

Akademia Wychowania Fizycznego i Sportu im. Jędrzeja Śniadeckiego w Gdańsku

Wydział Kultury Fizycznej



ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr Weronika Lepionka

WPLYW ZRÓŻNICOWANIA GENÓW KODUJĄCYCH INTERLEUKINĘ-6 ORAZ INTERLEUKINĘ-1 α NA ZMIANY MASY I SKŁADU CIAŁA ORAZ WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW BIOCHEMICZNYCH WYWOŁANE 12- TYGODNIOWYM TRENINGIEM

promotor:

dr hab. Agata Leońska-Duniec, prof. AWF i S

promotor pomocniczy:

dr Ewelina Maculewicz

Gdańsk 2022

**Gdansk University
of Physical Education and Sport**

Faculty of Physical Education



mgr Weronika Lepionka

**INFLUENCE OF POLYMORPHISMS WITHIN INTERLEUKIN-6 AND
INTERLEUKIN-1 α GENES ON CHANGES IN BODY WEIGHT, BODY
COMPOSITION AND SELECTED BIOCHEMICAL INDICATORS INDUCED
BY A 12-WEEK TRAINING**

promoter:

dr hab. Agata Leońska-Duniec, prof. AWFIS

auxiliary promoter:

dr Ewelina Maculewicz

Gdansk 2022

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	5
1.1 Znaczenie aktywności fizycznej w utrzymaniu zdrowia.....	5
1.2 Interleukiny - charakterystyka ogólna	8
1.2.1 Interleukina-6.....	9
1.2.1.1 Budowa, receptor, rola fizjologiczna IL-6	9
1.2.1.2 Gen kodujący IL-6	12
1.2.1.3 Polimorfizm -174 G>C (rs1800795).....	13
1.2.1.4 Polimorfizm -572 G>C (rs1800796).....	14
1.2.1.5 Polimorfizm -597 A>G (rs1800797).....	15
1.2.2 Interleukina-1 α	16
1.2.2.1 Budowa, receptor, rola fizjologiczna IL-1 α	16
1.2.2.2 Gen kodujący IL-1 α	18
1.2.2.3 Polimorfizm -889 C>T (rs1800587)	18
2. CELE, PYTANIA I HIPOTEZY BADAWCZE	21
2.1 Cele badań	21
2.2 Pytania badawcze	22
2.3 Hipotezy badawcze.....	23
3. MATERIAŁY I METODY	24
3.1 Grupa badana.....	24
3.2 Metody badawcze	25
3.2.1 Aplikacja programu treningowego	25
3.2.2 Analiza masy oraz składu ciała.....	27
3.2.3 Pomiar wskaźników biochemicznych.....	28
3.2.4 Analizy genetyczne.....	30
3.2.4.1 Pobór materiału biologicznego	30
3.2.4.2 Izolacja DNA	30
3.2.4.3 Genotypowanie metodą real-time PCR.....	34
3.2.5 Analiza statystyczna	40
4. WYNIKI BADAŃ	41

4.1. Wyniki pomiarów antropometrycznych	41
4.2. Wyniki pomiarów biochemicznych.....	48
4.3 Wyniki genotypowania.....	53
4.4 Wyniki analizy statystycznej	60
4.4.1 Analiza pojedynczych polimorfizmów	60
4.4.2 Analiza haplotypów <i>IL6</i> (rs1800795, 1800796, 1800797)	69
4.4.3 Analiza interakcji międzygenowych.....	73
5. DYSKUSJA	76
5.1 Wpływ treningu na wartości wybranych parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych.....	78
5.2 Wpływ obserwowanych genotypów na odpowiedź potreningową	82
5.2.1 Korelacja między efektami potreningowymi a genotypami <i>IL1A</i> rs1800587.....	84
5.2.2 Korelacja między efektami potreningowymi a genotypami <i>IL6</i> rs1800795	87
5.2.3 Korelacja między efektami potreningowymi a genotypami <i>IL6</i> rs1800797 oraz rs1800796.....	90
5.2.4 Analiza haplotypów <i>IL6</i> na obserwowaną odpowiedź potreningową.....	92
5.2.5 Analiza interakcji międzygenowych.....	93
5.3 Ograniczenia oraz zalety przeprowadzonego badania wraz z predykcją wykorzystania badań w praktyce.....	94
6. WNIOSKI	98
7. STRESZCZENIE.....	100
8. ABSTRACT.....	103
9. BIBLIOGRAFIA	106
10. INDEKS SKRÓTOWCÓW	116
11. SPIS WYKRESÓW	119
12. SPIS RYSUNKÓW	121
13. SPIS TABEL	122

1. WSTĘP

1.1 Znaczenie aktywności fizycznej w utrzymaniu zdrowia

Regularna aktywność fizyczna rozumiana jest jako ćwiczenie 4-6 razy w tygodniu przez okres 20-60 minut. Dla uproszczenia często podawana jest informacja o 30 minutach ćwiczeń codziennie. Światowa Organizacja Zdrowia (ang. World Health Organization, WHO) rekomenduje dla osób dorosłych minimum 150 minut wysiłku aerobowego o średniej intensywności lub minimum 75 minut wysiłku aerobowego o wysokiej intensywności w cyklu tygodniowym (WHO 2010).

Effekt zdrowotny zależy nie tylko od częstości i długości trwania aktywności fizycznej, ale także rodzaju czy intensywności ćwiczeń. Treningi wytrzymałościowe oraz aerobowe polecane są dla osób chcących utrzymać funkcjonowanie organizmu w zdrowiu. Wysiłek fizyczny, podejmowany zgodnie ze stanem czynnościowym organizmu wpływa pozytywnie na właściwie wszystkie układy i narządy ciała człowieka, lecz największy efekt obserwuje się w kontekście układu krążenia i ruchu (Drygas i Jegier 2003; Jegier i wsp. 2013). Udowodniono, że długotrwałe i systematyczne ćwiczenia fizyczne obniżają ryzyko wystąpienia chorób cywilizacyjnych tj. cukrzycy typu II, nadciśnienia tętniczego, otyłości, osteoporozy, depresji i nowotworów (np. jelita grubego, piersi, gruczołu krokowego) (Sobieszkańska i wsp. 2009).

Wykazano, że systematycznie podejmowana aktywność fizyczna zmniejsza ryzyko chorób układu sercowo-naczyniowego oraz odsetek zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych, bowiem przyczynia się do zmian adaptacyjnych występujących w układzie krążenia nie tylko w trakcie jego trwania, ale także w spoczynku. Liczne badania wykazały zmniejszenie ryzyka rozwoju choroby wieńcowej o 30-50% przy zachowaniu wydatku energetycznego na poziomie 700-2000 kcal na tydzień (Sobieszkańska i wsp. 2009, Winzer i wsp. 2018). Korzystny wpływ aktywności fizycznej przejawia się w bezpośrednich zmianach adaptacyjnych w obrębie układu krążenia, tj. w funkcjonowaniu śródbłonna naczyń, jak również w autonomicznym układzie nerwowym (Joyner i Green 2009), a także pośrednich, poprzez oddziaływanie na inne układy i procesy metaboliczne (Drygas i wsp. 2000). Obserwuje się m.in. modyfikację profilu lipidowego krwi - obniżenie frakcji lipoprotein niskiej gęstości (ang. low density lipoprotein, LDL), wzrost lipoprotein wysokiej gęstości (ang. high density lipoprotein, HDL) oraz obniżenie poziomu triglicerydów (ang. triglycerides, TG),

utrzymanie prawidłowego stężenia glukozy we krwi oraz redukcję tkanki tłuszczowej i obniżenie masy ciała. Każda z tych zmian jest niezwykle cenna w kontekście prewencji i leczenia wielu chorób przewlekłych, takich jak nadciśnienie tętnicze, choroba niedokrwienna serca czy choroby metaboliczne (Sobieszczańska i wsp. 2009). Jednym z kluczowych dowodów na rolę aktywności fizycznej w utrzymaniu prawidłowego funkcjonowania organizmu był program edukacyjny w zakresie zapobiegania chorobom układu krążenia w mieście Pawtucket w stanie Rhode Island (ang. The Pawtucket Heart Health Program). Program ten objął grupę dziewięciuset mężczyzn i kobiet. Badanie to wykazało korzystny wpływ regularnej aktywności fizycznej na obniżenie ciśnienia tętniczego, a także modyfikację wskaźnika masy ciała (ang. body mass index, BMI) oraz stężenia HDL (Eaton i wsp. 1999; Kraus i wsp. 2002).

Poprawa bilansu energetycznego osoby ćwiczącej wiąże się nie tylko z obniżeniem masy ciała, ale również może przyczynić się do prewencji insulinooporności oraz poprawy gospodarki węglowodanowej organizmu. Zmniejszenie komórek tkanki tłuszczowej z równoczesnym wzrostem aktywności lipazy lipoproteinowej skutkuje redukcją masy tkanki tłuszczowej (Sobieszczańska i wsp. 2009). Konsekwentnie, niewystarczający poziom wysiłku fizycznego jest jedną z przyczyn otyłości, definiowanej przez WHO jako nieprawidłowe oraz nadmierne nagromadzenie tkanki tłuszczowej, mogące stanowić zagrożenie dla zdrowia człowieka (WHO 2010). Jednym ze wskaźników umożliwiających określenie prawidłowości masy ciała jest BMI, który umożliwia klasyfikację trzech stopni otyłości: I° przy BMI ≥ 30 i < 35 ; II° przy BMI ≥ 35 i < 40 ; III° przy BMI ≥ 40 i < 50 (CDC 2020).

W oparciu o ostatnie doniesienia naukowe otyłość można postrzegać nie tylko jako problem estetyczny, lecz jako schorzenie związane z ogólnoustrojowym stanem zapalnym o charakterze przewlekłym, w którym dochodzi do aktywacji szlaków prozapalnych (Shoelson i wsp. 2006). Mechanizm, w którym otyłość, spowodowana w głównej mierze wysokokaloryczną dietą oraz małą aktywnością fizyczną, przyczynia się do wystąpienia oporności tkanek na działanie insuliny, jest niezwykle skomplikowany i nie do końca poznany. Odkrycia ostatnich lat skłaniają jednak do postrzegania tkanki tłuszczowej jako aktywnego narządu wydzielania wewnętrznego o charakterze endo- i parakrynnym (Kershaw i Flier 2004b). U pacjentów otyłych obserwuje się podwyższone stężenia interleukiny-6 (ang. interleukin-6, IL-6) oraz interleukiny-1 (ang. interleukin-1, IL-1) (Kern i wsp. 2001; Cottam i wsp. 2004).

Regularna aktywność fizyczna prowadzi także do zmian w obrębie układu kostnego oraz mięśni szkieletowych. Ćwiczenia fizyczne przyczyniają się do poprawy unaczynienia mięśni szkieletowych oraz stawów. Pobudzona czynność kałek maziowych zapewnia lepsze odżywienie stawów, co wpływa na zwiększenie zakresu ruchów oraz spowolnienie procesów zwyrodnieniowych. Trening fizyczny poprawia koordynację nerwowo-mięśniową, co przekłada się na zwiększenie precyzji i szybkości ruchów. Ćwiczenia fizyczne wykonywane regularnie zwiększają siłę mięśniową, także w obrębie mięśni odpowiedzialnych za prawidłową postawę ciała, co bezpośrednio zapobiega bólom kręgosłupa. Regularne podejmowanie wysiłku fizycznego jest także kluczowe w zapobieganiu bądź spowalnianiu procesów osteoporotycznych, co wykazano w badaniu przeprowadzonym z udziałem 67 kobiet w wieku 48-61 lat. W grupie badanej, podejmującej wysiłek fizyczny, stwierdzono lepszą gęstość mineralną tkanki kostnej w stosunku do grupy kontrolnej, którą stanowiły osoby o niskiej aktywności fizycznej (Kopiczko 2012).

Podejmowanie umiarkowanej aktywności fizycznej dostosowanej do kondycji osobistej wpływa korzystnie również na układ odpornościowy. Istotnym jest jednak by był to trening wytrzymałościowy o umiarkowanej intensywności, bowiem przeciążenie organizmu ma działanie przeciwstawne i prowadzi do osłabienia mechanizmów odpornościowych. W trakcie zrównoważonego treningu dochodzi również do rozładowania nadmiernych obciążeń psychoemocjonalnych, będących następstwem stresu. Regularny wysiłek fizyczny łagodzi stany depresyjne i zmniejsza poziom lęku, a także ułatwia zasypianie i poprawia jakość snu, o ile nie jest przeprowadzany w porze wieczornej (Jeger i wsp. 2013).

W obrębie wyżej opisanych zmian adaptacyjnych zachodzących w odpowiedzi na zastosowany trening fizyczny obserwowane są znaczące różnice międzypersonne. Mogą one wynikać z czynników związanych z samą aktywnością fizyczną tj. jej intensywnością, czasem trwania, częstotliwością sesji, typem czy charakterem. Odpowiedź potreningowa zależy także od cech osobniczych: wieku, płci, występowania chorób współistniejących, a także środowiskowych: stosowanej diety, przyjmowanych leków czy suplementów diety. Mając powyższe czynniki na uwadze, predykcja odpowiedzi potreningowej stanowi poważne wyzwanie. Zaobserwowano, iż mimo podejmowanej próby maksymalnego ujednolicenia grupy badanej poprzez wyeliminowanie czynników mogących wpływać na odpowiedź potreningową, różnice międzypersonne występowały nadal i nierzadko były znaczące. Taka obserwacja może

sugerować istnienie pewnych zmiennych genetycznych, będących przyczyną różnic w zmianach zachodzących pod wpływem wysiłku fizycznego w organizmie danej osoby (Jeger i wsp. 2013).

1.2 Interleukiny – charakterystyka ogólna

Interleukiny zaliczane są do grupy cytokin, a więc białek sygnałowych wydzielanych przez leukocyty. Ich cechą charakterystyczną jest pleiotropia, czyli zdolność oddziaływania jednej cząsteczki na wiele różnych komórek, a co za tym idzie wywoływanie różnych efektów fizjologicznych. Interleukiny określane są także jako czynniki immunomodulujące i prozapalne, które oddziałują na różne populacje limfocytów. Interleukiny ponumerowane są od 1 do 33, ale niektóre z nich występują w licznych odmianach tworząc rodziny. Co ciekawe jedna interleukina może indukować syntezę innej. Przykładem wzajemnego oddziaływania między poszczególnymi cząsteczkami jest zależność między IL-1 a IL-6. Obie są wytwarzane przede wszystkim w monocytach i makrofagach, będąc kluczowymi cząsteczkami procesów zapalnych. Jednak głównym czynnikiem indukującym wytwarzanie IL-6 jest wzrost stężenia IL-1 (Gołąb i wsp. 2017). Stąd jeśli nadwagę oraz otyłość postrzegać w kategorii toczącego się procesu zapalnego, to można w tych stanach oczekiwać zwiększonych stężeń IL-1 oraz IL-6. Tezę tą potwierdził Kern i wsp. (2001), przeprowadzając badanie obejmujące 50 uczestników. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że IL-6 wykazuje najsilniejszą korelację z otyłością i insulinoopornością, bowiem poziomy krążącej we krwi IL-6 były znacząco wyższe u osób otyłych, a co więcej, zaobserwowano istotną statystycznie odwrotną zależność między poziomem IL-6 a opornością na insulinę ($r=-0,75$, $p<0,001$) (Kern i wsp. 2001).

Przedmiotem nielicznych badań naukowych jest wpływ aktywności fizycznej na poziom interleukin w organizmie człowieka. Badanie Ostrowskiego i wsp. (2000), przeprowadzone wśród 53 uczestników maratonów w Kopenhadze (w 1996, 1997 oraz 1998 roku) wykazało zależność między intensywnością biegu a poziomem IL-6 oraz antagonisty receptora IL-1 (ang. IL-1 receptor antagonist, IL-1ra) w osoczu. Gwałtowny wzrost stężenia IL-6 obserwowano niemalże natychmiast po zakończeniu maratonu, natomiast wzrost stężenia IL-1ra notowano dopiero po około 1,5 godziny. Co więcej zaobserwowano pozytywną korelację między wzrostem stężenia IL-6 oraz IL-1ra (Ostrowski i wsp. 2000).

Aktywność fizyczna prowadząca do spadku masy ciała oraz wskaźnika BMI ma bezpośrednie przełożenie na poziom IL-6. W badaniu Gallistl i wsp. (2001), którego uczestnikami byli otyli nastolatki i dzieci objęci 3-tygodniowym planem redukcji masy ciała, odnotowali pozytywną korelację między spadkiem masy ciała oraz BMI a poziomem IL-6 w surowicy (Gallistl i wsp. 2001).

Działanie interleukin jest niezwykle szerokie. Niektóre z przykładów działania interleukin to (Gołąb i wsp. 2017):

- wpływ na wytwarzanie przeciwciał przez limfocyty B,
- powstawanie i chemotaksja neutrofilów oraz monocytów,
- wydzielanie czynnika aktywującego płytki,
- wydzielanie prostaglandyn,
- wydzielanie tlenku azotu II,
- wzrost proliferacji limfocytów T,
- indukcja procesów krwiotwórczych,
- uczestnictwo zarówno w procesach kościotworzenia jak i resorpcji kostnej,
- podwyższenie temperatury ciała,
- senność,
- brak apetytu.

Kluczowymi cytokinami stanu zapalnego są IL-1 oraz IL-6. Mając na uwadze ich rolę fizjologiczną oraz obserwowane doniesienia dotyczące wpływu wysiłku fizycznego na ich stężenia, wybrano polimorfizmy genów kodujących te dwie cząsteczki do dalszej analizy w niniejszej pracy badawczej.

1.2.1 Interleukina-6

1.2.1.1 Budowa, receptor, rola fizjologiczna IL-6

IL-6 jest zbudowana z pojedynczego łańcucha polipeptydowego składającego się z 185 aminokwasów. Jej struktura przestrzenna to wiązka czterech α -helis (Somers i wsp. 1997). W organizmie człowieka jest obecna w postaci glikozylowanej o masie od 22 do 27 kDa (Kamimura i wsp. 2003).

Receptor IL-6 (IL-6R) składa się z dwóch glikoprotein błonowych: IL-6R o strukturze przestrzennej α -helisy, która jest specyficzną podjednostką receptora oraz

gp130 o strukturze przestrzennej β -helisy, służąca jako zwykły przekaźnik sygnału dla wielu cytokin m.in. IL-6 i interleukiny-11 (ang. interleukin-11, IL-11) (Somers i wsp. 1997).

Za sprawą IL-6 aktywowane są dwa główne szlaki sygnałowe. Pierwszy z nich to ścieżka kinazy Janus (ang. Janus-activated kinases, JAK)/przekaźnika sygnału i aktywatora transkrypcji (ang. signal transducer and activator of transcription, STAT), w skrócie określana jako JAK/STAT. Drugi z nich to kaskada kinaz aktywowanych miogenami (ang. mitogen activated protein kinases, MAPK) (Heinrich i wsp. 2003). IL-6 wiążąc się z receptorem powoduje powstanie heterodimeru IL-6/IL-6R, który następnie łączy się z dwoma jednostkami gp130, które to posiadają specyficzny region wiążący dla JAK. Aktywacja kinaz JAK prowadzi do fosforylacji kilku regionów gp130, co pozwala na przyłączenie białek sygnałowych - fosfatazy tyrozynowej, posiadającej domenę SH-2 (ang. Src-homology-2), która w dalszej kolejności inicjuje kaskadę MAPK oraz STAT, aktywującą ścieżkę sygnałową JAK/STAT (Stahl i wsp. 1994; Yang i wsp. 2003;).

IL-6 jest cytokiną o działaniu plejotropowym. Bierze udział w procesach zapalnych, jak i niezapalnych. Cechuje się zdolnością oddziaływania na komórki ciała, przez które jest także wydzielana jak np. adipocyty, miocyty, fibroblasty, komórki śródbłonna, keratynocyty, osteoblasty czy komórki β trzustki (Kamimura i wsp. 2003; Hoene i Weigert 2008). W wyniku infekcji, choroby autoimmunologicznej bądź urazu IL-6 jest produkowana w układzie nerwowym. Stanowi niejako połączenie układu nerwowego i immunologicznego, gdzie wpływa na różnicowanie limfocytów typu B, prowadząc do wzrostu produkcji immunoglobulin: IgM, IgA, IgG (Lotz 1995). U zdrowej osoby stężenie IL-6 we krwi obserwuje się na poziomie poniżej 1 pg/ml, jednak w ostrych stanach zapalnych np. sepsie, jej stężenie rośnie nawet 1000-krotnie (Hoene i Weigert 2008). Stany zapalne o słabszym natężeniu, do których zaliczyć można otyłość, również powodują wzrost stężenia IL-6, choć w bardziej umiarkowany sposób. W przypadku osób otyłych obserwowane są podwyższone poziomy krążącej we krwi IL-6, z czego około jedna trzecia pochodzi właśnie z tkanki tłuszczowej (Fernández-Real i Ricart 2003). Fakt ten potwierdzają badania Fain i wsp. (2004), w których wykazano, iż tkanka tłuszczowa wisceralna cechuje się 2-3 razy większą ekspresją i sekrecją IL-6 niż tkanka podskórna (Fain i wsp. 2004). Źródłem 10-35% całkowitego poziomu IL-6 krążącej w osoczu jest tkanka tłuszczowa, a poziom wydzielania jest różny w zależności od pory dnia - wyższy wieczorem zaś niższy w godzinach porannych (Mohamed-Ali i wsp. 1997). Ekspresja IL-6 jak i jej receptora odbywa się w tkance tłuszczowej zarówno w adipocytach, jak

i macierzy komórkowej (Wajchenberg 2000; Kershaw i Flier 2004a). Stężenie IL-6 koreluje dodatnio z otyłością, upośledzoną tolerancją glukozy oraz insulinoopornością, zaś spadek masy ciała skutkuje normalizacją jej poziomu w osoczu (Kern i wsp. 2001). Osłabienie wrażliwości na insulinę osiągane jest na drodze osłabienia sygnału insulinowego w tkankach obwodowych poprzez spadek ekspresji cząsteczek sygnalizacyjnych powiązanych z receptorem insulinowym m.in. białka supresorowego sygnalizacji cytokin (ang. Suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3) (Kalinowski i Mianowana 2016).

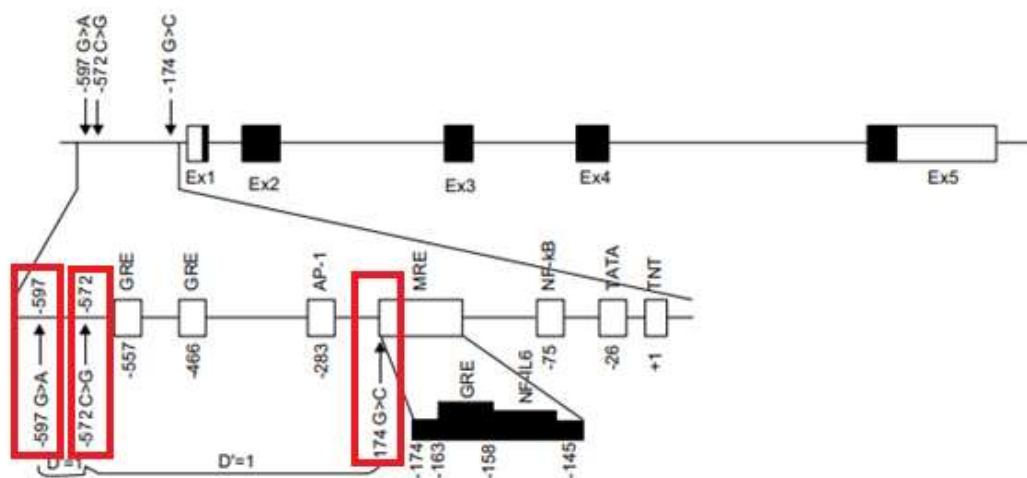
Stężenie IL-6 w osoczu wzrasta podczas wysiłku fizycznego nawet 100-krotnie w zależności od długości jego trwania, intensywności oraz masy zaangażowanej tkanki mięśniowej (Ruderman i wsp. 2006; Hoene i Weigert 2008). Najwyższe stężenie obserwowane jest w momencie przerwania aktywności i spada szybko po jej ustaniu. Należy zauważyć, że wzrost poziomu IL-6 nie jest związany z wydzielaniem czynnika martwicy nowotworów (ang. tumor necrosis factor, TNF- α), innych cytokin prozapalnych czy też monocytów, lecz wynika ze skurczu mięśni szkieletowych (Fischer 2006). Badanie Keller i wsp. (2001) wykazało wzrost ilości IL-6 mRNA w kurczących się mięśniach szkieletowych po 30 minutach ćwiczeń, natomiast na końcu ćwiczeń obserwowano nawet 100-krotny wzrost zawartości IL-6 mRNA (Keller i wsp. 2001). W wyniku intensywnego i długotrwałego treningu mięśnie mogą się stać jednym z głównych źródeł IL-6 (Hoene i Weigert 2008). Za sprawą IL-6 zyskuje swą aktywność w mięśniach kurczących się kinaza aktywowana adenozy-5'-monofosforanem - AMP (ang. 5'AMP-activated protein kinase, AMPK), która w dalszej kolejności prowadzi do zmiany równowagi pomiędzy AMP oraz adenosynotrifosforanem (ang. adenosine triphosphate, ATP), stymulacji lipolizy w tkance tłuszczowej oraz produkcji glukozy w wątrobie w celu zapewnienia substratów energetycznych dla ćwiczących mięśni (Ruderman i wsp. 2006).

IL-6 wykazuje również działanie ośrodkowe, wpływając na regulację wydatków energetycznych oraz metabolizm tkanki tłuszczowej. Eksperyment na myszach z niedoborem IL-6, w którym podano śródmożgowo pojedynczy zastrzyk IL-6, umożliwił obserwację nagłego wzrostu zużycia tlenu oraz produkcji dwutlenku węgla, przy czym takiego efektu nie osiągnięto przy podaniu dootrzewnowym. Myszy z niedoborem IL-6 charakteryzowały się występowaniem otyłości, zaburzeń metabolizmu węglowodanów, lipidów oraz podwyższonym poziomem leptyny. Przewlekłe podawanie śródmożgowo IL-6 powodowało obniżenie masy tkanki tłuszczowej oraz spożycia pokarmów

(Wallenius i wsp. 2002). Można zatem wysnuć przypuszczenie, że spadek apetytu po ćwiczeniach fizycznych jest spowodowany wzrostem poziomu IL-6 w mózgu.

1.2.1.2 Gen kodujący IL-6

Gen kodujący IL-6, oznaczany jako *IL6*, jest zlokalizowany na chromosomie 7 w pozycji 15. Składa się z 5 eksonów oraz 4 intronów (Campos i wsp. 2019). Promotor genu *IL6* zlokalizowany jest na końcu 5' i zawiera liczne elementy regulatorowe m.in. AP-1 (specyficzne sekwencje DNA, wiążące heterodimery c-jun oraz c-fos) oraz miejsce wiązania jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF-κB (ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), aktywowane przez cytokiny prozapalne TNF-α oraz IL-1, które powodują wzrost IL-6 (Faggioli i wsp. 2004). Dotychczas wykryto i zbadano kilka polimorfizmów w genie *IL6* w pozycjach -597, -572, -373 oraz -174, przy czym wszystkie z powyższych są zlokalizowane w odcinku promotorowym genu (Rysunek 1).



Rysunek 1. Schemat genu *IL6* wraz z wyróżnieniem odcinka promotorowego (GRE - miejsce wiązania receptora glikokortykoidowego, AP-1 - miejsce wiązania czynnika AP-1, MRE - element odpowiedzi na wiele czynników, NF-IL6 - miejsce wiązania czynnika NF-IL6, NF-κB - miejsce wiązania czynnika NF-κB) (Park i wsp. 2003; zmodyfikowano).

W niniejszej pracy, do części eksperymentalnej wytypowano polimorfizmy genu kodującego IL-6 w pozycjach -597, -572 oraz -174, które na podstawie analizy piśmiennictwa wydają się być najbardziej istotne w kontekście różnicowania odpowiedzi

potreningowej w organizmie człowieka, a ich charakterystykę wraz z obserwowanymi efektami fenotypowymi przedstawiono poniżej.

1.2.1.3 Polimorfizm -174 G>C (rs1800795)

Polimorfizm -174 G>C (rs1800795), opisany w 1998 roku, wynika ze zmienności sekwencji DNA polegającej na zamianie pojedynczego nukleotydu (ang. single nucleotide polymorphism, SNP): guaniny (allel G) na cytozynę (allel C) w pozycji 174 odcinka promotorowego genu kodującego IL-6, co wpływa na transkrypcję tegoż genu, a co za tym idzie na poziom IL-6 występujący w osoczu. Allel G odpowiada za wyższe stężenia IL-6, zaś działanie przeciwne przypisywane jest allelowi C (Fishman i wsp. 1998).

Obecnie prowadzone badania polimorfizmu -174 G>C dotyczą przede wszystkim takich jednostek chorobowych jak: choroby serca, cukrzyca typu II, otyłość, nowotwory przewodu pokarmowego i prostaty czy nadciśnienie. Badanie Goyenechea i wsp. (2007) wykonane na 106 pacjentach pochodzenia kaukaskiego o BMI powyżej 30 kg/m² wykazało, że nosiciele allelu C wykazują wyższe stężenia insuliny w osoczu oraz wyższe ciśnienia krwi niż homozygoty GG (Goyenechea i wsp. 2007). Badanie Wernstedt i wsp. (2004) prowadzone wśród osób ze zdiagnozowanym nadciśnieniem oraz zdrowych około 20-letnich kobiet o prawidłowej masie ciała również potwierdziło dla obu tych grup związek istotny statystycznie między nosicielstwem allelu C z wyższym BMI oraz wyższym stężeniem leptyny w osoczu (Wernstedt i wsp. 2004).

Badania polimorfizmu -174 G>C prowadzone są również u osób z nowotworami piersi, jajników, przewodu pokarmowego czy prostaty. Eksperyment Tan i wsp. (2005) wykazał, iż nosicielstwo genotypów CC oraz GC zwiększa ryzyko wystąpienia zaawansowanego raka prostaty, bowiem ich występowanie było znacznie częściej obserwowane u pacjentów w stadium T3 i T4 niż u osób z nowotworem w stadium T1 i T2 (Tan i wsp. 2005). Badanie Settin i wsp. (2008) przeprowadzone w grupie 69 dzieci z astmą oraz 98 osób zdrowych z Egiptu wykazało znacząco wyższą częstość występowania genotypu GG wśród osób z niekontrolowaną astmą (Settin i wsp. 2008).

Rozkład poszczególnych genotypów w obrębie polimorfizmu -174 G>C był przedmiotem badania Elsaïd i wsp. (2014), w którym uczestniczyła grupa 108 pacjentów z chorobą wieńcową oraz 147 osób zdrowych. Zaobserwowano częstsze występowanie genotypu GC (52,88%) wśród osób z chorobą wieńcową niż w grupie kontrolnej

(47,12%), zaś osoby o genotypie GG zupełnie w niej nie występowały (Elsaid i wsp. 2014). Obserwacje te nie zostały potwierdzone przez Mastana i wsp. (2017), którzy to nie zaobserwowali związku istotnego statystycznie między polimorfizmami -597 A>G oraz -174 G>C a występowaniem choroby wieńcowej wśród badanych 143 osób z chorobą wieńcową serca (Mastana i wsp. 2017).

1.2.1.4 Polimorfizm -572 G>C (rs1800796)

Polimorfizm -572 G>C (rs1800796), to zamiana pojedynczego nukleotydu: guaniny (allel G) na cytozynę (allel C) w pozycji 572 promotora genu kodującego IL-6. Występowanie tego polimorfizmu wpływa na poziom IL-6 w osoczu (Kämäräinen i wsp. 2008). Obecnie prowadzone są badania tego polimorfizmu w kierunku takich schorzeń jak choroba Alzheimera, zapalenia kości i stawów, nowotworów np. układu pokarmowego, cukrzycy typu II czy ostrego zapalenia naczyń i naczyń ruchowego u ciężarnych.

Badanie polimorfizmu -572 G>C przeprowadzone przez Kämäräinena i wsp. (2008) na grupie 535 kobiet w wieku 45-63 lat wykazało, że obecność allelu G w pozycji 572 obserwowano częściej wśród chorych na dystalne międzypaliczkowe zapalenie kości i stawów, niż u kobiet nieobciążonych tą chorobą. Dodatkowo, występowanie allelu G w pozycji 527 lub 174 znacznie podnosi ryzyko wystąpienia tej choroby (Kämäräinen i wsp. 2008).

Wartość predykcyjną badania polimorfizmu -572 G>C oraz -174 G>C wykazano również w badaniu Qi i wsp. (2012) wykazując, iż genotyp CC dla polimorfizmu *IL6* -174 G>C oraz genotyp GG w przypadku polimorfizmu *IL6* -572 G>C może zmniejszać ryzyko wystąpienia choroby Alzheimera (Qi i wsp. 2012).

Pozytywny związek między występowaniem allelu C w pozycji 572 promotora genu *IL6* a występowaniem przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (ang. chronic obstructive pulmonary disease, COPD) wykazali Cordoba-Lanus i wsp. (2008) w badaniu przeprowadzonym w grupie 191 pacjentów chorych na COPD, 75 palaczy oraz 296 osób zdrowych niepalących. Zaobserwowano istotnie rzadsze występowanie allelu C w pozycji 572 u osób z COPD, w porównaniu z grupą kontrolną (Córdoba-Lanús i wsp. 2008).

1.2.1.5 Polimorfizm -597 A>G (rs1800797)

Polimorfizm -597 A>G (rs1800797), to zamiana pojedynczego nukleotydu: alaniny (allel A) na guaninę (allel G) w pozycji 597 promotora genu kodującego IL-6. Częstotliwość występowania tego polimorfizmu oraz jego wartości predykcyjnej w poszczególnych schorzeniach jest przedmiotem badań prowadzonych na całym świecie (Córdoba-Lanús i wsp. 2008). Obecnie prowadzone są badania tego polimorfizmu jako czynnika predykcyjnego przewlekłej obturacyjnej choroby płuc, cukrzycy typu II, choroby wieńcowej serca czy raka piersi.

Próby badania licznych polimorfizmów genu *IL6* podejmowane są w różnych jednostkach chorobowych. Córdoba-Lanus i wsp. (2008) nie wykazali związku między polimorfizmem -597 A>G oraz -174 G>C a występowaniem COPD (Córdoba-Lanús i wsp. 2008). Polimorfizmy te nie wykazały również znaczącego statystycznie związku z występowaniem choroby wieńcowej (ang. coronary artery disease, CAD) (Mastana i wsp. 2017).

Badanie Eskola i wsp. (2010) wykazało związek między haplotypem GCG promotora genu *IL6* (rs1800797, rs1800796, rs1800795) a występowaniem zmian degeneracyjnych dysków w obrębie kręgosłupa lędźwiowego u dziewcząt. W badaniu wzięło udział 353 dzieci z Danii w wieku 12-14 lat, spośród których u 30 chłopców oraz 36 dziewcząt stwierdzono w badaniu rezonansu magnetycznego (ang. magnetic resonance images, MRI) zmiany degeneracyjne dysków odcinka lędźwiowego (Eskola i wsp. 2010).

Badanie polimorfizmu -597 A>G wykonane przez Lajunen i wsp. (2016) wśród populacji 467 dorosłych chorujących na astmę oraz 613 osób zdrowych wykazało, związek między obecnością allelu G a występowaniem astmy zapoczątkowanej w dorosłości, szczególnie w połączeniu z atopią (Lajunen i wsp. 2016).

W obecnie dostępnej literaturze związek parametrów antropometrycznych z polimorfizmem -597 A>G jest rozpatrywany tylko w niektórych badaniach konkretnych jednostek chorobowych. W badaniu przeprowadzonym przez Slattery i wsp. (2008) nie stwierdzono związku występowania polimorfizmu -597 A>G z BMI badanych kobiet chorujących na raka piersi, bez względu na ich pochodzenie. Podobnie, badanie przeprowadzone przez Boeta-Lopez i wsp. (2018) nie wykazało związku pomiędzy występowaniem powyższego polimorfizmu a BMI oraz stosunkiem obwodu talii do obwodu bioder (ang. Waist-Hip Ratio, WHR), jak również nie odnotowano istotnego

wpływu tego SNP na markery zespołu metabolicznego oraz cukrzycy (Boeta-Lopez i wsp. 2018).

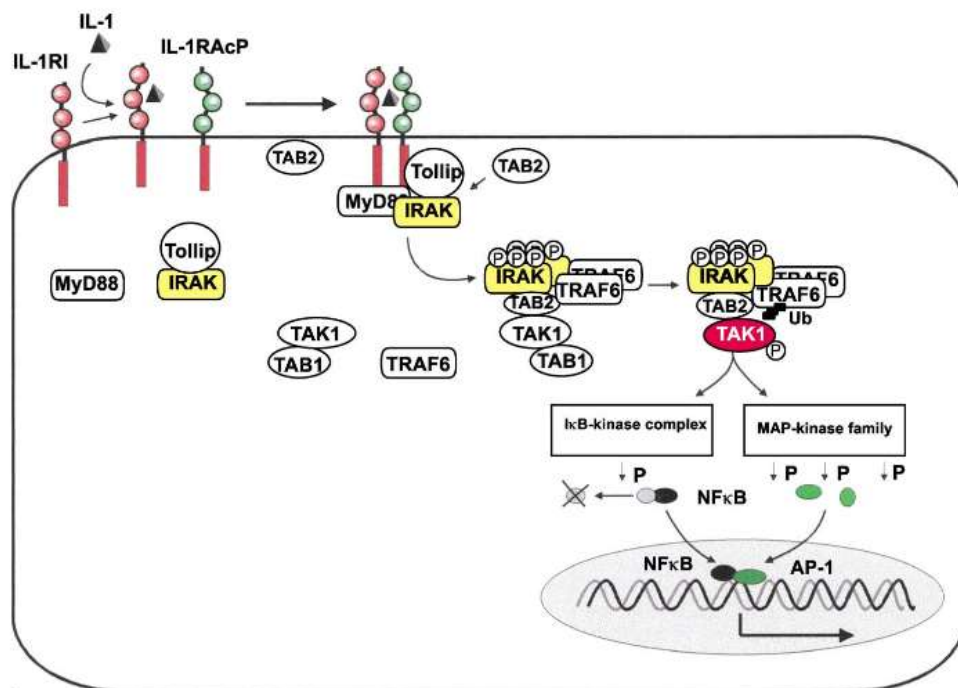
1.2.2 Interleukina-1 α

1.2.2.1 Budowa, receptor, rola fizjologiczna IL-1 α

Interleukina-1 alfa (ang. Interleukin 1 α , IL-1 α) należy wraz z 10 innymi cytokinami do rodziny IL-1. Obok IL-1 α do tej grupy czynników zalicza się także m.in. interleukinę-1beta (ang. Interleukin 1 β , IL-1 β), receptor IL-1 typ I (ang. interleukin-1 receptor, IL-1RI), receptor IL-1 typ II (ang. interleukin-2 receptor, IL-1RII), antagonistę receptora (ang. receptor antagonist, IL-1ra) oraz interleukinę 18 (ang. interleukin 18, IL-18). Z kolei Burger i wsp. (2006) w oparciu o wysoce konserwatywną strukturę genów kodujących i homologię sekwencji aminokwasowych, do rodziny IL-1 zaliczają, oprócz wymienionych wyżej interleukin dodatkowo interleukinę-1F5 (ang. interleukin-1F5, IL-1F5), interleukinę-1F6 (ang. interleukin-1F6, IL-1F6), interleukinę-1F7 (ang. interleukin-1F7, IL-1F7), interleukinę-1F8 (ang. interleukin-1F8, IL-1F8), interleukinę-1F9 (ang. interleukin-1F9, IL-1F9), interleukinę-1F10 (ang. interleukin 1F10, IL-1F10) oraz interleukinę-33 (ang. interleukin-33, IL-33) (Burger i wsp. 2006). IL-1 α jest jednym z czynników stanu zapalnego. Jest wydzielana w głównej mierze przez monocyty i makrofagi. IL-1 α jest syntetyzowana na podstawie genu *IL1A*. W ten sposób powstaje białko prekursorowe o masie 31 kDa, które dzięki działaniu proteazy kapaliny staje się formą dojrzałą o masie 17 kDa. Zarówno forma prekursorowa, jak i dojrzała, wykazują aktywne działanie na komórki. W odróżnieniu od IL-1 β , IL-1 α pozostaje w przeważającej części w cytoplazmie. Tylko niewielka ilość białka, ulega modyfikacji potranslacyjnej w postaci dodania reszty kwasu mirystynowego do reszty lizynowej, która umożliwia transport na powierzchnię komórki (Rozwadowska i wsp. 2005). Postać błonowa IL-1 α wykazuje działanie na komórki znajdujące się bezpośrednio w sąsiedztwie (Czerwiec i wsp. 2016). IL-1 α jest obecna w wielu komórkach np. w komórkach nabłonkowych płuc, naczyń czy keratynocytach (Dinarello i van der Meer DATA). W warunkach fizjologicznych stężenia IL- α są niskie, natomiast indukcja zarówno transkrypcji jak i translacji genu *IL1A* powoduje gwałtowny wzrost stężeń, co prowadzi do wystąpienia gorączki, wysypki bądź zapalenia stawów. Zwiększone stężenie tej cytokiny obserwuje się podczas ostrych stanów chorobowych, w których dochodzi do

masowej śmierci komórek (Sims i Smith 2010).

Receptory rodziny IL-1 charakteryzują się wspólną domeną Toll-IL-1 (ang. Toll-IL-receptor domain, TIR). Zidentyfikowano dwa geny kodujące białka receptorowe IL-1: *IL1RI* (75 kpz) oraz *IL1RII* (38 kpz). Zarówno w wariantcie I jaki i II receptora IL-1 można wyróżnić trzy odcinki. Należą do nich: odcinek zewnątrzkomórkowy (wiązący IL-1), domena przezbłonowa oraz wewnątrzkomórkowa (umożliwiająca przekazywanie sygnału). IL-1RII posiada bardzo krótki odcinek cytozolowy w obrębie wewnątrzkomórkowym, co uniemożliwia mu przekazywanie sygnału. Przypuszcza się, że IL-1RII pełni rolę negatywnego regulatora aktywności IL-1. Związanie IL-1 α z receptorem IL-1RI powoduje zmianę konformacji całego kompleksu oraz przyłączenie cząsteczki związanej z receptorem (ang. interleukin-1 receptor accessory protein, IL-1RAcP). Prowadzi to do fosforylacji i aktywacji szeregu kinaz, a ta ostatecznie do aktywacji czynnika jądrowego kappa B. Czynniki NF κ B transportowany jest do jądra komórkowego, gdzie indukuje ekspresję określonych genów, przyczyniając się do bardzo zróżnicowanych efektów biologicznych (Roerink i wsp. 2017; Rozwadowska i wsp. 2005; Martin i Wesche 2002). Szlak sygnałowy przedstawiono szczegółowo na Rysunku 2.



Rysunek 2. Szlak sygnałowy IL-1 (Martin i Wesche 2002).

IL-1 α jest cytokiną o działaniu pleiotropowym, której główną rolą jest transmisja limfocytów T oraz B oraz inicjowanie odpowiedzi immunologicznej organizmu. IL-1 α ,

wraz z IL-1 β i IL-6, uznawana jest za cytokinę prozapalną, która powoduje naciek leukocytów, syntezę prostaglandyn, obrzęk stawów oraz uszkodzenie tkanki. Powoduje gorączkę, senność, brak apetytu, uwolnienie hormonów przysadki mózgowej, wzrost syntezy kolagenazy, destrukcję chrząstki oraz obniżenie progu bólowego (Estrov i wsp. 1995). Zwiększona produkcja IL-1 α przez keratynocyty wykazuje zarówno działanie auto- jak i parakryne. Zarówno IL-1 α oraz IL-1 β są kluczowymi czynnikami odpowiedzialnymi za wystąpienie reakcji nadwrażliwości kontaktowej skórnej, wywołanej kontaktem z alergenem. Podwyższone stężenie IL-1 α obserwowane jest u pacjentów ze zmianami łuszczycowymi na skórze czy cierpiących na chorobę Crohn'a (Sims i Smith 2010). IL-1 α odgrywa kluczową rolę w indukcji szoku septycznego, powodując wzrost stężenia czynnika aktywującego płytki krwi (ang. platelet activating factor, PAF), prostaglandyn oraz tlenku azotu (Estrov i wsp. 1995). IL-1 α jest uznawana także za jeden z czynników katabolicznych mięśni szkieletowych, co zostało wykazane w badaniach na szczurach (Ling i wsp. 1996). W dostępnym piśmiennictwie istnieje niezwykle mało doniesień co do stężeń IL-1 α w odpowiedzi na aktywność fizyczną.

1.2.2.2 Gen kodujący IL-1 α

Gen *IL1A* znajduje się na długim ramieniu chromosomu 2 (2q14.1). Posiada dwa odcinki promotorowe: bliższy -200 pz oraz dalszy -4,2 kpz. Regiony regulatorowe znajdują się nawet kilka tysięcy pz powyżej miejsca inicjacji transkrypcji (Rozwadowska i wsp. 2005). Czynniki mogącymi indukować transkrypcje genu *IL1A* są np.: endotoksyny bakteryjne, czynnik martwicy nowotworów TNF- α , promieniowanie UV. Wykazano natomiast, że glikokortykosteroidy powodują osłabienie transkrypcji genu *IL1A* oraz *IL1B* (Estrov i wsp. 1995).

1.2.2.3 Polimorfizm -889 C>T (rs1800587)

Polimorfizm -889 C>T (rs1800587) polega na zamianie pojedynczego nukleotydu: cytozyny (allel C) na tyminę (allel T) w pozycji 889 regionu promotorowego 5' (Um i wsp. 2011). Badanie Dominici i wsp. (2002) wykazało, że homozygoty TT wykazują wyższą aktywność promotora genu *IL1A*, a także wyższe stężenia IL-1 α niż homozygoty CC. (Dominici i wsp. 2002).

Na przestrzeni lat badano potencjalny wpływ polimorfizmu -889 C>T na różne

jednostki chorobowe: chorobę Alzheimera, zwyrodnienia stawów, otyłość czy występowanie zespołu metabolicznego (Carter i wsp. 2008; Eskola i wsp. 2010; Um i wsp. 2011).

Podwyższone stężenia IL-1 α obserwowane podczas zwyrodnienia stawów stały się przyczynkiem do zbadania polimorfizmu -889 C>T genu *IL1A* u dzieci w wieku 12-14 lat chorujących na wczesne zwyrodnienie dysków kręgosłupa lędźwiowego. Badanie wykazało pozytywny związek między występowaniem zmian zwyrodnieniowych u dziewcząt o genotypie CT bądź TT w porównaniu do tych posiadających genotyp CC. Może to sugerować, że nosicielstwo allelu T predysponuje do wystąpienia wczesnych zmian degeneracyjnych kręgosłupa (Eskola i wsp. 2010).

Genetycznych podstaw otyłości rozumianej jako przewlekły stan zapalny dopatrywało się wielu badaczy na całym świecie. Jednym z badanych w tym kierunku SNPs był polimorfizm -889 C>T. Poszukiwano związku pomiędzy tym SNP a występowaniem otyłości brzusznej oraz zespołu metabolicznego wśród chorych na chorobę niedokrwienną serca (ang. coronary heart disease, CHD). Carter i wsp. (2008) przeprowadzili badanie występowania polimorfizmu genu *IL1A* (-889 C>T) oraz genu *IL1B* (+3954 C>T) wśród 556 uczestników badania z CHD. Wykazano, iż homozygoty TT (-889 C>T) mają o 1,8 cm większy obwód talii ($p=0,04$) zaś nosiciele genotypu TT (+3954 C>T) aż o 4 cm ($p=0,0004$). Nie wykazano związku między wartością BMI a polimorfizmem -889 C>T genu *IL1A*, natomiast zaobserwowano taką zależność dla polimorfizmu genu *IL1B* +3954 C>T. Pozwoliło to badaczom na wysunięcie wniosku, iż badane miejsca polimorficzne zlokalizowane w tych genach mogą być genetyczną podstawą występowania otyłości brzusznej. Zależności genetyczne są bardziej widoczne u osób z wyższym poziomem otyłości oraz podwyższonymi markerami zapalnymi (Carter i wsp. 2008).

Wpływ dwóch znanych polimorfizmów genu *IL1A* (-889 C>T oraz +4845 G>T) na występowanie otyłości zbadał Um i wsp. (2011). Analiza uzyskanych wyników wykazała związek obu polimorfizmów z BMI u otyłych kobiet. Częstość występowania genotypu CT bądź TT (-889 C>T) była znacząco niższa w grupie o BMI 27-29 kg/m² niż w grupie, gdzie BMI było poniżej 25 kg/m². Zaobserwowano także istotny statystycznie związek między oboma polimorfizmami genu *IL1A* a WHR. Częstość występowania jednego bądź dwóch kopii haplotypu TT (rs1800587, rs17561) była znacząco niższa u kobiet z WHR wyższym bądź równym 0,91 niż u kobiet o WHR niższym od 0,90. Dodatkowo wykazano istotnie statystyczną zależność między polimorfizmem -889 C>T

regionu regulatorowego genu *IL1A* a aktywnością transkrypcyjną, którą badano w preadipocytach linii 3T3-L1. Druga część tego badania odbywała się na otyłych myszach. Zaobserwowano, że myszy z nadmierną masą ciała wykazują wysokie poziomy IL-1 α . Co więcej, iniekcja IL-1 α powoduje u mysz znaczący wzrost TG 12 godzin po jej podaniu. Uzyskane wyniki pozwoliły badaczom na wyciągnięcie wniosku, że polimorfizm genu *IL1A* -889C>T ma związek z otyłością u ludzi, zaś IL-1 α może odgrywać kluczową rolę w rozwoju otyłości (Um i wsp. 2011).

Powyższe doniesienia naukowe, jak również znajomość fizjologicznej roli IL-1, w tym IL-1 α oraz IL-6 przyczyniło się do wybrania czterech polimorfizmów w obrębie genów kodujących IL-1 α (-889 C>T) oraz IL-6 (-597 A>G, -174 G>C i -572 G>C) do badania w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej. Warto podkreślić, że dotychczas nieliczne badania naukowe wymienionych polimorfizmów dotyczyły jedynie osób otyłych bądź w konkretnych jednostkach chorobowych. Wykonany przegląd literaturowy nie wykazał badania opisującego zależność między wyżej wymienionymi polimorfizmami a odpowiedzią potreningową u osób zdrowych. Niniejsza dysertacja ma zatem charakter nowatorski i wpisuje się w najnowszy trend polegający na zastosowaniu nowoczesnych metod analitycznych w naukach o kulturze fizycznej.

2. CELE, PYTANIA I HIPOTEZY BADAWCZE

2.1 Cele badań

Najważniejszym celem poznawczym przeprowadzonych badań było określenie wpływu polimorfizmów wybranych markerów genetycznych na zmiany masy i składu ciała oraz wybranych wskaźników biochemicznych wywołane 12-tygodniowym programem treningowym. Przeprowadzony eksperyment miał pozwolić na ustalenie roli wariantów allelicznych oraz genotypów opisywanych w 4 miejscach polimorficznych (rs1800587, rs1800795, rs1800796 i rs1800797) zlokalizowanych w 2 genach (*IL1A* i *IL6*) w kształtowaniu potreningowej reakcji adaptacyjnej organizmu człowieka. Dodatkowym założeniem prezentowanych badań było ustalenie przydatności poszczególnych polimorfizmów typu SNP położonych w obrębie opisywanych genów, jako potencjalnych markerów genetycznych umożliwiających określenie predyspozycji do otyłości i rozwoju niekorzystnych właściwości metabolicznych związanych ze wzrostem masy ciała. Ostatnim celem była analiza częstości współwystępowania genotypów i frekwencji haplotypów wybranych polimorfizmów w badanej grupie kobiet oraz określenie ich wpływu na potreningowe zmiany adaptacyjne.

Otrzymane w toku badań dane genetyczne mogą służyć za dodatkowe źródło informacji o osobie podejmującej wysiłek fizyczny, określające na poziomie molekularnym jej wrodzoną charakterystykę metaboliczną. W przyszłości takie informacje będą mogły być potencjalnie wykorzystane do projektowania zindywidualizowanych form aktywności fizycznej oraz skuteczniejszej kontroli uzyskiwanych efektów potreningowych. Taka wiedza mogłaby być wykorzystana jako nowatorskie narzędzie profilaktyki prozdrowotnej, pomocnej przy ocenie ryzyka wystąpienia i zapobieganiu schorzeń takich jak otyłość, cukrzyca typu II czy choroby układu krwionośnego.

2.2 Pytania badawcze

Rozwiązanie wybranego problemu badawczego wymagało postawienia poniższych pytań:

1. Czy występowanie określonych alleli i genotypów opisywanych w wybranych punktach polimorficznych (rs1800587 zlokalizowany w genie *IL1A* oraz rs1800795, rs1800796 i rs1800797 zlokalizowane w genie *IL6*) ma wpływ na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu człowieka w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet realizujących 12-tygodniowy program treningowy?
2. Czy wybrane polimorfizmy (rs1800587 zlokalizowany w genie *IL1A* oraz rs1800795, rs1800796 i rs1800797 zlokalizowane w genie *IL6*) mogą być wykorzystane jako markery genetyczne umożliwiające określenie predyspozycji do otyłości i rozwoju niekorzystnych właściwości metabolicznych związanych ze wzrostem masy ciała?
3. Czy występowanie określonych haplotypów i interakcji międzygenowych ma wpływ na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu człowieka w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet realizujących 12-tygodniowy program treningowy?

2.3 Hipotezy badawcze

W odniesieniu do wyszczególnionych powyżej pytań sformułowano następujące hipotezy badawcze:

1. Obecność określonych alleli i genotypów opisywanych w wybranych punktach polimorficznych (rs1800587 zlokalizowany w genie *IL1A* oraz rs1800795, rs1800796 i rs1800797 zlokalizowane w genie *IL6*) ma wpływ na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu człowieka w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet realizujących 12-tygodniowy program treningowy.
2. Wybrane polimorfizmy (rs1800587 zlokalizowany w genie *IL1A* oraz rs1800795, rs1800796 i rs1800797 zlokalizowane w genie *IL6*) mogą być wykorzystane jako markery genetyczne umożliwiające określenie predyspozycji do otyłości i rozwoju niekorzystnych właściwości metabolicznych związanych ze wzrostem masy ciała.
3. Obecność określonych haplotypów i interakcji międzygenowych ma wpływ na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu człowieka w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet realizujących 12-tygodniowy program treningowy.

3. MATERIAŁY I METODY

Prezentowane badania uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Szczecinie (uchwała nr 09/KB/IV/2011 oraz 01/KB/VI/2017). Były one przeprowadzane zgodnie z wytycznymi deklaracji helsińskiej Światowego Stowarzyszenia Lekarzy (ang. World Medical Association, WMA), jak również ze standardami badań w naukach o kulturze fizycznej i sporcie, ze szczególnym uwzględnieniem zasad genetycznych badań asocjacyjnych określonych w zaleceniach STREGA (ang. Strengthening the Reporting of Genetic Association) (Little i wsp. 2009).

3.1 Grupa badana

W badaniu wzięło udział 201 kobiet pochodzenia kaukaskiego w wieku 21 ± 1 lat (zakres 19-24 lat). Kryteria włączenia do projektu były określone na podstawie ankiet wypełnianych przez kandydatki. Przy kwalifikacji osób do udziału w eksperymencie brano pod uwagę:

- wiek w zakresie 19-24 lata;
- brak regularnej aktywności fizycznej w przeciągu 6 miesięcy poprzedzających zaaplikowany program treningowy;
- negatywny wywiad w kierunku chorób metabolicznych oraz chorób układu sercowo-naczyniowego;
- nieprzyjmowanie żadnych leków, produktów leczniczych i suplementów diety na stałe minimum 6 miesięcy przed rozpoczęciem treningu;
- niepalenie papierosów;
- chęć podjęcia stałej zrównoważonej diety i regularnej aktywności fizycznej.

Osoby wybrane na podstawie wyżej wymienionych kryteriów otrzymały materiały informujące o celu, przebiegu, charakterze eksperymentu, stosowanych procedurach, jak również potencjalnym ryzyku i korzyściach związanych z planowanymi badaniami. Każda z uczestniczek miała również możliwość zadania pytań, a wszystkie wątpliwości były wyjaśnione przez osoby kwalifikujące do eksperymentu. Kobiety deklarujące chęć wzięcia udziału w badaniu podpisały deklarację świadomej i dobrowolnej zgody na uczestnictwo, zawierającą klauzulę anonimowości i poufności danych.

W celu zapewnienia porównywalnego żywienia badanych w okresie zaaplikowanego programu treningowego, każda z uczestniczek została objęta programem dietetycznym oraz dostała własny plan dietetyczny. Kobiety miały określony wskaźnik podstawowej przemiany materii (ang. basal metabolic rate, BMR). Następnie wyliczono współczynnik aktywności fizycznej (ang. physical activity level, PAL) według wzoru przedstawionego poniżej:

$$PAL = \frac{TEE}{BMR}$$

gdzie TEE to deklarowany dobowy całkowity wydatek energetyczny (ang. total energy expenditure), ustalony metodą chronometryczowo - tabelaryczną w przedziale tygodniowym. Zgodnie z bieżącymi normami żywienia określonymi dla populacji Polski (Jarosz i wsp. 2017), opracowana dieta była dostosowana do indywidualnego wskaźnika PAL oraz masy ciała każdej z uczestniczek badania. Za opracowanie programu dietetycznego odpowiedzialny był dr Maciej Buryta z Instytutu Nauk o Kulturze Fizycznej Uniwersytetu Szczecińskiego.

3.2 Metody badawcze

3.2.1 Aplikacja programu treningowego

Uczestniczki badania realizowały trening typu High Low Impact Aerobik (Hi-Lo Combo), w którym występują zróżnicowane aktywności: naskoki, marsz oraz bieg. Jest to kombinacja High Impact Aerobiku z Low Impact Aerobikiem. Kluczowa dla odróżnienia obu tych form treningu jest siła nacisku stopy na podłoże mierzona w kilogramach. Pierwsza z nich stanowi intensywną choreografię zbudowaną z szybkich wyskoków, biegu i naskoków. Ta intensywna forma aerobiku poprawia wydolność i koordynację ruchową, lecz stanowi duże obciążenie dla stawów kończyn dolnych oraz kręgosłupa. Polecana jest zatem dla osób przygotowanych kondycyjnie do intensywnego wysiłku fizycznego. Odmianą aerobiku odpowiednią dla osób rozpoczynających aktywność fizyczną jest Low Impact Aerobik, charakteryzujący się spokojnym tempem przy jednoczesnym zaangażowaniu wielu grup mięśniowych. Ten rodzaj ćwiczeń również poprawia kondycję oraz wydolność oddechową osób ćwiczących, ale jest obciążony zdecydowanie niższym ryzykiem kontuzji (Grodzka-Kubiak 2002).

Stosowany w niniejszym eksperymencie trening aerobowy był połączeniem dwóch wyżej opisanych form aerobiku, przez co uzyskaną aktywność można było uznać za intensywną, a jednocześnie nie wymagała wcześniejszego przygotowania kondycyjnego oraz nie podwyższała ryzyka kontuzji uczestniczek. Opracowano jednolity 12-tygodniowy plan treningowy, który podzielono na cztery 3-tygodniowe fazy treningu właściwego przedstawione szczegółowo Tabeli 1. Trening właściwy był poprzedzony tygodniową fazą zapoznawczą podczas której uczestniczki projektu ćwiczyły z intensywnością wynoszącą 50% ich tętna maksymalnego (ang. maximum heart rate, HRmax).

Tabela 1 Charakterystyka 12-tygodniowego treningu aerobowego

Numer	Ilość jednostek treningowych	Intensywność (HRmax)	Opis
I	9 jednostek treningowych 60-cio minutowych	50-60%	Kroki bazowe, marsz oraz wprowadzana symetryczna praca ramion; tempo muzyczne 135-140 BPM
II	9 jednostek treningowych 60-cio minutowych	55-65%	Nowe figury, symetryczna praca ramion, naprzemienne ćwiczenia o niskiej i wysokiej intensywności; tempo muzyczne 135-140 BPM
III	9 jednostek treningowych 60-cio minutowych	60-70%	Nowe figury, asymetryczna praca ramion, wprowadzono figury przestrzenne; tempo muzyczne 140-152 BPM
IV	9 jednostek treningowych 60-cio minutowych	65-75%	Nowe figury przestrzenne, asymetryczna praca ramion; tempo muzyczne 150-152 BPM

BPM - uderzeń na minutę (ang. beats per minute)

Każda jednostka treningowa składała się z następujących części:

- rozgrzewka (10 minut);
- część główna (43 minuty) – połączenie ćwiczeń o wysokiej i niskiej intensywności (ćwiczenia o wysokiej intensywności zawierały podskoki, skoki o zróżnicowanym czasie trwania fazy lotu oraz bieg; ćwiczenia o niskiej intensywności to aktywności, podczas której przynajmniej jedna stopa stale znajdowała się na podłożu); tej fazie towarzyszyła muzyka o zmiennym tempie oraz rytmie;
- ćwiczenia rozciągające i ćwiczenia oddechowe (7 minut).

Powyższy program treningowy był zrealizowany pod kierunkiem dr hab. Aleksandry Jażdżewskiej, prof. AWF i S, Zakład Fitness i Sportów Siłowych Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu im. Jędrzeja Śniadeckiego w Gdańsku.

3.2.2 Analiza masy oraz składu ciała

Pomiary wybranych wskaźników antropometrycznych przeprowadzono u każdej uczestniczki przed rozpoczęciem oraz po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego. W celu zapewnienia powtarzalnych warunków oraz najdokładniejszych pomiarów masy i składu ciała badania te przeprowadzano rano, na czczo, około 3 godziny po przebudzeniu. Uczestniczki otrzymały dokładne wskazówki dotyczące przygotowania do pomiarów. Zakładały one powstrzymanie od spożywania alkoholu, kawy, napojów energetycznych oraz środków diuretycznych, jak również unikanie dużej aktywności fizycznej, gorących kąpieli czy masażu co najmniej 12 godzin przed badaniem. Na 30 minut przed pomiarem każda uczestniczka była proszona o oddanie moczu.

Masa i skład ciała zostały oznaczone metodą bioimpedancji, której podstawą jest ocena oporności organizmu na przepływ ładunków elektrycznych. Do pomiaru bioimpedancji wykorzystywane jest urządzenie będące generatorem prądu przemiennego o natężeniu około 800 μA i częstotliwości ok. 50 kHz. W takich warunkach można założyć, że impedancja wynika głównie z oporu, kontrolującego przepływ prądu przez płyny wewnątrzkomórkowe. Zwykle stosowany jest układ dwóch elektrod wprowadzających prąd oraz dwóch elektrod detekcyjnych. W ten sposób mierzony jest spadek napięcia spowodowany impedancją. Elektrody te zwykle są umieszczane

w układzie ręce-stopy, bądź stopa-stopa. Pomiar składu ciała wykorzystuje różne zdolności przewodzenia prądu przez poszczególne części ciała, co wynika z różnej zawartości wody (Kushner 1992).

Pomiar masy i składu ciała wykonano przy zastosowaniu urządzenia Tanita TBF 300M (Horton Health Initiatives, USA) uprzednio podłączonego i skalibrowanego o wagę ubrań (0,2 kg). Do urządzenia wprowadzono dane każdej uczestniczki badania tj. wiek, wzrost, płeć. Każda osoba stawiała gołymi stopami w wyznaczonych miejscach i utrzymywała stałą pozycję ciała do momentu ukończenia pomiaru.

Wykonano pomiary następujących wskaźników:

- całkowita masa ciała (ang. body mass, kg);
- masa beztłuszczowa (ang. free fat mass, FFM, kg);
- masa tkanki tłuszczowej (ang. fat mass, FM, kg);
- procentowa zawartość tkanki tłuszczowej (ang. fat mass percentage, %FM);
- BMI;
- indeks impedancji tkanek (ang. tissue impedance, Ω);
- całkowita zawartość wody w organizmie (ang. total body water, TBW, kg);
- BMR (kJ lub kcal).

Badania wszystkich uczestniczek przeprowadzono w Laboratorium Wysiłku Fizycznego i Genetyki w Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu im. Jędrzeja Śniadeckiego w Gdańsku pod kierunkiem prof. dr hab. Zbigniewa Jastrzębskiego.

3.2.3 Pomiar wskaźników biochemicznych

Analiza biochemiczna została przeprowadzona przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego. Próbkę krwi pobierano każdorazowo rano, na czczo, z żyły łokciowej. Krew zebrano do dwóch probówek aspiracyjno-próżniowych S- Monovette o pojemności 4,0 ml z kwasem etylenodiaminotetraoctowym (K3 EDTA; 1,6 mg EDTA/ml krwi) i żelazem separującym (Sarstedt AG i CO., Nümbrecht, Niemcy). Analiza morfologiczna była przeprowadzona przy użyciu probówek 2,6 ml S-Monovette z K3 EDTA (1,6 mg EDTA/ml krwi) (Sarstedt AG i CO., Nümbrecht, Niemcy). Do dalszych badań biochemicznych wykorzystywano

osocze krwi, które uzyskiwano przez wirowanie krwi przez 15 min. przy 1500 x g w temperaturze pokojowej. Wykonano następujące badania biochemiczne:

- stężenie glukozy (mg/dl);
- stężenie TG (mg/dl);
- stężenie całkowitego cholesterolu (ang. total cholesterol, TC, mg/dl);
- stężenie HDL (mg/dl);
- stężenie LDL (mg/dl).

Wszystkie analizy biochemiczne wykonano przy zastosowaniu automatycznego analizatora A15 (Bio-SYSTEMS S.A, Barcelona, Hiszpania). Stężenia TC oraz TG określono wykorzystując enzymatyczny zestaw diagnostyczny według zaleceń producenta (BioMaxima S.A., Lublin, Polska). Do wyznaczenia stężeń HDL w osoczu zastosowano metodę enzymatyczną z wykorzystaniem ludzkiego przeciwciała anti- β -lipoproteinowego, według protokołu producenta (BioMaxima S.A., Lublin, Polska). Stężenie LDL w osoczu oznaczono metodą bezpośrednią według protokołu producenta (PZ Cormay S.A., Łomianki, Polska). Zastosowane procedury analityczne były weryfikowane przy użyciu surowic kontrolnych: wieloparametrowej (BIOLABO S.A.S., Maizy, Francja), o normalnym poziomie (BioNormL) oraz wysokim poziomie (BioPathL) wskaźników lipidowych (BioMaxima S.A., Lublin, Polska).

Analizy biochemiczne zostały przeprowadzone na zlecenie w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej we Wronkach.

3.2.4 Analizy genetyczne

Wszystkie procedury związane z izolacją DNA i genotypowaniem wykonano w warunkach jałowych z użyciem komór laminarnych z zachowaniem zasad sterylności, przy użyciu rękawiczek jednorazowych oraz jałowych, jednorazowych probówek i końcówek do pipet.

3.2.4.1 Pobór materiału biologicznego

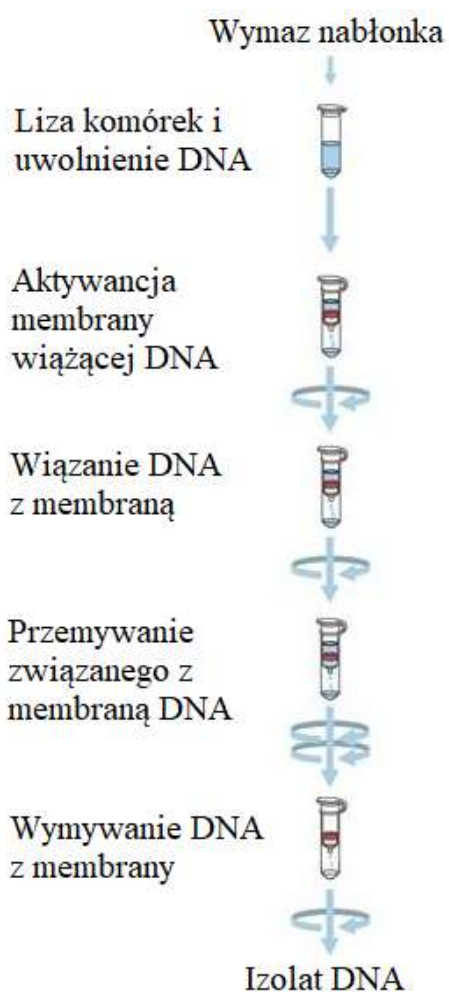
Materiał do analiz stanowiły izolaty DNA uzyskane z wymazów nabłonka jamy ustnej pobranych od uczestniczek badań za pomocą sterylnych szpatulek (Puritan, USA) poprzez pocieranie wewnętrznej strony policzków osób badanych po wcześniejszym dokładnym wypłukaniu jamy ustnej wodą. Wymazówki umieszczono w szczelnie zamkniętych, sterylnych probówkach opisanych kolejnym numerem uczestniczki badania. Początkowo pobrany materiał biologiczny był przetrzymywany w lodówce (temp. 4°C), a następnie transportowany w warunkach obniżonej temperatury do laboratorium. Do momentu rozpoczęcia analiz genetycznych wymazówki były przechowywane w stanie zamrożenia (temp. -20°C).

3.2.4.2 Izolacja DNA

W celu izolacji DNA z materiału biologicznego (komórki nabłonka jamy ustnej) pobranego od uczestniczek badań wykorzystano zestaw odczynnikowy GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich, Niemcy) zgodnie z procedurą zalecaną przez producenta. Wybrany zestaw umożliwia izolację całkowitego genomowego DNA ze świeżych i mrożonych tkanek zwierzęcych oraz hodowli komórkowych. Zastosowana metoda izolacji pozwala otrzymać do 25 pg DNA z pojedynczej komórki, czyli 25 µg z 2×10^6 komórek lub 30 µg DNA z 25 mg tkanki. Najważniejszymi założeniami tego etapu jest uzyskanie czystego izolatu materiału genetycznego, który będzie pozbawiony białek, enzymów i innych inhibitorów, które mogłyby utrudnić następne etapy badań.

Protokół izolacyjny zaproponowany przez producenta zakłada, że najpierw próbki poddaje się trawieniu enzymatycznemu za pomocą buforu lizującego, by doprowadzić do denaturacji makrocząsteczek, a RNA jest usuwane z roztworu. W następnym kroku membrana krzemionkowa znajdująca się w kolumnach filtracyjnych jest aktywowana. Otrzymany lizat zostaje przeniesiony na wspomnianą kolumnę, której membrana wiąże

DNA, a pozostały roztwór jest usuwany przez wirowanie. W celu oddzielenia DNA od zanieczyszczeń przeprowadza się dwukrotne przemywanie związanego z membraną DNA. Na koniec czysty materiał DNA jest wymywany z membrany, a otrzymany izolat może być przechowywany w zamrażarce do czasu przeprowadzenia analiz genetycznych. Schematyczny przebieg procedury izolacji przedstawiono na Rysunku 3.



Rysunek 3. Etapy zastosowanej procedury izolacji genomowego DNA (<https://www.sigmaaldrich.com/life-science/molecular-biology/dna-and-rna-purification/mammalian-total-rna-miniprep-kit.html>; data dostępu: 27.04.2021; zmodyfikowano).

Zastosowana procedura izolacyjna składała się z 6 głównych etapów:

I. Liza komórek:

- Wymazówki z pobranym materiałem biologicznym zanurzono w probówkach typu Eppendorf z 200 μ l buforu zawieszającego (Resuspension Solution);
- Do zawiesiny komórek dodano 20 μ l Proteinazy K (20 mg/ml) oraz 200 μ l buforu lizującego (Lysis Solution C);
- Każdą próbkę zworteksowano do uzyskania homogenicznego roztworu (około 15 s), następnie zwirowano (2000 x g przez 30 s), inkubowano w temperaturze 70°C przez 10 min i ponownie zwirowano (2000 x g przez 30 s).

II. Usunięcie RNA z roztworu:

- Do próbek dodano po 20 μ l roztworu RNazy A (RNase A Solution);
- Zworteksowano przez około 30 s do uzyskania homogenicznego roztworu;
- Inkubowano przez 2 min w temperaturze pokojowej;
- Próbkę krótko zwirowano (2000 x g przez 30 s).

III. Przygotowanie kolumny – aktywacja membrany krzemionkowej:

- Do kolumn filtracyjnych umieszczonych w probówkach zbiorczych dodano po 500 μ l buforu aktywującego (Column Preparation Solution);
- Kolumny zwirowano (12000 x g przez 1 min), w celu zebrania całkowitego przesączu w probówce zbiorczej;
- Otrzymany przesącz odrzucono, pozostawiając jedynie kolumny filtracyjne, które przeniesiono do nowych probówek zbiorczych.

IV. Wiązanie DNA z kolumną filtracyjną:

- Do próbek dodano po 200 μ l etanolu;
- Zworteksowano do uzyskania homogenicznego roztworu (około 15 s);
- Całkowitą objętość każdej próbki (około 640 μ l) przeniesiono do wcześniej przygotowanych kolumn filtracyjnych;
- Zwirowano (6500 x g przez 1 min);

- Przesącz odrzucono, pozostawiając kolumny filtracyjne z membranami ze związanym materiałem genetycznym, które przeniesiono do nowych probówek zbiorczych.

V. Przemywanie związanego z membraną DNA:

- Dodano na każdą kolumnę po 500 μ l buforu myjącego (Wash Solution);
- Zwirowano (6500 x g przez 2 min);
- Przesącz odrzucono, pozostawiając kolumny filtracyjne, które były umieszczane w nowych probówkach zbiorczych;
- Powtórzono procedurę przemywania, dodając po 500 μ l buforu myjącego (Wash Solution);
- Zwirowano (14000 x g przez 3 min);
- Probówki z przesączem odrzucono, umieszczając kolumny filtracyjne w nowych probówkach zbiorczych, które pozostawiono otwarte na 2 min w celu odparowania etanolu.

VI. Wymywanie DNA z membrany:

- Do każdej kolumny filtracyjnej dodano po 200 μ l buforu wymywającego (Elution Solution);
- Próby inkubowano w temperaturze pokojowej przez 5 min;
- Zwirowano (6500 x g przez 1 min);
- Kolumny odrzucono, a probówki zbiorcze z przesączem (będącym wyizolowanym genomowym DNA) dokładnie opisywano.

Ilość, integralność i czystość otrzymanego DNA oceniano stosując analizator Agilent BioAnalyzer 2100 (Agilent, USA). Po pozytywnej ocenie izolaty przechowywano w temperaturze -70°C do czasu ich wykorzystania w analizach genetycznych.

Ostatecznie materiał biologiczny oraz komplet wyników obejmujących badania genetyczne, antropometryczne, biochemiczne oraz testy fizjologiczne przeprowadzone przed rozpoczęciem i po zakończeniu treningu uzyskano dla 182 kobiet. Materiał genetyczny wyizolowano dla 168 z nich, ponieważ 14 wymazów nie spełniało standardów czystości mikrobiologicznej niezbędnej do izolacji DNA.

3.2.4.3 Genotypowanie metodą real-time PCR

Wybrane cztery punkty polimorficzne zlokalizowane w dwóch genach:

- rs1800795, podstawienie G→C w pozycji -174 regionu promotorowego genu *IL6*;
- rs1800796, podstawienie G→C w pozycji -572 regionu promotorowego genu *IL6*;
- rs1800797, podstawienie A→G w pozycji -597 regionu promotorowego genu *IL6*;
- rs1800587, podstawienie C→T w pozycji -889 regionu promotorowego genu *IL1A*;

genotypowano z wykorzystaniem łańcuchowej reakcji polimerazy (ang. polymerase chain reaction, PCR) w odmianie PCR w czasie rzeczywistym (ang. real-time PCR).

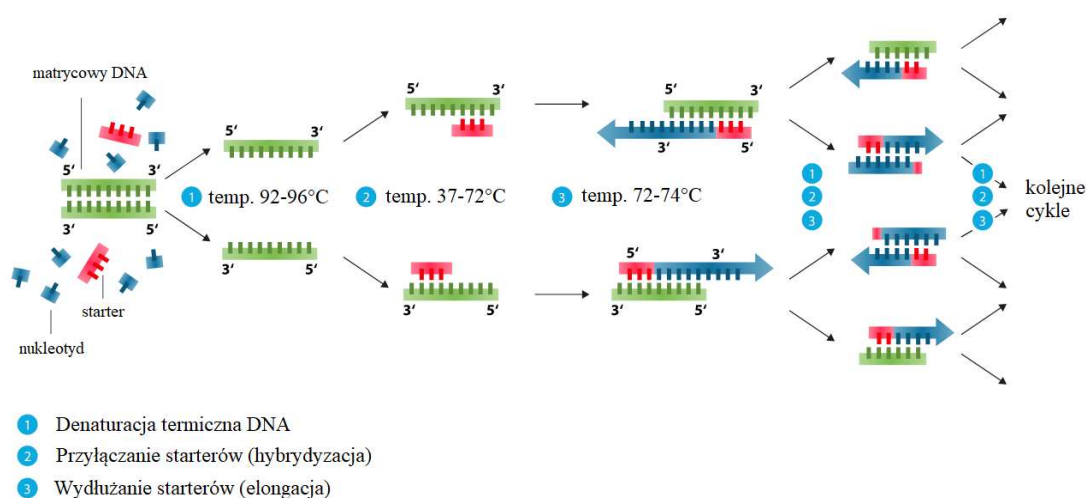
Zasada i przebieg reakcji PCR

Lata 80-te XX wieku były przełomowe dla rozwoju technik biologii molekularnej i nauk biochemicznych, ponieważ w tym czasie Kary Banks Mullis wraz ze współpracownikami opisał i opatentował technikę PCR. Ta rewolucyjna metoda umożliwia szybką amplifikację kwasów nukleinowych, co pozwala otrzymać wiele kopii dowolnego regionu genomu w warunkach laboratoryjnych. Za to odkrycie Kary Mullis oraz jego współpracownik Michael Smith otrzymali w 1993 roku Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii (Jarczak i Slaska 2011).

Reakcja PCR oparta jest na procesie replikacji DNA, który w warunkach *in vivo* pozwala na podwojenie całkowitego DNA przed podziałem komórki (faza S cyklu komórkowego). Natomiast PCR jest reakcją enzymatyczną zachodzącą w warunkach *in vitro*, w której przy udziale termostabilnej polimerazy i innych składników reakcji zachodzi wielokrotna selektywna amplifikacja wybranych fragmentów DNA. W skład mieszaniny reakcyjnej wchodzi (Allison 2019):

- matrycowy DNA;
- dwa startery oligonukleotydowe komplementarne do końców sekwencji DNA podlegającej amplifikacji;
- termostabilna polimeraza DNA (polimeraza Taq, Pfu);
- bufor reakcyjny, zapewniający optymalne środowisko działania polimerazy;
- jony magnezu;
- cztery trifosforany deoksynukleotydów (dNTP): dATP, dGTP, dTTP, dCTP.

W cyklicznie powtarzających się etapach wielokrotnego podgrzewania i oziębiania próbki ilość syntetyzowanego DNA jest podwajana, a nowo powstałe fragmenty stają się matrycą w kolejnych cyklach (Kawiak i Zabel 2012). Klasyczna reakcja PCR przedstawiona na Rysunku 4. prowadzona jest w termocyklerach - urządzeniach zapewniających szybkie zmiany temperatury. W celu określenia obecności oczekiwanego fragmentu DNA, po zakończeniu reakcji PCR przeprowadza się analizę elektroforetyczną (Allison 2019).



Rysunek 4. Schemat cyklu reakcji PCR
https://en.wikipedia.org/wiki/File:Polymerase_chain_reaction.svg; data dostępu: 29.04.2021; zmodyfikowano).

PCR w czasie rzeczywistym

Obecnie istnieje wiele odmian reakcji PCR, wśród najpopularniejszych można wymienić: PCR z zastosowaniem odwrotnej transkryptazy (RT-PCR), PCR z zastosowaniem wielu par starterów (multiplex-PCR), polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (PCR-RFLP), losową amplifikację polimorficznego DNA (RAPD-PCR) oraz PCR w czasie rzeczywistym. Opracowane odmiany reakcji służą nie tylko do celów naukowych, lecz również do diagnostyki chorób czy badania pokrewieństwa (Fletcher i wsp. 2013).

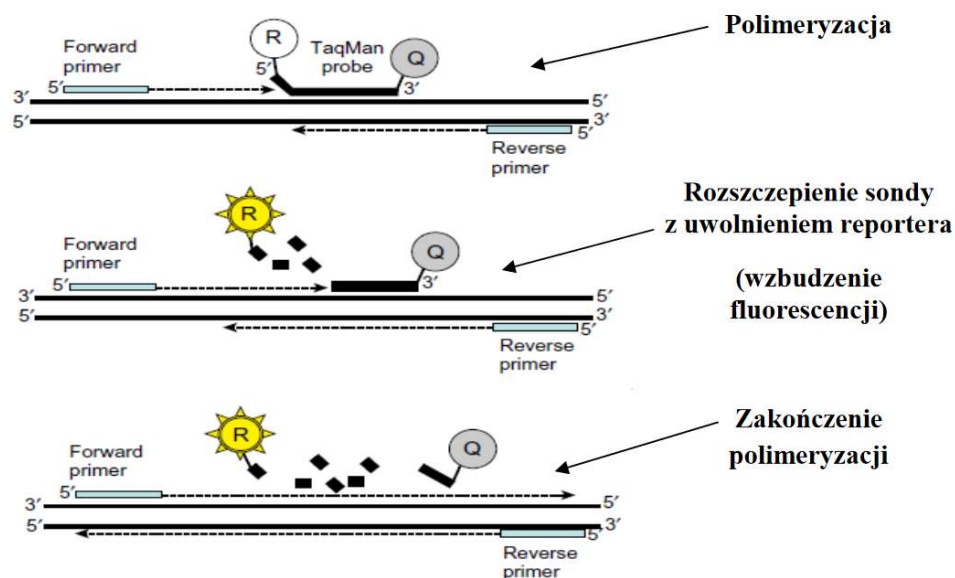
W niniejszej pracy została wykorzystywana odmiana real-time PCR z analizą w czasie rzeczywistym, która umożliwia ilościową oraz jakościową ocenę otrzymanego produktu podczas trwania reakcji PCR. Jest to możliwe dzięki wykorzystaniu pomiarów

fluorescencji emitowanej przez znakowane odpowiednimi barwnikami produkty reakcji. Poziom emitowanej fluorescencji podczas reakcji PCR jest wprost proporcjonalny do ilości powstającego produktu. Reakcja real-time PCR jest przeprowadzana w termocyklerach sprzężonych ze spektrofлуorymetrem i nie wymaga wykonywania elektroforezy, co znacznie skraca czas uzyskania wyników (Allison 2019).

W celu uzyskania sygnału fluorescencji można wykorzystać dwa typy metody:

- pierwsza z zastosowaniem fluorescencyjnych barwników wiążących się do dwuniciowego DNA (np. SYBR Green), reakcja jest mało swoista;
- druga z zastosowaniem różnego rodzaju fluorescencyjnych sond oligonukleotydowych (tj. TaqMan, FRET, Molecular Beacons, Scorpion, Light Cycler), reakcja ma charakter swoisty.

Obecnie najczęściej wykorzystuje się specyficzne metody oparte na hybrydyzacji sond oligonukleotydowych typu TaqMan (sondy hydrolityczne, degradacyjne) z wybranym docelowym fragmentem DNA. Wspomniane sondy są wyznakowane na końcu 5' fluorescencyjnym barwnikiem reporterowym emitującym światło (np. VIC, FAM), a na końcu 3' barwnikiem wygaszającym tłumiącym światło (np. TAMRA, DABCYL). Zastosowana polimeraza Taq charakteryzująca się aktywnością nukleazową 5'→3' wydłużając nić DNA degraduje sondę, powodując uwolnienie barwnika reporterowego od barwnika tłumiącego, co powoduje pojawienie się fluorescencji (Rysunek 5). Proces ten ma miejsce podczas każdego cyklu przyczyniając się do stopniowego wzrostu sygnału fluorescencyjnego, co daje możliwość detekcji tego sygnału w każdym momencie trwania reakcji PCR. Wywołany sygnał mierzony jest fluorymetrem, a powstały poziom emitowanej fluorescencji jest proporcjonalny do ilości otrzymanego produktu podczas przebiegu reakcji PCR (Allison 2019).



Rysunek 5. Schemat reakcji PCR w czasie rzeczywistym z wykorzystaniem sond TaqMan (<http://a.umed.pl/zms/dokumenty/2018/P-2-SOBCZAK-PRACA%20MGR-2015.pdf>; data dostępu: 29.04.2021).

Szczegółowy opis procedury genotypowania

Uzyskane izolaty DNA były genotypowane w czterech punktach polimorficznych zlokalizowanych w dwóch genach z wykorzystaniem metody real-time PCR, z zastosowaniem znakowanych fluorescencyjnie sond molekularnych typu TaqMan, czyli tzw. sond degradacyjnych. Wykorzystano gotowe zestawy odczynników: TaqMan® Pre-Designed SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, USA), których numery identyfikacyjne przedstawiono w Tabeli 2. W skład odczynników wchodzi startery oraz dwie sondy molekularne typu TaqMan wyznakowane fluorescencyjnie barwnikami VIC i FAM, które wiążą się z mniejszą bruzdą DNA (ang. minor groove binding, MGB), komplementarne do obu wersji allelicznych w wybranych punktach polimorficznych.

Tabela 2 Punkty polimorficzne poddane genotypowaniu przy użyciu gotowych zestawów odczynników TaqMan® Pre-Designed SNP Genotyping Assay

Gen	Polimorfizm	Podstawienie	Pozycja	Numer identyfikacyjny zestawu odczynników
<i>IL6</i>	rs1800795	G→C	-174 regionu promotorowego	C_1839697_20
	rs1800796	G→C	-572 regionu promotorowego	C_11326893_10
	rs1800797	A→G	-597 regionu promotorowego	C_1839695_20
<i>IL1A</i>	rs1800587	C→T	-889 regionu promotorowego	C_9546481_30

Procedura genotypowania była jednakowa dla wszystkich badanych miejsc polimorficznych. Wszystkie próby były genotypowane w duplikacie. W skład wykorzystanej mieszaniny reakcyjnej o objętości 10 µl (na 1 próbę) wchodziły:

- izolat DNA;
- woda sterylna;
- bufor reakcyjny z Mg^{2+} (10x): 700mM Tris-HCl pH 8.6/25°C, 166mM $(NH_4)_2SO_4$, 25mM $MgCl_2$ (Novazym, Polska);
- wodny roztwór trójfosforanów deoksynukleotydów: dATP, dGTP, dTTP, dCTP o stężeniu 2,5 mM każdy (Novazym, Polska);
- termostabilna polimeraza z aktywnością 5'-3' egzonukleazową (AllegroTaq Polimeraza DNA 5 U/µL, Novazym, Polska);
- specyficzny dla każdego polimorfizmu zestaw zawierający startery i sondy molekularne TaqMan MGB (TaqMan Pre-Designed SNP Genotyping Assays, 20x, Applied Biosystems, USA).

Próbki zawierające mieszaniny reakcyjne umieszczono w termocyklerze (C1000 Touch Thermal Cycler, Bio-Rad, Niemcy) i poddawano działaniu temperatury zmieniającej się zgodnie z zalecanym profilem temperaturowo-czasowym. Początkowo próbki były poddawane denaturacji wstępnej w temperaturze 95°C przez 5 min.

Następnie miało miejsce 45 dwuetapowych cykli. W każdym z nich najpierw następowała denaturacja w temperaturze 92°C przez 15 s, a później przyłączanie starterów i elongacja w temperaturze 60°C przez 1 min. Po zakończeniu każdego z cykli rejestrowano przyrost ilościowy produktów. Wyniki poddano analizie z wykorzystaniem apletu dyskryminacji alleli dostępnego w ramach oprogramowania Bio-Rad CFX Manager 3.1 (Bio-Rad, Niemcy).

Odczytano genotypy we wszystkich badanych punktach polimorficznych dla każdej analizowanej próbki. Było to możliwe dzięki użyciu sond TaqMan komplementarnych do określonych wersji allelicznych, które mogły wystąpić w analizowanym punkcie polimorficznym i były wyznakowane barwnikiem FAM (emitującym sygnał fluorescencyjny po wzbudzeniu laserowym w zakresie zielonej barwy światła) lub barwnikiem VIC (emitującym sygnał fluorescencyjny po wzbudzeniu laserowym w zakresie żółtej barwy światła). Na podstawie obserwacji sygnałów fluorescencji określano genotyp według schematu:

- sygnał fluorescencji na kanale zielonym → próbę klasyfikowano jako homozygotę pierwszego typu;
- sygnał fluorescencji na kanale żółtym → próbę klasyfikowano jako homozygotę drugiego typu;
- sygnał na obydwu kanałach jednocześnie → próbę klasyfikowano jako heterozygotę.

Wszystkie analizy genetyczne wykonano w Centrum Badań Strukturalno-Funkcjonalnych Człowieka Uniwersytetu Szczecińskiego oraz Laboratorium Wysiłku Fizycznego i Genetyki w Sporcie Akademii Wychowania Fizycznego im. Jędrzeja Śniadeckiego w Gdańsku jako analizy własne pod kierunkiem dr hab. Agaty Leońskiej-Duniec, prof. AWFIS.

3.2.5 Analiza statystyczna

Do sprawdzenia normalności rozkładu zmiennej losowej zastosowano test Shapiro-Wilka w programie Statistica 13.3. Do sprawdzenia istotności wpływu zastosowanego treningu na badane zmienne zastosowano test kolejności par Wilcoxon, będący nieparametryczną alternatywą dla testu t-Studenta dla grup zależnych.

Po zakończeniu genotypowania ustalono częstość alleli przez bezpośrednie zliczanie. Dalsze etapy analizy statystycznej przeprowadzono pod kierunkiem dr. hab. n. med. Mariusza Kaczmarczyka z Zakładu Biochemii Katedry Biochemii i Chemii Medycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Analiza statystyczna otrzymanych wyników genotypowania zakładała weryfikację stanu równowagi Hardy'ego-Weinberg'a w analizowanych grupach z użyciem testu Chi-kwadrat. Nieparametryczna analiza wariancji pomiędzy więcej niż dwiema grupami została przeprowadzona przy zastosowaniu testu Friedmana. W celu zbadania wpływu zmian polimorficznych na odpowiedź potreningową w zakresie wybranych zmiennych antropometrycznych i biochemicznych przeprowadzono analizę statystyczną z wykorzystaniem dwuczynnikowego testu analizy wariancji z powtórzonymi pomiarami (ang. two-way ANOVA with repeated measures).

Analiza haplotypów przeprowadzono za pomocą R (<https://cran-r-project.org>, wersja 3.1.0) przy użyciu pakietu haplo.stats i funkcji regresji haplo.glm. Jako zmienną zależną zastosowano zmianę procentową w trakcie treningu, natomiast haplotypy *IL6* zostały użyte jako zmienne niezależne. Poziom istotności statystycznej ustalono na $p < 0,05$.

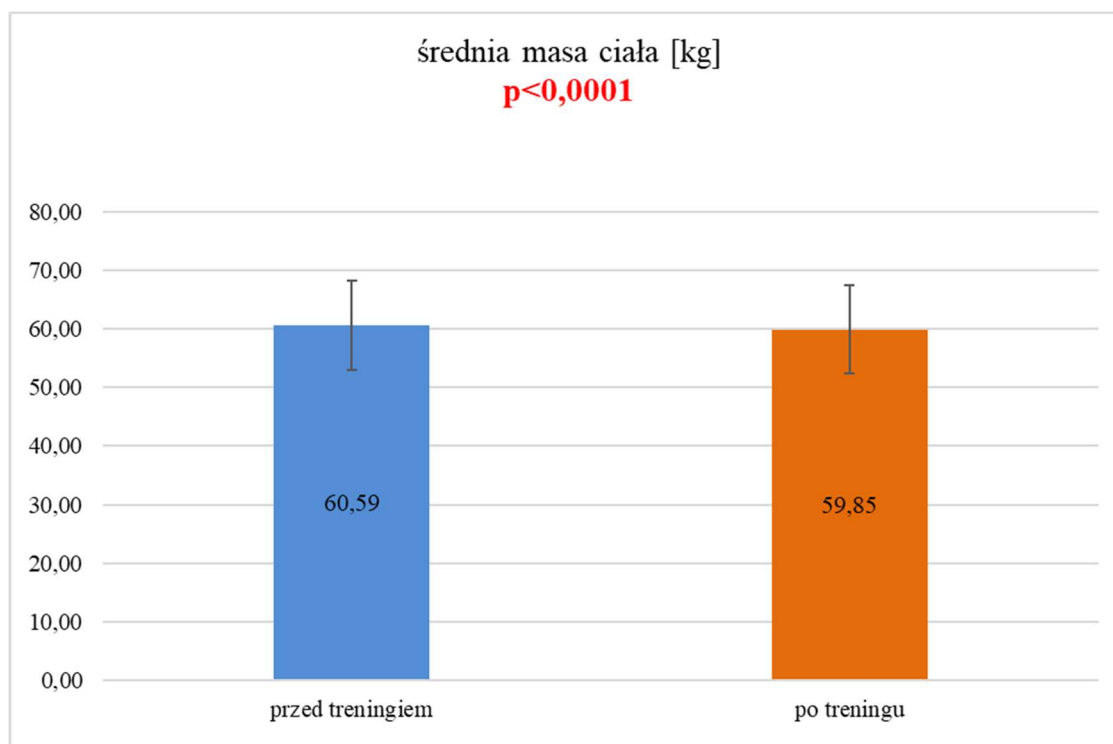
Interakcje między genami analizowano dla pojedynczych w ogólnym modelu liniowym *loci* z zastosowaniem następujących modeli penetracji: model dominujący (DOM), recesywny (REC) oraz model homozygota-heterozygota (lub heterozygota-homozygota, HOM-HET/HET-HOM). Model DOM zakłada obecność przynajmniej jednego allelu ryzyka w obu *loci*. Model REC zakłada obecność allelu ryzyka w postaci homozygotycznej w obu *loci*, podczas gdy model HOM-HET zakłada obecność postaci homozygotycznej allelu ryzyka w jednym *locus* i heterozygotycznej postaci w drugim *locus*. Dodatkowo, każdą z czterech możliwych kombinacji genotypów dla modelu HOM-HET analizowano indywidualnie (HOM1-HET, HOM2-HET, HET-HOM1, HET-HOM2, gdzie HOM1 to homozygota dla allelu ryzyka danego, a HOM2 to homozygota dla allelu głównego).

4. WYNIKI BADAŃ

4.1. Wyniki pomiarów antropometrycznych

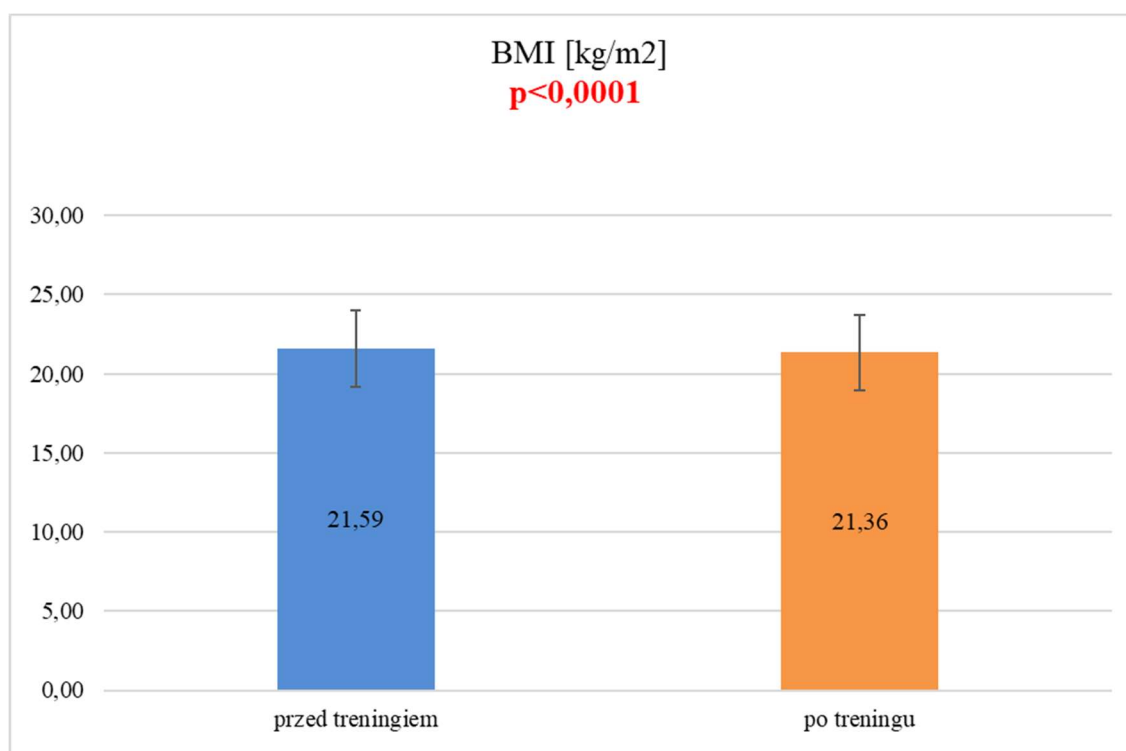
W badaniu wzięło udział 201 uczestniczek. Wszystkie z nich ukończyły 12-tygodniowy program treningowy, jednak dla 182 uczestniczek zgromadzono komplet wyników pomiarów antropometrycznych oraz biochemicznych mierzonych przed i po zakończeniu okresu treningowego. Poniżej przedstawiono wyniki pomiarów antropometrycznych dla 182 uczestniczek (Wykresy 1-9).

Na Wykresie 1 przedstawiono średnie wartości masy ciała przed przystąpieniem do cyklu treningowego (60,59 kg) oraz po jego zakończeniu (59,85 kg). Zaobserwowana różnica charakteryzowała się istotnością statystyczną ($p < 0,0001$).



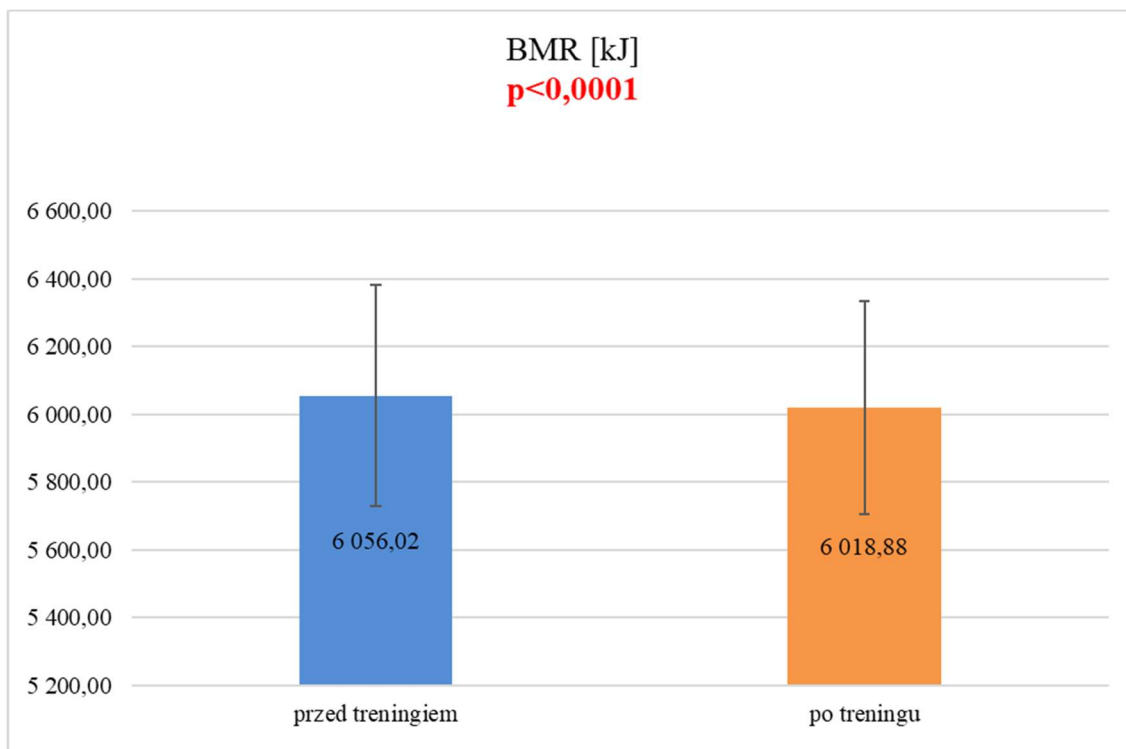
Wykres 1. Wartości średnie masy ciała uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.

Wykres 2 przedstawia średnie wartości współczynnika BMI obliczone przed i po zakończeniu 12-tygodniowego cyklu treningowego. Średnia wartość BMI przed treningiem wynosiła 21,59 kg/m², a po zakończeniu cyklu treningowego obniżyła się do 21,36 kg/m². Zaobserwowana różnica była istotna statystycznie ($p < 0,0001$).

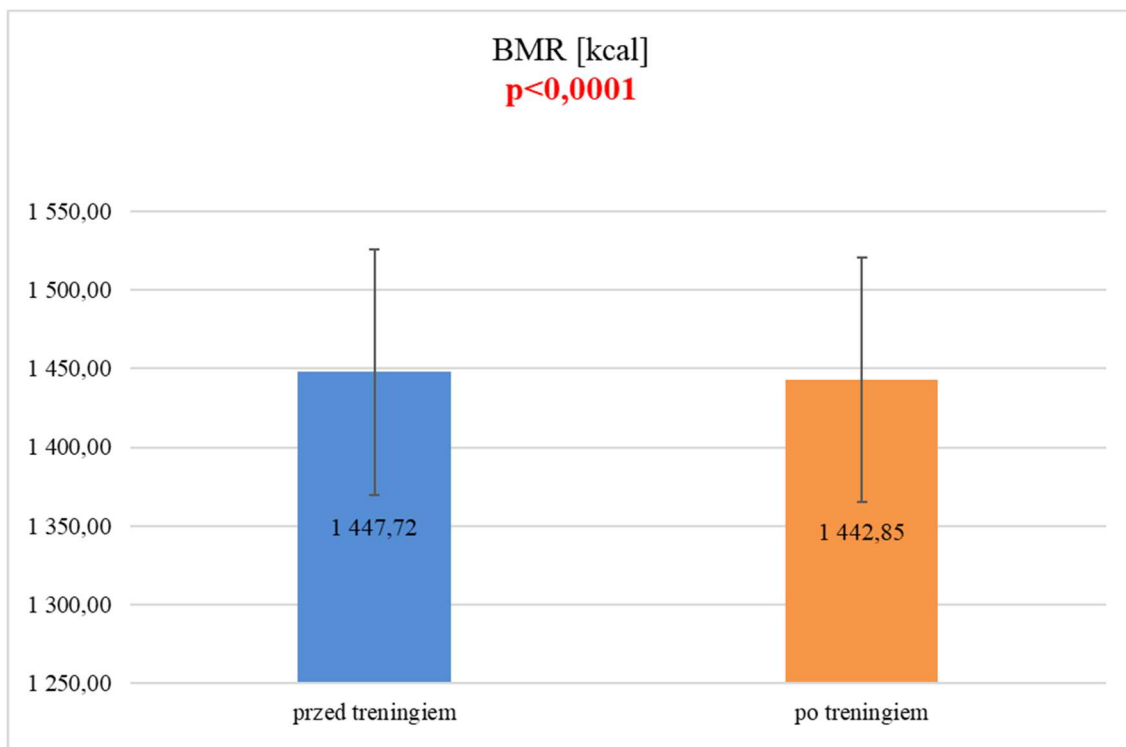


Wykres 2. Wartości średnie BMI uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.

Poniższe wykresy przedstawiają średnie wartości wskaźnika dziennego zapotrzebowania kalorycznego BMR wyrażonego w kJ oraz w kcal (Wykresy 3 i 4, odpowiednio). Wartość BMR szacowana w kJ przed rozpoczęciem treningu wyniosła 6056,02 kJ, zaś po jego zakończeniu 6018,88 kJ. Współczynnik BMR szacowany w kcal wyniósł odpowiednio 1447,72 kcal przed rozpoczęciem cyklu treningowego, zaś po jego zakończeniu 1442,85 kcal. Obie uzyskane różnice były istotne statystycznie (w obu przypadkach $p < 0,0001$).



Wykres 3. Wartości średnie BMR uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego wyrażone w kJ.



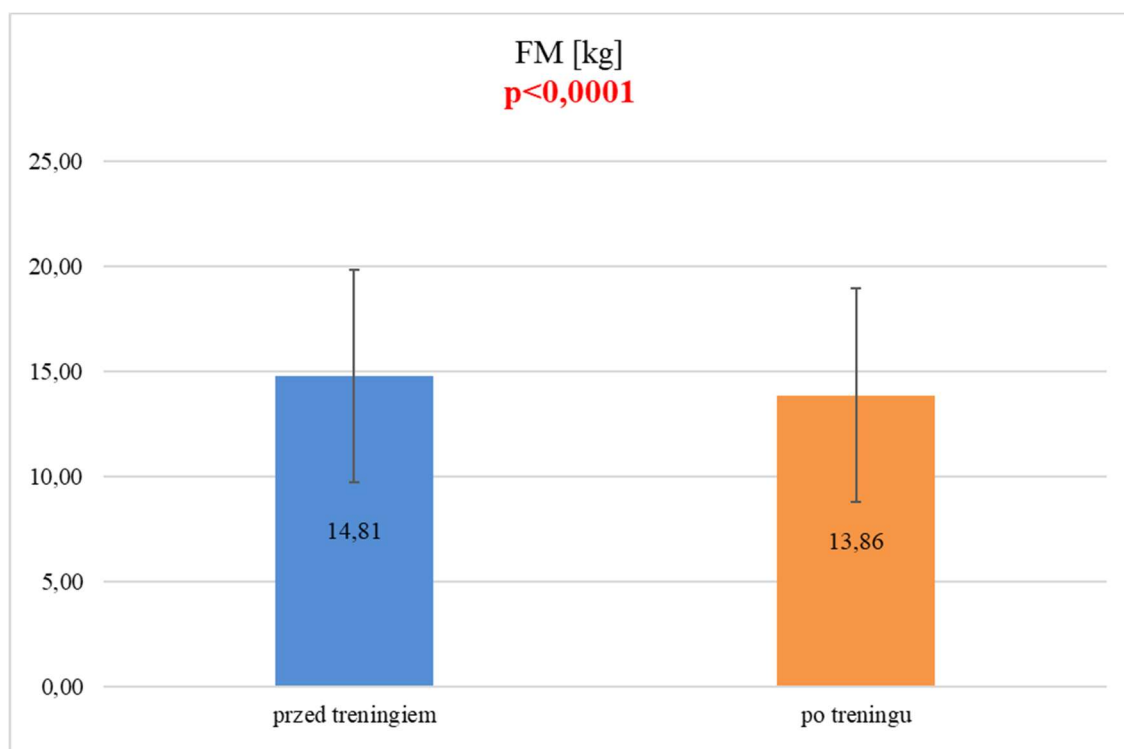
Wykres 4. Wartości średnie BMR uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego wyrażone w kcal.

Zaobserwowano również obniżenie średniej wartości impedancji tkanek po 12-tygodniowym cyklu treningowym. Przed rozpoczęciem eksperymentu wynosił on 549,90 Ω , zaś po jego zakończeniu 536,54 Ω , co zostało przedstawione na Wykresie 5. Uzyskana różnica uzyskała próg istotności statystycznej przy wartości $p=0,0001$.

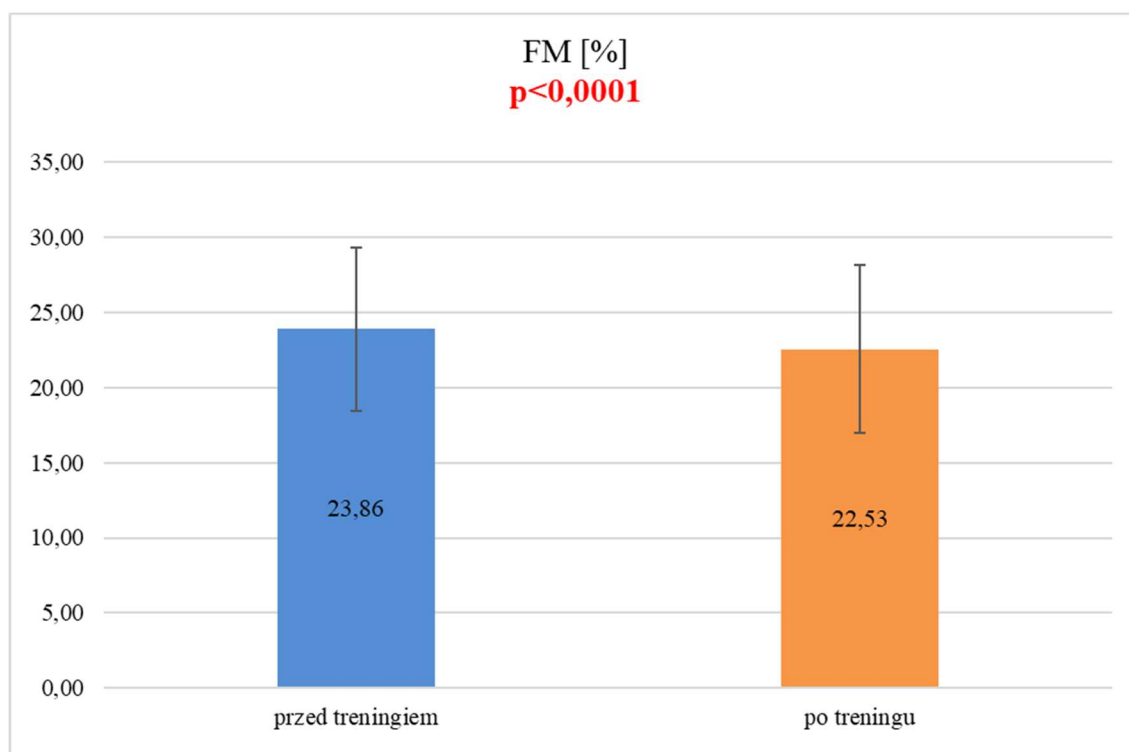


Wykres 5. Wartości średnie indeksu impedancji tkanek uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.

Kolejnym wskaźnikiem mierzonym przed i po zakończeniu cyklu treningowego był poziom FM, wyrażony w kg oraz w zawartości procentowej. Średnia wartość FM uczestniczek badania wynosiła 14,81 kg przed cyklem treningowym oraz 13,86 kg po jego zakończeniu (Wykres 6). Ten sam wskaźnik wyrażony jako wartość procentowa wynosił 23,86% przed 12-tygodniowym cyklem treningowym oraz 22,53% po jego zakończeniu (Wykres 7). Różnice w wartościach obu parametrów charakteryzowały się istotnością statystyczną przy $p<0,0001$.

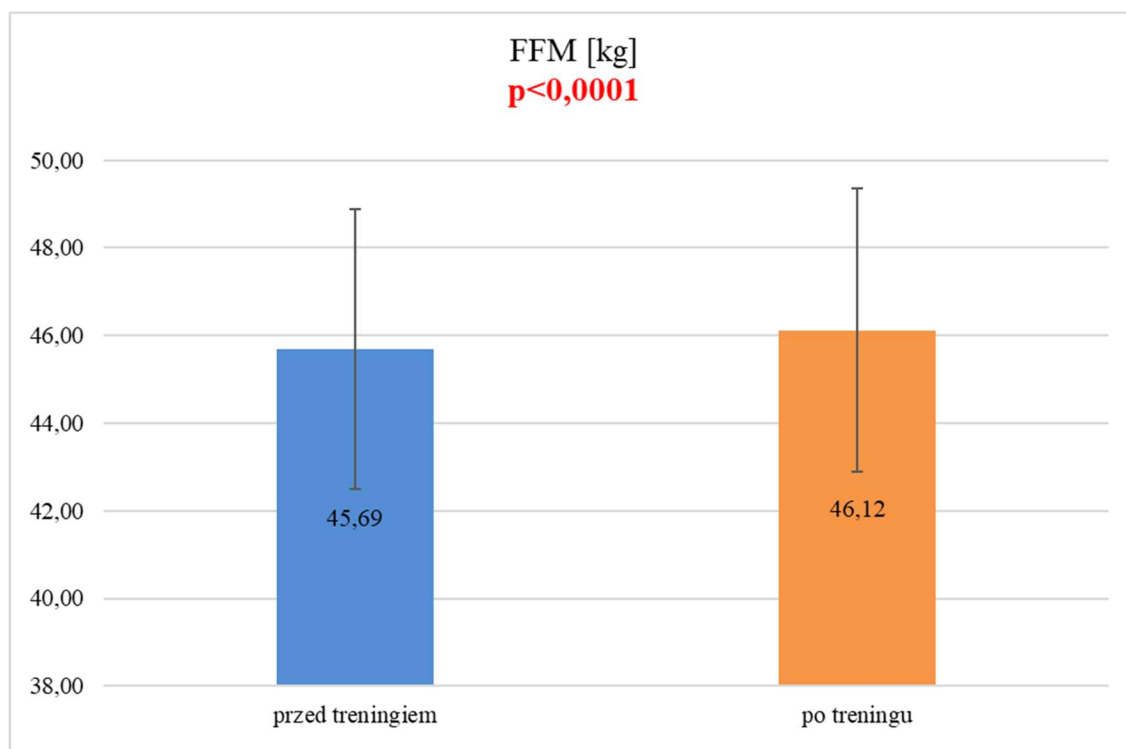


Wykres 6. Wartości średnie FM uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.



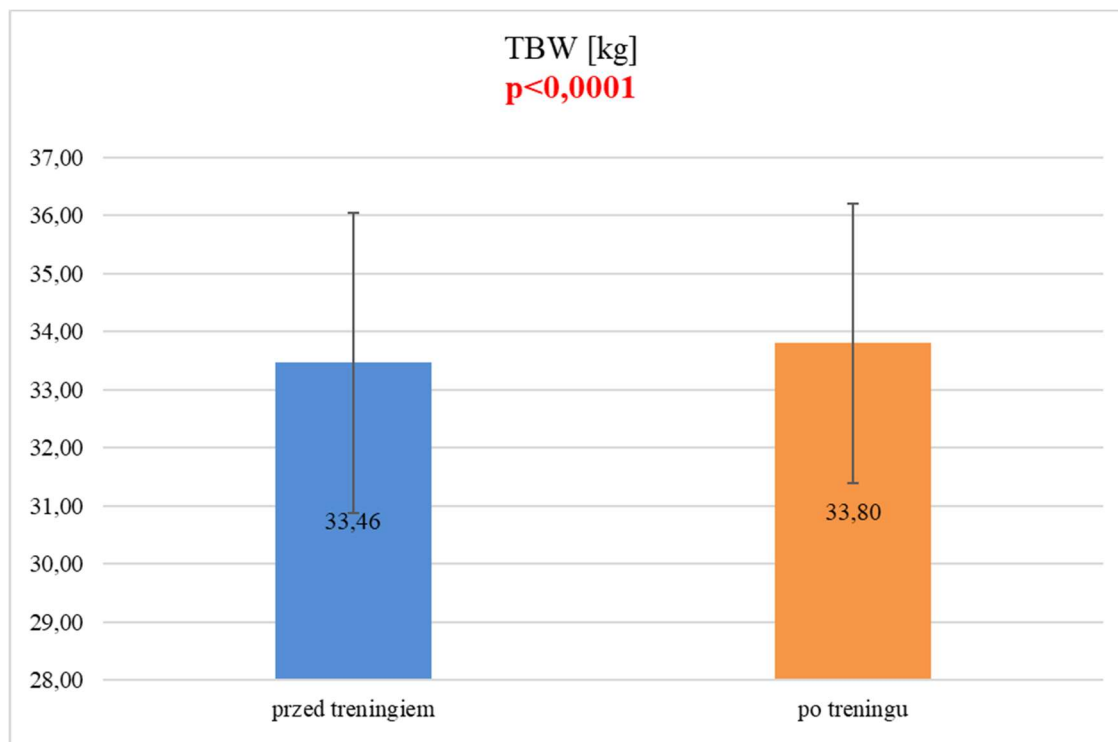
Wykres 7. Wartości średnie FM wyrażone w procentach dla uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.

Na Wykresie 8 przedstawiono średnie wartości FFM u uczestniczek badania. Wartość FFM przed rozpoczęciem programu treningowego wynosiła 45,69 kg, zaś po jego zakończeniu wzrosła do 46,12 kg, uzyskując przy tym próg istotności statystycznej ($p < 0,0001$).



Wykres 8. Wartości średnie masy beztłuszczowej uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.

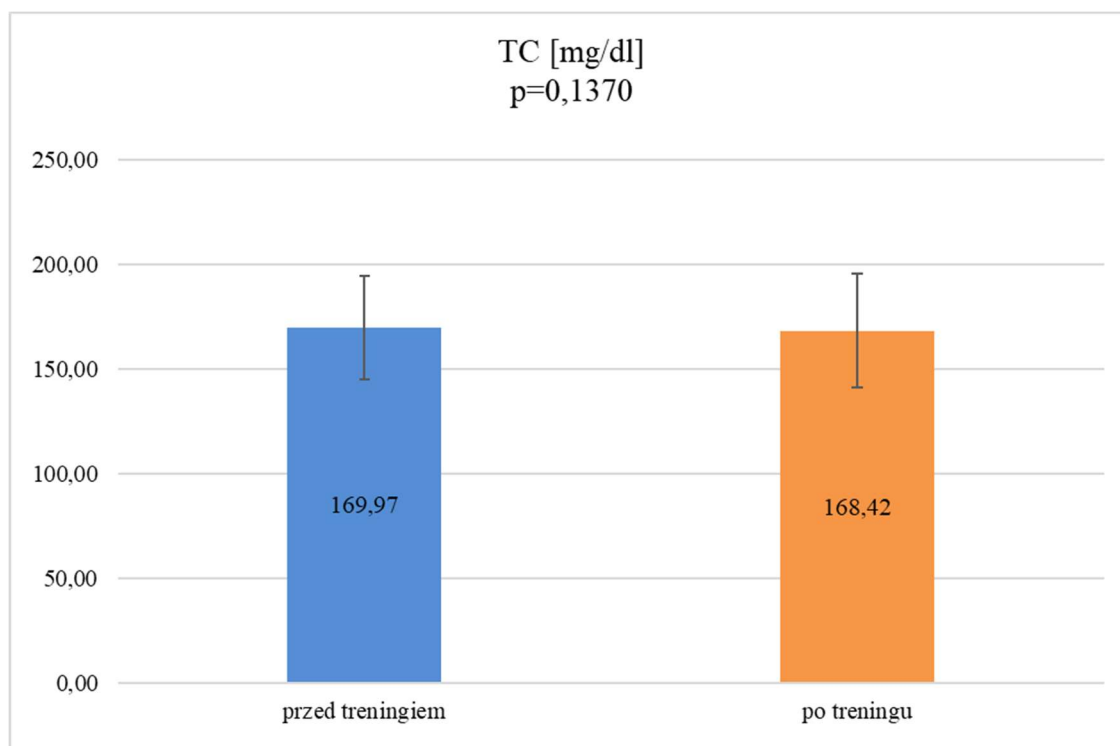
Zaobserwowano nieznaczny wzrost średniej wartości TBW z 33,46 kg przed rozpoczęciem cyklu treningowego do 33,80 kg po jego zakończeniu, przy czym zaobserwowana różnica charakteryzuje się istotnością statystyczną ($p < 0,0001$), co przedstawiono na Wykresie 9.



Wykres 9. Wartości średnie TBW w organizmach uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.

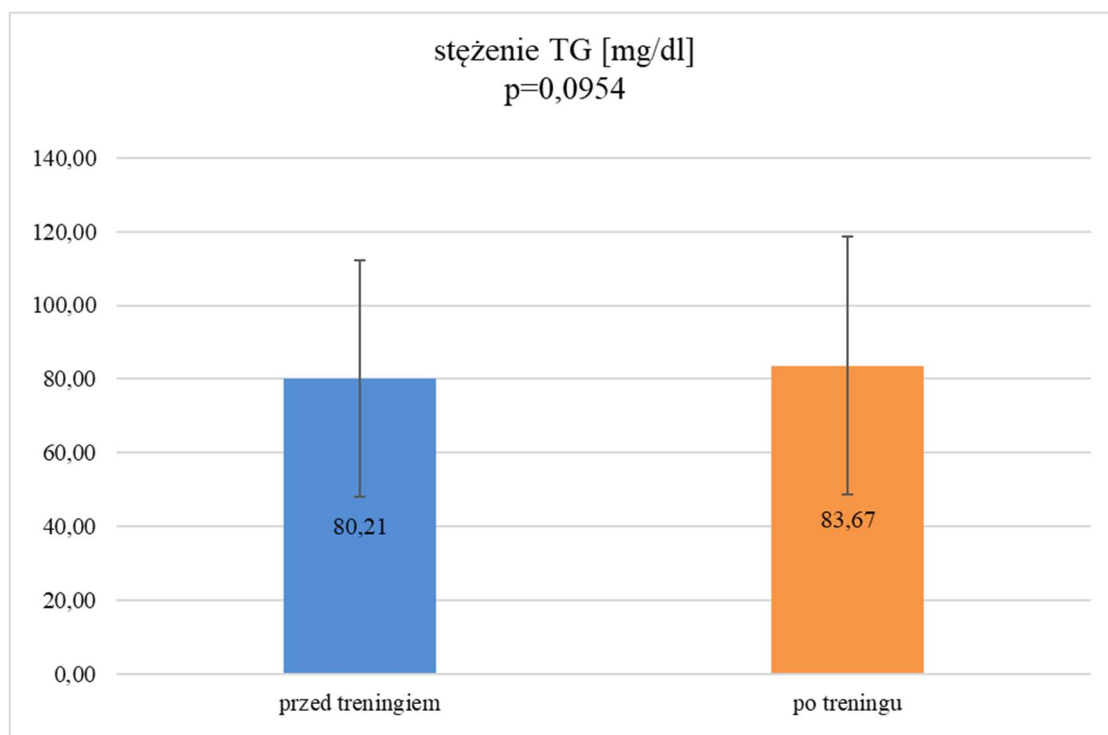
4.2. Wyniki pomiarów biochemicznych

Wyniki pomiarów biochemicznych mierzonych przed i po zakończeniu programu treningowego uzyskano dla 182 uczestniczek. Średnie wartości TC badanego w osoczu krwi zostały przedstawione na Wykresie 10. Wynosiły one odpowiednio: 169,97 mg/dl przed rozpoczęciem cyklu treningowego oraz 168,42 mg/dl po jego zakończeniu, ale zaobserwowana różnica nie osiągnęła progu istotności statystycznej ($p=0,1370$).



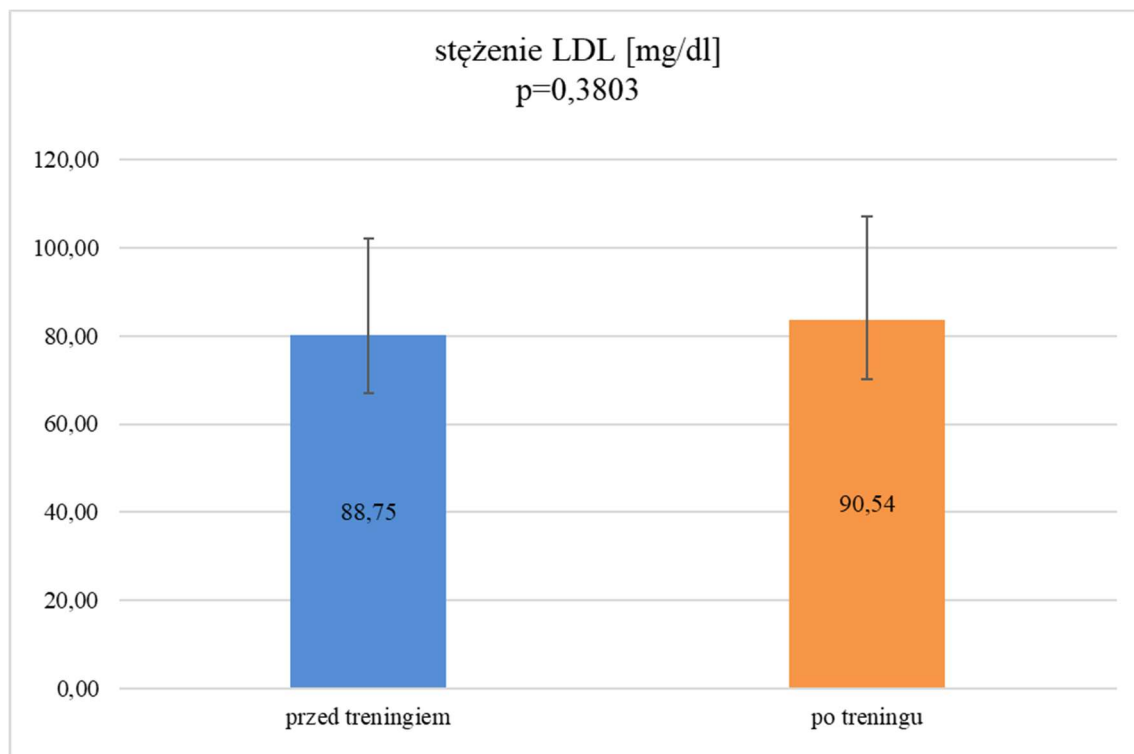
Wykres 10. Wartości średnie TC w osoczu krwi uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.

W prezentowanych badaniach przeprowadzono również pomiary stężeń TG w osoczu krwi uczestniczek. Przed treningiem średnia wartość TG wynosiła 80,21 mg/dl, zaś po ukończeniu całego cyklu treningowego 83,67 mg/dl. Uzyskana zmiana nie osiągnęła progu istotności statystycznej ($p=0,0954$).



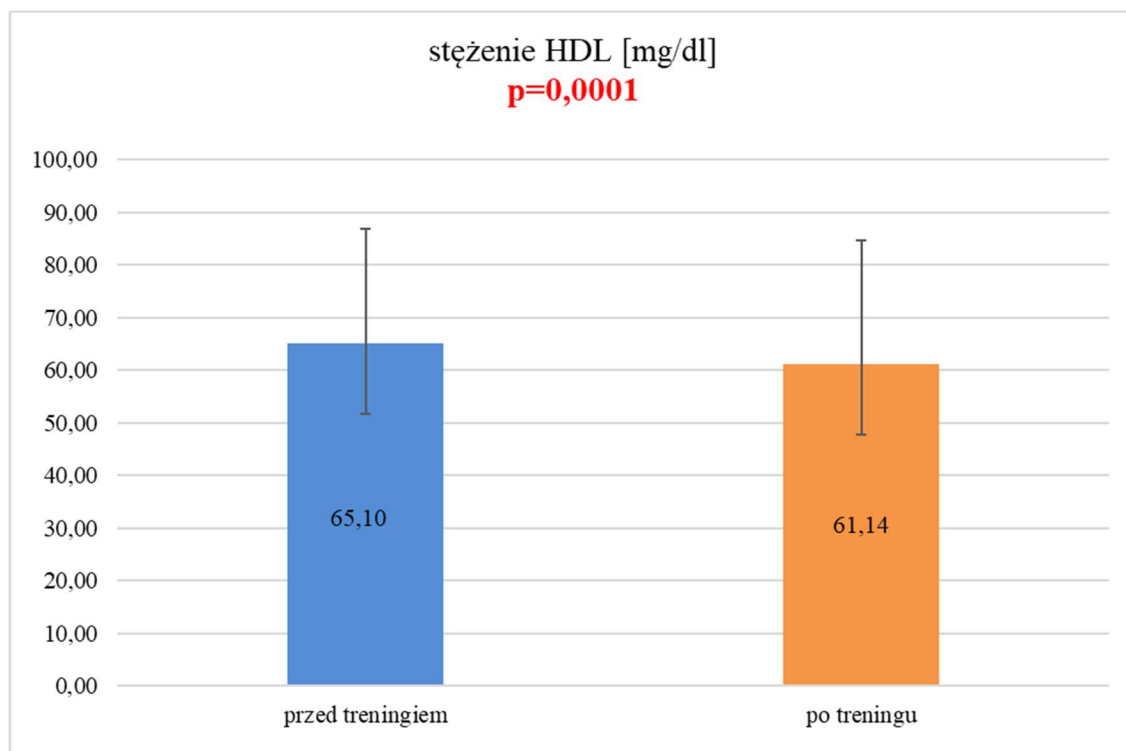
Wykres 11. Wartości średnie TG w osoczu krwi uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.

Zaobserwowano również nieistotny statystycznie ($p=0,3803$) wzrost wartości średnich stężeń LDL. Przed rozpoczęciem programu treningowego wartość tego parametru wynosiła 88,75 mg/dl, zaś po ukończeniu wzrosła do 90,54 mg/dl, co przedstawia Wykres 12.



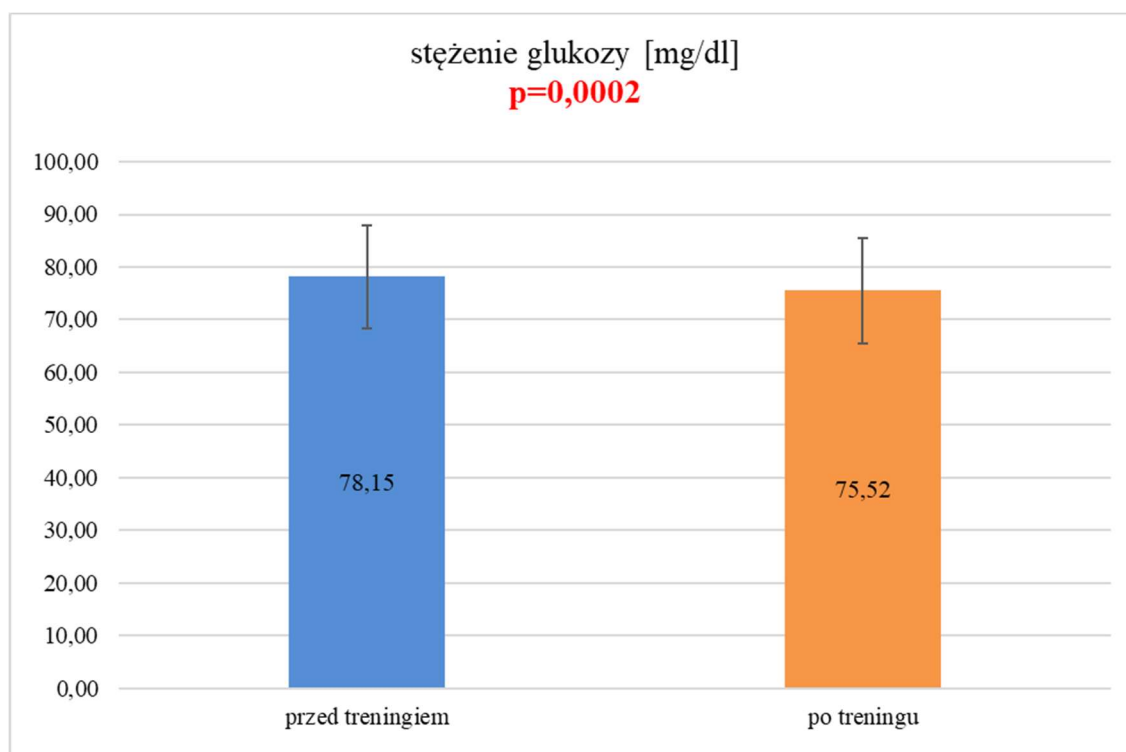
Wykres 12. Wartości średnie LDL w osoczu krwi uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.

Na Wykresie 13 przedstawiono średnie stężenie HDL, które przed treningiem wynosiło 65,10 mg/dl, po czym zmniejszyło się do 61,14 mg/dl po jego ukończeniu. Zaobserwowana różnica była istotna statystycznie ($p=0,0001$).



Wykres 13. Wartości średnie HDL w osoczu krwi uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.

Istotna statystycznie ($p=0,0002$) okazała się również uzyskana różnica pomiędzy średnim stężeniem glukozy u badanych kobiet przed rozpoczęciem treningu oraz po jego zakończeniu, wynosząc odpowiednio 78,15 mg/dl oraz 75,52 mg/dl (Wykres 14).

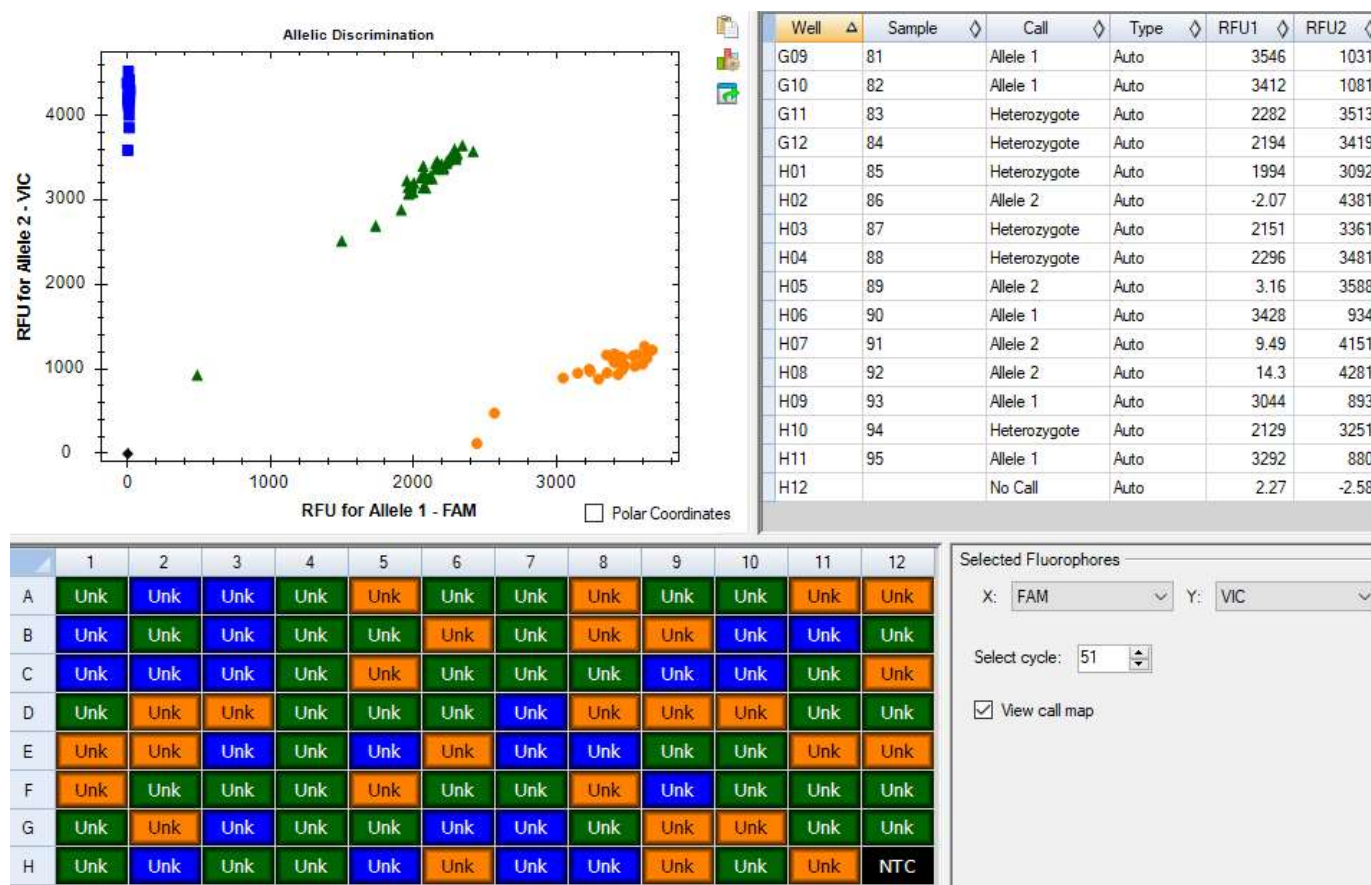


Wykres 14. Wartości średnie stężenia glukozy w osoczu krwi uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.

4.3 Wyniki genotypowania

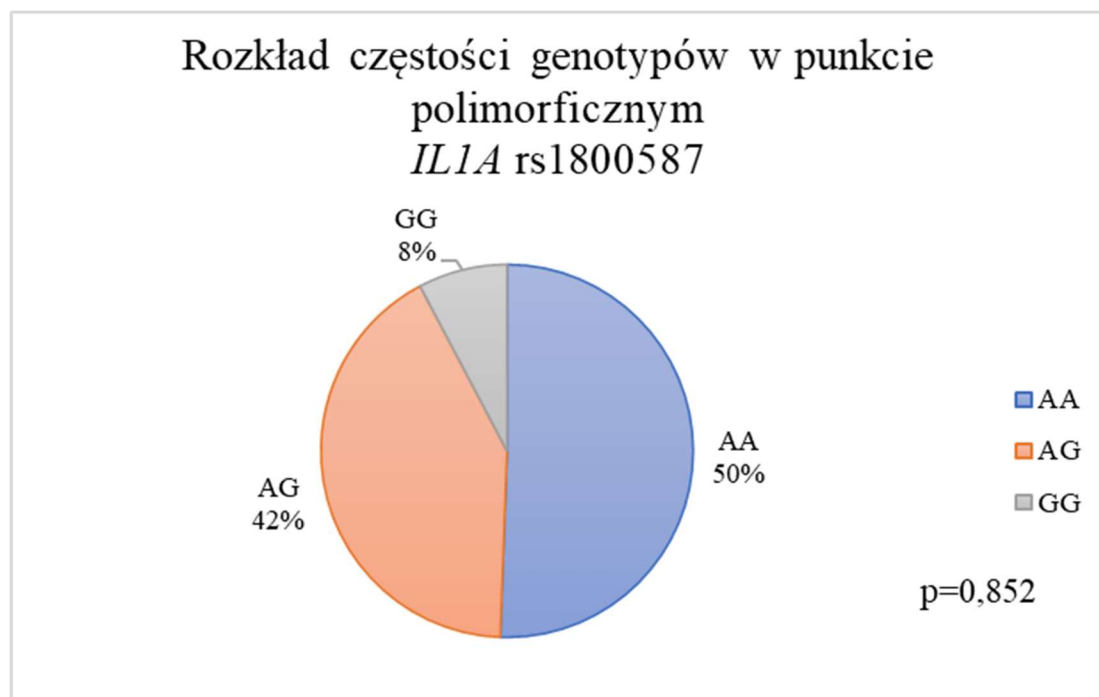
W celu przeprowadzenia badań genetycznych pobrano wymazy nabłonka z jamy ustnej od 201 uczestniczek, które ukończyły kompletny 12-tygodniowy cykl treningowy. Wyizolowany z próbek materiał genetyczny zweryfikowano następnie pod względem ilości, integralności i czystości DNA. Wynik pozytywny tej kontroli uzyskało 168 prób, które zostały poddane dalszej procedurze genotypowania w wybranych miejscach polimorficznych zlokalizowanych w genach *IL1A* oraz *IL6*.

Dla wszystkich uzyskanych próbek DNA odczytano genotypy w badanych miejscach polimorficznych z wykorzystaniem analizy dyskryminacji alleli w oprogramowaniu Bio-Rad CFX Manager 3.1 (Bio-Rad, Niemcy). Przykładowy wynik takiej analizy przedstawiono na Rysunku 6. Błąd genotypowania (ang. genotyping error) wynosił poniżej 1%, zaś poziom odczytu (ang. call rate) przekraczał 95% i był rozumiany jako proporcja prób, których uzyskane wyniki nie budziły żadnych wątpliwości.

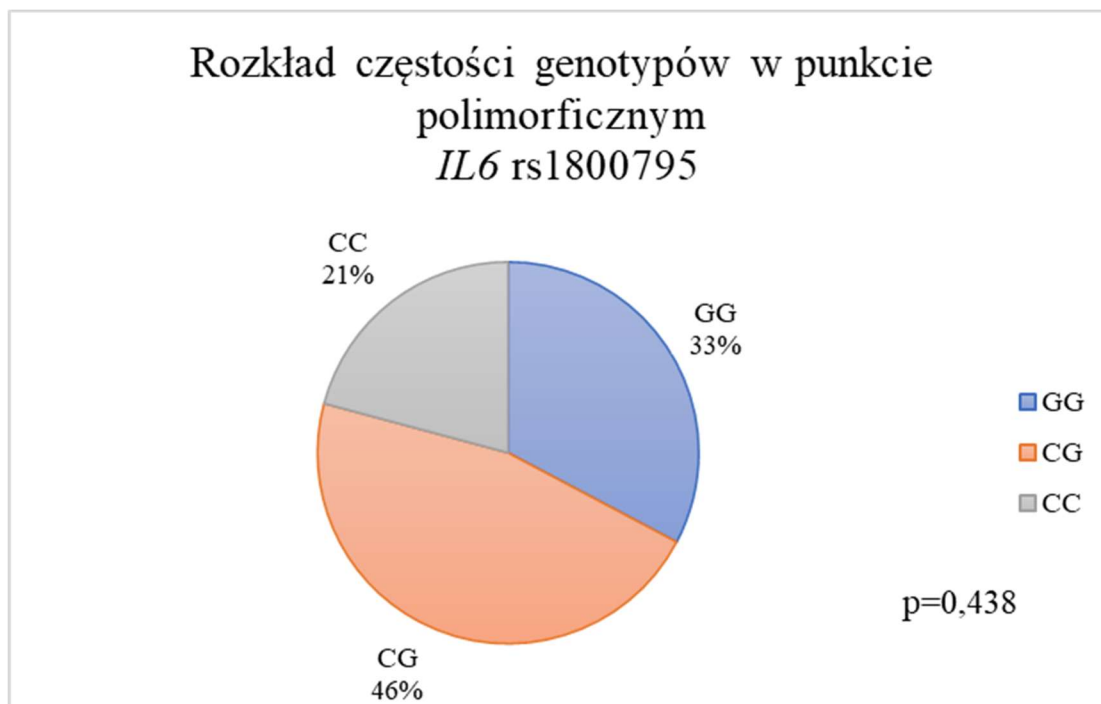


Rysunek 6. Przykładowe wyniki analizy dyskryminacji alleli. W lewej górnej części przedstawiono rzut grupowania analizowanych prób ze względu na rozpoznany genotyp; prawa górna część przedstawia tabelę genotypów przyporządkowanych dla poszczególnych prób; dolna część przedstawia obraz płytki oraz próbki z zaznaczoną zróżnicowaną fluorescencją na poszczególnych kanałach odczytu.

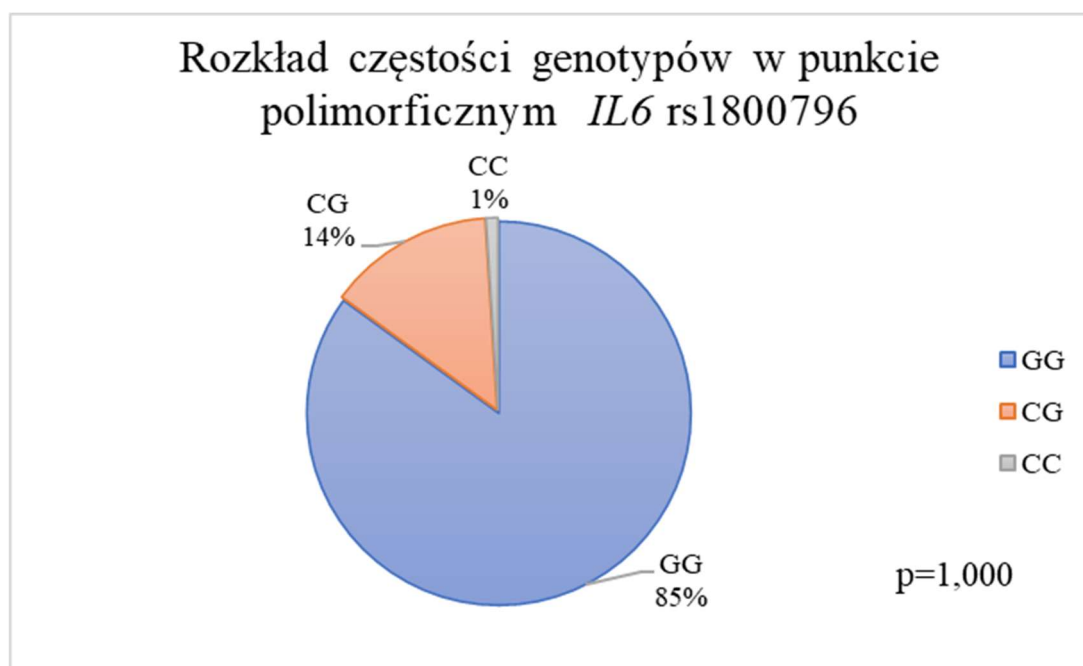
Częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmów zlokalizowanych w genach *IL1A* oraz *IL6* przedstawiono w Tabeli 3. We wszystkich badanych miejscach polimorficznych rozkład częstości genotypów pozostawał w równowadze Hardy'ego-Weinberg'a (HWE) ($p > 0,05$ dla każdego genu testowanego niezależnie), co przedstawiono na Wykresach 15-18.



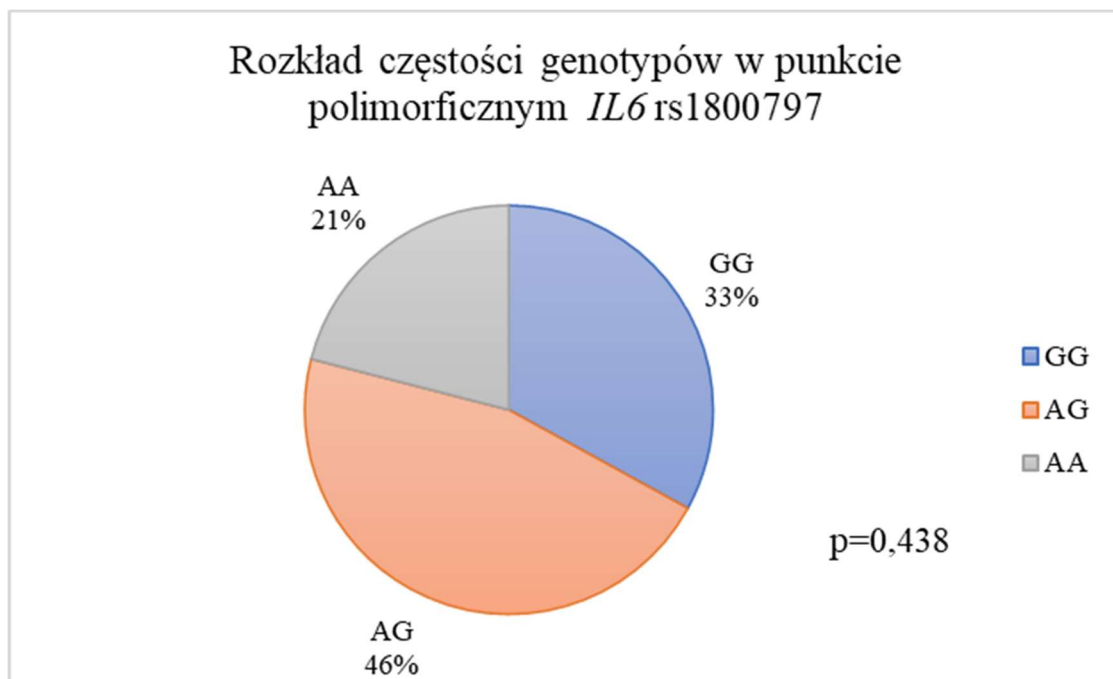
Wykres 15. Rozkład częstości genotypów opisanych w punkcie *IL1A* rs1800587 dla prób DNA uzyskanych od 168 uczestniczek badania.



Wykres 16. Rozkład częstości genotypów opisanych w punkcie *IL6* rs1800795 dla prób DNA uzyskanych od 168 uczestniczek badania.



Wykres 17. Rozkład częstości genotypów opisanych w punkcie *IL6* rs1800796 dla prób DNA uzyskanych od 168 uczestniczek badania.



Wykres 18. Rozkład częstości genotypów opisanych w punkcie *IL6* rs1800797 dla prób DNA uzyskanych od 168 uczestniczek badania.

Tabela 3 Rozkład częstości występowania genotypów i alleli wszystkich analizowanych miejsc polimorficznych w genach *IL1A* i *IL6*

Liczba uczestników badania (n)		168	
<i>IL1A</i> rs1800587	Częstość genotypów	AA n (%)	85 (50,6%)
		AG n (%)	70 (41,7%)
		GG n (%)	13 (7,7%)
	Częstość alleli	A n (%)	240 (71,4%)
		G n (%)	96 (28,6%)
<i>IL6</i> rs1800795	Częstość genotypów	GG n (%)	55 (32,7%)
		CG n (%)	78 (46,4%)
		CC n (%)	35 (20,8%)
	Częstość alleli	G n (%)	188 (56,0%)
		C n (%)	148 (44,0%)

Liczba uczestników badania (n)		168	
<i>IL6</i> rs1800796	Częstość genotypów	GG n (%)	143 (85,1%)
		CG n (%)	24 (14,3 %)
		CC n (%)	1 (0,6%)
	Częstość alleli	G n (%)	310 (92,3%)
		C n (%)	26 (7,7%)
<i>IL6</i> rs1800797	Częstość genotypów	GG n (%)	55 (32,7%)
		AG n (%)	78 (46,4%)
		AA n (%)	35 (20,8%)
	Częstość alleli	G n (%)	188 (56,0%)
		A n (%)	148 (44,0%)

4.4 Wyniki analizy statystycznej

4.4.1 Analiza pojedynczych polimorfizmów

W celu weryfikacji hipotez zakładających, że:

1. obecność określonych alleli i genotypów opisywanych w wybranych punktach polimorficznych (rs1800587 zlokalizowany w genie *IL1A* oraz rs1800795, rs1800796 i rs1800797 zlokalizowane w genie *IL6*) ma wpływ na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu człowieka;
2. wybrane polimorfizmy (rs1800587 zlokalizowany w genie *IL1A* oraz rs1800795, rs1800796 i rs1800797 zlokalizowane w genie *IL6*) mogą być wykorzystane jako markery genetyczne umożliwiające określenie predyspozycji do otyłości i rozwoju niekorzystnych właściwości metabolicznych związanych ze wzrostem masy ciała;

przeprowadzono analizę statystyczną z wykorzystaniem dwuczynnikowego testu analizy wariancji z powtórzonymi pomiarami (ang. two-way ANOVA with repeated measures). W przypadku testów dotyczących polimorfizmu rs1800796 w genie *IL6*, z powodu niskiej częstości występowania (0,6%) homozygot CC, analizowano je łącznie z heterozygotami CT.

Biorąc pod uwagę równoczesny wpływ treningu i genotypu wskazano na istnienie dwóch istotnych statystycznie interakcji:

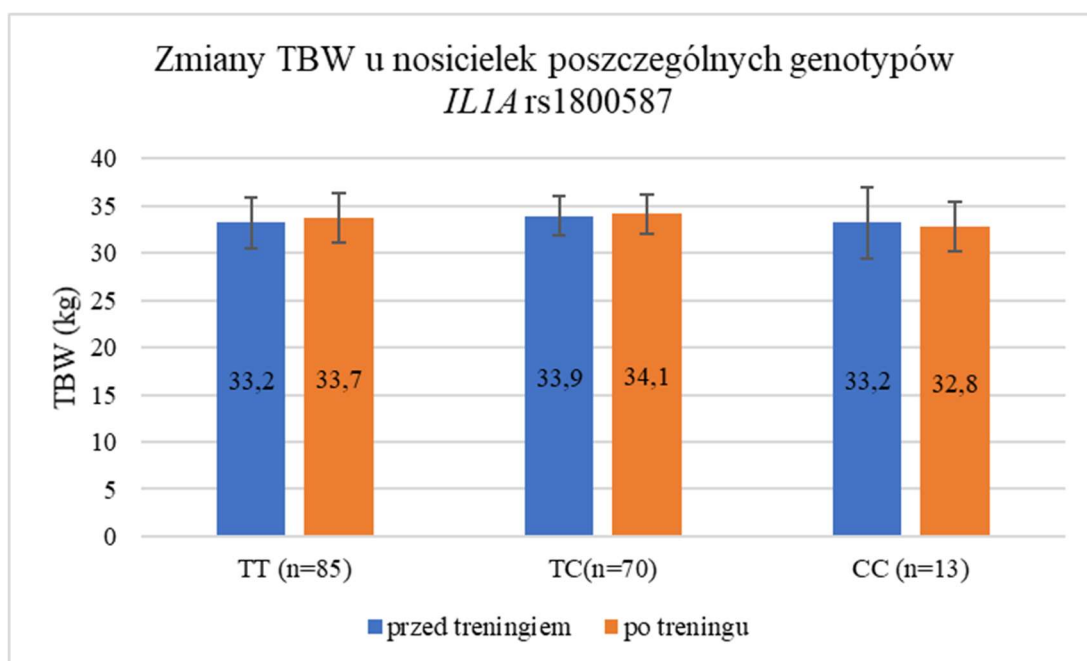
1. pomiędzy częstością genotypów rs1800587 w genie *IL1A* a potreningową reakcją w zakresie zmian poziomu TBW ($p=0,045$; Wykres 19);
2. pomiędzy częstością genotypów rs1800797 w genie *IL6* a potreningową reakcją w zakresie zmian wskaźnika BMI ($p=0,039$; Wykres 20).

Wykazano istotny statystycznie wpływ przeprowadzonego treningu u uczestniczek badania w obrębie takich parametrów jak: masa ciała, BMI, %FM, FM, FFM, TC, stężenie HDL oraz stężenie glukozy dla polimorfizmu *IL1A* rs1800587, *IL6* rs1800797, *IL6* rs1800796, *IL6* rs1800795 (Tabela 4-7). Zaobserwowano również istotny statystycznie wpływ treningu na TBW dla polimorfizmu *IL6* rs1800797, *IL6* rs1800796 oraz *IL6* rs1800795 (Tabela 4-7).

W Tabeli 4 przedstawiono wartości zmian potreningowych poszczególnych parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych dla określonych genotypów opisanych w punkcie polimorficznym rs1800587 *IL1A*. Analiza wpływu genotypu na

wybrane parametry antropometryczne oraz biochemiczne nie wykazała istotności statystycznej dla żadnego z nich. Jednakże można zaobserwować zbliżoną do istotności statystycznej korelację pomiędzy genotypami a wskaźnikiem BMI ($p=0,053$).

Pomimo, że analiza wpływu genotypu oraz treningu badanych oddzielnie na wartości TBW nie uzyskała poziomu istotności statystycznej (odpowiednio $p=0,233$ oraz $p=0,433$), wykazano obecność wspomnianego powyżej istotnego statystycznie ($p=0,045$) związku pomiędzy częstością genotypów rs1800597 w genie *IL1A* a potreningową reakcją w zakresie zmian poziomu TBW. Dla nosicielek genotypu CC odnotowano spadek poziomu TBW w organizmie, podczas gdy dla nosicielek przynajmniej jednego allelu T tendencja była odwrotna (Wykres 19).



Wykres 19. Zmiany TBW u nosicielek poszczególnych genotypów *IL1A* rs1800587.

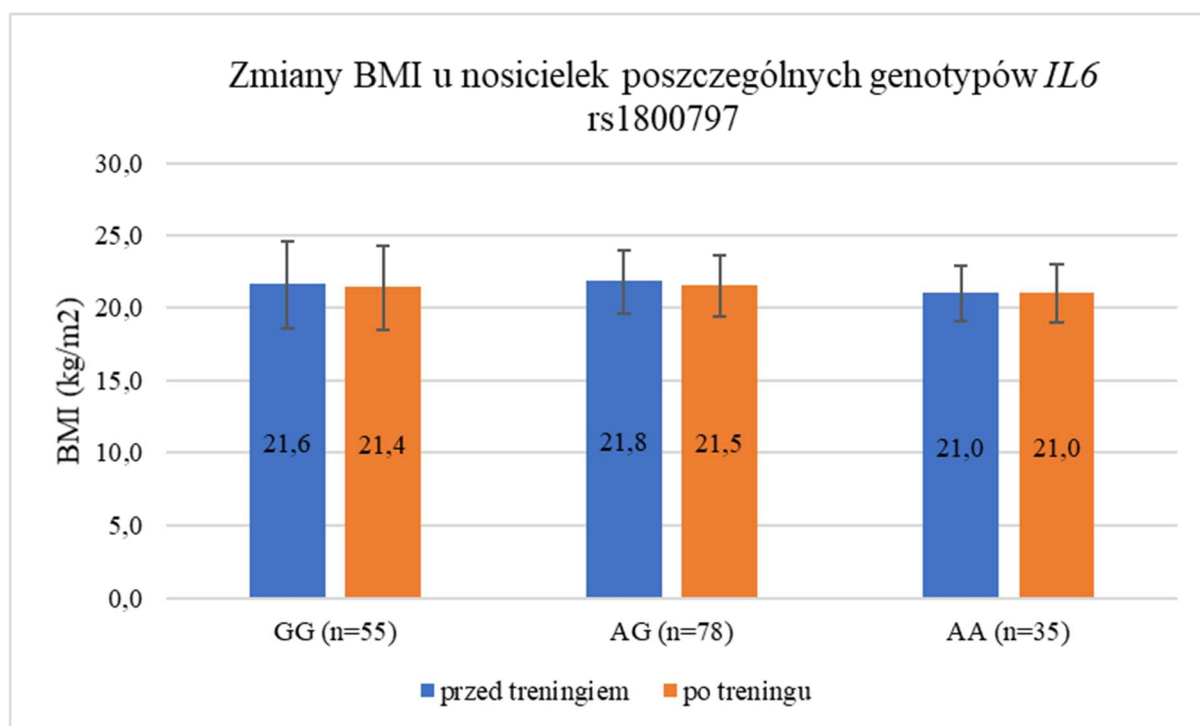
Tabela 4 Korelacja częstości genotypów opisanych dla rs1800587 w genie *IL1A* z uwzględnieniem potreningowych zmian parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych

Zmienna	TT (n=85)		TC (n=70)		CC (n=13)		wartość p dla wpływu genotypu	wartość p dla wpływu treningu	wartość p dla równoczesnego wpływu treningu i genotypu
	przed treningiem $\bar{x} \pm SD$	po treningu $\bar{x} \pm SD$	przed treningiem $\bar{x} \pm SD$	po treningu $\bar{x} \pm SD$	przed treningiem $\bar{x} \pm SD$	po treningu $\bar{x} \pm SD$			
Masa ciała (kg)	60,3 ± 8,0	59,5 ± 7,9	61,4 ± 7,0	60,8 ± 6,9	58,1 ± 8,5	57,4 ± 8,3	0,289	<0,0001*	0,864
BMI (kg/m ²)	21,6 ± 2,4	21,4 ± 2,3	21,8 ± 2,4	21,6 ± 2,4	20,1 ± 2,4	19,9 ± 2,5	0,053	0,0001*	0,926
%FM (%)	23,9 ± 5,5	22,2 ± 5,8	24,1 ± 5,3	23,1 ± 5,5	22,8 ± 5,9	21,2 ± 5,1	0,583	<0,0001*	0,12
FM (kg)	14,7 ± 5,2	13,6 ± 5,3	15,1 ± 4,9	14,4 ± 5,0	13,6 ± 5,3	12,6 ± 4,8	0,482	<0,0001*	0,273
FFM (kg)	45,4 ± 3,4	46,0 ± 3,5	46,2 ± 2,9	46,6 ± 2,9	44,3 ± 3,2	44,6 ± 3,3	0,095	0,005*	0,483
TBW (kg)	33,2 ± 2,7	33,7 ± 2,6	33,9 ± 2,1	34,1 ± 2,1	33,2 ± 3,8	32,8 ± 2,6	0,233	0,433	0,045*
TC (mg/dL)	169,0 ± 26,0	169,0 ± 29,0	169,0 ± 24,0	167,0 ± 26,0	184,0 ± 19,0	174,0 ± 21,0	0,293	0,065	0,238
TG (mg/dL)	76,0 ± 24,0	80,0 ± 27,0	83,0 ± 40,0	85,0 ± 33,0	90,0 ± 33,0	101,0 ± 72,0	0,094	0,13	0,696
HDL (mg/dL)	64,0 ± 13,0	61,0 ± 13,0	66,0 ± 14,0	62,0 ± 15,0	67,0 ± 12,0	60,0 ± 12,0	0,785	0,0001*	0,737
LDL (mg/dL)	89,0 ± 22,0	92,0 ± 26,0	86,0 ± 22,0	88,0 ± 22,0	100,0 ± 23,0	93,0 ± 15,0	0,275	0,795	0,282
Glukoza (mg/dL)	79,0 ± 10,0	76,0 ± 11,0	78,0 ± 10,0	76,0 ± 9,0	78,0 ± 13,0	72,0 ± 8,0	0,705	0,001*	0,388

x- wartość średnia; SD – odchylenie standardowe; BMI-indeks masy ciała; FM – masa tkanki tłuszczowej; FFM – masa beztłuszczowa; TBW-całkowita masa wody w organizmie; TG-stężenie triglicerydów; TC- cholesterol całkowity; HDL-stężenie lipoprotein o dużej gęstości; LDL-stężenie lipoprotein o niskiej gęstości; *różnica istotna statystycznie, przy $p < 0,05$.

Korelację częstości genotypów opisanych dla punktu rs1800797 w genie *IL6* ze zmianami potreningowymi poszczególnych parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych przedstawiono w Tabeli 5. Nie wykazano istotności statystycznej dla żadnego parametru podczas analizy wpływu genotypu na badane parametry.

Choć analiza wpływu genotypu na BMI nie osiągnęła progu istotności statystycznej ($p=0,397$), wykazano obecność wspomnianego powyżej istotnego statystycznie ($p=0,039$) związku pomiędzy częstością genotypów rs1800797 w genie *IL6* a potreningową reakcją w zakresie zmian tego wskaźnika, co zostało przedstawione na Wykresie 20.



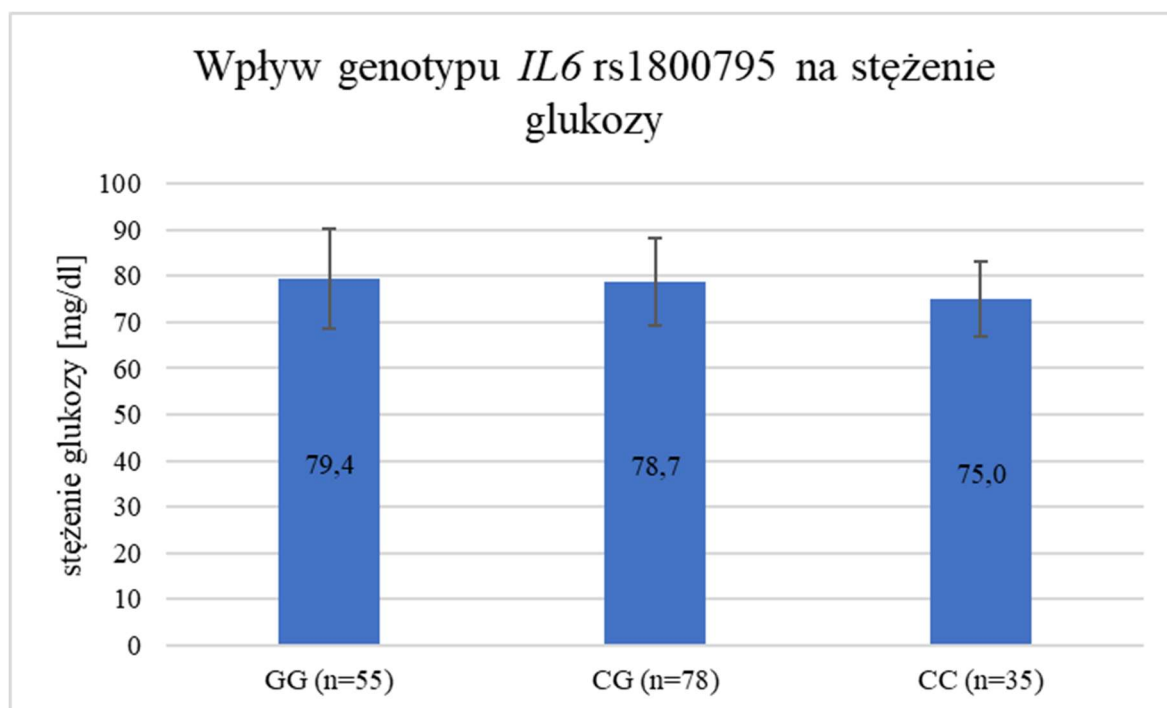
Wykres 20. Zmiany BMI u nosicieli poszczególnych genotypów *IL6* rs1800797.

Tabela 5 Korelacja częstości genotypów opisanych dla rs1800797 w genie *IL6* z uwzględnieniem potreningowych zmian parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych

Zmienna	GG (n=55)		AG (n=78)		AA (n=35)		wartość p dla wpływu genotypu	wartość p dla wpływu treningu	wartość p dla równoczesnego wpływu treningu i genotypu
	przed treningiem x ± SD	po treningu x ± SD	przed treningiem x ± SD	po treningu x ± SD	przed treningiem x ± SD	po treningu x ± SD			
Masa ciała (kg)	60,8 ± 8,4	60,1 ± 8,1	61,0 ± 8,1	60,0 ± 8,0	59,5 ± 5,1	59,1 ± 5,4	0,717	<0,0001*	0,240
BMI (kg/m ²)	21,6 ± 3,0	21,4 ± 2,9	21,8 ± 2,2	21,5 ± 2,1	21,0 ± 1,9	21,0 ± 2,0	0,397	<0,0001*	0,039*
%FM (%)	24,0 ± 5,9	22,9 ± 6,1	24,0 ± 5,6	22,4 ± 5,5	23,4 ± 4,4	22,1 ± 5,0	0,813	<0,0001*	0,506
FM (kg)	15,0 ± 5,6	14,3 ± 5,6	15,0 ± 5,2	13,9 ± 5,2	14,0 ± 3,5	13,2 ± 4,0	0,586	<0,0001*	0,249
FFM (kg)	45,3 ± 3,0	46,0 ± 3,2	45,9 ± 3,4	46,3 ± 3,4	45,2 ± 2,4	46,0 ± 2,8	0,749	<0,0001*	0,191
TBW (kg)	33,5 ± 2,4	33,8 ± 2,5	33,6 ± 2,5	33,9 ± 2,5	33,1 ± 3,0	33,7 ± 2,1	0,780	0,002*	0,635
TC (mg/dL)	169,0 ± 22,0	168,0 ± 26,0	170,0 ± 27,0	167,0 ± 30,0	172,0 ± 24,0	172,0 ± 24,0	0,774	0,516	0,680
TG (mg/dL)	83,5 ± 38,9	83,1 ± 27,4	77,4 ± 30,2	83,6 ± 42,9	81,3 ± 24,1	84,8 ± 25,0	0,839	0,254	0,536
HDL (mg/dL)	66,0 ± 12,2	61,5 ± 13,0	64,6 ± 13,6	59,8 ± 13,7	64,8 ± 14,7	63,4 ± 13,9	0,680	<0,0001*	0,260
LDL (mg/dL)	86,1 ± 19,3	90,0 ± 19,9	89,9 ± 23,7	90,5 ± 25,6	90,5 ± 22,0	91,5 ± 24,7	0,769	0,253	0,627
Glukoza (mg/dL)	79,2 ± 10,8	76,7 ± 10,1	79,0 ± 9,4	75,8 ± 9,9	74,7 ± 8,3	73,0 ± 10,3	0,061	0,003*	0,780

x-wartość średnia; SD – odchylenie standardowe; BMI-indeks masy ciała; FM – masa tkanki tłuszczowej; FFM – masa beztłuszczowa; TBW-całkowita masa wody w organizmie; TG-stężenie triglicerydów; TC-cholesterol całkowity; HDL-stężenie lipoprotein o dużej gęstości; LDL-stężenie lipoprotein o niskiej gęstości; *różnica istotna statystycznie, przy p<0,05.

Analiza częstości poszczególnych genotypów w obrębie polimorfizmu rs1800795 w genie *IL6* na odpowiedź potreningową nie wykazała istotności statystycznej dla żadnego badanego parametru. Wykazano jednakże istotny statystycznie wpływ genotypu na wartości stężeń glukozy ($p=0,034$). U homozygot CC zaobserwowano najniższy poziom glukozy, u homozygot GG najwyższy, a u heterozygot odnotowano wartości pośrednie przez cały okres trwania badań (Wykres 21).



Wykres 21. Wpływ poszczególnych genotypów *IL6* rs1800795 na stężenia glukozy.

Tabela 6 Korelacja częstości genotypów opisanych dla rs1800795 w genie *IL6* z uwzględnieniem potreningowych zmian parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych

Zmienna	GG (n=55)		CG (n=78)		CC (n=35)		wartość p dla wpływu genotypu	wartość p dla wpływu treningu	wartość p dla równoczesnego wpływu treningu i genotypu
	przed treningiem x ± SD	po treningu x ± SD	przed treningiem x ± SD	po treningu x ± SD	przed treningiem x ± SD	po treningu x ± SD			
Masa ciała (kg)	60,3 ± 8,4	59,5 ± 8,2	61,3 ± 8,0	60,5 ± 8,0	59,4 ± 5,0	58,9 ± 5,3	0,505	<0,0001*	0,488
BMI (kg/m ²)	21,6 ± 3,0	21,3 ± 2,9	21,8 ± 2,2	21,6 ± 2,1	21,1 ± 1,9	21,0 ± 2,0	0,39	<0,0001*	0,109
%FM (%)	23,7 ± 6,1	22,5 ± 6,4	24,2 ± 5,4	22,7 ± 5,4	23,5 ± 4,5	22,2 ± 5,0	0,847	<0,0001*	0,831
FM (kg)	14,7 ± 5,8	13,9 ± 5,8	15,2 ± 5,1	14,1 ± 5,1	14,1 ± 3,6	13,2 ± 4,0	0,599	<0,0001*	0,562
FFM (kg)	45,6 ± 3,3	45,9 ± 3,2	46,0 ± 3,5	46,5 ± 3,5	45,0 ± 2,3	45,8 ± 2,8	0,383	<0,0001*	0,191
TBW (kg)	33,4 ± 2,4	33,7 ± 2,5	33,7 ± 2,5	34,0 ± 2,5	33,0 ± 2,9	33,5 ± 2,0	0,447	0,002*	0,669
TC (mg/dL)	168,0 ± 21,0	166,0 ± 21,0	169,0 ± 27,0	168,0 ± 32,0	174,0 ± 25,0	173,0 ± 25,0	0,497	0,375	0,974
TG (mg/dL)	83,1 ± 39,0	81,8 ± 27,7	77,2 ± 30,2	84,0 ± 42,9	82,5 ± 23,8	85,9 ± 24,2	0,824	0,27	0,376
HDL (mg/dL)	65,9 ± 12,3	61,9 ± 13,1	64,7 ± 13,6	59,7 ± 13,7	64,7 ± 14,7	63,1 ± 13,9	0,679	0,00009*	0,306
LDL (mg/dL)	85,7 ± 18,8	88,0 ± 17,2	89,2 ± 23,5	91,5 ± 26,5	92,5 ± 23,1	92,4 ± 25,3	0,411	0,364	0,814
Glukoza (mg/dL)	79,4 ± 10,9	77,2 ± 9,9	78,7 ± 9,6	75,8 ± 10,4	75,0 ± 8,0	72,3 ± 9,1	0,034*	0,002*	0,933

x- wartość średnia; SD – odchylenie standardowe; BMI-indeks masy ciała; FM – masa tkanki tłuszczowej; FFM – masa beztłuszczowa; TBW-całkowita masa wody w organizmie; TG-stężenie triglicerydów; TC- cholesterol całkowity; HDL-stężenie lipoprotein o dużej gęstości; LDL-stężenie lipoprotein o niskiej gęstości, *różnica istotna statystycznie, przy p<0,05.

Tabela 7 przedstawia wyniki analizy statystycznej dla punktu polimorficznego rs1800796 -572 G>C w obrębie odcinka promotorowego *IL6*. Analiza równoczesnego wpływu przeprowadzonego programu treningowego i genotypu nie wykazała istotnych statycznie korelacji. Nie wykazano również istotności statystycznej poszczególnych genotypów wobec badanych parametrów.

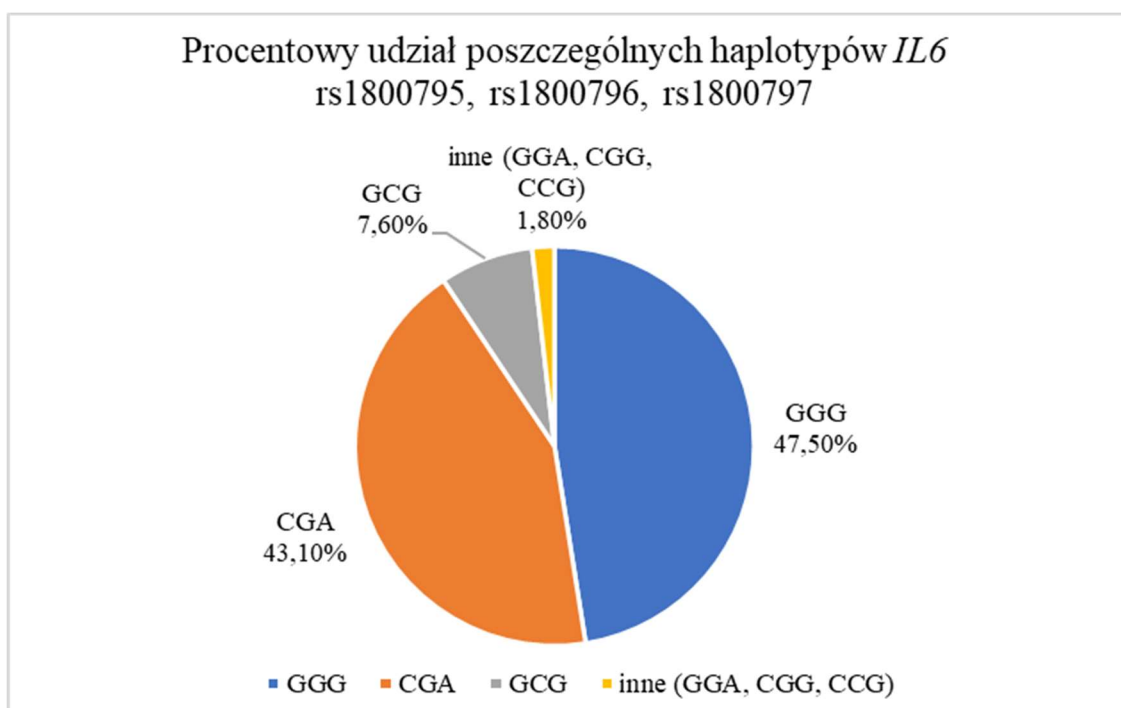
Tabela 7 Korelacja częstości genotypów opisanych dla rs1800796 w genie *IL6* z uwzględnieniem potreningowych zmian parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych

Zmienna	GG (n=143)		CC+CG (n=25)		wartość p dla wpływu genotypu	wartość p dla wpływu treningu	wartość p dla równoczesnego wpływu treningu i genotypu
	przed treningiem $\bar{x} \pm SD$	po treningu $\bar{x} \pm SD$	przed treningiem $\bar{x} \pm SD$	po treningu $\bar{x} \pm SD$			
Masa ciała (kg)	60,3 $\pm$ 7,1	59,5 $\pm$ 7,0	62,3 $\pm$ 10,1	61,7 $\pm$ 9,7	0,207	0,00009*	0,675
BMI (kg/m ²)	21,5 $\pm$ 2,3	21,3 $\pm$ 2,3	22,1 $\pm$ 3,0	21,9 $\pm$ 2,9	0,211	0,0004*	0,476
%FM (%)	23,8 $\pm$ 5,3	22,5 $\pm$ 5,4	24,1 $\pm$ 6,6	22,8 $\pm$ 6,9	0,794	<0,0001*	0,993
FM (kg)	14,7 $\pm$ 4,7	13,7 $\pm$ 4,8	15,6 $\pm$ 6,7	14,8 $\pm$ 6,7	0,349	<0,0001*	0,718
FFM (kg)	45,5 $\pm$ 3,0	45,9 $\pm$ 3,1	46,7 $\pm$ 4,0	47,1 $\pm$ 3,8	0,086	0,001*	0,842
TBW (kg)	33,3 $\pm$ 2,5	33,7 $\pm$ 2,3	34,2 $\pm$ 2,9	34,6 $\pm$ 2,7	0,098	0,017*	0,783
TC (mg/dL)	171,0 $\pm$ 24,0	169,0 $\pm$ 26,0	163,0 $\pm$ 26,0	165,0 $\pm$ 33,0	0,246	0,915	0,261
TG (mg/dL)	79,8 $\pm$ 28,2	83,2 $\pm$ 34,3	82,6 $\pm$ 50	86,4 $\pm$ 38,9	0,643	0,317	0,955
HDL (mg/dL)	65,2 $\pm$ 13,4	61,4 $\pm$ 13,1	64,5 $\pm$ 13,2	59,3 $\pm$ 15,7	0,589	0,0002*	0,535
LDL (mg/dL)	90,0 $\pm$ 22,3	90,8 $\pm$ 23,3	81,7 $\pm$ 18,9	88,9 $\pm$ 25,6	0,251	0,061	0,134
Glukoza (mg/dL)	78,0 $\pm$ 9,8	75,6 $\pm$ 10,2	78,8 $\pm$ 9,9	75,1 $\pm$ 9,3	0,929	0,006*	0,561

$\bar{x}$ - wartość średnia; SD – odchylenie standardowe; BMI-indeks masy ciała; FM – masa tkanki tłuszczowej; FFM – masa beztłuszczowa; TBW-całkowita masa wody w organizmie; TG-stężenie triglicerydów; TC-cholesterol całkowity; HDL-stężenie lipoprotein o dużej gęstości; LDL-stężenie lipoprotein o niskiej gęstości; *różnica istotna statystycznie, przy $p < 0,05$.

4.4.2 Analiza haplotypów genów *IL6* (rs1800795, 1800796, 1800797)

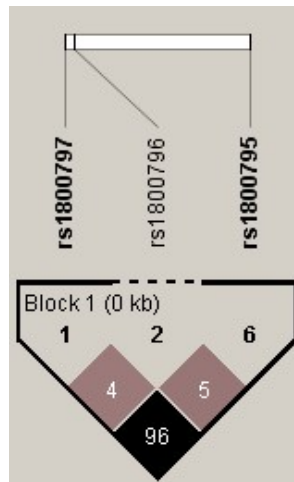
W niniejszym badaniu wykonano analizę haplotypów dla miejsc polimorficznych rs1800795, rs1800796 oraz rs1800797 odcinka promotorowego genu *IL6*, w celu zidentyfikowania związku wyróżnionych haplotypów z parametrami składu ciała oraz biochemicznymi. Z ośmiu możliwych teoretycznie haplotypów (teoretyczna maksymalna liczba haplotypów wynosi 2^n , gdzie n to liczba *loci* w postaci heterozygotycznej) dla 168 uczestniczek badania otrzymano sześć haplotypów, z czego trzy z nich: GGG, CGA, GCG (rs1800795, 1800796, 1800797) występowały z częstością wyższą niż 1%, stanowiąc 98,2% wszystkich haplotypów. Wykres 22 przedstawia rozkład procentowy poszczególnych haplotypów.



Wykres 22. Częstość występowania poszczególnych haplotypów *IL6* wśród 168 uczestniczek badania.

Przeprowadzona analiza częstości haplotypów w powyższych punktach polimorficznych *IL6* sugerowała silny związek między miejscami polimorficznymi *IL6* rs1800795 oraz rs1800797. Celem potwierdzenia tego związku zastosowano wzorzec równowagi sprzężeń (ang. linkage disequilibrium, LD) dla 1000 genomów populacji

zachodniej Europy (Rysunek 7). W ten sposób potwierdzono nielosowe powiązanie alleli w populacji ogólnej.



Rysunek 7. Wzorzec równowagi sprzężeń wśród rs1800795, rs1800796 oraz rs1800797 dla 1000 genomów populacji zachodnioeuropejskiej. Wartości przedstawiają $r^2 \times 100$ ze schematem kolorów od białego ($r^2=0$) do czarnego ($r^2=1$).

Przeprowadzona analiza haplotypów nie stwierdziła istotnie statystycznych zależności między najczęściej występującymi haplotypami: GGG, CGA, GCG, a odpowiedzią potreningową u uczestniczek badania. Jednakże rzadko występujące haplotypy *IL6* tj: GGA, CGG oraz CCG związane były z mniejszymi zmianami kilku fenotypów tj. masy ciała ($p=0,002$), BMI ($p<0,0001$), %FM ($p=0,017$), FM ($p<0,0001$), FFM ($p<0,0001$), TC ($p<0,0001$), stężenia TG ($p<0,0001$), stężenia HDL ($p<0,0001$), stężenia LDL ($p<0,0001$), stężenia glukozy ($p<0,0001$), w modelu recesywnym (Tabela 8). Jednak szacowanie indywidualnych efektów haplotypów nie było możliwe.

Tabela 8 Analiza haplotypów *IL6* (rs1800795, 1800796, 1800797) - liniowy model zmian składu ciała i parametrów biochemicznych podczas treningu z wartościami wyjściowymi (przed treningiem) jako zmiennymi towarzyszącymi

		genotypy		
		CGA	GCG	genotypy rzadkie (GGA, CGG, CCG)
Masa ciała (kg)	OVER	0,17 (0,17), p=0,339	0,36 (0,34), p=0,290	0,48 (0,66), p=0,472
	DOM	0,07 (0,26), p=0,798	0,22 (0,35), p=0,543	0,40 (0,66), p=0,550
	REC	0,32 (0,29), p=0,280	2,43 (1,52), p=0,112	-5,89 (1,84), p=0,002*
BMI (kg/m ²)	OVER	0,09 (0,06), p=0,114	0,16 (0,11), p=0,131	0,18 (0,21), p=0,409
	DOM	0,04 (0,08), p=0,659	0,11 (0,11), p=0,328	0,14 (0,21), p=0,532
	REC	0,17 (0,09), p=0,059	0,77 (0,45), p=0,093	-1,99 (0,34), p<0,0001*
%FM (%)	OVER	-0,11 (0,25), p=0,656	0,02 (0,48), p=0,962	0,70 (0,94), p=0,456
	DOM	-0,30 (0,37), p=0,430	-0,12 (0,50), p=0,813	0,65 (0,94), p=0,486
	REC	-0,03 (0,42), p=0,953	2,61 (2,20), p=0,236	-7,51 (3,13), p=0,017*
FM (kg)	OVER	-0,10 (0,18), p=0,583	0,16 (0,35), p=0,638	0,60 (0,68), p=0,379
	DOM	-0,30 (0,27), p=0,271	0,06 (0,36), p=0,870	0,55 (0,86), p=0,421
	REC	-0,01 (0,30), p=0,961	2,06 (1,54), p=0,184	-6,63 (1,64), p<0,0001*
FFM (kg)	OVER	0,26 (0,14), p=0,062	0,24 (0,27), p=0,362	-0,26 (0,53), p=0,625
	DOM	0,32 (0,21), p=0,135	0,22 (0,28), p=0,434	-0,30 (0,53), p=0,576
	REC	0,41 (0,23), p=0,075	0,10 (1,19), p=0,931	5,49 (1,19), p<0,0001*
TBW (kg)	OVER	0,14 (0,14), p=0,346	0,29 (0,28), p=0,300	0,14 (0,55), p=0,794
	DOM	0,18 (0,22), p=0,409	0,32 (0,29), p=0,273	0,13 (0,55), p=0,808
	REC	0,13 (0,25), p=0,610	-0,40 (1,31), p=0,763	0,17 (12,50), p=0,989
TC (mg/dL)	OVER	1,20 (2,27), p=0,597	2,15 (5,24), p=0,682	12,37 (8,44), p=0,145
	DOM	0,42 (3,40), p=0,901	1,65 (5,48), p=0,763	1,84 (8,45), p=0,163
	REC	2,16 (3,89), p=0,579	1,59 (2,03), p=0,938	-7,11 (5,028e-03), p<0,0001*

		genotypy		
		CGA	GCG	genotypy rzadkie (GGA, CCG, CCG)
TG (mg/dL)	OVER	2,14 (3,36), p=0,524	0,02 (6,54), p=0,997	-6,43 (12,70), p=0,613
	DOM	4,52 (5,06), p=0,373	2,00 (6,80), p=0,769	-5,91 (12,69), p=0,642
	REC	3,73 (4,54), p=0,412	-32,92 (27,43), p=0,232	171 (17), p<0,0001*
HDL (mg/dL)	OVER	0,76 (1,11), p=0,498	-1,54 (2,15), p=0,475	4,64 (4,22), p=0,273
	DOM	-0,44 (1,68), p=0,794	-2,12 (2,26), p=0,349	4,03 (4,22), p=0,341
	REC	2,99 (1,92), p=0,121	-2,67 (1,00), p=0,790	-31,09 (5,504e-03), p<0,0001*
LDL (mg/dL)	OVER	0,12 (2,07), p=0,955	3,75 (4,06), p=0,357	8,97 (9,37), p=0,340
	DOM	-0,07 (3,13), p=0,983	2,88 (4,40), p=0,513	8,68 (9,82), p=0,378
	REC	-0,76 (1,87), p=0,833	18,59 (18,71), p=0,322	-6,54 (4,208e-03), p<0,0001*
Glukoza (mg/dL)	OVER	-1,16 (1,00), p=0,247	-0,96 (2,13), p=0,652	5,10 (3,87), p=0,189
	DOM	-0,96 (1,49), p=0,520	-0,57 (2,12), p=0,796	5,32 (3,73), p=0,156
	REC	-2,37 (1,72), p=0,171	-1,48 (9,11), p=0,871	-20,73 (2,653e-03), p<0,0001*

Przedstawione wartości to iloraz szans (przedział ufności) przed poprawką FDR; OVER- model naddominujący; DOM-model dominujący; REC – model recesywny; BMI – indeks masy ciała; FM – masa tkanki tłuszczowej; FFM – masa beztłuszczowa; TBW– całkowita masa wody w organizmie; TG –stężenie triglicerydów; TC – cholesterol całkowity; HDL – stężenie lipoprotein o dużej gęstości; LDL – stężenie lipoprotein o niskiej gęstości; *różnica istotna statystycznie, przy p<0,05.

4.4.3 Analiza interakcji międzygenowych

Mając na względzie możliwość interakcji między poszczególnymi genami oraz silną nierównowagę sprzężeń między wariantami rs1800795 i rs1800797 *IL6* zbadano interakcje pomiędzy *IL1A* rs1800587 a *IL6* rs1800795, jak również *IL1A* rs1800587 a *IL6* rs1800796 (Tabela 9-10, odpowiednio). Oddziaływania międzygenowe analizowano dla pojedynczych *loci*. Analizę ograniczono do interakcji drugiego stopnia, tj. każdorazowo badano oddziaływania pomiędzy dwoma genami.

Współwystępowanie polimorfizmów genu *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 wykazywało istotny wpływ na %FM oraz FM ($p=0,045$; $p=0,040$, odpowiednio) u uczestniczek będących nosicielkami genotypu TC-GG (model heterozygotyczno-homozygotyczny HET-HOM2, Tabela 9). Analogiczną interakcję zaobserwowano dla polimorfizmu genu *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800796, co przekładało się na istotne zmiany %FM ($p=0,045$) u nosicielek genotypu TC-GG (model heterozygotyczno-homozygotyczny HET-HOM2, Tabela 8). Zmiana w %FM i FM w okresie treningu była zwykle wyższa u nosicieli genotypu heterogenetycznego (TC) dla wariantu *IL1A* i homozygotycznego (GG) *IL6*. Chociaż te interakcje były nominalnie istotne, żadna z nich nie pozostawała istotna po wielokrotnej korekcie testów (ang. False Discovery Rate correction, FDR correction). Wykazano również, iż współwystępowanie wariantów *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 wiązało się ze znaczącą zmianą stężenia TG w modelu homozygotyczno-heterozygotycznym (HOM1-HET) ($p=5,47e-06$, Tabela 9). W przeciwieństwie do wcześniejszych analiz, wpływ interakcji *IL1A* rs1800587 i *IL6* rs1800795 na zmianę stężeń TG pozostał istotny po korekcie FDR. Kobiety, u których współlistniały warianty *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 w modelu homozygotyczno-heterozygotycznego (HOM1-HET genotyp CC-CG) miały istotnie większą zmianę TG w okresie treningu (współczynnik 77,31, SD = 16,45, wartość p po korekcie FDR $6,017e-05$, Tabela 9).

Tabela 9 Interakcja *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 - model liniowy zmian składu ciała i parametrów lipidowych podczas treningu z wartościami wyjściowymi (przed treningiem) jako zmiennymi towarzyszącymi

	DOM	REC	HOM-HET	HOM1-HET CC-CG	HOM2-HET TT-CG	HET-HOM1 TC-CC	HET-HOM2 TC-GG
Masa ciała (kg)	0,15 (0,26), p=0,577	0,59 (0,71), p=0,407	0,06 (0,24), p=0,807	-0,42 (0,92), p=0,644	-0,12 (0,28), p=0,677	0,40 (0,51), p=0,433	0,16 (0,33), p=0,626
BMI (kg/m ²)	0,02 (0,08), p=0,768	0,23 (0,23), p=0,308	0,002 (0,08), p=0,976	-0,16 (0,29), p=0,592	-0,06 (0,09), p=0,470	0,14 (0,16), p=0,407	0,06 (0,11), p=0,582
%FM (%)	0,23 (0,37), p=0,537	-0,48 (1,01), p=0,632	0,67 (0,34), p=0,051*	0,57 (1,30), p=0,660	-0,19 (0,40), p=0,636	1,18 (0,72), p=0,103	0,93 (0,46), p=0,045*
FM (kg)	0,05 (0,27), p=0,861	-0,10 (0,73), p=0,891	0,41 (0,25), p=0,010*	0,21(0,94), p=0,825	-0,16 (0,29), p=0,570	0,66 (0,52), p=0,213	0,69 (0,33), p=0,040*
FFM (kg)	-0,12 (0,21), p=0,579	0,75 (0,57), p=0,187	-0,13 (0,19), p=0,497	-0,92 (0,73), p=0,210	0,10 (0,22), p=0,644	-0,56 (0,41), p=0,168	-0,03 (0,26), p=0,896
TBW (kg)	-0,25 (0,22), p=0,246	-1,15 (0,58), p=0,050	-0,19 (0,20), p=0,348	-0,89 (0,75), p=0,238	0,01 (0,23), p=0,961	-0,49 (0,42), p=0,244	-0,04 (0,27), p=0,874
TC (mg/dL)	1,16 (3,38), p=0,732	-10,46 (9,16), p=0,255	-3,84 (3,09), p=0,217	8,26 (11,72), p=0,482	-2,99 (3,58), p=0,404	-0,53 (6,61), p=0,936	-3,79 (4,22), p=0,370
TGL (mg/dL)	8,08 (5,01), p=0,109	-8,32 (13,63), p=0,542	1,26 (4,62), p=0,786	77,31 (16,45), p=5,47e-06*	-3,71 (5,36), p=0,491	5,34 (9,87), p=0,589	-4,78 (6,31), p=0,450
HDL (mg/dL)	-0,50 (1,68), p=0,765	-3,11 (4,54), p=0,493	0,46 (1,55), p=0,767	-2,55 (5,82), p=0,661	-1,27 (1,78), p=0,477	5,24 (3,26), p=0,109	0,79 (2,10), p=0,706
LDL (mg/dL)	0,35 (3,12), p=0,911	-4,16 (8,47), p=0,624	-4,16 (2,85), p=0,146	-3,49 (10,84), p=0,748	-0,95 (3,31), p=0,774	-5,46 (6,04), p=0,368	-3,70 (3,91), p=0,345
Glukoza (mg/dL)	-0,37 (1,50), p=0,803	-6,06 (4,00), p=0,132	-0,68 (1,37), p=0,619	-0,64 (5,17), p=0,901	-0,82 (1,58), p=0,607	-1,27 (2,92), p=0,665	0,47 (1,86), p=0,803

Przedstawione wartości to iloraz szans (przedział ufności) przed poprawką FDR; DOM – model dominujący: przynajmniej jeden allel ryzyka w obu *loci*; REC – model recesywny: homozygoty dla allelu ryzyka w obu *loci*; HOM-HET – ogólny model homozygota – heterozygota obejmujący cztery kombinacje analizowane indywidualnie w kolejnych kolumnach tabeli, HOM1 – homozygota dla allelu ryzyka; HOM2 – homozygota dla allelu głównego; BMI-indeks masy ciała; FM – masa tkanki tłuszczowej; FFM – masa beztłuszczowa; TBW-całkowita masa wody w organizmie; TG-stężenie triglicerydów; TC-cholesterol całkowity; HDL-stężenie lipoprotein o dużej gęstości; LDL-stężenie lipoprotein o niskiej gęstości; *różnica istotna statystycznie, przy p<0,05.

Tabela 10 Interakcja *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800796 - model liniowy zmian składu ciała i parametrów lipidowych podczas treningu z wartościami wyjściowymi (przed treningiem) jako zmiennymi towarzyszącymi

	DOM	REC	HOM-HET	HOM1-HET CC-CG	HOM2-HET TT-CG	HET-HOM1 TC-CC	HET-HOM2 TC-GG
Masa ciała (kg)	0,33 (0,49), p=0,497	N/A	0,18 (0,24), p=0,464	N/A	0,09 (0,44), p=0,829	N/A	0,10 (0,25), p=0,693
BMI (kg/m ²)	0,14 (0,16), p=0,364	N/A	0,04 (0,08), p=0,630	N/A	0,06 (0,14), p=0,671	N/A	0,002 (0,08), p=0,979
%FM (%)	0,04 (0,70), p=0,950	N/A	0,77 (0,34), p=0,025*	N/A	-0,01 (0,62), p=0,982	N/A	0,93 (0,46), p=0,045*
FM (kg)	0,05 (0,51), p=0,924	N/A	0,53 (0,25), p=0,034*	N/A	0,24 (0,45), p=0,594	N/A	0,44 (0,26), p=0,092
FFM (kg)	0,31 (0,39), p=0,431	N/A	-0,23 (0,20), p=0,233	N/A	-0,04 (0,35), p=0,914	N/A	-0,24 (0,20), p=0,243
TBW (kg)	0,39 (0,40), p=0,339	N/A	-0,11 (0,20), p=0,584	N/A	0,12 (0,36), p=0,742	N/A	-0,15 (0,21), p=0,480
TC (mg/dL)	-0,15 (6,31), p=0,081	N/A	1,16 (3,12), p=0,710	N/A	5,04 (5,61), p=0,370	N/A	-0,45 (3,25), p=0,889
TGL (mg/dL)	0,30 (9,40), p=0,975	N/A	-0,52 (4,69), p=0,912	N/A	2,43 (8,39), p=0,773	N/A	-0,31 (4,86), p=0,949
HDL (mg/dL)	-3,79 (3,10), p=0,224	N/A	1,49 (1,55), p=0,339	N/A	0,24 (2,79), p=0,931	N/A	1,61 (1,61), p=0,318
LDL (mg/dL)	2,97 (5,85), p=0,613	N/A	-0,09 (2,89), p=0,976	N/A	3,77 (5,18), p=0,468	N/A	-1,84 (3,00), p=0,540
Glukoza (mg/dL)	-0,47 (2,78), p=0,866	N/A	0,44 (1,38), p=0,749	N/A	-1,08 (2,47), p=0,663	N/A	0,88 (1,44), p=0,541

Przedstawione wartości to iloraz szans (przedział ufności) przed poprawką FDR; DOM – model dominujący: przynajmniej jeden allel ryzyka w obu *loci*; REC – model recesywny: homozygoty dla allelu ryzyka w obu *loci*; HOM-HET – ogólny model homozygota – heterozygota obejmujący cztery kombinacje analizowane indywidualnie w kolejnych kolumnach tabeli, HOM1 – homozygota dla allelu ryzyka; HOM2 – homozygota dla allelu głównego; BMI-indeks masy ciała; FM – masa tkanki tłuszczowej; FFM – masa beztłuszczowa; TBW-całkowita masa wody w organizmie; TG-stężenie triglicerydów; TC-cholesterol całkowity; HDL-stężenie lipoprotein o dużej gęstości; LDL-stężenie lipoprotein o niskiej gęstości; *różnica istotna statystycznie, przy p<0,05.

5. DYSKUSJA

Głównym celem badawczym prezentowanej dysertacji doktorskiej było określenie wpływu wybranych polimorfizmów (rs1800587, rs1800795, rs1800796 oraz rs1800797) zlokalizowanych w 2 genach (*IL1A* oraz *IL6*) na zmiany masy i składu ciała oraz wybranych wskaźników biochemicznych wywołanych 12-tygodniowym programem treningowym. Ponadto przeprowadzony eksperyment miał pozwolić na ustalenie roli wariantów allelicznych oraz genotypów w kształtowaniu odpowiedzi potreningowej organizmu człowieka oraz ustalić ich przydatność jako potencjalnych markerów genetycznych umożliwiających określenie predyspozycji do otyłości i rozwoju niekorzystnych zmian metabolicznych związanych ze wzrostem masy ciała.

Przedstawione badanie obejmowało grupę 201 studentek Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku w wieku 21 ± 1 lat (zakres 19-24 lat), które spełniały kryteria kwalifikujące do udziału w eksperymencie. Czynniki środowiskowe takie jak dieta, aktywność fizyczna, brak chorób współistniejących, a nawet wiek można uznać za ujednolicone. Każda z uczestniczek została poddana ściśle zdefiniowanemu i przebiegającemu pod kontrolą ekspertów 12-tygodniowemu programowi treningowemu oraz została objęta programem dietetycznym. Pomiary antropometryczne oraz biochemiczne zostały przeprowadzone przed oraz po zakończeniu okresu treningowego. Od uczestniczek został także pobrany wymaz z nabłonka jamy ustnej, z którego wyizolowano DNA stanowiący materiał do badań genetycznych opartych o real-time PCR. Komplet wyników zgromadzono dla 182 uczestniczek badania, jednak po ocenie czystości i integralności wyizolowanego materiału DNA wyodrębniono 168 prób, które zostały poddane genotypowaniu. Taki sposób zaprojektowania i przeprowadzenia eksperymentu pozwolił na ograniczenie czynników środowiskowych jako potencjalnych przyczyn zmian międzyosobniczych, tworząc doskonałe tło do badań genetycznych. Markery molekularne zostały wytypowane na podstawie analizy piśmiennictwa i wcześniejszych wyników badań własnych. Przeprowadzone badania, obejmujące cztery punkty polimorficzne zlokalizowane w dwóch genach, a także analizę haplotypów i interakcji międzygenowych, dały możliwość kompleksowego spojrzenia na problem określenia wpływu wybranych wariantów allelicznych genów kodujących *IL-1α* oraz *IL-6* na adaptacyjną odpowiedź organizmu wywołaną zaaplikowanym programem treningowym.

W prezentowanej dysertacji udało się przeprowadzić po raz pierwszy w Polsce, a w przypadku niektórych markerów molekularnych również po raz pierwszy na świecie, przekrojowe analizy dotyczące wpływu wybranych punktów polimorficznych na zmiany masy i składu ciała oraz wybranych wskaźników biochemicznych wywołanych zaaplikowanym programem treningowym. Przeprowadzone badania pozwoliły opisać unikatowe interakcje, nierejestrowane w prowadzonych wcześniej przez innych naukowców analizach, które zwykle dotyczą pojedynczych punktów polimorficznych i nie obejmują wpływu aktywności fizycznej.

W ramach niniejszej pracy sformułowano 3 hipotezy badawcze, a przeprowadzone badania i otrzymane wyniki umożliwiły ich weryfikację. Pierwsza hipoteza, odnosząca się do wpływu określonych alleli i genotypów w wybranych punktach polimorficznych *IL1A* (rs1800587) oraz *IL6* (rs1800795, rs1800796, rs1800797) na odpowiedź potreningową organizmu w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet realizujących 12-tygodniowy program treningowy, została zweryfikowana częściowo pozytywnie. Wykazano bowiem istotnie statystyczny wpływ polimorfizmu genu *IL1A* na odpowiedź potreningową w zakresie zmian TBW ($p=0,045$) oraz wpływ polimorfizmu genu *IL6* na odpowiedź potreningową w zakresie zmian BMI ($p=0,039$). Dla pozostałych polimorfizmów genu *IL6* powyższa hipoteza została zweryfikowana negatywnie, gdyż nie zaobserwowano znamiennych statystycznie zależności.

Druga hipoteza badawcza dotyczyła możliwości wykorzystania badanych polimorfizmów *IL1A* (rs1800587) oraz *IL6* (rs1800795, rs1800796, rs1800797) jako markery genetyczne umożliwiające określenie predyspozycji do otyłości i rozwoju niekorzystnych właściwości metabolicznych związanych ze wzrostem masy ciała. Na podstawie osiągniętych wyników oraz analizy statystycznej możliwe było częściowo pozytywne zweryfikowanie powyższej hipotezy. Wykazano istotny statystycznie izolowany wpływ genotypu w obrębie polimorfizmu genu *IL6* (rs1800795, -174 G>C) na stężenie glukozy badanych uczestniczek ($p=0,034$). Dla pozostałych polimorfizmów hipoteza została zweryfikowana negatywnie, ponieważ nie wykazano istotnych statystycznie zależności.

Trzecia hipoteza badawcza zakładała obecność określonych haplotypów i interakcji międzygenowych oraz ich wpływ na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu człowieka w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet realizujących 12-tygodniowy program treningowy.

Hipoteza ta została zweryfikowana pozytywnie. Analiza haplotypów wykazała, iż dla haplotypów rzadko występujących: GGA, CGG oraz CCG (rs1800795, 1800796, 1800797) obserwowano znacząco statystycznie mniejsze zmiany następujących parametrów: masy ciała, BMI, %FM, FM, FFM, TC, stężenia TG, stężenia HDL, stężenia LDL i stężenia glukozy w modelu recesywnym. Niestety nie jest możliwe szacowanie efektów indywidualnych haplotypów. Analiza interakcji genowych między *IL1A* rs1800587 a *IL6* rs1800795 oraz między *IL1A* rs1800587 a *IL6* rs1800796 wykazała, że ich współwystępowanie wpływa znacząco na %FM oraz FM u uczestniczek będących nosicielkami genotypu TC-GG. Nosicielki genotypu TC-GG wykazywały większe spadki %FM i FM. Ponadto, w przypadku współwystępowania wariantów *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 w wariancie homozygotyczno-heterozygotycznym (genotyp CC-CG) kobiety wykazywały istotnie większe wzrosty TG w okresie treningu.

5.1 Wpływ treningu na wartości wybranych parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych

Brak regularnej aktywności fizycznej, rozumianej jako wykonywanie ćwiczeń 4-6 razy w tygodniu przez okres 20-60 minut oraz wysokokaloryczna dieta stoi u podstaw otyłości, której konsekwencją jest insulinooporność. Otyłość definiowana jest jako nieprawidłowe, nadmierne gromadzenie tkanki tłuszczowej, zaś wskaźnik BMI jest wykorzystywany do jej klasyfikacji (WHO 2010). Blisko 30 lat temu odkryto, iż otyłość powinna być też rozumiana jako przewlekły proces zapalny, z kolei tkankę tłuszczową można postrzegać jako aktywny narząd wydzielania wewnętrznego o charakterze endo- i parakrynnym (Kershaw i Flier 2004). Mając powyższe na uwadze u osób otyłych obserwowane są podwyższone stężenia IL-6, IL-1, TNF α , rezystyny czy leptyny (Frühbeck 2004). Poprawa bilansu energetycznego na skutek podejmowanego wysiłku fizycznego wpływa korzystnie nie tylko obniżając masę ciała, ale również przyczyniając się do poprawy gospodarki węglowodanowej, co skutkuje prewencją insulinooporności. Liczne badania przeprowadzone w celu identyfikacji efektów prozdrowotnych regularnie podejmowanego wysiłku fizycznego wykazują jego pozytywny wpływ m.in. na układ krążenia, gospodarkę węglowodanową oraz lipidową, jak również układ szkieletowy, czy sferę psychiczną człowieka. Następstwem tego oddziaływania jest możliwość uniknięcia chorób cywilizacyjnych tj. nadciśnienia tętniczego, otyłości, cukrzycy typu II,

osteoporozy czy depresji. Przykładem takiego działania jest obserwacja, że systematycznie podejmowany wysiłek fizyczny przyczynia się do zmian adaptacyjnych w obrębie układu krążenia zmniejszając ryzyko wystąpienia choroby wieńcowej o 30-50% przy zachowaniu wydatku energetycznego na poziomie 700-2000 kcal na tydzień (Sobieszczańska i wsp. 2009). Umiarkowana aktywność fizyczna wpływa na zmniejszenie ekspresji czynnika TNF- α , co stanowi ważny czynnik obniżający ryzyko wystąpienia choroby Alzheimera (Phillips i wsp. 2014). Badanie przeprowadzone przez Tuomilehto i wsp. (2001) w grupie 522 pacjentów w średnim wieku z nadwagą (BMI przeciętnie 31 kg/m²) wykazało, iż wprowadzenie umiarkowanej aktywności fizycznej w wymiarze 2,5 godzin na tydzień zmniejszyło ryzyko zapadalności na cukrzycę u badanych osób o 63-69% (Tuomilehto i wsp. 2001).

Analiza izolowanego wpływu przeprowadzonego programu treningowego (niezależna od genotypu) na zmiany masy i składu ciała wykazała istotny statystycznie spadek masy ciała ($p < 0,0001$), BMI ($p < 0,0001$), BMR ($p < 0,0001$), FM ($p < 0,0001$) oraz oporu tkankowego ($p = 0,0001$). Zaobserwowano również wzrost TBW ($p < 0,0001$) oraz FFM ($p < 0,0001$). Powyższa obserwacja była zgodna z oczekiwaniami oraz z wcześniej opisywanymi efektami treningu w dostępnym piśmiennictwie naukowym (Cvorovic i wsp. 2021; Riebe i wsp. 2018). W badaniu Cvorovic i wsp. (2021) wzięło udział 325 mężczyzn w wieku $29 \pm 4,5$ lat, którzy zostali poddani 12-tygodniowemu treningowi. Badanymi parametrami antropometrycznymi była masa ciała oraz BMI. Oba parametry statystycznie obniżyły się na skutek zastosowanego treningu (Cvorovic i wsp. 2021). Przegląd systematyczny doniesień naukowych dotyczących wpływu aktywności fizycznej na ryzyko występowania różnych chorób cywilizacyjnych wśród populacji dorosłych Kanadyjczyków wykazał znaczące obniżenie ryzyka u osób podejmujących regularną aktywność fizyczną w wymiarze 150 minut tygodniowo. Wykazano redukcję ryzyka wystąpienia cukrzycy typu II o 40%, raka piersi o 20%, raka jelita grubego o 30%, nadciśnienia tętniczego o blisko 50%, czy choroby sercowo-naczyniowej o 33% w stosunku do osób niepodejmujących żadnej aktywności fizycznej (Warburton i wsp. 2010). Powyższe badania stanowią potwierdzenie powszechnie istniejącego przekonania o prozdrowotnym wpływie podejmowanego wysiłku fizycznego na cały organizm człowieka. Regularna aktywność fizyczna zapewnia nie tylko właściwe funkcjonowanie układu krążenia czy gospodarkę węglowodanową, ale znacząco redukuje skutki stresu, poprawia nastrój, redukuje stany lękowe oraz depresyjne (Stanton i wsp. 2014).

Dodatkowo niezależna od genotypu analiza zmian wybranych parametrów biochemicznych na skutek 12-tygodniowego programu treningowego wykazała znaczący spadek stężenia glukozy ($p=0,0002$) wśród uczestniczek badania. Należy podkreślić, że przed rozpoczęciem eksperymentu u 3 kobiet odnotowano hiperglikemię (poziom glukozy na czczo we krwi wynosił 106-118 mg/dl). Natomiast po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego poziom glukozy we krwi u tych osób wrócił do prawidłowego poziomu, co potwierdza ważną rolę aktywności fizycznej i diety u osób z predyspozycjami do podwyższonego stężenia glukozy we krwi. Uzyskane wyniki są zgodne z oczekiwaniami i doniesieniami w dostępnej literaturze fachowej (Richter i wsp. 2001; Wang i Xu 2017).

Utrzymywanie się przez dłuższy czas podwyższonego stężenia glukozy we krwi może być przyczyną wielu poważnych problemów zdrowotnych. Badania kliniczne potwierdzają potrzebę wczesnego uchwycenia defektu metabolizmu węglowodanów i wprowadzenia terapii polegającej na zapobieganiu rozwojowi pełnoobjawowej cukrzycy (Jagielski i Piesiewicz 2011). Podejmowanie aktywności fizycznej nie tylko zapobiega występowaniu cukrzycy typu II, ale ma wpływ również na redukcję występowania konsekwencji klinicznych tej jednostki chorobowej. Mając powyższe na uwadze LaMonte i wsp. (2005) przeprowadzili analizę dostępnych doniesień literaturowych dotyczących omawianego zagadnienia (LaMonte i wsp. 2005). Konwar i wsp. (2019) przeprowadzili badanie wśród 3234 kobiet oraz mężczyzn obarczonych wysokim ryzykiem wystąpienia cukrzycy typu II. Średnia wieku w grupie badanej wynosiła 51 lat, zaś średnia BMI 34.0 kg/m^2 . W wyniku randomizacji wyszczególniono 3 podgrupy. Pierwsza z nich otrzymywała placebo, druga metforminę (lek stosowany w terapii cukrzycy), zaś trzecia została poddana zmianie stylu życia mający na celu redukcję masy ciała o co najmniej 7% tygodniowo oraz zakładająca co najmniej 150 minut aktywności fizycznej tygodniowo. Badanie było prowadzone przez średnio przez 2,8 lat. Otrzymane wyniki nie pozostawiają wątpliwości, bowiem zastosowana zmiana stylu życia skutkowała redukcją wystąpienia cukrzycy o 58% w porównaniu z placebo, zaś zastosowanie terapii z użyciem metforminy obniżyło ryzyko o 31% w porównaniu do placebo (Konwar i wsp. 2019). Podobne wyniki otrzymali Tuomilehto i wsp. (2001) w badaniu interwencyjnym przeprowadzonym pośród 522 osób o średniej wieku 55 lat z upośledzoną tolerancją glukozy, wykazujących średnią wartość BMI na poziomie 31.0 kg/m^2 . Zastosowana interwencja polegała na wprowadzeniu diety redukcyjnej oraz regularnej aktywności fizycznej. Po ponad 3 latach obserwacji zaobserwowano spadek

ryzyka wystąpienia cukrzycy o 58% ($p < 0,001$) w porównaniu do grupy, w której nie zastosowano wyżej opisanej interwencji (Tuomilehto i wsp. 2001).

Należy jednak zaznaczyć fakt, iż po zastosowaniu programu treningowego zaobserwowano nieoczekiwany nieznaczny wzrost średniego stężenia TG oraz LDL w osoczu krwi uczestniczek eksperymentu (odpowiednio $p = 0,0954$ oraz $p = 0,3803$), nieznaczny spadek TC ($p = 0,1370$) oraz znaczący spadek średniego stężenia HDL ($p = 0,0001$). Otrzymane wyniki nie były zgodne z założeniami wstępnymi eksperymentu, ponieważ powszechnie uznaje się wysiłek fizyczny jako czynnik pozytywnie wpływający na gospodarkę lipidową człowieka (Wang i Xu 2017). Fikenzer i wsp. (2018) stwierdzili, iż regularny wysiłek fizyczny przyczynia się do obniżenia średnich stężeń LDL oraz TG przy jednoczesnym wzroście stężeń HDL (Fikenzer i wsp. 2018). Liczne badania naukowe dowiodły korzystnego wpływu aktywności fizycznej na profil lipidowy. Durstine i wsp. (2002) w przeprowadzonej analizie dostępnych badań stwierdzili, że już 15-20 minut szybkiego marszu bądź truchtu w tygodniu wiąże się ze wzrostem stężenia HDL z 2 do 8 mg/dl (Durstine i wsp. 2002). Wpływ wysiłku fizycznego na poziom HDL jest niekwestionowany, nie mniej w różnych badaniach obserwowane są znaczące różnice w poziomie tej odpowiedzi. Wykazali to Leon i wsp. (2002) w badaniu przeprowadzonym pośród 675 zdrowych ochotników, którzy wzięli udział w 20-tygodniowym treningu wytrzymałościowym. Badanie wykazało znaczący średni wzrost stężenia HDL o 3,6%, natomiast odpowiedź osobnicza bardzo się różniła i wahała się od spadku stężenia o średnio 9,3% u 25% osób z najsłabszą odpowiedzią, do wzrostu o średnio 18% u 25% osób z najwyższą odpowiedzią potreningową. Nasuwa się więc pytanie o przyczynę tych rozbieżności. Po dogłębnym przeanalizowaniu dostępnej literatury można jej upatrywać w samym charakterze zastosowanego treningu. Zastosowany program treningowy zakładał stopniowy wzrost intensywności ćwiczeń od poziomu 50-60% do 65-75% HRmax uczestniczek. Tygodniowy wymiar ćwiczeń obejmował 180 minut. Co więcej, każda jednostka treningowa składała się z rozgrzewki, części głównej oraz części końcowej (relaksacyjnej). Istotna wydaje się struktura części głównej, w której skład wchodziły naprzemiennie ćwiczenia o wysokiej i niskiej intensywności, co przypomina trening interwałowy. Okresy wysoko intensywne zbliżone są do ćwiczeń anaerobowych, co zmniejszało łączną objętość ćwiczeń o charakterze aerobowym. Zbyt niska łączna objętość tychże ćwiczeń mogła być przyczyną uzyskanego obrazu profilu lipidowego. Wnioski te potwierdzają doniesienia naukowe, wskazujące, iż korzystne zmiany w obrębie HDL, LDL oraz TG obserwowane są podczas treningów o niskiej bądź

umiarkowanej intensywności (ćwiczenia poniżej progu anaerobowego). Zastosowanie ćwiczeń o wysokiej intensywności (powyżej progu anaerobowego) nie przyczynia się do korzystnych zmian profilu lipidowego, a czasem może nawet korzystne tendencje odwracać (Drygas i wsp. 2000). Istnieją sprzeczne doniesienia naukowe mówiące o wpływie ćwiczeń aerobowych na poziom LDL oraz HDL w osoczu krwi (Wang i Xu 2017). Ocena tych wyników jest również niezwykle trudna, ponieważ osoby badane często stosują równocześnie terapię lekową bądź poddawani są restrykcyjnej diecie, co wręcz uniemożliwia stwierdzenie izolowanego wpływu wysiłku fizycznego na powyższe parametry. Odpowiedzią na te ograniczenia była meta-analiza przeprowadzona przez Kodama i wsp. (2007), w skład której wchodziło 25 randomizowanych kontrolowanych badań. Uzyskane wyniki wykazały wzrost HDL o 2,53 mg/dl, gdy ćwiczenia aerobowe osiągały intensywność 64,8% maksymalnej wydolności tlenowej (Kodama i wsp. 2007).

5.2 Wpływ obserwowanych genotypów na odpowiedź potreningową

Odpowiedź potreningowa podlega wpływom nie tylko czynników środowiskowych tj. stosowanej diety, chorób współistniejących, stosowanej suplementacji bądź leczenia podstawowego, ale również czynników genetycznych. Należy podkreślić, że ok. 99,9% sekwencji DNA przypadkowo wybranych genomów ludzkich jest identycznych, a za zmienność genetyczną odpowiada zaledwie ok. 0,1% sekwencji nukleotydów. Najczęściej są to zmiany polimorficzne dotyczące pojedynczych nukleotydów bądź pewnych sekwencji genów. Analiza polimorfizmów może doprowadzić do poznania genomu ludzkiego w stopniu umożliwiającym dostrzeżenie unikalnych interakcji między poszczególnymi SNPs oraz opisanie ich wpływu na indywidualną zmienność w odpowiedzi na realizowany trening.

Początkowo badania genetyczne oparte na modelu rodzinnym obejmujące zarówno analizy bliźniąt monozygotycznych i dizygotycznych, jak i rodzin wielopokoleniowych, wykazały niezwykle istotną rolę czynników genetycznych w rozwoju nadwagi i otyłości. Metody te opierały się na założeniu, że bliźnięta jednojajowe mają identyczne geny, a zatem różnice pomiędzy nimi wynikają jedynie z wpływu środowiska, zaś bliźnięta dwujajowe mają średnio połowę wspólnych genów, co sprawia, że różnice mogą wynikać zarówno z wpływu czynników genetycznych, jak i środowiskowych (Oniszczenko 2008). Ograniczeniem tej metody był brak możliwości analizy konkretnych sekwencji nukleotydowych. Gwałtowny rozwój technik biologii

molekularnej umożliwił poznanie sekwencji ludzkiego genomu. Obecnie coraz częściej przeprowadzane są badania asocjacyjne całego genomu (ang. genome-wide association studies, GWAS). W badaniach GWAS nie wybiera się konkretnych genów, lecz to wynik przeprowadzonej analizy wskazuje geny odpowiadające za występowanie danej cechy czy choroby (tzw. geny kandydackie). Występowanie określonych wariantów genów może sprzyjać nadmiernemu gromadzeniu przez organizm tkanki tłuszczowej, jak również możliwe jest występowanie wariantów genów, które chronią przed rozwojem otyłości (Huang i Hu 2015). Jest to możliwe dzięki zastosowaniu mikromacierzy, umożliwiających jednoczesne genotypowanie kilkudziesięciu tysięcy SNPs (Tam i wsp. 2019). Odpowiedź na pytanie, które czynniki: środowiskowe czy genetyczne w znaczący sposób wpływają na obserwowane cechy oraz predyspozycje jest możliwa przy odpowiednim dobraniu grupy badanej. Należy podkreślić, że do rzadkości należą także badania dotyczące wpływu poszczególnych polimorfizmów na zakres potreningowej odpowiedzi adaptacyjnej organizmu.

Interleukiny to cząsteczki o działaniu plejotropowym, których podwyższone stężenia obserwuje się w przypadku występowania różnego typu zaburzeń homeostazy, bądź też w stanach zapalnych. Ich zakres działania jest niezwykle szeroki, biorą udział w rozlicznych szlakach sygnałowych. Podwyższone stężenia IL-6 w przypadku zaistniałego stanu zapalnego, czy otyłości mogą wskazywać na rolę jaką przypisuje się tej cząsteczce, czyli kontrolera stanu zapalnego. Co więcej IL-6 stoi na straży utrzymania homeostazy, czyli powrotu do stanu równowagi po okresie jej zaburzenia (Xing i wsp. 1998). Jednym z najbardziej istotnych induktorów wydzielania IL-6 jest IL-1. Badanie Kern i wsp. (2001) wykazało, iż stężenia IL-1 oraz IL-6 u osób otyłych osiągają wyższe stężenia niż u osób z prawidłową masą ciała. Zatem podejmowanie wysiłku fizycznego w celu redukcji masy ciała powinno wykazywać bezpośredni wpływ na poziomy stężeń tychże cząsteczek w ludzkim organizmie. Istnieją liczne badania naukowe szukające genetycznych przyczyn otyłości w polimorfizmach w obrębie genów *IL1A* oraz *IL6* (Wernstedt i wsp. 2004; Carter i wsp. 2008; Um i wsp. 2011; Han i wsp. 2020). Ostrowski i wsp. (2000) badali wpływ wysiłku fizycznego na stężenie IL-6 oraz IL-1ra w osoczu. Zostało ono przeprowadzone pośród 53 uczestników maratonu i wykazało gwałtowny wzrost poziomu IL-6 w osoczu natychmiast po jego zakończeniu. Wykazano istotny statystycznie związek między wzrostem stężenia IL-6 w osoczu a intensywnością biegu ($p < 0,05$) natomiast brak takiej zależności w stosunku do jego czasu trwania. Zaobserwowano również znaczący wzrost stężenia IL-1ra w osoczu po 1,5 godzinnym

biegu. Co więcej wzrost stężenia IL-1ra korelował ze wzrostem stężenia IL-6 ($p < 0,01$). Otrzymane wyniki potwierdziły hipotetyczny związek między stężeniem IL-6 w osoczu a intensywnością biegu (Ostrowski i wsp. 2000).

Na podstawie przeprowadzonego przeglądu literaturowego oraz biorąc pod uwagę fizjologiczną rolę IL-1 α oraz IL-6 wybrano do niniejszego badania cztery punkty polimorficzne w obrębie genu *IL1A* (-889 C>T) oraz *IL6* (-597 A>G, -174 G>C oraz -572 G>C). Należy podkreślić nowatorski charakter niniejszego eksperymentu, ponieważ przeprowadzona analiza dostępnej literatury naukowej nie wykazała żadnego badania opisującego wpływ wyżej wymienionych polimorfizmów na odpowiedź potreningową u osób zdrowych. Dostępne są publikacje opierające się na wynikach badań przeprowadzonych w grupie osób chorych, mających na celu określenie tychże polimorfizmów jako czynników predysponujących do wystąpienia pewnych jednostek chorobowych tj. astmy, choroby wieńcowej, młodzieńczego przewlekłego zapalenia stawów, zwyrodnienia kręgosłupa (Fishman i wsp. 1998; Eskola i wsp. 2010; Settin; Elsaid i wsp. 2014). W związku z tym wyniki i wnioski z niniejszej dysertacji mają charakter pionierski i mogą posłużyć jako dodatkowe źródło informacji o osobie podejmującej wysiłek fizyczny, określając na poziomie molekularnym wrodzoną charakterystykę metaboliczną danej osoby. W przyszłości takie informacje mogą zostać potencjalnie wykorzystane do skuteczniejszej kontroli uzyskiwanych efektów potreningowych, jak również do projektowania zindywidualizowanych programów treningowych dostosowanych do konkretnej osoby. Nie bez znaczenia byłaby też możliwość oceny bezpieczeństwa zastosowanego treningu.

5.2.1 Korelacja między efektami potreningowymi a genotypami *IL1A* (rs1800587)

Badania polimorfizmu odcinka promotorowego genu *IL1A* -889 C>T (rs1800587) prowadzone były w celu odkrycia genetycznych podstaw otyłości, rozumianej jako przewlekły stan zapalny. Um i wsp. (2011) przeprowadzili analizę genetyczną 260 otyłych kobiet z Korei, wykazując związek między polimorfizmem -889 C>T a wzrostem BMI. Częstość występowania genotypu CT bądź TT była znacząco niższa w grupie kobiet o BMI wynoszącym 27-29 kg/m² niż w grupie, gdzie BMI było poniżej 25 kg/m². Drugim badanym polimorfizmem *IL1A* był +4845 G>T (rs17561). Zaobserwowano istotny statystycznie związek między oboma polimorfizmami genu *IL1A* a WHR. Częstość

występowania jednego bądź dwóch kopii haplotypu TT (rs1800587, rs17561) była znacząco niższa u kobiet z WHR wyższym bądź równym 0,91 niż u kobiet o WHR niższym od 0,90. Dodatkowo wykazano istotnie statystyczną zależność z aktywnością transkrypcyjną, którą badano w preadipocytach linii 3T3-L1 (badanie *in vitro*) oraz na otyłych myszach (badanie *in vivo*). Uzyskane wyniki pozwoliły badaczom na wyciągnięcie wniosku, że polimorfizm genu *IL1A* -889 C>T ma związek z otyłością u ludzi, zaś IL-1 α może odgrywać kluczową rolę w rozwoju otyłości (Um i wsp. 2011). Badanie polimorfizmów genu *IL1A* (rs17561, rs1800587) przeprowadzone wśród 460 nastolatków z Meksyku (średnia wieku wynosiła 16 lat) wykazało, iż haplotyp TT był związany z niewielkim wzrostem BMI wśród chłopców. Takiej zależności nie stwierdzono dla dziewcząt (Mendoza-Carrera i wsp. 2019). Jednakże Carter i wsp. (2008) w przeprowadzonym wcześniej badaniu wśród 556 uczestników z chorobą wieńcową serca nie wykazali obecności związku między polimorfizmem *IL1A* rs1800587 a BMI. Stwierdzono natomiast, iż homozygoty TT (-889 C>T) mają o 1,8 cm większy obwód talii ($p=0,04$) zaś nosiciele genotypu TT (+3954 C>T) aż o 4 cm ($p=0,0004$), co skłoniło badaczy do wniosku, iż badany polimorfizm może być genetyczną podstawą otyłości brzusznej (Carter i wsp. 2008). Badanie przeprowadzone w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej nie wykazało znaczącego związku między BMI a poszczególnymi genotypami, jednak wynik był zbliżony do progu istotności statystycznej, a nosiciele genotypu CC wykazywali niższe wartości BMI w porównaniu z nosicielami pozostałych genotypów ($p=0,053$). Obserwacja ta jest zgodna z zaprezentowanymi powyżej wynikami uzyskanymi przez innych naukowców, jednak wymaga potwierdzenia na większej grupie badanej obejmującej osoby obu płci, zarówno z prawidłową masą ciała, jak i z nadwagą i otyłością.

Wyniki badań przytoczonych powyżej mogą świadczyć o zasadności wyboru polimorfizmu tegoż genu do prezentowanych w dysertacji analiz. Do tej pory nie zostały przeprowadzone badania naukowe badające wpływ polimorfizmu *IL1A* na odpowiedź potreningową u osób zdrowych, sportowców czy ludzi aktywnych. Dotychczas przeprowadzone badania dotyczą wpływu polimorfizmów genu *IL1RA* na odpowiedź potreningową u ludzi (Cauci i wsp. 2010). Istnieją także doniesienia naukowe mówiące o wpływie polimorfizmów genów dla rodziny IL-1 na regenerację organizmu po treningu (Dennis i wsp. 2004). Zatem uzyskane wyniki mają charakter innowacyjny i wymagają dalszych badań. Należy także zauważyć konieczność jednoczesnej analizy nie tylko masy ciała, ale także jego składu. BMI wyliczane jest na podstawie masy ciała oraz wzrostu.

Spadek BMI w wyniku zastosowanego treningu może, lecz nie musi być obserwowany ze względu na równoczesną zmianę składu ciała. Masę ciała należy analizować mając na uwadze jej składowe, czyli tłuszczową masę ciała oraz beztłuszczową, którą stanowią kości, woda, organy wewnętrzne, krew i inne płyny. Zawartość wody w ludzkim organizmie jest zależna od wieku. Najwięcej wody, bo około 70% mają noworodki, zaś jej zawartość w organizmie spada wraz z wiekiem. Osiągając u osób starszych poziom nawet około 40-45%. Fizjologicznie mężczyźni wykazują wyższą zawartość wody (około 60%) niż kobiety (około 55%) (Ayvaz i Rıza Çimen 2011; Thibault i wsp. 2012).

Analiza statystyczna otrzymanych wyników wykonana w ramach niniejszej dysertacji nie wykazała istotności statystycznej między TBW a genotypem w ramach poszczególnych polimorfizmów w obrębie genu *IL1A* (-889 C>T) oraz *IL6* (-597 A>G, -174 G>C oraz -572 G>C). Co ciekawe w obrębie badanego polimorfizmu genu *IL1A* nie wykazano również wpływu treningu na wartości TBW, co jest zbieżne z obserwacjami Ljubojevic i wsp. (2014), którzy w swym badaniu określali zmianę masy i składu ciała na zastosowany trening w formie zumbi. Na potrzebę niniejszej analizy warto zaznaczyć, iż trening zumbi najczęściej jest klasyfikowany jako rodzaj treningu aerobowego. Zatem wyniki uzyskane w wyżej przytoczonym badaniu mogą być odnoszone do wyników uzyskanych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej. Ljubojevic i wsp. (2014) wykazali bowiem wzrost średniej beztłuszczowej masy ciała oraz TBW wśród badanych 12 kobiet w wieku 25-35 lat. Uczestniczki badania trenowały zumbę przez trzy tygodnie, a każdy trening składał się z części rozgrzewkowej, zasadniczych ćwiczeń zumbi oraz końcowej części wyciszającej. Niestety w ramach tego badania nie wykonano analizy genetycznej (Ljubojević i wsp. 2014). Niezwykle interesującym i nowatorskim jest wykazanie w ramach niniejszej dysertacji istotności statystycznej między częstością genotypów rs1800597 w genie *IL1A* a potreningową reakcją w zakresie zmian poziomu TBW ($p=0,045$). Nosicielki genotypu CC wykazywały spadek poziomu TBW, zaś nosicielki przynajmniej jednego allelu T wykazywały odwrotną tendencję. Zatem genotyp CC może być uznany za niekorzystny, ponieważ jego obecność może być powiązana ze spadkiem TBW w odpowiedzi na zaaplikowany trening. Szybsza utrata wody u posiadających go kobiet może prowadzić do zaburzeń homeostazy ustrojowej.

5.2.2 Korelacja między efektami potreningowymi a genotypami *IL6* (rs1800795)

Kolejny badany polimorfizm -174 G>C (rs1800795) jest jednym z najczęściej badanych punktów polimorficznych zlokalizowanych w genie *IL6*, pod kątem właściwości predykcyjnych dla niektórych chorób tj. choroby układu krążenia (Sie i wsp. 2006), chorób współistniejących z otyłością (Goyenechea i wsp. 2007), przewlekłą obturacyjną chorobą płuc (Córdoba-Lanús i wsp. 2008), czy nieprawidłowym poziomem glukozy na czczo (Huth i wsp. 2009). Do tej pory nie odnotowano badań naukowych skupiających się na wpływie polimorfizmu -174 G>C na odpowiedź potreningową u osób zdrowych. Istnieją pojedyncze badania tegoż polimorfizmu u sportowców bądź osób aktywnych fizycznie (Lulińska-Kuklik i wsp. 2019; Yamin i wsp. 2008). Polimorfizm -174 G>C został badany w celu określenia ryzyka kontuzji u osób uprawiających sport (Yamin i wsp. 2008). W ramach wymienionego badania przebadano 70 zdrowych studentów wychowania fizycznego, którzy zostali poddani ćwiczeniom ekscentrycznym w obrębie stawu łokciowego na najwyższym możliwym dla danej osoby poziomie. Badanie wykazało, iż uczestnicy będący jednocześnie nosicielami allelu C w pozycji 174 odcinka promotorowego wykazywali wyższe stężenia kinazy kreatyninowej, co może świadczyć o wyższym stopniu uszkodzenia mięśni (Yamin i wsp. 2008). Ortlepp i wsp. (2003) jako jedni z pierwszych przeprowadzili badanie wśród 1929 pilotów rekrutowanych w Niemieckim Instytucie Medycyny Lotniczej Sił Powietrznych, dzieląc ich na grupę palaczy oraz osób nie palących. Wykazano, że osoby palące, będące nosicielami allelu C wykazywali obniżoną sprawność fizyczną oraz podwyższone stężenia leukocytów oraz monocytów (Ortlepp i wsp. 2003). Dostępna literatura wskazuje, iż polimorfizm -174 G>C jest również badany pod kątem predykcyjnym w obrębie różnych jednostek chorobowych m.in. cukrzycy, osteoporozy (Papaoikonomou i wsp. 2014; León-Suárez i wsp. 2018). Mając na uwadze powyższe badania, zasadnym było przeprowadzenie zaprezentowanych analiz wpływu polimorfizmu -174 G>C na odpowiedź potreningową, bądź też jego potencjalny potencjał predykcyjny w kierunku otyłości i chorób z nią współistniejących.

W niniejszej pracy badawczej wykazano istotny statystycznie wpływ genotypu na wartości stężeń glukozy ($p=0,034$). Homozygoty CC notowały najniższe stężenia glukozy, heterozygoty CG wartości pośrednie, zaś homozygoty GG najwyższe. Wspomniana wcześniej analiza indywidualnych wyników uczestniczek badania wykazała, że 3 uczestniczki posiadały podwyższone stężenia glukozy przed

rozpoczęciem treningu. Dwie z nich posiadały genotyp GG, zaś jedna genotyp GC. Ponadto stężenia glukozy u nosicielek genotypu CC utrzymywały się w granicach od 59 do 90 mg/dl. Prawidłowe stężenie glukozy we krwi na czczo wynosi 70-99 mg/dl. Zarówno jej zbyt niski poziom (hipoglikemia), jak i zbyt wysoki (hiperglikemia) mogą objawiać się negatywnymi objawami, prowadzącymi często do bardzo poważnych konsekwencji zdrowotnych. Długo utrzymujące się zaburzenia poziomu glukozy prowadzą do cukrzycy typu II, która nieleczona bądź leczona nieskutecznie wpływa negatywnie na inne narządy organizmu ludzkiego, w tym narząd wzroku, układ sercowo-naczyniowy, układ krzepnięcia. Do najsilniejszych czynników ryzyka cukrzycy typu II zalicza się otyłość oraz brak aktywności fizycznej (Fletcher i wsp. 2002). Wyniki otrzymane w ramach niniejszej dysertacji są zbieżne z wynikami meta-analizy Huth i wsp. (2009), wyjaśniającej związek między polimorfizmem -174 G>C a stężeniem glukozy we krwi, poziomem IL-6 oraz BMI. Analiza była przeprowadzona na dostępnych badaniach IL-6 w kontekście cukrzycy typu II w populacji kaukaskiej, w których było badane BMI. Powyższe kryteria spełniło 17 badań, w których łącznie uczestniczyło 25 635 osób. Wykazano istnienie związku między występowaniem allelu C polimorfizmu -174 G>C a obserwowanymi niższymi stężeniami glukozy na czczo. Meta-analiza została przeprowadzona, ponieważ obserwowano sprzeczne wyniki, co do związku polimorfizmu -175 G>C a stężeniem glukozy. W ramach przeprowadzonej analizy Huth i wsp. (2009) zauważyli, że większość badań wykazała obniżenie poziomu glukozy na czczo, choć obserwacje te nie osiągały progu istotności statystycznej. Dopiero po zsumowaniu otrzymanych wyników cząstkowych wykazano istotny statystycznie związek pomiędzy występowaniem allelu C a niższym średnim stężeniem glukozy na czczo, co również potwierdziły niniejsze badania.

Analiza wpływu genotypu na parametry antropometryczne oraz biochemiczne w ramach niniejszej pracy dla polimorfizmu -174 G>C nie wykazała innych istotnie statystycznie zależności. Warto przytoczyć w tym miejscu badanie Pereira i wsp. (2012), które w swym założeniu było najbardziej zbliżone do badania własnego ze względu na zastosowanie u 451 badanych kobiet treningu fizycznego. Uczestniczki badania zostały podzielone na dwie grupy treningowe: grupę wykonującą trening wzmacniający oraz grupę wykonującą trening aerobowy. Obie grupy trenowały przez 10 tygodni, 3 razy w tygodniu. Po zakończeniu fazy treningowej zbadano BMI, masę ciała, wzrost każdej z uczestniczek oraz odpowiedź potreningową na podstawie przeprowadzonych testów fizycznych m.in. testu szybkości chodu na 10 m czy testu TUG (ang. time up and go).

Przeprowadzone badanie nie wykazało wpływu pojedynczego polimorfizmu -174 G>C na zmianę mierzonych parametrów tj. BMI, masę ciała, wzrost, stężenie IL-6, co jest również zgodne z obserwacjami otrzymanymi w ramach badania własnego. Pereira i wsp. (2012) zbadali również polimorfizmy *TNF-α* (rs1800629) oraz *IL10* (rs1800896), dla których pojedynczo również nie zaobserwowano istotnych statystycznie związków z badanymi parametrami. Natomiast niezwykle istotna okazała się analiza interakcji międzygenowych. Uczestniczki badania będące nosicielkami genotypu GG dla *TNF-α*, CC bądź CG dla *IL6* oraz GG dla *IL10* wykazywały lepsze wyniki potreningowe w teście fizycznym TUG niż nosicielki pozostałych genotypów ($p=0,001$) (Pereira i wsp. 2013). Przytoczone badanie pokazuje konieczność kontynuowania badań nad pojedynczymi polimorfizmami, ale również ich analizę w kontekście interakcji międzygenowych, które niewątpliwie istnieją i mogą przyczyniać się do modyfikacji cech fenotypowych, co zostało również wykazane w niniejszym badaniu i opisane w dalszej części rozdziału.

Mając na uwadze wspomniane wyżej rozbieżności obserwowane w zakresie profilu lipidowego na zastosowany trening, zasadnym wydaje się pogłębienie wiedzy na temat wpływu polimorfizmów genu *IL6* na obserwowane stężenia lipoprotein we krwi człowieka. Fizjologicznie IL-6 może hamować lipazę lipoproteinową tkanki tłuszczowej i stymulować zwiększoną lipolizę, co może prowadzić do zwiększenia stężeń TG, LDL oraz zmniejszenia stężeń HDL. Zasadnym jest więc badanie wpływu polimorfizmów w obrębie genu *IL6* na profil lipidowy. Otrzymane wyniki dotyczące braku związku z genotypu w obrębie polimorfizmu -174 G>C z parametrami lipidowymi w ramach badania własnego są po części sprzeczne z obserwacjami otrzymanymi przez Halverstadt i wsp. (2002), którzy wykazali jego wpływ na poziom HDL. Zaobserwowano, że homozygoty CC wykazują wyższe przyrosty stężeń HDL na skutek treningu niż pozostałe genotypy. Co więcej, wzrost stężeń dla genotypu CC był 7-krotnie wyższy w porównaniu ze wzrostami stężeń obserwowanymi dla genotypu GG oraz 2-krotnie wyższy niż dla genotypu GC. W badaniu udział brało 65 ochotników obu płci w wieku od 50 do 75 lat, którzy uczestniczyli w treningu aerobowym przez 24 tygodnie (Halverstadt i wsp. 2005). Podobne wyniki, choć w kontekście polimorfizmu -572G>C (rs1800796) uzyskali Barati i wsp. (2019), w badaniu na grupie 182 pacjentów z BMI ≥ 30 , podzielonej na dwie podgrupy ze względu na występowanie, bądź nie, zespołu metabolicznego. Badanie wykazało związek między obecnością polimorfizmu -572 G>C a BMI ($p=0,031$), stężeniem HDL ($p=0,01$) oraz stężeniem LDL ($p=0,037$). Nie wykazano jednak znaczącego związku między występowaniem tego polimorfizmu a ryzykiem wystąpienia

zespołu metabolicznego wg klasyfikacji Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej (Barati i wsp. 2019).

Brak podobnych obserwacji w badaniu własnym może wynikać ze znacznych różnic w grupie badanej, co do jej liczebności, płci oraz wieku. W tym kontekście niezwykle ciekawe jest badanie Henningsson i wsp. (2006), w którym płeć okazała się czynnikiem determinującym obserwowane bądź nie zależności. Grupę badaną stanowiły tam 252 kobiety w wieku średnio 42 lat oraz 245 mężczyzn w wieku średnio 51 lat, których materiał biologiczny został poddany genotypowaniu oraz zbadano parametry biochemiczne. Jedynie dla kobiet zaobserwowano istotny statystycznie związek między poszczególnymi genotypami polimorfizmu -174 G>C a stężeniem ogólnym cholesterolu oraz LDL. W przypadku mężczyzn nie odnotowano żadnej znaczącej zależności w tym zakresie. Nosicielki genotypu CC wykazywały niższe poziomy stężenie TC oraz LDL ($p<0,001$) (Henningsson i wsp. 2006). Badanie to pokazuje jak inne czynniki mogą interferować z czynnikami genetycznymi, niekiedy zupełnie zmieniając obserwowane fenotypy. Potwierdza to niejako, choć w odniesieniu do innych parametrów, badanie wcześniejsze wykonane przez Roth i wsp. (2003), wykazujące jedynie u mężczyzn związek między występowaniem polimorfizmu -174 G>C a FFM. Mężczyźni będący nosicielami genotypu CC odznaczali się znacząco niższym FFM niż ci posiadający genotyp GG ($p=0,020$). Niezwykle istotna w kontekście interpretacji wyników badania będącego przedmiotem niniejszej rozprawy doktorskiej jest obserwacja poczyniona przez Roth i wsp. (2003), mówiąca o braku widocznych zależności między genotypami w obrębie polimorfizmu -174 G>C a masą ciała, BMI czy FFM przy poddaniu analizie całej grupy badanej (kobiet i mężczyzn) (Roth i wsp. 2003). W badaniu własnym również nie obserwowano zależności między FFM czy FM a badanymi polimorfizmami *IL6*.

5.2.3 Korelacja między efektami potreningowymi a genotypami *IL6* rs1800797 oraz rs1800796

Niezwykle rzadko opisywanym polimorfizmem w literaturze jest również zmiana pojedynczego nukleotydu A na G w pozycji 597 promotora genu kodującego *IL6* (rs1800797). W niniejszym badaniu własnym zbadano jego wpływ na parametry antropometryczne oraz biochemiczne, jak również na odpowiedź potreningową. Uzyskane wyniki wykazały istotny statystycznie związek między częstością geotypów rs1800797 w genie *IL6* a potreningową odpowiedzią w zakresie zmian wskaźnika BMI

($p=0,039$). Największy spadek w obrębie BMI odnotowano dla genotypu AG, natomiast dla genotypów AA wartość BMI pozostawała niezmienną na skutek zastosowanego treningu. Występowanie u kobiet genotypu AG może predysponować je do lepszej odpowiedzi potreningowej w zakresie spadku BMI. Co ciekawe, nie odnotowano znaczącego statystycznie izolowanego wpływu genotypów w obrębie polimorfizmu -597 A>G genu *IL6* na wartość BMI u badanych uczestniczek ($p=0,397$). W ramach badania własnego poszukiwano również istotnych statystycznie zmian innych parametrów antropometrycznych (masa ciała, FM, TBW) oraz biochemicznych (TC, LDL, HDL, TG, stężenie glukozy) w odpowiedzi na 12-tygodniowy program treningowy. Analiza statystyczna otrzymanych wyników nie wykazała żadnych istotnych zależności między genotypem w obrębie polimorfizmu -572 G>C a wymienionymi wyżej parametrami. Analiza równoczesnego wpływu przeprowadzonego treningu oraz genotypu również nie wykazała istotnych statystycznie korelacji z wyżej wymienionymi parametrami. W dostępnym piśmiennictwie nie istnieją zbieżne w założeniach analizy, które mogłyby być odniesieniem do niniejszego badania własnego. Przeprowadzony przegląd literaturowy nie wykazał podobnych publikacji dotyczących wpływu polimorfizmu -597 A>G genu *IL6* na odpowiedź potreningową, co czyni niniejsze wyniki pionierskimi i nie ma możliwości ich jednoznacznego porównania z innymi danymi literaturowymi. Jednocześnie wyniki dotyczące braku wpływu genotypu na BMI są zbieżne z tymi otrzymanymi przez Slattery i wsp. (2008). Celem powyższego badania było zbadanie, czy związek występowania otyłości i nowotworu piersi jest modyfikowany przez występowanie określonych genotypów w obrębie genu kodującego *IL6* -597A>G (rs1800797), -572G>C (rs1800796), -174G>C (rs1800795), IVS2G>A (rs2069832) i ekson 5 C>T (rs2069849). Grupę badaną stanowiło 1176 kobiet pochodzenia kaukaskiego oraz 576 kobiet pochodzenia latynoamerykańskiego chorujących na raka piersi, zaś grupę kontrolną 1330 kobiet pochodzenia kaukaskiego oraz 727 kobiet pochodzenia latynoamerykańskiego. Dla żadnego z badanych polimorfizmów nie stwierdzono związku z BMI osób badanych (Slattery i wsp. 2008). Podobne obserwacje wykazali Boeta-Lopez i wsp. (2018) w badaniu przeprowadzonym wśród 473 uczestników badania w wieku 17 ± 8 lat z Teksasu, którego celem było wykazanie ewentualnej zależności pomiędzy występowaniem polimorfizmów genu *IL6* (rs1800796 oraz rs1800797) a predyspozycją do wystąpienia otyłości i zespołu metabolicznego. Nie wykazano żadnych zależności między występowaniem polimorfizmu -597 A>G a oznaczonymi poziomami BMI, masą ciała, WHR, ciśnieniem krwi, TC, TG, stężeniem

glukozy, enzymów wątrobowych oraz białka C-reaktywnego (ang. C-reactive protein, CRP). W przypadku polimorfizmu rs1800796 zaobserwowano znacząco wyższe wartości WHR, CRP oraz niższe stężenia IL-6 (Boeta-Lopez i wsp. 2018). Otrzymane wyniki badania własnego mogą posłużyć zatem jako pierwsze doniesienie o wpływie polimorfizmu -572 G>C na odpowiedź potreningową w zakresie zmian BMI u badanych kobiet. Jednakże, do wyników tych należy podchodzić z ostrożnością bowiem w celu zweryfikowania tych obserwacji konieczne są kolejne badania na większej liczbie ochotników.

Badania pojedynczych polimorfizmów są w chwili obecnej standardowym kierunkiem poszukiwania podstaw genetycznych pewnych tendencji, cech danego organizmu czy przyczyn choroby. Należy jednak mieć na uwadze fakt, iż rzadko jeden punkt polimorficzny jest w pełni odpowiedzialny za dane schorzenie bądź wystąpienie cech fenotypowych. Stąd, choć analiza indywidualna jest cennym narzędziem poznawczym i może udzielić odpowiedzi na wiele pytań badawczych, to dopiero analiza wielu markerów genetycznych jednocześnie może rzucić nowe światło na wcześniej już znane zależności, bądź dostarczyć nowych informacji. Haplotyp, czyli zestaw SNPs położonych na jednej chromatydzie, jest dziedziczony od jednego z rodziców. Dla chromatyd, na których markery genetyczne się znajdują są położone w swoim ścisłym sąsiedztwie, często istnieje zależność statystyczna, zwana nierównowagą sprzężeń. Jednym z zasadniczych aspektów analizy haplotypów jest identyfikacja wzorców LD w różnych regionach i populacjach. W ten sposób możliwe jest potwierdzenie bądź wykluczenie nielosowego powiązania alleli w populacji ogólnej. Głównym i pierwotnym celem prowadzenia analizy haplotypów była chęć poznania linii ewolucyjnej wybranych gatunków, w tym człowieka. Obecnie wiadomo, iż analiza haplotypów może dostarczyć unikatowych informacji na temat obserwowanych cech fenotypowych, a także zależności w obrębie genów (Zhao i wsp. 2003).

5.2.4 Analiza haplotypów *IL6* na obserwowaną odpowiedź potreningową

W niniejszym badaniu wykonano również analizę haplotypów dla polimorfizmów odcinka promotorowego genu *IL6* (rs1800795, rs1800796 oraz rs1800797). Analiza częstości haplotypów w powyższych punktach polimorficznych sugerowała silny związek między miejscami polimorficznymi *IL6* rs1800795 oraz rs1800797. Zależność ta została potwierdzona dla populacji ogólnej przy zastosowaniu wzorca równowagi

sprzężeń dla 1000 genomów populacji zachodniej Europy. Co więcej nie wykazano istotnych statystycznie zależności między najczęściej występującymi haplotypami GGG, CGA, GCG a odpowiedzią potreningową wśród uczestniczek. Zaobserwowano natomiast związek między rzadko występującymi haplotypami (GGA, CGG, CCG) a masą ciała ($p=0,002$), BMI ($p<0,0001$), %FM ($p=0,017$), FM ($p<0,0001$), FFM ($p<0,0001$), TC ($p<0,0001$), stężeniem TG ($p<0,0001$), stężeniem HDL ($p<0,0001$), stężeniem LDL ($p<0,0001$) i stężeniem glukozy ($p<0,0001$). Jednak szacowanie indywidualnych efektów haplotypów nie było możliwe. Konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań w celu zaobserwowania powyższych zależności. Slattery i wsp. (2008) przeprowadzili analizę haplotypów dla polimorfizmów rs1800797, rs1800796, rs1800795, rs2069832 i rs2069849. Badania wpływu pojedynczego polimorfizmu na BMI nie wykazały istotnych statystycznie różnic między poszczególnymi genotypami, jednak analiza haplotypów wykazała niższe wartości średnie BMI wśród badanych kobiet pochodzenia kaukaskiego, u których występował haplotyp GGCAC (w kolejności: rs1800797, rs1800796, rs1800795, rs2069832 i rs2069849; $p=0,02$). Haplotyp ten był zdecydowanie rzadziej obserwowany w latynoamerykańskiej grupie kontrolnej (19%) niż wśród kobiet pochodzenia kaukaskiego (43%). Wyniki badania własnego wskazują na dalszy kierunek badań i potwierdzają istnienie związku pomiędzy badanymi polimorfizmami a parametrami odpowiedzi potreningowej. W dostępnej literaturze nie są dostępne inne wyniki analizy haplotypów na odpowiedź potreningową, stąd niniejsze badanie może wskazywać kierunek dalszego rozwoju badań naukowych.

5.2.5 Analiza interakcji międzygenowych

W ramach niniejszej rozprawy doktorskiej przeprowadzono również analizę interakcji międzygenowych. Jak wspomniano we wstępie, interleukiny należą do cytokin wykazujących działanie plejotropowe, tzn. mogą wpływać na wiele różnych komórek jak i na inne cytokiny. Powszechnie przyjęte jest, że interakcja między genami jest kluczowym aspektem architektury genetycznej złożonych wieloprzyczynowych fenotypów. Obecność takich zależności tłumaczy występowanie fenotypów, które nie są jedynie efektem aktywności allelu dominującego bądź recesywnego. Interakcja międzygenowa sprawia, że aktywność jednego genu może być osłabiona, bądź wzmocniona za sprawą obecności innego genu (Phillips 2008).

Niniejsze badanie wykazało, iż współwystępowanie polimorfizmów genu *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 wykazuje istotny statystycznie wpływ na FM oraz %FM (odpowiednio $p=0,040$; $p=0,045$) u uczestniczek będących nosicielkami genotypu TC-GG (rs1800587, rs1800795). Analogiczną interakcję zaobserwowano dla polimorfizmu genu *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800796, co przekładało się na istotne zmiany %FM ($p=0,045$) u nosicielek genotypu TC-GG. Spadek w %FM i FM w okresie treningu był zwykle wyższy u nosicieli genotypu heterogenetycznego (TC) dla wariantu *IL1A* i homozygotycznego (GG) *IL6*. Wykazano również, iż współwystępowanie wariantów *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 wiązało się ze znaczącą zmianą stężenia TG w modelu homozygotyczno-heterozygotycznym ($p=5,47e-06$). Nosicielstwo zestawu genotypów TC-GG zarówno w obrębie genów *IL1A* rs1800587 i *IL6* rs1800795 oraz *IL1A* rs1800587 i *IL6* rs1800796 może być uznane za korzystny, a jego nosicielki mogą łatwiej uzyskać oczekiwane efekty potreningowe w zakresie zmian składu ciała. Kobiety, u których współistniały warianty *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 w modelu homozygotyczno-heterozygotycznym (genotyp CC-CG) miały istotnie większy wzrost TG w okresie treningu ($p=6,017e-05$). Taki zestaw genotypów (CC-CG) może zostać uznany za niekorzystny, a jego nosicielki mogą być obciążone czynnikiem ryzyka rozwinięcia niekorzystnych zmian potreningowych w obrębie parametrów lipidogramu. Przeprowadzony w ramach niniejszej pracy przegląd literaturowy nie wykazał badania opisującego zależności międzygenowych na odpowiedź potreningową, stąd otrzymane wyniki można uznać za nowatorskie i wymagające weryfikacji w dalszych badaniach.

5.3 Ograniczenia oraz zalety przeprowadzonego badania wraz z predykcją wykorzystania badań w praktyce

Wszystkie opisane wyniki obejmujące jednoczesny wpływ programu treningowego i izolowanych genotypów w badanych punktach polimorficznych należy interpretować mając na uwadze także ograniczenia niniejszego badania. Pierwszym z nich jest stosunkowo mało liczna grupa badana. Mała liczebność przekłada się znacząco na mniejszą liczebność w obrębie konkretnego genotypu, co może powodować brak możliwości wykazania istotności statystycznej pewnych zmian adaptacyjnych w odpowiedzi na trening. Niestety rozbudowanie grupy badanej nie było możliwe ze względu na restrykcyjne kryteria włączenia i wyłączenia do badania. Specyfika badania genetycznego wymaga uzyskania grupy badanej jak najbardziej jednolitej pod względem

występujących cech środowiskowych, które mogłyby wpływać na obserwowany fenotyp. Osoby badane musiały zadeklarować, iż przez ostatnie 6 miesięcy nie podejmowały aktywności fizycznej oraz przez co najmniej 6 miesięcy przed badaniem nie przyjmowały żadnych leków bądź suplementów diety. Kryterium wykluczającym była także obecność chorób układu sercowo-naczyniowego bądź pozytywny wywiad w kierunku zespołu metabolicznego. Wszystkie osoby zadeklarowały abstynencję nikotynową. Powyższe kryteria zapewniły bardzo ujednoliconą grupę badaną, stwarzając idealne tło do badania genetycznego, ale z całą pewnością wpłynęły na niską liczebność. Nie bez znaczenia może również okazać się długość trwania okresu treningowego. Możliwe jest, że 12 tygodniowy trening był niewystarczającym okresem do zaobserwowania znaczących zmian w badanej grupie. Z drugiej strony, znaczne wydłużenie okresu treningowego wiązało się z licznymi trudnościami organizacyjnymi przy przeprowadzeniu tak długotrwałego programu treningowego oraz precyzyjną kontrolą ćwiczeń w tak dużej grupie. Przyjęta liczebność grupy była maksymalną możliwą do przeprowadzenia tego badania eksperymentalnego w dysponowanych warunkach. Niewątpliwym wyzwaniem jest również utrzymanie stałej diety przez okres blisko 3 miesięcy. Każda z uczestniczek badania została poinstruowana co do konieczności utrzymania jednolitej diety, został także przygotowany indywidualny program dietetyczny, bazując na zebranych wywiadach, jednak nie istniała możliwość skutecznej kontroli dietetycznej u osób badanych. Kolejnym aspektem, który mógł wpłynąć negatywnie na uzyskane wyniki wpływu badanych czynników genetycznych na odpowiedź potreningową był brak możliwości ujednolicenia czasu wolnego uczestniczek badania. Celem zminimalizowania zmienności w tym względzie uczestniczki zostały zapoznane z celami badania i oczekiwaniami. Niewątpliwym ograniczeniem badania był również fakt, iż do badania nie zgłosili się mężczyźni, przez co nie jest możliwe wykazanie ewentualnych różnic między kobietami a mężczyznami. Jak wskazuje literatura fachowa płeć może mieć tutaj znaczący wpływ na uzyskane obserwacje. Analiza statystyczna danych uzyskanych przez Mendoza-Carrera i wsp. (2019) wykazała istotną statystycznie zależność między występowaniem haplotypu TT (rs17561, rs1800587) a występowaniem podwyższonych wartości BMI ($p < 0,008$) jedynie u mężczyzn, przy czym nie zaobserwowano takiej zależności u kobiet (Mendoza-Carrera i wsp. 2019).

Kolejnym parametrem mogącym znacznie wpłynąć na otrzymane wyniki jest wiek uczestników badań. Z niniejszego badania wykluczane były wszystkie osoby poniżej 19 oraz powyżej 24 roku życia, celem wyeliminowania zmienności związanej

z wiekiem. W badaniu własnym grupa badana to kobiety w wieku średnio 21 lat, zaś w badaniach przytoczonych w niniejszej dysertacji średnie wieku są znacznie wyższe, co może mieć wpływ nie tylko na wyjściowe parametry, ale również odpowiedź potreningową. Wpływ wieku na obserwowane zależności wykazali Chiappelli i wsp. (2005) w przeprowadzonym badaniu w 200-osobowej grupie osób, którzy doświadczyli zawału mięśnia sercowego oraz 257-osobowej grupie osób zdrowych (Chiappelli i wsp. 2005). Innym ograniczeniem badania wykonanego w ramach tej pracy doktorskiej jest fakt, iż brały w nim udział wyłącznie osoby z prawidłową masą ciała. Poszerzenie grupy badanej o osoby z nadwagą oraz otyłe z całą pewnością ukazałoby niedostrzeżone dotąd zależności, a przeprowadzona analiza miałaby większą wartość poznawczą. Co więcej znajomość poziomu stężeń IL-6 oraz IL-1 α umożliwiłoby dalsze wnioskowanie na temat uzyskanych wyników zmienności genetycznej. Poznanie tych parametrów przed oraz po zastosowanym programie treningowym mogłoby wskazać, czy aktywność fizyczna spowodowała znaczące zmiany stężeń badanych parametrów oraz czy badane polimorfizmy z nimi korelują.

Ogromną zaletą niniejszego badania było osiągnięcie jednolitej grupy badanej. Co więcej, wybrane polimorfizmy, jak i założenia badania tj. badanie odpowiedzi potreningowej u osób zdrowych, lecz nie będących wytrenowanymi sportowcami, sprawia, że wyniki uzyskane w ramach niniejszego badania mają charakter unikatowy i pionierski. Mając na uwadze, że przeprowadzone badania odnoszą się do cech ilościowych determinowanych wielogenowo (tj. masa ciała, wskaźniki biochemiczne) wnioskowanie na podstawie zmienności pojedynczych polimorfizmów jest obarczone ryzykiem nadinterpretacji. Z tego powodu wykonano dodatkowe pogłębione analizy tj.: analizę haplotypów oraz analizę interakcji międzygenowych, co stanowi istotny walor badawczy niniejszego badania.

Uzyskane wyniki niewątpliwie są obiecujące i wskazują kierunek dalszych badań. Potwierdzają znaczenie badań genetycznych we współczesnych naukach o kulturze fizycznej. Oczywiście konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań w szerszej grupie badanej, w której wyżej wymienione czynniki ograniczające zostaną wyeliminowane bądź ich wpływ zostanie ograniczony. Mając na względzie ogromną wartość poznawczą badań genetycznych oraz uzyskane wyniki, należy w przyszłości rozszerzyć również zakres badanych zależności genetycznych o polimorfizmy genów kodujących takie cząsteczki jak np. TNF- α , IL-10, IL-1 β .

Poznanie uwarunkowań genetycznych procesów zachodzących w organizmie człowieka może umożliwić w przyszłości projektowanie indywidualnych programów treningowych prozdrowotnych oraz sportowych. Pozyskana wiedza może również pozwolić na wczesne ukierunkowanie osoby zainteresowanej sportem do uprawiania dyscyplin sportowych, do których jest ona predysponowana. Co więcej, możliwe będzie także trafne przewidywanie rezultatów treningu. Takie podejście do aktywności fizycznej może nie tylko wpłynąć na większą efektywność treningu, ale również jego bezpieczeństwo. Możliwe stanie się bowiem określenie indywidualnych wartości progowych dla konkretnych przeciążeń organizmu bądź predykcja ryzyka wystąpienia jednostek chorobowych związanych z uprawianiem sportu. Wiedza o podłożu genetycznym zmian adaptacyjnych obserwowanych w odpowiedzi na realizowany trening prozdrowotny może być również wykorzystywana m.in. do prognozowania zmian masy ciała i tkanki tłuszczowej oraz wskaźników biochemicznych tj. poziomu glukozy i profilu lipidów jakie będą zachodzić w organizmie pod wpływem regularnego wysiłku fizycznego. W przyszłości może stworzyć warunki do zindywidualizowania oraz zwiększenia efektywności prozdrowotnych programów treningowych, poprzez planowanie ich w oparciu o genotyp danej osoby, co może skutkować chociażby efektywną i bezpieczną utratą wagi. Równie istotnym aspektem praktycznym, zwłaszcza w kontekście zdrowia publicznego w obliczu epidemii chorób metabolicznych, jest możliwość oceny osobistej predyspozycji do otyłości oraz innych schorzeń na tle metabolicznym i co za tym idzie, podjęcie wczesnych działań prewencyjnych, co wydaje się być niezwykle istotną kwestią.

6. WNIOSKI

Mając na uwadze zakładane cele i hipotezy niniejszego badania oraz uzyskane wyniki badań sformułowano następujące wnioski:

1. Genotyp CC dla polimorfizmu rs1800587 genu *IL1A* może być uznany za niekorzystny, a jego obecność może być powiązana ze spadkiem TBW w odpowiedzi na zastosowany trening. Może to stać się przyczyną szybszej utraty wody u posiadających go kobiet, co może prowadzić do zaburzeń homeostazy ustrojowej.
2. Występowanie u kobiet genotypów GG oraz GA w obrębie polimorfizmu *IL6* rs1800797 może predysponować je do lepszej odpowiedzi potreningowej w zakresie spadku BMI. Natomiast homozygoty AA muszą zachowywać bardziej restrykcyjne warunki dietetyczne i poddawać się bardziej intensywnemu wysiłkowi fizycznemu w porównaniu z nosicielkami allelu G, aby uzyskać podobne efekty potreningowe.
3. Allel rs1800795 G genu *IL6* może być odpowiedzialny za wykształcenie niepożądanych efektów w zakresie metabolizmu węglowodanów u jego nosicielek. Z tego względu polimorfizm ten może służyć jako marker genetyczny umożliwiający określenie predyspozycji do rozwoju hiperglikemii.
4. W przeprowadzonym badaniu nie wykazano, iż polimorfizmy genów *IL1A* (rs1800587) oraz *IL6* (rs1800796, rs1800797) mogą pełnić rolę markera genetycznego do określania predyspozycji do otyłości bądź innych niekorzystnych zmian metabolicznych związanych ze wzrostem masy ciała w badanej populacji. Konieczne są dalsze, poszerzone badania w celu potwierdzenia tych obserwacji.
5. Wpływ na potreningową odpowiedź adaptacyjną organizmu człowieka w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu może nie być widoczny przy rozpatrywaniu pojedynczych punktów polimorficznych. Dopiero jednoczesna analiza wielu markerów genetycznych może dostarczyć nowych unikatowych informacji na temat obserwowanych cech fenotypowych.
6. Wykazano wpływ rzadko występujących haplotypów *IL6* - GGA, CGG, CCG (rs18000795, rs1800796 oraz rs1800797, odpowiednio) na odpowiedź potreningową uczestniczek badania w zakresie parametrów antropometrycznych

oraz biochemicznych. Jednak ze względu na fakt, że nie było możliwe oszacowanie indywidualnych efektów tych haplotypów uzyskane wyniki wskazują dalszy kierunek badań, by ocenić izolowany wpływ powyższych haplotypów na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu człowieka.

7. Nosicielstwo genotypów TC-GG zarówno w obrębie genów *IL1A* rs1800587 i *IL6* rs1800795 oraz *IL1A* rs1800587 i *IL6* rs1800796 może być związane z większym spadkiem %FM i FM w odpowiedzi na zastosowany trening fizyczny. Taki zestaw genotypów może być uznany za korzystny, a jego nosicielki mogą łatwiej uzyskać oczekiwane efekty potreningowe w zakresie zmian składu ciała.
8. Zestaw genotypów CC-CG obserwowany dla wariantu *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 może zostać uznany za niekorzystny, a jego nosicielki mogą być obciążone czynnikiem ryzyka rozwinęcia niekorzystnych zmian potreningowych w obrębie parametrów lipidogramu (TG).

Przeprowadzone badanie wykazało istotny wpływ dwóch pojedynczych SNPs (rs1800587, rs1800797) na obserwowane cechy fenotypowe (TBW, BMI). Jednocześnie przeprowadzona analiza haplotypów oraz interakcji międzygenowych dowiodła, iż jest to cenne narzędzie poznawcze w zakresie obserwacji odpowiedzi potreningowej. Analizy pojedynczych SNPs nie pozwalają na uzyskanie pełnej informacji w tym zakresie. Uzyskane wyniki są nowatorskie i wyznaczają kierunek dalszego rozwoju badań genetycznych w tym obszarze.

7. STRESZCZENIE

Systematyczna aktywność fizyczna, podejmowana zgodnie ze stanem czynnościowym organizmu, wywiera pozytywny wpływ na szereg zmian adaptacyjnych w ludzkim organizmie, poczynając od obniżenia masy ciała, poprzez redukcję masy tkanki tłuszczowej, wzrost masy mięśni, poprawę tolerancji glukozy i profilu lipidów, usprawnienie pracy układu krążenia, a kończąc na poprawie ogólnego samopoczucia i zdrowia psychicznego. Konsekwentnie, niewystarczający poziom wysiłku fizycznego jest jedną z przyczyn otyłości, którą można postrzegać nie tylko jako problem estetyczny, ale również jako schorzenie związane z ogólnoustrojowym stanem zapalnym o charakterze przewlekłym. Liczne badania opisujące zmiany adaptacyjne zachodzące w odpowiedzi na zastosowany trening fizyczny wykazały znaczące różnice międzyosobnicze, co może sugerować istnienie pewnych zmiennych genetycznych, będących ich przyczyną.

Kluczowymi cytokinami stanu zapalnego są IL-1 i IL-6. Odgrywają one szereg ról fizjologicznych w organizmie m.in. regulują metabolizm lipidów i węglowodanów oraz wpływają na poziom leptyny. Interleukiny te powiązano licznymi cechami związanymi z otyłością, jak również obserwowano wpływ wysiłku fizycznego na ich stężenia. W związku z tym, głównym celem badań było określenie wpływu wybranych polimorfizmów (rs1800587 zlokalizowany w genie *IL1A* oraz rs1800795, rs1800796 i rs1800797 zlokalizowane w genie *IL6*) na zmiany masy i składu ciała oraz wybranych wskaźników biochemicznych wywołanych 12-tygodniowym programem treningowym. Dodatkowym celem badań było ustalenie przydatności wybranych polimorfizmów jako potencjalnych markerów genetycznych umożliwiających określenie predyspozycji do otyłości i rozwoju niekorzystnych zmian metabolicznych związanych ze wzrostem masy ciała.

Grupę badaną stanowiło łącznie 201 kobiet, które spełniały określone kryteria kwalifikujące do uczestnictwa w projekcie. Przed rozpoczęciem fazy treningowej wszystkie uczestniczki badań zostały objęte programem dietetycznym i uzyskały indywidualny plan dietetyczny. Uczestniczki projektu zrealizowały 12-tygodniowy program treningowy. Przed oraz po zakończeniu okresu treningowego u uczestniczek metodą bioimpedancji zbadano następujące parametry: całkowitą masę ciała, FFM, FM, %FM, BMI, indeks impedancji tkanek oraz TBW. Od każdej uczestniczki pobrano przed i po zakończeniu programu treningowego próbki krwi, w których oznaczano stężenia:

glukozy, TG, TC, HDL i LDL. Ponadto pobrano wymazy nabłonka jamy ustnej od 182 uczestniczek do dalszych badań genetycznych. Skutecznie wyizolowanie DNA było możliwe dla 168 próbek. Uzyskany materiał poddano genotypowaniu z wykorzystaniem reakcji PCR w czasie rzeczywistym. Otrzymane wyniki były poddawane analizie statystycznej.

Wyniki przeprowadzonej analizy statystycznej wykazały istnienie zależności pomiędzy obecnością określonych genotypów i alleli opisywanych w wybranych punktach polimorficznych w badanych genach a wielkością odpowiedzi potreningowej rejestrowanej w zakresie analizowanych zmiennych u kobiet realizujących program treningowy. Biorąc pod uwagę równoczesny wpływ treningu i genotypu wskazano na istnienie dwóch statystycznie istotnych zależności pomiędzy częstością genotypów rs1800587 w genie *IL1A* a potreningową reakcją w zakresie zmian poziomu TBW ($p=0,045$) oraz pomiędzy częstością genotypów rs1800797 w genie *IL6* a potreningową reakcją w zakresie zmian wskaźnika BMI ($p=0,039$). Dodatkowo wykazano izolowany wpływ genotypu *IL6* rs1800795 na wartości stężeń glukozy ($p=0,034$). Na podstawie analizy haplotypów przeprowadzonej dla punktów polimorficznych zlokalizowanych w genie *IL6* stwierdzono związek między trzema rzadko występującymi haplotypami a potreningową reakcją w zakresie zmian masy ciała ($p=0,002$), BMI ($p<0,0001$), %FM ($p=0,017$), FM ($p<0,0001$), FFM ($p<0,0001$), TC ($p<0,0001$), a także stężeń TG ($p<0,0001$), HDL ($p<0,0001$), LDL ($p<0,0001$) i glukozy ($p<0,0001$). Analiza interakcji między genami pozwoliła dodatkowo zaobserwować istotny wpływ współwystępowania polimorfizmów genów *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 ($p=0,045$), jak również *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800796 ($p=0,045$) na potreningowe zmiany %FM oraz FM. Wykazano również, że współwystępowanie wariantów *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 wiązało się z potreningową reakcją w zakresie zmian poziomu TG ($p=5,47e-06$).

Podsumowując uzyskane wyniki stwierdzono, że genotyp CC w punkcie rs1800587 w genie *IL1A* może być uznany za niekorzystny, jego obecność może być powiązana ze spadkiem TBW w odpowiedzi na zaaplikowany trening. Może to stać się przyczyną szybszej utraty wody u posiadających go kobiet, co może prowadzić do zaburzeń homeostazy ustrojowej. Z kolei występowanie u kobiet genotypów GG oraz GA w punkcie rs1800797 w genie *IL6* może predysponować je do lepszej odpowiedzi potreningowej w zakresie spadku BMI. Natomiast homozygoty AA muszą zachowywać bardziej restrykcyjne warunki dietetyczne i poddawać się bardziej intensywnemu

wysiłkowi fizycznemu w porównaniu z nosicielkami allelu G, aby uzyskać podobne efekty potreniingowe. Allel G (*IL6* rs1800795) może być odpowiedzialny za wykształcenie niepożądanych efektów w zakresie metabolizmu węglowodanów u jego nosicieli. Z tego względu polimorfizm ten może służyć jako marker genetyczny umożliwiający określenie predyspozycji do rozwoju hiperglikemii. Analiza haplotypów wykazała wpływ rzadko występujących haplotypów *IL6*: GGA, CGG, CCG (rs18000795, rs1800796 oraz rs1800797, odpowiednio) na odpowiedź potreniingową uczestniczek badania w zakresie parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych. Jednak ze względu na fakt, że nie było możliwe szacowanie indywidualnych efektów tych haplotypów uzyskane wyniki wskazują dalszy kierunek badań. Natomiast analiza interakcji międzygenowych wykazała, że nosicielstwo genotypów TC-GG zarówno w obrębie genów *IL1A* rs1800587 i *IL6* rs1800795 oraz *IL1A* rs1800587 i *IL6* rs1800796 może być związane z większym spadkiem %FM i FM w odpowiedzi na zastosowany trening fizyczny. Taki zestaw genotypów może być uznany za korzystny, a jego nosicielki mogą łatwiej uzyskać oczekiwane efekty potreniingowe w zakresie zmian składu ciała. Natomiast zestaw genotypów CC-CG obserwowany dla wariantu *IL1A* rs1800587 oraz *IL6* rs1800795 może zostać uznany za niekorzystny, a jego nosicielki mogą być obciążone czynnikiem ryzyka rozwinięcia niekorzystnych zmian potreniingowych w obrębie parametrów lipidogramu. Przeprowadzone analizy statystyczne dowiodły, że jednoczesna analiza wielu markerów genetycznych jest cennym narzędziem poznawczym w zakresie obserwacji odpowiedzi potreniingowej.

Otrzymane w toku badań dane genetyczne mogą służyć za dodatkowe źródło informacji o osobie podejmującej wysiłek fizyczny, określające na poziomie molekularnym jej wrodzoną charakterystykę metaboliczną. W przyszłości takie informacje będą mogły być potencjalnie wykorzystane do projektowania zindywidualizowanych form aktywności fizycznej oraz skuteczniejszej kontroli uzyskiwanych efektów potreniingowych. Taka wiedza mogłaby być wykorzystana jako nowatorskie narzędzie profilaktyki prozdrowotnej, pomocnej przy ocenie ryzyka wystąpienia i zapobieganiu schorzeń takich jak otyłość, cukrzyca typu II czy choroby układu krwionośnego.

8. ABSTRACT

Systematic physical activity, undertaken in accordance with the functional state of the organism, has a positive effect on a number of adaptive changes in the human body, ranging from a reduction in body weight, reduction of body fat, increase in muscle mass, improvement of glucose tolerance and lipid profile, improvement of the cardiovascular system, and improvement of general well-being and mental health. Consequently, insufficient exercise is one of the causes of obesity, which can be seen not only as an aesthetic problem but also as a condition associated with chronic systemic inflammation. Numerous studies describing the adaptive changes occurring in response to applied physical training have shown significant inter-individual differences, which may suggest the existence of some genetic variables underlying them.

IL-1 and IL-6 are key inflammatory cytokines that play several physiological roles in the body, including regulating lipid and carbohydrate metabolism and influencing leptin levels. These interleukins have been associated with a number of obesity-related characteristics, and the effect of exercise on their concentrations has also been observed. Therefore, the main aim of this study was to determine the effect of selected polymorphisms (rs1800587 located in the *IL1A* gene and rs1800795, rs1800796 and rs1800797 located in the *IL6* gene) on changes in body weight and composition and selected biochemical parameters induced by a 12-week training programme. An additional aim of the study was to determine the usefulness of selected polymorphisms as potential genetic markers for determining the predisposition to obesity and the development of adverse metabolic changes associated with weight gain.

The study group consisted of a total of 201 women who met specific eligibility criteria for participation in the project. Before starting the training phase, all study participants were included in a dietetic programme and received an individual dietary plan. The participants completed a 12-week training programme. Before and after the training period the following parameters were measured: total body weight, FFM, FM, %FM, BMI, tissue impedance index and TBW. Blood samples were taken from each participant before and after the training programme to determine glucose, TG, TC, HDL and LDL concentrations. In addition, oral epithelial swabs were collected from 182 participants for further genetic testing. Successful DNA isolation was possible for 168 samples. The material obtained was genotyped using a real-time PCR reaction. The obtained results were subjected to statistical analysis.

The results of the statistical analysis showed the existence of correlations between the presence of specific genotypes and alleles described at selected polymorphic points in the studied genes and the magnitude of the post-training response recorded in the range of the analysed variables in women implementing a training programme. Taking into account the simultaneous effect of training and genotype, two statistically significant correlations were found between the frequency of rs1800587 genotypes in the *IL1A* gene and the post-training response in terms of changes in TBW level ($p=0.045$) and between the frequency of rs1800797 genotypes in the *IL6* gene and the post-training response in terms of changes in BMI ($p=0.039$). Additionally, an isolated effect of the *IL6* rs1800795 genotype on glucose concentrations was demonstrated ($p=0.034$). Based on haplotype analysis performed for polymorphic points located in the *IL6* gene, an association was found between three rare haplotypes and post-training response in terms of changes in body weight ($p=0.002$), BMI ($p<0.0001$), %FM ($p=0.017$), FM ($p<0.0001$), FFM ($p<0.0001$), TC ($p<0.0001$), and concentrations of TG ($p<0.0001$), HDL ($p<0.0001$), LDL ($p<0.0001$) and glucose ($p<0.0001$). Gene-gene interaction analysis further observed a significant effect of co-occurrence of *IL1A* rs1800587 and *IL6* rs1800795 ($p=0.045$) and *IL1A* rs1800587 and *IL6* rs1800796 ($p=0.045$) gene polymorphisms on post-workout %FM and FM changes. It was also shown that the co-occurrence of *IL1A* rs1800587 and *IL6* rs1800795 variants was associated with a post-workout response in terms of TG level changes ($p=5.47e-06$).

Summarising the results, it was concluded that the CC genotype at rs1800587 in the *IL1A* gene may be considered unfavourable, its presence may be associated with a decrease in TBW in response to applied training. This may be the cause of more rapid water loss in women who have it, which may lead to disturbances in body homeostasis. On the other hand, the occurrence of GG and GA genotypes in women at rs1800797 in the *IL6* gene may predispose them to a better post-workout response in terms of BMI decrease. In contrast, AA homozygotes must maintain a more restrictive diet and undergo more intense exercise compared to carriers of the G allele to achieve similar post-workout effects. The G allele (*IL6* rs1800795) may be responsible for the development of adverse effects on carbohydrate metabolism in its carriers. Therefore, this polymorphism may serve as a genetic marker to determine the predisposition to develop hyperglycaemia. The analysis of haplotypes showed the influence of rare *IL6* haplotypes - GGA, CGG, CCG (rs18000795, rs1800796 and rs1800797, respectively) on post-workout response of female participants in the anthropometric and biochemical parameters. However, as it was

not possible to estimate the individual effects of these haplotypes, the results obtained point in a further direction of research. On the other hand, intergenic interaction analysis showed that carrying TC-GG genotypes in both *IL1A* rs1800587 and *IL6* rs1800795 and *IL1A* rs1800587 and *IL6* rs1800796 may be associated with a greater decrease in %FM and FM in response to applied physical training. This set of genotypes may be considered beneficial and its carriers may more easily achieve the expected post-training effects on body composition changes. On the other hand, the set of CC-CG genotypes observed for the variant *IL1A* rs1800587 and *IL6* rs1800795 may be considered unfavourable, and its carriers may be burdened with the risk factor of developing unfavourable post-training changes in lipidogram parameters. The statistical analyses performed proved that the simultaneous analysis of multiple genetic markers is a valuable cognitive tool for observing the post-workout response.

The genetic data obtained in the course of the study may serve as an additional source of information about the person undertaking physical exercise, determining at the molecular level their innate metabolic characteristics. In the future, such information could potentially be used to design individualised forms of physical activity and to better control post-workout effects. Such knowledge could be used as a novel prophylactic tool for health prevention, helping to assess and prevent conditions such as obesity, type 2 diabetes and cardiovascular disease.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Ayvaz, G., Rıza Ç., A. (2011). Methods for body composition analysis in adults. *The Open Obesity Journal* 3(1), 62-69.
2. Barati, E., Ghazizadeh, H., Sadabadi, F., Kazemi, E., Ferns, G. A., Avan, A., Ghayour-Mobarhan, M. (2019). Association of the IL6 gene polymorphism with component features of metabolic syndrome in obese subjects. *Biochemical genetics* 57(5), 695–708.
3. Boeta-Lopez, K., Duran, J., Elizondo, D., Gonzales, E., Rentfro, A., Schwarzbach, A.E., Nair, S. (2018). Association of interleukin-6 polymorphisms with obesity or metabolic traits in young Mexican-Americans. *Obesity science & practice* 4(1), 85–96.
4. Burger, D., Dayer, J. M., Palmer, G., Gabay, C. (2006). Is IL-1 a good therapeutic target in the treatment of arthritis? *Best practice & research Clinical rheumatology* 20(5), 879–896.
5. Campos, L. P., Graciolo, V., Sousa, M. M., Martins, B. R., Souza, S. W., Alberton, D. i wsp. (2019). Polymorphisms rs1800795 of interleukin-6 and rs2228145 of interleukin-6 receptor genes in Euro-Brazilians with adult-onset type 1 diabetes mellitus. *Genetics and Molecular Research* 18(3), 1-10.
6. Carter, K. W., Hung, J., Powell, B. L., Wiltshire, S., Foo, B.T. X., Leow, Y. C. i wsp. (2008). Association of Interleukin-1 gene polymorphisms with central obesity and metabolic syndrome in a coronary heart disease population. *Human genetics* 124(3), 199–206.
7. Cauci, , Di Santolo, M., Ryckman, K. K., Williams, S. M., Banfi, G. (2010). Variable number of tandem repeat polymorphisms of the interleukin-1 receptor antagonist gene IL-1RN: a novel association with the athlete status. *BMC medical genetics* 11(1), 1–11.
8. Chiappelli, M., Tampieri, C., Tumini, E., Porcellini, E., Caldarera, C. M., Nanni, S. i wsp. (2005). Interleukin-6 gene polymorphism is an age-dependent risk factor for myocardial infarction in men. *International journal of immunogenetics* 32(6), 349–353.
9. Cottam, Daniel R., Mattar, S. G., Barinas-Mitchell, E., Eid, G.e, Kuller, L., Kelley, D. E., Schauer, P. R. (2004). The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity

- associated with morbid obesity: implications and effects of weight loss. *Obesity surgery* 14(5), 589–600.
10. Córdoba-Lanús, E., de-Torres, J. P., López-Aguilar, C., Rodríguez-Pérez, M. C., Maca-Meyer, N., Montejo-de-Garcini, A. i wsp. (2008). Association of IL-6 gene polymorphisms and COPD in a Spanish population. *Respiratory medicine* 102(12), 1805–1811.
 11. Cvorovic, A., Kukic, F., Orr, R. M., Dawes, J. J., Jeknic, V., Stojkovic, M. (2021). Impact of a 12-week postgraduate training course on the body composition and physical abilities of police trainees. *The Journal of Strength & Conditioning Research* 35(3), 826–832.
 12. Czerwec, K., Myślińska, D., Stankiewicz, A., Ruciński, J., Podlacha, M., Kosiński, A. i Grzybiak, M. (red.) (2016). Charakterystyka mediatorów zapalenia-rola cytokin prozapalnych (t. 46).
 13. Defining Adult Overweight and Obesity | Overweight & Obesity | CDC (2020), dostępne na stronie internetowej: <https://www.cdc.gov/obesity/adult/defining.html>, ostatnia aktualizacja 16.06.2020.
 14. Dennis, R. A., Trappe, T. A., Simpson, P., Carroll, Ch., Emma Huang, B., Nagarajan, R. i wsp. (2004). Interleukin-1 polymorphisms are associated with the inflammatory response in human muscle to acute resistance exercise. *The Journal of physiology* 560(3), 617–626.
 15. Dinarello, Ch. A., van der Meer, J. W. M.: Treating inflammation by blocking interleukin-1 in humans, *Seminars in immunology*: Elsevier (t. 25), 469–484.
 16. Dominici, R., Cattaneo, M., Malferrari, G., Archi, D., Mariani, C., Grimaldi, L., Biunno, I. (2002). Cloning and functional analysis of the allelic polymorphism in the transcription regulatory region of interleukin-1 α . *Immunogenetics* 54(2), 82–86.
 17. Drygas, W., Kostka, T., Jegier, A., Kuski, H. (2000). Long-term effects of different physical activity levels on coronary heart disease risk factors in middle-aged men. *International journal of sports medicine* 21(04), 235–241.
 18. Drygas, W., Jegier, A. (2003). Zalecenia dotyczące aktywności ruchowej w profilaktyce chorób układu krążenia. *Czynniki Ryzyka* 38(39), 76–84.
 19. Durstine, J. Larry, Grandjean, P. W., Cox, Ch. A., Thompson, P. D. (2002). Lipids, lipoproteins, and exercise. *Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention* 22(6), 385–398.

20. Eaton, Ch. B., Lapane, K. L., Garber, C. E., Gans, K. M., Lasater, T. M., Carleton, R. A. (1999). Effects of a community-based intervention on physical activity: the Pawtucket Heart Health Program. *American Journal of Public Health* 89(11), 1741–1744.
21. Elsaid, A., af Abdel-Aziz, Elmougy, R., am Elwaseef (2014). Association of polymorphisms G (–174) C in IL-6 gene and G (–1082) A in IL-10 gene with traditional cardiovascular risk factors in patients with coronary artery disease. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 51(4), 282-292.
22. Eskola, P. J., K., Per, Daavittila, I. M., Solovieva, S., Okuloff, Annaleena, Sorensen, J. S. i wsp. (2010). Genetic risk factors of disc degeneration among 12-14-year-old Danish children: a population study. *International journal of molecular epidemiology and genetics* 1(2), 158.
23. Estrov, Z., Kurzrock, R., Talpaz, M. (1995). Interleukin-1 and its inhibitors: implications for disease biology and therapy, *Cytokines: Interleukins and Their Receptors*: 51–82.
24. Faggioli, L., C., C., Donadelli, M., Palmieri, M. (2004). Activation of the Interleukin-6 promoter by a dominant negative mutant of c-Jun. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1692(1), 17–24.
25. Fain, J. N., Madan, A. K., Hiler, M. L., Cheema, P., Bahouth, S.W. (2004). Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 145(5), 2273–2282.
26. Fernández-Real, J. M., Ricart, W. (2003). Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocrine reviews* 24(3), 278–301.
27. Fikenzer, K., Fikenzer, S., Laufs, U., Werner, Ch. (2018). Effects of endurance training on serum lipids. *Vascular pharmacology* 101, 9–20.
28. Fischer, Ch. P. (2006). Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance. *Exercise Immunology Review* 12, 6-33.
29. Fishman, D., Faulds, G., Jeffery, R., Mohamed-Ali, V., Yudkin, J. S., Humphries, S., Woo, P. (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. *The Journal of clinical investigation* 102(7), 1369–1376.
30. Fletcher, B., Gulanick, M., Lamendola, C. (2002). Risk factors for type 2 diabetes mellitus. *Journal of Cardiovascular Nursing* 16(2), 17–23.

31. Frühbeck, G. (2004). The adipose tissue as a source of vasoactive factors. *Current Medicinal Chemistry-Cardiovascular & Hematological Agents* 2(3), 197–208.
32. Gallistl, S., Sudi, K.M., Aigner, R., Borkenstein, M. (2001). Changes in serum interleukin-6 concentrations in obese children and adolescents during a weight reduction program. *International journal of obesity* 25(11), 1640–1643.
33. Gołąb, J., Jakóbisiak, M., Lasek, W., Stokłosa, T. (2017). *Immunologia*. Warszawa: Wydawnictwo naukowe PWN.
34. Goyenechea, E., Parra, D., Martínez, J. A. (2007). Impact of interleukin 6– 174G> C polymorphism on obesity-related metabolic disorders in people with excess in body weight. *Metabolism* 56(12), 1643–1648.
35. Halverstadt, A., Phares, D. A., Roth, S., Ferrell, R. E., Goldberg, A. P., Hagberg, J. M. (2005). Interleukin-6 genotype is associated with high-density lipoprotein cholesterol responses to exercise training. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids* 1734(2), 143–151.
36. Han, M.S., White, A., Perry, R. J., Camporez, J. P., Hidalgo, J., Shulman, G. I., Davis, R. J. (2020). Regulation of adipose tissue inflammation by interleukin 6. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117(6), 2751–2760.
37. Heinrich, P. C., Behrmann, I., Haan, S., Hermanns, H. M., Müller-Newen, G., Schaper, F. (2003). Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *374(1)*, 1–20.
38. Henningsson, S., Håkansson, A., Westberg, L., Baghaei, F., Rosmond, R., Holm, G. i wsp. (2006). Interleukin-6 Gene Polymorphism– 174G/C Influences Plasma Lipid Levels in Women. *Obesity* 14(11), 1868–1873.
39. Hoene, M., Weigert, C. (2008). The role of interleukin-6 in insulin resistance, body fat distribution and energy balance. *Obesity reviews* 9(1), 20–29.
40. Huang, T., Hu, F. B. (2015). Gene-environment interactions and obesity: recent developments and future directions. *BMC medical genomics* 8(1), 1–6.
41. Huth, C., Illig, T., Herder, Ch., Gieger, Ch., Grallert, H., Vollmert, C. i wsp. (2009). Joint analysis of individual participants' data from 17 studies on the association of the IL6 variant-174G> C with circulating glucose levels, interleukin-6 levels, and body mass index. *Annals of medicine* 41(2), 128–138.
42. Jagielski, AK., Piesiewicz, A. (2011). Cukrzyca wyzwaniem dla medycyny XXI wieku–wnioski z badań klinicznych i biochemicznych. *Postępy Biochemii* 57(2), 191-199.

43. Jegier, A., Nazar, K., Dziak, A. (2013). *Medycyna Sportowa. II*. Warszawa: PZWL.
44. Joyner, M.I. J., Green, D. J. (2009). Exercise protects the cardiovascular system: effects beyond traditional risk factors. *The Journal of physiology* 587(23), 5551–5558.
45. Kalinowski, P., Mianowana, M. (2016). Zespół Metaboliczny cz. II: Epidemiologia zespołu metabolicznego w Polsce i na świecie. *Journal of Education, Health and Sport* 6(4), 466–480.
46. Kämäräinen, O. P., Solovieva, S., Vehmas, T., Luoma, K., Riihimäki, H., Ala-Kokko, L. i wsp. (2008). Common interleukin-6 promoter variants associate with the more severe forms of distal interphalangeal osteoarthritis. *Arthritis research & therapy* 10(1), R21.
47. Kamimura, D., Ishihara, K., Hirano, T. (2003). IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model, *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology* 149, 1–38.
48. Keller, Ch., Steensberg, A., Pilegaard, H., Osada, T., Saltin, B., Pedersen, B. K., Neufer, P. D. (2001). Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *The FASEB Journal* 15(14), 2748–2750.
49. Kern, P. A., Ranganathan, S., Li, Ch., Wood, L., Ranganathan, G. (2001). Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism* 280(5), E745-E751.
50. Kershaw, E. E., Flier, J.S. (2004). Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 89(6), 2548–2556.
51. Kodama, S., Tanaka, S., Saito, K., Shu, M., Sone, Y., Onitake, F. i wsp. (2007). Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol: a meta-analysis. *Archives of internal medicine* 167(10), 999–1008.
52. Konwar, Ch., Del Gobbo, G. F., Terry, J., Robinson, W. P. (2019). Association of a placental Interleukin-6 genetic variant (rs1800796) with DNA methylation, gene expression and risk of acute chorioamnionitis. *BMC medical genetics* 20 (1), 36.
53. Kopiczko, A. (2012). Aktywność fizyczna a gęstość mineralna kości u kobiet. *Żywnienie Człowieka i Metabolizm* 2(39), 123-131.

54. Kraus, W. E., Houmard, J. A., Duscha, B. D., Knetzger, K. J., Wharton, M.B., McCartney, J.S. i wsp. (2002). Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *New England Journal of Medicine* 347(19), 1483–1492.
55. Lajunen, T. K., Jaakkola, J. J.K., Jaakkola, M.S. (2016). Interleukin 6 SNP rs1800797 associates with the risk of adult-onset asthma. *Genes & Immunity* 17(3), 193–198.
56. LaMonte, M. J., Blair, N., Church, T.S. (2005). Physical activity and diabetes prevention. *Journal of applied physiology* 99(3), 1205–1213.
57. Leon A.S., Gaskill S.E., Rice T., Bergeron J., Gagnon J., Rao D.C., i wsp. (2002). Variability in the response of HDL cholesterol to exercise training in the HERITAGE Family Study. *International journal of sports medicine* 23(1), 1-9.
58. León-Suárez, V. P. de, Valdés-Flores, M., Miranda-Duarte, A., Ramírez-Pérez, E., Pérez-Ríos, A., Barredo-Prieto, B. i wsp. (2018). Association of the IL6 rs1800796, but not of the IL6 rs1800795, IL6R rs4845617 and rs2228145 polymorphisms with hip fracture in elderly Mexican women. *Aging clinical and experimental research* 30(4), 407–410.
59. Ling, P. R., Schwartz, J. H., Jeevanandam, M., Gauldie, J., Bistrian, B. R. (1996). Metabolic changes in rats during a continuous infusion of recombinant interleukin-1. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism* 270(2), E305-E312.
60. Ljubojević, A., Jakovljević, V., Popržen, M. (2014). Effects of Zumba fitness program on body composition of women. *SportLogia* 10(1), 29–33.
61. Lotz, M. (1995). Interleukin-6: a comprehensive review, 209–233.
62. Lulińska-Kuklik, E., Maculewicz, E., Moska, W., Ficek, K., Kaczmarczyk, M., Michałowska-Sawczyn, M. i wsp. (2019). Are IL1B, IL6 and IL6R gene variants associated with anterior cruciate ligament rupture susceptibility? *Journal of sports science & medicine* 18(1), 137.
63. Martin, M.U., Wesche, H. (2002). Summary and comparison of the signaling mechanisms of the Toll/interleukin-1 receptor family. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1592 (3), 265–280.
64. Mastana, S., Prakash, S. , Akam, E. C., Kirby, M., Lindley, M. R., Sinha, N., Agrawal, S. (2017). Genetic association of pro-inflammatory cytokine gene polymorphisms with coronary artery disease (CAD) in a North Indian population. *Gene* 628, 301–307.

65. Mendoza-Carrera, F., Ramírez-López, G., Hernández-Ramos, L. E., Leal-Cortés, C., Portilla-de-Buen, E., Castro-Martínez, X. H. i wsp. (2019). Interleukin-1 Alpha Polymorphisms Are Associated With Body Mass Index in Male But Not in Female Adolescents. *Archives of medical research* 50(3), 151–157.
66. Mohamed-Ali, V., Goodrick, S. , Rawesh, A., Katz, Miles, J. M., Yudkin, J.S. i wsp. (1997). Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 82(12), 4196–4200.
67. Oniszczenko, W. (2008). Genetyka zachowania a osobowość. *Doctrina. Studia społeczno-polityczne* 5, 137–147.
68. Ortlepp, J.R, Metrikat, J., Vesper, K., Mevissen, V., Schmitz, F., Albrecht, M. i wsp. (2003). The interleukin-6 promoter polymorphism is associated with elevated leukocyte, lymphocyte, and monocyte counts and reduced physical fitness in young healthy smokers. *Journal of molecular medicine* 81(9), 578–584.
69. Ostrowski, K., Schjerling, P., Pedersen, B. K. (2000). Physical activity and plasma interleukin-6 in humans—effect of intensity of exercise. *European journal of applied physiology* 83(6), 512–515.
70. Papaoikonomou, S., Tousoulis, D., Tentolouris, N., Miliou, A., Papageorgiou, N., Synetos, A., Stefanadis, Ch. (2014). Assessment of the effects of 174G/C polymorphism on interleukin 6 gene on macrovascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *International journal of cardiology* 172(1), e190-e191.
71. Park, B. L., Lee, H.S. , Kim, Y. J., Kim, J. Y., Jung, J. H., Kim, L. H., Shin, H. D. (2003). Association between interleukin 6 promoter variants and chronic hepatitis B progression. *Experimental & molecular medicine* 35(2), 76–82.
72. Pereira, D.S. , Mateo, E.C.C., Queiroz, B.Z. de, Assumpção, A. M., Miranda, A.S., Felício, D. C. i wsp. (2013). TNF- α , IL6, and IL10 polymorphisms and the effect of physical exercise on inflammatory parameters and physical performance in elderly women. *Age* 35(6), 2455–2463.
73. Phillips, C., Baktir, M. A., Srivatsan, Malathi, Salehi, Ahmad (2014). Neuroprotective effects of physical activity on the brain: a closer look at trophic factor signaling. *Frontiers in cellular neuroscience* 8, 170.
74. Phillips, P. C. (2008). Epistasis-the essential role of gene interactions in the structure and evolution of genetic systems. *Nature Reviews Genetics* 9(11), 855–867.

75. Qi, H. P., Qu, Z. Y., Duan, S.R., Wei, Q., Wen, S.R., Bi, S. (2012). IL-6-174 G/C and-572 C/G polymorphisms and risk of Alzheimer's disease. *PloS one* 7(6), 1-6.
76. Richter, E. A., Derave, W., Wojtaszewski, J. F. P. (2001). Glucose, exercise and insulin: emerging concepts. *The Journal of physiology* 535(2), 313–322.
77. Riebe, D., Ehrman, J. K., Liguori, G., Magal, M., American College of Sports Medicine (2018). *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription*: Wolters Kluwer.
78. Roerink, M. E., van der Schaaf, M. E., Dinarello, Ch. A., Knoop, H., van der Meer, Jos W. M. (2017). Interleukin-1 as a mediator of fatigue in disease: a narrative review. *Journal of Neuroinflammation* 14(1), 16.
79. Roth, S.M., Schrager, M. A., Lee, M. R., Metter, E. J., Hurley, B. F., Ferrell, R. E. (2003). Interleukin-6 (IL6) genotype is associated with fat-free mass in men but not women. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 58(12), B1085-B1088.
80. Rozwadowska, N., Fiszer, D., Kurpisz, M. (2005). Funkcja układu genów interleukiny 1 w procesach immunomodulacji, apoptozy i proliferacji w gonadzie męskiej Function of the interleukin-1 gene system in immunomodulation, apoptosis and proliferation. *Postepy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 59(0), 56–67.
81. Ruderman, N. B., Keller, Ch., Richard, A. M., Saha, A. K., Luo, Z., Xiang, X. i wsp. (2006). Interleukin-6 regulation of AMP-activated protein kinase: potential role in the systemic response to exercise and prevention of the metabolic syndrome. *Diabetes* 55(Supplement 2), S48-S54.
82. Settin, A., Zedan, M., Farag, M., El Regal, M. E., Osman, E. (2008). Gene polymorphisms of IL-6– 174 G/C and IL-1Ra VNTR in asthmatic children. *The Indian Journal of Pediatrics* 75(10), 1019–1023.
83. Shoelson, S.E., Lee, J., Goldfine, A. B. (2006). Inflammation and insulin resistance. *The Journal of clinical investigation* 116(7), 1793–1801.
84. Sie, M. P. , Sayed-Tabatabaei, F. A., Oei, H.H.S., Uitterlinden, A.G., Pols, H.A.P., Hofman, A. i wsp. (2006). Interleukin 6– 174 g/c promoter polymorphism and risk of coronary heart disease: results from the rotterdam study and a meta-analysis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 26(1), 212–217.
85. Sims, J. E., Smith, D. E. (2010). The IL-1 family: regulators of immunity. *Nature Reviews Immunology* 10(2), 89–102.

86. Slattery, M. L., Curtin, K., Sweeney, C., Wolff, R. K., Baumgartner, R. N., Baumgartner, K. B. i wsp. (2008). Modifying Effects of IL-6 Polymorphisms on Body Size–Associated Breast Cancer Risk. *Obesity* 16(2), 339–347.
87. Sobieszczęńska, M., Kałka, D., Pilecki, W., Adamus, J. (2009). Aktywność fizyczna w podstawowej i pierwotnej prewencji choroby sercowo-naczyniowej. *Polski Merkuriusz Lekarski* 156, 659–664.
88. Somers, W., Stahl, M., Seehra, J.S. (1997). 1.9 Å crystal structure of interleukin 6: implications for a novel mode of receptor dimerization and signaling. *The EMBO journal* 16(5), 989–997.
89. Stahl, N., Boulton, T. G., Farruggella, T., Ip, N. Y., Davis, , Witthuhn, B. A. i wsp. (1994). Association and activation of Jak-Tyk kinases by CNTF-LIF-OSM-IL-6 beta receptor components. *Science* 263(5143), 92–95.
90. Stanton, R., Happell, B., Reaburn, P. (2014). The mental health benefits of regular physical activity, and its role in preventing future depressive illness. *Nursing: Research and Reviews* 4, 45–53.
91. Tam, V., Patel, N., Turcotte, M., Bossé, Y., Paré, G., Meyre, D. (2019). Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nature Reviews Genetics* 20(8), 467–484.
92. Tan, D., Wu, X., Hou, M. I.N., Lee, S.O., Lou, W.E.I., Wang, J. i wsp. (2005). Interleukin-6 polymorphism is associated with more aggressive prostate cancer. *The Journal of urology* 174(2), 753–756.
93. Thibault, R., Genton, L., Pichard, C. (2012). Body composition: why, when and for who? *Clinical nutrition* 31(4), 435–447.
94. Tuomilehto, J., Lindström, J., Eriksson, J. G., Valle, T. T., Hämäläinen, H., Ilanne-Parikka, P. i wsp. (2001). Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *New England Journal of Medicine* 344(18), 1343–1350.
95. Um, J.Y., Rim, H.K., Kim, S.J., Kim, H. L., Hong, S.H. (2011). Functional polymorphism of IL-1 alpha and its potential role in obesity in humans and mice. *PloS one* 6(12), 1-10.
96. Wajchenberg, B. L. (2000). Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocrine reviews* 21(6), 697–738.

97. Wallenius, V., Wallenius, K., Ahrén, B., Rudling, M., Carlsten, H., Dickson, S.L. i wsp. (2002b). Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nature medicine* 8(1), 75–79.
98. Wang, Y., Xu, D. (2017). Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins. *Lipids in health and disease* 16(1), 1–8.
99. Warburton, D. E. R., Charlesworth, S., Ivey, A., Nettlefold, L., Bredin, S.D. (2010). A systematic review of the evidence for Canada's Physical Activity Guidelines for Adults. *International journal of behavioral nutrition and physical activity* 7(1), 1–220.
100. Wernstedt, I., Eriksson, A.L., Berndtsson, A., Hoffstedt, J., Skrtic, S., Hedner, T. i wsp. (2004). A common polymorphism in the interleukin-6 gene promoter is associated with overweight. *International journal of obesity* 28(10), 1272–1279.
101. Winzer, E.B., Woitek, F., Linke, A. (2018). Physical activity in the prevention and treatment of coronary artery disease. *The Journal of American Heart Association* 7(4), 1–15.
102. World Health Organization (2010). *Global recommendations on physical activity for health*. Genève: WHO.
103. Xing, Z., Gauldie, J., Cox, G., Baumann, H., Jordana, M., Lei, X. F., Achong, M. K. (1998). IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *The Journal of clinical investigation* 101(2), 311–320.
104. Yamin, Ch., Duarte, J. A. R., Oliveira, J. M. F., Amir, O., Sagiv, M., Eynon, N. i wsp. (2008). IL6 (-174) and TNFA (-308) promoter polymorphisms are associated with systemic creatine kinase response to eccentric exercise. *European journal of applied physiology* 104(3), 579–586.
105. Yang, L., Wang, L., Lin, H.K., Kan, P. Y., Xie, S., Tsai, M.Y. i wsp. (2003). Interleukin-6 differentially regulates androgen receptor transactivation via PI3K-Akt, STAT3, and MAPK, three distinct signal pathways in prostate cancer cells. *Biochemical and biophysical research communications* 305(3), 462–469.
106. Zhao, H., Pfeiffer, R., Gail, M. H. (2003). Haplotype analysis in population genetics and association studies. *Pharmacogenomics* 4(2), 171–178.

10. INDEKS SKRÓTOWCÓW

A - Alanina

AMP - adenozynomonofosforan

AMPK - kinaza aktywowana adenozyno-5'-monofosforanem

ATP - adenozynotrifosforan

BMI - wskaźnik masy ciała

BMR - wskaźnik podstawowej przemiany materii

C - cytozyna

CHD - choroba niedokrwienna serca

COPD - przewlekła obturacyjna choroba płuc

DNA - kwas deoksyrybonukleinowy

DOM- model dominujący

FFM - masa beztłuszczowa

FM - masa tkanki tłuszczowej

G - Guanina

HDL - lipoproteiny o wysokiej gęstości

HOM-MET - model homozygotyczno-heterozygotyczny

HRmax - tętno maksymalne

IgA - immunoglobulina typu A

IgG - immunoglobulina typu G

IgM - immunoglobulina typu M

IL-1 - interleukina 1

IL-11 - interleukina 11

IL-18 - interleukina 18

IL-1F10 - interleukina 1F10

IL-1F5 - interleukina 1F5

IL-1F6 - interleukina 1F6

IL-1F7 - interleukina 1F7

IL-1F8 - interleukina 1F8

IL-1F9 - interleukina 1F9

IL-1ra - antagonist receptora interleukiny 1

IL-1RI - receptor IL-1 typ I

IL-1RII - receptor IL-1 typ II

IL-1 α - interleukina 1 α
IL-1 β - interleukina 1 β
IL-33 - interleukina 33
IL-6 - interleukina 6
IL-6R - receptor interleukiny 6
JAK - Janus kinaza
LD - wzorzec równowagi sprzężeń
LDL - lipoproteiny o niskiej gęstości
MAPK - kinaza aktywowana miogenami
MRI - badanie rezonansu magnetycznego
mRNA - matrycowy kwas rybonukleinowy
multiplex-PCR - PCR z zastosowaniem wielu par starterów
NF- κ B - jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B
OVER - model naddominujący
PAF - czynnik aktywujący płytki krwi
PAL - współczynnik aktywności fizycznej
PCR - reakcja łańcuchowa polimerazy
PCR-RFLP - polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych
RAPD-PCR - losową amplifikację polimorficznego DNA
Real-Time PCR - PCR w czasie rzeczywistym
REC - model recesywny
RNA - kwas rybosynukleinowy
RT-PCR - PCR z zastosowaniem odwrotnej transkryptazy
SD - odchylenie standardowe
SNP - polimorfizm pojedynczego nukleotydu
SOCS3 - białko supresorowe sygnalizacji cytokin
STAT - przekaźnik sygnału i aktywator transkrypcji
T - tyrozyna
TBW - całkowita zawartość wody w organizmie
TC - cholesterol całkowity
TEE - dobowy całkowity wydatek energetyczny
TG - triglicerydy
TIR - domena Toll-IL-receptor
TNF- α - czynnik martwicy nowotworów

WHO - Światowa Organizacja Zdrowia

WHR - stosunek obwodu talii do obwodu bioder

Ω - opór tkankowy

11. SPIS WYKRESÓW

Wykres 1. Wartości średnie masy ciała uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.....	41
Wykres 2. Wartości średnie BMI uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.....	42
Wykres 3. Wartości średnie BMR uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego wyrażone w kJ.....	43
Wykres 4. Wartości średnie BMR uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego wyrażone w kcal.....	43
Wykres 5. Wartości średnie indeksu impedancji tkanek uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.	44
Wykres 6. Wartości średnie FM uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.....	45
Wykres 7. Wartości średnie FM wyrażone w procentach dla uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.	45
Wykres 8. Wartości średnie masy beztłuszczowej uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.	46
Wykres 9. Wartości średnie TBW w organizmach uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.	47
Wykres 10. Wartości średnie TC w osoczu krwi uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.	48
Wykres 11. Wartości średnie TG w osoczu krwi uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.	49
Wykres 12. Wartości średnie LDL w osoczu krwi uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.	50
Wykres 13. Wartości średnie HDL w osoczu krwi uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.	51
Wykres 14. Wartości średnie stężenia glukozy w osoczu krwi uczestniczek badania przed rozpoczęciem i po zakończeniu 12-tygodniowego programu treningowego.	52
Wykres 15. Rozkład częstości genotypów opisanych w punkcie <i>IL1A</i> rs1800587 dla prób DNA uzyskanych od 168 uczestniczek badania.	55
Wykres 16. Rozkład częstości genotypów opisanych w punkcie <i>IL6</i> rs1800795 dla prób DNA uzyskanych od 168 uczestniczek badania.	56

Wykres 17. Rozkład częstości genotypów opisanych w punkcie <i>IL6</i> rs1800796 dla prób DNA uzyskanych od 168 uczestniczek badania.	56
Wykres 18. Rozkład częstości genotypów opisanych w punkcie <i>IL6</i> rs1800797 dla prób DNA uzyskanych od 168 uczestniczek badania.	57
Wykres 19. Zmiany TBW u nosicielek poszczególnych genotypów <i>IL1A</i> rs1800587. .	61
Wykres 20. Zmiany BMI u nosicielek poszczególnych genotypów <i>IL6</i> rs1800797.	63
Wykres 21. Wpływ poszczególnych genotypów <i>IL6</i> rs1800795 na stężenia glukozy...	65
Wykres 22. Częstość występowania poszczególnych haplotypów <i>IL6</i> wśród 168 uczestniczek badania.....	69

12. SPIS RYSUNKÓW

Rysunek 1. Schemat genu IL-6 wraz z wyróżnieniem odcinka promotorowego	12
Rysunek 2. Szlak sygnałowy IL-1.	17
Rysunek 3. Etapy zastosowanej procedury izolacji genomowego DNA.....	31
Rysunek 4. Schemat cyklu reakcji PCR	35
Rysunek 5. Schemat reakcji PCR w czasie rzeczywistym z wykorzystaniem sond TaqMan.....	37
Rysunek 6. Przykładowe wyniki analizy dyskryminacji alleli przeprowadzonej.	54
Rysunek 7. Wzorzec równowagi sprzężeń wśród rs1800795, rs1800796 oraz rs1800797 dla 1000 genomów populacji zachodnioeuropejskiej.	70

13. SPIS TABEL

Tabela 1 Charakterystyka 12-tygodniowego treningu aerobowego	26
Tabela 2 Punkty polimorficzne poddane genotypowaniu przy użyciu gotowych zestawów odczynników TaqMan® Pre-Designed SNP Genotyping Assay.....	38
Tabela 3 Rozkład częstości występowania genotypów i alleli wszystkich analizowanych miejsc polimorficznych w genach IL1A i IL6.....	58
Tabela 4 Korelacja częstości genotypów opisanych dla rs1800587 w genie IL1A z uwzględnieniem potreningowych zmian parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych	62
Tabela 5 Korelacja częstości genotypów opisanych dla rs1800797 w genie IL6 z uwzględnieniem potreningowych zmian parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych	64
Tabela 6 Korelacja częstości genotypów opisanych dla rs1800795 w genie IL6 z uwzględnieniem potreningowych zmian parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych	66
Tabela 7 Korelacja częstości genotypów opisanych dla rs1800796 w genie IL6 z uwzględnieniem potreningowych zmian parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych	68
Tabela 8 Analiza haplotypów IL6 (rs1800795, 1800796, 1800797) - liniowy model zmian składu ciała i parametrów biochemicznych podczas treningu z wartościami wyjściowymi (przed treningiem) jako zmiennymi towarzyszącymi.....	71
Tabela 9 Interakcja IL1A rs1800587 oraz IL6 rs1800795 - model liniowy zmian składu ciała i parametrów lipidowych podczas treningu z wartościami wyjściowymi (przed treningiem) jako zmiennymi towarzyszącymi.....	74
Tabela 10 Interakcja IL1A rs1800587 oraz IL6 rs1800796 - model liniowy zmian składu ciała i parametrów lipidowych podczas treningu z wartościami wyjściowymi (przed treningiem) jako zmiennymi towarzyszącymi.....	75