

AUTOREFERAT

dr n.med Ewelina Lulińska

Zakład Medycyny Sportu i Podstaw Zdrowia
Akademia Wychowania Fizycznego i Sportu
im. Jędrzeja Śniadeckiego w Gdańsku

Spis treści

1	Imię i Nazwisko	3
2	Posiadane dyplomy, stopnie naukowe, tytuły zawodowe.....	3
2.1	Stopień naukowy.....	3
2.2	Tytuł zawodowy:.....	3
3	Informacje o zatrudnieniu habilitanta w jednostce naukowej	3
4	Osiągnięcie naukowe, o którym mowa w z art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.)	4
4.1	Główne osiągnięcie naukowe - cykl pięciu oryginalnych prac naukowych opublikowanych w recenzowanych czasopismach.....	4
4.1.1	Tytuł głównego osiągnięcia naukowego z wykazem:	4
4.1.2	Wykaz publikacji naukowych:	4
4.1.3	Omówienie głównego osiągnięcia naukowego	5
4.2	Omówienie innych osiągnięć naukowych.....	23
4.2.1	Badania dotyczące genetycznego podłoża uszkodzenia więzadła krzyżowego przedniego(ACL)	23
4.2.2	Badania dotyczące genetycznego podłoża zakresu potreningowych zmian adaptacyjnych zachodzących u ludzi aktywnych fizycznie oraz ocena zmian poziomu ekspresji wybranych genów pod wpływem wysiłku fizycznego.....	24
4.2.3	Analiza zależności pomiędzy polimorfizmem wybranych genów kandydackich a statusem sportowym wysokokwalifikowanych zawodników różnych dyscyplin sportowych.....	28
4.2.4	Analiza i ocena leczenia zachowawczego w kompleksowości postępowania rehabilitacyjnego w schorzeniach układu ruchu.	31
4.2.5	Analiza zachowań zdrowotnych Polaków w przekrojowych grupach społecznych: młodzież, kobiety w wieku menopauzalnym, sportowcy.	33
5	Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej.....	35
5.1	Współpraca naukowa	35
5.2	Udział w stażach naukowych.....	38
6	Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzatorskich naukę.	40

1 Imię i Nazwisko

Ewelina Lulińska

2 Posiadane dyplomy, stopnie naukowe, tytuły zawodowe

2.1 Stopień naukowy

- **doktor nauk medycznych w dyscyplinie medycyna**

2008 rok, nadany uchwałą Rady Wydziału Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Tytuł rozprawy: „Częstość występowania wad postawy, a ich związek z budową somatyczną, poziomem rozwoju fizycznego i miejscem zamieszkania dzieci klas I-III powiatu puckiego”.

2.2 Tytuł zawodowy:

- **magister fizjoterapii**

2004 rok, z wynikiem bardzo dobrym, Akademia Medyczna im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy.

- **specjalista fizjoterapii**

2014 rok, z wynikiem dobrym plus, Centrum Egzaminów Medycznych.

Zgodnie z programem specjalizacji w dziedzinie fizjoterapii zatwierdzonym przez Ministra Zdrowia, uzyskany po ukończeniu szkoleń, staży specjalizacyjnych, czteroletnich studiów specjalizacyjnych Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego.

- **terapeuta Integracji Sensorycznej**

2023 rok, ukończone certyfikowane szkolenia: I stopnia, II stopnia, III stopnia; ODITIS w Gdańsku.

- ❖ **specjalistyczne szkolenia/ kursy kwalifikacyjne/ studia podyplomowe:**

- specjalizacyjne kursy w zakresie fizjoterapii, zgodnie z programem specjalizacji Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego
- specjalizacyjne kursy i szkolenia w zakresie rehabilitacji medycznej, dydaktyki, neurodydaktyki
- studia podyplomowe w zakresie zarządzania, pedagogiki, pedagogiki specjalnej.

3 Informacje o zatrudnieniu habilitanta w jednostce naukowej

2016- obecnie

Adiunkt, pracownik badawczo –dydaktyczny w Zakładzie Medycyny Sportu i Podstaw Zdrowia, zatrudniony w ramach umowy o pracę. Akademia Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku [AWFiS]

Wykaz pełnionych funkcji w AWFiS

- kierownik pracowni medycyny fizykalnej
- prodziekan ds. kierunku diagnostyka sportowa
- przewodniczący rady programowej ds. jakości i programów studiów

4 Osiągnięcie naukowe, o którym mowa w z art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.)

4.1 Główne osiągnięcie naukowe - cykl pięciu oryginalnych prac naukowych opublikowanych w recenzowanych czasopismach.

4.1.1 Tytuł głównego osiągnięcia naukowego z wykazem:

"ZWIĄZEK POLIMORFIZMU WYBRANYCH GENÓW (TNC, VEGFA, IL1B, IL6, IL6R, MMP1, MMP3, MMP8, MMP10, MMP12, TIMP2) Z RYZYKIEM USZKODZENIA WIĘZADŁA KRZYŻOWEGO PRZEDNIEGO"

4.1.2 Wykaz publikacji naukowych:

Hab. 1. Lulińska-Kuklik E, Laguet M, Moska W, Weber-Rajek M, Ficek K, Puchała R, Ciężczyk P, Sawczuk M, September A, Maciejewska-Skrendo A. Are *TNC* gene variants associated with anterior cruciate ligament rupture susceptibility? Journal of Science and Medicine in Sport. 2019; 22(4): 408-412, doi: 10.1016/j.jsams.2018.10.003. Impact Factor: 3.607; Punktacja MNiSW: 140.000

Mój wkład w powstanie pracy jest wiodący. Polegał na opracowaniu koncepcji badań i planu pracy, dokonaniu analizy literatury, analizie uzyskanych wyników oraz uczestnictwie w przygotowaniu manuskryptu do druku.

Hab. 2. Lulińska-Kuklik E, Leźnicka K, Humińska-Lisowska K, Moska W, Michałowska-Sawczyn M, Ossowski Z, Maculewicz E, Ciężczyk P, Kaczmarczyk M, Ratkowski W, Ficek K, Żmijewski P, Leońska-Duniec A. The *VEGFA* gene and anterior cruciate ligament rupture risk in the Caucasian population. Biology of Sport. 2019; 36 (1): 3-8. Impact Factor: 2.000; Punktacja MNiSW: 140.00

Mój wkład w powstanie pracy jest wiodący. Polegał na opracowaniu koncepcji badań i planu pracy, dokonaniu analizy literatury, analizie uzyskanych wyników oraz uczestnictwie w przygotowaniu manuskryptu do druku.

Hab.3. Lulińska-Kuklik E, Maculewicz E, Moska W, Ficek K, Kaczmarczyk M, Michałowska-Sawczyn M, Humińska-Lisowska K, Buryta M, Chycki J, Ciężczyk P, Żmijewski P, Rzeszutko A, Sawczuk M, Stasny P, Petr M, Maciejewska-Skrendo A. Are *IL1B*, *IL6* and *IL6R* gene variants associated with anterior cruciate ligament rupture susceptibility? Journal of Sports Science and Medicine. 2019; 18(1): 137-145. Impact Factor: 1.806, Punktacja MNiSW: 100.00

Mój wkład w powstanie pracy jest wiodący. Polegał na opracowaniu koncepcji badań i planu pracy, dokonaniu analizy literatury, analizie uzyskanych wyników oraz uczestnictwie w przygotowaniu manuskryptu do druku.

Hab.4. Lulińska-Kuklik E, Rahim M, Moska W, Maculewicz E, Kaczmarczyk M, Ciężczyk P, Maciejewska-Skrendo A, Ficek K, September A, Sawczuk M. 2019. Are *MMP3*, *MMP8* and *TIMP2* gene variants associated with anterior cruciate ligament rupture susceptibility? Journal of Science and Medicine in Sport. DOI: 10.1016/j.jsams.2019.01.014. Impact Factor: 3.607; Punktacja MNiSW: 140.000

Mój wkład w powstanie pracy jest wiodący. Polegał na opracowaniu koncepcji badań i planu pracy,

dokonaniu analizy literatury, analizie uzyskanych wyników oraz uczestnictwie w przygotowaniu manuskryptu do druku.

Hab. 5. Lulińska E, Gibbon A, Kaczmarczyk M, Maciejewska-Skrendo A, Ficek K, Leońska-Duniec A, Wilk M, Leźnicka K, Michałowska-Sawczyn M, Humińska-Lisowska K, Buryta R, Cięszczyk P, Maculewicz E, Czarny W, September AV, Sawczuk M. Matrix metalloproteinase genes (*MMP1*, *MMP10*, *MMP12*) on chromosome 11q22 and the risk of non-contact anterior cruciate ligament ruptures. *Genes* (Basel). 2020; 11(7):766. doi: 10.3390/genes11070766. Impact Factor: 4.096, Punktacja MNiSW: 100.000

Mój wkład w powstanie pracy jest wiodący. Polegał na opracowaniu koncepcji badań i planu pracy, dokonaniu analizy literatury, analizie uzyskanych wyników oraz uczestnictwie w przygotowaniu manuskryptu do druku.

Sumaryczny Impact Factor dla jednotematycznego cyklu publikacji: 15.116

Sumaryczna punktacja MNiSW dla jednotematycznego cyklu publikacji: 620.000

Pełne wersje publikacji wraz z oświadczeniami o udziale współautorstwa znajdują się w załączniku: "Jednotematyczny cykl publikacji stanowiący osiągnięcie naukowe wraz z oświadczeniami"

4.1.3 Omówienie głównego osiągnięcia naukowego

4.1.3.1 Założenia teoretyczne

Wstęp

W obecnym świecie nastawionym na sukces sportowca, należy poszukiwać zależności, które wzmacniają i ograniczają karierę sportową sportowców. Należy poszukiwać różnorodnych powiązań, do tworzenia bardziej efektywnych: treningów, strategii zarządzania emocjami, radzenia sobie ze stresem, spersonalizowanych planów dietetycznych. Należy również, poszukiwać różnorodnych zależności, w szacowaniu i określeniu zagrożeń dla wyników sportowych sportowca. Jednym z dużych zagrożeń, jest poważna kontuzja narządu ruchu, z powodu niekontaktowego urazu. Rozumienie czynników, wpływających na przerwanie lub długotrwałą przerwę z powodu kontuzji, w karierze sportowca, jest kluczowym elementem spersonalizowanej skutecznej medycyny sportowej oraz spersonalizowanych efektywnych treningów.

Jednym z głównych problemów osób aktywnych fizycznie, zarówno uprawiających sport na poziomie amatorskim, jak i profesjonalnym jest zwiększone ryzyko wystąpienia urazów i następnych uszkodzeń układu ruchu. Umiarkowany wysiłek fizyczny dostosowany do potrzeb i możliwości ćwiczącego pełni funkcję prozdrowotną, gdyż wpływa korzystnie na organizm człowieka na wielu poziomach. Poprawia wydolność układu krążenia i oddychania, zwiększa masę i siłę mięśniową, wspomaga sprawność intelektualną, zmniejsza napięcia nerwowe, stany lękowe i depresyjne oraz wpływa na poprawę jakości snu, a w konsekwencji na lepsze samopoczucie. Wpływa on również na poprawę równowagi i koordynacji ruchów, zwiększenie ruchomości stawów, a także na wzmocnienie ich biernych stabilizatorów w postaci torebek stawowych, ścięgien i więzadeł (Lewandowska i wsp. 2017).

Zrozumienie czynników wpływających na predyspozycje, do urazów więzadłowych, skłania do wielopłaszczyznowego poszukiwania ich przyczyn. Rozwój nauk o kulturze fizycznej i postęp technologii sekwencjonowania DNA umożliwia lepsze zrozumienie wpływu genetyki na predyspozycje urazów ACL u sportowców.

Należy podkreślić, że aktywność fizyczna niesie pozytywne zmiany, w psychowydolności człowieka. Od najmłodszych lat kształtuje postawy i zachowania prozdrowotne związane bezpośrednio z lepszą jakością wydłużającego się życia. Niesie również zmiany degeneracyjne związane z narządem ruchu. Zbalansowanie tego, powinno być wiodącym kierunkiem w sporcie i odnowie biologicznej sportowców, w edukacji zdrowotnej i w ochronie zdrowia.

Wartym podkreślenia jest aspekt ekonomiczny. Jest on dość istotny w sporcie, a wiąże się z zwiększonymi kosztami, przy długim wyłączeniu zawodnika z jego aktywności, w przypadku urazu więzadłowego.

Należy zwrócić uwagę, że intensywne doskonalenie ruchów czy też zwiększanie masy mięśni nie mogą odbywać się bez skutków ubocznych, a ich ceną może być przyspieszone zmiany degeneracyjne tkanek. Uszkodzenia narządu ruchu mogą mieć charakter ostry, gdy występują nagle pod wpływem jakiegoś czynnika zewnętrznego. Mogą przyjmować również postać przewlekłą, która przebiega do pewnego momentu bezobjawowo. Postać przewlekła jest następstwem mikrourazów, będących skutkiem niemal prawidłowych czynności, takich jak proste ruchy czy też mniej lub bardziej zaawansowane ćwiczenia treningowe, co w konsekwencji może prowadzić do wystąpienia objawów np. w postaci stanów zapalnych, naderwań lub zerwań więzadeł lub ścięgien (Li i wsp. 2024). U podstaw większości tych zmian leżą zespoły przeciążeniowe takie jak miopatie, tendinopatie, meniskopatie i inne (Dziak 2001, Collins i Raleigh 2009). Jedną ze struktur, która dość często ulega pourazowemu uszkodzeniu w obrębie stawu kolanowego, w związku z uczestnictwem w aktywności fizycznej, jest więzadło krzyżowe przednie (ang. Anterior Cruciate Ligament, ACL). Statystyki wskazują, że tylko w Stanach Zjednoczonych dochodzi do ok. 250 000 uszkodzeń ACL rocznie (Baldassarri i wsp. 2018). Uszkodzenie ACL, włącznie z jego zerwaniem, jest jednym z najcięższych urazów aparatu ruchu, jaki może przydarzyć się osobie trenującej, m.in. ze względu na czas wyłączenia z rywalizacji sportowej wynoszący nawet do 12 miesięcy (czas potrzebny na optymalną rehabilitację po operacyjnej rekonstrukcji ACL) i ewentualne następne patologiczne zmiany w obrębie stawu kolanowego (September i wsp. 2012).

Dyscypliny sportowe, takie jak piłka nożna, w których przebieg gry wymusza na zawodnikach wykonanie w ciągu meczu licznych, nagłych zmian tempa lub/i kierunku ruchu, mogą zwiększać indywidualne ryzyko uszkodzenia ACL nawet dziesięciokrotnie (Collins i Raleigh 2009). Szacuje się, że około 40% wszystkich urazów stawu kolanowego u piłkarzy nożnych związanych jest z uszkodzeniem ACL (Baldassarri i wsp. 2018, Li i wsp. 2024).

Każda osoba ćwicząca, zarówno amatorsko, jak też zawodowo, ma swój własny maksymalny poziom tolerancji obciążeń treningowych, co wpływa na międzyosobnicze zróżnicowanie w odpowiedzi tkanek układu mięśniowo-szkieletowego na ordynowany wysiłek. Pomimo faktu, iż dokładny mechanizm prowadzący do uszkodzenia ACL nie jest do końca poznany, opisano wiele czynników zarówno egzogennych (środowiskowych), jak i endogennych (wrodzonych), które leżą u podstaw międzyosobniczego zróżnicowania odpowiedzi powysiłkowej, co może przekładać się na zwiększone ryzyko wystąpienia urazów u niektórych predysponowanych osób.

Wśród najważniejszych czynników endogennych mogących zwiększać ryzyko uszkodzenia wymienia się: przebyte wcześniej uszkodzenia struktur stawowych, wiek biologiczny, somatotyp, płeć, biomechanikę ruchu, budowę anatomiczną stawu, struktury nerwowomięśniowe. Wiele z tych czynników jest w mniejszym lub większym stopniu determinowanych genetycznie, a w szczególności te związane z właściwościami strukturalnymi, biochemicznymi i fizjologicznymi tkanek budujących

struktury więzadłowe (September i wsp. 2007, Collins i Raleigh 2009).

Wieżadła są pasmami tkanki łącznej zbudowanej w głównej mierze z kolagenu fibrylarnego typu I oraz wody. Dodatkowo, elementami strukturalnymi i regulatorowymi więzadeł i otaczającej je macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. extra cellular matrix, ECM), są także włókna kolagenowe typu II-VI, IX-XII i XIV oraz proteoglikany, takie jak: dekoryna, lumikan, wersykan, biglykan i agrekan, a także glikoproteiny np. w postaci tenascyny C (Frank 2004, Hoffmann i wsp. 2007, Bulbul i wsp. 2023). Integralnym elementem struktur więzadłowych są także białka zaangażowane w procesy adaptacji, leczenia oraz przebudowy ECM, takie jak: metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. matrix metallo proteinase, MMP), metaloproteinazy zawierające w swej budowie motyw trombospondyny (ang. a disintegrin like and metalloprotease-thrombospondin with type 1 motif, ADAMTS), tkankowe inhibitory metaloproteinaz (ang. tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP) oraz różnorodne czynniki wzrostu np. czynnik A wzrostu śródbłónki naczyniowej (ang. vascular endothelial growth factor A, VEGF-A) i cytokiny, takie jak np. interleukiny IL1B, IL6, czy ich receptory (IL6R) (September i wsp. 2007, Li i wsp. 2024, Simunic-Briski i wsp. 2024).

Istotny dla mnie jako specjalisty w zakresie rehabilitacji, w procesie regeneracji i odnowy biologicznej, w skutecznych programach rehabilitacyjnych narządu ruchu, jest **dynamiczny rozwój metod biologii molekularnej**. Pozwala on na poznanie struktury i sekwencji ludzkiego genomu, dlatego też obecnie stała się możliwa analiza komponenty genetycznej różnych cech człowieka, m.in. **podłoża genetycznego uszkodzeń tkanek miękkich** (odnosi się to również do uszkodzenia struktur więzadłowych). Pomimo faktu, że międzyosobnicze różnice w sekwencji DNA człowieka są niewielkie (sądzi się, że jest to ok. 0,1%), zastosowanie modelu opartego na analizie asocjacyjnej genów kandydackich (geny wytypowane do badań na podstawie wcześniejszej wiedzy dotyczącej funkcji pełnionej przez produkty ich ekspresji) wskazuje, że nawet niewielkie różnice w sekwencji genów, np. w formie zmian pojedynczych nukleotydów (ang. single nucleotide polymorphism, SNP) lub insercyjno-delecyjnych (I/D), mogą mieć zasadniczy wpływ, m.in. na wspomniane wcześniej zróżnicowanie w poziomie ryzyka wystąpienia urazu (Jorde i Wooding 2004, Bulbul i wsp. 2023). Jednym z pierwszych genów analizowanych w kontekście analizy ryzyka uszkodzeń więzadeł i ścięgien był *COL1A1* kodujący łańcuchy typu $\alpha 1$ kolagenu typu I (Khoschnau i wsp. 2008).

Od 2008 roku notuje się systematyczny wzrost liczby analizowanych miejsc polimorficznych zlokalizowanych w genomie człowieka, które korelują z międzyosobniczym zróżnicowaniem uszkodzeń tkanek miękkich, ze szczególnym uwzględnieniem ACL - dane literaturowe wskazują na blisko sto takich miejsc, w większości w postaci SNPs i I/D (Rahim i wsp. 2016, Gibbon i wsp. 2018, Ebert i wsp. 2023). Biorąc pod uwagę fakt, iż genetyczne podłoże uszkodzenia ACL jest determinowane poligenowo, liczba ta nie jest zaskakująca. Jest także prawdopodobne, że mimo wielu lat badań, liczba markerów molekularnych mających wpływ na międzyosobnicze zróżnicowanie ryzyka uszkodzenia ACL może być większa.

Moje zainteresowania badawcze skupiły się na analizie asocjacyjnej genów kandydackich, których produkty zaangażowane są w procesy pourazowej adaptacji tkanek miękkich. Ze względu na fakt, że problematyka związana z analizą podłoża genetycznego uszkodzenia tkanek miękkich była dla mnie niezwykle interesująca, w celu analizy genów kandydackich, których wersje alleliczne mogą mieć wpływ na międzyosobnicze zróżnicowanie ryzyka uszkodzenia ACL, podjęłam współpracę z wiodącymi zagranicznymi ośrodkami m.in.: UCT Research Centre for Health through Physical Activity, Lifestyle and Sport (HPALS), University of Cape Town, Republika Południowej Afryki; Division of Exercise Science and Sports Medicine, Department of Human Biology, Faculty of Health

Sciences, University of Cape Town, Cape Town, Republika Południowej Afryki oraz krajowymi ośrodkami naukowo-badawczymi i klinikami ortopedycznymi (m.in. Zakład Fizjoterapii i Medycyny Sportowej w Katedrze Podstaw Fizjoterapii Akademii Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach; Katedra Fizjoterapii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu; Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii w Warszawie; Instytut Sportu – Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie; Zakładem Biomedycyny i Genetyki Łódzkiego Uniwersytetu Medycznego; Instytutem Nauk o Kulturze Fizycznej Uniwersytetu Szczecińskiego, NZOZ Galen Ortopedia w Bieruniu).

Geny istotne z punktu urazów i regeneracji więzadeł

Poddałam analizie wybrane geny kandydackie kodujące: tenascynę C (*TNC*), czynnik A wzrostu śródbłónka naczyniowego (*VEGFA*), interleukinę 1B (*IL1B*), 6 (*IL6*), jak również jej receptor (*IL6R*), a także metaloproteinazy 1, 3, 8 i 10 macierzy zewnątrzkomórkowej (*MMP1*, *MMP3*, *MMP8*, *MMP10*, *MMP12*), oraz tkankowy inhibitor metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej 2 (*TIMP2*).

Wyboru genów dokonałam tak, aby uzyskać grupę różnorodnych czynników genetycznych kodujących produkty białkowe, zarówno związanych ze strukturą i regulacją metabolizmu więzadeł, jak również będących elementami zaangażowanymi w procesy adaptacji, leczenia, przebudowy otaczającej je macierzy zewnątrzkomórkowej.

4.1.3.2 Cel badań

Cel przeprowadzonych badań, koncentrował się na:

1. rozumieniu wpływów genów na uszkodzenie ACL w wyniku urazu niekontaktowego u sportowców,
2. ocenie zależności pomiędzy polimorfizmem wybranych genów kandydackich (*TNC*, *VEGFA*, *IL1B*, *IL6*, *IL6R*, *MMP1*, *MMP3*, *MMP3*, *MMP8*, *MMP10*, *MMP12*, *TIMP2*) a uszkodzeniem ACL w wyniku urazu niekontaktowego u sportowców,
3. ocenie przydatności wybranych polimorfizmów typu SNP wymienionych genów jako potencjalnych markerów molekularnych, umożliwiających określenie osobniczych predyspozycji do uszkodzenia ACL.

Reasumując, w zastosowaniu praktycznym, moim celem badań było: określenie potencjalnych markerów molekularnych u sportowców wysokokwalifikowanych, jako podstawy konstrukcji profili genetycznych, służących wstępnej selekcji, określenia predyspozycji urazu niekontaktowego, najpoważniejszego uszkodzenia więzadłowego (ACL), do wykorzystania w codziennej praktyce zawodowej: selekcjonerów, trenerów, fizjoterapeutów. Wykorzystanie wiedzy w tym zakresie, może znaleźć zastosowanie w przyszłościowych spersonalizowanych programach skutecznej, szybkiej odnowy biologicznej i regeneracji sportowców a także w spersonalizowanych bardziej efektywnych treningach.

4.1.3.3 Uczestnicy badań

Badania przedstawione w pięciu publikacjach, stanowiących osiągnięcie naukowe miały charakter kliniczno – kontrolny. Wzięło w nich udział od 412 do 430 osób, niespokrewnionych ze sobą sportowców o porównywalnym poziomie ekspozycji sportowej, dużych osiągnięciach sportowych

(piłkarze i piłkarki nożne I, II, III ligi piłki nożnej, narciarki). Publikacje 1: 229; 2: 222; 3: 229; 4: 229, 5: 228. Grupę kontrolną stanowiły osoby, zdrowe, aktywnie fizycznie, bez wcześniejszych urazów więzadeł i ścięgien, które spełniły kryteria kwalifikacyjne do udziału w badaniach. Publikacje 1: 192; 2: 190; 3: 194; 4: 192, 5: 202. Włączono uczestników obu płci kobiety i mężczyźni. Procedury badań sporządzono zgodnie z zasadami Deklaracji Helsińskiej Światowego Towarzystwa Lekarskiego. Procedury zostały zatwierdzone przez Komisję Etyki Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie BN – 001145/0; KB - 12/102/10; Komisję Etyki przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Szczecinie 09/KB/IV/2011; 01/KBN/2017; Komisję Etyki przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Gdańsku KB – 8/16.

4.1.3.4 Metody badań

Metodologia badań molekularnych. Prezentowana w cyklu artykułów osiągnięcia naukowego obejmowała pobranie materiału biologicznego z nabłonka jamy ustnej, z którego izolowano DNA zgodnie ze standardowymi protokołami oraz genotypowanie z wykorzystaniem techniki łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (realtime-PCR). W celu genotypowania wybranych polimorfizmów prowadzono realtime-PCR w aparacie StepOne Real – Time używając gotowych zestawów odczynnikowych TaqManRPre-Desinged SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, USA) Każdy zestaw zawierał parę specyficznych starterów oraz fluorescencyjnie wyznakowane sondy molekularne typu TaqMan wiążące się z mniejszą bruzdą DNA (Minor Groove Binding – MGB), komplementarne odpowiednio do obu wersji allelicznych w badanych punktach polimorficznych.

Selekcja genów kandydackich i miejsc polimorficznych opierała się na wnikliwej analizie literatury, badaniach zespołu naukowców oraz analizie baz danych NCBI.

Zastosowano kompleksowe **metody analizy statystycznej** do oceny wpływu genetyki na częstość występowanie niekontaktowego urazu ACL. Analiza obejmowała test Chi – kwadrat, sprawdzenie zgodności rozkładów genotypów i alleli z równowagą Hardy'ego-Weinberga (HWE). Zostały określone w różnych modelach genetycznych (kodominantnym, dominującym, recesywnym i naddominującym) przy użyciu pakietu SNPAssoc. Analizy statystyczne zostały przeprowadzone w R, przy użyciu określonych pakietów R (wersja 3.4.0, The R Foundation for Statistical Computing, Wiedeń, Austria; <https://cran.r-project.org>). Dodatkowo przeprowadzono analizę interakcji SNP x SNP (epistaza) przy użyciu testu stosunku wiarygodności logarytmicznej. Moc testu obliczono za pomocą programu QUANTO (wersja 1.2.4, <http://biostats.usc.edu>) przy założeniu dominującego modelu genetycznego, częstości występowania zerwania więzadła krzyżowego przedniego (ACL).

4.1.3.5 Szczegółowe omówienie wyników [Hab. 1- Hab.5]

Hab. 1. Polimorfizm genu *TNC* i ryzyko uszkodzenia ACL

Pierwszym genem poddanym analizie przez zespół naukowy, którego pracami kierowałam, był *TNC* kodujący tenascynę C [Hab. 1]. Tenascyna C jest to oligomeryczna glikoproteina występująca w postaci heksameru, wchodząca w skład ECM, biorąca udział m.in. w remodelowaniu ECM i przekazywaniu sygnałów międzykomórkowych, wykazująca funkcje adhezyjne lub antyadhezyjne w zależności od kontaktu z innymi komponentami ECM. Tenascyna C ma możliwość pełnienia różnych funkcji m.in. dzięki bezpośrednim oddziaływaniom z receptorami na powierzchni komórek lub pośrednio, poprzez modyfikację innych białek ECM oraz cząsteczek odpowiedzialnych za adhezję (Mazur i wsp. 2013). Tenascyna C może wiązać się co najmniej z kilkunastoma proteinami i węglowodanami ECM oraz wchodzić w interakcje m.in. z fibronektyną i proteoglikanami siarczanu chondroityny takimi jak agrekan, wersykan i brewikan. Dodatkowo, ze względu na metabolizm, tenascyna C reaguje

z metaloproteinazami macierzy zewnątrzkomórowej takimi jak: MMP-2, MMP-3, MMP-7, wpływając również na ekspresję MMP-1, MMP-9 (Jones i Jones 2000, Orend i Chiquet-Ehrismann 2006). Tenascyna C ulega ekspresji w czasie embriogenezy, natomiast podczas organogenezy ilość tej glikoproteiny spada. W dojrzałych narządach i tkankach jej ekspresja jest śladowa, bądź nie ma jej wcale. Jednakże w stanach chorobowych wywołanych infekcjami, zapaleniem lub nowotworzeniem dochodzi do wznowienia ekspresji tenascyny C (Chiquet-Ehrismann 2004). Ekspresję tenascyny C obserwuje się również w dojrzałych ścięgnach i więzadłach, głównie w regionach mięśniowo-ścięgnistych oraz w obrębie przyczepów ścięgien do kości, gdzie jej poziom jest regulowany w zależności od dawki. Ma to zasadniczy wpływ na właściwości elastyczne i biomechaniczne więzadeł i ścięgien, w szczególności w kwestii przekazywania dużych obciążeń mechanicznych (Jiang i wsp. 2012). Wyniki badań przeprowadzonych przez Mokone i wsp. (2005) oraz Saunders i wsp. (2013) wykazały, że zlokalizowane w obrębie genu *TNC* miejsca polimorficzne w postaci mikrosatelitarnego powtórzenia di nukleotydowego GT w intronie 17 oraz niesynonimiczne SNP w egzonie 17 (rs2104772, T/A), egzonie 24 (rs13321, G/C) i w intronie 15 (rs1330363, C/T) *TNC* korelują z uszkodzeniem ścięgna Achillesa w populacji południowo-afrykańskiej i australijskiej. Dodatkowo, stwierdzono również, że allel A rs2104772 moduluje ryzyko uszkodzenia ścięgien pierścienia rotatorów obręczy barkowej (Kluger i wsp. 2017). Istnieje niewiele informacji dotyczących znaczenia funkcjonalnego powyższych miejsc polimorficznych, jednakże dzięki wykorzystaniu narzędzi bioinformatycznych sugeruje się, że zlokalizowane są one w miejscach potencjalnego wiązania transkrypcyjnych czynników regulatorowych.

Dane analizujące związek powyższych miejsc polimorficznych zlokalizowanych w *TNC* z międzyosobniczym zróżnicowaniem pourazowego ryzyka uszkodzenia więzadła krzyżowego przedniego są nieliczne.

Hipoteza badawcza. *Częstość poszczególnych alleli i układów genotypowych w miejscach polimorficznych: rs1330363, rs2104772, rs13321 genu TNC różni się pomiędzy sportowcami u których stwierdzono niekontaktowe uszkodzenie ACL a grupą kontrolną.*

W badaniach asocjacyjnych, analizowałam warianty: rs1330363 C/T, rs2104772 T/A i rs13321 G/C genu *TNC* z ryzykiem uszkodzenia ACL u osób aktywnych fizycznie. W tym celu oszacowano częstości alleli, genotypów, a także układów haplotypowych w trzech punktach polimorficznych u osób z uszkodzeniem ACL oraz w grupie kontrolnej.

[Hab. 1]. Grupa badana (ACLR) były osoby rasy białej, pochodzące z Europy środkowo-wschodniej, z chirurgicznie zdiagnozowanym zerwaniem/uszkodzeniem więzadła przedniego, które doznały urazu niekontaktowego, zakwalifikowane na operacyjną rekonstrukcję ACL. W grupie tej znaleźli się: piłkarze nożni (w liczbie 164), piłkarki nożne (w liczbie 40) oraz kobiety uprawiające narciarstwo (w liczbie 25). Grupę kontrolną (CON) stanowiły osoby, u których nie stwierdzono nigdy uszkodzenia struktur więzadłowych czy też ścięgnistych, w tym ACL. W przypadku mężczyzn (107 osób), byli to zawodnicy tych samych drużyn piłki nożnej, z których pochodzili mężczyźni z uszkodzeniem ACL z grupy badanej. Mężczyźni z grupy kontrolnej byli przedstawicielami rasy białej, pochodzili z Europy środkowo-wschodniej i byli w podobnym wieku do zawodników z grupy badanej. Mężczyźni z grupy kontrolnej charakteryzowali się porównywalnym obciążeniem treningowym i mieli doświadczenie zawodnicze związane z podobnym czasem gry w warunkach meczowych w porównaniu do zawodników z uszkodzeniem ACL, co wiąże się ze zbliżonym poziomem ryzyka uszkodzenia ACL. W grupie kontrolnej 85 kobiet, do badań rekrutowano osoby aktywne fizycznie z klubów sportowych i centrów wellness, które deklarowały minimalny czas aktywności na poziomie 7 godzin tygodniowo.

W toku badań nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie, zarówno przy porównywaniu częstości alleli, jaki i częstości genotypów, pomiędzy grupą badaną a grupą kontrolną dla trzech analizowanych SNPs (rs1330363, rs2104772, rs13321) genu *TNC*.

W przypadku powyższych SNPs nie zaobserwowaliśmy także różnic istotnych statystycznie, gdy analizowano osobno grupy mężczyzn i kobiet. Odnotowaliśmy wysoki poziom nierównowagi sprzężeń pomiędzy wariantami rs1330363 i rs2104772 genu *TNC*. Analiza haplotypów wykonana w celu zaobserwowania potencjalnego wpływu kombinacji alleli na modulację ryzyka uszkodzenia ACL, umożliwiła zidentyfikowanie 8 rodzajów haplotypów, przy czym 4 z nich odpowiadały za 92% zmienności haplotypowej, natomiast najczęstszym z nich (zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej) był haplotyp T-A-G (odpowiednio rs1330363-rs2104772-rs13321).

Nie stwierdzono różnic w częstości alleli i genotypów w punktach polimorficznych rs1330363, rs2104772, rs13321 genu TNC pomiędzy sportowcami u których stwierdzono niekontaktowe uszkodzenie ACL a osobami z grupy kontrolnej.

Na podstawie przeprowadzonych analiz haplotypowych, nie odnotowaliśmy również różnic lub trendów istotnych statystycznie po zastosowaniu korekty dla płci [**Hab. 1**] Postawiona hipoteza, nie potwierdziła się.

Oceniając przydatność polimorfizmu genetycznego w postaci 3 wytypowanych SNPs w obrębie genu *TNC* jako potencjalnych markerów molekularnych umożliwiających określenie osobniczych predyspozycji do uszkodzenia ACL należy stwierdzić, że w populacji polskiej okazały się one nieinformatywne w badanej grupie.

Należy przypuszczać, że analizowane warianty alleliczne rs1330363, rs2104772, rs13321 w populacji polskiej nie zwiększają ani też nie zmniejszają ryzyka uszkodzenia ACL. Jednakże nie można wykluczyć sytuacji, że pozostałe opisane w obrębie genu *TNC* miejsca polimorficzne mogą modulować ryzyko uszkodzenia ACL.

W przyszłości, w organizacji badań tego zakresu, biorąc pod uwagę charakter genetycznych badań asocjacyjnych, należałoby potwierdzić uzyskane przez nas wyniki w niezależnych badaniach, w których dysponowano by liczniejszą grupą badanych.

Hab. 2. Polimorfizm genu VEGFA i ryzyko uszkodzenia ACL

W kolejnej publikacji postanowiłam zbadać potencjalny związek pomiędzy zróżnicowaniem genu *VEGFA*, kodującego czynnik A wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF-A) a ryzykiem uszkodzenia ACL w populacji polskiej. VEGF-A jest członkiem rodziny płytkopochodnych czynników wzrostu (PDGF)/czynników wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF). To glikozylowane białko ma charakter mitogenu o właściwościach czynnika wzrostu komórek endotelialnych, który powoduje wzrost przepuszczalności naczyniowej, promocyję migrację komórek, indukuje waskulo- i angiogenezę, jednocześnie inhibując apoptozę (Karaman i wsp. 2018). Proces angiogenezy definiowany jako tworzenie nowych naczyń krwionośnych z istniejących kapilar zachodzi w życiu embrionalnym i pozapłodowym (Uttech-Pudełko i wsp. 2014). Angiogeneza odgrywa zasadniczą rolę w wielu procesach biologicznych zarówno o charakterze fizjologicznym (np. rozwój organizmu, adaptacja powysiłkowa, leczenie ran), jak i stanach patologicznych (np. nowotworzenie, retinopatia cukrzycowa, reumatoidalne zapalenie stawów) (Zhao i wsp. 2016). Proces tworzenia naczyń krwionośnych, stymulowanych przez czynniki naczyniowe (w tym VEGF-A) jest także związany z remodelowaniem macierzy zewnątrzkomórkowej w następstwie obciążeń mechanicznych tkanek miękkich (Rahim i wsp. 2018). Zaobserwowano bowiem zwiększony poziom cytokin angiogennych

oraz czynników wzrostu nabłonka naczyń w obrębie uszkodzonych więzadeł i ścięgien poddanych obciążeniom mechanicznym i po cyklicznym rozciąganiu fibroblastów ścięgien (Petersen i wsp. 2004, Beye i wsp. 2008). Powyższe badania wskazują, że intensywność procesu angiogenezy może być podwyższona po mechanicznym obciążeniu tkanek, co związane jest z przebudową ECM w kontekście utrzymania homeostazy tkanki (Rahim i wsp. 2018). Jednakże dysregulacja tego procesu może skutkować negatywnymi konsekwencjami w odniesieniu do właściwości i możliwości fizjologicznych tkanki (Cook i Docking 2015). W obrębie genu kodującego VEGF-A zlokalizowanych jest ponad 30 miejsc polimorficznych typu SNP. Badania dowodzą, że przynajmniej kilka z nich związanych jest z modulowaniem procesu ekspresji *VEGFA*, co może przekładać się na międzyosobnicze zróżnicowanie w poziomie tego białka i w konsekwencji przyczynić się do promocji niektórych schorzeń (Watson i wsp. 2000 i Bhanoori i wsp. 2005). Funkcjonalne miejsca polimorficzne rs699947 (C/A), rs1570360 (G/A) i rs2010963 (G/C) są jednymi z najczęściej proponowanych polimorfizmów w genie *VEGFA* w kontekście analizy genetycznego podłoża uszkodzenia tkanek miękkich, w tym tendinopatii ścięgna Achillesa i uszkodzenia ACL. Stwierdzono, że genotyp CC rs2010963 jest związany ze zwiększoną, w stosunku do genotypów GC i GG, ekspresją *VEGFA* i wyższym poziomem białka krążącego we krwi (Schneider i wsp. 2008). Przypuszcza się, że podwyższony poziom VEGF-A może w konsekwencji promować ekspresję metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej, a MMP poprzez swoją działalność enzymatyczną mogą zaburzyć homeostazę więzadeł i ścięgien przyczyniając się do zmiany ich właściwości mechanicznych (Wang i Keiser 1998). Dotychczas przeprowadzone analizy asocjacyjne wykazały związek polimorfizmów rs699947 (C/A), rs1570360 (G/A) i rs2010963 (G/C) z uszkodzeniem ACL w populacji południowoafrykańskiej oraz asocjację z tendinopatią ścięgna Achillesa w populacji południowoafrykańskiej i brytyjskiej (Rahim i wsp. 2014, Rahim i wsp. 2016).

Przedstawione powyżej markery, zlokalizowane w genie *VEGFA* nie były analizowane w populacji polskiej. Postanowiłam zbadać czy polimorfizmy: rs699947 (C/A), rs1570360 (G/A) i rs2010963 (G/C) modulują ryzyko uszkodzenia ACL w tej populacji.

Hipoteza badawcza: *Poszczególne formy polimorfizmów: rs699947, rs1570360, rs2010963 genu VEGFA modulują ryzyko niekontaktowego uszkodzenia ACL u sportowców, w odniesieniu do grupy kontrolnej.*

Przeprowadzone badanie asocjacyjne mały dać odpowiedź, na tę hipotezę, porównując częstości występowania alleli, genotypów oraz haplotypów w grupie osób z uszkodzeniem ACL i grupie kontrolnej.

[Hab. 2]. Grupą badaną (ACLR) były osoby rasy białej, pochodzące z Europy środkowo-wschodniej, z chirurgicznie zdiagnozowanym zerwaniem/uszkodzeniem więzadła przedniego, które doznały urazu niekontaktowego, zakwalifikowane na operacyjną rekonstrukcję ACL. W grupie tej znaleźli się piłkarze nożni (w liczbie 156), piłkarki nożne (w liczbie 41) oraz kobiety uprawiające narciarstwo (w liczbie 25). Grupę kontrolną (CON) stanowiły osoby, u których nie stwierdzono nigdy uszkodzenia struktur więzadłowych czy też ścięgniastych, w tym ACL. W przypadku mężczyzn (107 osób), byli to zawodnicy tych samych drużyn piłki nożnej, z których pochodzili mężczyźni z uszkodzeniem ACL z grupy badanej. Mężczyźni z grupy kontrolnej byli przedstawicielami rasy białej, pochodzili z Europy środkowo-wschodniej i byli w podobnym wieku w porównaniu do zawodników z grupy badanej. Mężczyźni z grupy kontrolnej charakteryzowali się porównywalnym obciążeniem treningowym i mieli doświadczenie zawodnicze związane z podobnym czasem gry w warunkach meczowych w porównaniu do zawodników z uszkodzeniem ACL, co wiąże się ze zbliżonym poziomem ryzyka uszkodzenia ACL. W grupie kontrolnej 83 kobiet, do badań rekrutowano osoby aktywne fizycznie z klubów sportowych

i centrów wellness, które deklarowały minimalny czas aktywności na poziomie 7 godzin tygodniowo.

Po przeprowadzonych analizach, niezależnie od zastosowanego modelu statystycznego (kodominujący, dominujący, recesywny i naddominujący) wyciągnęłam poniższy wniosek [**Hab. 2**].

Nie wykazano związku pomiędzy rs699947 i rs1570360 genu VEGFA a ryzykiem niekontaktowego uszkodzenia ACL u sportowców, w odniesieniu do grupy kontrolnej.

Wykazano związek polimorfizmu rs2010963 genu VEGFA z ryzykiem niekontaktowego uszkodzenia ACL u sportowców, w odniesieniu do grupy kontrolnej.

Przeprowadzone badania wykazały zarówno w zakresie kodominującego (GG vs CG vs CC, $p=0.047$), jak i recesywnego modelu genetycznego (CC vs CG+ GG, $p=0.017$), istotne statystycznie różnice w częstości genotypów pomiędzy grupą z uszkodzeniem ACL a grupą kontrolną. W przypadku recesywnego modelu genetycznego, homozygoty CC występowały znacząco częściej w grupie osób z uszkodzeniem ACL niż w grupie kontrolnej (odpowiednio 23.4% vs 14.2%, OR=1.85 [1.11-3.08]). Analiza haplotypów rs699947, rs1570360 i rs2010963 pozwoliła na zrekonstruowanie 4 rodzajów haplotypów (tj. C-G-G, A-G-C, A-A-C, C-G-C, odpowiednio dla rs699947, rs1570360 i rs2010963) występujących w grupie badanej, jak i kontrolnej. Wykonana analiza statystyczna umożliwiła uzyskanie związku, zarówno w oparciu o addytywny ($p=0.022$), jak i dominujący ($p=0.020$) model genetyczny pomiędzy haplotypami genu VEGFA a ryzykiem uszkodzenia ACL. W każdym z tych modeli haplotyp C-G-G był związany ze zmniejszonym ryzykiem uszkodzenia ACL ($p=0.020$ i $p=0.018$, odpowiednio dla modelu addytywnego i dominującego), natomiast haplotyp C-G-C genu VEGFA zwiększał ryzyko uszkodzenia ACL ($p=0.009$ i $p=0.009$, odpowiednio dla modelu addytywnego i dominującego) [Hab. 2]. Przedstawione powyżej wyniki badań własnych wskazują, że specyficzny układ genotypowy w genie VEGFA może wpływać na zróżnicowane ryzyko uszkodzenia ACL w populacji polskiej.

Należy podkreślić związek genotypu CC polimorfizmu rs2010963 oraz haplotypu C-G-C ze zwiększonym ryzykiem uszkodzenia ACL. Z badań wynika także, że haplotyp C-G-G może mieć charakter protektywny, obniżający względne ryzyko uszkodzenia ACL. Na podkreślenie zasługuje również fakt, że **wskazane badania po raz pierwszy opisują związek polimorfizmu rs2010963 genu VEGFA z ryzykiem niekontaktowego uszkodzenia ACL.**

Jednakże uzyskane wyniki należy interpretować z pewną dozą ostrożności. Przyszłościowo, powinny one zostać zweryfikowane poprzez przeprowadzenie badań replikacyjnych w innych populacjach i w grupach o zwiększonej liczebności.

Hab. 3. Polimorfizm genów IL1B, IL6 i IL6R a ryzyko uszkodzenia ACL

Kolejnym obiektem badań molekularnych zostały geny kodujące czynniki prozapalne, takie jak interleukiny. Produkty tych genów są czynnikami kluczowymi w wielu ścieżkach sygnałowych komórek oraz przyczyniają się do uruchomienia odpowiedzi zapalnej, która pojawia się w trakcie uszkodzenia struktur łącznotkankowych w obrębie układu ruchu. Interleukiny, jako mediatory odpowiedzi zapalnej, są produkowane także pod wpływem powtarzającego się przeciążania mechanicznego więzadeł czy ścięgien (Tsuzaki i wsp. 2003). Szczegółowe badania wykazały, że [w trakcie uszkodzenia ACL następuje wzrost produkcji interleukiny 1 β (IL-1 β), kodowanej u człowieka przez gen IL1B. Jest cytokiną produkowaną głównie przez makrofagi w uszkodzonych tkankach. Reguluje ekspresję innych mediatorów prozapalnych, w tym również ekspresję genu IL6, kodującego interleukinę 6 (IL-6), wydzielaną w przez ludzkie fibroblasty w czasie urazów ścięgien i więzadeł

(Newton i Covington 1987, Benazzo i wsp. 2008). IL-6 jest plejotropową cytokiną, a jej ekspresja koreluje z intensywnością stanu zapalnego. Odgrywa ona kluczową rolę w procesach resorpcji kości, jak również apoptozie komórek (Ferrari i wsp. 2003, Legerlotz i wsp. 2012). W kontekście uszkodzeń ACL warto podkreślić, iż ekspresja *IL6* wzrasta *in vitro* podczas cyklicznego rozciągania fibroblastów pobranych z ludzkich ścięgien, jak również w stanach patologicznych ścięgien czy więzadeł. IL-6 wywiera swój biologiczny efekt poprzez wiązanie ze specyficznym receptorem IL-6R, kodowanym przez gen *IL6R* (Skutek i wsp. 2001, Legerlotz i wsp. 2012). W sekwencji genów kodujących wspomniane wyżej czynniki opisano wiele zmian o charakterze utrwalonych polimorfizmów, które zostały powiązane z różnymi stanami patologicznymi w obrębie tkanek miękkich układu mięśniowo-szkieletowego (Ferrari i wsp. 2003, 2001, Kelempisioti i wsp. 2011, Rahim i wsp. 2017, September i wsp. 2011).

W regionie promotorowym genu kodującego IL-6 zlokalizowany jest polimorfizm rs1800795 (G/C). Badania wskazują, że jest to polimorfizm o znaczeniu funkcjonalnym, wpływający na ilość powstającego mRNA – allel C związany jest z niższym poziomem ekspresji *IL6* w porównaniu do allelu G. Co więcej, stwierdzono, że podwyższona transkrypcja genu *IL6* (allel G) może w konsekwencji przekierowywać komórki na drogę apoptozy. Z drugiej strony, potwierdzono, że genotyp CC w punkcie rs1800795 może mieć właściwości protektywne w odniesieniu do niektórych schorzeń (Fishman i wsp. 1998). Polimorfizm rs1800795 został powiązany z ryzykiem osteoporozy, młodzieńczego reumatoidalnego zapalenia stawów i innych chronicznych chorób związanych z podwyższeniem aktywności IL-6. W tym zakresie wykazano, że postmenopauzalne kobiety będące homozygotami CC charakteryzują się niższym poziomem osocowego białka sCTx (ang. C-terminal cross-linking of type I collagen), które jest markerem resorpcji kości (Ferrari i wsp. 2001). Inne badania (Ferrari i wsp. 2003) wskazują, że polimorfizm rs1800795, wspólnie z innym punktem polimorficznym rs1800796 (G/C), może wpływać nie tylko na poziom białka sCTx, ale również na poziom białka CRP (ang. C-reactive protein) czy osteokalcyny (będącej markerem formowania kości). W tych badaniach potwierdzono związek pomiędzy obecnością allelu C w rs1800795 a obniżonym poziomem markerów resorpcji kości i wyższą gęstością kości u jego nosicieli, co wskazuje na protektywny charakter allelu C (Ferrari i wsp. 2003). Kolejne analizy wykazały, że rs1800795 jest w grupie polimorfizmów, które prawdopodobnie mają znaczenie w procesach zależnej od wieku degeneracji dysków międzykręgowych (Kelempisioti i wsp. 2011). Co więcej, obecność poszczególnych wariantów w punkcie rs1800795 w genie *IL6*, w kombinacji z wcześniej opisanymi formami polimorficznymi rs16944 w genie *IL1B* oraz rs12722 w *COL5A1*, prawdopodobnie moduluje ryzyko wystąpienia tendinopatii ścięgna Achillesa (Mokone i wsp. 2006, September i wsp. 2011).

W przypadku genu *IL6R*, kodującego receptor dla IL-6, najczęściej badane jest miejsce polimorficzne rs2228145 (A/C, Asp358Ala) skutkujące substytucją aminokwasową zachodzącą w miejscu cięcia białka prekursorowego receptora IL-6R. Proces cięcia jest niezbędny do powstania rozpuszczalnej krążącej formy receptora, tzw. IL-6SR; nosiciele allelu C wykazują wyższy poziom formy IL-6SR (Galicia i wsp. 2004). W kontekście uszkodzeń tkanek miękkich, polimorfizm rs2228145 był pozytywnie korelowany z możliwością wystąpienia CTS (Burger i wsp. 2015a). W kolejnych badaniach rs2228145 został również powiązany z wcześniej opisywanymi w genach *COL5A1* (Burger i wsp. 2015b) oraz *BGN* (Burger i wsp. 2014) czynnikami ryzyka CTS.

W genie kodującym IL-1 β najczęściej badanymi były dwa punkty polimorficzne: rs1143627 oraz rs16944. Pierwszy z nich to substytucja C/T w promotorze *IL1B* powiązana z międzyosobniczymi różnicami w ekspresji genu - nosiciele allelu T w punkcie rs1143627 produkują znacznie więcej mRNA w porównaniu do nosicieli allelu C (Landvik i wsp. 2009). Badania *in vitro* potwierdziły, że konstrukty z allelem T wykazywały 10-krotnie wyższą aktywność transkrypcyjną w odniesieniu do konstruktów z allelem C (Chen i wsp. 2006). Drugi ze wspomnianych polimorfizmów, rs16944, jest podstawieniem

T/C i podobnie jak rs1143627, może wpływać na poziom IL-1 β . Pierwotnie sugerowano, że allel T jest powiązany z umiarkowanym wzrostem ekspresji *IL1B* (Chen i wsp. 2006). Jednakże kolejne analizy wskazywały na przeciwny trend (Landvik i wsp. 2009), związany ze zwiększoną sekrecją IL-1 β i wzrostem aktywności kaskad sygnałowych kontrolowanych przez tę interleukinę w przypadku allele C (Thampatty i wsp. 2007). Badania pacjentów z uszkodzeniami ACL ujawniły, że homozygoty TT obciążone są ponad 3-krotnie większym ryzykiem pojawienia się niekontaktowego uszkodzenia ACL w porównaniu do nosicieli allele C, który został uznany za czynnik protektywny w kontekście tego typu schorzeń (Rahim i wsp. 2017).

Jak wskazano powyżej, opisywane polimorfizmy w genach kodujących IL-1 β , IL-6 oraz IL-6R wykazywały związek w występowaniu różnego typu patologii w obrębie aparatu ruchu. W związku z tym zostały one uznane za markery ryzyka pojawienia się niekontaktowych uszkodzeń tkanek miękkich i były analizowane wspólnie, często w powiązaniu z innymi wariantami genetycznymi (głównie w genach kodujących łańcuchy polipeptydowe białek kolagenowych), u pacjentów z uszkodzonymi więzadłami i ścięgnami.

Pierwsze badania tego typu przeprowadzone w Republice Południowej Afryki ujawniły, że kombinacja alleli T-C-G-A2 (odpowiednio *COL5A1* rs12722 T/C, *IL1B* rs16944 C/T, *IL6* rs1800795 G/C and *IL1RN* rs2234663 VNTR) występuje znacząco częściej u pacjentów z tendinopatią ścięgna Achillesa (September i wsp. 2011). W kolejnych analizach z kolei wykazano, iż kombinacja alleli T-C-G-A (odpowiednio *COL5A1* rs12722 T/C, *IL1B* rs16944 C/T, *IL6* rs1800795 G/C, *IL6R* rs2228145 A/C) ma znaczenie w etiologii uszkodzeń ACL w populacji południowoafrykańskiej (Rahim i wsp. 2017). Warto zauważyć, że oba wspomniane układy alleliczne (T-C-G-A2 i T-C-G-A) różnią się jedynie w odniesieniu do ostatniego jej elementu, podczas gdy pierwsze trzy (opisywane w punktach *COL5A1* rs12722 /C, *L1B* rs16944 C/T, *IL6* rs1800795 G/C) pozostają identyczne, co sugerowało ich rzeczywistą rolę jako markerów uszkodzeń tkanek miękkich.

Biorąc pod uwagę przedstawione powyżej fakty, w badaniach zdecydowałam się na analizę związku pomiędzy obecnością 4 wariantów polimorficznych: rs16944 i rs1143627 w genie *IL1B*, rs1800795 w *IL6* oraz rs2228145 w *IL6R* z ryzykiem pojawienia się uszkodzeń ACL.

Hipoteza badawcza: *Poszczególne formy wariantów polimorficznych: rs16944, rs1143627 w genie IL1B; rs1800795 w genie IL6; rs2228145 w genie IL6R mogą występować z różną częstością w niekontaktowym uszkodzeniu ACL sportowców, w odniesieniu do grupy kontrolnej.*

W tym celu zostały zbadane: częstość alleli i genotypów opisywanych w tych punktach polimorficznych w grupie badanej osób z uszkodzeniami ACL oraz grupie kontrolnej osób bez historii uszkodzeń tego typu.

[**Hab. 3**]. Grupę badaną (ACLR) stanowiło 229 piłkarzy (164 osoby) i piłkarek nożnych (65 osób) ze zdiagnozowanym uszkodzeniem ACL, zakwalifikowanych do zabiegu rekonstrukcji więzadła. 194 osoby z grupy kontrolnej (CON) nie miały historii jakichkolwiek uszkodzeń ACL. Mężczyźni do grupy kontrolnej (109 osób) byli rekrutowani z tych samych drużyn, z których pochodzili zawodnicy z grupy badanej, tak aby środowiskowe czynniki ryzyka uszkodzenia ACL (podobny wiek i pochodzenie etniczne, zbliżony czas trwania i intensywność treningów, czas zaangażowania zawodnika w aktywność meczową) były porównywalne. Kobiety do grupy kontrolnej (85 osób) były rekrutowane w obrębie klubów sportowych i centrów wellness na podstawie ich deklaracji o podejmowaniu aktywności fizycznej minimum 7 godzin w tygodniu.

Istotne statystycznie różnice zaobserwowano jedynie w przypadku porównania częstości alleli

i genotypów opisywanych w punkcie rs1800795 w genie *IL6* pomiędzy grupą badaną a kontrolną. Warto podkreślić, iż zaobserwowana tendencja jest zgodna z wcześniej przywołanymi doniesieniami naukowymi. Analizy dokonywano zarówno indywidualnie, jak i w układach haplotypowych.

W punkcie rs1800795 w genie IL6, nosicielstwo allelu G wiąże się z 1.74-krotnym wzrostem ryzyka pojawienia się niekontaktowego uszkodzenia ACL w porównaniu do homozygot CC, z odniesieniem do grupy kontrolnej.

Nie stwierdzono związku w punktach rs16944, rs1143627 w genie IL1B; rs2228145 w genie IL6R z ryzykiem pojawienia się niekontaktowego uszkodzenia ACL, w odniesieniu do grupy kontrolnej.

Jednakże, biorąc pod uwagę ograniczoną wielkość badanych grup, potencjalny wpływ mechanizmów epigenetycznych oraz znaczenie innych niż dotychczas opisywane punktów polimorficznych, uzyskane wyniki nie dyskredytują użyteczności markerów zlokalizowanych w genach *IL1B* czy *IL6R*. W przyszłości konieczne jest dalsze prowadzenie analiz z wykorzystaniem nowych markerów, w większych liczebnie grupach badanych, z uwzględnieniem modyfikujących czynników epigenetycznych.

Hab. 4. i Hab. 5 Polimorfizm genów MMP1, MMP3, MMP8, MMP10, MMP12 i TIMP2 a ryzyko uszkodzenia ACL

Następnymi celami molekularnymi w asocjacyjnych badaniach genetycznych prowadzonych przez zespół naukowców, którym kierowałam, były geny *MMP3*, *MMP8*, *TIMP2* [Hab. 4] oraz *MMP1*, *MMP10* i *MMP12* [Hab. 5]. Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej są liczną rodziną cynkozależnych endopeptydaz odgrywających kluczową rolę w przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej - mają możliwość katalizowania degradacji wielu białek, zarówno kolagenowych, jak i niekolagenowych, wchodzących w skład ECM (Jaoude i Koh 2016). Ze względu na specyficzność substratową i homologię, MMP dzieli się co najmniej na 6 grup (matrylizyny, kolagenazy, stromielizyny, żelatynazy, błonowe MMP i niesklasyfikowane MMP) (Fink i Boratyński 2012).

Metaloproteinaza 1 macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-1, kolagenaza-1) kodowana przez gen *MMP1* oraz metaloproteinaza 8 macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-8, kolagenaza-2, kolagenaza neutrofilowa) kodowana przez gen *MMP8* należą do grupy kolagenaz, mających możliwości degradowania wielu białek kolagenowych macierzy, w tym kolagenu typu I, II i III, V, VIII, a także proteoglikanów (agrekany) i glikoprotein (fibronektyna) (Jones i wsp. 2003, Simunic-Briski i wsp. 2024). Metaloproteinaza 3 macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-3, stromielizyna-1) kodowana przez gen *MMP3* i metaloproteinaza 10 macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-10, stromielizyna-2) kodowana przez gen *MMP10* zaliczane są do stromielizyn biorących udział w degradacji m.in. białek kolagenowych (III–V, IX), proteoglikanów (agrekany, perlekanu, dekoryny), glikoprotein (laminina, osteonektyna), elastyny, kazeiny, entaktyny. MMP-3 może również aktywować inne MMP, takie jak MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-13. Metaloproteinaza 12 macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-12, metaloelastaza makrofagów) jest członkiem rodziny peptydaz M10 wydzielanych przez makrofagi, biorących udział w rozpadzie macierzy, zarówno w procesach fizjologicznych, jak również w procesach chorobowych. Kodowane preprobiałko jest przetwarzane proteolitycznie w celu wytworzenia dojrzałej proteazy, która ma zdolność do degradacji elastyny, zarówno w formie rozpuszczalnej, jak i nierozpuszczalnej (Gharib i wsp. 2018). Funkcjonowanie MMP kontrolowane jest na wielu poziomach, m.in. poprzez oddziaływanie z tkankowymi inhibitorami metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (TIMP). TIMP są glikoproteinami, które wiążąc się swoim N-końcem z domeną katalityczną MMP, zajmują miejsce przeznaczone dla potencjalnego substratu i hamują ich aktywność. Do tej pory opisano 4 rodzaje TIMP:

TIMP-1 – TIMP-4. TIMP-2 kodowany przez gen *TIMP2* hamuje właściwości enzymatyczne większości MMP z podobną siłą, w odróżnieniu do TIMP1, który hamuje głównie MMP-3 i MMP-9. Ekspresja MMP w większości tkanek w stanie fizjologicznym pozostaje na bardzo niskim poziomie i jest indukowana dopiero w czasie przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej środowiska komórkowego towarzyszącej rozwojowi, wzrostowi tkanek oraz w stanach patologicznych. Dlatego też oddziaływanie TIMP-MMP jest kluczowe dla utrzymania homeostazy tkanek, związanej z równowagą między degradacją a powstawaniem nowych struktur ECM (Jung i Zimowska 2016).

Geny kodujące MMP i TIMP przyciągnęły uwagę badaczy poszukujących nowych markerów genetycznego podłoża uszkodzenia ACL ze względu na fakt, iż były one wcześniej wiązane z wieloma stanami patologicznymi układu mięśniowo-szkieletowego, takimi jak choroba zwyrodnieniowa krążków międzykręgowych, choroba zwyrodnieniowa stawów, zespół cieśni kanału nadgarstka (Mayer i wsp. 2013, Burger i wsp. 2016, Guo i wsp. 2017). Stwierdzono również związek wybranych polimorfizmów genu kodującego *MMP3* (rs679620, rs591058) z ryzykiem chronicznej tendinopatii ścięgna Achillesa (Raleigh i wsp. 2009, El Khoury i wsp. 2016, Gibbon i wsp. 2017, Briški i wsp. 2021, Nie i wsp. 2021). Analizę związku wybranych przedstawicieli rodziny genów kodujących MMP z ryzykiem uszkodzenia ACL przeprowadzono dotychczas w kilku ośrodkach (Malila i wsp. 2011, Posthumus i wsp. 2012, Simunic-Briski i wsp. 2024). Malila i wsp. (2011) analizowali polimorfizm insercyjno-delecyjny 5A/6A genu *MMP3* zlokalizowany w rejonie promotorowym genu. Stwierdzono, że nosicielstwo allelu 5A jest związane ze zwiększonym prawdopodobieństwem uszkodzenia kontaktowego ACL. W drugim badaniu Posthumus i wsp. 2012, analizowali region chromosomowy 11q22, zawierający geny kodujące MMP i znajdujące się w nich polimorfizmy (*MMP1* 1G/2G rs1799750, *MMP3* G/A rs679620, *MMP10* C/T rs486055, *MMP12* A/G rs2276109). Pomimo faktu, że nie stwierdzono niezależnego związku dla wszystkich czterech analizowanych genów, zaobserwowano wyraźny trend związany z nadreprezentacją homozygot GG dla polimorfizmu rs679620 *MMP3*. Odnotowano także zależność pomiędzy układem haplotypowym wytypowanych genów (2G-G-C-G, odpowiednio *MMP1* 1G/2G rs1799750, *MMP3* G/A rs679620, *MMP10* C/T rs486055, *MMP12* A/G rs2276109) a zmniejszonym ryzykiem niekontaktowego uszkodzenia ACL w populacji południowoafrykańskiej.

Biorąc pod uwagę kluczową rolę, jaką pełnią zarówno MMP i TIMP w przebudowie ECM, geny kodujące te czynniki są, wiarygodnymi kandydatami wytypowanymi do analizy podłoża genetycznego uszkodzenia ACL.

Dlatego też celem badań asocjacyjnych, przeprowadzonych przez zespół, którym kierowałam było oszacowanie zależności pomiędzy występowaniem określonych form polimorficznych w genach *MMP3* (rs591058, C/T; rs679620, G/A), *MMP8* (rs11225395, C/T) i *TIMP2* (rs4789932, G/A) [**Hab. 4**] oraz *MMP1* (rs1799750, -/G), *MMP10* (rs486055, C/T) i *MMP12* (rs2276109, T/C) [**Hab. 5**] a ryzykiem uszkodzenia ACL w populacji polskiej.

Hipoteza badawcza: *Występuje zależność pomiędzy występowaniem określonych formy wariantów polimorficznych: rs591058, rs679620 w genie MMP3; rs11225395 w genie MMP8; rs4789932, w genie TIMP2; rs1799750 w genie MMP1; rs486055 w genie MMP10; rs2276109 w genie MMP12 a uszkodzeniem niekontaktowym ACL u sportowców, w odniesieniu do grupy kontrolnej.*

[**Hab. 4; Hab. 5**]. Grupą badaną (ACLR) były osoby rasy białej, pochodzące z Europy środkowo-wschodniej, z chirurgicznie zdiagnozowanym zerwaniem/uszkodzeniem więzadła przedniego, które doznały urazu nie kontaktowego, zakwalifikowane na operacyjną rekonstrukcję ACL. W publikacji

Hab. 4 grupę tę stanowiło łącznie 229 osób – 164 piłkarzy nożnych i 65 piłkarek nożnych. W publikacji Hab. 5 grupa ta liczyła 228 osób - 157 piłkarzy nożnych i 71 piłkarek nożnych. Do grupy kontrolnej (CON) zakwalifikowano osoby, które nie miały historii jakichkolwiek uszkodzeń ACL. W pracy Hab.4 były to 192 osoby, w tym 107 mężczyzn i 85 kobiet. Grupę kontrolną w pracy Hab.5 stanowiły łącznie 202 osoby, w tym 117 mężczyzn i 85 kobiet. Mężczyźni byli rekrutowani z tych samych drużyn, z których pochodzili zawodnicy z grupy badanej, tak aby środowiskowe czynniki ryzyka uszkodzenia ACL (podobny wiek i pochodzenie etniczne, zbliżony czas trwania i intensywność treningów, czas zaangażowania zawodnika w aktywność meczową) były porównywalne. Kobiety do grupy kontrolnej były rekrutowane w obrębie klubów sportowych i centrów wellness na podstawie ich deklaracji o podejmowaniu aktywności fizycznej minimum 7 godzin w tygodniu.

Wyniki badań wykazały, że częstości alleli i genotypów we wszystkich analizowanych punktach polimorficznych kształtowały się zgodnie z przewidywaniami prawa Hardy’ego-Weinberga i były w równowadze. Przeprowadzone analizy nie wykazały istotnie statystycznych różnic w częstości alleli i genotypów rs1799750 *MMP1*, rs486055 *MMP10*, rs2276109 *MMP12*, rs11225395 *MMP8* oraz rs4789932 *TIMP2* pomiędzy grupą badaną i kontrolną.

Nie stwierdzono zależności pomiędzy występowaniem wariantów polimorficznych: rs1799750 genu *MMP1*, rs486055 genu *MMP10*, rs2276109 genu *MMP12*, rs11225395 genu *MMP8*, rs4789932 genu *TIMP2* a uszkodzeniem niekontaktowym ACL u sportowców, w odniesieniu do grupy kontrolnej.

W odniesieniu do SNP rs679620 G/A i rs591058 C/T genu *MMP3* rekonstrukcja haplotypów pozwoliła na stwierdzenie, że oba miejsca polimorficzne są w całkowitej nierównowadze sprzężeń ($D'=0.9998$, $r^2=0.9996$); uzyskano 2 rodzaje haplotypów (tj. A-T i G-C, odpowiednio rs679620 i rs591058). W przypadku obu SNP wykazano ich związek z ryzykiem uszkodzenia ACL. Stwierdziliśmy bowiem, że częstości allelu G rs679620 i C rs591058 różniły się istotnie statystycznie pomiędzy grupą kontrolną i badaną; allele te występowały z wyższą częstością u osób z uszkodzeniem ACL niż w grupie kontrolnej (53.1% vs 45.1%, OR=1.38 [1.05-1.81], $p=0.021$, FDR 0.042). Nie odnotowano różnic lub trendów istotnych statystycznie po korekcie dla płci dla wszystkich analizowanych loci.

Wykazano związek z występowaniem wariantów polimorficznych rs679620, rs591058 genu *MMP3* a ryzykiem pojawienia się niekontaktowego uszkodzenia ACL u sportowców, w odniesieniu do grupy kontrolnej.

W populacji polskiej - nosicielstwo allelu G rs679620 i C rs591058 może zwiększać osobnicze ryzyko uszkodzenia ACL. Może być również jednym z wrodzonych czynników ryzyka uszkodzenia ACL.

Wyniki badań opublikowane przez Simunic-Briski i wsp. (2024) potwierdzają związek między wariantami funkcjonalnymi w obrębie genu *MMP3* a ryzykiem zerwania ACL, wykazując jednakże inne zależności genotyp-ryzyko zerwania ACL. W badaniu stwierdzono bowiem istotne statystyczne różnice w częstości genotypów i haplotypów dla trzech punktów polimorficznych genu *MMP3* (rs591058 C/T, rs650108 A/G i rs679620 G/A) pomiędzy osobami z zerwaniem ACL w wyniku mechanizmu bezkontaktowego a osobami z grupy kontrolnej. Analizy Simunic-Briski i wsp. (2024) wykazały, że genotypy TT, GG i AA oraz wariant haplotypu T-G-A (odpowiednio dla polimorfizmu rs591058, rs650108 i rs679620 genu *MMP3*) były istotnie statystycznie nadreprezentowane w grupie osób z uszkodzeniem ACL w porównaniu do kontroli.

Należy podkreślić, że badania tego typu mają charakter podstawowy i w tym wymiarze należy traktować je ostrożnie, m.in. ze względu na fakt związany z ograniczeniami dotyczącymi liczebności badanych grup oraz pochodzeniem etnicznym osób poddanych analizie genetycznej. Pomimo faktu, iż obecnie możliwości zastosowania otrzymanych przez wyników w praktyce są ograniczone, to w przyszłości należy zwiększyć liczebność grupy badanej i uwzględnić więcej czynników epigenetycznych.

4.1.3.6 Podsumowanie i zastosowanie wniosków w praktyce

Dzięki mojej indywidualnej pracy oraz pracy całego zespołu naukowców, którymi kierowałam, przeprowadziłam badania **po raz pierwszy w Polsce**, dotyczące niektórych, wybranych czynników genetycznych predyspozycji uszkodzeń niekontaktowego uszkodzenia więzadła ACL. **Określiłam potencjalne markery genetyczne dla występowania uszkodzenia ACL.** Moje badania i znajomość specyficznych genotypów **wniosły istotny wkład w rozwój dyscypliny nauk o kulturze fizycznej.** W przyszłości tego typu **dane staną się jednym z elementów wieloczynnikowego modelu szacującego ryzyko wystąpienia uszkodzeń ACL u sportowców.** Jestem przekonana, że znajdzie on szerokie zastosowanie: w pracy selekcjonerów, trenerów, fizjoterapeutów. Będzie podstawą do tworzenia spersonalizowanych programów treningowych a także spersonalizowanych programów szybkiej, skutecznej odnowy biologicznej sportowców. Dla osiągnięcia wysokich wyników sportowych, kluczową informacją jest, znajomość występowania u sportowca, określonych genotypów zwiększających ryzyko uszkodzenia więzadła ACL. Należy uwzględnić również fakt, że jest to najcięższy uraz więzadłowy, wyłączający sportowca ze swojej aktywności sportowej, przez wiele miesięcy. Szybka regeneracja, zapobieganie kontuzjom i zmianom degeneracyjnym układu kostno – stawowego sportowców, jest kluczowe dla osiągnięcia wysokich wyników sportowych w różnych dyscyplinach. **Odkrywając zależności genetyczne w predyspozycji niekontaktowego uszkodzenia ACL, otwieram nowe możliwości spersonalizowanej medycyny sportowej i efektywnego personalizowanego rozwoju talentów sportowych.**

Wyniki badań zostały zaprezentowane przeze mnie, na konferencjach krajowych i międzynarodowych, na spotkaniach metodyczno – naukowych wojewódzkiego, pomorskiego zespołu ekspertów ds. edukacji prozdrowotnej.

4.1.3.7 Piśmiennictwo do założeń teoretycznych przedstawionych badań:

- [1] Baldassarri i wsp. 2018. Return to Sport after ACL Surgery: A Comparison between Two Different Reconstructive Techniques. J Knee Surg, doi: 10.1055/s-0038-1653948.
- [2] Benazzo i wsp. 2008. Effects of biophysical stimulation in patients undergoing arthroscopic reconstruction of anterior cruciate ligament: prospective, randomized and double blind study. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 16(6), 595–601.
- [3] Beye i wsp. 2008. Injury-induced changes in mRNA levels differ widely between anterior cruciate ligament and medial collateral ligament. The Am J Sports Med. 36(7), 1337–46.
- [4] Bhanoori i wsp. 2005. The vascular endothelial growth factor (VEGF) +405G>C 5'-untranslated region polymorphism and increased risk of endometriosis in South Indian women: a case control study. Hum Reprod, 20, 1844-9.
- [5] Briški N, Vrgoč G, Knjaz D, Janković S, Ivković A, Pećina M, Lauc G. 2021. Association of the matrix metalloproteinase 3 (MMP3) single nucleotide polymorphisms with tendinopathies: case-control study in high-level athletes. Int Orthop. 45(5):1163-1168. doi:

- [6] Bulbul A, Ari E, Apaydin N, Ipekoglu G. 2023. The Impact of Genetic Polymorphisms on Anterior Cruciate Ligament Injuries in Athletes: A Meta-Analytical Approach. *Biology (Basel)*. 12(12):1526. doi: 10.3390/biology12121526
- [7] Burger i wsp. 2016. Matrix metalloproteinase genes on chromosome 11q22 and risk of carpal tunnel syndrome. *Rheumatol Int*, 36(3),413-419.
- [8] Burger i wsp. 2014. The BGN and ACAN genes and carpal tunnel syndrome. *Gene*, 551(2), 160–166.
- [9] Burger i wsp. 2015a. Interleukin and growth factor gene variants and risk of carpal tunnel syndrome. *Gene*, 564(1), 67–72.
- [10] Chen i wsp. 2006. Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context. *Hum Mol Genet*, 15(4), 519–29.
- [11] Chiquet-Ehrismann R. 2004. Molecules in focus: tenascins. *Int J Biochem Cell Biol*, 36, 986–90.
- [12] Collins i Raleigh. 2009. Genetic Risk Factors for Musculoskeletal Soft Tissue Injuries. W: Collins M (ed): *Genetics and Sports*. Med Sport Sci. Basel, Karger, 54, 136–49.
- [13] Cook i Docking 2015. “Rehabilitation will increase the ‘capacity’ of your ...insert musculoskeletal tissue here...” Defining “tissue capacity”:A core concept for clinicians *Br J Sports Med*, 49,1484–5.
- [14] Dziak 2001. Urazy i uszkodzenia sportowe. *Acta Clinica*, 2, 105-10.
- [15] Ebert JR, Magi A, Unt E, Prans E, Wood DJ, Koks S. 2023. Genome-wide association study identifying variants related to performance and injury in high-performance athletes. *Experimental Biology and Medicine*. 248(20):1799-1805. doi:10.1177/15353702231198068
- [16] El Khoury i wsp. 2016. MMP3 and TIMP2 gene variants as predisposing factors for Achilles tendon pathologies: Attempted replication study in a British case-control cohort. *Meta Gene*, 9,52-5.
- [17] Ferrari i wsp. 2003. Two promoter polymorphisms regulating interleukin-6 gene expression are associated with circulating levels of C-reactive protein and markers of bone resorption in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 88(1), 255–9.
- [18] Ferrari i wsp. 2001. A functional polymorphic variant in the interleukin-6 gene promoter associated with low bone resorption in postmenopausal women. *Arthritis Rheum*, 44(1), 196–201.
- [19] Fink K, Boratyński J. 2012. Rola metaloproteinaz w modyfikacji macierzy zewnątrzkomórkowej w nowotworowym wzroście inwazyjnym, w przerzutowaniu i w angiogenezie. *Postepy Hig Med Dosw*. 66: 609-628
- [20] Fishman i wsp. 1998. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest*, 102(7), 1369–76.
- [21] Frank 2004. Ligament structure, physiology and function. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 4, 199–201.
- [22] Galicia i wsp. 2004. Polymorphisms in the IL-6 receptor (IL-6R) gene: strong evidence that serum levels of soluble IL-6R are genetically influenced. *Genes Immun*, 5(6), 513-6.
- [23] Gharib SA, Manicone AM, Parks WC. Matrix metalloproteinases in emphysema. *Matrix Biol*. 2018 Nov;73:34-51. doi: 10.1016/j.matbio.2018.01.018
- [24] Gibbon i wsp. 2017. The MMP3 gene in musculoskeletal soft tissue injury risk profiling: A study in two independent sample groups. *J Sports Sci*, 35(7), 655-62.

- [25] Gibbon i wsp. 2018. Defining the molecular signatures of Achilles tendinopathy and anterior cruciate ligament ruptures: A whole-exome sequencing approach. *PLoS One*, 13(10), e0205860.
- [26] Guo i wsp. 2017. MMP-3 gene polymorphisms are associated with increased risk of osteoarthritis in Chinese men. *Oncotarget*, 8(45), 79491-7.
- [27] Hoffmann i Gross 2007. Tendon and ligament engineering in the adult organism: mesenchymal stem cells and gene-therapeutic approaches. *Int Orthop*, 31, 791–9.
- [28] Jaoude i Koh 2016. Matrix metalloproteinases in exercise and obesity. *Vasc Health Risk Manag*, 12, 287-295.
- [29] Jiang i wsp. 2012. Repetitive mechanical stretching modulates trans-forming growth factor-beta induced collagen synthesis and apoptosis in human patellar tendon fibroblasts. *Biochem Cell Biol*, 90(5), 667–74.
- [30] Jones i wsp. 2003. Matrix metalloproteinases: a review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovasc Res*, 59(4), 812-23.
- [31] Jones i Jones 2000. The tenascin family of ECM glycoproteins: structure, function, and regulation during embryonic development and tissue remodeling. *Dev Dyn*, 218, 235–259.
- [32] Jorde i Wooding 2004. Genetic variation, classification and 'race'. *Nat Genet*. 36, 28-33.
- [33] Jung i Zimowska 2016. Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej w rozwoju, fizjologii i procesach degeneracyjnych mięśni szkieletowych. *Postępy Biochemii*, 62, 25-35.
- [34] Karaman i wsp. 2018. Vascular endothelial growth factor signaling in development and disease. *Development*, 145(14), pii: dev151019.
- [35] Kelempisioti i wsp. 2011. Genetic susceptibility of intervertebral disc degeneration among young Finnish adults. *BMC Med Genet*, 12(1), 153.
- [36] Khoschnau i wsp. 2008. Type I collagen alpha1 Sp1 polymorphism and the risk of cruciate ligament ruptures or shoulder dislocations. *Am J Sports Med*, 36, 2432–6.
- [37] Kluger i wsp. 2017. Novel tenascin-C haplotype modifies the risk for a failure to heal after rotator cuff repair. *Am J Sports Med*, 45(13), 2955–64.
- [38] Landviki i wsp. 2009. A specific interleukin-1B haplotype correlates with high levels of IL1B mRNA in the lung and increased risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis*, 30(7), 1186–92.
- [39] Legerlotz i wsp. 2012. Increased expression of IL-6 family members in tendon pathology. *Rheumatology (Oxford)*, 51(7), 1161–5.
- [40] Lewandowska i wsp. 2017. Risk factors and most common traumatic injuries in people who practice long-distance running. *J Educ Health Sport*, 7(8), 855-77.
- [41] Li XY, Wang YL, Yang S, Liao CS, Li SF, Han PF. 2024. Correlation between vascular endothelial growth factor A gene polymorphisms and tendon and ligament injury risk: a systematic review and meta-analysis. *J Orthop Surg Res*, 19(1), 122
- [42] Malfait i wsp. 2010. Clinical and genetic aspects of Ehlers-Danlos syndrome, classic type. *Genet Med*, 12(10), 597–605.
- [43] Malila i wsp. 2011. Association between matrix metalloproteinase-3 polymorphism and anterior cruciate ligament ruptures. *Genet Mol Res*, 10(4), 4158-65.
- [44] Mayer i wsp. 2013. Genetic polymorphisms associated with intervertebral disc degeneration. *Spine J*, 13(3), 299-317.
- [45] Mazur i wsp. 2013. Potencjalne zastosowanie tenascyny C w diagnozowaniu i leczeniu nowotworów. *NOWOTWORY J Oncol*, 63(6), 463–75.

- [46] Mokone i wsp. 2005. The guanine-thymine dinucleotide repeat polymorphism within the tenascin-C gene is associated with achilles tendon injuries. *Am J Sports Med*, 33(7), 1016–21.
- [47] Newton i Covington 1987. The activation of human fibroblast prostaglandin E production by interleukin 1. *Cell Immunol*, 110(2), 338–49.
- [48] Nie G, Wen X, Liang X, Zhao H, Li Y, Lu J. 2019. Additional evidence supports association of common genetic variants in MMP3 and TIMP2 with increased risk of chronic Achilles tendinopathy susceptibility. *J Sci Med Sport*. 22(10):1074-1078. doi: 10.1016/j.jsams.2019.05.021
- [49] Orend i Chiquet-Ehrismann 2006. Tenascin-C induced signaling in cancer. *Cancer Lett*, 244, 143–63.
- [50] Petersen i wsp. 2004. Cyclic strain influences vascular endothelial growth factor (VEGF) and the hypoxia inducible factor 1 alpha (HIF-1a) in tendon fibroblasts. *J Orthop Res*, 22(4), 847-53.
- [51] Posthumus i wsp. 2012. Matrix metalloproteinase genes on chromosome 11q22 and the risk of anterior cruciate ligament (ACL) rupture. *Scand J Med Sci Sports*, 22(4), 523-33.
- [52] Rahim i wsp. 2016a. Genes and musculoskeletal Soft-tissue injuries. W: Posthumus M, Collins M, (ed). *Genetics and Sports*. 2nd ed Basel: Karger, 68–91.
- [53] Rahim i wsp. 2016b. Human genetic variation, sport and exercise medicine, and achilles tendinopathy: Role for angiogenesis-associated genes. *OMICS*, 20(9), 520–7.
- [54] Rahim i wsp. 2014. The association of genes involved in the angiogenesis associated signaling pathway with risk of anterior cruciate ligament rupture. *J Orthop Res*, 32(12), 1612–8.
- [55] Rahim i wsp. 2018. Investigation of angiogenesis genes with anterior cruciate ligament rupture risk in a South African population. *J Sports Sci*, 36(5), 551-7.
- [56] Rahim i wsp. 2017. Modulators of the extracellular matrix and risk of anterior cruciate ligament ruptures. *J Sci Med Sport*, 20(2), 152–8.
- [57] Saunders i wsp. 2013. Investigation of variants within the COL27A1 and TNC genes and Achilles tendinopathy in two populations. *J Orthop Res*, 31(4), 632-7.
- [58] Schneider i wsp. 2008. Association of polymorphisms of angiogenesis genes with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 111, 157-63.
- [59] September i wsp. 2012. Application of Genomics in the Prevention, Treatment and Management of Achilles Tendinopathy and Anterior Cruciate Ligament Ruptures. *Recent Pat DNA Gene Seq*, 6, 216-23.
- [60] September i wsp. 2007. Tendon and ligament injuries: the genetic component. *Br J Sports Med*, 41, 241–6.
- [61] September i wsp. 2011. A pathway-based approach investigating the genes encoding interleukin-1 β , interleukin-6 and the interleukin-1 receptor antagonist provides new insight into the genetic susceptibility of Achilles tendinopathy. *Br J Sports Med*, 45(13), 1040-7.
- [62] Simunic-Briski N, Vrgoc G, Knjaz D, Jankovic S, Dembic Z, Lauc G. 2024. MMP3 single-nucleotide polymorphisms are associated with noncontact ACL injuries in competing high-level athletes. *J Orthop Res*. 42(1):109-114. doi: 10.1002/jor.25663
- [63] Skutek i wsp. 2001. Cyclic mechanical stretching enhances secretion of Interleukin 6 in human tendon fibroblasts. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 9(5), 322–6.
- [64] Thampatty i wsp. 2007. EP4 receptor regulates collagen type-I, MMP-1, and MMP-3 gene expression in human tendon fibroblasts in response to IL-1 beta treatment. *Gene*, 386(1–2), 154–61.
- [65] Tsuzaki i wsp. 2003. IL-1 beta induces COX2, MMP-1, -3 and -13, ADAMTS-4, IL-1 beta and

- IL-6 in human tendon cells. *J Orthop Res*, 21(2), 256–64.
- [66] Uttecht-Pudełko i wsp. 2014. Udział VEGF-A i jego receptorów w procesie angiogenezy. *Ann Acad Med Siles*, 68(6), 457–64.
- [67] Wang i Keiser 1998. Vascular endothelial growthfactor upregulates the expression of matrix metalloproteinases in vascular smooth muscle cells: role of flt-1. *Circ Res*, 83, 832–40.
- [68] Watson i wsp. 2000. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production. *Cytokine*, 12, 1232–5.
- [69] Zhao i wsp. 2016. Involvement of IL-37 in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 57, 2955–62.

4.2 Omówienie innych osiągnięć naukowych

4.2.1 Badania dotyczące genetycznego podłoża uszkodzenia więzadła krzyżowego przedniego(ACL)

- ***Odkrycie potencjalnych markerów uszkodzenia ACL zależnych od płci: genu ACAN, genu BGN, genu FMOD oraz genu ELN***

Tematyka dotycząca genetycznego podłoża uszkodzeń ACL jest dla mnie niezwykle interesująca, dlatego też miałam możliwość uczestniczenia w badaniach analizujących związek innych markerów molekularnych, niż opisywane przeze mnie w cyklu publikacji będących podstawą osiągnięcia naukowego, wynikającego z art. 219 ust. 1 pkt 2 lit. b. Proteoglikany, jak również białka strukturalne tkanki łącznej takie jak elastyna i kolagen XXII są ważnymi elementami strukturalnymi i regulatorowymi więzadeł i otaczającej je ECM. Dlatego też postanowiliśmy sprawdzić czy jednonukleotydowe zmiany typu SNP zlokalizowane w genach kodujących agrekan (*ACAN*, rs1516797 T/G), biglikan (*BGN*, rs1042103 G/A, rs1126499 C/T), dekorynę (*DCN*, rs516115 A/G), fibromodulinę (*FMOD*, rs7543148 C/T), elastynę (*ELN*, rs2071307 G/A) oraz łańcuchy alpha kole genu typu XXII (*COL22A1*, rs11784270 A/C i rs6577958 C/T) są czynnikami modulującymi ryzyko uszkodzenia ACL w grupie osób aktywnych fizycznie, w tym sportowców wyczynowych.

W badaniach pod kierunkiem prof. Pawła Ciężczyka, w opublikowanej pracy: Cieszczyk i wsp. (2017) wykazaliśmy związek wariantów rs1516797 genu *ACAN* oraz rs1042103 rs1126499 genu *BGN* z uszkodzeniem ACL. Stwierdziliśmy, że genotyp GT rs1516797 występuje znacząco rzadziej w grupie kontrolnej niż w grupie badanej. Zaobserwowaliśmy także, że allel A rs1042103 genu *BGN* jest znacząco rzadszy w grupie kontrolnej mężczyzn niż w grupie mężczyzn z uszkodzeniem ACL. Dodatkowo, wyniki uzyskane na podstawie analizy haplotypów wykazały zależne od płci różnice w częstość haplotypów T-A i C-A odpowiednio rs1042103 i rs1126499 genu *BGN*.

Z przeprowadzonych badań pod moim kierunkiem, w pracy Lulińska i wsp. (2023), zostały opisane zależności genu *ELN* z uszkodzeniem ACL. Grupa sportowców z uszkodzeniem ACL wykazuje istotnie statystyczną wyższą częstość genotypu AA oraz allelu A dla polimorfizmu rs2071307 genu *ELN* niż grupa kontrolna. Gdy dokonaliśmy analizy uwzględniając płeć badanych, powyższą zależność (wyższa częstość genotypu AA oraz allelu A) zaobserwowaliśmy tylko w przypadku mężczyzn. W odniesieniu do polimorfizmu rs7543148 genu *FMOD* zaobserwowaliśmy istotnie statystyczną niższą częstość allelu T w grupie mężczyzn z uszkodzeniem ACL w porównaniu z męską grupą kontrolną. Efektu tego nie zaobserwowaliśmy w grupie kobiet. Podsumowując, można stwierdzić, iż zaobserwowane przez nasz

zespół różnice w częstości alleli są zależne od płci badanych, a polimorfizmy rs1516797 genu *ACAN*, rs1042103 rs1126499 genu *BGN*, rs7543148 genu *FMOD* oraz rs2071307 genu *ELN* można rozpatrywać jako potencjalne markery uszkodzenia ACL u mężczyzn.

W badaniach pod kierunkiem prof. Pawła Cięszczyka oraz dr Zhuo Sun, w pracy Sun i wsp. (2023) opublikowaliśmy wyniki badań analizujących częstości alleli i genotypów polimorfizmu genetycznego rs11784270 i rs6577958 zlokalizowanego w genie *COL22A1*. Staraliśmy się określić rozkład genotypów i częstość alleli u polskich piłkarzy z uszkodzeniem ACL oraz w grupie kontrolnej bez uszkodzenia ACL oraz określić związek pomiędzy rs11784270 i rs6577958 w genie *COL22A1* a ryzykiem uszkodzenia ACL. W toku badań nie stwierdziliśmy jednak zależności pomiędzy analizowanymi polimorfizmami a ryzykiem bezkontaktowego zerwania ACL w żadnym z wykorzystanych w badaniu modeli statystycznych.

Źródła:

- Cięszczyk P, Willard K, Gronek P, Żmijewski P, Trybek G, Gronek J, Weber-Rajek M, Stastny P, Petr M, **Lulińska-Kuklik E**, Ficek K, Kemerytė-Riaubienė E, Maculewicz E, September A. 2017. Are genes encoding proteoglycans really associated with the risk of anterior cruciate ligament rupture? *Biol Sport*, 34 (2), 97-103. Wskaźnik Impact Factor ISI: 1.729; Punktacja MNiSW: 15.000.
- **Lulinska E**, Zelazny J, Lulinska A, Grzywacz E, Stronska-Pluta A, Sawczuk M, Stanulewicz M. 2023. Genetic variants and anterior cruciate ligament rupture – Elastin proteins gene and fibromodulin gene polymorphisms. *Baltic Journal of Health and Physical Activity*. 2023; 15(2): 3. <https://doi.org/10.29359/BJHPA.15.2.03>. Impact Factor: 0.800, Punktacja MNiSW: 70.000
- Sun Z, Cięszczyk P, **Lulińska E**, Dzitkowska-Zabielska M, John M, Humińska-Lisowska K, Michałowska-Sawczyn M, Ficek K, Leońska-Duniec A, Mastalerz A, Janczyk A, Marek S. Are COL22A1 Gene Polymorphisms rs11784270 and rs6577958 Associated with Susceptibility to a Non-Contact Anterior Cruciate Ligament Injury in Polish Athletes? *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2023; 20(1): 515. doi: 10.3390/ijerph20010515. Punktacja MNiSW: 20.000

4.2.2 Badania dotyczące genetycznego podłoża zakresu potreningowych zmian adaptacyjnych zachodzących u ludzi aktywnych fizycznie oraz ocena zmian poziomu ekspresji wybranych genów pod wpływem wysiłku fizycznego.

- *Odkrycie zależności czynników genetycznych modulujących potreningową odpowiedź organizmu w zakresie parametrów siłowo-szybkościowych genu AGT*
- *Odkrycie zależności czynników genetycznych modulujących potreningową odpowiedź organizmu w zakresie parametrów wydolności tlenowej genu MTHFR*
- *Odkrycie zależności czynników genetycznych w modulowaniu wpływu treningu na poziom lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) genów ADRB2 i ADRB3*
- *Odkrycie zależności czynników genetycznych anabolicznego działania IGF-1 poprzez receptory insuliny na tkanki pod wpływem ćwiczeń fizycznych.*

W kręgu moich zainteresowań badawczych znalazła się również analiza związku polimorfizmu genetycznego wybranych genów markerowych z zakresem potreningowych zmian adaptacyjnych u ludzi aktywnych fizycznie, jak również ocena zmian poziomu ekspresji wybranych miRNA oraz białek związanych w regulacją osi somatotropowej pod wpływem różnych typów wysiłku fizycznego.

Prowadzone przez różne ośrodki naukowe na świecie badania wskazują na występowanie

międzyosobniczych różnic w odpowiedzi adaptacyjnej na identyczny pod względem intensywności, czasu trwania oraz charakteru wykonywanych ćwiczeń, aplikowany wysiłek. Przypuszcza się, że potreningowa odpowiedź organizmu może być podobna pod względem charakteru i zakresu wywołanych zmian u nosicieli takich samych wersji allelicznych wybranych genów kandydackich. Ponieważ dane literaturowe wskazują, że podłoże reakcji fizjologicznych i biochemicznych, które decyduje o międzyosobniczych różnicach obserwowanych w reakcjach adaptacyjnych organizmu wywołanych aplikowanym wysiłkiem, jest zależne od genetycznych komponentów, postanowiliśmy zbadać wpływ wybranych miejsc polimorficznych znajdujących się w genach kodujących: 1) receptory adrenergiczne typu $\beta 2$ (*ADRB2* rs1042713; *ADRB2*, rs1042714), $\beta 3$ (*ADRB3*, rs4994), $\alpha 2a$ (*ADRA2A*, rs553668), 2) receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów typu δ (*PPARD* rs2267668, rs2016520, rs1053049), 3) adiponektynę (*ADIPOQ* rs1501299, rs266729), 4) angiotensynogen (*AGT* rs699) oraz 5) reduktazę metylenotetrahydrofolianu (*MTHFR* rs1801131) na potreningową odpowiedź osób ćwiczących.

W tym celu przeprowadziliśmy pod kierunkiem prof. Pawła Cieszczyka, eksperyment polegający na analizie związku pomiędzy zmianami wybranych wskaźników biochemicznych, parametrów szybkościowo siłowych, wydolnościowych, a także parametrów opisujących skład ciała wywołanych 12-tygodniowym treningiem aerobowym realizowanym przez młode, nie uprawiające wcześniej regularnej aktywności fizycznej kobiety a opisanymi powyżej markerami molekularnymi.

W pierwszych 2 badaniach pod kierunkiem prof. Pawła Cieszczyka oraz dr hab. Aleksandry Zarębskiej, analizowaliśmy wpływ czynników genetycznych na potreningową odpowiedź osób ćwiczących, szczególnie w kontekście zmian wybranych parametrów siłowo - szybkościowych oraz parametrów wydolności tlenowej i beztlenowej. Badaniem objęto polimorfizmy genów kodujących angiotensynogen (*AGT*, rs699) i reduktazę metylenotetrahydrofolianu (*MTHFR*, rs1801131) (Zarębska i wsp. 2016, Cieszczyk i wsp. 2016). Wydzielany przez wątrobę angiotensynogen jest prohormonem dla angiotensyny, która jest z kolei prohormonem dla angiotensyny II (ANGII), głównego białka efektorowego układu renina-angiotensyna-aldosteron. Stwierdzono, że ANGII jest zaangażowana m.in. w procesy adaptacji tkanki mięśniowej w odpowiedzi na bodźce treningowe prowadzące do hipertrofii komórek mięśniowych - allel C rs699 *AGT* związany jest z podwyższonym stężeniem angiotensyny w surowicy. Uzyskane przez nas wyniki badań wykazały zależną od genotypu poprawę wysokości i mocy skoku z miejsca bez zamachu, wysokości skoku poprzedzonego zamachem oraz zmianę średniej wysokości i średniej mocy z 10 skoków. W szczególności stwierdziliśmy, że homozygoty CC uzyskały największe przyrosty wartości wyskoku z miejsca bez zamachu i średniej wysokości 10 skoków poprzedzonych zamachem - były one odpowiednio 1,9 oraz 5,4 razy większe niż u homozygot TT (Zarębska i wsp. 2016). Wyniki te mogą sugerować, że **polimorfizm *AGT* rs699 jest jednym z czynników genetycznych modulujących potreningową odpowiedź organizmu w zakresie parametrów siłowo-szybkościowych.**

W pracy Cieszczyk i wsp. (2016) analizowaliśmy gen *MTHFR*, którego produktem jest reduktaza MTHF - kluczowy enzym związany z metabolizmem folianów oraz czynnik zaangażowany w konwersję homocysteiny w metioninę, która następnie staje się substratem do produkcji S-adenosylometioniny (SAM), uniwersalnego donora grup metylowych wykorzystywanych w procesie metylacji DNA. Zlokalizowany w obrębie *MTHFR* polimorfizm funkcjonalny rs1801131 (A/C), skutkuje zmianą sekwencji aminokwasowej (Glu/Ala) w pozycji 429 białka, co wiąże się ze zmniejszeniem aktywności enzymu, akumulacją homocysteiny i zmniejszeniem szybkości metylacji DNA. Badania wykazują, że rs1801131 *MTHFR* może wpływać na międzyosobnicze różnice w odpowiedzi na bodźce treningowe. Wyniki naszych badań nie potwierdziły zależności pomiędzy genotypem rs1801131 *MTHFR*, a efektami treningowymi w zakresie zmian wskaźników składu ciała ani parametrów wydolności beztlenowej. Jednakże stwierdziliśmy związek pomiędzy genotypem

MTHFR w badanym miejscu polimorficznym, a zmianami parametrów wydolności tlenowej, takich jak maksymalny pułap tlenowy ($\dot{V}O_{2max}$) czy maksymalna częstość rytmu serca (HR_{max}). Nosiciele allelu C (Ala), wiążanego z upośledzeniem metylacji DNA, charakteryzowali się większymi przyrostami względnego $\dot{V}O_{2max}$ niż homozygoty AA (Cieszczyk i wsp. 2016). Może to sugerować, że **polimorfizm rs18011311 genu *MTHFR* jest jednym z czynników genetycznych modulujących potreningową odpowiedź organizmu w zakresie parametrów wydolności tlenowej.**

W kolejnych 3 badaniach których kierownikiem była dr hab. Agata Leońska – Duniec, skupiliśmy się na analizie wpływu wariantów polimorficznych genów kandydackich na potreningową odpowiedź osób ćwiczących, w kontekście zmiany masy i składu ciała oraz wybranych wskaźników biochemicznych. W pierwszej z nich (Leońska-Duniec i wsp. 2018a) celem molekularnym były 4 miejsca polimorficzne zlokalizowane w genach kodujących receptory adrenergiczne typu α_2a , β_2 i β_3 . Produkty tych genów przyczyniają się m.in. do utrzymania prawidłowego ciśnienia tętniczego kontrolują pracę serca, stan napięcia mięśni gładkich, jak również procesy związane z metabolizmem glukozy oraz kwasów tłuszczowych. Wybrane allele genu *ADRB2* (Gly16 rs1042713, Glu27 rs1042714,) *ADRB3* (Arg64 rs4994) oraz *ADRA2A* (A rs553668), określane są jako tzw. „allele ryzyka” i wiązane ze zwiększonym ryzykiem otyłości. Przypuszcza się także, że mogą wywierać niekorzystny wpływ na zmiany wielkości wskaźników związanych z m.in. masą ciała i profilem lipidowym w badaniach interwencyjnych obejmujących zmianę diety oraz regularną aktywność fizyczną. Wyniki naszych badań nie wykazały istotnych statystycznie różnic między potreningowymi zmianami masy i składu ciała oraz wskaźników biochemicznych gospodarki lipidowo-węglowodanowej a częstością tak alleli, jak i genotypów wszystkich analizowanych pojedynczo polimorfizmów. Jednakże analizy haplotypowe pozwoliły wykazać, że nosiciele haplotypu Arg16-Gln27 (rs1042713-rs1042714) genu *ADRB2* charakteryzowali się większym potreningowym spadkiem indeksu masy ciała (BMI) w porównaniu do osób z haplotypem referencyjnym Gly16-Glu27. Analizując interakcje między genowe stwierdziliśmy, że **istnieje związek pomiędzy polimorfizmem genów *ADRB2* i *ADRB3* a modulowaniem wpływu treningu na poziom lipoprotein wysokiej gęstości (HDL).** Dodatkowo wykazaliśmy, że nosiciele niewielkiej liczby „alleli ryzyka” (0-3) zredukowali podczas treningu więcej tkanki tłuszczowej niż nosiciele większej liczby (5-6) „alleli ryzyka”.

W kolejnym badaniu pod kierunkiem dr hab. Agaty Leońskiej – Duniec (Leońska-Duniec i wsp. 2018b) analizie poddaliśmy gen *PPARD*, kodujący receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów typu δ (*PPAR δ*). Są to jądrowe czynniki transkrypcyjne zaangażowane w kontrolę homeostazy energetycznej i termogenezy, biorące udział w regulacji β -oksydacji kwasów tłuszczowych i transportu cholesterolu. Dane literaturowe wskazują na związek wybranych wersji allelicznych *PPARD* (allel G rs2267668, allel C rs2016520, allel C rs1053049) z ryzykiem rozwoju otyłości, mniejszym przyrostem objętości mięśni oraz mniejszym spadkiem masy tkanki tłuszczowej w badaniach interwencyjnych, mających na celu zmianę diety uczestników oraz wprowadzenie regularnych ćwiczeń fizycznych. Otrzymane przez nas **wyniki wykazały, że allele G rs2267668 i C rs2016520 związane były z istotnym potreningowym spadkiem poziomu cholesterolu całkowitego (Chol) i trójglicerydów (TGL) we krwi.** Wynika z tego, że allele te są czynnikami wpływającymi korzystnie na potreningową zmianę profilu lipidowego u młodych kobiet bez nadwagi i jawnych zaburzeń metabolicznych. Jednocześnie stwierdziliśmy, że genotypy homozygotyczne AA rs2267668 oraz TT rs1053049 należy rozpatrywać jako czynniki ryzyka w związku z efektem potreningowego wzrostu TGL we krwi u tych osób. Dodatkowo, analiza haplotypów pozwoliła na zaobserwowanie związku pomiędzy haplotypem G-C-T (rs2267668-rs2016520-rs1053049) a mniejszym potreningowym spadkiem masy ciała, co może sugerować, że haplotyp ten jest czynnikiem niekorzystnym dla osiągnięcia potreningowej redukcji masy ciała. Natomiast haplotyp G-C-C może być rozważany jako czynnik korzystny dla potreningowych zmian lipidogramu (niższy poziom Chol i TGL) u osób

biorących udział w treningu (Leońska-Duniec i wsp. 2018b).

Następnie badaniami objęto gen *ADIPOQ*, kodujący adiponektynę (Leońska-Duniec i wsp. 2018c). Adiponektyna jest jednym z najważniejszych adipohormonów wydzielanych przez tkankę tłuszczową białą, zaangażowanych w metabolizm glukozy i kwasów tłuszczowych w wątrobie i mięśniach. We wcześniejszych analizach stwierdzono zależność między wysokim stężeniem adiponektyny we krwi a niższym BMI, korzystniejszym stężeniem insuliny i TGL a także wyższym stężeniem HDL. Z drugiej zaś strony, obniżony poziom adiponektyny we krwi jest uważany za czynnik ryzyka wystąpienia takich chorób metabolicznych jak otyłość i cukrzyca typu 2. W publikacji Leońska-Duniec i wsp. 2018c badaniu poddaliśmy dwa miejsca polimorficzne zlokalizowane w genie *ADIPOQ*, tj. rs1501299 (G/T) i rs266729 (G/C) ze względu na fakt, iż wymienione SNPs mogą modulować poziom transkrypcji *ADIPOQ* i w konsekwencji zaburzać metabolizm węglowodanów i lipidów. Uzyskane przez nas wyniki sugerują, że oba analizowane miejsca polimorficzne indywidualnie, bądź w haplociepie mogą modulować indukowane treningiem zmiany wskaźników składu ciała osób ćwiczących. Nosiciele allelu T rs1501299 oraz allelu C rs266729 charakteryzowali się bowiem większą redukcją wskaźnika procentowej zawartości tkanki tłuszczowej (FM%), masy tłuszczowej (FM) oraz masy ciała. Co więcej, analizowane przez nas polimorfizmy *ADIPOQ* związane były także ze zmianami profilu lipidowego w odpowiedzi na trening (obniżenie poziomu HDL we krwi u nosicieli allelu G rs1501299 oraz większy potreningowy przyrost LDL u homozygot GG rs266729 w porównaniu z nosicielami allelu C). Dodatkowo, przeprowadzone przez nasz zespół badania pozwoliły także opisać efekt genotypu dla FM% i LDL (rs266729) oraz TBW (rs1501299). Analiza haplotypów wykazała istnienie związku pomiędzy i) haplotypem G-G (rs266729/rs1501299) a istotnie niższym spadkiem masy ciała, ii) haplotypem G-T a niższym spadkiem poziomu HDL i glukozy we krwi w porównaniu do nosicieli haplotypu referencyjnego C/G, oraz iii) haplotypem C-T a większym niż u badanych kobiet o haplociepie C-G spadkiem FM i FM%.

W badaniach pod kierownictwem dr Katarzyny Khalid, w opublikowanej pracy (Khalid i wsp. 2020), przedstawiliśmy wyniki badań, które pozwoliły ocenić poziom ekspresji wybranych miRNA, tj. miRNA-124, miRNA-210 i miRNA-375 oraz zbadaliśmy poziom immunoekspresji białka wiążącego insulinopodobny czynnik wzrostu (IGFBP-3) w odniesieniu do stężeń insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) oraz glukozy u sportowców wykonujących wysiłki o różnej intensywności (sportowcy wykonujący wysiłki wytrzymałościowe i wysiłki szybkościowo-siłowe) oraz w grupie kontrolnej.

Stwierdziliśmy statystycznie istotnie wyższe stężenie IGF-1 i niższe stężenie glukozy w grupie sportowców. Poziom immunoekspresji IGFBP-3 był wyższy u sportowców, stwierdzono również wyższą wartość immunoekspresji IGFBP-3 w grupie sportowców wykonujących wysiłki szybkościowo-siłowe. Odnotowaliśmy wyższy poziom ekspresji miRNA-210 i miRNA-375 u sportowców w porównaniu z grupą kontrolną. Uzyskane dane pozwoliły nam potwierdzić znaczenie osi somatotropowej w regulacji adaptacji metabolicznej do wysiłku fizycznego. Statystycznie istotne zmniejszenie stężenia glukozy i najwyższa ekspresja IGF-1 w surowicy u sportowców sugerują anaboliczne działanie IGF-1 poprzez receptory insuliny na wiele tkanek pod wpływem umiarkowanego ćwiczenia fizycznego (głównie podczas treningu oporowego).

Źródła:

- Zarębska A, Jastrzębski Z, Moska W, Leońska-Duniec A, Kaczmarczyk M, Sawczuk M, Maciejewska-Skrendo A, Żmijewski P, Ficek K, Trybek G, Lulińska-Kuklik E, Semenova EA, Ahmetov II, Ciężczyk P. 2016. The *AGT* gene M235T polymorphism and response of power-related variables to aerobic training. *J Sports Sci Med*, 15, 616-24. Wskaźnik Impact Factor ISI: 1.797; Punktacja MNiSW: 20.000.

- Ciężczyk P, Zarębska A, Jastrzębski Z, Sawczyn M, Kozakiewicz I, Leońska-Duniec A, Kaczmarczyk M, Maciejewska-Skrendo A, Żmijewski P, Trybek G, Smółka W, Pilch J, Leźnicka K, **Lulińska-Kuklik E**, Sawczuk M, Myosotis M. 2016. Does the *MTHFR* A1298C polymorphism modulate the cardiorespiratory response to training? *J Hum Kinet*, 54, 43-53. Wskaźnik Impact Factor ISI: 0.798; Punktacja MNiSW: 15.000.
- Leońska-Duniec A, Jastrzębski Z, Jażdżewska A, Moska W, **Lulińska-Kuklik E**, Sawczuk M, Gubaydullina SI, Shakirova AT, Ciężczyk P, Maszczyk A, Ahmetov II. 2018a Individual responsiveness to exercise-induced fat loss and improvement of metabolic profile in young women is associated with polymorphisms of adrenergic receptor genes. *J Sports Sci Med*, 17(1), 134-44. Wskaźnik Impact Factor ISI: 1.990; Punktacja MNiSW: 20.000.
- Leońska-Duniec A, Ciężczyk P, Jastrzębski Z, Jażdżewska A, **Lulińska-Kuklik E**, Moska W, Ficek K, Niewczas M, Maciejewska-Skrendo A. 2018b. The polymorphisms of the *PPARD* gene modify post-training body mass and biochemical parameter changes in women. *PLoS ONE*, 13(8), e0202557. Wskaźnik Impact Factor ISI: 2.766; Punktacja MNiSW: 35.000.
- Leońska-Duniec A, Grzywacz A, Jastrzębski Z, Jażdżewska A, **Lulińska-Kuklik E**, Moska W, Leźnicka K, Ficek K, Rzeszutko A, Dornowski M, Ciężczyk P. 2018c. *ADIPOQ* polymorphisms are associated with changes in obesity-related traits in response to aerobic training programme in women. *Biol Sport*, 35(2), 165-73. Wskaźnik Impact Factor ISI: 1.729; Punktacja MNiSW: 15.000.
- Khalid K, Szewczyk A, Kiszalkiewicz J, Migdalska-Sęk M, Domańska-Senderowska D, Brzeziński M, **Lulińska E**, Jegier A, Brzezińska-Lasota E. Type of training has a significant influence on the GH/IGF-1 axis but not on regulating miRNAs. *Biology of Sport*. 2020; 37(3): 217-228. doi: 10.5114/biol sport.2020.94248. Impact Factor: 2.806. Punktacja MNiSW: 140.000.

4.2.3 Analiza zależności pomiędzy polimorfizmem wybranych genów kandydackich a statusem sportowym wysokokwalifikowanych zawodników różnych dyscyplin sportowych.

- *Odkrycie zależności genetycznych genu kodującego syntezę tlenku azotu 3 (NOS3) jako czynnika wpływającego korzystnie na osiągnięte wyniki sportowe przez pływaków wyczynowych w długich dystansach.*
- *Odkrycie zależności czterech SNPs: rs699 genu AGT; rs7247312 genu HSD17B14, rs680 genu IGF2; rs1800795 genu IL6 z silnym wpływem na wyniki testów sprinterskich u piłkarzy.*

Brałam także czynny udział w badaniach, których celem było określenie zależności pomiędzy polimorfizmem wybranych genów kandydackich a statusem sportowym wysokokwalifikowanych zawodników różnych dyscyplin sportowych o odmiennych wymaganiach strukturalno-morfologicznych, motorycznych i energetycznych. Wymiernym efektem tych analiz było opublikowanie pięciu prac naukowych.

W pierwszym badaniu pod kierunkiem prof. Pawła Ciężczyka, uwieńczonym publikacją (Ciężczyk i wsp., 2016), opisaliśmy genetyczne badanie asocjacyjne polegające na porównaniu częstości alleli i genotypów polimorfizmu insercyjno-delecyjnego (I/D) genu kodującego konwertazę angiotensyny (*ACE*) w grupie polskich piłkarzy nożnych 1 i 2 ligi i grupie kontrolnej. Nie stwierdziliśmy różnic istotnych statystycznie, zarówno dla częstości alleli, jak i genotypów. Gdy podzieliliśmy zawodników na grupy ze względu na pozycję na boisku i porównaliśmy częstości

alleli genotypów między nimi, także nie stwierdziliśmy różnic istotnych statystycznie. Dlatego można stwierdzić, że warianty alleliczne genu *ACE* nie zwiększają, ani też nie zmniejszają, prawdopodobieństwa osiągnięcia sukcesu sportowego w badanej przez nas grupie sportowców.

W kolejnym badaniu, pod kierownictwem dr Thomasa Yvert, również zaprezentowanym w publikacji (Yvert i wsp. 2018), przedstawiliśmy wyniki badań replikacyjnych, które miały na celu zweryfikowanie opisanego w literaturze związku pomiędzy polimorfizmem rs11091046 A/C genu *AGTR2*, kodującego receptor typu 2 dla angiotensyny II, a statusem sportowym sportowców wyczynowych dyscyplin szybkościowo-siłowych. Dodatkowo chcieliśmy przeprowadzić badania na różnych grupach etnicznych (w tym japońskiej, rosyjskiej i polskiej), aby zaobserwować, czy opisane wcześniej w literaturze wyniki mogą być odniesione do różnych populacji. W toku badań stwierdziliśmy, że we wszystkich analizowanych grupach sportowców płci męskiej alleli C rs11091046 był znacząco częstszy niż w grupie kontrolnej. W odniesieniu do poszczególnych grup etnicznych, allel C występował częściej u sportowców płci męskiej z Japonii niż w odpowiadającej im grupie kontrolnej. Natomiast analizując indywidualnie zawodników płci męskiej grupy polskiej i rosyjskiej nie zaobserwowaliśmy istotnych statystycznie różnic. Przeprowadzone przez nasz zespół badania replikacyjne sugerują więc, iż to allel C (nie zaś A, jak zaobserwowano we wcześniejszych badaniach) jest związany ze statusem sportowców szybkościowo-siłowych, lecz tylko w grupie mężczyzn.

Następnie, brałam udział w badaniach mających na celu ustalenie związku pomiędzy dwoma polimorfizmami typu SNP (rs1799983 G/T i rs2070744 T/C) zlokalizowanymi w genie kodującym syntezę tlenu azotu 3 (*NOS3*) a statusem polskich pływaków wyczynowych (Żmijewski i wsp. 2018). Synteza tlenu azotu poprzez produkcję tlenu azotu (NO) jest jednym z czynników regulacji funkcji naczyń krwionośnych, a także metabolizmu włókien mięśniowych. Dane literaturowe wskazują na związek polimorfizmu typu SNP genu *NOS3* ze statusem sportowców wyczynowych. Nasze badania wykazały, że w grupie pływaków długodystansowych (LDS, >500m) allel T oraz haplotyp G-T (rs1799983-rs2070744) występują znacząco częściej niż w grupie kontrolnej - **zaobserwowaliśmy prawie 8,5 razy wyższą szansę na to, że w odniesieniu do homozygot CC, nosiciele allelu T będą pływakami długodystansowymi.** Należy więc stwierdzić, że **allel T i haplotyp G-T mogą być zaliczone do genetycznych czynników wpływających korzystnie na osiągnięte przez pływaków wyczynowych wyniki sportowe**

Kolejne badanie pod kierunkiem prof. Piotra Gronka miało na celu potwierdzenie związku pomiędzy wariantami polimorficznymi wybranych genów markerowych (*ACE* rs4340, *NOS3* rs1799983, *BDKRB2* rs5810761, *UCP2* rs660339, *AMPD1* rs17602729) ze statusem sportowym wyczynowych polskich biegaczy długodystansowych (Gronek i wsp. 2018). Wybrane do analizy markery opisywano wcześniej w literaturze jako te, które mogą mieć związek z modulowaniem wskaźników wydolności fizycznej sportowców i osób aktywnych fizycznie. W związku z tym, zbadaliśmy częstości alleli i genotypów w wymienionych miejscach polimorficznych, porównując je między dwiema podgrupami sportowców – tych którzy kończyli biegi półmaratońskie w czasie poniżej (PG1) i powyżej (PG2) 100 minut. W toku badań stwierdziliśmy, że polimorfizm *UCP2* rs660339 był związany z czasem, który uzyskiwali biegacze na mecie biegu półmaratońskiego – allel Val rs660339 był znacząco częstszy w grupie osób kończących ten bieg w czasie poniżej 100 minut. Biorąc pod uwagę liczbę alleli kojarzonych w literaturze ze statusem sportowców wytrzymałościowych (*ACE* I, *NOS3* Glu, *BDKRB2* -9, *UCP2* Val) stwierdziliśmy, że sportowcy w podgrupie PG1 posiadali znacząco wyższą ich liczbę niż w podgrupie PG2. Może to świadczyć o tym, że osiąganie lepszych wyników sportowych w dyscyplinach wytrzymałościowych zależy, przynajmniej częściowo, od obecności w genotypie zawodnika wysokiej liczby alleli promujących zdolności wysiłkowe o charakterze tlenowym.

Ostatnie badanie z tego cyklu, również uwieńczone doniesieniem naukowym przedstawiało wyniki pierwszego badania asocjacyjnego obejmującego cały genom w celu zidentyfikowania wariantów genetycznych związanych z wynikami testów sprinterskich u młodych piłkarzy oraz weryfikację uzyskanych we wcześniejszych badaniach wyników (Pickering i wsp. 2019). Wykorzystując dane z mikromacierzy **zidentyfikowaliśmy dwanaście SNPs, które mogą mieć znaczenie w analizie predyspozycji sportowych**. W teście sprintu na 5 m za najbardziej istotny uznaliśmy polimorfizm rs55743914 zlokalizowany w genie *PTPRK*. Siedem z opisanych SNP powiązaliśmy z wynikami testów sprinterskich w populacji z Polski, cztery SNPs powiązaliśmy ze statusem szybkościowo-siłowym w kohorcie 400 zawodniczek z Rosji, a sześć SNPs powiązaliśmy z typem włókien mięśniowych w grupie 96 rosyjskich zawodników. Zbadaliśmy także rozkłady genotypów i możliwe powiązania dla szesnastu SNPs powiązanych wcześniej z wynikami w sprincie. Cztery SNPs (rs699 *AGT*, rs7247312 *HSD17B14*, rs680 *IGF2* i rs1800795 *IL6*) powiązaliśmy z wynikami testów sprintu.

Powyższe wyniki sugerują, że istnieje silny wpływ genetyczny na wyniki testów sprinterskich u piłkarzy.

Źródła:

- Ciężczyk P, Leońska-Duniec A, Maciejewska-Skrendo A, Sawczuk M, Leżnicka K, Contro V, Trybek G, **Lulińska-Kuklik E**. 2016 Variation in the *ACE* gene in elite Polish football players. *Hum Mov*, 17(4), 237-41. Punktacja MNiSW: 14.000.
- Yvert TP, Zempo H, Gabdrakhmanova LJ, Kikuchi N, Miyamoto-Mikami E, Murakami H, Naito H, Cieszczyk P, Leznicka K, Kostryukova ES, Alexeev DG, Egorova ES, Maciejewska-Skrendo A, Larin AK, Generozov EV, Kulemin NA, Ospanova EA, Pavlenko AV, Sawczuk M, Zmijewski P, **Lulinska-Kuklik E**, Govorun VM, Miyachi M, Ahmetov II, Fuku N. 2018. *AGTR2* and sprint/power performance: a case-control replication study for rs11091046 polymorphism in two ethnicities. *Biol Sport*, 35(2), 105-9. Wskaźnik Impact Factor ISI: 1.729; Punktacja MNiSW: 15.00.
- Żmijewski P, Ciężczyk P, Ahmetov II, Gronek P, **Lulińska-Kuklik E**, Dornowski M, Rzeszutko A, Chycki J, Moska W, Sawczuk M. 2018. The *NOS3* G894T (rs1799983) and -786T/C (rs2070744) polymorphisms are associated with elite swimmer status. *Biology of Sport*, 35(4), 313-9. Wskaźnik Impact Factor ISI: 1.729; Punktacja MNiSW: 15.000.
- Gronek P, Gronek J, **Lulińska-Kuklik E**, Spieszny M, Niewczas M, Kaczmarczyk M, Petr M, Stastny P, Fischerova P, Ahmetov II, Żmijewski P. 2018. Polygenic study of endurance-associated genetic markers *NOS3* (Glu298Asp), *BDKRB2* (-9/+9), *UCP2* (Ala55Val), *AMPD1* (Gln45Ter) and *ACE* (I/D) in Polish male half marathoners. *J Hum Kinet*, 64, 87-98. Wskaźnik Impact Factor ISI: 1.174; Punktacja MNiSW: 15.000.
- Pickering C, Suraci B, Semenova EA, Boulygina EA, Kostryukova ES, Kulemin NA, Borisov OV, Khabibova SA, Larin AK, Pavlenko AV, Lyubaeva EV, Popov DV, Lysenko EA, Vepkhvadze TF, Lednev EM, Leońska-Duniec A, Pająk B, Chycki J, Moska W, **Lulińska-Kuklik E**, Dornowski M, Maszczyk A, Bradley B, Kana-Ah A, Ciężczyk P, Generozov EV, Ahmetov II. A Genome-Wide Association Study of Sprint Performance in Elite Youth Football Players. *Journal of Strength and Conditioning Research*. 2019; 33(9) :2344-2351. doi: 10.1519/JSC.0000000000003259. Impact Factor: 2.973, Punktacja MNiSW: 100.000.

4.2.4 Analiza i ocena leczenia zachowawczego w kompleksowości postępowania rehabilitacyjnego w schorzeniach układu ruchu.

- ***Dokonanie analizy najskuteczniejszych metod i czynników fizykalnych w rehabilitacji narządu ruchu.***

Znaczną część mojego dorobku naukowego stanowią publikacje dotyczące problematyki związanej z **oceną leczenia zachowawczego wybranych schorzeń układu ruchu**, obejmujących m.in. takie formy terapii jak kinezyterapia, fizykoterapia oraz masaże lecznicze. Prace te powstały m.in. we współpracy z pracownikami Katedry i Kliniki Rehabilitacji oraz Katedry Fizjoterapii Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu a także Wydziału Kultury Fizycznej, Zdrowia i Turystyki Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy. Współpraca zaowocowała moim współautorstwem w dziewięciu pracach naukowych.

W publikacji (Plaskiewicz i wsp. 2015), mającej charakter poglądowy, zaprezentowaliśmy **zastosowanie oraz rolę fizykoterapii** w leczeniu dolegliwości bólowych kręgosłupa w odcinku lędźwiowym. Przedstawiliśmy wybrane formy leczenia fizykalnego tj. termoterapię, elektroterapię, magnetoterapię, laseroterapię oraz ultradźwięki. Opisaliśmy działanie poszczególnych bodźców na organizm oraz zwróciliśmy uwagę na wskazania i przeciwwskazania do leczenia fizykalnego.

W kolejnych dwóch pracach oryginalnych ocenialiśmy skuteczności sonoterapii oraz peloidoterapii, ultradźwięków i magnetoterapii w leczeniu przewlekłych zespołów bólowych kręgosłupa lędźwiowo-krzyżowego (Weber-Rajek i wsp. 2016, 2017). W odniesieniu do oceny skuteczności sonoterapii, w wyniku przeprowadzonych badań wykazaliśmy jej skuteczność w leczeniu przewlekłych zespołów bólowych kręgosłupa. Stwierdziliśmy bowiem istotne statystycznie różnice w wynikach badanych zmiennych: w porównaniu do pacjentów, u których nie stosowano żadnej terapii fizykalnej, w grupie osób poddanych terapii zmniejszyły się dolegliwości bólowe, zwiększyła się aktywność ruchowa oraz zmniejszył się ich stopień niepełnosprawności spowodowany bólem kręgosłupa. Zastosowanie peloidoterapii, ultradźwięków i magnetoterapii w poszczególnych grupach pacjentów poddanych terapii spowodowało znaczącą poprawę wyników wszystkich badanych zmiennych. Porównując zastosowane terapie stwierdziliśmy istotne statystycznie różnice pomiędzy grupami dla skali VAS (Visual Analog Scale) oceniającej natężenie bólu – najlepsze rezultaty terapii odnotowaliśmy dla grupy poddanej terapii ultradźwiękami. Nie stwierdziliśmy jednakże różnic pomiędzy grupami dla kwestionariusza Laitinena i Oswestry oraz testu Schobera. Należy stwierdzić, że wszystkie z ocenianych form terapii wykorzystanych w celu leczenia przewlekłych dolegliwości bólowych kręgosłupa lędźwiowo-krzyżowego były skuteczne, gdyż wykazały efekt zmniejszający dolegliwości bólowe, zwiększający aktywność ruchową oraz zmniejszający stopień niepełnosprawności u pacjentów.

Ocenę przydatności krioterapii i niskoenergetycznej laseroterapii w leczeniu choroby zwyrodnieniowej stawów (ChZS) kolanowych opisaliśmy w publikacji Radzińska i wsp. (2016). Grupę pacjentów ze zdiagnozowaną ChZS w obrębie stawów kolanowych podzieliliśmy na dwie podgrupy: 1) stosujących laseroterapię i 2) zabiegi krioterapeutyczne. W celu obiektywizacji efektów terapii, przed jej rozpoczęciem i po zakończeniu u wszystkich pacjentów wykonaliśmy ocenę intensywności bólu za pomocą skali VAS i kwestionariusza Laitinena oraz przeprowadziliśmy testy skłonów w pozycji leżącej i pomiar obwodu kolan. W toku badań stwierdziliśmy statystycznie istotną poprawę w redukcji dolegliwości bólowych, redukcji obrzęku i poprawę aktywności ruchowej u pacjentów obu grup. Ze względu na fakt, że różnice w skuteczności obu metod pomiędzy grupami były nieistotne statystycznie, można stwierdzić, że zarówno laseroterapia, jak i krioterapia są skutecznymi formami terapii w ChZS stawu kolanowego.

Porównanie skuteczność fali uderzeniowej i laseroterapii wysokoenergetycznej w leczeniu objawów ostrogi piętowej zaprezentowaliśmy w pracy (Weber-Rajek i wsp. 2018). Podobnie jak w poprzedniej publikacji, osoby badane podzielono na dwie grupy: grupę osób, u których wykonano zabieg przy użyciu fali uderzeniowej oraz pacjentów, u których wykonano zabieg laseroterapii wysokoenergetycznej. Przed i po terapii oceniano m.in. dolegliwości bólowe wykorzystując skalę VAS i kwestionariusz Laitinena oraz wykonano ocenę funkcjonalną (ang. Foot Function Index). Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdziliśmy, że obie metody fizykalne są skuteczną formą terapii w leczeniu objawów ostrogi piętowej. Porównanie wyników między grupami wykazało jednakże większą skuteczność terapii falą uderzeniową.

Masaż klasyczny jest formą mechanoterapii, która polega na mechanicznym drażnieniu tkanek i stawów, w tym mięśni, ścięgien i więzadeł m.in. w celu zapobiegania chorobom, a także leczenia objawów chorobowych. Ze względu na fakt, że nieprawidłowości związane z ruchomością kręgosłupa są obecnie problemem społecznym, postanowiliśmy zbadać wpływ masażu klasycznego na zwiększenie ruchomości w odcinku piersiowo-lędźwiowym kręgosłupa (Radzińska i wsp. 2017). Dlatego też w celu obiektywizacji efektów terapii przed i po wykonaniu serii 5 masażu klasycznych u osób badanych, przeprowadziliśmy m.in. test Thomayera (test palce podłoga), test Oto-Wurna, badanie prostowania kręgosłupa, badanie zakresu ruchów kręgosłupa. Uzyskane wyniki potwierdziły nasze wcześniejsze przypuszczenia dotyczące zwiększenie ruchomości kręgosłupa: otrzymaliśmy bowiem istotne statystycznie różnice w wynikach dla wszystkich zmiennych analizowanych przed i po przeprowadzeniu serii masażu w odcinku piersiowo-lędźwiowym kręgosłupa.

Kinesiotaping (KT), zwany inaczej plastrowaniem dynamicznym, jest jedną z metod terapeutycznych stosowanych w różnych dziedzinach medycyny, m.in. ortopedii i pediatrii. Ponieważ KT może mieć potencjalne znaczenie jako forma terapii wspomagającej w leczeniu płaskostopia, postanowiliśmy zbadać wpływ KT na leczenie stopy płasko-koślawej u dzieci (Strączyńska i wsp. 2017). Grupę 120 dzieci w wieku 5-7 lat podzieliliśmy na 4 podgrupy, w których stosowano przez okres 3 miesięcy: tylko zabiegi kinezyoterapeutyczne (1), zabiegi kinezyoterapeutyczne wraz z KT (2), tylko KT (3) oraz nie stosowano żadnej terapii. Przed terapią, po okresie terapii, a także 4 miesiące po zakończeniu eksperymentu, określaliśmy parametry kształtu stopy u badanych dzieci. Otrzymane przez nas wyniki wskazują, że najskuteczniejszą formą terapii płaskostopia w badanych podgrupach była terapia skojarzona w postaci kinezyoterapii oraz KT (grupa 2). W tej grupie zanotowaliśmy także najbardziej trwałe czasowo efekty stosowania zabiegów.

Źródła:

- Hagner W, Bąk D, **Lulińska-Kuklik E**, Hagner-Derengowska M. 2011. Częstość występowania wad postawy u dzieci 10- i 13-letnich w regionie mławskim, Kwart Ortop, 1, 4-30. Punktacja MNiSW: 2.000.
- Plaskiewicz A, Kałużny K, Kochański B, Płoszaj O, **Lulińska-Kuklik E**, Weber-Rajek M, Żukow W. 2015. Zastosowanie fizykoterapii w leczeniu dolegliwości bólowych odcinka lędźwiowego kręgosłupa. J Educ Health Sport, 5(5), 11-20.
- Weber-Rajek M, **Lulińska-Kuklik E**, Orłowska K, Czerniachowska I, Radzińska A, Moska W. 2016. Evaluating the effectiveness of various forms of physical therapy in low back pain treatment Trends Sport Sci, 23(3), 147-54. Punktacja MNiSW: 9.000.
- Weber-Rajek M, Radzińska A, Słomiński K, **Lulińska-Kuklik E**. 2017. Ocena skuteczności sonoterapii w leczeniu przewlekłych zespołów bólowych kręgosłupa lędźwiowo-krzyżowego: badanie pilotażowe. Acta Balneol, 59 (2), 104-10. Punktacja MNiSW: 8.000.
- Radzińska A, Weber-Rajek M, Lewandowska J, **Lulińska-Kuklik E**, Strączyńska A, Moska W.

2016. Evaluation of the efficacy of low level laser therapy and cryotherapy in the treatment of gonarthrosis, *Balt J Health Phys Act*, 8(2), 87-95. Punktacja MNiSW: 11.000.
- Radzińska A, Weber-Rajek M, Lulińska-Kuklik E, Piecka P, Moska W. 2017. The impact of classical massage on spine mobility. *Pedagog Psychol Med-biol Probl Phys Train Sports*, (2), 82–86. Punktacja MNiSW: 5.000.
 - Sebastian J, Olkiewicz M, Bilicka D, Lulińska-Kuklik E, Ratuszek-Sadowska D. 2017. Postępowanie rehabilitacyjne oraz opieka nad noworodkiem z cechami artrogrypozy oraz licznymi wadami wrodzonymi. W: *Metoda studium przypadku w pielęgniarstwie pediatricznym - wybrane zagadnienia z rehabilitacji dziecięcej* (red.: Ewa Barczykowska, Magdalena Hagner-Derengowska), Wrocław, Wyd. Continuo, 97-112. Punktacja MNiSW: 5.000.
 - Strączyńska A, Kruczyński J, Radzińska A, Weber-Rajek M, Lulińska-Kuklik E, Goch A. 2017. The positive role of kinesio taping in adjunctive therapy of static plano-valgus feet in children between the ages of 5 and 7. *Balt J Health Phys Act*, 9(2), 89-97. Punktacja MNiSW: 11.000.
 - Weber-Rajek M, Łacka M, Lulińska-Kuklik E, Radzińska A. 2018. Assessment of effectiveness extracorporeal shockwave therapy and laser therapy in the treatment of calcaneal spur symptoms. *Acta Balneol*, 60(2), 87-92. Punktacja MNiSW: 8.000.

4.2.5 Analiza zachowań zdrowotnych Polaków w przekrojowych grupach społecznych: młodzież, kobiety w wieku menopauzalnym, sportowcy.

- *Dokonanie analizy i oceny zachowań zorientowanych na jakość swojego zdrowia w/w grupach.*

W moim dorobku naukowym znajduje się także seria publikacji z zakresu analizy zachowań zdrowotnych różnych grup społecznych z terenu Polski. Ze względu na fakt, że wyniki badań dotyczących zachowań zdrowotnych młodzieży prowadzonych w Polsce i na świecie nie są zadowalające, a wczesna dorosłość jest najlepszym okresem dla osiągnięcia długotrwałych korzyści z wyboru zdrowego trybu życia, postanowiliśmy w 3 pracach tego cyklu opisać **zachowania zdrowotne studentów** różnych kierunkach studiów bydgoskich szkół wyższych, wykorzystując do tego Inwentarz Zachowań Zdrowotnych (IZZ) Zygryda Juczyńskiego (Weber-Rajek i wsp. 2015, 2017, Radzińska i wsp. 2016). Badania te miały również na celu określenie, czy istnieje różnica w zachowaniach zdrowotnych studentów studiujących na kierunkach określanych jako medyczne (Fizjoterapia, Dietetyka, Zdrowie Publiczne, Kosmetologia) i niemiedycznych (Logistyka, Bezpieczeństwo narodowe, Budownictwo). Wyniki badań wskazują na zdecydowanie wyższy poziom zachowań zdrowotnych w przypadku studentów kierunków określanych jako medyczne w porównaniu do kierunków niemiedycznych - najlepsze wyniki kwestionariusza IZZ uzyskiwali studenci kierunków Dietetyka i Fizjoterapia, najgorsze zaś studenci Logistyki i Budownictwa. Stwierdziliśmy również, że lepsze wyniki kwestionariusza IZZ uzyskiwały kobiety w porównaniu do mężczyzn. W związku z otrzymanymi wynikami stwierdziliśmy, że istnieje potrzeba wdrażania programów kształtujących prawidłowe zachowania zdrowotne młodzieży i upowszechniania szeroko pojętej promocji zdrowia na wszystkich etapach edukacji.

W kolejnej pracy postanowiliśmy przeanalizować **zachowania zdrowotne kobiet w wieku menopauzalnym** (Weber-Rajek i wsp. 2016a). Menopauza jest naturalnym etapem w życiu każdej kobiety, związanym z trwałym fizjologicznym zatrzymaniem cyklu miesięczkowego - zmiany hormonalne zachodzące wtedy w organizmie powodują wiele dolegliwości. Jedną z metod łagodzenia objawów menopauzy jest, obok stosowania hormonalnej terapii zastępczej, przestrzeganie zachowań

sprzyjających zdrowiu. W badanej grupie kobiet w okresie menopauzalnym wykazano przeciętny poziom zachowań zdrowotnych. W całej badanej grupie najwyższe wyniki uzyskano w kategorii „zachowania profilaktyczne”, najniższe w kategoriach „prawidłowe nawyki żywieniowe” i „praktyki zdrowotne”.

W publikacji (Weber-Rajek i wsp. 2016b) przedstawiliśmy wyniki **analizy zachowań zdrowotnych u sportowców różnych dyscyplin tj. siatkówka, koszykówka i piłka nożna**. Założyliśmy, że to sportowcy właśnie powinni być grupą osób, która najbardziej opiera swoje życie na zachowaniach zdrowotnych. Badaniami objęto trenujące kobiety i mężczyzn. Podobnie jak w poprzednich analizach, w badaniach wykorzystano Inwentarz Zachowań Zdrowotnych Zygryda Juczyńskiego oraz ankietę autorską. W całej badanej grupie stwierdzono średni poziom zachowań zdrowotnych. Ze wszystkich kategorii zachowań zdrowotnych najwyższy wynik uzyskano w kategorii „pozytywne nastawienie psychiczne”, najniższy w kategorii „prawidłowe nawyki żywieniowe”. Wyniki kobiet były wyższe od wyników mężczyzn. Porównując osoby, u których w przeciągu 12 miesięcy wystąpiły urazy do sportowców bez urazów nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w zachowaniach zdrowotnych, jednakże szczegółowa analiza statystyk opisowych pokazuje, że korzystniejsze wyniki, zarówno w ogólnym poziomie zachowań zdrowotnych, jak i poszczególnych kategoriach kwestionariusza IZZ uzyskano w grupie osób bez urazów.

Źródła:

- Hagner W, Kuklik M, **Lulińska-Kuklik E**, Hagner –Derengowska M. 2010. Zwyczaje zdrowotne, kondycja zdrowotna mieszkańców północnych Kaszub oraz częstość występowania wad postawy ich dzieci w świetle relacji historycznych i współczesnych. Czasopismo naukowe Wyższej Szkoły Nauk o Zdrowiu w Bydgoszczy, 23-33.
- Plaskiewicz A, Kałużny K, **Lulińska-Kuklik E**, Smuczyński W, Zieliński E, Hagner W. 2013. Motor development in the first year of life a child. W: Health - the proper functioning of man in all spheres of life. T. 3. (red. Magdalena Hagner-Derengowska, H. Kasprzak, K. Kałużny). Bydgoszcz: BSW, 125-35. Punktacja MNiSW: 5.000.
- Weber-Rajek M, Baumgart M, Michalski A, Radziwińska A, Goch, **Lulińska-Kuklik E**, Żukow W. 2015. Students' health behaviors - own research. J Educ Health Sport, 5(9), 647-62. Punktacja MNiSW: 7.000.
- Radziwińska A, Weber-Rajek M, **Lulińska-Kuklik E**, Kaźmierczak U, Moska W. 2016. Academic youth's health behavior. Physical education of students, 6, 55–62. Punktacja MNiSW: 5.000.
- Weber-Rajek M, Lubomska M, Radziwińska A, **Lulińska-Kuklik E**, Goch A, Żukow W. 2016a. Zachowania zdrowotne kobiet w okresie menopauzalnym. J Educ Health Sport, 6(2), 151-62. Punktacja MNiSW: 7.000.
- Weber-Rajek M, Bethke A, Radziwińska A, **Lulińska-Kuklik E**, Żukow W. 2016b. Zachowania zdrowotne i urazy sportowe, J Educ Health Sport, 6(5), 119-30. Punktacja MNiSW: 7.000.
- Weber-Rajek M, **Lulińska-Kuklik E**, Radziwińska A, Moska W. 2017. Health behaviors in early adulthood. Balt J Health Phys Act, 9(4), 146-152. Punktacja MNiSW: 11.000.
- Piekorz Z, Lewandowski A, Radziwińska A, Weber-Rajek M, Siedlaczek M, **Lulińska-Kuklik E**, Moska W. 2017. Functional mobility and flexibility in young female swimmers, Trends Sport Sci, 24(1), 39-43. Punktacja MNiSW: 9.000.

4.2.6 Genomika sportowa jej oddziaływanie na zdrowie i aktywność fizyczną.

Brałam udział w realizacji projektu „1000 Genomów – genetyczne podłoże aktywności fizycznej poziomu sportowego i dobrostanu człowieka”. POIR.04.02.00-30-A004/16-02. Kierownikiem projektu była dr Kinga Humińska – Lisowska. Projekt ma ogromne znaczenie dla rozwoju kompleksowości medycyny sportowej oraz nauk o kulturze fizycznej. W realizacji projektu odpowiadałam za rekrutację grupy badanej, prawidłowy przebieg poszczególnych etapów badań grupy badanej. W ramach projektu, została przeprowadzona kompleksowa analiza genomu, rozszerzone badania krwi, testy fizjologiczne, takie jak analiza składu ciała bioimpedancji, test VO₂max, test Wintage, test szybkości reakcji, test siły, pomiar ucisku dłoni, wysokości i mocy, wyskoku. Pozwoliło to, na bardziej wnikliwe rozumienie związku genami a kondycją fizyczną.

Z pewnością te badania będą również elementem początkowym dla spersonalizowanej medycyny sportowej. Zwiększające świadomość w zakresie zdrowego stylu życia, poprawy jakości życia i odpowiednio programowanej aktywności fizycznej. Obecnie trwają przygotowania zespołu badaczy do złożenia publikacji, trwa analiza przeglądu literatury a wyniki badań są w trakcie opracowywania.

5 Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej.

5.1 Współpraca naukowa

Jak zaznaczyłam wcześniej, w związku z prowadzonymi przeze mnie badaniami dotyczącymi analizy podłoża genetycznego uszkodzenia tkanek miękkich, podjęłam współpracę z licznymi wiodącymi zagranicznymi oraz krajowymi ośrodkami naukowo-badawczymi i klinikami ortopedycznymi (University of Cape Town, Republika Południowej Afryki, Akademia Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach; Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu; Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii w Warszawie; Instytut Sportu – Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie; Uniwersytet Medyczny w Łodzi; Uniwersytet Szczeciński, NZOZ Galen w Bieruniu).

W ramach tej współpracy, prowadzonych wspólnie w zespołach interdyscyplinarnych, powstały liczne badania i publikacje naukowe opublikowane w czasopiśmie o wysokich współczynnikach wpływu. Publikacje te zostały już wcześniej wymienione przeze mnie w treści autoreferatu.

Od roku 2019 (w latach 2016-2018 zapraszana byłam do poszczególnych badań pomiarowych i pracy koncepcyjnej) ściśle współpracuję z pracownikami **Akademii Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach** w zakresie wspólnej realizacji projektów naukowych. W związku z moją działalnością badawczą w AWF Katowice realizowałam projekty finansowane z subwencji uczelni, jak również byłam wykonawcą grantów finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach programu „Rozwój Sportu Akademickiego”:

- NRSA3-03953 pt. „Kontrola procesu treningowego w oparciu o analizę kinezyologiczną, kontrolę biochemiczną oraz parametry motoryczne zawodników wybranych dyscyplin sportu; ocena pracy sędziowskiej”, kierownik - prof. dr hab. Adam Zajac;
- NRSA4-04054 pt. „Wykorzystanie mechanizmu wzmocnienia po-aktywacyjnego (PAP) w optymalizacji treningu mocy z wykorzystaniem modelowania biometrycznego zawodników wybranych dyscyplin sportu”, kierownik - prof. dr hab. Adam Maszczyk.

W ramach istniejącej przy AWF Katowice Pracowni Siły i Mocy Mięśniowej, zostały przeprowadzone

badania i pomiary oraz wykonane analizy, które były bezpośrednio związane z zadaniami wynikającymi z założeń projektu badawczego: Kontrola procesu treningowego w oparciu o analizę kinezyjologiczną, kontrolę biochemiczną oraz parametry motoryczne zawodników wybranych dyscyplin sportu. Uczestniczyłam w badaniach w wykonaniu 3 analiz wielowymiarowych z modelowaniem biometrycznym. Zbudowane modele klasyfikacyjne i predykcyjne oparte w dużej części na sieciach neuronowych podniosły wartość aplikacyjną przeprowadzonych badań i bezpośrednio zoptymalizowały procesy treningowe w analizowanych dyscyplinach sportu.

Projekt badań uwzględniał kilkanaście eksperymentów z udziałem zawodników różnych dyscyplin sportu, w celu kontroli procesu treningowego w oparciu o analizę kinezyjologiczną, kontrolę biochemiczną oraz parametry motoryczne zawodników wybranych dyscyplin sportu. W przypadku treningu siły i mocy, zakup specjalistycznego przyrządu treningowo-pomiarowego umożliwił zastosowanie supramaksymalnych wielkości oporu, wynoszących od 110 do 180% maksymalnej siły koncentrycznej. Główna hipoteza tej fazy eksperymentów, która była moim udziałem zakładała, iż stosowanie, krótkotrwałych wysiłków z supramaksymalnym obciążeniem pozwala na rekrutowanie nowych jednostek motorycznych, a w szczególności szybkokurczliwych włókien mięśniowych typu FTx. W eksperymentach były określane zarówno reakcje bezpośrednie na tego rodzaju wysiłek w postaci zmian elektromiograficznych, oraz biochemicznych i fizjologicznych takich jak stężenie mleczanu i amin katecholowych, czy hormonów anabolicznych i katabolicznych (GH, testosteron, insulina, kortyzol), oraz aktywność enzymów komórkowych w osoczu krwi określających pośrednio zakres uszkodzeń błon komórek mięśniowych. Pomiary długofalowe, po określonym cyklu treningowym (8-12 tyg.) uwzględniały zmiany w parametrach siły mięśniowej i mocy oraz w masie i składzie ciała. W eksperymentach etapu pierwszego, w których uczestniczyłam, brali udział zawodnicy dyscyplin sportu, w których zarówno siła maksymalna jak i moc odgrywają istotną rolę w procesie szkolenia sportowego (rzuty i skoki lekkoatletyczne, koszykówka, judo).

Drugim istotnym aspektem projektu badań było określenie aktywności bioelektrycznej mięśni (EMG) oraz bioelektrycznej czynności mózgu (EEG) podczas wykonywania klasycznych ćwiczeń siłowych w różnych wariantach oraz przy różnych wielkościach obciążenia. Badania z zastosowaniem EEG przeprowadzałam we ścisłej współpracy z psychologiem klinicznym. Jak wykazały zarejestrowane wyniki badań oraz analizy, aktywność bioelektryczna mięśni jak również fal mózgowych np. podczas wyciskania sztangi leżąc ulega istotnym zmianom wraz ze wzrostem wielkości pokonywanego oporu. Odrębnym zagadnieniem jest również odpowiednia motywacja zawodników do pokonywania coraz to większych obciążeń ściśle powiązana z uzyskanym sprzężeniem zwrotnym (neurofeedback i biofeedback). Podobnie jest w przypadku modyfikacji podstawowych warunków wykonywania ćwiczenia, a więc między innymi przy zastosowaniu różnego ustawienia segmentów ciała, zmian kątowych w poszczególnych stawach oraz szerokości i rodzaju uchwytu sztangi. Podobnie jak tempo wykonania fazy koncentrycznej (podnoszenia) i ekscentrycznej (opuszczanie) oraz ustawienie ławki (pozioma, skośna w dół i w górę). Istnieje także prawdopodobieństwo, że zawodnicy wysokiej klasy ćwiczący z bardzo dużym oporem zewnętrznym angażują inne grupy mięśniowe lub te same, lecz w odmiennej sekwencji albo w innych proporcjach w stosunku do początkujących zawodników. Porównywalne zależności dotyczą sfery motywacyjnej ściśle powiązanej z aktywnością i rodzajami fal mózgowych. Określenie tych zależności, które było moim udziałem, pozwoliło na lepszy dobór ćwiczeń do poszczególnych zadań treningowych oraz udoskonało metodykę kształtowania siły mięśniowej dla potrzeb różnych dyscyplin sportu, zatem pozwoliło na optymalizację procesu treningowego.

Kolejnym ważnym zadaniem badawczym była weryfikacja skuteczności treningu izokinetycznego w rozwoju mocy, siły maksymalnej i wytrzymałości siłowej. W tym celu przeprowadzono kilka

eksperymentów, głównie z udziałem pływaków i zawodników judo, porównując efektywność klasycznych ćwiczeń izotonicznych i izometrycznych z treningiem izokinetycznym opartym o pneumatyczne trenażery, w których wyeliminowany jest moment bezwładności i przyspieszenie. Stwierdzono, że izokinetyka jest skuteczna w dyscyplinach takich jak pływanie gdzie w środowisku wodnym wielkość przyspieszenia kończyn dolnych i górnych jest ograniczona, natomiast w dyscyplinach i konkurencjach sportowych gdzie o wyniku decyduje przede wszystkim tempo narastania siły (RFD), takich jak rzuty czy skoki lekkoatletyczne, eliminowanie przyspieszenia ogranicza skuteczność tej metody treningowej. Ważnym elementem badań w tym zakresie było także porównanie zakresu uszkodzeń komórek mięśniowych na skutek różnego charakteru pracy mięśniowej, za które to byłam odpowiedzialna.

Zasadniczym aspektem drugiego projektu badawczego: Wykorzystanie mechanizmu wzmocnienia po aktywacyjnego (PAP) w optymalizacji treningu mocy z wykorzystaniem modelowania biometrycznego zawodników wybranych dyscyplin sportu, było wykorzystanie metod matematycznych w celu optymalizacji obciążeń podczas wykonywania ćwiczeń oraz określenie optymalnych przerw regeneracyjnych (jedno z moich zadań badawczych w zespole). Ponadto, moim zadaniem było określenie optymalnych wartości obciążenia w celu maksymalizacji wykorzystania efektu PAP dla polepszenia wyników eksperymentów. W badaniach wykorzystano urządzenie LegPres dla kończyn dolnych z możliwością czasowego przyrostu obciążenia zewnętrznego oraz reakcji wzrokowo-słuchowej. W przypadku klasycznych ćwiczeń dynamicznych z wykorzystaniem wolnych ciężarów (sztanga, hantle) zawodnicy wykonywali kilka lub kilkanaście serii danego ćwiczenia z maksymalną szybkością (np. przysiad ze sztangą), z progresywnie wzrastającym obciążeniem (30, 40, 50, 60, 70 i czasami 80% 1RM), rejestrując za pomocą przyrządów Hoist-RS-1204 LOW BAC; Hoist-RS-1302A PEC FLY; Hoist-RS-1412 GLUTEMASTER; Hoist-RS-1601 AB-DOMINALS; Hoist-RS-1602 ROTARY TORSO oraz Myotest i GymAware wielkość rozwijanej mocy. Ponownie stosując odpowiedni przygotowany przeze mnie algorytm, w którym zostały uwzględnione wyniki eksperymentu, obliczyłam optymalne wartości obciążenia zewnętrznego, przy którym efekt PAP uzyskuje bezpośrednie przełożenie na poprawę wyników testów. Dodatkowo każdorazowo wykonywano pomiary EEG zawodników występujących do zadań ruchowych. Wyniki zostały wykorzystane w publikacjach w zakresie tego tematu, których jestem współautorem.

Rezultaty eksperymentu miały bezpośredni wymiar praktyczny, gdyż pozwoliły na określenie najefektywniejszej metodyki kształtowania siły i mocy mięśniowej dla różnych dyscyplin sportu. W przypadku tego projektu badań, zostali uwzględnieni głównie zawodnicy klubu sportowego AZS AWF Katowice (większość badanych zawodników należy do ścisłej Kadry Narodowej Polski), a w szczególności sekcje: lekkoatletyki, pływania, judo, koszykówki, szermierki, saneczkarstwa oraz skoków narciarskich.

Rezultatem mojej aktywności naukowej w AWF Katowice i przeprowadzonych badań są cztery opublikowane prace naukowe opublikowane w latach 2021 – 2024. W dwóch publikacjach afiliowałam AWF Katowice.

Źródła:

- Filip-Stachnik A, Wilk M, Krzysztofik M, Lulińska E, Tufano JJ, Zajac A, Stastny P, Del Coso J. 2021. The effects of different doses of caffeine on maximal strength and strength-endurance in women habituated to caffeine. J Int Soc Sports Nutr. 2021 Mar 30;18(1):25. doi: 10.1186/s12970-021-00421-9.
- Wilk M, Trybulski R, Krzysztofik M, Wojdala G, Campos Y, Zajac A, Lulińska E and Stastny P. 2021. Acute Effects of Different Blood Flow Restriction Protocols on Bar Velocity During the

Squat Exercise. Front. Physiol. 12:652896. doi: 10.3389/fphys.2021.652896.

- Kostrzewa M, Supiński J, Kownacki S, **Lulińska E**, Markowski J, Pilch J, Zak M, Marzec A, Maszczyk A. 2024. Differences in judging judo matches between judges with different qualifications, coaches and players. Physical Activity Review , 12(2): 78-86. doi: 10.16926/par.2024.12.24.
- Prończuk M, Motowidło J, **Lulińska E**, Skalski D, Markowski J, Pilch J, Kostrzewa M, Terbalyan A, Skotniczny K, Maszczyk A. The Effect of 6-week EEG-Biofeedback Training in Normobaric Hypoxia and Normoxia Conditions on Reaction Time in Elite Judo Athletes. doi.org/10.29359/BJHPA.16.3.03.

Współpracuję z **Uniwersytetem Rzeszowskim** z dr Agatą Rzeszutko – Belzowską, Jestem **kierownik eksperymentu medycznego**, na którego realizację uzyskałam zgodę Komisji Bioetycznej nr KB AWFIS nr 2/2024 i rozpoczęłam badania naukowe ze spółką InventUR Uniwersytetu Rzeszowskiego, na kwotę usługi badawczej 147 600 zł.

Badania zakresie szeroko rozumianej profilaktyki i zachowań zdrowotnych w cukrzycy. W moich zainteresowaniach badawczych w ubiegłych latach była ocena poziomu ekspresji wybranych miRNA poziom immunoekspresji białka wiążącego insulinopodobny czynnik wzrostu (IGFBP-3) w odniesieniu do stężeń insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) oraz glukozy u sportowców wykonujących wysiłki o różnej intensywności.

Potwierdziło się w nich, istotne zmniejszenie stężenia glukozy w surowicy. W dalszym etapie, analizując, zachowania zdrowotne populacyjne i trend wzrostowy zachorowań na cukrzycę i insulinooporność, zainicjowałam nowy dla mnie, kierunku badań. Należy podkreślić, że cukrzyca jest chorobą cywilizacyjną i metaboliczną. Przewlekła hiperglikemia w cukrzycy powoduje uszkodzenie, zaburzenie czynności i niewydolność wielonarządową. Zwiększona aktywność fizyczna jest wskazana u pacjentów, jednak z wieloma uwagami i czynnikami kontrolnymi. Dlatego, zasadne było pozyskanie partnera finansowego, do realizacji pierwszej części eksperymentu, która polega na trzykrotnej analizie parametrów biochemicznych, indywidualnie dobranych zbilansowanych diet z uwzględnieniem nasilenia aktywności fizycznej. Kolejnym etapem będzie ocena wpływu dedykowanej aktywności fizycznej na wybrane parametry biochemiczne. Celem tych długofalowych badań, jest stworzenie najbardziej skutecznego modelu interdyscyplinarnej rehabilitacji prewencyjnej, spersonalizowanej aktywności fizycznej w połączeniu z rekomendowanymi zasobami zbilansowanej właściwie diety. Ma być ona podstawą rekomendacją w codzienności funkcjonowania osób w tym sportowców, którzy znajdują się w gronie osób zmagających się z tą chorobą.

5.2 Udział w stażach naukowych

Nawiązałam współpracę i odbyłam krótkoterminowy staż naukowy w zakresie nowych metod badawczych stosowanych w badaniach fizjologicznych wykorzystywanych na potrzeby sportu oraz badań w zakresie działania substancji aktywnych i suplementów, w parametrach wydolności sportowej, pod kierunkiem dra. Petra Stasnego w Uniwersytecie Karola w Pradze w 2017 r.

We współpracy z międzynarodowym zespołem naukowców, przeprowadzałam badania w zakresie parametrów fizjologicznych podczas aktywności fizycznej. Efektem tego było opublikowanie oryginalnej pracy naukowej:

- Acute effects of different blood flow restriction protocols on bar velocity during the squat exercise. Wilk Michał, Trybalski Robert, Krzysztofik Michał, Wojdała Grzegorz, Campos Yuri, Zajac Adam, **Lulińska Ewelina**, Stastny Petr. Frontiers in Physiology. 2021 : vol.

12, art. nr 652896, s. 1-8, doi: 10.3389/fphys.2021.652896.

Dokonywaliśmy również oceny wpływu spożycia kofeiny na wydajność ćwiczeń, w szerokim zakresie, opartych na oporze, siłowo – wytrzymałościowych, siłowo – mocowych u kobiet. Efektem tego było opublikowanie oryginalnej pracy naukowej:

- The effects of different doses of caffeine on maximal strength and strength-endurance in women habituated to caffeine. Filip-Stachnik Aleksandra, Wilk Michał, Krzysztofik Michał, **Lulińska Ewelina**, Tufano James J., Zając Adam, Stastny Petr, Del Coso Juan. Journal of the International Society of Sports Nutrition 2021 : vol. 18, nr 1, art. nr 25, s. 1-10, doi: 10.1186/s12970-021-00421-9.

Nawiązałam współpracę i odbyłam krótkoterminowy staż naukowy w zakresie nowych technologii wykorzystywanych w biologii molekularnej, w badaniach i analizach dotyczących predyspozycji sportowych narządu ruchu pod kierunkiem prof. Patrizi Proia w Uniwersytecie w Palermo w 2018.

Kontynuowałam współpracę i odbyłam krótkoterminowe staże naukowe w zakresie analiz molekularnych stosowanych w zakresie urazów narządu ruchu w genetyce sportowej pod kierunkiem dra. hab. Marka Sawczuka, w Centrum Badań Strukturalno-Funkcjonalnych Człowieka w Instytucie Nauk o Kulturze Fizycznej Uniwersytetu Szczecińskiego w 2022, 2023 r.

Wynikiem tej współpracy, badań zespołu i kontynuacji mojej nauki w zakresie analiz dotyczących poszukiwania i weryfikacji nowych opisanych w literaturze markerów molekularnych związanych z uszkodzeniem ścięgien i więzadeł było współautorstwo, opublikowanie oryginalnych prac naukowych:

- Are COL22A1 Gene Polymorphisms rs11784270 and rs6577958 Associated with Susceptibility to a Non-Contact Anterior Cruciate Ligament Injury in Polish Athletes? Sun Z, Ciężczyk P, **Lulińska E**, Dzitkowska-Zabielska M, John M, Humińska-Lisowska K, Michałowska-Sawczyn M, Ficek K, Leońska-Duniec A, Mastalerz A, Janczyk A, Sawczuk M. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2023; 20(1): 515. doi: 10.3390/ijerph20010515. W pracy afiliowałam Uniwersytet Szczeciński.
- Genetic variants and anterior cruciate ligament rupture : elastin proteins gene and fibromodulin gene polymorphisms. **Lulińska Ewelina**, Żelazny Joanna Jadwiga, Lulińska Agnieszka, Grzywacz Elżbieta, Strońska-Pluta Aleksandra, Sawczuk Marek, Stanulewicz Magdalena. Baltic Journal of Health and Physical Activity. 2023 : vol. 15, nr 2, art. nr 3, s. 1-11, doi.org/10.29359/BJHPA.15.2.03. W pracy afiliowałam Uniwersytet Szczeciński.

W ramach mojej działalności naukowej, poza opisanym powyżej udziałem w pracach zespołów badawczych, aktywnością publikacyjną oraz nawiązywaniem współpracy międzynarodowej i krajowej, realizowałam się także na wielu innych polach.

6 Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzatorskich nauk oraz inne istotne informacje dotyczące kariery zawodowej.

Jestem aktywnym członkiem dwóch towarzystw naukowych: **Polskiego Towarzystwa Balneologii i Medycyny Fizykalnej oraz Polskiego Towarzystwa Rehabilitacji**, co daje mi dodatkową możliwość aktywnego uczestnictwa w dyskusji w środowisku naukowym. Wyniki prowadzonych przeze mnie badań były prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Jestem również współtwórcą Konsorcjum badawczo – wdrożeniowego stworzonego pomiędzy Akademią Wychowania Fizycznej i Sportu w Gdańsku, firmą Technomex zajmującą się badaniami i wdrożeniami sprzętu rehabilitacyjnego, firmą LT GPS zajmującą się wdrożeniami najnowszej technologii w zakresie rehabilitacji narządu ruchu.

Czynnie popularyzowałam naukę i edukowałam w zakresie zachowań prozdrowotnych poprzez uczestnictwo w różnych wydarzeniach: naukowych, popularyzatorskich oraz wydarzeniach ukierunkowanych na prawidłowe zachowania aktywności fizycznej, wpływającej na zachowania zdrowotne, które były skierowanych dla środowisk lokalnych, z terenu województwa pomorskiego, kujawsko- pomorskiego i zachodniopomorskiego. Uczestniczę aktywnie w pracach komitetów organizacyjnych i naukowych konferencji w zakresie ochrony zdrowia.

Od 2016 roku, jestem **członkiem zespołu eksperckiego ds. edukacji prozdrowotnej Województwa Pomorskiego**, który w swojej działalności zajmuje się prowadzeniem analiz, badań, określaniem kierunków regionalnej polityki: edukacyjnej i sportowej województwa pomorskiego. Organizujemy również, konferencje w zakresie zachowań prozdrowotnych aktywności fizycznej dzieci i młodzieży oraz wdrożeniami rekomendacji dla szkół i partnerów zajmującymi się wskazaną problematyką, w systemie edukacji ogólnodostępnej i specjalnej.

Ściśle współpracuję z **Klubem Sportowym: AZS AWFIS w Gdańsku; AZS AWF Katowice w Katowicach** oraz z Międzyszkolnym **Klubem Sportowym** Niesłyszących „Olimp” w zakresie aktywności fizycznej, treningów, rehabilitacji prewencyjnej i pourazowej; promocji dyscyplin sportowych oraz diagnostyki sportowej.

Jako prodziekan kierowałam pracami zespołu przygotowującego **program kształcenia kierunku Diagnostyka Sportowa**. Przygotowałam wymaganą dokumentację, pozyskałam partnerów środowiskowych i pozyskałam środki finansowe na wyposażenie specjalistycznych pracowni, uzyskałam zgodę Ministerstwa Nauki, na otwarcie kierunku kształcenia Diagnostyka Sportowa w AWFIS. Obecnie nadzoruję prawidłowość realizacji programów studiów, **jako przewodniczący rady programowej ds. jakości i programu studiów**.

Szereg podejmowanych przez mnie inicjatyw o charakterze naukowym, popularyzacyjnym oraz współpracy z różnymi środowiskami na rzecz rozwoju aktywności naukowej, edukacyjnej, zachowań prozdrowotnych oraz wdrożeń technicznych oraz systemowych w tym zakresie, został dostrzeżony i wyróżniony przez Ministra Edukacji Narodowej, który odznaczył mnie **Medalem Komisji Edukacji Narodowej**. Doświadczenie, jakie zdobywam pełniąc funkcję przewodniczącej rady programowej ds. jakości i programów studiów, prodziekana, kierownika pracowni medycyny fizykalnej w Akademii

Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsk, dało mi możliwość, dzielenia się ze współpracownikami wiedzą i rekomendacjami w zakresie dostosowania programów studiów kierunku Fizjoterapia, Diagnostyka Sportowa, Wychowanie Fizyczne, Sport w Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku do wymogów Polskiej Ramy Kwalifikacji.

Mogłam również spełniać się w roli nauczyciela akademickiego i koordynatora szkolenia praktycznego studentów. W swojej pracy organizacyjnej i dydaktycznej dzielę się ze swoimi współpracownikami i studentami wiedzą i doświadczeniem. Prowadziłam zajęcia o charakterze wykładów, ćwiczeń laboratoryjnych i konwersatoriów z przedmiotów m.in. Medycyna Sportowa, Medycyna Fizykalna, Biomedyczne Podstawy Zdrowia i Rozwoju, Biologia Człowieka, Edukacja Zdrowotna. Prowadzenie wyżej wymienionych zajęć wiązało się z przygotowaniem autorskich programów nauczania, konspektów zajęć, przewodników metodycznych, instrukcji, pomocy naukowych, prezentacji multimedialnych. Prowadziłam również opiekę nad dyplomantami i magistrantami.

Wszystkie moje działania wieloletniej współpracy i prowadzonych badań zaowocowały przedstawionym dorobkiem naukowym publikacji:

łącznej liczbie punktacji Impact Factor: 50.406

łącznej liczbie punktacji MNiSW: 1591.000

liczbie cytowań:

Web of Science Core Collection: 345 (bez autocytowań: 336)

Web of Science All Databases: 364 (bez autocytowań: 355)

indeksie Hirscha:

Web of Science Core Collection: h-index: 12

Web of Science All Databases: h-index: 12