

**ZAŁĄCZNIK NR 2**

**AUTOREFERAT**

ZGODNIE Z §12 PKT. 2.2 ROZPORZĄDZENIA MINISTRA NAUKI I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO Z DN. 22 WRZEŚNIA 2011  
W SPRAWIE SZCZEGÓŁOWEGO TRYBU I WARUNKÓW PRZEPROWADZANIA CZYNNOŚCI W PRZEWODACH DOKTORSKICH,  
W POSTĘPOWANIU HABILITACYJNYM ORAZ W POSTĘPOWANIU O NADANIE TYTUŁU PROFESORA

*Agnieszka-Karłowska*

## 1. IMIĘ I NAZWISKO HABILITANTA

Agnieszka Maciejewska-Karłowska

## 2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE HABILITANTA

*Z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej*

- Stopień naukowy: **Doktor Nauk Biologicznych**  
Nadany przez Radę Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Szczecińskiego 12 stycznia 2006 (wszcześnie przewodu doktorskiego 15 października 2004, obrona pracy doktorskiej 24 listopada 2005)
- Tytuł rozprawy doktorskiej: Analiza filogenetyczna i polimorfizm genetyczny u *Paramecium jenningsi*
- Promotor rozprawy doktorskiej: prof. dr hab. Bogumiła Skotarczak (Katedra Genetyki, Uniwersytet Szczeciński)
- Recenzenci rozprawy doktorskiej: prof. dr hab. Ewa Przyboś (Instytut Systematyki i Ewolucji Zwierząt, PAN w Krakowie) oraz prof. dr hab. Stanisław Kazubski (Instytut Zoologii, PAN w Warszawie)

## 3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU HABILITANTA W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

od 01 grudnia 2012

**UNIWERSYTET SZCZECIŃSKI, WYDZIAŁ KULTURY FIZYCZNEJ I PROMOCJI ZDROWIA, ZAKŁAD BIOLOGICZNYCH PODSTAW KULTURY FIZYCZNEJ**

- pracownik naukowo-dydaktyczny, zatrudnienie w ramach umowy o pracę na stanowisku adiunkta

01 kwietnia 2006 - 31 listopada 2012

**UNIWERSYTET SZCZECIŃSKI, WYDZIAŁ NAUK PRZYRODNICZYCH/WYDZIAŁ BIOLOGII, KATEDRA GENETYKI**

- pracownik naukowo-dydaktyczny, zatrudnienie w ramach umowy o pracę na stanowisku adiunkta

23 lutego 2004 – 31 marca 2006

**UNIWERSYTET SZCZECIŃSKI, WYDZIAŁ NAUK PRZYRODNICZYCH, KATEDRA GENETYKI**

- pracownik naukowo-dydaktyczny, zatrudnienie w ramach umowy o pracę na stanowisku asystenta

## 4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO HABILITANTA

*Wynikającego z art. 16 ust. 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)*

Jednotematyczny cykl publikacji naukowych pod wspólnym tytułem:

ANALIZA ZRÓŻNICOWANIA GENÓW Z RODZINY *PPAR* KODUJĄCYCH BIAŁKA RECEPTORÓW AKTYWOWANYCH PROLIFERATORAMI PEROKSYSOMÓW (ANG. PEROXISOME-PROLIFERATOR ACTIVATED RECEPTORS) ORAZ WYBRANYCH GENÓW ZWIĄZANYCH Z NIMI U SPORTOWCÓW WYSOKOKWALIFIKOWANYCH

## A) WYKAZ PUBLIKACJI NAUKOWYCH STANOWIĄCYCH OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE HABILITANTA

Szczegółowy opis indywidualnego wkładu Habilitanta w powstanie wymienionych w tym punkcie publikacji zamieszczono w ZAŁĄCZNIKU NR 4 "Wykaz opublikowanych prac naukowych wraz ze szczegółowym opisem indywidualnego wkładu Habilitanta". Pełne wersje tych publikacji wraz z oświadczeniami o udziale procentowym pozostałych Współautorów znajdują się w ZAŁĄCZNIKU NR 7 "Jednotematyczny cykl publikacji stanowiący osiągnięcie naukowe wraz z oświadczeniami o procentowym udziale Współautorów".

### PUBLIKACJA HAB1:

**Maciejewska-Karłowska A.**, 2013, Polymorphic variants of the *PPAR* (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor) genes: relevance for athletic performance, Invited review, *Trends in Sport Sciences*, 1(20), 5-15.

*Poprzedni tytuł czasopisma: Studies in Physical Culture and Tourism. Punktacja MNiSW: 5*

Udział procentowy Habilitanta: 100%

### PUBLIKACJA HAB2:

**Maciejewska-Karłowska A.**, Hanson E., Sawczuk M., Ciężczyk P., Eynon N., 2013, Genomic haplotype within the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Delta (*PPARD*) gene is associated with elite athletic status, *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, DOI: 10.1111/sms.12126.

*IF (2012): 3.214. Punktacja MNiSW: 40*

Udział procentowy Habilitanta: 80%

### PUBLIKACJA HAB3:

**Maciejewska-Karłowska A.**, Sawczuk M., Ciężczyk P., Zarebska A., Sawczyn S., 2013, Association between the Pro12Ala polymorphism of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma gene and strength athlete status, *PLoS One*, 8(6), e67172.

*IF (2012): 3.730. Punktacja MNiSW: 40*

Udział procentowy Habilitanta: 80%

### PUBLIKACJA HAB4:

**Maciejewska A.**, Sawczuk M., Ciężczyk P., Mozhayskaya I.A., Ahmetov I.I., 2012, The *PPARGC1A* gene Gly482Ser polymorphism in Polish and Russian athletes, *Journal of Sports Sciences*, 30(1), 101-113.

*IF (2012): 2.082. Punktacja MNiSW: 35*

Udział procentowy Habilitanta: 70%

### PUBLIKACJA HAB5:

**Maciejewska-Karłowska A.**, Leońska-Duniec A., Ciężczyk P., Sawczuk M., Eider J., Ficek K., Sawczyn S., 2012, The *GABPB1* gene A/G polymorphism in Polish rowers, *Journal of Human Kinetics*, 31, 115-120.

*IF (2012): 0.458. Punktacja MNiSW: 15*

Udział procentowy Habilitanta: 70%

### PUBLIKACJA HAB6:

**Maciejewska A.**, Sawczuk M., Ciężczyk P., 2011, Variation in the *PPAR $\alpha$*  gene in Polish rowers, *Journal of Science and Medicine in Sport*, 14, 58-64.

*IF (2011): 3.034. Punktacja MNiSW: 35*

Udział procentowy Habilitanta: 90%

### PUBLIKACJA HAB7:

Ciężczyk P., Sawczuk M., **Maciejewska A.**, Ficek K., Eider J., 2011, The variation of Peroxisome Proliferator Activated Receptor  $\alpha$  gene in elite combat athletes, *European Journal of Sport Science*, 11(2), 119-123.

*IF (2011): 0.976. Punktacja MNiSW: 20*  
Udział procentowy Habilitanta: 75%

- ❖ *Sumaryczny Impact Factor dla jednotematycznego cyklu publikacji: 13.494*
- ❖ *Sumaryczna punktacja MNiSW dla jednotematycznego cyklu publikacji: 190*

## **B) OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WW. PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA**

*W nawiasach kwadratowych zamieszczono odniesienia do publikacji wyszczególnionych powyżej w niniejszym ZAŁĄCZNIKU NR 2 w podpunkcie A: "Wykaz publikacji naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe Habilitanta".*

Jednym z głównych problemów naukowych występujących w praktyce sportu jest sterowanie procesem treningowym w taki sposób, by poddawani jemu zawodnicy osiągnęli jak najlepsze rezultaty. Istnieje wiele narzędzi, które są stosowane do rozwiązywania wielowymiarowych problemów treningu sportowego, wśród których coraz częściej wykorzystywane są także nowoczesne metody analiz genetycznych. Jest to efektem dynamicznego rozwoju nowoczesnych technik molekularnych oraz olbrzymiego postępu dokonującego się w ostatnich latach w genetyce człowieka, związanego z projektem poznania genomu ludzkiego. Generowana w wyniku jego realizacji duża ilość zupełnie nowych informacji zwróciła uwagę specjalistów z dziedziny kultury fizycznej na czynniki genetyczne, które decydują o naturalnych, wrodzonych predyspozycjach organizmu zawodnika i jako takie mogą mieć znaczenie dla osiągniętych przez niego rezultatów i w konsekwencji wpływać na sukces danego zawodnika w konkretnej dyscyplinie lub konkurencji sportowej.

W ten właśnie kierunek naukowy włączają się prezentowane przeze mnie badania. Ich celem było ustalenie wzorcowych profili poligenowych charakterystycznych dla grup zawodników o zróżnicowanych wymaganiach metabolicznych, reprezentujących różne dyscypliny i konkurencje sportowe, klasyfikowane zgodnie z propozycją Resortowego Centrum Metodyczno-Szkoleniowego Kultury Fizycznej i Sportu (Raczyńska 1990) na: wytrzymałościowe, wytrzymałościowo-siłowe, szybkościowo-siłowe i siłowe. Jako podstawę do konstrukcji takich profili wykorzystałam analizy zróżnicowania genów z rodziny *PPAR* kodujących białka receptorów aktywowanych proliferatorami peroksysomów (ang. Peroxisome Proliferator Activated Receptors, PPARs) oraz innych związanych z nimi genów przeprowadzone u sportowców wysokokwalifikowanych. W grupie badanych przeze mnie genów znalazły się wszystkie występujące u człowieka geny z rodziny *PPAR* (*PPARA*, *PPARG* i *PPARD*), jak również inne geny z nimi związane, takie jak gen *PPARGCIA* kodujący białko PGC-1 $\alpha$  pełniące funkcję koaktywatora dla receptorów PPAR, oraz gen *GABPB1* kodujący podjednostkę  $\beta$  czynnika transkrypcyjnego określanego jako NRF2 (ang. Nuclear Respiration Factor 2), który jest elementem skomplikowanej sieci interakcji metabolicznych z białkami z rodziny PPAR oraz ich koaktywatorami. Wykonane przeze mnie analizy są pierwszymi na świecie tak szerokimi opracowaniami związanymi z przygotowaniem profili poligenowych obejmujących wszystkie geny z rodziny *PPAR* oraz inne skojarzone z nimi geny u sportowców wyczynowych. Przeprowadzone badania ze względu na swój pionierski charakter miały w założeniu przede wszystkim cele poznawcze, natomiast wątek odnoszący się do bezpośredniej użyteczności uzyskanych przeze mnie wyników zawiera się głównie w możliwości włączenia opisywanych czynników genetycznych do grupy wielu różnych elementów wpływających na osiągnięte przez danego zawodnika rezultaty i potencjalny sukces sportowy.

Wymiernym efektem podjętego przeze mnie problemu badawczego jest określenie zróżnicowania siedmiu miejsc polimorficznych w pięciu różnych genach, co w pewnym zakresie odzwierciedla na poziomie genetycznym predyspozycje do przeprowadzania określonego typu przemian metabolicznych będących podstawą do produkcji energii niezbędnej do wykonania wysiłku fizycznego. Wyniki te pozwoliły mi na opracowanie profili poligenowych obejmujących geny z rodziny *PPAR* umożliwiającą uzyskanie wczesnej i stosunkowo dokładnej informacji dotyczącej

predyspozycji osobniczych do wykonywania wysiłku fizycznego o określonej intensywności oraz mogących stanowić przyczynę do określenia reakcji osobniczej na aplikowane bodźce treningowe. Takie informacje - w kontekście opisanych dla danej osoby predyspozycji genetycznych - mogą pomóc w indywidualizacji i optymalizacji metod treningowych stosowanych w procesie szkolenia sportowego. Dane tego typu należą do informacji szczególnie pożądaných przez praktyków i teoretyków sportu, którzy mają na uwadze, że uwarunkowania genetyczne znajdują się w grupie wielu czynników wpływających na osiągnięty przez zawodnika sukces sportowy. Dodatkowo, przygotowane przeze mnie profile poligenowe mogą znaleźć zastosowanie nie tylko w sporcie, ale również w szeroko rozumianej profilaktyce prozdrowotnej i ochronie zdrowia publicznego, ze względu na rolę badanych genów markerowych w patogenezie niektórych chorób człowieka.

Zagadnieniami związanymi z zastosowaniem nowoczesnych narzędzi i metod genetyki molekularnej w badaniach z zakresu kultury fizycznej zajęłam się w roku 2007. Wspólnie z grupą moich kolegów-naukowców również zainteresowanych tym tematem przygotowaliśmy projekt naukowy pt. "Polimorfizm wybranych genów wysokokwalifikowanych sportowców jako podstawa do konstrukcji profili genetycznych służących wstępnej selekcji zawodników", który został zakwalifikowany do finansowania przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w 34 Konkursie i był realizowany w latach 2008-2011 (projekt nr N N404 166334). Początkowo do analiz mających na celu ustalenie wzorcowych profili genetycznych charakterystycznych dla różnych grup zawodników wybrano możliwie różnorodną grupę 14 genów markerowych reprezentujących różne poziomy kontroli wydolności organizmu człowieka w kontekście jego predyspozycji do przeprowadzania przemian metabolicznych związanych z określonym typem wysiłku fizycznego w trakcie treningu sportowego.

Zorganizowanie prac w ramach interdyscyplinarnego zespołu naukowego, który udało się nam stworzyć, pozwoliło nam na włączenie się w jeden z najbardziej aktualnych i ciekawych nurtów badawczych, jaki pojawił się w ostatnich lat w naukach o kulturze fizycznej. Efektem systematycznych prac naszego zespołu było publikowanie uzyskiwanych wyników w renomowanych międzynarodowych czasopismach zajmujących się zagadnieniami naukowymi, medycznymi oraz genetycznymi w sporcie. W konsekwencji szybkiego rozwoju naszych badań udało się nam nawiązać liczne kontakty, zarówno w krajowym środowisku naukowym (m.in. z Akademią Wychowania Fizycznego w Katowicach i w Gdańsku, Pomorską Akademią Medyczną w Szczecinie, Ośrodkiem Medycznym Galen w Bieruniu), jak i za granicą (m.in. z Institute of Sport, Exercise and Active Living (ISEAL), Victoria University - Victoria, Australia; School of Sport and Exercise Science, Victoria University - Victoria, Australia; Kent State University - Ohio, USA; Manchester Metropolitan University - Manchester, Wielka Brytania; School of Sport Sciences, University of Granada - Granada, Hiszpania; School of Medicine, University of Granada - Granada, Hiszpania; Universidad Europea de Madrid - Madryt, Hiszpania; Karolinska Institute - Huddinge, Szwecja; Ariel University Center - Ariel, Izrael; Moscow State University - Moskwa, Rosja; Ural State University of Physical Culture - Ural, Rosja; Kazan State Medical University - Kazan, Rosja; Volga Region State Academy of Physical Culture, Sport and Tourism - Kazan, Rosja; Vilnius Pedagogical University - Wilno, Litwa).

Podjęta współpraca krajowa i międzynarodowa zaowocowała znacznym rozszerzeniem spektrum prowadzonych przez nas analiz oraz zwiększeniem liczby badanych genów markerowych - wśród nich znalazły się także wspomniane wcześniej geny z rodziny *PPAR*, których analiza jest przedmiotem jednotematycznego cyklu publikacji będących podstawą prezentowanego przeze mnie osiągnięcia naukowego. Przeprowadzone analizy omawiane w niniejszych pracach wpisały się w stosunkowo nowy kierunek badań genetycznych odgrywających coraz ważniejszą rolę w nowoczesnych naukach o kulturze fizycznej. Ten bardzo dynamicznie rozwijający się w ostatnich latach trend naukowy obejmuje m. in. prowadzone przez nasz zespół genetyczne badania asocjacyjne, ale równocześnie na trend ten składają się także badania charakteryzujące się zupełnie odmienną metodologią (np. analizy funkcjonalne prowadzone *in vitro* i *in vivo*). Ponieważ w mojej opinii konfrontacja rezultatów takiego różnorodnego podejścia do tego samego problemu badawczego daje pełniejszy obraz danego zagadnienia i prowadzi do bardziej wiarygodnych wniosków, stąd też uzyskane przeze mnie wyniki

zostaną zaprezentowane bardziej szczegółowo poniżej, w kontekście innych projektów badawczych związanych z białkami i genami z rodziny PPAR prowadzonych obecnie na całym świecie.

#### **BADANI ZAWODNICY ORAZ GRUPA KONTROLNA**

Ogółem (w trakcie, jak i po zakończeniu realizacji wspomnianego powyżej projektu badawczego) naszemu zespołowi udało się łącznie zebrać materiał biologiczny w postaci wymazów nabłonka jamy ustnej (z których następnie wyizolowano materiał genetyczny) od 660 polskich zawodników wysokokwalifikowanych, którzy aktualnie lub w przeszłości uprawiali sport wyczynowo. Wymazy nabłonka jamy ustnej pobrano również od 704 nie spokrewnionych ze sobą osób, stanowiących grupę kontrolną. Osoby te określały siebie jako nieaktywne fizycznie (nie podejmujące systematycznie aktywności fizycznej) oraz nie uprawiały, zarówno aktualnie, jak i w przeszłości, żadnego sportu wyczynowego.

Badani zawodnicy reprezentowali możliwie jak najszersze i zróżnicowane spektrum dyscyplin/konkurencji sportowych, takich jak: lekkoatletyczne konkurencje biegowe na dystansach krótkich (100-400 m), średnich (800-1500 m) i długich (3-10 km, półmaraton i maraton), chód sportowy, triathlon, kolarstwo szosowe, biegi narciarskie (dystans 15-50 km), konkurencje pływackie na różnych dystansach (200 m, 400 m, 800 m, 1500 m), wioślarstwo, kajakarstwo, judo, boks, zapasy, szermierka, podnoszenie ciężarów, trójbój siłowy, pchnięcie kulą, rzut dyskiem, rzut oszczepem, rzut młotem, skok w dal, trójskok, skok w wzwyż, skok o tyczce. Zgodnie z klasyfikacją zaproponowaną przez Resortowe Centrum Metodyczno-Szkoleniowe Kultury Fizycznej i Sportu (Raczyńska 1990) - nieznacznie zmodyfikowaną w odpowiedzi na uwagi zgłaszane przez recenzentów z renomowanych czasopism międzynarodowych, w których publikowane były nasze prace - zdecydowaliśmy się podzielić badanych sportowców na 4 grupy (wytrzymałościową, wytrzymałościowo-siłową, szybkościowo-siłową oraz siłową) ze względu na następujące parametry: względny udział przemian tlenowych i beztlenowych w generowaniu energii niezbędnej do wykonania wysiłku fizycznego, czas trwania tego wysiłku podczas zawodów (biorąc pod uwagę czasy najlepszych zawodników w danej dyscyplinie lub konkurencji sportowej) oraz jego intensywność. Zgodnie z klasyfikacją zaproponowaną przez Druzhevskaya i wsp. (2008) w każdej grupie sportowcy zostali podzieleni na 4 kategorie ze względu na uzyskane rezultaty na zawodach krajowych i międzynarodowych: 1) złoci medaliści na zawodach międzynarodowych (Mistrzostwach Świata lub/i Mistrzostwach Europy lub/i Pucharze Świata lub/i Igrzyskach Olimpijskich), 2) srebrni i brązowi medaliści na zawodach międzynarodowych, 3) uczestnicy zawodów międzynarodowych, 4) medaliści na zawodach krajowych rangi mistrzowskiej. Dane szczegółowe dotyczące przynależności zawodników reprezentujących poszczególne dyscypliny/konkurencje do wyodrębnionych grup oraz ich kategoryzacji ze względu na osiągnięte sukcesy sportowe podano w przedstawianych przeze mnie pracach zawierających wyniki badań asocjacyjnych o charakterze przekrojowym [**Publikacja Hab2**, **Publikacja Hab3**].

#### **ZNACZENIE GENÓW Z RODZINY PPAR JAKO MARKERÓW W BADANIACH NAUKOWYCH Z ZAKRESU KULTURY FIZYCZNEJ**

Jako główny wykonawca badań w projekcie pt. "Polimorfizm wybranych genów wysokokwalifikowanych sportowców jako podstawa do konstrukcji profili genetycznych służących wstępnej selekcji zawodników" oraz w innych, równoległe prowadzonych projektach z zakresu genetyki sportowej, byłam odpowiedzialna za realizację wielu zadań badawczych, jednakże szczególnie zainteresowała mnie grupa genów PPAR kodujących białka z rodziny receptorów aktywowanych proliferatorami peroksydomów oraz inne związane z nimi geny. Z tego względu w swojej pracy naukowej skupiłam się przede wszystkim na kierowaniu pracami zespołu zajmującego się badaniem zróżnicowania tych genów u sportowców wysokokwalifikowanych. Przeprowadzone przez nas badania asocjacyjne oraz szczegółowa analiza literatury światowej potwierdzającej opisane przez nasz zespół zależności umożliwiły mi konstrukcję profili poligenowych obejmujących geny PPAR oraz geny z nimi powiązane, co jest podstawą prezentowanego osiągnięcia naukowego. Profile te

mogą być potencjalnie wykorzystane przez trenerów jako jedno z nowoczesnych narzędzi wzbogacających indywidualne karty charakterystyki zawodników.

Dotychczas wiele genów było badanych pod kątem związków pomiędzy obecnością w genomie różnych osób konkretnych alleli tych genów a obserwowaną u tych osób zróżnicowaną odpowiedzią na aplikowane bodźce treningowe (Bray i wsp. 2009). Skomplikowane zależności pomiędzy genami i kodowanymi przez nie białkami determinują zróżnicowanie funkcjonalne możliwości wykonywania wysiłków, przy rozwinięciu najbardziej ekonomicznych i efektywnych reakcji ustroju, decydując o poziomie ogólnej wydolności fizycznej organizmu. W obrębie markerów genowych, dla których wykazano związek z wydolnością i zdrowiem człowieka na szczególną uwagę zasługuje rodzina genów kodujących białka receptorów aktywowanych proliferatorami peroksysomów, ze względu na ich wielokierunkowe działanie fizjologiczne. Białka te (określane wspólnym skrótem PPAR, pochodzącym od ich anglojęzycznej nazwy) zostały po raz pierwszy opisane u myszy w roku 1990 (Issemann i Green 1990) jako tzw. receptory sieroce (ang. orphan receptors), ponieważ początkowo nie znano ich ligandów ani też funkcji. Pierwszymi zidentyfikowanymi cząstkami aktywującymi receptory PPAR były czynniki indukujące proliferację peroksysomów u gryzoni. Zaraz po tym zidentyfikowano inne ligandy dla tych receptorów, spośród których najważniejszymi są nienasycone kwasy tłuszczowe, i pomimo że w rzeczywistości żaden z receptorów PPAR nie aktywuje proliferacji peroksysomów u ludzi, to jednak nazwa tej grupy białek została zachowana. U ssaków, w tym również u człowieka, opisano dotychczas trzy izofomy białek z rodziny PPAR: PPAR $\alpha$  (alias NR1C1), PPAR $\delta$  (alias NR1C2, czasem błędnie określane jako odpowiednik występującej u płazów formy PPAR $\beta$ ) oraz PPAR $\gamma$  (alias NR1C3) (Nuclear Receptors Nomenclature Committee 1999). Poszczególne izoformy wykazują specyficzną tkankową oraz zróżnicowane w pewnym zakresie funkcje i powinowactwo do ligandów. U ludzi każda z izoform białek PPAR kodowana jest przez odrębny gen: białko PPAR $\alpha$  jest kodowane przez gen *PPARA* zlokalizowany na chromosomie 22, PPAR $\delta$  jest kodowane przez gen *PPARD* zlokalizowany na chromosomie 6, PPAR $\gamma$  jest kodowane przez gen *PPARG* zlokalizowany na chromosomie 3 ([www.ncbi.nlm.nih.gov/gene](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene)).

Obecnie wiadomo, że receptory PPAR są w rzeczywistości jądrowymi czynnikami transkrypcyjnymi, które poprzez wiązanie się ze specyficznymi sekwencjami DNA (określanymi jako PPRE - ang. PPAR response elements) w promotorach genów docelowych regulują ich ekspresję. Regulacja ta dotyczy wielu różnych genów kodujących białka uczestniczące w procesach metabolicznych - w ten sposób białka PPAR kontrolują m.in. gospodarkę lipidowo-węglowodanową, dzięki czemu uznawane są za kluczowe czynniki regulujące metabolizm energetyczny u człowieka. Jako że wydolność fizyczna organizmu człowieka zależy w dużej mierze od sprawności przemian metabolicznych lipidów i węglowodanów oraz precyzyjnego przemiennego zużycia tych substratów, zainteresowanie się białkami z rodziny PPAR oraz kodującymi je genami ze strony specjalistów z dziedziny kultury fizycznej wydaje się być w pełni uzasadnione i zostało przeze mnie opisane w obszernej pracy przeglądowej [**Publikacja Hab1**]. Dotychczas przeprowadzone na całym świecie badania, jak również wykonane przez nasz zespół naukowy analizy zróżnicowania genów kodujących białka z rodziny PPAR oraz inne geny z nimi związane sugerują, że wybrane warianty polimorficzne tych genów mogą być zaliczone do grupy tzw. polimorfizmów zwiększających wydolność (ang. performance enhancing polymorphisms, PEPs), które uznawane są za czynniki wpływające na funkcjonowanie organizmu człowieka (Ostrander i wsp. 2009). Szczegóły tych badań zostaną przedstawione poniżej.

#### **ANALIZA ZRÓŻNICOWANIA GENU *PPARA***

Gen *PPARA* koduje formę  $\alpha$  receptora aktywowanego proliferatorami peroksysomów (PPAR $\alpha$ ), która uznawana jest za centralny regulator ekspresji genów kodujących czynniki uczestniczące w metabolizmie kwasów tłuszczowych. Czynnikiem transkrypcyjnym PPAR $\alpha$  określane jest jako molekularny sensor dla kwasów tłuszczowych, którego fizjologiczna rola w odniesieniu do metabolizmu energetycznego może być rozpatrywana na trzech głównych poziomach: (1) regulacja poziomu trójglicerydów oraz lipoprotein cholesterolowych w surowicy krwi oraz kontrola ich katabolizmu, (2)

kontrola pobierania przez komórki i przez błonowego transportu wolnych kwasów tłuszczowych oraz (3) regulacja wewnątrzkomórkowych przemian wolnych kwasów tłuszczowych (ich wiązania, aktywacji oraz  $\beta$ -oksydacji w mitochondriach). W ten sposób PPAR $\alpha$  może koordynować i modulować działanie wielu ścieżek metabolicznych w zależności od aktualnych potrzeb organizmu (Desvergne i Wahli 1999).

Kontrola sprawowana przez PPAR $\alpha$  nad ekspresją genów kodujących enzymy uczestniczące w tlenowych przemianach metabolicznych jest, przynajmniej częściowo, odpowiedzialna za fizjologiczne zwiększenie wydolności organizmu człowieka w wyniku regularnych treningów fizycznych. Badania wykazały, że kilkutygodniowy trening wytrzymałościowy powoduje u ćwiczących osób w mięśniach szkieletowych wzrost stężenia białka PPAR $\alpha$  oraz innych białek zaangażowanych w szlaki  $\beta$ -oksydacji (np. dehydrogenazy acyl-CoA średnio- i długo-łańcuchowych kwasów tłuszczowych, MCAD, VLCAD), co przekłada się na podwyższenie poziomu przemian tlenowych kwasów tłuszczowych oraz zwiększenie pojemności tlenowej mięśni szkieletowych u tych osób poddawanych treningowi (Horowitz i wsp. 2000, Russel i wsp. 2003, Kramer i wsp. 2006). Przytoczone badania wskazują, że białko PPAR $\alpha$  pośredniczy w transformacji sygnałów wyzwalanych podczas intensywnego wysiłku fizycznego i jest elementem ogólnej odpowiedzi adaptacyjnej organizmu człowieka na zastosowany trening.

W genie *PPARA* opisano kilka miejsc polimorficznych mających charakter podstawień pojedynczych nukleotydów (ang. Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs), spośród których mnie szczególnie zainteresowało podstawienie typu G/C w intronie 7 identyfikowane w bazie danych genomowych NCBI numerem rs4253778 (inne określenia tego SNP: i7G2498C, *PPARA* IVS7 2498). Ten punkt polimorficzny został opisany równoległe przez Flavell'a i wsp. oraz Jamishidi'ego i wsp. w roku 2002. Przeprowadzone wtedy badania potwierdziły zależność pomiędzy allelem C opisywanym w tym punkcie polimorficznym a występowaniem przerostu lewej komory powstającym w odpowiedzi na ćwiczenia fizyczne. Wskazywano również na istnienie związków tego punktu SNP z pojawieniem się nadciśnienia tętniczego, miażdżycy naczyń oraz wzrostem ryzyka wystąpienia choroby niedokrwiennej serca. Wcześniej opisywano, że w przerośniętym sercu następuje spadek poziomu tlenowych przemian kwasów tłuszczowych oraz wzrost wykorzystania glukozy (Sack i wsp. 1996), w związku z czym wysunięto hipotezę, że allel C występujący w punkcie rs4253778 jest powiązany z obniżaniem ekspresji samego genu *PPARA*, w wyniku czego zmniejsza się pula dostępnego białka PPAR $\alpha$ , co w efekcie powoduje obniżenie ekspresji genów docelowych kontrolowanych przez ten czynnik transkrypcyjny i prowadzi do obniżenia poziomu przemian tlenowych. Ponieważ taka zmiana metabolizmu w kierunku przemian beztlenowych byłaby niekorzystna dla zawodników, u których energia niezbędna do wykonania wysiłku fizycznego generowana jest przynajmniej w części w przemianach tlenowych, należałoby oczekiwać, że allel C jako czynnik niesprzyjający będzie występował u tych zawodników znacznie rzadziej, natomiast allel G będzie u nich częstszy.

Hipoteza ta została potwierdzona w badaniach przeprowadzonych przez zespół naukowy, którego pracami kierowałam. Jako pierwsi w Polsce opublikowaliśmy wyniki badań punktu polimorficznego w intronie 7 genu *PPARA* u polskich zawodników [**Publikacja Hab6**, **Publikacja Hab7**], będąc równocześnie jednym z pierwszych zespołów w świecie zajmujących się tym zagadnieniem u profesjonalnych wysokokwalifikowanych sportowców. Aktualność podejmowanego tematu pozwoliła nam na opublikowanie pierwszej z prac [**Publikacja Hab6**] w prestiżowym międzynarodowym czasopiśmie *Journal of Science and Medicine in Sport* zajmującym się zagadnieniami naukowymi i medycznymi w sporcie, od wielu lat notowanym na Liście Filadelfijskiej, które w roku opublikowania pracy (2011) było umieszczone na ósmym miejscu na świecie w kategorii czasopism z zakresu nauk o sporcie w rankingu Thomson Reuters Web of Knowledge. W wyniku przeprowadzonych analiz udało się nam zaobserwować, że częstość zarówno genotypu GG, jak i samego allelu G opisywanego w punkcie polimorficznym rs4253778 w intronie 7 genu *PPARA* jest znacznie wyższa w grupie najlepszych polskich wioślarzy (wśród których byli złoci medalisci Igrzysk Olimpijskich oraz medalisci Mistrzostw Świata i Mistrzostw Europy) niż wskazywałby na to średnia częstość notowana w populacji. W drugiej z prac z 2011 roku [**Publikacja Hab7**], również



opublikowanej w międzynarodowym czasopiśmie notowanym na Liście Filadelfijskiej (*European Journal of Sport Science*), stwierdziliśmy, że podobny obraz zwiększonej frekwencji genotypu GG oraz allelu G istnieje w badanej grupie czołowych polskich zawodników reprezentujących sporty walki (judo, zapasy oraz boks).

Uzyskane przez nas rezultaty były zgodne z wynikami opisywanymi przez zespół naukowców z Rosji (Ahmetov i wsp. 2006), którzy wykazali, że genotyp GG był znacznie częstszy w grupie opisywanej przez Autorów jako zawodnicy zorientowani wytrzymałościowo (wśród których badani byli również rosyjscy wioślarze) lub nieznacznie częstszy u zawodników wykazujących tzw. aktywność pośrednią (wśród których byli rosyjscy zapaśnicy oraz bokserzy). Analiza trendu liniowego wykazała, iż frekwencja allelu C rośnie wraz ze wzrostem udziału przemian beztlenowych zaangażowanych w generowanie energii niezbędnej do wykonania wysiłku fizycznego, czego skrajnym przykładem było znaczące podwyższenie częstości występowania allelu C u rosyjskich zawodników określanych jako zorientowani na moc i siłę. Co więcej, wyniki biopsji mięśnia obszernego bocznego uda (*m. vastus lateralis*) przeprowadzonej u rosyjskich ochotników, nie będących profesjonalnymi zawodnikami sportowymi wskazywały, iż osoby będące homozygotami GG w punkcie polimorficznym w intronie 7 genu *PPARA* (w porównaniu do homozygot CC) miały znacząco wyższy procent wolnokurczliwych włókien mięśniowych typu I (Ahmetov et al. 2006), które są bogate w mioglobinę i wykorzystują głównie przemiany tlenowe do generowania energii skurczu (Scott i wsp. 2001, Spangenburg i Booth 2003). Znaczenie obecności allelu G w punkcie SNP w intronie 7 genu *PPARA* jako czynnika korzystnego dla zawodników z grup dyscyplin, w których szczególnie ważna jest zdolność do przeprowadzania długotrwałego wysiłku fizycznego angażującego przemiany tlenowe została również potwierdzona przez izraelsko-portugalski zespół badaczy. Wykazali oni, że porównując frekwencje genotypu GG u zawodników startujących w lekkoatletycznych konkurencjach biegowych na skrajnie różnych dystansach (biegacze długodystansowi na 10 km i maratończycy vs. sprinterzy na 100 - 200 m) można zaobserwować trend wzrostu częstości tego genotypu GG u zawodników długich dystansów (Eynon i wsp. 2009b).

Biorąc po uwagę omówione powyżej rezultaty analiz skupionych wokół punktu polimorficznego w intronie 7 genu *PPARA* można przypuszczać, że obserwowane zależności związane z korzystnym efektem obecności różnych form allelicznych w tym punkcie SNP u zawodników reprezentujących dyscypliny sportowe zróżnicowane ze względu na wymagania metaboliczne mogą być związane z wpływem tych alleli na ogólny kierunek i tempo przemian tlenowych i beztlenowych przebiegających w trakcie wykonywania wysiłku fizycznego. Allel G opisywany w punkcie polimorficznym rs4253778 w intronie 7 genu *PPARA* prawdopodobnie związany jest z prawidłową ekspresją genu *PPARA* i odpowiada za utrzymanie odpowiedniego poziomu fizjologicznego białka PPAR $\alpha$ , które jako czynnik transkrypcyjny odpowiada za stymulację tlenowych szlaków utylizacji substratów energetycznych w komórkach człowieka - na tej podstawie allel G został uznany za element pozytywnie skorelowany z podwyższaniem poziomu przemian aerobowych. Szczegółowy mechanizm molekularny tego zjawiska nie został dotąd opisany; przypuszcza się, iż warianty polimorficzne opisywane w punkcie rs4253778 w intronie 7 są powiązane poprzez klasyczne sprzężenie (ang. linkage) z innym markerem molekularnym występującym w jego bezpośrednim sąsiedztwie lub też powiązanie takie następuje poprzez tzw. nierównoważne sprzężenie (ang. linkage disequilibrium) z markerem położonym w bardziej oddalonych obszarach (np. regulatorowych genu *PPARA*) i dopiero taka interakcja wywołuje obserwowane efekty fizjologiczne (Doney i wsp. 2005, Chen i wsp. 2010). Istnieje także hipoteza, że ze względu na swoją lokalizację w genie *PPARA* warianty polimorficzne z intronu 7 mogą zaburzać wiązanie cząsteczek microRNA, wpływając w ten sposób na poziom ekspresji genu, a w konsekwencji na kierunek przemian metabolicznych (Cresci i wsp. 2008).

Należy przy tym zauważyć, że potencjalny wpływ poszczególnych alleli obserwowanych w punkcie polimorficznym w intronie 7 genu *PPARA* ma charakter subtelny, a obecność konkretnego allelu w omawianym punkcie SNP jedynie moduluje, a nie dramatycznie zmienia poziom przemian metabolicznych, dlatego też efekty tego typu nie są obserwowane w codziennym życiu nosicieli alleli C lub G. Natomiast zupełnie inaczej sytuacja wygląda u wysokokwalifikowanych zawodników, przed

organizmami których stawiane są wyzwania fizyczne nie spotykane w codziennym życiu. U najlepszych sportowców osiągnięcie oczekiwanego rezultatu zależy na poziomie fizjologicznym od wielu czynników, m.in. od niezwykle precyzyjnej regulacji tempa i kierunku przemian metabolicznych, zapewniających najbardziej efektywny sposób produkcji energii niezbędnej do wykonywania wysiłku fizycznego i dlatego nawet bardzo niewielkie zmiany w sprawności działania mechanizmów kontrolnych, jak na przykład te wynikające ze zróżnicowania genu *PPARA*, mogą wpływać na uzyskanie końcowego sukcesu sportowego.

Wyniki naszych oraz innych badań asocjacyjnych prowadzonych dla punktu polimorficznego w intronie 7 genu *PPARA* potwierdzają, iż w genotypie najlepszych zawodników reprezentujących dyscypliny, w których sukces sportowy uzależniony jest na poziomie metabolicznym od sprawności przemian tlenowych, należy spodziewać się obecności przynajmniej jednego allelu G, natomiast w przypadku zawodników dyscyplin określanej ogólnie jako siłowe, dla których charakterystyczne jest przesunięcie przemian metabolicznych w kierunku beztlenowych, można oczekiwać wyższej częstości homozygot CC.

### **ANALIZA ZRÓŻNICOWANIA GENU *PPARG***

Receptor aktywowany proliferatorami peroksydów typu  $\gamma$  (*PPAR $\gamma$* ) jest czynnikiem transkrypcyjnym zaangażowanym głównie w kontrolę utrzymania równowagi węglowodanowo-lipidowej. Białko to uznawane jest za kluczowy regulator procesów adipogenezy, odpowiadający za gromadzenie kwasów tłuszczowych i zachowanie równowagi energetycznej organizmu człowieka poprzez kontrolowanie skomplikowanych sieci metabolicznych skupiających ścieżki insulino-zależne (Desvergne i Wahli 1999). Z tego powodu zarówno białko, jak i kodujący je gen (*PPARG*) stanowią obiekt intensywnych badań nad patogenezą takich schorzeń człowieka jak hiperlipidemia, insulinooporność, cukrzyca typu 2, otyłość oraz choroby układu sercowo-naczyniowego (Meirhaeghe i Amouyel 2004). Dość dużym zaskoczeniem były wyniki badań wskazujących, że znaczenie białka *PPAR $\gamma$*  dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka jest znacznie szersze, jako że czynnik ten odgrywa również rolę w procesach różnicowania osteoblastów i osteoklastogenezie (Ogawa i wsp. 1999, Kawaguchi i wsp. 2005).

W wyniku wykorzystania różnych promotorów, w tym również promotora wewnętrznego, oraz na skutek procesów alternatywnego splicingu na bazie genu *PPARG* powstaje kilka transkryptów mRNA różniących się końcem 5'. Tworzone na ich podstawie izoformy białka *PPAR $\gamma$* :  $\gamma$ 1,  $\gamma$ 3 i  $\gamma$ 4 są identyczne, ponieważ powstają na podstawie informacji zawartej w egzonach 1-6, które są elementem wspólnym wszystkich powstających transkryptów, jedynie forma  $\gamma$ 2 posiada dodatkowych 28 N-terminalnych aminokwasów, kodowanych przez egzon B genu *PPARG*, który finalnie zlokalizowany właśnie na różnicującym końcu 5' cząsteczki mRNA (Fajas i wsp. 1997). W obrębie tego egzonu B znajduje się punkt polimorficzny C/G (identyfikowany w bazie danych genomowych NCBI numerem rs1801282). To właśnie podstawienie nukleotydu w genie *PPARG*, opisane po raz pierwszy przez Yen'a i wsp. w 1997 roku jako powodujące zmianę aminokwasu proliny w pozycji 12 białka *PPAR $\gamma$ 2* na alaninę (substytucja Pro12Ala), stało się obiektem mojego zainteresowania. Lokalizacja tej substytucji aminokwasowej w tzw. domenie AF-1 białka *PPAR $\gamma$ 2*, która kontroluje niezależną od ligandu zdolność do aktywowania ekspresji docelowych genów, pozwalała mieć nadzieję, że zaobserwowane w miejscu mutacji missensownej formy alleliczne genu *PPARG* (najczęściej opisywane w literaturze przedmiotu jako allel Pro12 tożsamy z allelem C i allel 12Ala odpowiadający allelowi G) będą miały znaczenie funkcjonalne, które może być istotne z punktu widzenia genetyki i fizjologii sportu.

Badania *in vitro* wykazały, że obecność allelu 12Ala w genie *PPARG* związana jest z obniżeniem powinowactwa białka *PPAR $\gamma$ 2* do sekwencji PPRE w promotorach genów docelowych (Deeb i wsp. 1998), a to skutkuje obniżeniem poziomu ich ekspresji, co zostało potwierdzone również w badaniach *in vivo* (Schneider i wsp. 2002). Dodatkowo wykazano działanie allelu 12Ala jako czynnika uwrażliwiającego wątrobę i mięśnie szkieletowe na działanie insuliny (Ek i wsp. 2001). Taka zwiększona wrażliwość na insulinę związana z obecnością allelu 12Ala w genie *PPARG* powodowała

supresję lipolizy w adipocytach i zmniejszenie uwalniania wolnych kwasów tłuszczowych (Stumvoll i wsp. 2001). Na skutek zmniejszonej dostępności tego paliwa molekularnego następuje specyficzne przesunięcie metabolizmu energetycznego w kierunku przemian beztlenowych z równoczesnym zwiększeniem zużycia glukozy w pracujących mięśniach szkieletowych, co zostało potwierdzone w badaniach z wykorzystaniem metod pozytronowej emisyjnej tomografii komputerowej (PET), dzięki której udało się zaobserwować zwiększony pobór glukozy przez mięśnie szkieletowe po stymulacji insuliną u nosicieli allelu 12Ala, podczas gdy u homozygot Pro12Pro12 w tej samej sytuacji stwierdzono znacznie mniejszą elastyczność w doborze substratów energetycznych (Thamer i wsp. 2002, Vanttinen i wsp. 2005b).

Jak wspomniano już wcześniej u wysokokwalifikowanych zawodników osiągnięcie sukcesu sportowego związane są ze sprawnością wielu mechanizmów metabolicznych, wśród których precyzyjny dobór substratów energetycznych oraz ich szybkie uwalniania z rezerw organizmu jest bardzo istotne, szczególnie w warunkach stresu fizjologicznego towarzyszącego wysiłkowi fizycznemu. Z uwagi na przytoczone powyżej wyniki badań nad znaczeniem funkcjonalnym poszczególnych form allelicznych Pro12 i 12Ala opisywanych w egzonie B genu *PPARG* postawiliśmy hipotezę, że obecność w genomie allelu 12Ala jako elementu układu faworyzującego zużywanie glukozy głównie w przemianach beztlenowych, powinna być szczególnie korzystna dla zawodników poddawanych krótkotrwałym wysiłkom o maksymalnej intensywności, kiedy energia do pracy mięśniowej pochodzi głównie z przemian beztlenowych.

Hipotezę tę zweryfikowaliśmy przeprowadzając, jako pierwszy zespół w Polsce i drugi na świecie, badania przekrojowe obejmujące genotypowanie punktu SNP Pro12Ala w genie *PPARG* w bardzo dużej i zróżnicowanej grupie zawodników [**Publikacja Hab3**]. Wyniki uzyskane przez kierowany przeze mnie zespół naukowy zostały opublikowane w renomowanym czasopiśmie *PLoS One*, które ze względu na prezentowanie wysoko ocenianych artykułów dotyczących najbardziej aktualnych problemów naukowych oraz zapewnienie w pełni otwartego dostępu on-line do swoich zasobów wyróżnia się bardzo szerokim zasięgiem międzynarodowym i wysokim wskaźnikiem cytowań (IF). Dzięki przeprowadzonym przez nas analizom molekularnym udało się potwierdzić postawioną na wstępie hipotezę. Wykazaliśmy, że allel 12Ala w genie *PPARG* występuje znacznie częściej u polskich zawodników rekrutowanych spośród: sprinterów (dystans 100-400 m), przedstawicieli typowych sportów siłowych (podnoszenie ciężarów, trójbój siłowy), zawodników uprawiających rzuty (pchnięcie kulą, rzut dyskiem, rzut oszczepem, rzut młotem) oraz skoki (skok w dal, trójskok, skok w wzwyż, skok o tyczce). Opisane przez nas wyniki pokrywały się z rezultatami genotypowania w analogicznej grupie sportowców rosyjskich, u których również zaobserwowano zwiększoną frekwencję allelu 12Ala u sprinterów, zawodników uprawiających rzuty oraz u ciężarowców (Ahmetov i wsp. 2008). W pracy tej dodatkowo wykazano, że obecność allelu 12Ala sprzyja hipertrofii włókien mięśniowych, co sugeruje, że ten wariant genu *PPARG* jest powiązany z rozwojem i przejawianiem się takich zdolności motorycznych jak siła i szybkość (Ahmetov i wsp. 2008).

W przypadku najlepszych sprinterów, zawodników sportów siłowych oraz tych uprawiających rzuty i skoki wysiłek fizyczny wykonywany przez nich podczas zawodów sportowych jest bardzo krótki (zazwyczaj nie przekracza 1 minuty), lecz niezwykle intensywny. Zapotrzebowanie energetyczne niezbędne do wykonania tego typu wysiłku pokrywane jest prawie w całości przez energię generowaną w beztlenowych przemianach: w pierwszych sekundach wykorzystywana jest energia zmagazynowana w komórkowych zasobach ATP i wykorzystywanej do jego szybkiej resyntezy fosfokreatyny, natomiast dalsza produkcja energii zachodzi na drodze beztlenowej glikolizy utylizującej glukozę uwalnianą z mięśniowych rezerw glikogenu. Według powszechnie przyjętych prawideł energii wyprodukowanej w ten sposób wystarcza na wykonanie wysiłku fizycznego trwającego maksymalnie do 60 s (Holloszy i Kohrt 1996). Dlatego też można uznać, że dla zawodników z dyscyplin wymienionych powyżej to glukoza jest głównym paliwem molekularnym, a więc obecność w ich genomach czynnika genetycznego takiego jak allel 12Ala w genie *PPARG*, faworyzującego wykorzystanie glukozy w trakcie przemian beztlenowych, powinna usprawniać

produkcję energii potrzebnej do wykonywanego przez nich wysiłku fizycznego, co jest okolicznością sprzyjającą celowi jakim jest osiągnięcie jak najlepszego rezultatu sportowego.

Udział białka PPAR $\gamma$ 2 w kontroli różnicowania adipocytów pozwala przypuszczać, że obserwowane w genie *PPARG* zróżnicowanie może mieć znaczenie w utrzymaniu właściwej proporcji masy ciała w stosunku do generowanej siły - parametru niezwykle istotnego u sportowców, szczególnie tych startujących w lekkoatletycznych konkurencjach związanych z rzucaniem czy w konkurencjach siłowych, takich jak podnoszenie ciężarów czy trójbój siłowy. Niewątpliwie parametr ten jest determinowany wielogenowo, a badania związane z oszacowaniem wpływu poszczególnych czynników genetycznych na ogólny BMI (ang. Body Mass Index) organizmu są bardzo skomplikowane, ze względu na sieć interakcji łączących różne geny wpływające na badaną cechę u człowieka oraz z powodu istnienia wielu możliwych czynników pozagenowych (dieta, stosowany trening, tryb życia, przyjmowane leki itp.) modyfikujących działanie czynników genetycznych. Jednakże w badaniach interwencyjnych zaobserwowano, że w grupie osób będących równocześnie na zdrowej diecie bogatej w wielonienasycone kwasy tłuszczowe oraz poddawanych odpowiedniemu treningowi fizycznemu pożądane efekty zmiany stylu życia były najlepiej widoczne u nosicieli allelu 12Ala w punkcie polimorficznym w egzonie B genu *PPARG* (Franks i wsp. 2004). Może to sugerować, że u zawodników podlegających niemalże stale reżimowi dietetycznemu oraz intensywnemu treningowi ten wariant genu *PPARG* będzie sprzyjał utrzymaniu właściwego stosunku masy ciała do generowanej siły.

Dodatkowy ciekawy aspekt stanowi wpływ białka PPAR $\gamma$ 2 na procesy osteogeny. Eksperymenty *in vitro* wykazały, że aktywacja tego czynnika transkrypcyjnego prowadzi do zahamowania formowania kości i zmniejszenia ich masy, podczas gdy ograniczenie jego aktywności daje efekty odwrotne (Kawaguchi i wsp. 2005). Prawdopodobnie spadek aktywności PPAR $\gamma$ 2 prowadzi do ograniczenia ekspresji pewnej specyficznej grupy genów docelowych kodujących czynniki antyosteogenne, które w normalnych warunkach ograniczają rozrost kości. Jako że wcześniej stwierdzono, że obecność wariantu 12Ala w punkcie polimorficznym w genie *PPARG* powoduje powstanie mniej aktywnej formy białka PPAR $\gamma$ 2, to można uznać allel 12Ala za czynnik sprzyjający zwiększeniu masy kości. Odrębne badania udowodniły również, że ten czynnik genetyczny związany jest z silniejszą mineralizacją kości, co może czynić je bardziej wytrzymałymi na złamania i urazy (Ogawa i wsp. 1999). U ciężarowców, gdzie układ kostny poddawany jest olbrzymim obciążeniom (zarówno podczas długotrwałych treningów, jak i w trakcie samych zawodów), obecność allelu 12Ala mogłoby być czynnikiem korzystnym. Posiadanie przez tych sportowców mocnych i wytrzymałych kostnych elementów szkieletowych, stanowiących rusztowanie dla pracujących mięśni i uczestniczących w przenoszeniu tych ekstremalnych obciążeń wydaje się być parametrem równie istotnym, co zdolność do generowania jak największej siły przez mięśnie.

Biorąc pod uwagę uzyskane przez nasz zespół wyniki analiz asocjacyjnych oraz rezultaty wielu różnych badań prowadzonych w innych ośrodkach naukowych nad punktem polimorficznym Pro12Ala zlokalizowanym w genie *PPARG* można uznać, że obecność allelu 12Ala w genotypie jest elementem korzystnym dla zawodników reprezentujących dyscypliny, w których osiągnięcie sukcesu sportowego zależy od sprawności metabolizmu beztlenowego oraz wysokiego poziomu zdolności siłowych i szybkościowych, a sam allel 12Ala może być zaliczony do grupy czynników genetycznych sprzyjających wykształcaniu oczekiwanych właściwości.

#### **ANALIZA ZRÓŻNICOWANIA GENU *PPARD***

Ostatnim badaniem przeze mnie genem należącym bezpośrednio do rodziny *PPAR* był gen *PPARD* kodujący receptor aktywowany proliferatorami peroksysomów typu  $\delta$  (PPAR $\delta$ ). W mięśniach szkieletowych białko PPAR $\delta$  jest najbardziej powszechnym przedstawicielem grupy receptorów PPAR, a oprócz tego znaczne jego poziomy notowane są w tkance tłuszczowej - obie lokalizacje tkankowe związane są z udziałem czynnika transkrypcyjnego PPAR $\delta$  w kontroli ekspresji genów kodujących kluczowe białka zaangażowane w pobieranie, przechowywanie oraz procesy oksydacyjnej utylizacji lipidów (Desvergne i Wahli 1999). Istnieją także dowody, że wpływ PPAR $\delta$  na metabolizm

energetyczny komórek odbywa się poprzez regulację aktywności i funkcjonowania mitochondriów (Stefan i wsp. 2007). Ze względu na szeroką fizjologiczną aktywność białka PPAR $\delta$  uważa się, że występowanie zróżnicowanych form polimorficznych zarówno samego białka, jak i genu go kodującego, może mieć znaczenie w patogenezie takich schorzeń jak cukrzyca, otyłość czy zespół metaboliczny (Karpe i Ehrenborg 2009).

Stwierdzono, że skoordynowanemu efektowi aktywacji receptora PPAR $\delta$  w mięśniach szkieletowych, objawiającemu się podwyższeniem poziomu przemian tlenowych, towarzyszy zmiana w strukturze samego mięśnia (wyrażona wzrostem proporcji włókien mięśniowych wykorzystujących do swej pracy głównie metabolizm tlenowy), a to uznawane jest za element ogólnej odpowiedzi adaptacyjnej organizmu na zaaplikowany trening fizyczny. Badania na transgenicznym myszom wykazały, że w wyniku specyficznej nadekspresji genu *PPARD* w mięśniach szkieletowych u tych zwierząt obserwuje się wzrost wydolności fizycznej mierzonej zdolnością do wykonywania znacznie dłużej trwającego biegu i pokonywania większych dystansów bez objawów zmęczenia mięśni, w porównaniu do myszy z normalnym poziomem ekspresji tego genu (Wang i wsp. 2004). Biopsje pobrane z różnych mięśni tych transgenicznych myszy dowiodły, że w mięśniach nastąpił wzrost na drodze hiperplazji liczby włókien bogatych w mioglobinę, w których energia do działania jest czerpana głównie z tlenowych procesów metabolicznych. Na podstawie dokładnych analiz histochemicznych zaliczono te włókna w większości do typu I (wolnokurczliwych), jak i częściowo do typu IIa (szybkokurczliwych) - oba typy charakteryzują się odpornością na zmęczenie (Spangenburg i Booth 2003), a zbudowane z nich mięśnie mają zwiększoną pojemność tlenową (Luquet i wsp. 2003). Przyniesione badania wskazują, że aktywacja czynnika transkrypcyjnego PPAR $\delta$  w mięśniach szkieletowych indukuje pojawianie się fenotypów podobnych do tych powstających pod wpływem intensywnego treningu fizycznego. Dodatkowo stwierdzono, że intensywna aktywność fizyczna powoduje wzrost ekspresji samego genu *PPARD* (Kannisto i wsp. 2006), co przekłada się na obserwowany wzrost poziomu mRNA i białka PPAR $\delta$  mierzonego w mięśniach osób ćwiczących po serii intensywnych ćwiczeń wytrzymałościowych (Mahoney i wsp. 2005).

Struktura ludzkiego genu *PPARD* opisana przez Skogsberga i wsp. w 2000 roku jest dość niezwykła: stwierdzono, że gen ten zawiera 9 egzonów, z czego egzony 1-3, jak również obszar 5' egzonu 4 oraz obszar 3' egzonu 9 zaliczane są do kategorii nie podlegających translacji egzonów niekodujących (według klasyfikacji Zhang'a z 1998 roku zaliczają się one do kilku różnych kategorii egzonów niekodujących: 5uexon, iuexon, iutexon, 3tuexon), co oznacza, że zawierają one sekwencje nie niosące bezpośredniej informacji o składzie aminokwasowym kodowanego białka. W roku 2007 w obrębie ludzkiego genu *PPARD* opisano kolejnych 5 niekodujących egzonów (oznaczonych symbolami 2a-2e) (Lundell i wsp. 2007). Punkty polimorficzne, które były przedmiotem moich badań zlokalizowane są kolejno w: intronie 3 (punkt polimorficzny A/G identyfikowany jako rs2267668), obszarze niekodującym 5' egzonu 4 (punkt T/C identyfikowany jako rs2016520) oraz regionie niekodującym 3' egzonu 9 (punkt T/C identyfikowany jako rs1053049).

Spośród tych trzech punktów polimorficznych najlepiej przebadany jest punkt rs2016520. Wyniki badań *in vitro* dowodzą, że występowanie różnych form allelicznych w tym punkcie może zaburzać miejsce wiązania dla czynnika transkrypcyjnego Sp1 (ang. Specificity protein 1) i przez to wpływać na poziom ekspresji samego genu *PPARD*. Występowanie allelu C (rzadszego z dwóch mogących występować w punkcie rs2016520 alleli) związane jest podwyższeniem powinowactwa promotora genu *PPARD* do czynnika Sp1, co skutkuje wyższą aktywnością transkrypcyjną tego genu (Skogsberg i wsp. 2003). Odkryte znaczenie funkcjonalne form polimorficznych opisywanych w punkcie rs2016520 pozwalało podejrzewać, że obecność konkretnego allelu może upośledzać zdolność do wykształcania zmian adaptacyjnych w mięśniach (takich jak wzrost poziomu metabolizmu tlenowego lipidów) w odpowiedzi na zaaplikowany trening wytrzymałościowy. Podejmowano próby zweryfikowania tej hipotezy przy zastosowaniu klasycznych badań asocjacyjnych typu "case:control", w których badano częstość występowania poszczególnych genotypów opisywanych w punkcie rs2016520 genu *PPARD*, jednakże nie udało się uzyskać jednoznacznego jej potwierdzenia. W trakcie realizacji międzynarodowego projektu badawczego HERITAGE Family Study, w którym wykonano

genotypowanie wielu punktów polimorficznych w różnych genach w dużej grupie zdrowych ochotników poddawanych 20-tygodniowemu treningowi wytrzymałościowemu, zaobserwowano, że u osób będących homozygotami CC w punkcie rs2016520 odnotowuje się najslabszy efekt stosowanego treningu, mierzony najmniejszym wzrostem pułapu tlenowego (maksymalnego poboru tlenu,  $\text{VO}_2$  max) oraz maksymalnej mocy wyjściowej (ang. maximal power output) (Hautala i wsp. 2007). Jednocześnie badania prowadzone u profesjonalnych sportowców wykazywały z jednej strony, że istnieje pozytywny związek pomiędzy obecnością allelu C w punkcie rs2016520 genu *PPARD* a wysoką wydolnością fizyczną u najlepszych sportowców w Rosji (Akhmetov i wsp. 2007), podczas gdy analizy prowadzone u zawodników w innych grupach narodowościowych nie potwierdzały roli tego allelu jako samodzielnego czynnika genetycznego związanego z podwyższaniem wydolności (Eynon i wsp. 2009a).

Inne szeroko zakrojone badania interwencyjne obejmujące zmianę diety u uczestników oraz wprowadzenie regularnych ćwiczeń fizycznych wykazały, że obecność rzadszego allelu G w punkcie polimorficznym rs2267668 oraz allelu C w punkcie rs1053049 w genie *PPARD* jest związana z mniejszym wzrostem objętości mięśni oraz mniejszym spadkiem masy tkanki tłuszczowej (Thamer i wsp. 2008). Stwierdzono także, że ten allel G w punkcie rs2267668 występuje znacząco częściej u osób, u których zaobserwowano najslabszy efekt zastosowanego programu długoterminowego treningu wytrzymałościowego wyrażany najmniejszym wzrostem indywidualnego progu anaerobowego (ang. Individual Anaerobic Threshold, IAT), który określany był przed i po zakończeniu treningu. Dodatkowo udowodniono, że allel G jest powiązany z mniejszą zawartością mitochondriów w komórkach mięśni szkieletowych hodowanych *in vitro* (Stefan i wsp. 2007). Co więcej, wykazano także, że allel T obecny w punkcie rs1053049 koreluje z szybszym pobieraniem glukozy przez mięśnie szkieletowe i sugerowano, że zaburza on zdolność do wiązania się białka PPAR $\delta$  do genów docelowych, w ten sposób wpływając na ich ekspresję, co w konsekwencji powoduje zmiany wrażliwości komórek na działanie insuliny i specyficzne zróżnicowanie poziomu przemian tlenowych i beztlenowych (Vanttinen i wsp. 2005a). Sugerowało to potencjalną rolę form polimorficznych opisywanych w punktach rs2267668 i rs1053049 w kształtowaniu określonych fenotypów metabolicznych u człowieka, które mogłyby być korzystne dla organizmów sportowców wykonujących określone typy wysiłku fizycznego.

Pomimo niejednoznaczności części z zaprezentowanych powyżej wyników, niektóre z uzyskiwanych rezultatów wskazywały, że warianty alleliczne opisywane w trzech punktach polimorficznych (rs2267668, rs2016520 i rs1053049) w genie *PPARD* mogą odgrywać pewną rolę w kształtowaniu ogólnej wydolności fizycznej u człowieka. Ponieważ jest to cecha determinowana na poziomie genetycznym wieloczynnikowo stwierdziłam, że w świetle kontrowersyjnych rezultatów uzyskiwanych we wcześniejszych badaniach prowadzonych w stosunkowo niewielkich grupach profesjonalnych sportowców na pojedynczych punktach polimorficznych w genie *PPARD*, należy zmienić podejście metodyczne i przeprowadzić bardziej kompleksową analizę wszystkich trzech punktów równocześnie. Dawało to szansę na wykrycie u polskich zawodników reprezentujących różne dyscypliny sportowe zróżnicowanej częstości występowania poszczególnych genotypów i frekwencji alleli opisywanych w kolejnych punktach polimorficznych w genie *PPARD*. Z powodu położenia wszystkich trzech badanych punktów polimorficznych dość blisko siebie w obrębie jednego genu możliwym było także przeprowadzenie dodatkowej analizy prowadzącej do opisu pojawiających się u badanych osób haplotypów. Haplotypy budowane są przez układów konkretnych alleli występujących w badanych punktach, które położone są na jednej chromatydzie (pojedynczym chromosomie homologicznym) i dziedziczą się jako zestaw sprzężony. Pozwalało to mieć nadzieję na zaobserwowanie przez nasz zespół unikatowych korelacji, nie rejestrowanych w prowadzonych wcześniej przez innych naukowców analizach pojedynczych punktów polimorficznych.

Kierowany przeze mnie zespół był pierwszym na świecie, który przeprowadził równoczesną analizę wszystkich trzech punktów SNP w genie *PPARD* w tak dużej grupie profesjonalnych zawodników reprezentujących szeroki przekrój zróżnicowanych dyscyplin sportowych [**Publikacja Hab2**]. Pozwoliło to nam na opublikowanie uzyskanych wyników w jednym z najbardziej

prestiżowych czasopism zajmujących się zagadnieniami naukowymi i medycznymi w sporcie *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, które ze względu na wysoki indeks cytowań od wielu lat plasuje się w pierwszej dziesiątce najlepszych międzynarodowych periodyków w dziedzinie nauk o sporcie w rankingu Thomson Reuters Web of Knowledge. W wyniku przeprowadzonego genotypowania udało się nam odnotować istotne statystycznie różnice w częstości genotypów rejestrowanych w punktach rs2016529 oraz rs1053049 u zawodników reprezentujących różne grupy dyscyplin sportowych. Ale najbardziej uderzającą obserwacją wynikającą z przeprowadzonej przeze mnie kompleksowej analizy haplotypów jest stwierdzenie znacząco rzadszego występowania haplotypu A/C/C (opisywanego dla alleli występujących w badanych punktach polimorficznych uszeregowanych według następującej kolejności: rs2267668/rs2016520/rs1053049) w całej grupie badanych polskich zawodników. Zjawisko to dało się zaobserwować praktycznie niezależnie od dyscypliny reprezentowanej przez badanych sportowców, co sugeruje, że obecność takiego układu alleli jest niekorzystna dla wszystkich wysokokwalifikowanych zawodników osiągających największe sukcesy sportowe, bez względu na ich potrzeby metaboliczne związane z produkcją energii niezbędnej do wykonania przez nich odpowiedniego wysiłku fizycznego podczas zawodów. Być może opisany w naszej pracy układ alleli w genie *PPARD* jest związany z zapewnieniem ogólnej sprawności i plastyczności układu metabolicznego produkującego energię, zarówno w trakcie przemian tlenowych, jak i beztlenowych. Prawidłowe działanie takiego układu zapewniającego stałą produkcję ATP jest równie istotne dla zawodników zaangażowanych w krótkotrwałe i intensywne wysiłki (charakterystyczne np. dla sprintów, rzutów czy skoków), jak i dla zawodników sportów wytrzymałościowych (np. maratończyków, chodźców, kolarzy, triathlonistów itp.), od których wymaga się zdolności do wykonywania ekstremalnie wydłużonego wysiłku fizycznego o umiarkowanej intensywności.

Jak już wspomniano powyżej, równoczesna analiza wzmiankowanych punktów SNP w genie *PPARD* nie była dotychczas przeprowadzona nigdzie indziej na świecie, dlatego też mamy nadzieję, że w najbliższym czasie zespoły naukowe z innych krajów przeprowadzą analogiczne genotypowanie u zawodników reprezentujących różne grupy narodowościowe, przez co dokonają weryfikacji ustaleń poczynionych w naszej pracy, co pozwoli jednoznacznie określić znaczenie opisywanego przez nas układu haplotypowego w kształtowaniu korzystnych cech fizjologicznych u wysokokwalifikowanych sportowców.

#### **ANALIZA ZRÓŻNICOWANIA GENU *PPARGCIA***

Poza genami należącymi do rodziny *PPAR* istnieje również wiele innych genów, które kodują czynniki bezpośrednio współpracujące z czynnikami transkrypcyjnymi z grupy *PPAR* np. jako ich specyficzne koaktywatory. Wśród tych czynników jednym z najlepiej poznanych jest białko *PGC1- $\alpha$*  (ang. Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma Co-activator 1 $\alpha$ ) kodowane u człowieka przez gen *PPARGCIA*. Po raz pierwszy białko to zostało opisane w 1998 roku u myszy eksponowanych na chłód, u których w tych warunkach zaobserwowano znaczący wzrost ekspresji *PGC1 $\alpha$*  w mięśniach szkieletowych i brunatnej tkance tłuszczowej, stąd też pierwotnie koaktywator ten był określany jako „czynnik indukowany zimnem” (Puigserver i wsp. 1998). U człowieka białko *PGC1 $\alpha$*  uznawane jest za kluczowy komponent skoordynowanej odpowiedzi adaptacyjnej organizmu na zaaplikowany trening wytrzymałościowy. Badania wykazały, że poziom mRNA powstającego w procesie transkrypcji genu *PPARGCIA* oraz ilość białka *PGC-1 $\alpha$*  w mięśniach szkieletowych znacząco wzrastają po intensywnym wysiłku fizycznym, co uważa się za jeden z głównych czynników związanych z potreningowym efektem zwiększenia pojemności tlenowej mięśni (Pilegaard i wsp. 2003, Norrbom i wsp. 2004, Kramer i wsp. 2006, Mathai i wsp. 2008). Obserwowane w mięśniach szkieletowych zmiany są konsekwencją transformacji włókien mięśniowych typu IIB (szybkokurczliwych, ubogich w mitochondria włókien, które korzystają głównie z energii wytworzonej podczas glikolizy) w bogatsze w mitochondria włókna IIA (szybkokurczliwe, wykorzystujące częściowo energię wytworzoną w procesie glikolizy w cytoplazmie, jak również energię generowaną w procesie fosforylacji oksydacyjnej w mitochondriach) oraz włókna typu I

(wolnokurczliwe, bogate w mitochondria, zawierające duże stężenie mioglobiny, które energię do skurczu czerpią z procesów tlenowych, charakteryzują się one powolnym narastaniem siły skurczu i dużą wytrzymałością na zmęczenie) (Lin i wsp. 2002, Russell i wsp. 2003). Bardziej szczegółowe badania wykazały, że pod wpływem PGC1 $\alpha$  zwiększa się liczba mitochondriów w komórkach oraz następuje wzrost ekspresji genów kodujących białka zaangażowane w metabolizm tlenowy kwasów tłuszczowych, jak również w procesy fosforylacji oksydacyjnej w mitochondriach. Aktywność PGC1 $\alpha$  reguluje także ekspresję genów kodujących kluczowe białka uczestniczące w transporcie i utylizacji substratów energetycznych oraz prowadzi do silniejszej kapilaryzacji mięśni (Vega i wsp. 2000, Tunstall i wsp. 2002).

Jak wskazano powyżej jedną z ważniejszych przyczyn zmian adaptacyjnych obserwowanych na poziomie molekularnym zachodzących w mięśniach szkieletowych pod wpływem treningu jest niewątpliwie aktywność białka PGC1 $\alpha$ . Nazwa tego białka sugeruje, że jest ono koaktywatorem receptora PPAR $\gamma$ , jednakże w rzeczywistości białko PGC-1 $\alpha$  jest koaktywatorem wielu różnych czynników transkrypcyjnych, w tym wszystkich typów białek PPAR. Aktywacja i regulacja pracy tych czynników transkrypcyjnych leży u podstawy efektów potreningowych, które są obserwowane w mięśniach szkieletowych (Lin i wsp. 2005). Szczegółowe molekularne mechanizmy działania białka PGC1 $\alpha$  jako czynnika uruchamiającego potreningowe zmiany adaptacyjne zostały dokładniej opisane w pracy prezentującej wyniki analizy zróżnicowania genu *PPARGC1A* u polskich i rosyjskich zawodników, będącej częścią jednotematycznego cyklu publikacji stanowiącego przedmiot prezentowanego przeze mnie osiągnięcia naukowego [**Publikacja Hab4**], natomiast na potrzeby niniejszego opracowania przedstawione zostaną tylko wybrane aspekty tych procesów komórkowych, kluczowe dla interpretacji uzyskanych wyników.

Interakcja białka PGC1 $\alpha$  z czynnikami z rodziny PPAR w większości tkanek (mięśniach, wątrobie) prowadzi do podwyższenia poziomu metabolicznych przemian tlenowych poprzez stymulację ekspresji genów kodujących białka zaangażowane w oksydację kwasów tłuszczowych. Co ciekawe, w wyniku oddziaływania białka PGC1 $\alpha$  z czynnikami PPAR dochodzi także do wzrostu ekspresji genu *UCP-1* kodującego termogeninę - białka powodujące rozprężnięcie transportu elektronów od procesów fosforylacji, co w konsekwencji prowadzi do uwalniania energii w postaci ciepła przez pracujące mięśnie (Wu i wsp. 1999). PGC1 $\alpha$  może również wpływać na tempo i kierunek metabolizmu energetycznego poprzez oddziaływanie z czynnikiem transkrypcyjnym MEF-2 (ang. Myocyte Enhancer Factor 2) (Michael i wsp. 2001), który w mięśniach szkieletowych stymuluje ekspresję genów kodujące białka transportujące glukozę (np. GLUT4, ang. Glucose Transporter 4), stąd też obserwuje się, że aktywacja MEF-2 za pośrednictwem PGC1 $\alpha$  usprawnia pobieranie glukozy przez komórki i wpływa na pulę dostępnych substratów energetycznych (Liu i wsp. 1993). Do grupy czynników wchodzących w interakcje z koaktywatorem PGC1 $\alpha$  zalicza się również czynnik transkrypcyjny FOXO1 (ang. Forkhead Box Protein O1), który prawdopodobnie odgrywa rolę we wzroście i różnicowaniu komórek mięśniowych, a w kontekście przemian podstawowych substratów jest zaangażowany w wiele etapów metabolizmu glukozy i obecnie uznawany jest za jeden z kluczowych czynników zarządzających ogólnoustrojowym metabolizmem energetycznym (Kousteni 2012). Białko PGC1 $\alpha$  oddziałuje na metabolizm energetyczny również na poziomie regulacji liczby i funkcji mitochondriów w komórkach człowieka. Odbywa się to głównie przez interakcje z czynnikami transkrypcyjnymi NRF1 (ang. Nuclear Respiratory Factor 1) i NRF2. Czynniki te uznawane są za jedne z najważniejszych regulatorów powstawania i funkcjonowania mitochondriów, a ich aktywacja prowadzi do wzrostu ekspresji genów kodujących białka uczestniczące w transporcie elektronów w łańcuchu oddechowym oraz białka bezpośrednio zaangażowane w fosforylację oksydacyjną, jak również białka szlaku biosyntezy hemu oraz białka uczestniczące w replikacji i transkrypcji mtDNA (Kelly i Scarpulla 2004). Podobne efekty intensyfikujące metabolizm tlenowy w mitochondriach ma oddziaływanie koaktywatora PGC1 $\alpha$  na inny czynnik transkrypcyjny ER $\alpha$  (ang. Estrogen Related Receptor  $\alpha$ ), który dodatkowo ma zdolność do indukowania aktywności czynników wzrostu śródbłonka naczyń (ang. Vascular Endothelial Growth Factors, VEGFs), odgrywających kluczową rolę w formowaniu naczyń krwionośnych i procesie kapilaryzacji (Chinsomboon i wsp. 2009).



W obrębie genu *PPARGC1A* opisano kilka punktów polimorficznych o charakterze mutacji missensownych, spośród których najczęściej badany był punkt G/A o numerze identyfikacyjnym rs8192678 powodujący substytucję glicyny seryną w pozycji 482 białka PGC1 $\alpha$  (Gly482Ser). Obserwowane w tym punkcie genu *PPARGC1A* warianty polimorficzne określane są zwyczajowo w literaturze przedmiotu jako allele Gly482 (odpowiada allelowi G) i 482Ser (tożsamy z allelem A). Pierwotne zainteresowanie wzbudzało znaczenie tych wariantów allelicznych w patogenezie różnych chorób występujących w populacji ludzkiej; wykazano, że obecność allelu 482Ser może być istotna w rozwoju takich schorzeń jak: cukrzyca typu 2, obniżenie sekrecji insuliny, podwyższenie ciśnienia krwi, podatność na otyłość; jednakże uzyskiwane w badaniach pacjentów wyniki nie były jednoznaczne.

Z powodu przedstawionych powyżej informacji dotyczących udziału białka PGC1 $\alpha$  w kształtowaniu wielokierunkowych zmian adaptacyjnych powstających u osób trenujących zrozumiałym jest, że formy polimorficzne opisywane w punkcie rs8192678 genu *PPARGC1A* stały się obiektem intensywnych analiz prowadzonych przez naukowców zajmujących się sportem w różnych regionach świata. Punkt ten stał się także obiektem badań prowadzonych przez kierowany przeze mnie zespół naukowy. W trakcie wykonywania tych analiz udało się nam nawiązać współpracę z rosyjskim zespołem naukowym aktywnie działającym na polu badań asocjacyjnych prowadzonych u profesjonalnych zawodników sportowych, co pozwoliło nam na rozszerzenie dotychczas stosowanego schematu metodycznego i zaprojektowanie eksperymentu w formie popularnego ostatnio badania replikacyjnego. Przygotowane na tej podstawie praca prezentująca pierwsze przeprowadzone w Polsce badania nad zróżnicowaniem genu *PPARGC1A* u polskich sportowców [**Publikacja Hab4**] została opublikowana w renomowanym międzynarodowym periodyku notowanym na Liście Filadelfijskiej (*Journal of Sports Sciences*). Ze względu na kolejność wykonanych analiz wyniki uzyskane dla grupy polskich zawodników zostały zaprezentowane jako badanie wstępne (ang. initial association study), natomiast wyniki genotypowania w grupie zawodników rosyjskich posłużyły jako badanie replikacyjne (ang. replication study), weryfikujące wyniki badania wstępnego. W efekcie przeprowadzonych analiz udało się nam wykazać, że allel 482Ser występuje znacząco rzadziej u wysokokwalifikowanych zawodników (w przypadku prób polskich, jak i rosyjskich) w porównaniu do nieaktywnej fizycznie grupy kontrolnej. Obniżenie frekwencji allelu 482Ser było szczególnie wyraźne u polskich zawodników reprezentujących grupy dyscyplin opisywanych jako szybkościowo-siłowe, siłowo-wytrzymałościowe i wytrzymałościowe. Grupy te charakteryzują się wzrostem względnego udziału przemian tlenowych w generowaniu energii niezbędnej do wykonywania wysiłku fizycznego, przy czym trzeba zaznaczyć, że najniższą częstość allelu 482Ser odnotowano wśród sportowców z grupy "wytrzymałościowej", u których kontrybucja komponentu tlenowego jest wyrażona najsilniej. Analizując rozkład częstości alleli występujących w punkcie rs8192678 w genie *PPARGC1A* u badanych polskich i rosyjskich zawodników grupowanych ze względu na odnoszone sukcesy sportowe zauważyliśmy, że najniższa frekwencja allelu 482Ser występuje w grupie "top-elite" i "elite", czyli złotych oraz srebrnych i brązowych medalistów zawodów międzynarodowych (Mistrzostwach Świata lub/i Mistrzostwach Europy lub/i Pucharze Świata lub/i Igrzyskach Olimpijskich), natomiast nieco wyższą częstość allelu 482Ser odnotowaliśmy u zawodników mających na swoim koncie jedynie sukcesy krajowe (zdobywcy kwalifikacji krajowych uczestniczący w zawodach międzynarodowych oraz medaliści na zawodach krajowych rangi mistrzowskiej), przy czym nawet w tym ostatnim przypadku częstość allelu 482Ser u zawodników była niższa niż ta obserwowana w grupie kontrolnej.

Podobne rezultaty zostały uzyskane przez inne zespoły naukowców badających punkt polimorficzny rs8192678 w genie *PPARGC1A* u izraelskich lekkoatletów (Eynon i wsp. 2009a, 2009b) oraz u hiszpańskich kolarzy szosowych i biegaczy długo/średniodystansowych (Lucia i wsp. 2005). W badaniach tych również wykazano obniżoną częstość allelu 482Ser u zawodników reprezentujących dyscypliny, w których zdolność do sprawnego wykonywania wydłużonego wysiłku fizycznego na koszt energii powstającej głównie w przemianach tlenowych jest kluczowa do osiągnięcia końcowego sukcesu sportowego. Co więcej, badania przeprowadzone u rosyjskich wioślarzy wskazują, że obecność allelu 482Ser jest skorelowana z obniżeniem parametrów wydolności aerobowej mierzonej

zmianami w wielkości maksymalnej mocy tlenowej (ang. maximal aerobic power) oraz indywidualnego progu anaerobowego (Ahmetov i wsp. 2007). Również analizy przeprowadzone u osób trenujących uczestniczących w interwencyjnym programie badawczym (Tuebingen Lifestyle Intervention Program), nie będących profesjonalnymi zawodnikami wykazały, że u nosicieli allelu 482Ser obserwuje się najsłabsze efekty stosowanych ćwiczeń fizycznych, określane przez najmniejsze przyrosty w indywidualnym progu anaerobowym (Stefan i wsp. 2007).

Wszystkie przytoczone powyżej dane sugerują, że allel 482Ser w genie *PPARGC1A* może być czynnikiem niekorzystnym, natomiast allel Gly482 jest pożądanym w genomie zawodnika w kontekście kształtowania wydolności fizycznej, rozumianej jako zdolność do wykonywania długotrwałej pracy fizycznej bez głębokich zmian w środowisku wewnętrznym ustroju, powodujących szybkie narastanie zmęczenia (Kozłowski i Nazar 1999). Znaczenie funkcjonalne poszczególnych wariantów allelicznych opisywanych w punkcie polimorficznym rs8192678 w genie *PPARGC1A* może wynikać z wielu powodów, co zostało dokładniej przedyskutowane w naszej pracy [**Publikacja Hab4**]. Jedną z możliwych przyczyn obserwowanego niekorzystnego wpływu allelu 482Ser jest lokalizacja powodowanej przez jego obecność substytucji aminokwasowej w obrębie cząsteczki białka PGC1 $\alpha$ . Podstawienie Gly482Ser zachodzi w specyficznej domenie rozciągającej się pomiędzy 403 a 570 aminokwasem, która odpowiada za interakcję pomiędzy białkiem PGC1 $\alpha$  a czynnikiem transkrypcyjnym MEF-2 (Zhang i wsp. 2007). Jak wspomniano już wcześniej, czynnik MEF-2 odpowiada za mięśniowo-specyficzną kontrolę ekspresji genów kodujących transportery glukozy, takich jak np. gen *GLUT4*. Skuteczna aktywacja promotorów tych genów docelowych wymaga współpracy czynników MEF-2 i PGC1 $\alpha$  (Michael i wsp. 2001), a przeprowadzone na rekombinowanych plazmidach eksperymenty wykazały, że zamiana glicyny na serynę w pozycji 482 białka PGC1 $\alpha$  powoduje zaburzenie prawidłowej interakcji MEF-2/PGC1 $\alpha$  (Zhang i wsp. 2007). Może to prowadzić do upośledzenia transportu glukozy do komórek, co zmienia proporcję dostępnych substratów, wpływa na syntezę glikogenu oraz następczo na magazynowanie kwasów tłuszczowych. Zjawiska te zaburzają równowagę metaboliczną oraz powodują charakterystyczne zmiany w kierunkach i tempie przemian energetycznych. Obecność allelu 482Ser w genotypie zawodnika może mieć również związek z obniżeniem intensywności transformacji włókien mięśniowych w kierunku typów oksydacyjnych, która zachodzi w mięśniach szkieletowych po aplikacji treningu wytrzymałościowego. Aby opisywany proces transformacji mógł zaistnieć, koniecznym jest indukcja genów *MB* (dla mioglobiny) oraz *TNNI1* (dla troponiny I), jako że kodowane przez nie białka są charakterystyczne dla włókien wolnokurczliwych. Stymulacja ekspresji tych genów również zależy od prawidłowego oddziaływania białka PGC1 $\alpha$  z czynnikiem MEF-2 (Lin i wsp. 2002), dlatego też jakiegokolwiek zaburzenie tego oddziaływania, np. spowodowane przez obecność seryny w pozycji 482 białka PGC1 $\alpha$ , prowadzi do obniżenia skuteczności transformacji włókien mięśniowych. Co więcej, prawidłowe tworzenie kompleksu MEF-2/PGC1 $\alpha$  (warunkowane polimorfizmem Gly482Ser) wydaje się być także warunkiem utrzymania odpowiedniego poziomu ekspresji samego genu *PPARGC1A* poprzez specyficzną pętlę autoregulatorową (Handschin i wsp. 2003).

Uwzględniając fizjologiczną rolę białka PGC1 $\alpha$  oraz znaczenie funkcjonalne alleli opisywanych w punkcie polimorficznym rs8192678 genu *PPARGC1A*, warunkowane specyficzną lokalizacją powodowanej substytucji aminokwasowej w obrębie tego białka, można przypuszczać, że allel 482Ser będzie miał charakter czynnika genetycznego niepożądanego w genotypie najlepszych zawodników reprezentujących dyscypliny, w których sukces sportowy uzależniony jest na poziomie metabolicznym od sprawności przemian tlenowych. Uzyskane przez nasz zespół naukowy wyniki potwierdzają, że w genotypie takich zawodników znacznie częściej obserwuje się obecność allelu Gly482, który może być uznany za korzystny czynnik genetyczny, sprzyjający poprawie sprawności metabolizmu tlenowego oraz przyspieszający pojawianie się pożądaných efektów stosowanego treningu wytrzymałościowego.

#### **ANALIZA ZRÓŻNICOWANIA GENU *GABPB1***

Jak wspomniano już w poprzednim podrozdziale kontrola metabolizmu energetycznego w organizmie człowieka realizowana jest na wielu poziomach, wśród których jednym z istotniejszych

jest regulacja liczby i funkcji mitochondriów. Pozostałością endosymbiotycznej historii ewolucyjnej mitochondriów jest ich genom (mtDNA), kodujący głównie szereg białek pośredniczących w transporcie elektronów w łańcuchu oddechowym, jak również białka bezpośrednio zaangażowane w fosforylację oksydacyjną. Jednakże kontrola ekspresji samego mtDNA, jak również dynamika rozwoju i liczby mitochondriów na terenie komórki zależy już od czynników determinowanych przez genom jądrowy. Dotychczas zidentyfikowano całą grupę takich czynników, spośród których dwa czynniki transkrypcyjne: NRF1 i NRF2 wydają się być kluczowe w kontekście powstawania i prawidłowego funkcjonowania mitochondriów (Kelly i Scarpulla 2004).

Dotychczas ustalono, że jądrowy czynnik oddechowy 2 (ang. Nuclear Respiration Factor 2, NRF-2) jest czynnikiem transkrypcyjnym kontrolującym ekspresję genów docelowych kodujących białka łańcucha oddechowego i szlaku biosyntezy hemu oraz białka uczestniczące w replikacji i transkrypcji mtDNA, co wskazuje na jego newralgiczną rolę w biogenezie mitochondriów (Baar 2004). Białko NRF-2 znane jest pod oficjalną nazwą "czynnik transkrypcyjny białka regulatorowego wyższych kręgowców GABP" (ang. GA-binding protein (GABP) transcription factor). Jest to białko złożone, które aktywność transkrypcyjną uzyskuje jako heterotetramer budowany przez podjednostki:  $\alpha$  (zawiera domenę wiążącą DNA) i  $\beta$  (zawiera domenę odpowiadającą za aktywację transkrypcji). Podjednostki te kodowane są przez odrębne geny *GABPA* i *GABPB1* (Rosmarin i wsp. 2004).

Ze względu na biologiczną rolę białka NRF2 jako działającego wielokierunkowo czynnika biogenezy mitochondriów sugerowano, że może ono wpływać na wydolność tlenową organizmu człowieka przez usprawnienie biochemicznych procesów oddychania komórkowego prowadzących do podwyższanie tempa produkcji ATP podczas wysiłku fizycznego (Scarpulla i wsp. 2012). Potwierdzono również rolę białka NRF2 w indukcji ekspresji genów kodujących różne białka i enzymy przeciwdziałające efektom stresu oksydacyjnego (Kobayashi i Yamamoto 2005) oraz w aktywacji ekspresji czynników prozapalnych (Khor i wsp. 2006). Badania asocjacyjne związane z genem *GABPB1* (prowadzone w ramach omawianego już powyżej międzynarodowego projektu badawczego HERITAGE Family Study) wykazały, że wybrane punkty polimorficzne zlokalizowane w genie *GABPB1* są skorelowane ze wzrostem maksymalnego poboru tlenu ( $VO_2$  max) w odpowiedzi na stosowany 20-tygodniowy trening wytrzymałościowy (Bouchard i wsp. 2000). Dokładniejsze analizy pozwoliły stwierdzić, że z obserwowaną reakcją potreningową związek może mieć punkt polimorficzny A/G w intronie 3 genu *GABPB1* identyfikowany jako rs7181866 (He i wsp. 2007).

Biorąc pod uwagę przedstawione powyżej fakty postanowiłam sprawdzić czy częstość występowania różnych form polimorficznych w tym punkcie SNP genu *GABPB1* będzie odmienna u wysokokwalifikowanych polskich zawodników osiągających znaczące sukcesy sportowe w porównaniu do grupy kontrolnej osób nieaktywnych fizycznie. Aby zweryfikować tę hipotezę wraz z zespołem naukowym, którego badaniami kierowałam, przeprowadziliśmy jako pierwsi w Polsce genotypowanie w punkcie rs7181866 w zebranej grupie wysokokwalifikowanych zawodników oraz w grupie kontrolnej. Na podstawie wykonanej analizy stwierdziliśmy, że przy całkowitym braku genotypu GG (co nie było zaskakujące, jako że jest to genotyp praktycznie nie występujący w całej populacji europejskiej i skrajnie rzadki w innych populacjach) odnotowuje się znacząco podwyższoną frekwencję allelu G (co jest konsekwencją wysokiej częstości genotypu heterozygotycznego AG) w grupie czołowych polskich wioślarzy, w porównaniu do średniej obserwowanej w grupie kontrolnej. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w polskim czasopiśmie indeksowanym na Liście Filadelfijskiej (*Journal of Human Kinetics*) [**Publikacja Hab5**].

Badania tego samego punktu SNP w genie *GABPB1* prowadzone przez innych autorów wskazują, że allel G jest pozytywnie skorelowany z obserwowanym po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego wzrostem  $VO_2$  max (He i wsp. 2007). Pomiarzy prowadzone u izraelskich sportowców (Eynon i wsp. 2009c) wykazały, że allel G był znacznie częstszy u zawodników reprezentujących tzw. grupę dyscyplin wytrzymałościowych (startujących w lekkoatletycznych konkurencjach biegowych na długich dystansach). Na podstawie uzyskanych danych sugerowano, że obecność allelu G w punkcie rs7181866 genu *GABPB1* może modyfikować miejsca cięcia cząsteczek mRNA rozpoznawane w trakcie jego obróbki potranskrypcyjnej. W związku z tym postulowano, że

allel G opisywany w punkcie rs7181866 (wraz z innymi wariantami polimorficznymi o numerach rs12594956 i rs8031031 badanymi w tym genie) może być związany z wyższym poziomem ekspresji samego genu *GABPB1*, co przekłada się na wyższy poziom kodowanego przez niego białka wchodzącego w skład heteromerów NRF2 (He i wsp. 2007, Eynon i wsp. 2009c).

Od organizmów osób poddawanych treningowi wytrzymałościowemu wymagana jest zdolność sprostaną warunkom dużego stresu fizjologicznego idącego w parze z intensywną pracą fizyczną. Pożądane zmiany metaboliczne powstające w reakcji na stosowany trening obejmują m.in. zdolność do przeciwdziałania niekorzystnym efektom stresu oksydacyjnego oraz skuteczną odpowiedź na towarzyszący ćwiczeniom odczyn zapalny. W wymiarze ogólnoustrojowym zmiany te prowadzą do podwyższenia tempa przemian tlenowych i w konsekwencji do wzrostu wydolności aerobowej organizmu człowieka. Jak już nadmieniono powyżej kluczową rolę w tych procesach odgrywa białko NRF2, w skład którego wchodzi kodowana przez gen *GABPB1* podjednostka  $\beta$ . W związku z tym można domniemywać, że większa pula dostępnego czynnika NRF2 związana z obecnością allelu G w punkcie polimorficznym rs7181866 w genie *GABPB1* może być korzystna dla zawodników, u których osiągnięcie sukcesu sportowego jest warunkowane sprawnością metabolizmu tlenowego umożliwiającą podejmowanie długotrwałego wysiłku fizycznego.

#### **USTALENIE WZORCOWYCH PROFILI POLIGENOWYCH NA PODSTAWIE ANALIZY ZRÓŻNICOWANIA GENÓW Z RODZINY *PPAR* ORAZ GENÓW Z NIMI ZWIĄZANYCH**

Końcowym etapem przeprowadzonych przeze mnie analiz było zebranie uzyskanych wniosków i określenie znaczenia funkcjonalnego wariantów allelicznych oraz genotypów opisywanych w siedmiu badanych miejscach polimorficznych zlokalizowanych w pięciu genach należących bezpośrednio oraz związanych z rodziną *PPAR*. Znaczenie poszczególnych alleli badanych genów było rozpatrywane w kontekście ich wpływu na tempo metabolizmu oraz indukowania przez nie proporcjonalnego udziału przemian aerobowych i anaerobowych w generowaniu energii niezbędnej do wykonania wysiłku fizycznego. Znaczenie funkcjonalne konkretnych genotypów było precyzowane z punktu widzenia zróżnicowanych wymagań metabolicznych zawodników reprezentujących wyodrębnione grupy dyscyplin/konkurencji: wytrzymałościową, siłowo-wytrzymałościową, szybkościowo-siłową oraz siłową. Uzyskane wyniki posłużyły mi do opracowania profili poligenowych zgodnie z procedurą zaproponowaną przez Williams'a i Folland'a (2008).

W myśl tej procedury każdemu genotypowi określanemu w badanych punktach polimorficznych przypisano wartość liczbowa GS (ang. Genotype Score) w zakresie (0,1,2), gdzie 2 oznacza genotyp najbardziej optymalny (preferowany dla danego typu wysiłku fizycznego, modelujący metabolizm w kierunku najbardziej pożądanym w danej grupie dyscyplin), a 0 genotyp najmniej optymalny. Oceny stopnia optymalności konkretnego genotypu w danej grupie dyscyplin/konkurencji dokonano uwzględniając rezultaty analiz statystycznych prowadzonych na własnych wynikach genotypowania u zawodników polskich oraz biorąc pod uwagę rezultaty analogicznych analiz publikowanych przez inne zespoły naukowe, obejmujących swym zasięgiem sportowców z różnych krajów. Następnie sumowano wartości GS określone dla każdego miejsca polimorficznego zgodnie z równaniem (1):

$$GS_{(PPARA_{rs4253778})} + GS_{(PPARG_{rs1801282})} + GS_{(PPARD_{rs2267668})} + GS_{(PPARD_{rs2016520})} + GS_{(PPARD_{rs1053049})} + GS_{(PPARGCIA_{rs8192678})} + GS_{(GABPB1_{rs7181866})}$$

Aby uzyskać tzw. całkowitą wartość genotypową TGS (ang. Total Genotype Score) uzyskaną sumę wartości GS mnożono przez współczynnik „100 / 2 x liczba analizowanych punktów polimorficznych”. Ponieważ ja analizowałam 7 punktów, to wartość tego współczynnika wyniosła: 100/14 (100/2x7), a TGS był wyliczany według równania (2):

$$TGS = (100/14) \times [GS_{(PPARA_{rs4253778})} + GS_{(PPARG_{rs1801282})} + GS_{(PPARD_{rs2267668})} + GS_{(PPARD_{rs2016520})} + GS_{(PPARD_{rs1053049})} + GS_{(PPARGCIA_{rs8192678})} + GS_{(GABPB1_{rs7181866})}]$$

Wartość TGS = 100 reprezentuje idealny profil poligenowy dla danej grupy dyscyplin, gdy genotypy we wszystkich analizowanych punktach polimorficznych są najbardziej optymalne, a więc wszystkie wartości GS są równe 2. Natomiast TGS = 0 reprezentuje najgorszy z możliwych układ genotypów badanych miejsc polimorficznych dla danej grupy dyscyplin sportowych.

Na podstawie analiz statystycznych przeprowadzonych dla uzyskanych wyników genotypowania (w badanych grupach zawodników oraz w grupie kontrolnej) każdemu genotypowi opisywanemu w siedmiu badanych punktach polimorficznych przypisano wartość od 0 do 2 zgodnie z powyższymi wytycznymi i skonstruowano Tabelę 1, która służy do liczbowego opisu profilu poligenowego badanej osoby pod kątem jej najlepszego dopasowania na poziomie genetycznym do konkretnej grupy dyscyplin/konkurencji.

### **KORZYSTANIE Z PROFILU POLIGENOWEGO**

W celu praktycznego wykorzystania przygotowanego profilu poligenowego w procesie treningu sportowego należy przeprowadzić dla danej osoby genotypowanie we wszystkich siedmiu punktach polimorficznych, a uzyskane wyniki w postaci genotypów wpisać do 3 kolumny Tabeli 2 (Indywidualna karta badania genetycznego kandydata) i na podstawie wartości z Tabeli 1 przypisać im konkretne wartości GS wpisywane w kolumnach od 4 do 7 Tabeli 2. Następnie należy odrębnie zsumować wyniki z każdej kolumny (4-7) w Tabeli 2 według równania (1) i obliczyć TGS według zamieszczonego powyżej równania (2) dla każdej grupy dyscyplin. Kolumna, w której uzyskuje się najwyższą wartość TGS wskazuje na najlepsze genetyczne uwarunkowania danej osoby do wykonywania określonego typu wysiłku fizycznego, charakterystycznego dla konkretnej grupy dyscyplin.

Uzyskane tą drogą informacje mogą być wskazówką dla indywidualizacji i optymalizacji metod treningowych w procesie szkolenia sportowego. Takie uzupełnienie karty charakterystyki zawodnika o precyzyjne dane genetyczne, określające na najgłębszym poziomie molekularnym jego indywidualne wrodzone zdolności ma przede wszystkim znaczenie poznawcze, ale mogłoby to być również cenne uzupełnienie wiadomości dla trenerów i sztabów szkoleniowych. Rozszerzenie wachlarza informacji na temat danego zawodnika mogłoby pomóc w indywidualizacji metod treningowych najskuteczniej kształtujących naturalne predyspozycje danej osoby i odpowiednim kierowaniu rozwojem jej kariery sportowej.

### **NAJWAŻNIEJSZE PUNKTY PREZENTOWANEGO OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO**

Dzięki mojej indywidualnej pracy oraz zaangażowaniu zespołu naukowców, których pracą mogłam kierować, udało się przeprowadzić po raz pierwszy w Polsce, a w przypadku niektórych markerów również po raz pierwszy na świecie, przekrojowe badania asocjacyjne polegające na analizie zróżnicowania genów z rodziny *PPAR* oraz innych genów z nimi związanych. Badania te były prowadzone na drodze genotypowania w dużej i różnorodnej grupie wysokokwalifikowanych polskich zawodników reprezentujących szerokie spektrum dyscyplin i konkurencji sportowych oraz w równie licznej grupie osób nieaktywnych fizycznie.

Wykonana przeze mnie kompleksowa analiza uzyskanych wyników pozwoliła na konstrukcję profili poligenowych charakterystycznych dla czterech wyodrębnionych grup dyscyplin/konkurencji sportowych. Profile te mogą być potencjalnie wykorzystane w badaniach przesiewowych do poszukiwania nowych talentów sportowych, a w praktyce trenerskiej mogą posłużyć jako dodatkowe źródło precyzyjnych informacji pomocnych w indywidualizacji metod treningowych oraz w skutecznym kierowaniu rozwojem kariery sportowej trenowanych zawodników. Niewykluczone, że w przyszłości skonstruowane przeze mnie profile poligenowe będą rozszerzone o inne markery związane z badaną grupą genów i będą wykorzystywane również jako nowoczesne narzędzie profilaktyki prozdrowotnej, pomocne przy szacowaniu ryzyka wystąpienia niektórych schorzeń człowieka mających charakter chorób cywilizacyjnych.

Zaprezentowane wyniki pokazują miejsce i znaczenie badań genetycznych we współczesnych naukach o kulturze fizycznej oraz pomagają zrozumieć jaki udział mogą mieć czynniki genetyczne w

kształtowanie ogólnej wydolności fizycznej organizmu człowieka, wskazując równocześnie jak dane uzyskane w efekcie stosowania nowoczesnych narzędzi molekularnych mogą być wykorzystane w praktyce przez specjalistów z dziedziny kultury fizycznej, trenerów, szkoleniowców itp.

**Tabela 1.** Zestawienie wartości GS dla poszczególnych grup dyscyplin zróżnicowanych ze względu na udział przemian tlenowych i beztlenowych w generowaniu energii niezbędnej do wykonania wysiłku fizycznego oraz czas trwania i intensywność wysiłku

GEN	NR RS SNP	GENOTYP	WARTOŚCI GS DLA DANEJ GRUPY DYSCYPLIN/KONKURENCJI			
			WYTRZYMAŁOŚCIOWE	WYTRZYMAŁOŚCIOWO-SILOWE	SZYBKOŚCIOWO-SILOWE	SILOWE
PPARA	rs4253778	GG	2	2	1	0
		GC	1	1	2	1
		CC	0	0	0	2
PPARG	rs1801282	CC	0	0	0	0
		CG	2	2	1	1
		GG	1	1	2	2
PPARD	rs2267668	AA	0	0	0	0
		AG	1	1	1	1
		GG	2	2	2	2
	rs2016520	TT	2	2	2	2
		TC	1	1	1	1
		CC	0	0	0	0
	rs1053049	TT	2	2	2	2
		TC	1	1	1	1
		CC	0	0	0	0
PPARGCIA	rs8192678	GG	2	2	1	1
		GA	1	1	2	2
		AA	0	0	0	0
GABPBI	rs7181866	AA	1	1	1	2
		AG	2	2	2	1
		GG	0	0	0	0

**Tabela 2.** Indywidualna karta badania genetycznego kandydata

1	2	3	4	5	6	7
GEN	NR RS SNP	WYNIK GENOTYP OWANIA	WARTOŚCI GS DLA DANEJ GRUPY DYSCYPLIN/KONKURENCJI			
			WYTRZYMAŁOŚCIOWE	WYTRZYMAŁOŚCIOWO -SIŁOWE	SZYBKOŚCIOWO- SIŁOWE	SIŁOWE
<i>PPARA</i>	rs4253778					
<i>PPARG</i>	rs1801282					
<i>PPARD</i>	rs2267668					
	rs2016520					
	rs1053049					
<i>PPARGC1A</i>	rs8192678					
<i>GABPB1</i>	rs7181866					
<b>SUMA GS</b>						
<b>TGS</b>						

Piśmiennictwo:

- Ahmetov II, Mozhayskaya IA, Flavell DM, i wsp. (2006) PPAR $\alpha$  gene variation and physical performance in Russian athletes. *Eur J Appl Physiol* 97: 103-108.
- Ahmetov II, Mozhayskaya IA, Lyubaeva EV, i wsp. (2008) PPARG Gene polymorphism and locomotor activity in humans. *Bull Exp Biol Med* 146(5): 630-632.
- Ahmetov II, Popov DV, Mozhayskaya IA, i wsp. (2007) Association of regulatory genes polymorphisms with aerobic and anaerobic performance of athletes. *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova* 93: 837-843.
- Akhmetov II, Astratenkova IV, Rogozkin VA. (2007) Association of PPARD gene polymorphism with human physical performance. *Mol Biol (Mosk)* 41: 852-857.
- Baar K. (2004) Involvement of PPAR gamma co-activator 1, nuclear respiratory factors 1 and 2, and PPAR alpha in the adaptive response to endurance exercise. *Proc Nutr Soc* 63: 269-273.
- Bouchard C, Rankinen T, Chagnon YC, i wsp. (2000) Genomic scan for maximal oxygen uptake and its response to training in the HERITAGE Family Study. *J Appl Physiol* 88: 551-559.
- Bray MS, Hagberg JM, Perusse L, i wsp. (2009) The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006-2007 update. *Med Sci Sports Exerc* 41(1): 35-73.
- Chen ES, Mazzotti DR, Furuya TK, i wsp. (2010) Association of PPAR $\alpha$  gene polymorphisms and lipid serum levels in a Brazilian elderly population. *Exp Mol Pathol* 88: 197-201.
- Chinsomboon J, Ruas J, Gupta RK, i wsp. (2009) The transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$  mediates exercise-induced angiogenesis in skeletal muscle. *Proc Nat Acad Sci USA* 106: 21401-21406.
- Cresci S, Jones PG, Sucharov CC, i wsp. (2008) Interaction between PPARA genotype and  $\beta$ -blocker treatment influences clinical outcomes following acute coronary syndromes. *Pharmacogenomics* 9(10): 1403-1417.
- Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, i wsp. (1998) A Pro12Ala substitution in PPAR $\gamma$ 2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 20: 284-287.
- Desvergne B, Wahli W. (1999) Peroxisome proliferator activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev* 20: 649-688.
- Doney ASF, Fisher B, Lee S, i wsp. (2005) Association of common variation in the PPARA gene with incident myocardial infarction in individuals with type 2 diabetes: a Go-DARTS study. *Nucl Recept* 3: 4.
- Druzhevskaya AM, Ahmetov II, Astratenkova IV, i wsp. (2008) Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians. *Eur J Appl Physiol* 103: 631-634.
- Ek J, Andersen G, Urhammer SA, i wsp. (2001) Studies of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 (PPAR- $\gamma$ 2) gene in relation to insulin sensitivity among glucose tolerant Caucasians. *Diabetologia* 44(9): 1170-1176.
- Eynon N, Meckel Y, Alves AJ, i wsp. (2009a) Is there an interaction between PPARD T294C and PPARGC1A Gly482Ser polymorphisms and human endurance performance? *Exp Physiol* 94(11): 1147-1152.
- Eynon N, Meckel Y, Sagiv M, i wsp. (2009b) Do PPARGC1A and PPAR $\alpha$  polymorphisms influence sprint or endurance phenotypes? *Scand J Med Sci Sports* 94(11): 1147-1152.
- Eynon N, Sagiv M, Meckel Y, i wsp. (2009c) NRF2 intron 3 A/G polymorphism is associated with endurance athletes' status. *J Appl Physiol* 107: 76-79.
- Fajas L, Auboeuf D, Raspe E, i wsp. (1997) The organization, promoter analysis, and expression of the human PPAR $\gamma$  gene. *J Biol Chem* 272: 18779-18789.
- Flavell DM, Jamshidi Y, Hawe E, i wsp. (2002) Peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$  gene variants influence progression of coronary atherosclerosis and risk of coronary artery disease. *Circulation* 105(12): 1440-1445.
- Franks PW, Luan J, Browne PO, i wsp. (2004) Does peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  genotype (Pro12Ala) modify the association of physical activity and dietary fat with fasting insulin level? *Metabolism* 53(1): 11-16.

- Handschin C, Rhee J, Lin J, i wsp. (2003) An autoregulatory loop controls peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$  expression in muscle. *Proc Nat Acad Sci USA* 100: 7111–7116.
- Hautala AJ, Leon AS, Skinner JS, i wsp. (2007) Peroxisome proliferator-activated receptor- $\delta$  polymorphisms are associated with physical performance and plasma lipids: the HERITAGE Family Study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: H2498-2505.
- He Z, Hu Y, Feng L, i wsp. (2007) NRF2 genotype improves endurance capacity in response to training. *Int J Sports Med* 28: 717–721.
- Holloszy JO, Kohrt WM (1996) Regulation of carbohydrate and fat metabolism during and after exercise. *Ann Rev Nutr* 16: 121–138.
- Horowitz JF, Leone TC, Feng W, i wsp. (2000) Effect of endurance training on lipid metabolism in women: a potential role for PPAR $\alpha$  in the metabolic response to training. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 279: 348-355.
- Issemann I, Green S. (1990) Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 347(6294): 645-650.
- Jamshidi Y, Montgomery HE, Hense H-W, i wsp. (2002) Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  gene regulates left ventricular growth in response to exercise and hypertension. *Circulation* 105: 950-955.
- Kannisto K, Chibalin A, Glinghammar B, i wsp. (2006) Differential expression of peroxisomal proliferator activated receptors  $\alpha$  and  $\delta$  in skeletal muscle in response to changes in diet and exercise. *Int J Mol Med* 17: 45-52.
- Karpe F, Ehrenborg EE. (2009) PPAR $\delta$  in humans: genetic and pharmacological evidence for a significant metabolic function. *Curr Opin Lipidol* 20(4): 333-336.
- Kawaguchi H, Akune T, Yamaguchi M, i wsp. (2005) Distinct effects of PPAR $\gamma$  insufficiency on bone marrow cells, osteoblasts, and osteoclastic cells. *J Bone Miner Metab* 23: 275-279.
- Kelly DP, Scarpulla RC. (2004) Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes Develop* 18: 357–368.
- Khor TO, Huang MT, Kwon KH, i wsp. (2006) Nrf2 - deficient mice have an increased susceptibility to dextran sulfate sodium - induced colitis. *Canc Res* 66: 11580–11584.
- Kobayashi M, Yamamoto M. (2005) Molecular mechanisms activating the Nrf2 - Keap1 pathway of antioxidant gene regulation. *Antioxid Redox Signal* 7: 385–394.
- Kousteni S. (2012) FoxO1, the transcriptional chief of staff of energy metabolism. *Bone* 50(2): 437-443.
- Kozłowski S, Nazar K. (1999) Wprowadzenie do fizjologii klinicznej. PZWL, Warszawa.
- Kramer DK, Ahlsen M, Norrbom J, i wsp. (2006) Human skeletal muscle fibre type variations correlate with PPAR $\alpha$ , PPAR $\delta$  and PGC-1 $\alpha$  mRNA. *Acta Physiol* 188: 207-216.
- Lin J, Handschin C, Spiegelman BM. (2005) Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. *Cell Metab* 1: 361–370.
- Lin J, Wu H, Tarr PT, i wsp. (2002) Transcriptional co-activator PGC-1  $\alpha$  drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature* 418 (6899): 797–801.
- Liu ML, Gibbs EM, McCoid SC, i wsp. (1993) Transgenic mice expressing the human GLUT4/muscle-fat facilitative glucose transporter protein exhibit efficient glycemic control. *Proc Nat Acad Sci USA* 90: 11346–11350.
- Lucia A, Gomez-Gallego F, Barroso I, i wsp. (2005) PPARGC1A genotype (Gly482Ser) predicts exceptional endurance capacity in European men. *J App Physiol* 99: 344–348.
- Lundell K, Thulin P, Hamsten A, i wsp. (2007) Alternative splicing of human peroxisome proliferator-activated receptor delta (PPAR delta): effects on translation efficiency and transactivation ability. *BMC Mol Biol* 8: 70.
- Luquet S, Lopez-Soriano J, Holst D, i wsp. (2003) Peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$  controls muscle development and oxidative capability. *FASEB J* 17: 2299-2301.
- Mahoney DJ, Parise G, Melov S, i wsp. (2005) Analysis of global mRNA expression in human skeletal muscle during recovery from endurance exercise. *FASEB J* 19: 1498-1500.
- Mathai AS, Bonen A, Benton CR, i wsp. (2008) Rapid exercise-induced changes in PGC-1 $\alpha$  mRNA and protein in human skeletal muscle. *J App Physiol* 105: 1098–1105.
- Meirhaeghe A, Amouyel P. (2004) Impact of genetic variation of PPARG $\gamma$  in humans. *Mol Genet Metab* 83(1–2): 93–102.
- Michael LF, Wu Z, Cheatham RB, i wsp. (2001) Restoration of insulin-sensitive glucose transporter (GLUT4) gene expression in muscle cells by the transcriptional coactivator PGC-1. *Proc Nat Acad Sci USA* 98: 3820–3825.
- Norrbom J, Sundberg CJ, Ameln H, i wsp. (2004) PGC-1 $\alpha$  mRNA expression is influenced by metabolic perturbation in exercising human skeletal muscle. *J App Physiol* 96: 189–194.
- Nuclear Receptor Nomenclature Committee. (1999) A unified nomenclature system for the nuclear receptor superfamily. *Cell* 97: 161–163.
- Nuclear Receptors Nomenclature Committee (1999) A unified nomenclature system for the nuclear receptor superfamily. *Cell* 97: 1-3.
- Ogawa S, Urano T, Hosoi T, i wsp. (1999) Association of bone mineral density with a polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  gene: PPARG $\gamma$  expression in osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 260: 122–126.
- Ostrander EA, Huson HJ, Ostrander GK. (2009) Genetics of athletic performance. *Ann Rev Genom Humen Genet* 10: 407-429.
- Pilegaard H, Saltin B, Neufer PD. (2003) Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1 $\alpha$  gene in human skeletal muscle. *J Physiol* 546: 851–858.
- Puigserver P, Wu Z, Park CW, i wsp. (1998) A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* 92: 829–839.
- Raczyńska B. (1990) Żywnienie w sporcie wyczynowym: jadłospisy, odżywki. Resortowe Centrum Metodyczno-Szkoleniowe Kultury Fizycznej i Sportu: 1-120.
- Rosmarin AG, Resendes KK, Yang Z, i wsp. (2004) GA-binding protein transcription factor: a review of GABP as an integrator of intracellular signaling and protein-protein interactions. *Blood Cells Mol Dis* 32(1): 143-154.
- Russell AP, Feilchenfeldt J, Schreiber S, i wsp. (2003) Endurance training in humans leads to fiber type-specific increases in levels of peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  coactivator-1 and peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  in skeletal muscle. *Diabetes* 52: 2874-2881.
- Sack MN, Rader TA, Park S, i wsp. (1996) Fatty acid oxidation enzyme gene expression is downregulated in the failing heart. *Circulation* 94: 2837-2842.
- Scarpulla RC, Vega RB, Kelly DP. (2012) Transcriptional integration of mitochondrial biogenesis. *Trends Endocrinol Metab* 23(9): 459-466.
- Schneider J, Kreuzer J, Hamann A, i wsp. (2002) The proline 12 alanine substitution in the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 gene is associated with lower lipoprotein lipase activity in vivo. *Diabetes* 51: 867-870.
- Scott W, Stevens J, Binder-Macleod SA (2001) Human skeletal muscle fiber type classifications. *Phys Ther* 81(11): 1810-1816.
- Skogsberg J, Kannisto K, Cassel TN, i wsp. (2003) Evidence that peroxisome proliferator-activated receptor delta influences cholesterol metabolism in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23: 637-643.
- Skogsberg J, Kannisto K, Roshani L, i wsp. (2000) Characterization of the human peroxisome proliferator activated receptor delta gene and its expression. *Int J Mol Med* 6(1): 73-81.
- Spangenburg EE, Booth FW. (2003) Molecular regulation of individual skeletal muscle fibre types. *Acta Physiol Scand* 178(4): 413-424.
- Stefan N, Thamer C, Staiger H, i wsp. (2007) Genetic variations in PPAR $\delta$  and PPARGC1A determine mitochondrial function and change in aerobic physical fitness and insulin sensitivity during lifestyle intervention. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 1827-1833.



- Stumvoll M, Wahl HG, Lohlein K, i wsp. (2001) The Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 gene is associated with increased antilipolytic insulin sensitivity. *Diabetes* 50: 876-881.
- Thamer C, Haap M, Volk A, i wsp. (2002) Evidence for greater oxidative substrate flexibility in male carriers of the Pro12Ala polymorphism in PPAR $\gamma$ 2. *Horm Metab Res* 34: 132-136.
- Thamer C, Machann J, Stefan N, i wsp. (2008) Variations in PPAR $\gamma$  determine the change in body composition during lifestyle intervention: a whole-body magnetic resonance study. *J Clin Endocrinol Metab* 93: 1497-1500.
- Tunstall RJ, Mehan KA, Wadley GD, i wsp. (2002) Exercise training increases lipid metabolism gene expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283: E66-E72.
- Vanttinen M, Nuutila P, Kuulasmaa T, i wsp. (2005a) Single nucleotide polymorphisms in the peroxisome proliferator-activated receptor delta gene are associated with skeletal muscle glucose uptake. *Diabetes* 54: 3587-3591.
- Vanttinen M, Nuutila P, Pihlajamaki J, i wsp. (2005b) The effect of the Ala12 allele of the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 gene on skeletal muscle glucose uptake depends on obesity: a positron emission tomography study. *Clin Endocrinol Metab* 90(7): 4249-4254.
- Vega RB, Huss JM, Kelly DP. (2000) The coactivator PGC-1 cooperates with peroxisome proliferator-activated receptor alpha in transcriptional control of nuclear genes encoding mitochondrial fatty acid oxidation enzymes. *Mol Cell Biol* 20: 1868-1876.
- Wang YX, Zhang CL, Yu RT, i wsp. (2004) Regulation of muscle fiber type and running endurance by PPAR $\delta$ . *PLoS Biol* 2: 1-8.
- Williams AG, Folland JP. (2008) Similarity of polygenic profiles limits the potential for elite human physical performance. *J Physiol* 586(1):113-21.
- Wu Z, Puigserver P, Andersson U, i wsp. (1999) Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* 98: 115-124.
- www.ncbi.nlm.nih.gov/gene
- Yen CJ, Beamer BA, Negri C, i wsp. (1997) Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  (hPPAR  $\gamma$ ) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPAR  $\gamma$  2 missense mutation. *Biochem Biophys Res Commun* 241: 270-274.
- Zhang MQ. (1998) Statistical features of human exons and their flanking regions. *Hum Mol Genet* 7(5): 919-932.
- Zhang SL, Lu WS, Yan L, i wsp. (2007) Association between peroxisome proliferator activated receptor-gamma coactivator-1-alpha gene polymorphisms and type 2 diabetes in southern Chinese population: Role of altered interaction with myocyte enhancer factor 2C. *Chin Med J* 120: 1878-1885.

## 5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO - BADAWCZYCH HABILITANTA

*W nawiasach kwadratowych zamieszczono odniesienia do publikacji wymienionych w ZAŁĄCZNIKU NR 4 "Wykaz opublikowanych prac naukowych wraz ze szczegółowym opisem indywidualnego wkładu habilitanta" w punkcie I: "Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcia naukowe" oraz w punkcie II: "Wykaz innych (nie wchodzących w skład osiągnięcia wymienione w pkt I) opublikowanych prac naukowych".*

Wymiernym efektem mojej dotychczasowej pracy naukowej jest autorstwo lub współautorstwo **łącznie 64 publikacji** (szczegółowy wykaz w punkcie I i II w ZAŁĄCZNIKU NR 4 "Wykaz opublikowanych prac naukowych wraz ze szczegółowym opisem indywidualnego wkładu habilitanta"), wśród których znalazło się:

- 39 prac oryginalnych [publikacje Hab2-Hab7, 1-15, 17-27, 29-35] oraz 2 prace przeglądowe [16, 28] opublikowane w czasopiśmie indeksowanych na Liście Filadelfijskiej
- 3 prace oryginalne [36, 56, 57] oraz 5 prac o charakterze przeglądowym [publikacja Hab1, 37-40], które ukazały się w czasopiśmie krajowych i zagranicznych spoza Listy Filadelfijskiej
- 1 monografia naukowa o zasięgu krajowym [42]
- 6 rozdziałów w monografiach oraz w recenzowanych zwartych wydawnictwach konferencyjnych [41, 43-47]
- 8 rozdziałów w podręczniku akademickim [48-55]

W obrębie omówionych powyżej publikacji 6 ukazało się przed uzyskaniem przeze mnie stopnia doktora, natomiast po uzyskaniu stopnia doktora opublikowanych zostało pozostałych 58 prac. **Sumaryczny wskaźnik cytowań (IF)** wszystkich prac, których byłam autorem lub współautorem wynosi **59.420 (1056 punktów MNiSW)**, z czego na jednotematyczny cykl publikacji przedstawiany jako przedmiot mojego osiągnięcia naukowego przypada  $IF=13.494$  (190 punktów MNiSW), a na pozostałe prace  $IF=45.926$  (866 punktów MNiSW). Według bazy Thomson Reuters Web of Science moje prace były cytowane łącznie 174 razy (liczba cytowań według Google Scholar wynosi 237), a skalkulowany na tej podstawie **Indeks Hirscha** wynosi **8** (według Google Scholar mój **Indeks Hirscha** wynosi **10**) (szczegóły w ZAŁĄCZNIKU NR 8 "Analiza bibliometryczna").

Moja najwcześniejsza działalność naukowa przed i tuż po uzyskaniu stopnia doktora skupiona była wokół dwóch równoległych nurtów badawczych. Pierwszy z nich obejmował wykorzystanie różnorodnych narzędzi molekularnych do identyfikacji i badań markerów genetycznych u

eukariotycznych organizmów modelowych, przy równoczesnym zastosowaniu różnych modeli matematycznych i metod bioinformatycznych w molekularnej analizie filogenetycznej [26-29, 31, 34, 35, 48-52]. Natomiast drugi nurt związany był z aplikacją metod genetyki molekularnej do wykrywania DNA patogenów odkleszczowych w materiale biologicznym oraz próbach środowiskowych [24, 25, 30, 32, 33, 41, 43-47, 53-57]. W ostatnich latach w ograniczonym zakresie kontynuowałam badania powiązane z tym drugim tematem badawczym uczestnicząc w detekcji materiału genetycznego pierwotniaków powodujących infekcje wodnopochoodne w próbach wody oraz próbach klinicznych [15, 17, 18, 21, 23].

Od roku 2007 moja główna aktywność naukowa zogniskowała się na problematyce związanej z zastosowaniem nowoczesnych narzędzi i metod genetyki molekularnej w badaniach z zakresu kultury fizycznej. Głównym nurtem badawczym, w którym uczestniczyłam i nadal uczestniczę, była prowadzona na drodze intensywnego genotypowania analiza zróżnicowania różnorodnych genów kandydackich i poszukiwanie polimorfizmów zwiększających wydolność (PEPs), które uznawane są za czynniki wpływające na funkcjonowanie organizmu człowieka. Owocem prowadzonych w tym zakresie badań asocjacyjnych są liczne publikacje naukowe, których jestem współautorem, o charakterze prac oryginalnych [publikacje Hab2-Hab7, 1-4, 6-9, 11-14, 19, 20, 22, 36], prac przeglądowych [publikacja Hab1, 16, 37-40] oraz monografii [42]. Obecnie kontynuuję moją działalność naukową w obszarze badań z zakresu genetyki sportowej poprzez aktywny udział w kilku projektach realizowanych we współpracy z czołowymi badaczami zajmującymi się tą problematyką na świecie. Uczestnicząc w projekcie "Genome-wide association study (GWAS) of elite athletes" (koordynowanym przez Sydney Medical School, University of Sydney, Sydney, Australia) oraz jako członek grupy badawczej "Genes and performance research group" (koordynowanej przez Institute of Sport, Exercise and Active Living (ISEAL), Victoria University, Melbourne, Australia) rozwijamy na znacznie szerszą skalę prowadzone dotychczas badania asocjacyjne nowych markerów genowych u zawodników z całego świata. W odniesieniu do moich indywidualnych planów badawczych w tym zakresie zakładam dalszy rozwój badań asocjacyjnych prowadzących u zawodników z wykorzystaniem kolejnych markerów genowych powiązanych z genami z rodziny *PPAR*, jak np. geny kodujące czynniki związane z różnicowaniem mitochondriów, szlakami komórkowego transportu i metabolicznych przemian lipidów i węglowodanów itp. W przypadku zaobserwowania pozytywnych korelacji uzyskiwane wyniki zostaną włączone do konstruowanego przeze mnie profilu poligenowego.

Nowym interesującym wątkiem eksperymentalnym związanym z już przeprowadzonymi u wysokokwalifikowanych zawodników badaniami asocjacyjnymi są badania interwencyjne angażujące aktywność trenerską, analizy fizjologiczne oraz genetyczne. Badania te są przedmiotem projektu, w którym jestem głównym wykonawcą badań, realizowanego od tego roku w Zakładzie Biologicznych Podstaw Kultury Fizycznej Uniwersytetu Szczecińskiego we współpracy z Akademią Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku. Prowadzone badania mają na celu ustalenie zależności pomiędzy wybranymi czynnikami genetycznymi a odpowiedzią organizmu człowieka na zaaplikowany wysiłek fizyczny, obserwowaną u uczestników projektu poddawanych specjalnemu treningowi.

Dzięki połączeniu sił zagranicznych ośrodków naukowych oraz krajowych instytucji badawczych i medycznych udało się nam zapoczątkować również inne ciekawe badania nad genetycznymi czynnikami ryzyka występowania kontuzji sportowych, ze szczególnym uwzględnieniem urazów tkanek miękkich. Wspólnie wykazaliśmy, że specyficzne warianty polimorficzne genów kodujących różne typy białek kolagenowych są powiązane z ryzykiem wystąpienia zerwania więzadła krzyżowego przedniego (ang. Anterior Cruciate Ligament, ACL), co zostało zaprezentowane w już opublikowanych [5, 10] lub w aktualnie przygotowywanych pracach naukowych. W obecnej chwili intensywnie rozwijamy ten wątek badawczy uczestnicząc w międzynarodowym projekcie "Identification of genetic risk factors of musculoskeletal soft tissue injuries" (koordynowanym przez Research Unit for Exercise Science & Sports Medicine, University of Cape Town, Republika Południowej Afryki), który ma na celu ustalenie innych genetycznych

determinantów sprzyjających powstawaniu kontuzji oraz służących prognozowaniu skuteczności terapii u zawodników i pacjentów po rekonstrukcji więzadła krzyżowego przedniego.

Wątek medyczny rozwijany jest w badaniach asocjacyjnych prowadzonych z udziałem pacjentów ortopedycznych (badania prowadzone w kooperacji z Ośrodkiem Medycznym Galen-Ortopedia), jak również w odniesieniu do pacjentów kardiologicznych, których badania prowadzone są we współpracy z Pomorskim Uniwersytetem Medycznym. Wykonywane u tych pacjentów analizy i genotypowanie mają na celu opisanie genetycznych czynników ryzyka wystąpienia choroby niedokrwiennej serca (dusznicy stabilnej) i ostrej niewydolności wieńcowej (dusznicy niestabilnej), ze szczególnym uwzględnieniem markerów związanych z czynnikami prozakrzepowymi. W najbliższym czasie planujemy kontynuację i rozszerzenie prowadzonych badań o nowe grupy pacjentów (pacjenci z ostrymi stanami zapalnymi, pacjenci po przeszczepieniach narządów, pacjenci z cukrzycą), u których poszukiwane będą markery molekularne o charakterze genetycznych determinantów odczynu zapalnego w organizmie człowieka. Ponieważ badane czynniki genetyczne mają znaczenie w kształtowaniu odpowiedzi organizmu człowieka w warunkach stresu fizjologicznego, który pod pewnymi względami przypomina stres towarzyszący wykonywaniu wysiłku fizycznego podczas uprawiania sportu wyczynowego, to planowane jest również badanie zróżnicowanie tych markerów genetycznych u zawodników sportowych.

W nieco dalszej perspektywie czasowej, poprzez ścisłą współpracę z władzami samorządowymi województwa zachodniopomorskiego oraz dzięki wsparciu władz naszej Uczelni, a przede wszystkim dynamicznym działaniom władz Wydziału Kultury Fizycznej i Promocji Zdrowia, mamy nadzieję na uzyskanie finansowania z Unii Europejskiej. Umożliwiłoby to radykalne rozszerzenie naszego zaplecza technicznego i warsztatu badawczego, co otworzyłoby nowe ekscytujące perspektywy do realizacji coraz ciekawszych i ambitniejszych projektów badawczych.

W ramach mojej działalności naukowej, poza opisaną powyżej aktywnością publikacyjną oraz nawiązywaniem bogatej współpracy międzynarodowej i krajowej, realizowałam się także na wielu innych polach. Byłam lub aktualnie jestem głównym wykonawcą lub wykonawcą badań w 6 projektach badawczych finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz Komitet Badań Naukowych (*szczegółowy wykaz w punkcie I.E. w ZAŁĄCZNIKU NR 6 "Informacja o osiągnięciach naukowo-badawczych, dorobku dydaktycznym i popularyzatorskim oraz współpracy międzynarodowej Habilitanta"*). Aktualnie uczestniczę w 3 międzynarodowych projektach naukowych realizowanych we współpracy z naukowcami z ośrodków zagranicznych (*szczegółowy wykaz w punkcie II.F. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*). Aktywnie aplikowałam także o środki z Unii Europejskiej jako współkoordynator ze strony polskiej w międzynarodowym konsorcjum badawczym zawiązanym w celu przygotowania projektu europejskiego przedłożonego Komisji Europejskiej w ramach konkursu ogłoszonego w 7 Programie Ramowym (*szczegóły w punkcie II.E. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*). Wzięłam czynny udział w 11 międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych, samodzielnie wygłaszając 6 referatów oraz będąc współautorem 5 innych wygłoszonych referatów (*szczegółowy wykaz w punkcie I.G. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*). Prezentowałam także swoje wyniki w postaci komunikatów i posterów na 10 konferencjach międzynarodowych i krajowych (*szczegółowy wykaz w punkcie II.A. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*). Byłam aktywnym członkiem komitetów organizacyjnych 2 konferencji: międzynarodowej i krajowej (*szczegółowy wykaz w punkcie II.B. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*). Aktualnie pełnię funkcję zastępcy redaktora naczelnego nowopowstałego czasopisma "Central European Journal of Sport Sciences and Medicine", jestem również członkiem międzynarodowego komitetu redakcyjnego czasopisma "Pedagogics, Psychology, Medical-Biological Problems of Physical Training and Sports" (*szczegóły w punkcie II.G. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*), a na prośbę redakcji dwóch innych międzynarodowych czasopism indeksowanych na Liście Filadelfijskiej przygotowałam łącznie 9 recenzji oryginalnych artykułów naukowych (*szczegóły w punkcie II.N. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*). Mając na celu swój dalszy rozwój odbyłam 2 staże naukowe w jednostkach badawczych w Polsce (*szczegółowy wykaz w punkcie II.L. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*). Jako aktywny uczestnik dyskusji i wymiany myśli w środowisku naukowym jestem członkiem 4 towarzystw naukowych (2 międzynarodowych i 2 krajowych) (*szczegółowy wykaz w punkcie II.H. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*), co daje mi dodatkową możliwość upowszechniania

uzyskiwanych wyników. Aktywnie popularyzowałam naukę także poprzez uczestnictwo w różnych wydarzeniach naukowych skierowanych do społeczności lokalnej (*szczegółowy wykaz w punkcie II.I. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*). W efekcie realizacji różnych zadań naukowych udało mi się opisać kilkadziesiąt oryginalnych sekwencji nukleotydowych i aminokwasowych (*szczegółowy wykaz w punkcie II.P. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*), które zostały przyjęte do międzynarodowych baz danych Banku Genów i Banku Białek, publikowanych on-line na stronach Narodowego Centrum Informacji Biotechnologicznej (NCBI), co ze względu na ogólną dostępność gromadzonych w nich zasobów również służy upowszechnianiu nauki. Za swoją działalność naukową otrzymałam 3 nagrody indywidualne JM Rektora Uniwersytetu Szczecińskiego oraz byłam członkiem zespołu naukowego nagrodzonego za swoją aktywność naukową przez JM Rektora Uniwersytetu Szczecińskiego (*szczegółowy wykaz w punkcie I.F. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*). Jestem także laureatką nagrody w Konkursie na Najlepszego Asystenta Uniwersytetu Szczecińskiego przyznawanej za działalność naukową, organizacyjną i dydaktyczną (*szczegóły w punkcie II.C. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*).

Wykonując zadania dydaktyczne prowadziłam zajęcia o charakterze wykładów, ćwiczeń laboratoryjnych, konwersatoriów, seminariów i pracowni z zakresu różnorodnych przedmiotów (m.in. Genetyka w sporcie, Genetyka człowieka, Genetyka ogólna, Podstawy genetyki, Podstawy genetyki klinicznej, Metody genetyki molekularnej stosowane w diagnostyce, Molekularne podstawy wysiłku fizycznego, Bioenergetyka wysiłku fizycznego, Biologiczne podstawy zdrowia, Biomedyczne podstawy rozwoju i wychowania, Seminaria dyplomowe i magisterskie, Pracownie dyplomowe i magisterskie) realizowanych dla studentów różnych wydziałów (Wydział Kultury Fizycznej i Promocji Zdrowia, Wydział Nauk Przyrodniczych, Wydział Biologii, Wydział Matematyczno-Fizycznego) i kierunków studiów (Wychowanie Fizyczne, Turystyka i Rekreacja, Biologia, Biotechnologia, Mikrobiologia, Ochrona Środowiska, Fizyka Medyczna). Wiązało się to z przygotowaniem autorskich programów nauczania, konspektów zajęć, przewodników metodycznych, instrukcji, pomocy naukowych, prezentacji multimedialnych itp. Jako promotor prac dyplomowych i magisterskich pełniłam opiekę merytoryczną nad 9 studentami. Byłam także recenzentem 6 prac magisterskich. Sprawowałam również kontrolę nad 23 studentami w ramach pracowni specjalistycznych magisterskich i dyplomowych (*szczegółowy wykaz w punkcie II.I. w ZAŁĄCZNIKU NR 6*). W ramach działalności organizacyjnej na rzecz Uczelni przez 3 lata pełniłam funkcję Pełnomocnika Dziekana Wydziału Nauk Przyrodniczych, a później także Wydziału Biologii, ds. praktyk zawodowych. Byłam także Członkiem Komisji Rekrutacyjnej na Wydziale Nauk Przyrodniczych.

21. X. 2013

*Agnieszka - Karłowska*