrębnej Tabeli zwiększyłoby transparentność tekstu.
2. W rozdziale Wyniki Autorka przedstawia otrzymane wyniki również w formie graficznej. Graficzne przedstawienie otrzymanych przez Autorkę wyników jest bardzo szczegółowe, niemniej jednak znacznym ułatwieniem dla czytelnika byłoby dodanie wartości *p* na każdym wykresie.

Wszystkie wymienione zastrzeżenia w żaden jednak sposób nie umniejszają wartości pracy. **Po wnikliwej lekturze dysertacji Pani mgr. Natalii Potockiej oceniam ją bardzo wysoko. Jest to obszerne i samodzielne opracowanie i rozwiązanie oryginalnego zagadnienia naukowego przy użyciu nowoczesnych metod i jest dowodem umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.**



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA  
Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71  
www.iitd.pan.wroc.pl

## PODSUMOWANIE

Badanie dotyczy ważnego zagadnienia i jest ważnym głosem w dyskusji na temat czynników warunkujących sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie, zwłaszcza w kontekście pandemii COVID-19, która przyniosła szereg niekorzystnych zmian w poziomie tych ważnych elementów sprawności. Spadek poziomu aktywności fizycznej podczas izolacji związanej z pandemią przyczynił się do zwiększenia masy ciała, a szczególnie masy tkanki tłuszczowej w składzie ciała, pogorszenie sprawności aparatu ruchu i spadek kondycji fizycznej. Skutki sedentarnego, czyli siedzącego trybu życia, to szereg powikłań zdrowotnych określonych terminem hipokinezji. H-RF staje się więc popularnym nurtem, który w głównej mierze przyczynia się do unikania zachowań destrukcyjnych i zapobiegania poważnych chorób cywilizacyjnych.

**Dlatego stawiam wniosek o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej** przez Radę Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi za rzetelne opracowanie ważnego tematu badawczego.

Zdaniem Recenzenta, oceniana **dysertacja doktorska** Pani mgr. Natalii Potockiej pt. „Ocena zależności wariantów polimorficznych wybranych genów warunkujących sprawność fizyczną ukierunkowaną na zdrowie u studentów polskich uczelni” (*“The evaluation of the relation between the polymorphic variants of the selected genes determining health-related fitness among the university students in Poland”*) wykonana w Laboratorium Biologii Molekularnej Przyrodniczo-Medycznego Centrum Badań Innowacyjnych Uniwersytetu Rzeszowskiego pod opieką promotora – prof. dr hab. n med. Izabeli Zawlik oraz promotora pomocniczego – dr n biol. Marii Zadarko-Domaradzkiej **spełnia kryteria przypisane rozprawom na stopień naukowy doktora** zdefiniowane w art.187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2020 poz. 85 z późn. zm.). Recenzowana przez mnie **rozprawa doktorska autorstwa Pani mgr. Natalii Potockiej prezentuje adekwatną ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki w dyscyplinie oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Przedmiotem rozprawy jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego a indywidualny wkład Kandydata w powstanie tej pracy jest wystarczający i udokumentowany.**

**Dlatego zwracam się do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Pani mgr. Natalii Potockiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

2 Wynagrodzenie

Laboratorium Immunopatologii  
Edyta Pawlak, prof. PAN  
dr hab. n med.  
Kierownik

**KNOW**