

**Akademia Wychowania Fizycznego i Sportu
im. Jędrzeja Śniadeckiego w Gdańsku**



Katarzyna Świtała
Rozprawa doktorska

**Związek pomiędzy obecnością wariantów
polimorficznych w genach kodujących receptor
dopaminy D2 (*DRD2*), jelitowe białko wiążące kwasy
tłuszczowe 2 (*FABP2*) oraz neurotroficzny czynnik
pochodzenia mózgowego (*BDNF*) a efektami
potreningowymi obserwowanymi u kobiet
realizujących 12-tygodniowy trening**

promotor:
dr hab. Agata Leońska-Duniec, prof. AWFis
promotor pomocniczy:
dr Monika Michałowska-Sawczyn

Gdańsk 2023

Gdansk University of Physical Education and Sport
Faculty of Physical Education



Katarzyna Świtała
PhD Dissertation

Association between the presence of polymorphic variants in genes encoding dopamine D2 receptor (*DRD2*), intestinal fatty acid binding protein 2 (*FABP2*), brain-derived neurotrophic factor (*BDNF*) and post-workout effects in women performing a 12-week training

promoter:
dr hab. Agata Leońska-Duniec, prof. AWF i S
auxiliary promoter:
dr Monika Michałowska-Sawczyn

Gdansk 2023

SPIS TREŚCI

1. Wykaz prac stanowiących rozprawę doktorską.....	4
2. Wprowadzenie.....	5
3. Cele, pytania i hipotezy badawcze.....	11
4. Materiały i metody.....	13
4.1. Charakterystyka grupy badanej.....	13
4.2. Plan żywieniowy i treningowy.....	13
4.3. Analiza masy i składu ciała.....	14
4.4. Pomiar wskaźników biochemicznych.....	15
4.5. Analizy genetyczne.....	15
4.5.1. Pobór materiału biologicznego.....	15
4.5.2. Izolacja DNA.....	15
4.5.3. Genotypowanie.....	16
4.6. Analiza statystyczna.....	17
5. Wyniki.....	19
5.1. Wyniki badań przedstawione w publikacji pod tytułem: <i>FABP2</i> Ala54Thr polymorphism and post-training changes of body composition and biochemical parameters in Caucasian women.....	19
5.2. Wyniki badań przedstawione w publikacji pod tytułem: Impact of the <i>DRD2</i> polymorphisms on the effectiveness of the training program.....	19
5.3 Wyniki badań przedstawione w publikacji pod tytułem: Association of the G>A (rs6265) polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene (<i>BDNF</i>) with posttraining changes in Caucasian women.....	20
6. Dyskusja.....	25
7.Wnioski.....	32
8. Streszczenie.....	34
9. Summary.....	37
10. Bibliografia.....	39
11. Indeks skrótowców.....	49
12. Oświadczenia współautorów.....	51
13. Publikacje wchodzące w skład rozprawy.....	55

1. WYKAZ PRAC STANOWIĄCYCH ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ

Przedstawiona rozprawa doktorska pod tytułem: „**Związek pomiędzy obecnością wariantów polimorficznych w genach kodujących receptor dopaminy D2 (*DRD2*), jelitowe białko wiążące kwasy tłuszczowe 2 (*FABP2*) oraz neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (*BDNF*) a efektami potreningowymi obserwowanymi u kobiet realizujących 12-tygodniowy trening**”, składa się z cyklu trzech prac opublikowanych w czasopismach o sumarycznej punktacji Impact Factor (IF) równej 4,941 oraz Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) równej 310 pkt.:

Publikacja 1

Leońska-Duniec Agata, **Świtała Katarzyna**, Ahmetov I. Ildus, Pickering Craig, Massidda Myosotis, Buryta Maciej, Mastelarz Andrzej, Maculewicz Ewelina. ***FABP2* Ala54Thr polymorphism and post-training changes of body composition and biochemical parameters in Caucasian women.** Genes, 2021, 12(7):954; DOI: 10.3390/genes12070954; IF: 4,141; MNiSW: 100 pkt.

Publikacja 2

Świtała Katarzyna, Bojarczuk Aleksandra, Hajto Jacek, Piechota Marcin, Buryta Maciej, Leońska-Duniec Agata. **Impact of the *DRD2* polymorphisms on the effectiveness of the training program.** International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, 19(9):4942; DOI: 10.3390/ijerph19094942; MNiSW: 140 pkt.

Publikacja 3

Świtała Katarzyna, Leońska-Duniec Agata, Michałowska-Sawczyn Monika, Brodkiewicz Andrzej, Łosińska Kinga, Grzywacz Anna. **Association of the G>A (rs6265) polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene (*BDNF*) with posttraining changes in Caucasian women.** Baltic Journal of Health and Physical Activity, 2023; DOI: <https://doi.org/10.29359/BJHPA.16.1.02>; IF: 0,8; MNiSW: 70 pkt.

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki
(projekt badawczy nr 2012/07/B/NZ7/01155)

2. WPROWADZENIE

Aktywność fizyczna, rozumiana jako trening wyczynowy i prozdrowotny, niesie za sobą pozytywny wpływ na zdrowie fizyczne i psychiczne niezależnie od wieku czy płci, co zostało potwierdzone licznymi badaniami naukowymi (Paluska i wsp. 2000; Thompson i wsp. 2003; Loprinzi i wsp. 2012). Do najpowszechniejszych zalet aktywności ruchowej zalicza się profilaktykę i/lub spowolnienie rozwoju wystąpienia wielu obciążających organizm chorób tj. otyłości, cukrzycy typu 2, chorób układu sercowo-naczyniowego, chorób układu oddechowego, chorób układu kostnowstawowego oraz niektórych nowotworów np. jelita grubego (Friedenreich i wsp. 2002; Boyle i wsp. 2012). Udowodniono również, że regularny wysiłek fizyczny ma działanie przeciwlękowe i przeciwdepresyjne, a co za tym idzie poprawia stan zdrowia psychicznego (Roshanaei-Moghaddam i wsp. 2009; Da Silva i wsp. 2012).

Długotrwały i systematyczny trening fizyczny sprzyja również utrzymaniu prawidłowej masy ciała. Pod jego wpływem obserwuje się zmniejszenie adipocytów z równoczesnym wzrostem aktywności lipazy lipoproteinowej, co skutkuje redukcją masy tkanki tłuszczowej (Hansen i wsp. 2007). Regularne ćwiczenia fizyczne powodują również wzrost beztłuszczowej masy ciała i masy mięśni szkieletowych, masy tkanki kostnej oraz wpływają na dystrybucję tkanki tłuszczowej w organizmie, powodując prozdrowotny typ jej kumulacji (Tremblay i wsp. 1990; Proctor i wsp. 2000). U osób aktywnych fizycznie obserwuje się modyfikację profilu lipidowego krwi polegającą na obniżeniu frakcji lipoprotein niskiej gęstości (ang. low density lipoprotein, LDL) i poziomu trójglicerydów (ang. triglycerides, TG), wzroście frakcji lipoprotein wysokiej gęstości (ang. high density lipoprotein, HDL) oraz utrzymaniu prawidłowego stężenia glukozy we krwi (ang. blood glucose level, BG), (Jafari i wsp. 2003; Monda i wsp. 2009).

Natomiast zbyt niski poziom aktywności fizycznej jest jedną z głównych przyczyn otyłości definiowanej przez Światową Organizację Zdrowia (ang. World Health Organization, WHO) jako chorobą przewlekłą o złożonej etiologii. Polega ona na nadmiernym oraz niewłaściwym nagromadzeniu tkanki tłuszczowej, co może stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzkiego, ponieważ jest związana z podwyższonym ryzykiem wystąpienia wielu chorób (WHO 2010). Obecnie liczba osób z nadmierną masą ciała szybko rośnie, osiągając skalę epidemii. Nadwaga i otyłość dotyczą prawie 60% dorosłych i prawie jedno na troje dzieci (29% chłopców i 27% dziewcząt) populacji europejskiej (WHO, 2022). Otyłość należy postrzegać nie tylko jako problem estetyczny, ale również schorzenie prowadzące do pogorszenia jakości życia i znacząco podnoszące ryzyko wystąpienia zgonu (WHO, 2022). W patogenezie otyłości, oprócz nieprawidłowych nawyków żywieniowych i niskiej aktywności fizycznej, znaczącą rolę odgrywają komponenty genetyczne (Maes i wsp. 1997).

Udział tych czynników w rozwoju otyłości jest niezwykle istotny, o czym świadczą wysokie współczynniki odziedziczalności dla wskaźnika masy ciała (ang. body mass indeks, BMI) (od 0,4 do 0,7) oraz stosunku obwodu talii do bioder (od 0,4 do 0,8), (ang. waist hip ratio, WHR) (Stunkard i wsp. 1990; Maes i wsp. 1997). Genetyczne podłoże otyłości u większości osób ma charakter złożony i wieloczynnikowy, obejmujący skomplikowane interakcje w obrębie genu, pomiędzy wieloma genami, a także oddziaływania genotyp – środowisko (McKeigue i wsp. 1991; King i wsp. 2002). Li i współpracownicy (2010) udowodnili, że systematyczny wysiłek fizyczny może wpływać na obniżenie ryzyka fenotypowego ujawnienia się niekorzystnych efektów obciążających wariantów genów. W konsekwencji promocja aktywnego stylu życia, zwłaszcza u ludzi z predyspozycjami genetycznymi, jest priorytetowym działaniem mającym na celu ograniczenie stale rosnącej skali epidemii otyłości (Loret de Mola 2009; WHO, 2022).

Liczne badania nad specyfiką zmian wybranych wskaźników fizjologicznych i biochemicznych, a także wielkości wyrażenia cech antropometrycznych w fenotypie danej osoby po wysiłku fizycznym zaowocowały stosunkowo dobrze poznanym schematem odpowiedzi funkcjonalnej na zaaplikowany trening (Ahmad i wsp. 2013). Jednak oszacowanie zakresu zmian adaptacyjnych zachodzących w organizmie człowieka pod wpływem aktywności fizycznej nadal stanowi ważny problem naukowy. Najnowsze badania wskazują, że potreningowa odpowiedź organizmu jest bardzo podobna u osób będących nosicielami takich samych wersji allelicznych wybranych genów (Leońska-Duniec i wsp. 2018).

Na podstawie analizy danych literaturowych do najbardziej obiecujących genów markerowych biorących udział w regulacji masy ciała i metabolizmu oraz potencjalnie wpływających na efektywność treningu fizycznego zaliczono m.in. geny kodujące: demetylazę 2-oxoglutaranową (ang. fat mass and obesity associated gene, *FTO*), leptynę (ang. leptin gene, *LEP*), receptor leptyny (ang. leptin receptor gene, *LEPR*), receptor dopaminergiczny D2 (ang. dopamine receptor D2 gene, *DRD2*), jelitowe białko wiążące kwasy tłuszczowe 2 (ang. fatty acid binding protein 2 gene, *FABP2*), termogeninę 1 (ang. uncoupling protein 1 gene, *UCPI*), neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (ang. brain-derived neurotrophic factor gene, *BDNF*) oraz receptor melanokortyny 4 (ang. melanocortin 4 receptor gene, *MC4R*) (Świtała i Leońska-Duniec 2021). Mając na uwadze rolę biologiczną produktów genów, do dalszych badań eksperymentalnych wybrano polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (ang. single nucleotide polymorphisms, SNPs) zlokalizowane w genach *FABP2* (Publikacja 1), *DRD2* (Publikacja 2) i *BDNF* (Publikacja 3), które wydawały się być istotne w kontekście różnicowania odpowiedzi potreningowej w organizmie człowieka (Tabela 1).

Gen *FABP2* (Publikacja 1)

Rodzina cytoplazmatycznych białek wiążących kwasy tłuszczowe (ang. fatty acid binding proteins, FABPs) działa w organizmie człowieka na zasadzie mechanizmu zabezpieczającego przed szkodliwym dla komórek nadmiernym gromadzeniem długociąguchowych kwasów tłuszczowych. FABPs transportują kwasy tłuszczowe do komórek, głównie mięśniowych, gdzie ulegają one β -oksydacji (termogeneza) lub do adipocytów w celu ich akumulacji (Ockner i wsp. 1974). Gen *FABP2* jest umiejscowiony na chromosomie 4 (*locus* 4q26) i koduje jelitową izoformę białka, która umożliwia wchłanianie, transportowanie i przetwarzanie kwasów tłuszczowych (Sweetser i wsp. 1987; Baier i wsp. 1995). Powszechnie występujący polimorfizm rs1799883, scharakteryzowany w tabeli 1, polega na tranzycji guaniny (G) w adeninę (A), co powoduje zmianę kodonu alaniny (allel Ala54) na kodon treoniny (allel Thr54). Substytucja nukleotydowa jest przyczyną powstania białka o zmienionej budowie aminokwasowej i w konsekwencji właściwościach (Baier i wsp. 1995). Badania wskazują, że allel Thr54 może być rozważany jako czynnik niekorzystny w kontekście rozwoju otyłości (Baier i wsp. 1995; Albala i wsp. 2004; Fisher i wsp. 2006).

Gen *DRD2* (Publikacja 2)

Dopamina (3,4-dihydroksyfenyloetyloamina) należy do grupy neuroprzekaźników nazwanych katecholaminami. Syntetyzowana w neuronach dopamina, pobudzając swoiste receptory dopaminergiczne (D1-D5), bierze udział w kontroli różnych procesów m.in. utrzymanie postawy ciała i poruszanie się, koordynacja ruchowa, uczenie się, zapamiętywanie oraz reakcje emocjonalne (Beaulieu i wsp. 2011; Cordeiro i wsp. 2017). W związku z tym geny kodujące receptory i transporter tego neuroprzekaźnika są brane pod uwagę w ocenie predyspozycji zarówno sportowych, jak i związanych z otyłością, gdyż warunkują szlaki w centralnym układzie nerwowym związane z uczuciem przyjemności (układ nagrody) (Martel i wsp. 1996; Drożak i wsp. 2005). Na dostępność i funkcjonowanie dopaminy duży wpływ mają SNPs zlokalizowane w genie *DRD2* (*locus* 11q23.2) (Grandy i wsp. 1989; Eubanks i wsp. 1992; Zhang i wsp. 2007). Do badań wybrano pięć funkcjonalnych miejsc polimorficznych (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498), które zostały przedstawione w tabeli 1. Badane polimorfizmy były do tej pory najczęściej opisywane w kontekście otyłości i zaburzeń odżywiania, uzależnień od alkoholu, narkotyków i papierosów, zdolności uczenia się, pamięci i koncentracji, predyspozycji sportowych, a także chorób psychicznych (Zhang i wsp. 2007; Doebling i wsp. 2009; Mi i wsp. 2011; Aliasghari i wsp. 2021).

Analizie poddano pojedyncze SNPs i haplotypy, co pozwoliło na zaobserwowanie unikatowych interakcji.

Gen *BDNF* (Publikacja 3)

BDNF należy do rodziny neurotrofin, polipeptydowych czynników wzrostu, syntetyzowanych w komórkach ośrodkowego i obwodowego systemu nerwowego. Neurotrofina ta wykazuje wysokie powinowactwo do receptorów z rodziny kinazy tyrozynowej B (ang. tropomyosin receptor kinase B, TrkB) oraz receptorów czynnika wzrostu nerwów o niskim powinowactwie (ang. low-affinity nerve growth factor receptor, LNGFR, zwany również p75NTR), za pośrednictwem których odpowiada za regulację m.in. neurogenezy, neuroprotekcji, różnicowania, przebudowy i przeżycia neuronów oraz synaptogenezy i plastyczności synaptycznej (Leal i wsp. 2014; Akbarian i wsp. 2018; Małczyńska i wsp. 2018). Poprzez interakcje ze szlakami regulacyjnymi innych czynników tj. insuliny, leptyny, czy kortykotropiny BDNF uczestniczy również w regulacji homeostazy energetycznej organizmu. Obniżenie poziomu BDNF w mózgu powoduje wzrost poboru pokarmu i otyłość, a z kolei jego podwyższenie prowadzi do zmniejszenia apetytu, zwiększenia wydatku energetycznego i redukcji masy ciała (Piotrowicz i wsp. 2020; Xu i wsp. 2003; Rios i wsp. 2001). Dane literaturowe wskazują, że na wzrost poziomu BDNF ma wpływ regularna aktywność fizyczna (Małczyńska i wsp. 2018; Ruiz-González i wsp. 2021). Dodatkowo poziom tkankowego i krążącego we krwi białka powiązано z polimorfizmem rs6265 (G/A, Val66Met) w genie *BDNF* (*locus* 11p14.1; tabela 1). Tranzycja guaniny (G) w adeninę (A) w 196 pozycji łańcucha polinukleotydowego powoduje zmianę kodonu waliny (allel Val66) na kodon metioniny (allel Met66) w 66 pozycji polipeptydu, co wpływa na proces translacji i sekrecji białka (Egan i wsp. 2003; Chiaruttini i wsp. 2009; Han i wsp. 2016).

Tabela 1. Charakterystyka badanych miejsc polimorficznych zlokalizowanych w genach *DRD2*, *FABP2* i *BDNF*

Polimorfizm genu <i>FABP2</i>				
Nazwa	Pozycja w genie	Podłoże molekularne	Znaczenie kliniczne	Literatura
rs1799883; G/A; Ala54Thr	Ekson 2	Zmiany strukturalne białka wpływające na jego zdolności wiązania kwasów tłuszczowych: allel Thr54 jest związany z wyższym powinowactwem do wiązania kwasów tłuszczowych	Ryzyko wystąpienia nadwagi i otyłości, cukrzycy typu 2, zespołu metabolicznego, raka jelita grubego	Formanack i Baier 2004; Auinger i wsp. 2010; Zhao i wsp. 2011
Polimorfizmy genu <i>DRD2</i>				
rs1076560; A/C	Intron 6	Wpływ na alternatywne składanie genu: allel A jest związany ze zmniejszeniem tworzenia krótkiej izoformy w stosunku do długiej	Uzależnienia od alkoholu i narkotyków, fenotypy związane ze schizofrenią, wpływ na pamięć roboczą i koncentrację	Sasabe i wsp. 2007; Małecka i wsp. 2014
rs12364283; A/G	Promotor	Wpływ na ekspresję genu: allel G jest związany z wyższą aktywnością transkrypcyjną	Zaburzenia odżywiania, fenotypy związane z schizofrenią, wpływ na reakcje na sytuacje stresowe i pamięć roboczą, autyzm, otyłości, uzależnienia od alkoholu i narkotyków	Hemidovic i wsp. 2009; Sullivan i wsp. 2013; Abrahams i wsp. 2019
rs1799732; -141C Ins/Del	Promotor	Wpływ na ekspresję genu: allel C zmniejsza aktywność promotora, co skutkuje niższą aktywnością transkrypcyjną	Ryzyko wystąpienia nadwagi i otyłości, fenotypy związane ze schizofrenią	Cordeiro i wsp. 2009; Lee i wsp. 2013
rs1800497; TaqIA; C/T; Glu713Lys	10,5 kb poniżej genu <i>DRD2</i>	Zmieniona specyficzność wiązania substratu przez receptory i ekspresja genu: genotypy AA i GA są związane ze zmniejszoną liczbę receptorów	Potreningowe zmiany pamięci roboczej, ryzyko wystąpienia otyłości, uzależnienia od alkoholu, nikotyny i narkotyków, jedzenie emocjonalne, zaburzenia neuropsychiatryczne	Davis i wsp. 2008; Zhang i wsp. 2014; Feistauer i wsp. 2018
rs1800498; TaqID; C/T	Intron 2	Wpływ na ekspresję genu	Ryzyko wystąpienia autyzmu, schizofrenii, uzależnienia od alkoholu i nikotyny	Saraswathy i wsp. 2010; Sznabowicz i wsp. 2018
Polimorfizm genu <i>BDNF</i>				
rs6265; G/A; Val66Met	Ekson 11	Wpływ na ekspresję i sekrecję BDNF: występowanie Val w mRNA powoduje aktywację translacji i zwiększoną sekrecję BDNF; natomiast obecność Met prowadzi do obniżenia jego syntezy i sekrecji	Ryzyko wystąpienia otyłości, cukrzycy typu 2, zaburzeń odżywiania, choroby Parkinsona, schizofrenii, choroby alergiczne, choroby afektywnej dwubiegunowej	Nakazato 2012; Han 2015; Szarowicz 2022; Wang i wsp. 2022

Należy zwrócić uwagę, że prace eksperymentalne dotyczące podłoża genetycznego reakcji adaptacyjnych organizmu wywołanych zaaplikowanym treningiem wciąż należą do rzadkości w Polsce i na świecie. Przeprowadzone dotąd nieliczne badania dotyczące wybranych markerów genetycznych koncentrują się głównie na ich związku z konkretnymi jednostkami chorobowymi, a uzyskiwane wyniki są często niejednoznaczne. Zatem istnieje potrzeba przeprowadzenia interwencji eksperymentalnych, w celu opisanie nowych związków między poszczególnymi miejscami polimorficznymi, aktywnością fizyczną, a parametrami związanymi z otyłością w różnych populacjach. Wykonana analiza piśmiennictwa nie wykazała artykułów dotyczących wpływu wybranych polimorfizmów genu *FABP2*, *DRD2* i *BDNF* na zmiany masy i składu ciała oraz wybranych wskaźników biochemicznych wywołanych zaaplikowanym treningiem u osób zdrowych. Z związku z tym niniejsze badania mają nowatorski charakter i wpisują się w najnowszy trend polegający na zastosowaniu nowoczesnych metod biologii molekularnej w naukach o kulturze fizycznej.

3. CELE, PYTANIA I HIPOTEZY BADAWCZE

Głównym celem przeprowadzonych badań było określenie korelacji pomiędzy częstością genotypów i alleli opisywanych w wybranych siedmiu punktach polimorficznych (rs1799883 w genie *FABP2*; rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498 w genie *DRD2*; rs6265 w genie *BDNF*) a potreningową odpowiedzią mierzoną w zakresie zmian masy i składu ciała oraz wybranych wskaźników biochemicznych u kobiet realizujących 12-tygodniowy program treningowy. Dodatkowym celem było ustalenie, czy wybrane polimorfizmy mogą być wykorzystywane jako markery genetyczne umożliwiające określenie predyspozycji do rozwoju otyłości oraz niekorzystnych właściwości metabolicznych z nią związanych. Ostatnim założeniem było określenie korelacji pomiędzy częstością współwystępowania genotypów i frekwencji haplotypów wybranych polimorfizmów genu *DRD2* oraz określenie ich wpływu na kształtowanie potreningowej reakcji adaptacyjnej.

Postawiono następujące pytania badawcze:

1. Czy występowanie określonych alleli i genotypów opisywanych w wybranych miejscach polimorficznych zlokalizowanych w genach *FABP2*, *DRD2* i *BDNF* ma wpływ na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet uczestniczących w 12-tygodniowym treningu?
2. Czy wybrane polimorfizmy zlokalizowane w genach *FABP2*, *DRD2* i *BDNF* mogą być wykorzystane jako markery genetyczne umożliwiające określenie predyspozycji do rozwoju otyłości i niekorzystnych właściwości metabolicznych z nią związanych?
3. Czy występowanie określonych haplotypów genu *DRD2* ma wpływ na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet uczestniczących w 12-tygodniowym treningu?

W odniesieniu do powyższych pytań badawczych sformułowano hipotezy badawcze:

1. Obecność określonych alleli i genotypów opisywanych w wybranych miejscach polimorficznych zlokalizowanych w genach *FABP2*, *DRD2* i *BDNF* ma wpływ na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet uczestniczących w 12-tygodniowym treningu.

2. Wybrane polimorfizmy zlokalizowane w genach *FABP2*, *DRD2* i *BDNF* mogą być wykorzystane jako markery genetyczne umożliwiające określenie predyspozycji do rozwoju otyłości i niekorzystnych właściwości metabolicznych z nią związanych.
3. Obecność określonych haplotypów genu *DRD2* ma wpływ na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu człowieka w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet uczestniczących w 12-tygodniowym treningu.

4. MATERIAŁY I METODY

Procedury badawcze zostały pozytywnie ocenione przez Komisję Bioetyczną przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Szczecinie (uchwała nr 09/KB/IV/2011 oraz 01/KB/VI/2017).

4.1. Charakterystyka grupy badanej

Grupę badaną stanowiło 201 niespokrewnionych ze sobą kobiet pochodzenia kaukaskiego (studentki AWFIS w Gdańsku). Kryteria włączenia osób do udziału w eksperymencie były następujące:

- ✓ przedział wiekowy 19-24 lata;
- ✓ niski poziom aktywności fizycznej oceniany zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (ang. World Health Organization, WHO) za pomocą Globalnego Kwestionariusza Aktywności Fizycznej (ang. Global Physical Activity Questionnaire, GPAQ);
- ✓ brak chorób układu sercowo-naczyniowego oraz chorób metabolicznych;
- ✓ nie przyjmowanie na stałe suplementów i leków w okresie 6 miesięcy przed rozpoczęciem treningu;
- ✓ abstynencja nikotynowa;
- ✓ chęć podjęcia regularnego treningu i racjonalnego planu żywieniowego.

Ogółem komplet wyników obejmujących badania genetyczne oraz przeprowadzone dwukrotnie (przed rozpoczęciem i po zakończeniu treningu) pomiary antropometryczne i biochemiczne uzyskano dla 182 kobiet. Część wymazów nie spełniała standardów czystości mikrobiologicznej, dlatego finalnie otrzymano 168 izolatów DNA, a z biegiem czasu kilka z nich uległo wyczerpaniu. W związku z tym w opisywanych publikacjach grupę badaną stanowiło 168 (Publikacja 1), 165 (Publikacja 2) i 160 (Publikacja 3) uczestniczek.

4.2. Plan żywieniowy i treningowy

Przed rozpoczęciem treningów dla każdej uczestniczki został opracowany indywidualny plan żywieniowy w oparciu o masę ciała, wskaźnik podstawowej przemiany materii (ang. basal metabolic rate, BMR) oraz współczynnik aktywności fizycznej (ang. physical activity level, PAL). Zalecono zastosowanie zbilansowanej diety zgodnej z aktualnymi normami żywienia dla populacji Polski (Jarosz, 2017). Plan dietetyczny został opracowany przez dr Macieja Burytę z Uniwersytetu Szczecińskiego.

Uczestniczki realizowały jednolity 12-tygodniowy trening, poprzedzony tygodniową fazą zapoznawczą. Trening był kombinacją dwóch rodzajów aerobiku: low impact aerobic i high impact aerobic (Hi-Lo Combo) i obejmował różnorodne aktywności tj. marsz, bieg oraz naskoki. Kobiety ćwiczyły 3 razy w tygodniu przez 60 minut. Poszczególne jednostki treningowe obejmowały 3 fazy: rozgrzewkę (10 min), część główną zawierającą ćwiczenia o wysokiej i niskiej intensywności w rytm muzyki o zmiennym tempie i rytmie (43 min) oraz ćwiczenia rozciągająco-oddechowe (7 min). Plan treningowy został podzielony na cztery 3-tygodniowe etapy o wzrastającej trudności i intensywności - od wynoszącej 50% tętna maksymalnego (ang. maximum heart rate, HRmax) w pierwszym etapie do 75% w ostatnim. Trening był realizowany pod kierunkiem prof. nadzw. dr hab. Aleksandry Jażdżewskiej z AWFIS w Gdańsku.

Styl życia oraz żywienie uczestniczek badań w czasie trwania eksperymentu można uznać za porównywalne.

4.3. Analiza masy i składu ciała

Masa i skład ciała zostały oznaczone metodą bioimpedancji (ang. bioelectrical impedance analysis, BIA), której podstawą jest ocena oporności organizmu na przepływ ładunków elektrycznych. Pomiarów dokonano przy zastosowaniu urządzenia Tanita TBF 300M (Horton Health Initiatives, USA) uprzednio podłączonego i skalibrowanego o wagę ubrań (0,2 kg). Uczestniczki otrzymały szczegółowe instrukcje dotyczące przygotowania się do badań. Wykonano następujące pomiary:

- ✓ całkowita masa ciała (ang. body mass, BM, kg);
- ✓ masa beztłuszczowa (ang. fat free mass, FFM, kg);
- ✓ masa tkanki tłuszczowej (ang. fat mass, FM, kg);
- ✓ procentowa zawartość tkanki tłuszczowej (ang. fat mass percentage, %FM, %);
- ✓ wskaźnik masy ciała (ang. body mass index, BMI);
- ✓ indeks impedancji tkanek (ang. tissue impedance, Ω);
- ✓ całkowita zawartość wody w organizmie (ang. total body water, TBW, kg);
- ✓ wskaźnik podstawowej przemiany materii (ang. basal metabolic rate, BMR, kJ lub kcal).

Pomiary przeprowadzono u każdej badanej osoby dwukrotnie (przed rozpoczęciem oraz po zakończeniu treningu) pod kierunkiem prof. dr hab. Zbigniewa Jastrzębskiego z AWFIS w Gdańsku.

4.4. Pomiar wskaźników biochemicznych

Analizy biochemiczne zostały przeprowadzone przed rozpoczęciem i po zakończeniu planu treningowego. Próbkę krwi pobierano od uczestniczek rano, na czczo, z żyły łokciowej, a wykonany pomiar obejmował następujące wskaźniki:

- ✓ stężenie glukozy we krwi (ang. blood glucose level, BG, mg/dl);
- ✓ trójglicerydów (ang. triglycerides, TG, mg/dl);
- ✓ całkowitego cholesterolu (ang. total cholesterol, TC, mg/dl);
- ✓ lipoprotein wysokiej gęstości (ang. high density lipoprotein, HDL, mg/dl);
- ✓ lipoprotein niskiej gęstości (ang. low density lipoprotein, LDL, mg/dl).

Pomiar wskaźników biochemicznych został wykonany przy zastosowaniu automatycznego analizatora A15 (Bio-SYSTEMS S.A, Hiszpania) na zlecenie w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej we Wronkach.

4.5. Analizy genetyczne

Wszystkie analizy genetyczne były przeprowadzone jako analizy własne. Procedury związane z izolacją DNA i genotypowaniem wykonano w warunkach jałowych z zachowaniem wszelkich zasad sterylności.

4.5.1. Pobór materiału biologicznego

Materiał biologiczny w postaci wymazów nabłonka jamy ustnej został pobrany od uczestniczek eksperymentu za pomocą sterylnych szpatulek (Puritan, USA). Najpierw osoby badane zostały poproszone o wypłukanie jamy ustnej wodą, a następnie uzyskano wymazy poprzez wielokrotne pocieranie wewnętrznej strony policzków. Wymazówki na czas transportu były przetrzymywane w lodówce (temp. 4°C), a następnie, do momentu rozpoczęcia analiz genetycznych, w zamrażarce (temp. -20°C).

4.5.2. Izolacja DNA

Izolacja materiału genetycznego z komórek nabłonka jamy ustnej została wykonana za pomocą zestawu odczynnikowego GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich, Niemcy) zgodnie z protokołem zaproponowaną przez producenta. Zastosowana procedura izolacyjna składała się z 6 kluczowych etapów:

- ✓ trawienie enzymatyczne komórek w obecności proteiny K oraz buforu lizującego;

- ✓ usunięcie RNA przez dodanie RNazy;
- ✓ aktywacja membrany krzemionkowej znajdującej się w kolumnach filtracyjnych;
- ✓ związanie DNA z membraną kolumny filtracyjnej;
- ✓ dwukrotne przemywanie związanego z membraną DNA za pomocą roztworów płuczających;
- ✓ elucja DNA z membrany z wykorzystaniem buforu wymywającego.

Czystość izolatów DNA oceniano przy pomocy analizatora Agilent BioAnalyzer 2100 (Agilent, USA), a następnie przechowywano je w zamrażarce do czasu wykonania dalszych analiz genetycznych.

4.5.3. Genotypowanie

Izolaty DNA były genotypowane w siedmiu punktach polimorficznych zlokalizowanych w trzech wybranych genach z wykorzystaniem łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (ang. real-time polymerase chain reaction, real-time PCR). W celu uzyskania sygnału fluorescencji wybrano znakowane fluorescencyjnie sondy molekularne typu TaqMan, czyli sond degradacyjne.

Wykorzystano kompletne zestawy odczynników: TaqMan® Pre-Designed SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, USA) o numerach identyfikacyjnych podanych w tabeli 2.

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

Gen	Polimorfizm	Numer identyfikacyjny zestawu odczynników
<i>DRD2</i>	rs1076560	C__2278888_10
	rs12364283	C__31503501_10
	rs1799732	C__33641686_10
	rs1800497	C__7486676_10
	rs1800498	C__2601166_10
<i>FABP2</i>	rs1799883	C__761961_10
<i>BDNF</i>	rs6265	C__11592758_10

W skład każdego zestawu wchodziły dwa specyficzne startery oraz dwie sondy molekularne wyznakowane fluorescencyjnie barwnikami VIC i FAM, komplementarne do obu wersji allelicznych w analizowanych miejscach polimorficznych. Wszystkie próby były genotypowane dwukrotnie przy użyciu termocyklera C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad, Niemcy). Otrzymane wyniki analizowano z wykorzystaniem apletu dyskryminacji alleli dostępnego w ramach oprogramowania Bio-Rad CFX Manager 3.1 (Bio-Rad, Niemcy).

4.6. Analiza statystyczna

Wszystkie analizy statystyczne wykonane w celu oceny związku pomiędzy badanymi polimorfizmami i zmiennymi zależnymi zostały oparte na tym samym modelu statystycznym, tj. ogólnym modelu liniowym. W ramach tego modelu użyto dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) z powtarzanymi pomiarami (ang. two-way ANOVA with repeated measures) oraz modelu liniowego z efektami mieszanymi (ang. linear mixed-effects model). Użycie wyżej wymienionych technik statystycznych było umotywowane longitudinalną naturą danych, tj. pomiary parametrów były wykonywane dwukrotnie – na początku badania oraz po zakończeniu programu treningowego.

Analizę wariancji zastosowano w ocenie związku polimorfizmu Ala54Thr genu *FABP2* oraz polimorfizmów rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498 genu *DRD2*. W przypadku konieczności oceny zgodności rozkładów empirycznych analizowanych zmiennych z rozkładem normalnym użyto testu Kolmogorowa–Smirnowa. W analizie post-hoc zastosowano test NIR (najmniejszych istotnych różnic, ang. Fisher's Least Significant Difference, LSD). Model liniowy z efektami mieszanymi zastosowano w ocenie związku polimorfizmu rs6265.

Niezależnie od zastosowanej techniki, przedmiotem analizy była interakcja pomiędzy genotypem, definiowanym w zależności od przyjętego modelu genetycznego, a zmienną reprezentującą czas. Dodatkowo, w przypadku genu *DRD2*, oprócz analizy związku dla pojedynczych loci, wykonana została analiza haplotypów, w której zmienną zależną stanowiła zmiana procentowa danego parametru w czasie. W wyżej wymienionych analizach rozpatrywano następujące modele dziedziczenia: kodominujący, dominujący, recesywny i naddominujący. Modele te zostały stworzone przy założeniu, że allelem ryzyka jest allel rzadki (ang. minor allele).

Dla każdego polimorfizmu badano zgodność obserwowanej częstości genotypów z częstościami teoretycznymi wynikającymi z prawa Hardy-Weinberga przy założeniu stanu równowagi genetycznej (ang. Hardy-Weinberg Equilibrium, HWE). Obecność równowagi genetycznej jest założeniem wymaganym dla algorytmu maksymalizacji oczekiwań (ang. Expectation-Maximization, EM), który wykorzystano do szacowania częstości poszczególnych haplotypów genu *DRD2*.

W przypadku analiz wykorzystujących model liniowy z efektami mieszanymi, do oceny i interpretacji efektów poszczególnych genotypów użyto wykresów obrazujących wielkości efektu predyktorów (ang. predictor effect plot), a także analizę kontrastów, w celu oceny istotności statystycznej wybranych porównań. W uzasadnionych przypadkach zastosowano procedurę Bonferroniego, jako narzędzia kontroli błędu I rodzaju w sytuacji wielokrotnego testowania hipotez.

Powyższe analizy wykonano za pomocą języka i środowiska statystycznego R (R Foundation for Statistical Computing, Wiedeń, Austria. Adres URL <https://www.r-project.org>) oraz następujących pakietów: *effects* (wersja 4.2-2), *marginaleffects* (wersja 0.15.1), *SNPassoc* (wersja 2.0-18) oraz *haplo.stats* (wersja 1.8.7). Istotności statystyczne testowano na poziomie alfa 5%.

5. WYNIKI

5.1. Wyniki badań przedstawione w publikacji pod tytułem: *FABP2* Ala54Thr polymorphism and post-training changes of body composition and biochemical parameters in Caucasian women

W badanym miejscu polimorficznym zlokalizowanym w genie *FABP2* (rs1799883) rozkład częstości genotypów (Ala54/Ala54 - 47,62%, Ala54/Thr54 - 47,62%, Thr54/Thr54 - 4,76%) nie pozostawał w równowadze Hardy'ego-Weinberga ($p=0,031$).

Zastosowany 12-tygodniowy trening aerobowy w wybranej grupie kobiet wpłynął na zmiany parametrów antropometrycznych (BM, BMI, FM, %FM, FFM i TBW) oraz biochemicznych (HDL i BG). Analiza częstości poszczególnych genotypów w obrębie polimorfizmu rs1799883 w genie *FABP2* na odpowiedź potreningową nie wykazała istotności statystycznej dla żadnego badanego parametru (brak interakcji genotyp *FABP2* x trening). Natomiast model dominujący wykazał istotny statystycznie wpływ genotypu na wskaźnik BMI ($p=0,033$). Nosicielki genotypów Ala54/Th54r i Thr54/Thr54 miały wyższe wartości wskaźnika BMI przez cały okres trwania eksperymentu w porównaniu z nosicielkami genotypu Ala54/Ala54 (Tabela 3).

5.2. Wyniki badań przedstawione w publikacji pod tytułem: Impact of the *DRD2* polymorphisms on the effectiveness of the training program

We wszystkich badanych miejscach polimorficznych zlokalizowanych w genie *DRD2* rozkład częstości genotypów pozostawał w równowadze Hardy'ego-Weinberg'a ($p=0,946$, $p=0,206$, $p=0,183$, $p=0,504$ i $p=0,674$, odpowiednio dla rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498).

W badanej populacji kobiet zaobserwowano wiele istotnych statystycznie różnic w wynikach pomiarów antropometrycznych oraz biochemicznych mierzonych przed i po zakończeniu okresu treningowego. Jednak biorąc pod uwagę równoczesny wpływ treningu i genotypu analiza pojedynczych polimorfizmów wykazała istnienie tylko jednej istotnej statystycznie interakcji pomiędzy częstością genotypów rs1076560 a potreningową reakcją w zakresie zmian poziomu BMR ($p=0,033$, Tabela 4). U nosicielek genotypu rs1076560 CC odnotowano znaczący ~0,5% spadek BMR w odpowiedzi na zastosowany trening ($p=0,006$ z poprawką Bonferroniego) w porównaniu z nosicielkami genotypów AA i CA. Jednak w modelu dominującym nie znaleziono żadnych znaczących interakcji genotyp x trening. Nie wykazano istotności statystycznej dla żadnego parametru podczas analizy wpływu genotypu na badane parametry.

Dodatkowo przeprowadzono analizę haplotypów w celu zidentyfikowania związku wyróżnionych haplotypów z parametrami masy i składu ciała oraz biochemicznymi. Z 32 możliwych teoretycznie haplotypów dla 165 uczestniczek badania otrzymano 8 haplotypów, które występowały z częstością wyższą niż 1%. Najczęściej występującym haplotypem w badanej populacji (haplotyp podstawowy) był CACCT (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498). Przeprowadzona analiza haplotypów wykazała istotne statystycznie zależności między pięcioma haplotypami CACCC, CACTT, CGCCT, AACTC i CA-CT, a odpowiedzią potreningową u uczestniczek eksperymentu (Tabela 5). Haplotypy CACCC i CACTT były związane z większym potreningowym spadkiem poziomu glukozy we krwi (odpowiednio $p=0,032$ i $p=0,020$) w porównaniu z haplotypem podstawowym. Dodatkowo wykazano, że haplotyp CGCCT był związany z większym potreningowym wzrostem BMR mierzonego w kcal ($p=0,003$) i FFM ($p=0,009$). Obecność haplotypu CA-CT łączyła się z potreningowym spadkiem poziomu LDL ($p=0,0455$), a haplotypu AACTC ze wzrostem poziomu HDL ($p=0,0497$) w porównaniu z haplotypem podstawowym (Tabela 5).

5.1. Wyniki badań przedstawione w publikacji pod tytułem: Association of the G>A (rs6265) polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene (*BDNF*) with posttraining changes in Caucasian women

W badanym miejscu polimorficznym zlokalizowanym w genie *BDNF* (rs6265) rozkład częstości genotypów: AA - 43 (26.875%), AG - 79 (49.375%), GG - 38 (23.750%) pozostał w równowadze Hardy'ego-Weinberga ($p=0.875$).

Parametry masy i składu ciała, profil lipidowy oraz poziom glukozy mierzone przed i po treningu w odniesieniu do genotypów *BDNF* przedstawiono w tabeli 6. Większość parametrów (BM, BMI, BMR, %FM, FM, FFM, TBW, HDL i BG) zmieniło się istotnie po zastosowaniu 12-tygodniowego treningu. Jednak analiza częstości poszczególnych genotypów w obrębie polimorfizmu rs6265 w genie *BDNF* na odpowiedź potreningową nie wykazała istotności statystycznej dla żadnego badanego parametru (brak interakcji genotyp *BDNF* x trening). Nie stwierdzono także istotnego statystycznie wpływu genotypu na wybrane parametry (Tabela 6).

Tabela 3. Korelacja częstości genotypów opisanych dla rs1799883 w genie *FABP2* z uwzględnieniem potreningowych zmian parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych

Zmienna	Ala54/Ala54 (n=80)		Ala54/Thr54r + Thr54/Thr54 (n = 88)		wartość p dla		
	przed treningiem x ± SD	po treningu x ± SD	przed treningiem x ± SD	po treningu x ± SD	wplywu genotypu	wplywu treningu	równoczesnego wplywu treningu i genotypu
BM	59,9 ± 7,8	59,0 ± 7,6	61,4 ± 7,5	60,7 ± 7,4	0,166	<0,0001	0,583
BMI	21,1 (18,9–23,5)	20,9 (18,8–23,2)	21,9 (19,6–24,4)	21,6 (19,4–24,2)	0,033	<0,0001	0,954
%FM	23,3 ± 5,4	21,7 ± 5,7	24,5 ± 5,4	23,4 ± 5,4	0,079	<0,0001	0,128
FM	14,3 ± 5,1	13,2 ± 5,2	15,4 ± 5,0	14,5 ± 4,9	0,124	<0,0001	0,379
FFM	45,5 ± 3,2	46,0 ± 3,2	45,9 ± 3,2	46,2 ± 3,3	0,465	0,00002	0,235
TBW	33,3 ± 2,8	33,8 ± 2,4	33,6 ± 2,4	33,8 ± 2,4	0,589	0,002	0,318
TC	170 ± 26	166 ± 26	170 ± 23	171 ± 28	0,514	0,380	0,068
TG	75,9 (52,6–109,7)	77,4 (52,1–115,2)	74,1 (52,4–104,9)	79,2 (58,4–107,3)	0,719	0,175	0,847
HDL	63,7 ± 12,1	59,2 ± 12,9	66,6 ± 14,5	63,3 ± 13,9	0,063	0,000005	0,436
LDL	90,2 ± 23,3	89,9 ± 23,5	87,2 ± 20,5	91,3 ± 23,7	0,798	0,218	0,147
BG	78,1 ± 10,2	74,9 ± 9,7	78,3 ± 9,4	76,2 ± 10,5	0,579	0,001	0,498

x – wartość średnia; SD – odchylenie standardowe; BM – całkowita masa ciała; BMI – indeks masy ciała; %FM – procentowa zawartość tkanki tłuszczowej; FM – masa tkanki tłuszczowej; FFM – masa beztłuszczowa; TBW – całkowita zawartość wody w organizmie; TC – cholesterol całkowity; TG – trójglicerydy; HDL – lipoproteiny wysokiej gęstości; LDL – lipoproteiny niskiej gęstości; BG – stężenie glukozy we krwi; różnica istotna statystycznie przy p<0,05

Tabela 4. Korelacja częstości genotypów opisanych dla rs1076560 w genie *DRD2* z uwzględnieniem potreningowych zmian parametrów antropometrycznych oraz biochemicznych

Zmienna	AA (n=6)		CA (n=49)		CC (n=110)		wartość p dla			
	przed treningiem x ± SD	po treningu x ± SD	przed treningiem x ± SD	po treningu x ± SD	przed treningiem x ± SD	po treningu x ± SD	wplywu genotypu	wplywu treningu	równoczesnego wplywu treningu i genotypu	równoczesnego wplywu treningu i genotypu AA + CA vs CC
BM	60,43±6,08	58,8±5,63	60,86±7,59	60,17±7,6	60,52±7,89	59,8±7,73	0,945	<0,0001	0,379	0,793
BMI	21,7±2,68	21,13±2,48	21,37±2,11	21,19±2,06	21,71±2,58	21,48±2,54	0,747	<0,0001	0,228	0,983
BMR	6081±261,78	5926,67±206,31	6082,18±336,36	6053,41±326,79	6043,97±330,64	6009,3±319,92	0,730	<0,0001	0,033	0,678
%FM	24,5±7,65	21,58±7,02	23,62±5,47	22,41±5,97	23,93±5,41	22,65±5,48	0,956	<0,0001	0,207	0,752
FM	14,9±5,78	13±5,24	14,73±5	13,84±5,2	14,85±5,16	13,94±5,16	0,974	<0,0001	0,344	0,747
FFM	45,17±2,04	46,02±1,65	46,15±3,32	46,43±3,44	45,54±3,23	46,01±3,28	0,620	0,005	0,508	0,570
TBW	32,88±1,64	33,67±1,34	34,01±2,77	34,06±2,5	33,26±2,55	33,7±2,45	0,388	0,042	0,204	0,187
TC	160,83±21,05	155,33±22,63	167,59±28,79	166,51±32,44	171,15±23,01	169,38±24,99	0,392	0,374	0,888	0,954
TG	81,5±24,17	73,33±25,66	71,39±23,68	81,69±35,49	84,16±35,49	84,95±35,72	0,268	0,842	0,173	0,173
HDL	68,73±26,52	62,52±17,44	65,56±13,22	59,67±13,96	64,66±12,44	61,52±13,26	0,851	0,002	0,296	0,118
LDL	75,67±14,57	78,15±11,16	87,69±23,32	90,5±27,92	89,57±21,27	90,87±22,01	0,298	0,457	0,904	0,655
BG	77,67±6,98	68,83±8,33	79,16±8,63	75,37±9,19	77,88±10,54	76±10,58	0,561	0,001	0,178	0,143

x – wartość średnia; SD – odchylenie standardowe; BM – całkowita masa ciała; BMI – indeks masy ciała; BMR – podstawowej przemiany materii; %FM – procentowa zawartość tkanki tłuszczowej; FM – masa tkanki tłuszczowej; FFM – masa beztłuszczowa; TBW – całkowita zawartość wody w organizmie; TC – cholesterol całkowity; TG – trójglicerydy; HDL – lipoproteiny wysokiej gęstości; LDL – lipoproteiny niskiej gęstości; BG – stężenie glukozy we krwi; różnica istotna statystycznie przy p<0,05

Tabela 5. Analiza haplotypów *DRD2* (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, rs1800498) – liniowy model zmian składu ciała i parametrów biochemicznych podczas treningu z wartościami wyjściowymi (przed treningiem) jako zmiennymi towarzyszącymi

Zmienna	CACCC		CACTT		CGCCC		CGCCT		AACTC		CA-CC		CA-CT	
	14,62%		1,79%		3,27%		1,77%		15,34%		6,90%		2,54%	
	wsp.	p	wsp.	p	wsp.	p	wsp.	p	wsp.	p	wsp.	p	wsp.	p
BM	0,0170	0,9673	-0,2562	0,7337	1,3757	0,2163	0,6695	0,1153	1,4922	0,2560	0,5591	0,5075	0,9027	0,3630
BMI	0,0842	0,8245	0,4673	0,4506	1,1705	0,2827	0,6478	0,0977	1,9021	0,0810	-0,0822	0,9116	0,5959	0,5129
BMR	-0,1524	0,2090	0,0049	0,0904	0,3525	0,1068	0,2063	0,003	-0,1967	0,2123	-0,2665	0,3328	0,2850	0,1145
FM	-1,0129	0,5500	2,1964	0,3864	6,3480	0,1259	-0,6316	0,7126	3,6267	0,4817	0,1311	0,9695	6,0718	0,1242
FM	-0,8987	0,6534	2,1774	0,4781	6,2615	0,1952	1,1277	0,5759	-2,0462	0,7353	1,4107	0,7237	6,8413	0,1413
FFM	-0,077	0,8753	-0,3929	0,5492	-1,1845	0,3160	1,1992	0,0093	0,1639	0,8889	-0,2564	0,7754	-1,3644	0,1861
TBW	-0,4526	0,5038	-1,1448	0,2426	0,4075	0,8098	0,6765	0,3204	-0,7086	0,6963	-0,6302	0,6468	-1,4940	0,3297
TC	-1,2554	0,5265	-4,8291	0,1024	-0,2949	0,9510	0,47330	0,8127	-0,0521	0,9914	-0,5233	0,9028	-8,0054	0,0708
TG	-0,4640	0,9381	-7,0028	0,4185	-5,9037	0,6649	0,1760	0,9761	-15,4462	0,3171	-14,0280	0,2389	5,0381	0,7640
HDL	-3,8704	0,1490	-0,3162	0,9365	-5,5992	0,3969	2,4488	0,3677	13,3063	0,0497	2,0698	0,7265	-0,2356	0,9718
LDL	0,4191	0,9104	-6,6574	0,2144	2,6792	0,7631	-2,4015	0,5245	-8,9420	0,3162	1,9869	0,8058	-17,2637	0,0455
BG	-4,1140	0,0318	-6,8617	0,0204	2,3896	0,6034	0,3082	0,8716	-5,1268	0,3511	-0,5601	0,8862	-8,1499	0,0773

wsp. – współczynnik standardowy; BM – całkowita masa ciała; BMI – indeks masy ciała; BMR – podstawowej przemiany materii; %FM – procentowa zawartość tkanki tłuszczowej; FM – masa tkanki tłuszczowej; FFM – masa beztłuszczowa; TBW – całkowita zawartość wody w organizmie; TC – cholesterol całkowity; TG – triglicerydy; HDL – lipoproteiny wysokiej gęstości; LDL – lipoproteiny niskiej gęstości; ; BG – stężenie glukozy we krwi; różnica istotna statystycznie przy $p < 0,05$

Tabela 6. Analiza kontrastów dla szacowanych efektów brzegowych dla czasu oraz polimorfizmu rs6265

Zmienna	Składnik modelu	Kontrast po – przed treningiem	Wartości oszacowań kontrastu	SE	P	95% CI
BM	czas	po – przed	-0.763	0.133	<0.001	-1.02 -0.503
	rs6265	AG - AA	0.671	1.48	0.651	-2.23 3.58
		GG - AA	-0.136	1.74	0.938	-3.54 3.27
BMI	czas	po - przed	-0.233	0.0419	<0.001	-0.315 -0.151
	rs6265	AG - AA	-0.143	0.464	0.758	-1.05 0.767
		GG - AA	-0.255	0.544	0.639	-1.32 0.812
BMR	czas	po - przed	-38.3	9.16	<0.001	-56.2 -20.3
	rs6265	AG - AA	43.3	62.1	0.486	-78.5 165
		GG - AA	12.9	72.9	0.859	-129.9 156
%FM	czas	po - przed	-1.34	0.179	<0.001	-1.69 -0.986
	rs6265	AG - AA	0.158	1.06	0.882	-1.92 2.24
		GG - AA	0.646	1.24	0.604	-1.79 3.09
FM	czas	po - przed	-0.954	0.131	<0.001	-1.21 -0.697
	rs6265	AG - AA	0.463	0.986	0.639	-1.47 2.39
		GG - AA	0.439	1.156	0.704	-1.83 2.70
FFM	czas	po - przed	0.426	0.0994	<0.001	0.231 0.621
	rs6265	AG - AA	-0.018	0.620	0.977	-1.23 1.198
		GG - AA	-0.577	0.727	0.428	-2.00 0.849
TBW	czas	po - przed	0.336	0.111	0.00241	0.119 0.553
	rs6265	AG - AA	-0.00768	0.472	0.987	-0.933 0.918
		GG - AA	-0.39983	0.554	0.470	-1.485 0.686
TC	czas	po - przed	-1.65	1.69	0.329	-4.96 1.66
	rs6265	AG - AA	1.30	4.61	0.777	-7.73 10.3
		GG - AA	1.07	5.41	0.843	-9.53 11.7
TG	czas	po - przed	2.86	2.37	0.226	-1.77 7.5
	rs6265	AG - AA	2.16	5.23	0.679	-8.08 12.4
		GG - AA	3.87	6.13	0.528	-8.15 15.9
HDL	czas	po - przed	-4.12	0.894	<0.001	-5.87 -2.37
	rs6265	AG - AA	-0.442	2.33	0.850	-5.01 4.13
		GG - AA	0.363	2.74	0.895	-5.00 5.72
LDL	czas	po - przed	1.97	1.62	0.223	-1.2 5.14
	rs6265	AG - AA	1.2827	3.94	0.745	-6.44 9.01
		GG - AA	-0.0669	4.62	0.988	-9.13 9.00
BG	czas	po - przed	-2.82	0.868	0.00114	-4.53 -1.12
	rs6265	AG - AA	1.32	1.61	0.412	-1.84 4.48
		GG - AA	1.18	1.89	0.531	-2.52 4.89

* interakcja rs6265 nie była znacząca dla żadnego parametru; SE – odchylenie standardowe, 95% CI – margines błędu, różnica istotna statystycznie przy p<0,05

6. DYSKUSJA

Regularna aktywność fizyczna, rozumiana zarówno jako trening wyczynowy i prozdrowotny, wywołuje szereg korzystnych zmian adaptacyjnych w organizmie człowieka, które wpływają prewencyjnie na wystąpienie i/lub leczenie nadwagi, otyłości czy chorób obciążających układ sercowo-naczyniowy. W związku z ogromną dynamiką wzrostu liczby osób z nadmierną masą ciała (WHO 2022), badania nad opracowaniem zindywidualizowanego programu treningowego skutecznie obniżającego BMI, a przy tym poprawiającego ogólny stan zdrowia stanowią niezwykle istotny aspekt we współczesnych naukach o kulturze fizycznej (Leońska-Duniec i wsp. 2018; Grzywacz i wsp. 2020). Prezentowane badania pozwoliły określić po raz pierwszy w Polsce, a w przypadku niektórych markerów genetycznych również po raz pierwszy na świecie, wpływ wybranych miejsc polimorficznych na zmiany składu i masy ciała oraz wybranych wskaźników biochemicznych w odpowiedzi na zastosowany trening aerobowy. Przeprowadzony eksperyment pozwolił poznać niepowtarzalne interakcje, nieopisywane w prowadzonych wcześniej badaniach innych naukowców, które na ogół nie uwzględniają wpływu treningu. Otrzymane wyniki są nowatorskie i wyznaczają kierunek dalszego rozwoju badań genetycznych w sporcie.

W niniejszej pracy zostały sformułowane 3 hipotezy badawcze, a przeprowadzony eksperyment i otrzymane wyniki umożliwiły ich weryfikację. Pierwsza hipoteza, dotycząca obecności określonych alleli i genotypów opisywanych w wybranych miejscach polimorficznych zlokalizowanych w genach *FABP2* (rs1799883), *DRD2* (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498) i *BDNF* (rs6265) na odpowiedź potreningową organizmu w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet uczestniczących w 12-tygodniowym treningu, została zweryfikowana częściowo pozytywnie. Wykazano bowiem istnienie istotnej statystycznie interakcji pomiędzy częstością genotypów *DRD2* rs1076560 a potreningową reakcją w zakresie zmian poziomu BMR. Kolejna hipoteza, dotycząca możliwości wykorzystania wybranych polimorfizmów zlokalizowanych w genach *FABP2*, *DRD2* i *BDNF* jako markerów genetycznych umożliwiających określenie predyspozycji do rozwoju otyłości i niekorzystnych właściwości metabolicznych z nią związanych, również została zweryfikowana częściowo pozytywnie. Wykazano istotny statystycznie wpływ genotypu w obrębie polimorfizmu genu *FABP2* (rs1799883) na wskaźnik BMI. Dla pozostałych miejsc polimorficznych powyższe hipotezy zostały zweryfikowane negatywnie, gdyż nie zaobserwowano istotnych statystycznie zależności. Trzecia hipoteza badawcza zakładała, że obecność określonych haplotypów genu *DRD2* ma wpływ na potreningową reakcję adaptacyjną organizmu człowieka w zakresie zmian masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu u kobiet uczestniczących w 12-tygodniowym treningu

aerobowym. Powyższa hipoteza została zweryfikowana pozytywnie. Przeprowadzona analiza haplotypów pokazała istotne statystycznie zależności między pięcioma haplotypami: CACCC, CACTT, CGCCT, AACTC i CA-CT (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498) a odpowiedzią potreningową wśród uczestniczek eksperymentu.

Gen *FABP2* (Publikacja 1)

Badania zaprezentowane w Publikacji 1 wykazały istotny statystycznie wpływ genotypów rs1799883 genu *FABP2* na wskaźnik BMI. Nosicielki genotypów Ala54/Thr54 i Thr54/Thr54 miały wyższe wartości wskaźnika BMI przez cały okres trwania eksperymentu. W związku z tym wymienione genotypy mogą być związane z wyższym ryzykiem rozwoju nadwagi i otyłości u kobiet należących do populacji kaukaskiej. Wcześniejsze badania wykazały, że substytucja aminokwasowa (Ala54Thr) powoduje zmiany strukturalne białka FABP2, występującego głównie w dojrzałych enterocytach jelita cienkiego, wpływające na jego zdolności do wiązania i transportu kwasów tłuszczowych. Obecność treoniny jest związana z dwukrotnie wyższym powinowactwem białka do wiązania długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, co zmienia metabolizm lipidów, wpływając na ich nadmierną akumulację (Baier i wsp. 1995; Formanack i Baier 2004). W związku z tym allel Thr54 jest rozważany jako czynnik niekorzystny w kontekście rozwoju nadwagi i otyłości. Liczne badania wskazują, że nosiciele przynajmniej jednego allelu Thr54 mają istotnie wyższe BMI (Baier i wsp. 1995; Tavridou i wsp. 2009; Fisher i wsp. 2006; Khattab i wsp. 2017), co również zostało potwierdzone w badaniach przeprowadzonych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej. Z drugiej strony niektóre publikacje nie potwierdziły tych obserwacji. W meta-analizie przeprowadzonej przez Zhao i wsp. (2011) nie wykazano związku między tym polimorfizmem a wskaźnikiem BMI. Nawet analiza podgrup obejmujących osoby o tym samym pochodzeniu, płci i stanie zdrowia nie wykazała statystycznie istotnych różnic w tym zakresie.

W omawianych badaniach nie udało się wykazać istotnych statystycznie interakcji pomiędzy częstością genotypów *FABP2* a potreningową reakcją adaptacyjną. Te obserwacje są zgodne z wynikami uzyskanymi przez Hana (2013), który opisał, że chociaż 12-tygodniowy trening aerobowy spowodował korzystne zmiany parametrów związanych z otyłością żaden z nich nie zmienił się znacząco w obrębie genotypu *FABP2* (brak interakcji genotyp *FABP2* x trening). Badania przeprowadzone na sportowcach pokazały, że podczas gdy nadmierne wchłanianie długołańcuchowych kwasów tłuszczowych u osób prowadzących siedzący tryb życia uważane jest za czynnik ryzyka rozwoju otyłości, natomiast u osób regularnie trenujących może zapewniać dodatkową korzyść. Nasibulina i in. (2013) opisali, że allel Thr54 występował istotnie częściej u

rosyjskich sportowców wytrzymałościowych (50,0%) i uprawiających sporty walki (46,2%) w porównaniu z grupą kontrolną (32,2%).

Gen *DRD2* (Publikacja 2)

Badania z Publikacji 2 potwierdziły istnienie istotnej statystycznie interakcji pomiędzy częstością genotypów *DRD2* rs1076560 a potreningową reakcją w zakresie zmian poziomu BMR. W grupie badanych kobiet genotyp CC był związany ze spadkiem BMR w odpowiedzi na zaaplikowany trening. W związku z tym genotyp ten może być uznany za niekorzystny, a jego obecność być przyczyną braku oczekiwanych efektów poterningowych w zakresie zmian metabolizmu.

Liczne trudności przy organizacji eksperymentu (związane z doбором jednolitej grupy badanej, przeprowadzeniem długotrwałego programu treningowego i dietetycznego oraz wykonaniem badań antropometrycznych, biochemicznych i genetycznych) sprawiają, że tylko nieliczni autorzy podjęli próbę wyjaśnienia związków między wariantami genów a odpowiedzią organizmu człowieka na zaaplikowany trening. W badaniu obejmującym 202 dorosłe osoby z otyłością, Winkler i wsp. (2012) zauważyli, że nosiciele genotypów *DRD2* rs1800497 TT i CT mieli wyższe BMI na początku eksperymentu oraz problemy z utratą i utrzymaniem masy ciała podczas programu interwencyjnego obejmującego m.in. regularną aktywność fizyczną i dietę. Ponadto Cameron i wsp. (2013) potwierdzili związek polimorfizmu *DRD2* rs1800497 ze zmianami masy ciała u 127 otyłych kobiet po menopauzie biorących udział w 6-miesięcznej interwencji obejmującej ograniczenie kilokalorii połączone z treningiem oporowym. U nosicielek allelu T odnotowano istotnie mniejszy spadek masy ciała, wskaźnika BMI i FM niż u nosicielek allelu C (Cameron i wsp. 2013). Jednak prezentowane wyniki nie potwierdziły związku między polimorfizmem *DRD2* rs1800497 a potreningowymi zmianami masy i składu ciała w badanej populacji kobiet. Przyczyną rozbieżności wyników mogą być takie czynniki jak wiek uczestników, pochodzenie etniczne, płeć, zbyt niski początkowy BMI czy za krótki czas trwania eksperymentu. W prezentowanych badaniach wykazano tylko jeden związek między genotypem rs1076560 CC a spadkiem BMR po treningu. Jednakże spadek ten był niewielki (~0,5%) i mógł nie być fizjologicznie istotny. Przegląd literatury nie wykazał innych badań oceniających wpływ tego polimorfizmu na efekty potreningowe, więc uzyskany wynik nie może być porównany. Konieczne są dalsze badania w celu weryfikacji tej obserwacji.

Nie stwierdzono istotnego statystycznie wpływu genotypów *DRD2* na wybrane parametry masy i składu ciała oraz wskaźniki biochemiczne. W dostępnym piśmiennictwie najczęściej opisywane w kontekście otyłości i zaburzeń odżywiania są dwa polimorfizmy – rs1799732 i rs1800497

(Barnard i wsp. 2009; Winkler i wsp. 2012; Aliasghari i wsp. 2020). Wykazano, że występowanie allelu T (rs1800497) i Del (rs1799732) było znacznie częściej obserwowane w grupie osób z nadmierną masą ciała (Winkler i wsp. 2012; Aliasghari i wsp. 2020). Z drugiej strony, podobnie jak w prezentowanych badaniach, niektórzy naukowcy nie wykazali zależności między tymi polimorfizmami a BMI (Davis i wsp. 2008; Yeh i wsp. 2016).

Przeprowadzona analiza haplotypów pokazała istotne statystycznie zależności między pięcioma haplotypami: CACCC, CACTT, CGCCT, AACTC i CA-CT (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498) a odpowiedzią potreningową wśród uczestniczek eksperymentu. Wykazano, że haplotyp CGCCT genu *DRD2* jest związany ze wzrostem BMR ($p=0,003$) i FFM ($p=0,009$) w odpowiedzi na zastosowany trening aerobowy. Nosicielstwo tego haplotypu pozwoliło na uzyskanie oczekiwanych rezultatów potreningowych w zakresie zmian składu ciała i metabolizmu u badanych kobiet. Nosicielki haplotypów CA-CT i AACTC genu *DRD2* mogą łatwiej uzyskać oczekiwane efekty w odpowiedzi na zastosowany trening w kontekście poprawy funkcjonowania gospodarki lipidowej tj. zmniejszenie poziomu frakcji LDL i zwiększenie poziomu frakcji HDL. Natomiast haplotypy CACCC i CACTT genu *DRD2* są związane z większym potreningowym spadkiem poziomu glukozy we krwi (odpowiednio $p=0,032$ i $p=0,020$), co ma przełożenie na poprawę funkcjonowania gospodarki węglowodanowej. Należy zaznaczyć, że przed rozpoczęciem eksperymentu 3 kobiety miały hiperglikemię (poziom glukozy na czczo we krwi wynosił 106-118 mg/dl). Natomiast po jego zakończeniu poziom glukozy we krwi u tych osób wrócił do prawidłowego poziomu, co potwierdza ważną rolę aktywności fizycznej i diety zwłaszcza u osób z predyspozycjami do podwyższonego stężenia glukozy we krwi. Obserwacja ta jest zgodna z oczekiwaniami i doniesieniami w dostępnej literaturze. Badania pokazują, że poprzez modyfikacje stylu życia obejmujące dietę i regularną aktywność fizyczną można opóźniać i/lub zapobiegać występowaniu cukrzycy typu 2 w grupach ryzyka (Richter i wsp. 2001).

Należy podkreślić, że choć analiza pojedynczych miejsc polimorficznych jest cennym narzędziem badawczym, to dopiero jednoczesna analiza wielu miejsc polimorficznych pozwala na dostrzeżenie nowych unikalnych interakcji między nimi (Liu i wsp. 2008), co zostało potwierdzone w niniejszych badaniach. Przeprowadzony przegląd literaturowy nie wykazał podobnego badania opisującego zależności między polimorfizmami genu *DRD2* (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498) a potreningowymi zmianami wybranych pomiarów masy i składu ciała, a także parametrów biochemicznych u osób aktywnych fizycznie. W związku z tym uzyskane wyniki można uznać za nowatorskie i nie mogą być bezpośrednio porównane do innych badań. Natomiast analizy przeprowadzone przez Zhanga i wsp. (2007) wykazały skomplikowane interakcje między wieloma wariantami genu *DRD2*, które miały wpływ na modyfikacje poziomu ekspresji i proces

wycinania intronów. Do tej pory naukowcy analizowali związek między haplotypami *DRD2* a uzależnieniem od alkoholu, nikotyny i narkotyków, niektórymi rodzajami nowotworów czy zaburzeniami psychiatrycznymi (Chien i wsp. 2013; Luo i wsp. 2005; Nyman i wsp. 2012; Zhang i wsp. 2014; Voisey i wsp. 2012; Gemignani i wsp. 2005).

Nadal jest wiele niejasności dotyczących zrozumienia złożonych mechanizmów przekazywania sygnału przez receptory dopaminy. Przeprowadzone niedawno badania ujawniły, że receptory *DRD2* oddziałują z białkiem Gi/Go i hamują syntezę cyklicznego adenozyno-3',5'-monofosforanu (ang. cyclic adenosine monophosphate, cAMP). Pobudzenie tych receptorów obniża aktywność kinazy białkowej A (ang. protein kinase A, PKA), zmienia stan ufosforylowania białka regulowanego przez dopaminę i cAMP (ang. dopamine and cAMP regulated phosphoprotein, DARPP-32), wpływając na aktywność sodowych (Na^+), potasowych (K^+) i wapniowych (Ca^{2+}) kanałów jonowych. Aktywacja receptorów *DRD2* może także prowadzić do stymulacji fosfolipazy C oraz fosfolipazy *A2* i w konsekwencji do wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca^{2+} oraz kwasu arachidonowego (Drożak i Bryła 2005; Beaulieu i Gainetdinov 2011). Warto zaznaczyć, że do realizacji większości funkcji dopaminy niezbędna jest równoczesny efekt pobudzenia/hamowania receptorów *DRD1* i *DRD2*. Dopamina jest związana ze szlakiem syntezy hormonów nadnerczy (noradrenaliny i adrenaliny), co wiąże się z istotnym znaczeniem tego neuroprzekaźnika w regulacji odpowiedzi organizmu na wysiłek fizyczny. Istnieją także dowody łączące mechanizmy dopaminergiczne z innymi cechami mającymi wpływ zarówno na poziom aktywności fizycznej, jak i masę i skład ciała tj. cechy osobowości, motywacja czy temperament. Układ dopaminergiczny to również układ nagrody, wzmacniający pamięć podczas uczenia się, a także zdolności motoryczne i funkcje egzekucyjne. Dodatkowo najnowsze badania wskazują, że działanie systemu dopaminergicznego jest związane z rozwojem zmęczenia poprzez wywieranie wpływu na ośrodek termoregulacji (Cordeiro i wsp. 2017, Grzywacz i Ciężczyk 2021).

Gen *BDNF* (Publikacja 3)

W Publikacji 3 nie udało się wykazać istotnego statystycznie wpływu genotypów *BDNF* na wybrane parametry masy i składu ciała oraz wskaźniki biochemiczne oraz interakcji pomiędzy częstością genotypów *BDNF* a potreningową reakcją adaptacyjną. Chociaż należy zaznaczyć, że większość parametrów (BM, BMI, BMR, %FM, FM, FFM, TBW, HDL i BG) zmieniło się istotnie po zastosowaniu 12-tygodniowego treningu. Tym samym potwierdzono, że regularna aktywność

fizyczna wiąże się z poprawą większości parametrów związanych z otyłością, co jest ważną obserwacją dla zdrowia publicznego.

Według danych literaturowych zmiana reszty waliny na metioninę w pozycji 66 sekwencji aminokwasowej obniża ekspresję i sekrecję dojrzałego BDNF, ponieważ zlokalizowana jest w regionie tworzącym domenę, która odpowiada za sortowanie białka do właściwych pęcherzyków wydzielniczych i eksport poza komórkę (Egan i wsp. 2003; Chiaruttini i wsp. 2009; Szczepankiewicz 2016). Dodatkowo przejście G w A wpływa na ekspresję genu poprzez mechanizmy epigenetyczne tj. metylacja wysp CpG (Ursini i wsp. 2016). Badania na zwierzętach wykazały, że obniżenie poziomu BDNF w mózgu powoduje wzrost poboru pokarmu, a z kolei jego podwyższenie prowadzi do zwiększenia masy ciała zwierząt oraz zwiększenia poziomu leptyny, glukozy, cholesterolu i insuliny we krwi (Rios i wsp. 2001). W związku z tym zakłada się, że obecność allelu A/Met66 jest związana z otyłością. Zostało to potwierdzone przez Skledar i wsp. (2011) w badaniach przeprowadzonych na 300 zdrowych dzieciach i nastolatkach pochodzenia kaukaskiego. Opisali oni istotny statystycznie związek między obecnością jednego lub dwóch alleli A/Met66 a otyłością w badanej grupie i udowodnili rolę BDNF w regulacji BMI. Jednak większość badań, zwłaszcza te przeprowadzone na dużej grupie badanej, wykazało odwrotną zależność i związek allelu G/Val66 ze zwiększonym BMI zarówno u dzieci, jak i dorosłych pochodzących z różnych populacji etnicznych (Han i wsp. 2016). Również badania interwencyjne przeprowadzone na pacjentach z upośledzoną tolerancją glukozy i chorych na cukrzycę potwierdziły niekorzystny wpływ tego allelu na zmiany masy ciała (Delahanty i wsp. 2012, McCaffery i wsp. 2013). Inne prace nie wykazały związku między badanym polimorfizmem a zmianami BMI, jak przykładowo Perkovic i wsp. 2013 badając 339 zdrowych osób w średnim i starszym wieku. Prezentowane wyniki także nie wykazały istotnego statystycznie wpływu genotypów *BDNF* na wybrane parametry masy i składu ciała oraz wskaźniki biochemiczne. Dodatkowo nie opisano istnienia istotnej statystycznie interakcji pomiędzy częstością genotypów *BDNF* a potreningową reakcją adaptacyjną. Chociaż wcześniejsze badania pokazały, że czynnik BDNF wpływa na kontrolę układów: mięśniowego, nerwowego i naczyniowego, a wykonywanie ćwiczeń fizycznych zwiększa stężenie jego poziomu (Małczyńska i wsp. 2018). Wyjaśnieniem tych niespójnych wyników mogą być różnice w wielkości grupy badanej, wybranej metodologii, czasie trwania eksperymentu, pochodzeniu etnicznym, wieku, masie ciała uczestników i umiarkowanym udziale czynników genetycznych (Akbarian i wsp. 2018). Dodatkowo mechanizmy epigenetyczne związane z czynnikami środowiskowymi, takimi jak aktywność fizyczna i dieta, modulują działanie *BDNF*, osłabiając w ten sposób wpływ genotypu (Ursini i wsp. 2016).

Podsumowanie

Wyniki badań przeprowadzonych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej potwierdzają znaczenie badań opartych o metody biologii molekularnej we współczesnych naukach o kulturze fizycznej. Zaprezentowane wyniki są wartościowym źródłem wiedzy o podłożu genetycznym zmian adaptacyjnych obserwowanych w odpowiedzi na realizowany trening. W przyszłości dane genetyczne mogą być wykorzystywane do przewidywania następstw regularnych ćwiczeń m.in. do prognozowania zmian masy ciała i tkanki tłuszczowej oraz wskaźników biochemicznych. Planowanie treningów w oparciu o genotyp danego człowieka pozwoli na zwiększenie ich efektywności, co umożliwi skuteczne i bezpieczne obniżenie masy ciała oraz prewencję wystąpienia chorób przewlekłych takich jak otyłość, cukrzyca typu 2 czy choroby układu sercowo-naczyniowego.

7. WNIOSKI

Mając na uwadze sformułowane cele, pytania i hipotezy badawcze oraz otrzymane wyniki zostały opracowane następujące wnioski:

1. Nosicielki genotypów Ala54/Thr54r oraz Thr54/Thr54 genu *FABP2* mogą być obciążone czynnikiem ryzyka rozwoju nadwagi i otyłości, więc można uznać te genotypy za niekorzystne. Z tego względu polimorfizm rs1799883 powinien zostać rozważony jako marker genetyczny umożliwiający określenie predyspozycji do rozwoju nadwagi i otyłości.
2. W grupie badanej genotyp CC dla polimorfizmu rs1076560 genu *DRD2* może być uznany za niekorzystny, a jego obecność może być związana ze spadkiem BMR w odpowiedzi na zastosowany trening. Posiadanie tego genotypu może stać się przyczyną braku oczekiwanych efektów potreningowych w zakresie zmian metabolizmu.
3. Wpływ na kształtowanie potreningowej reakcji adaptacyjnej obejmującej zmiany masy i składu ciała oraz glikemii i poziomu wskaźników lipidogramu może być niezauważalny przy analizie pojedynczych miejsc polimorficznych. Natomiast jednoczesna analiza wielu miejsc polimorficznych pozwala na dostrzeżenie unikalnych interakcji między nimi i umożliwia opisanie ich wpływu na indywidualną zmienność w odpowiedzi na realizowany trening.
4. Wykazano, że nosicielstwo haplotypu CGCCT genu *DRD2* (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498) może być związane ze wzrostem BMR i FFM w odpowiedzi na zastosowany trening fizyczny. Taki haplotyp można uznać za korzystny, a jego nosicielki mogą łatwiej uzyskać planowane efekty potreningowe w zakresie zmian składu ciała i metabolizmu.
5. Nosicielki haplotypu CA-CT genu *DRD2* (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498) mogą uzyskać oczekiwane efekty w odpowiedzi na zastosowany trening w kontekście poprawy funkcjonowania gospodarki lipidowej tj. zmniejszenie poziomu frakcji LDL, więc haplotyp ten można uznać za korzystny.
6. Nosicielki haplotypu AACTC genu *DRD2* (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498) mogą łatwiej uzyskać oczekiwane efekty w odpowiedzi na zastosowany trening w kontekście poprawy funkcjonowania gospodarki lipidowej tj. zwiększenie poziomu frakcji HDL, więc haplotyp ten można uznać za korzystny.
7. Nosicielstwo haplotypów CACCC i CACTT genu *DRD2* (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498) może być związane z większym spadkiem glukozy we krwi po

zaaplikowanym treningu. Haplotypy te mogą być uznane za korzystne, a ich nosicielki mogą łatwiej uzyskać oczekiwane efekty potreningowe w zakresie poprawy funkcjonowania gospodarki węglowodanowej.

8. Wykazano, że polimorfizm rs6265 w genie *BDNF* nie wpływa na efektywność zastosowanego programu treningowego i nie jest dobrym markerem genetycznym do oceny parametrów związanych z otyłością w badanej populacji. Jednak konieczne są dalsze, poszerzone badania w celu potwierdzenia tych obserwacji.

8. STRESZCZENIE

Systematyczny wysiłek fizyczny ma pozytywne oddziaływanie na szereg zmian adaptacyjnych zachodzących w ludzkim organizmie poczynając od obniżenia masy ciała i masy tkanki tłuszczowej, zwiększenia masy mięśni szkieletowych, poprawy nawodnienia organizmu, usprawnienia pracy układu sercowo-naczyniowego, poprawy tolerancji glukozy i profilu lipidowego, kończąc na korzystnym wpływie na zdrowie psychiczne. Liczne badania nad specyfiką potreningowych zmian wybranych cech antropometrycznych oraz wskaźników fizjologicznych i biochemicznych zaowocowały stosunkowo dobrze poznanym schematem odpowiedzi funkcjonalnej na zaaplikowany trening. Jednak oszacowanie zakresu zmian adaptacyjnych zachodzących w organizmie człowieka pod wpływem aktywności fizycznej nadal stanowi ważny problem naukowy. Najnowsze badania wskazują, że potreningowa odpowiedź organizmu jest bardzo podobna u osób będących nosicielami takich samych wersji allelicznych wybranych genów.

Produkty genów *FABP2*, *DRD2* i *BDNF* odgrywają ważne role biologiczne (FABPs biorą udział w regulacji metabolizmu lipidów; receptory *DRD2* oddziałują m.in. na kontrolę motoryczną, motywację do działania, a także procesy poznawcze; a neurotrofina *BDNF* pełni rolę w prawidłowym funkcjonowaniu układu nerwowego, jak również uczestniczy w regulacji homeostazy energetycznej organizmu) i są brane pod uwagę zarówno w ocenie predyspozycji związanych z otyłością, jaki i sportowych. W związku z tym, głównym celem przeprowadzonych badań było określenie korelacji pomiędzy częstością genotypów i alleli opisywanych w wybranych siedmiu punktach polimorficznych zlokalizowanych w genach *FABP2* (rs1799883), *DRD2* (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498) oraz *BDNF* (rs6265) na zmiany masy i składu ciała oraz wybranych wskaźników biochemicznych wywołane 12-tygodniowym treningiem aerobowym. Dodatkowym celem było ustalenie czy wybrane polimorfizmy mogą być wykorzystywane jako markery genetyczne umożliwiające określenie predyspozycji do rozwoju otyłości oraz niekorzystnych właściwości metabolicznych z nią związanych. Ostatnim założeniem było zbadanie częstości współwystępowania genotypów i frekwencji haplotypów wybranych polimorfizmów genu *DRD2* oraz określenie ich wpływu na kształtowanie potreningowej reakcji adaptacyjnej.

W opisywanych publikacjach grupę badaną stanowiło 168 (Publikacja 1), 165 (Publikacja 2) i 160 (Publikacja 3) niespokrewnionych ze sobą kobiet pochodzenia kaukaskiego spełniających kryteria włączenia do eksperymentu. Uczestniczki zrealizowały 12-tygodniowy trening aerobowy i zostały objęte programem żywieniowym. Przed i po zakończeniu treningu zbadano u nich metodą bioimpedancji następujące parametry: BM, BMI, BMR, FFM, FM, %FM, TBW oraz indeks impedancji tkanek. Od uczestniczek badań pobrano również dwukrotnie próbki krwi, w których

oznaczano stężenia: TC, TG, HDL, LDL i BG. Ponadto pobrano wymazy nabłonka jamy ustnej, z których wyizolowano DNA. Następnie przeprowadzono genotypowanie z wykorzystaniem reakcji PCR w czasie rzeczywistym z użyciem znakowanych fluorescencyjnie sond molekularnych typu TaqMan. Otrzymane wyniki zostały poddane analizie statystycznej.

Podsumowując uzyskane wyniki stwierdzono, że w badanej populacji nosicielki genotypów Ala54/Thr54r oraz Thr54/Thr54 genu *FABP2* (rs1799883) miały wyższe wartości wskaźnika BMI przez cały okres trwania eksperymentu ($p=0,033$). W związku z tym można uznać te genotypy za niekorzystne, a ich nosicielki mogą być obciążone czynnikiem ryzyka rozwoju nadwagi i otyłości. Biorąc pod uwagę równoczesny wpływ treningu i genotypu analiza wykazała, że genotyp CC genu *DRD2* (rs1076560) może być rozpatrywany jako niekorzystny w kontekście oczekiwanych rezultatów potreningowych w zakresie metabolizmu, ponieważ wiązał się z obniżeniem BMR ($p=0,033$). Jednoczesna analiza statystyczna pięciu miejsc polimorficznych w genie *DRD2* (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497 i rs1800498) wykazała, że haplotypy CACCC i CACTT są związane z większym spadkiem poziomu glukozy we krwi po zaaplikowanym treningu (odpowiednio $p=0,032$ i $p=0,020$). Haplotypy te mogą być uznane za korzystne, a ich nosicielki mogą łatwiej uzyskać oczekiwane efekty potreningowe w zakresie poprawy funkcjonowania gospodarki węglowodanowej. Dodatkowo wykazano, że haplotyp CGCCT był związany z większym wzrostem BMR ($p=0,003$) i FFM ($p=0,009$) w odpowiedzi na regularną aktywność fizyczną, więc nosicielstwo tego haplotypu może być korzystne w kontekście zmian potreningowych dotyczących metabolizmu i składu ciała. Natomiast haplotypy CA-CT i AACTC, które wiązały się z uzyskaniem oczekiwanych efektów w odpowiedzi na zastosowany trening w kontekście poprawy funkcjonowania gospodarki lipidowej tj. zmniejszenie poziomu frakcji LDL ($p=0,046$) i zwiększenie poziomu frakcji HDL ($p=0,0497$), można uznać za korzystne. Analiza częstości poszczególnych genotypów w obrębie polimorfizmu rs6265 w genie *BDNF* na odpowiedź potreningową nie wykazała istotności statystycznej dla żadnego badanego parametru (brak interakcji genotyp *BDNF* x trening). Nie stwierdzono także istotnego statystycznie wpływu genotypu na wybrane parametry. W związku z tym ten SNP nie jest dobrym markerem umożliwiającym określenie predyspozycji do rozwoju nadwagi i otyłości w badanej populacji.

Zaprezentowane wyniki badań są cennym źródłem wiedzy o podłożu genetycznym zmian adaptacyjnych obserwowanych w odpowiedzi na realizowany trening. W przyszłości dane genetyczne mogą być wykorzystywane do przewidywania następstw regularnych ćwiczeń m.in. do prognozowania zmian masy ciała i tkanki tłuszczowej oraz wskaźników biochemicznych. Planowanie treningów w oparciu o genotyp danego człowieka pozwoli na zwiększenie ich

efektywności, co umożliwi skuteczne i bezpieczne obniżenie masy ciała oraz prewencję wystąpienia chorób przewlekłych jak otyłość, cukrzyca typu 2 czy choroby układu sercowo-naczyniowego.

9. SUMMARY

Regular physical activity has a positive effect on a lot of adaptive changes in the human body, starting from a reduction in body mass and fat mass, an increase of skeletal muscle mass, an improvement of the body hydration as well as improving the cardiovascular function, the glucose and the lipid profile and finally on the mental health. Many studies related to the specifics of post-workout changes in selected anthropometric traits as well as physiological and biochemical indicators have resulted in a relatively well known patterns in response to applied training. On the other hand, estimating the extent of the adaptive changes occurring in the human body due to the influence of the physical activity is still a significant science problem. The newest research indicates that the body's post-workout response is similar among individuals who carry the same allelic versions of the selected genes.

The products of the *FABP2*, *DRD2* and *BDNF* genes play an important biological roles (FABPs are involved in the regulation of the lipid metabolism; DRD2 receptors influence on, among other things, the motor control, motivation to act as well as cognitive processes; while BDNF neurotrophin plays a role in the proper functioning of the nervous system and also participates in the regulation of the body's energy homeostasis) and are taken into account in the assessment of both obesity-related and sports-related characteristics and predispositions. Therefore, the main aim of this study was to determine the effect of the seven polymorphic sites located in the *FABP2* (rs1799883), *DRD2* (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, and rs1800498) and *BDNF* (rs6265) genes on the changes of the body mass and composition as well as selected biochemical indicators, induced by a 12-week aerobic training. The additional aim of this study was to determine whether the selected polymorphisms can be used as the genetic markers in order to identify predisposition to the obesity development and the adverse metabolic properties associated with it (such as weight gain). Last but not least aim was to study the co-occurrence of genotypes and frequency of haplotypes of the selected *DRD2* gene's polymorphisms and to determine their impact on the post-training adaptive response.

In the presented publications, the study group consisted of 168 (Publication 1), 165 (Publication 2) and 160 (Publication 3) unrelated Caucasian women who met the inclusion criteria for the experiment. Participants completed a 12-week of aerobic training and were included in the nutrition plan. Before and after the training period, students were measured by bioimpedance method the following parameters such as: BM, BMI, BMR, FFM, FM, %FM, TBW, and tissue impedance index. Blood samples were taken from the participants twice, with such concentrations determined: TC, TG, HDL, LDL, and glucose level. Moreover, swabs of oral epithelium were taken which DNA

was isolated from. The next part was performing genotyping using real-time PCR with fluorescently labeled TaqMan molecular probes. The final results were submitted for statistical analysis.

Summing up the final results, it was found that in the study population, female carriers of the Ala54/Thr54r and Thr54/Thr54 genotypes of the *FABP2* gene (rs1799883) had higher BMI values ($p=0,033$) throughout the experiment. Therefore, these genotypes may be considered unfavorable and their carriers may have a higher risk factor for developing overweight and obesity. Taking into account the concomitant effects of training and genotype, the analysis showed that the CC genotype of the *DRD2* gene (rs1076560) could be considered unfavorable in the context of expected post-training metabolic changes, as it was associated with decreased BMR. Simultaneous statistical analysis of five polymorphic sites in the *DRD2* gene (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, and rs1800498, respectively) showed that the CACCC and CACTT haplotypes are associated with a greater decrease in the blood glucose levels after applied training ($p=0,032$ and $p=0,020$, respectively). These haplotypes may be considered beneficial, and their carriers could more easily achieve the expected post-workout changes in carbohydrate metabolism. What is more, it was shown that the CGCCT haplotype was associated with a greater increase in BMR ($p=0,003$) and FFM ($p=0,009$) in response to a regular physical activity, therefore, carrying this haplotype may be beneficial in terms of post-workout changes in metabolism and body composition. Additionally, the CA-CT and AACTC haplotypes were associated with favorable post-workout changes in the lipid metabolism e.g. greater decrease in LDL levels ($p=0,046$) and increase in HDL levels ($p=0,0497$), thus carrying these haplotypes may be beneficial. The training response was not modulated by rs6265 *BDNF* genotype (non-significant *BDNF* genotype $\times$ training interactions). We also did not find an effect of the genotype on selected parameters. Therefore, this SNP is not a good marker for determining the predisposition to the development of overweight and obesity in the study population.

The presented results in this study are a valuable source of the genetic knowledge about the adaptive changes which are observed in response to the implemented training. In the future, this kind of genetic knowledge could be useful in order to predict the human body changes resulting from regular physical activity, for example, to predict changes in body mass, body fat mass, and biochemical parameters. Training plans that will be based on a person's genotype may help increase their effectiveness, enabling successful and safe body mass loss and preventing the onset of chronic diseases, such as obesity, type 2 diabetes or cardiovascular diseases.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Abrahams S, McFie S, Lacerda M, Patriciois J, Suter J, September AV, *et al.* Unravelling the interaction between the *DRD2* and *DRD4* genes, personality traits and concussion risk. *BMJ Open Sport and Exercise Medicine*, 2019;5:e000465. DOI: 10.1136/bmjsem-2018-000465.
2. Ahmad S, Rukh G, Varga TV, Ali A, Kurbasic A, Shungin D, *et al.* Gene $\times$ physical activity interactions in obesity: combined analysis of 111,421 individuals of European ancestry. *PLoS Genetics*, 2013;9(7):e1003607. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003607.
3. Akbarian S A, Salehi-Abargouei A, Pourmasoumi M, Kelishadi R, Nikpour P, Heidari-Beni M. Association of Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene Polymorphisms with Body Mass Index: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Advances in Medical Sciences*. Medical University of Bialystok. 2018;43–56. DOI: 10.1016/j.advms.2017.07.002
4. Albala C, Santos JL, Cifuentes M, Villarroel AC, Lera L Liberman C, *et al.* Intestinal FABP2 A54T Polymorphism: Association with Insulin Resistance and Obesity in Women. *Obesity Research*, 2004;12:340–345. DOI: 10.1038/oby.2004.42.
5. Aliasghari F, Nazm SA, Yasari S, Mahdavi R, Bonyadi M. Associations of the ANKK1 and DRD2 Gene Polymorphisms with Overweight, Obesity and Hedonic Hunger among Women from the Northwest of Iran. *Eating and Weight Disorders*, 2021;26:305–312. DOI: 10.1007/s40519-020-00851-5.
6. Auinger A, Helwig U, Rubin D, Herrmann J, Jahreis G, Pfeuffer N, *et al.* Human Intestinal Fatty Acid Binding Protein 2 Expression Is Associated with Fat Intake and Polymorphisms. *The Journal of Nutrition*, 2010;140(8):1411–1417. DOI: 10.3945/jn.109.118034.
7. Baier LJ, Sacchettini JC, Knowler WC, Eads J, Paolisso G, Tataranni PA, *et al.* An Amino Acid Substitution in the Human Intestinal Fatty Acid Binding Protein Is Associated with Increased Fatty Acid Binding, Increased Fat Oxidation, and Insulin Resistance. *Journal Clinical of Investigation*, 1995;95:1281–1287. DOI: 10.1172/JCI117778.
8. Barnard ND, Noble EP, Ritchie T, Cohen J, Jenkins DJ, Turner McGrievy G, *et al.* D2 dopamine receptor Taq1A polymorphism, body weight, and dietary intake in type 2 diabetes. *Nutrition*. 2009; 25(1):58–65. DOI: 10.1016/j.nut.2008.07.012.
9. Beaulieu JM, Gainetdinov RR. The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. *Pharmacological Reviews*, 2011;63:182–217. DOI: 10.1124/pr.110.002642.

10. Boyle T, Keegel T, Bull F, Heyworth J, Fritschi L. Physical Activity and Risks of Proximal and Distal Colon Cancers: A Systematic Review and Meta-analysis, *Journal of the National Cancer Institute*, 2012;104(20):1548–1561. DOI: 10.1093/jnci/djs354.
11. Cameron JD, Riou ME, Tesson F, Goldfield GS, Rabasa-Lhoret R, Brochu M, *et al.* The TaqIA RFLP is associated with attenuated intervention-induced body weight loss and increased carbohydrate intake in post-menopausal obese women. *Appetite*, 2013;60(1):111-116. DOI: 10.1016/j.appet.2012.09.010.
12. Chiaruttini C, Vicario A, Li Z, Baj G, Braiuca P, Wu Y, *et al.* Dendritic Trafficking of BDNF mRNA Is Mediated by Translin and Blocked by the G196A (Val66Met) Mutation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2009;106(38):16481–16486. DOI: 10.1073/pnas.0902833106.
13. Chien YL, Hwu HG, Fann CSJ, Chang CC, Tsuang MT, Liu CM. DRD2 Haplotype Associated with Negative Symptoms and Sustained Attention Deficits in Han Chinese with Schizophrenia in Taiwan. *Journal of Human Genetics*. 2013;58:229–232. DOI: 10.1038/jhg.2012.157
14. Ciężczyk P, Grzywacz A. Genetyka sportowa. rozdział 14 Psychogenetyka w sporcie. PZWL. 2021. Str. 321-334
15. Cordeiro Q, Siqueira-Roberto J, Zung S, Vallada H. Association between the DRD2–141C Insertion/Deletion Polymorphism and Schizophrenia. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 2009;67(2-A):191-194. DOI: 10.1590/s0004-282x2009000200004.
16. Cordeiro LMS, Rabelo PCR, Moraes MM, Teixeira-Coelho F, Coimbra CC, Wanner SP, *et al.* Physical Exercise-Induced Fatigue: The Role of Serotonergic and Dopaminergic Systems. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2017, 50, e6432. DOI: 10.1590/1414-431X20176432.
17. Davis C, Levitan RD, Kaplan AS, Carter J, Reid C, Curtis C, *et al.* Reward sensitivity and the D2 dopamine receptor gene: A case-control study of binge eating disorder. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*, 2008;1;32(3):620-628. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2007.09.024.
18. Delahanty LM, Pan Q, Jablonski K A, Watson K E, McCaffery J M, Shuldiner A, *et al.* W. Genetic Predictors of Weight Loss and Weight Regain after Intensive Lifestyle Modification, Metformin Treatment, or Standard Care in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes Care*. 2012;35(2):363–366. DOI: 10.2337/dc11-1328.

19. Drożak J, Bryła J. Dopamine – not just a neurotransmitter. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (online)*.2005;59:405-420.
20. Doehring A, Kirchhof A, Lötsch J. Genetic Diagnostics of Functional Variants of the Human Dopamine D2 Receptor Gene. *Psychiatric Genetics*, 2009;19:259–268. DOI: 10.1097/YPG.0b013e32832d0941.
21. Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, *et al.* The BDNF Val66met Polymorphism Affects Activity-Dependent Secretion of BDNF and Human Memory and Hippocampal Function. *Cell*. 2003;112(2):257–269. DOI: 10.1016/s0092-8674(03)00035-7.
22. Eubanks JH, Djabali M, Selleri L, Grandy DK, Civelli O, McElligott, DL, *et al.* Structure and Linkage of the D2 Dopamine Receptor and Neural Cell Adhesion Molecule Genes on Human Chromosome 11q23. *Genomics*, 1992;14:1010–1018. DOI: 10.1016/s0888-7543(05)80124-7.
23. Feistauer V, Vitolo MR, Campagnolo PDB, Mattevi VS, Almeida S. Evaluation of association of *DRD2* TaqIA and *-141C InsDel* polymorphisms with food intake and anthropometric data in children at the first stages of development. *Genetics and Molecular Biology*, 2018;41(3):562–569. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2017-0202.
24. Fisher E, Li Y, Burwinkel B, Kühr V, Hoffmann K, Möhlig M, *et al.* Preliminary Evidence of *FABP2* A54T Polymorphism Associated with Reduced Risk of Type 2 Diabetes and Obesity in Women from a German Cohort. *Hormon and Metabolic Research*, 2006;38: 341–345. DOI: 10.1055/s-2006-925400.
25. Formanck ML, Baier LJ. Variation in the *FABP2* promoter affects gene expression: implications for prior association studies. *Diabetologia*, 2004;47(2)349-351. DOI: 10.1007/s00125-003-1289-z.
26. Friedenreich CM, Orenstein MR. Physical activity and cancer prevention: Etiologic evidence and biological mechanisms. *The Journal of Nutrition*, 2002; 132(11): 3456S-3464S. DOI: 10.1093/jn/132.11.3456S.
27. Gemignani F, Landi S, Moreno V, Gioia-Patricola L, Chabrier A, Guino E, *et al.* Polymorphisms of the Dopamine Receptor Gene *DRD2* and Colorectal Cancer Risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 2005;14:1633–1638. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0057.
28. Grandy DK, Litt M, Allen L, Bunzow JR, Marchionni M, Makam H, *et al.* The Human Dopamine D2 Receptor Gene Is Located on Chromosome 11 at Q22–Q23 and Identifies a TaqI RFLP. *American Journal of Human Genetics*, 1989;45:778–785.

29. Grzywacz E, Jaron A. Well-Being and Mental Health—Diet, Supplements, Exercise or Sleep? A review of reports from the last five Years. *Baltic Journal of Health and Physical Activity*, 2020;12, 73–82. DOI: 10.29359/BJHPA.12.2.08
30. Hamidovic A, Dlugos A, Skol A, Palmer AA, de Wit H. Evaluation of genetic variability in the dopamine receptor D2 in relation to behavioral inhibition and impulsivity/sensation seeking: An exploratory study with *d*-amphetamine in healthy participants. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 2009;17(6):374–383. DOI: 10.1037/a0017840.
31. Han, T.K. Effects Ala54Thr Polymorphism of FABP2 on Obesity Index and Biochemical Variable in Response to a Aerobic Exercise Training. *J. Exerc. Nutr. Biochem.* 2013;17:209–217. DOI: 10.5717/jenb.2013.17.4.209.
32. Han JC. Rare Syndromes and Common Variants of the Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene in Human Obesity. In *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 2016;140: 75–95. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2015.12.002.
33. Hansen D, Dendale P, Berger J, van Loon LJC, Meeusen R. The Effects of Exercise Training on Fat-Mass Loss in Obese Patients During Energy Intake Restriction. *Sports Medicine*, 2007;37, 31–46. DOI: 10.2165/00007256-200737010-00003.
34. Jafari M, Leaf DA, Macrae H, Kasern J, O’Conner P, Pullinger C, *et al.* The effects of physical exercise on plasma pre beta-1 high density lipoprotein. *Metabolism*, 2003;52:437-442. DOI:10.1053/meta.2003.50086.
35. Jarosz M, Rychlik E, Stoś K, Charzewska J. Normy żywienia dla populacji Polski i ich zastosowanie. *Państwowy Zakład Higieny*, 2017.
36. Khattab SA, Abo-Elmatty DM, Ghattas MH, Mesbah NM, Mehanna ET. Intestinal Fatty Acid Binding Protein Ala54Thr Polymorphism Is Associated with Peripheral Atherosclerosis Combined with Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes*. 2017;9:821–826. DOI: 10.1111/1753-0407.12496.
37. King A, Rotter J, Motulsky AG. The Genetic Basis of common complex diseases. Second Edition. Oxford Press Inc. 2002.
38. Leal G, Comprido D, Duarte CB. BDNF-induced local protein synthesis and synaptic plasticity. *Neuropharmacology*. 2014;76:639-656. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.04.005.

39. Lee SH, Lee BH, Lee JS, Chai YG, Choi MR, Han DMR, *et al.* The Association of DRD2 –141C and ANKK1 TaqIA Polymorphisms with Alcohol Dependence in Korean Population Classified by the Lesch Typology. *Alcohol and Alcoholism*, 2013;48(4), 426–432, DOI: 10.1093/alcalc/agt029.
40. Leońska-Duniec A, Jastrzębski Z, Zarębska A, Maciejewska A, Ficek K, Ciężczyk P. Assessing effect of interaction between the *FTO* A/T polymorphism (rs9939609) and physical activity on obesity-related traits. *Journal of Sport and Health Science*, 2018;7(4):459-464. DO: 10.1016/j.jshs.2016.08.013.
41. Leońska-Duniec A, Jastrzębski Z, Jazdzewska A, Krzysztof F, Ciężczyk P. Leptin and leptin receptor genes are associated with obesity-related traits changes in response to aerobic training program. *Journal of strength and conditioning research*, 2018;32:1036–1044. DOI: 10.1519/JSC.0000000000002447.
42. Li S, Zhao JH, Luan J, Ekelund U, Luben RN, Khaw KT, *et al.* Physical activity attenuates the genetic predisposition to obesity in 20,000 men and women from EPIC-Norfolk prospective population study. *Plos Medicine*, 2010; 31;7(8). DOI: 10.1371/journal.pmed.1000332.
43. Liu N, Zhang K, Zhao H. Haplotype-Association Analysis. *Advances in Genetics*. 2008, 60, 335–405. DOI: 10.1016/S0065-2660(07)00414-2.
44. Loprinzi PD, Cardinal BJ, Loprinzi KL, Lee H. Benefits and environmental determinants of physical activity in children and adolescents. *Obesity Facts*, 2012;5(4):597-610. DOI: 10.1159/000342684.
45. Loret de Mola JR. Obesity and its relationship to infertility in men and women. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 2009;36:333–346. DOI: 10.1016/j.ogc.2009.03.002.
46. Luo HR, Hou ZF, Wu J, Zhang YP, Wan YJY. Evolution of the DRD2 Gene Haplotype and Its Association with Alcoholism in Mexican Americans. *Alcohol* 2005;36:117–125. DOI: 10.1016/j.alcohol.2005.09.003
47. Ockner RK, Manning JA. Fatty acid-binding protein in small intestine. Identification, isolation, and evidence for its role in cellular fatty acid transport. *Journal of Clinical Investigation*, 1974;54:326–338. DOI: 10.1172/JCI107768.
48. Maes HH, Neale MC, Eaves LJ. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behaviour Genetics* 1997;27(4):325–351. DOI:10.1023/A:1025635913927.

49. Małczyńska P, Piotrowicz Z, Drabarek D, Langfort J, Chalimoniuk M. Rola mózgowego czynnika neurotroficznego (BDNF) w procesach neurodegeneracji oraz w mechanizmach neuroregeneracji wywołanej wzmożoną aktywnością fizyczną. *Postępy biochemii*. 2019;65 (1). DOI: 10.18388/pb.2019_251.
50. Małecka I, Jasiewicz A, Suchanecka A, Samochowiec J, Grzywacz A. Association and family studies of *DRD2* gene polymorphisms in alcohol dependence syndrome. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine (online)*, 2014;6;68:1257-1263. DOI: 10.5604/17322693.1127883.
51. Martel P, Fantino M. Mesolimbic dopaminergic system activity as a function of food reward: a microdialysis study. *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 1996;53:221-226. DOI: 10.1016/0091-3057(95)00187-5.
52. McCaffery JM, Papandonatos GD, Huggins GS, Peter I, Kahn S E, Knowler WC, *et al.* FTO Predicts Weight Regain in the Look AHEAD Clinical Trial. *Int. J. Obes.* 2013;37(12): 1545–1552. DOI: 10.1038/ijo.2013.54.
53. McKeigue PM, Shah B, Marmot MG. Relationship of central obesity and insulin resistance with high diabetes prevalence and cardiovascular risk in south Asians. *Lancet*, 1991;337:382– –863. DOI: 10.1016/0140-6736(91)91164-p.
54. Mi H, Thomas PD, Ring HZ, Jiang R, Sangkuhl K, Klein TE, *et al.* Pharm GKB Summary: Dopamine Receptor D2. *Pharmacogenet Genomics*, 2011;21:350–356. DOI: 10.1097/FPC.0b013e32833ee605.
55. Monda KL, Ballantyne CM†, North KE. Longitudinal impact of physical activity on lipid profiles in middle-aged adults: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Journal of Lipid Research*, 2009;50(8):1685-1691 DOI: 10.1194/jlr.P900029-JLR200.
56. Nakazato M, Hashimoto K, Shimizu E, Niitsu T, Iyo M. Possible Involvement of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Eating Disorders. *IUBMB Life*. 2012;355–361. DOI: 10.1002/iub.1012.
57. Nasibulina ES, Borisova AV, Akhmetov II. Study on Association of FABP2 Gene Ala54Thr Polymorphism with Risk of obesity, Body Fat Mass and Physical Activity. *Vopr. Pitan.* 2013, 82, 23–28.
58. Nyman ES, Loukola A, Varilo T, Taanila A, Hurtig T, Moilanen I, *et al.* Sex-Specific Influence of *DRD2* on ADHD-Type Temperament in a Large Population-Based Birth Cohort. *Psychiatr. Genet.* 2012;22:197–201. DOI: 10.1097/YPG.0b013e32834c0cc8.

59. Paluska SA, Schwenk TL. Physical activity and mental health: current concepts. *Sports Medicine*, 2000;29(3):167-80. DOI: 10.2165/00007256-200029030-00003.
60. Perkovic NM, Mustapic M, Pavlovic M, Uzun S, Kozumplik O, Barisic I, et al. Lack of Association between Brain-Derived Neurotrophic Factor Val66Met Polymorphism and Body Mass Index Change over Time in Healthy Adults. *Neurosci. Lett.* 2013;545:127–131. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.04.036.
61. Piotrowicz Z, Chalimoniuk M, Czyba M, Langford J. Rola neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego w kontroli łaknienia. *Postępy Biochemii.* 2020;66(3). DOI: 10.18388/pb.2020_340.
62. Proctor D, Melton III L, Khosla S, Crowson CS, O'Connor MK, Riggs BL. Relative Influence of Physical Activity, Muscle Mass and Strength on Bone Density. *Osteoporosis International*, 2000;11, 944–952. DOI: 10.1007/s001980070033.
63. Richter EA, Derave W, Wojtaszewski JFP. Glucose, exercise and insulin: emerging concepts. *The Journal of physiology*. 2001;535(2), 313–322. DOI: 10.1111/j.1469-7793.2001.t01-2-00313.x.
64. Rios M, Fan G, Fekete C, Kelly J, Bates B, Kuehn R, Lechan RM, Jaenisch R. Conditional deletion of brain-derived neurotrophic factor in the postnatal brain leads to obesity and hyperactivity. *Mol Endocrinol.* 2001;15(10): 1748-1757. DOI: 10.1210/mend.15.10.0706
65. Roshanaei-Moghaddam B, Katon WJ, Russo J. The longitudinal effects of depression on physical activity. *General Hospital Psychiatry*, 2009;(4):306-15. DOI:10.1016/j.genhosppsych.2009.04.002.
66. Ruiz-Gonzales D, Hernandez-Martinez A, Valenzuela PL, Morales JS, Soriano-Maldonado A. Effects of physical exercise on plasma brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative disorders: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Neurosci Biobehav Rev.* 2021;128:394-405. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.05.025.
67. Saraswathy KN, Meitei SY, Gupta V, Murry B, Sachdeva MP, Ghosh, *et al.* Communication: Allelic and Haplotypic Structure at the DRD2 Locus Among Five North Indian Caste Populations. *American Journal of Physical Anthropology*, 2010;141:651–657. DOI: 10.1002/ajpa.21246.
68. Sasabe T, Furukawa A, Matsusita S, Higuchi S, Ishiura S. Association analysis of the dopamine receptor D2 (DRD2) SNP rs1076560 in alcoholic patients. *Neuroscience Letters*, 2007;29;412(2):139-42. DOI: 10.1016/j.neulet.2006.10.064.

69. Da Silva MA, Singh-Manoux A, Brunner EJ, Kaffashian S, Shipley MJ, Kivimäki M, *et al.* Bidirectional association between physical activity and symptoms of anxiety and depression: the Whitehall II study. *European Journal of Epidemiology*, 2012;27(7):537–46. DOI: 10.1007/s10654-012-9692-8.
70. Skledar M, Nikolac M, Dodig-Curkovic K, Curkovic M, Borovecki F, Pivac N. Association between Brain-Derived Neurotrophic Factor Val66Met and Obesity in Children and Adolescents. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012;36(1):136-40. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2011.08.003.
71. Stunkard AJ, Harris JR, Pedersen NL, McClearn GE. The body mass index of twins who have been reared apart. *The New England and Journal of Medicine*, 1990; 322:1483–1487. DOI: 10.1056/NEJM199005243222102.
72. Sullivan D, Pinsonneault JK, Papp AC, Zhu H, Lemeshow S, Mash DC, *et al.* Dopamine transporter DAT and receptor DRD2 variants affect risk of lethal cocaine abuse: a gene–gene–environment interaction. *Translational Psychiatry*, 2013;3,222. DOI: 10.1038/tp.2012.146.
73. Sweetser DA, Birkenmeier EH, Klisak IJ, Zollman S, Sparkes RS, Mohandas T, *et al.* The Human and Rodent Intestinal Fatty Acid Binding Protein Genes. A Comparative Analysis of Their Structure, Expression, and Linkage Relationships. *Journal of Biological Chemistry*, 1987;262:16060–16071. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)47696-X.
74. Szarowicz C A, Steece-Collier K, Caulfield M E. New Frontiers in Neurodegeneration and Regeneration Associated with Brain-Derived Neurotrophic Factor and the Rs6265 Single Nucleotide Polymorphism. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(14):8011. DOI: 10.3390/ijms23148011.
75. Szczepankiewicz A. Rola genu BDNF w chorobach alergicznych – przegląd najnowszych badań. *Alergia*. 2016;4:34-35.
76. Sztabowicz M, Jasiewicz A, Iskra-Trifunović J, Małecka I, Karakiewicz B, Kotwas A, *et al.* A. Case-control study analysis of DRD2 gene polymorphisms in drug addicted patients. *Psychiatry Poland*, 2018;29;52(6):1013-1022.
77. Świła K, Leońska-Duniec A. Physical activity and gene association with human obesity. *Baltic Journal of Health and Physical Activity*. 2021;13(4):99-111. DOI: 10.29359/BJHPA.13.4.10

78. Tavridou A, Arvanitidis KI, Tiptiri-Kourpeti A, Petridis I, Ragia G, Kyroglou S, *et al.* Thr54 Allele of Fatty-Acid Binding Protein 2 Gene Is Associated with Obesity but Not Type 2 Diabetes Mellitus in a Caucasian Population. *Diabetes Research and Clinical Practise*. 2009;84:132–137. DOI: 10.1016/j.diabres.2009.02.022.
79. Thompson PD, Buchner D, Pina IL, Balady GJ, Williams MA, Marcus BH, *et al.* Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. *Circulation*, 2003;107:3109–3116. DOI: 10.1161/01.ATV.0000087143.33998.F2.
80. Tremblay A, Després JP, Leblanc C, Craig CL, Ferris B, Stephens T, *et al.* Effect of intensity of physical activity on body fatness and fat distribution, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1990;51(2):153–157. DOI: 10.1093/ajcn/51.2.153.
81. Ursini G, Cavalleri T, Fazio L, Angrisano T, Iacovelli L, Porcelli A, *et al.* A. BDNF Rs6265 Methylation and Genotype Interact on Risk for Schizophrenia. *Epigenetics*. 2016;11(1):11–23. DOI: 10.1080/15592294.2015.1117736.
82. Voisey J, Swagell CD, Hughes IP, van Daal A, Noble EP, Lawford BR, *et al.* A DRD2 and ANKK1 Haplotype Is Associated with Nicotine Dependence. *Psychiatry Research*. 2012;196: 285–289. DOI: 10.1016/j.psychres.2011.09.024.
83. Wang CS, Kavalalo ET, Monteggia LM. BDNF signaling in context: From synaptic regulation to psychiatric disorders. *Cell*. 2022;185(1):62-76. DOI: 10.1016/j.cell.2021.12.003.
84. Winkler JK, Woehning A, Schultz J-H, Brune M, Beaton N, Challa TD, *et al.* TaqIA polymorphism in dopamine D2 receptor gene complicates weight maintenance in younger obese patients. *Nutrition*. 2012; 28(10):996–1001. DOI: 10.1016/j.nut.2011.12.018.
85. World Health Organization. (2010). World health statistics 2010. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44292>.
86. World Health Organization. Regional Office for Europe. (2022). WHO European Regional Obesity Report 2022. World Health Organization. Regional Office for Europe. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/353747>.
87. Xu B, Goulding EH, Zang K, Cepoi D, Cone RD, Jones KR, *et al.* Brain-Derived Neurotrophic Factor Regulates Energy Balance Downstream of Melanocortin-4 Receptor. *Nat. Neurosci*. 2003;6(7):736–742. DOI: 10.1038/nn1073

88. Yeh J, Trang A, Henning SM, Wilhalme H, Carpenter C, Heber D, *et al.* Food cravings, food addiction, and a dopamine-resistant (DRD2 A1) receptor polymorphism in Asian American college students. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 2016; 25(2):424. DOI: 10.6133/apjcn.102015.05.
89. Zhang Y, Bertolino A, Fazio L, Blasi G, Rampino A, Romano R, *et al.* Polymorphisms in Human Dopamine D2 Receptor Gene Affect Gene Expression, Splicing, and Neuronal Activity during Working Memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007;104:20552–20557. DOI: 10.1073/pnas.0707106104.
90. Zhang L, Hu L, Li X, Zhang J, Chen B. The *DRD2* rs1800497 polymorphism increase the risk of mood disorder: Evidence from an update meta-analysis. *Journal of Affective Disorder*, 2014;158;71-77. DOI: 10.1016/j.jad.2014.01.015.
91. Zhao T, Zhao J, Lv J, Nzekebaloudou M. Meta-analysis on the effect of the Ala54Thr polymorphism of the fatty acid-binding protein 2 gene on body mass index. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2011, 21(10);823-829. DOI: 10.1016/j.numecd.2010.02.020.
92. Zhang J, Yan P, Li Y, Cai X, Yang Z, Miao X, Chen B, *et al.* A 35.8 Kilobases Haplotype Spanning ANKK1 and DRD2 Is Associated with Heroin Dependence in Han Chinese Males. *Brain Research*. 2018, 1688, 54–64. DOI: 10.1016/j.brainres.2018.03.017.

11. INDEKS SKRÓTOWCÓW

A – alanina (ang. alanine)

BDNF – neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (ang. brain-derived neurotrophic factor)

BG – stężenie glukozy we krwi (ang. blood glucose level)

BIA – bioimpedancja elektryczna (ang. bioelectrical impedance analysis)

BM – całkowita masa ciała (ang. body mass)

BMI – wskaźnik masy ciała (ang. body mass index)

BMR – wskaźnik podstawowej przemiany materii (ang. basal metabolic rate)

C – cytozyna (ang. cytosine)

cAMP – adenozyno-3',5'-monofosforan (ang. cyclic adenosine monophosphate)

COMT – o-metylotransferaza katecholowa (ang. catechol – O – methyltransferase)

DNA – kwas deoksyrybonukleinowy (ang. deoxyribonucleic acid)

DOM – model dominujący (ang. dominant model)

DRD1 – receptor dopaminy typu pierwszego (ang. dopamine receptor D1)

DRD2 – receptor dopaminy typu drugiego (ang. dopamine receptor D2)

FABP2 – jelitowe białko wiążące kwasy tłuszczowe 2 (ang. fatty acid binding protein 2)

FFM – masa beztłuszczowa (ang. fat free mass)

FM – masa tkanki tłuszczowej (ang. fat mass)

FTO – demylaza 2-oxoglutaranowa (ang. fat mass and obesity associated)

G – guanina (ang. guanine)

HDL – lipoproteiny wysokiej gęstości (ang. high density lipoprotein)

HRmax – tętno maksymalne (ang. maximal heart rate)

LDL – lipoproteiny niskiej gęstości (ang. low density lipoprotein)

LEP – leptyna (ang. leptin)

LEPR – receptor leptyny (ang. leptin receptor)

MC4R – receptor melanokortyny 4 (ang. melanocortin 4 receptor)

PAL – współczynnik aktywności fizycznej (ang. physical activity level)

PCR – reakcja łańcuchowa polimerazy (ang. polymerase chain reaction)

PKA – kinaza białkowa (ang. protein kinase)

Real-Time PCR – PCR w czasie rzeczywistym (ang. real – time polymerase chain reaction)

RNA – kwas rybosynukleinowy (ang. ribonucleic acid)

SD – odchylenie standardowe (ang. standard deviation)

SNP – polimorfizm pojedynczego nukleotydu (ang. single nucleotide polymorphism)

T – tyrozyna (ang. tyrosine)

TBW – całkowita zawartość wody w organizmie (ang. total body water)

TC – stężenie cholesterolu całkowitego (ang. total cholesterol level)

TEE – dobowy całkowity wydatek energetyczny (ang. total energy expenditure)

TG – triglicerydy (ang. triglycerides)

UCP1 – termogenina 1 (ang. uncoupling protein 1 gene)

WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. World Health Organization)

WHR – stosunku obwodu talii do obwodu bioder (ang. waist – hip ratio)

Ω – indeks impedancji tkanek (ang. tissue impedance)



OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORÓW PUBLIKACJI

Świtała Katarzyna, Bojarczuk Aleksandra, Hajto Jacek, Piechota Marcin, Buryta Maciej, Leońska-Duniec Agata. Impact of the *DRD2* polymorphisms on the effectiveness of the training program. International Journal of Environmental Research and Public Health 2022, 19(9), 4942; DOI: 10.3390/ijerph19094942

Niniejszym oświadczamy, że indywidualny wkład w powstanie ww publikacji jest następujący:

autor	wkład %	opis*	podpis
Katarzyna Świtała	70	A, B, D, E, F	Katarzyna Świtała
Aleksandra Bojarczuk	5	E	Aleksandra Bojarczuk
Jacek Hajto	5	C	Jacek Hajto
Marcin Piechota	5	C	Marcin Piechota
Maciej Buryta	5	A	Maciej Buryta
Agata Leońska-Duniec	10	A, G	Agata Leońska-Duniec

* A – przygotowanie projektu badania, B – przeprowadzanie badań, C – analiza statystyczna, D – interpretacja wyników, E – przygotowanie publikacji, F – opracowanie piśmiennictwa, G – pozyskanie funduszy

Katarzyna Świtała

podpis doktoranta

Agata Leońska-Duniec

podpis promotora



OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORÓW PUBLIKACJI

Leońska-Duniec Agata, Światała Katarzyna, Ahmetov I. Ildus, Pickering Craig, Massidda Myosotis, Buryta Maciej, Mastalarz Andrzej, Maculewicz Ewelina. *FABP2* Ala54Thr polymorphism and post-training changes of body composition and biochemical parameters in caucasian women. *Genes*, 2021, 12(7), 954; DOI: 10.3390/genes12070954

Niniejszym oświadczamy, że indywidualny wkład w powstanie ww publikacji jest następujący:

autor	wkład %	opis*	podpis
Agata Leońska-Duniec	20	A, D, G	Leońska-Duniec
Katarzyna Światała	50	A, B, D, E, F	Katarzyna Światała
Ildus I Ahmetov	5	D	Ildus I Ahmetov
Craig Pickering	5	E	Craig Pickering
Myosotis Massidda	5	E	Myosotis Massidda
Maciej Buryta	5	C	Maciej Buryta
Andrzej Mastalarz	5	C, G	Andrzej Mastalarz
Ewelina Maculewicz	5	C, G	Ewelina Maculewicz

* A – przygotowanie projektu badania, B – przeprowadzanie badań, C – analiza statystyczna, D – interpretacja wyników, E – przygotowanie publikacji, F – opracowanie piśmiennictwa, G – pozyskanie funduszy

Katarzyna Światała

podpis doktoranta

Leońska-Duniec

podpis promotora



STATEMENT BY THE CO-AUTHORS OF THE PUBLICATION

Leońska-Duniec Agata, Świtała Katarzyna, Ahmetov I. Ildus, Pickering Craig, Massidda Myosotis, Buryta Maciej, Mastalarz Andrzej, Maculewicz Ewelina. *FABP2* Ala54Thr polymorphism and post-training changes of body composition and biochemical parameters in caucasian women. *Genes*, 2021, 12(7), 954; DOI: 10.3390/genes12070954

We hereby declare that our individual contribution to the above publication is as follows:

author	contribution %	description*	signature
Agata Leońska-Duniec	20	A, D, G	Agata Leońska-Duniec
Katarzyna Świtała	50	A, B, D, E, F	Katarzyna Świtała
Ildus I Ahmetov	5	D	Ildus I Ahmetov
Craig Pickering	5	E	Craig Pickering
Myosotis Massidda	5	E	Myosotis Massidda
Maciej Buryta	5	C	Maciej Buryta
Andrzej Mastalarz	5	C, G	Andrzej Mastalarz
Ewelina Maculewicz	5	C, G	Ewelina Maculewicz

* A – preparation of the study design, B – carrying out surveys, C – statistical analysis, D – interpretation of the results, E – preparation of the publication, F – development of the literature, G – acquisition of funds

Katarzyna Świtała

doctoral's signature

Agata Leońska-Duniec

promoter's signature



OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORÓW PUBLIKACJI

Świtła Katarzyna, Leońska-Duniec Agata, Michałowska-Sawczyn Monika, Brodkiewicz Andrzej, Łosińska Kinga, Grzywacz Anna. Association of the G>A (rs6265) polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene (*BDNF*) with posttraining changes in Caucasian women. *Baltic Journal of Health and Physical Activity* 2023; 15(4): <https://doi.org/10.29359/BJHPA.15.4.03>.

Niniejszym oświadczamy, że indywidualny wkład w powstanie ww publikacji jest następujący:

autor	wkład %	opis*	podpis
Katarzyna Świtła	60	ABDEF	Katarzyna Świtła
Agata Leońska-Duniec	15	ABG	Leońska-Duniec
Monika Michałowska-Sawczyn	10	E	Michałowska-Sawczyn
Andrzej Brodkiewicz	5	C	A. Brodkiewicz
Kinga Łosińska	5	F	Łosińska Kinga
Anna Grzywacz	5	D	Grzywacz

* A – przygotowanie projektu badania, B – przeprowadzanie badań, C – analiza statystyczna, D – interpretacja wyników, E – przygotowanie publikacji, F – opracowanie piśmiennictwa, G – pozyskanie funduszy

Katarzyna Świtła

podpis doktoranta

Leońska-Duniec

podpis promotora

Article

FABP2 Ala54Thr Polymorphism and Post-Training Changes of Body Composition and Biochemical Parameters in Caucasian Women

Agata Leońska-Duniec ^{1,*}, Katarzyna Świtała ¹, Ildus I. Ahmetov ^{2,3} , Craig Pickering ⁴ , Myosotis Massidda ⁵ , Maciej Buryta ⁶, Andrzej Mastalerz ⁷ and Ewelina Maculewicz ⁷ 

- ¹ Faculty of Physical Education, Gdansk University of Physical Education and Sport, 80-336 Gdansk, Poland; katarzyna.switala@awf.gda.pl
 - ² Laboratory of Molecular Genetics, Kazan State Medical University, 420012 Kazan, Russia; genoterra@mail.ru
 - ³ Department of Physical Education, Plekhanov Russian University of Economics, 117997 Moscow, Russia
 - ⁴ Institute of Coaching and Performance, School of Sport and Wellbeing, University of Central Lancashire, Preston PR1 2HE, UK; craigpickering1014@hotmail.com
 - ⁵ Department of Life and Environmental Sciences, University of Cagliari, 09124 Cagliari, Italy; myosotis.massidda@gmail.com
 - ⁶ Institute of Physical Culture Sciences, University of Szczecin, 70-453 Szczecin, Poland; maciej.buryta@usz.edu.pl
 - ⁷ Faculty of Physical Education, Jozef Pilsudski University of Physical Education in Warsaw, 00-968 Warsaw, Poland; andrzej.mastalerz@awf.edu.pl (A.M.); ewelina.jask@gmail.com (E.M.)
- * Correspondence: agata.leonska-duniec@awf.gda.pl



Citation: Leońska-Duniec, A.; Świtała, K.; Ahmetov, I.I.; Pickering, C.; Massidda, M.; Buryta, M.; Mastalerz, A.; Maculewicz, E. *FABP2* Ala54Thr Polymorphism and Post-Training Changes of Body Composition and Biochemical Parameters in Caucasian Women. *Genes* **2021**, *12*, 954. <https://doi.org/10.3390/genes12070954>

Academic Editor: Italia Di Liegro

Received: 18 May 2021

Accepted: 17 June 2021

Published: 22 June 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Abstract: The functional *FABP2* Ala54Thr polymorphism (rs1799883) is strongly associated with lipid and carbohydrate metabolism, although the function of its potential modifying effect on training-induced changes in obesity-related parameters is still unknown. The aim of the present study was to investigate the influence of the Ala54Thr polymorphism on post-training changes of selected body mass and body composition measurements, as well as with biochemical parameters of energy metabolism. Accordingly, alleles and genotypes distribution in a group of 168 young, nonobese Caucasian women measured for chosen body composition parameters, lipid profile, and glucose levels before and after the completion of a 12-week aerobic training program were studied. Although the obtained results showed changes in body mass, BMI, FM, %FM, FFM, TBW, HDL-C, and glucose levels during the training program, none of the examined parameters changed significantly across the *FABP2* genotypes. Instead, we found a main effect of genotype on BMI ($p = 0.033$), with carriers of the Thr54 allele having a higher BMI during the whole study period compared with the Ala54 carriers. We confirm that the *FABP2* Ala54Thr polymorphism may help identify women at risk for overweight and obesity. However, we did not notice evidence of an interaction between physical activity and the Ala54Thr polymorphism on the examined parameters.

Keywords: sport genetics; physical activity; *FABP2* gene; polymorphism; body composition; lipid profile; adaptation



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Regular physical activity confers many benefits to human health and is a key element of total everyday energy expenditure; as such, it assists in improving body composition and reducing excess body weight. Accordingly, the promotion of exercise, and related exercise training programs, is a key step towards reducing the ever-increasing worldwide epidemic of obesity [1,2]. Li et al., (2010) revealed that physical activity is related with around a 40% reduction in genetic predisposition to overweight and obesity, as assessed by the number of risk alleles carried for genome-wide association studies (GWAS) identified loci [3]. An understanding of the role the various genetic variants exert on the range of the body's

adaptive response to training will support prediction of the consequences of the performed exercises, making training programs more efficient and safer [2]. Over 1000 chromosomal regions and genes have been shown to be involved in body weight and energy metabolism control [4,5]. One of the most promising candidate genetic markers is fatty acid binding protein 2 (*FABP2*), the gene encoding for an intracellular protein which is a member of the FABPs superfamily, acting to bind hydrophobic ligands [6].

FABP2 is a small protein (15 kDa) expressed at high levels in the columnar absorptive epithelial cells of the villi in the intestine (enterocytes). *FABP2* includes a single ligand binding site that shows a strong affinity for saturated and unsaturated long-chain fatty acids and is involved in the synthesis of triglyceride-rich lipoproteins. This protein participates in the absorption, intracellular transport, and metabolism of dietary fatty acids and their acyl-CoA esters in small intestine [7–9]. There is experimental evidence that high levels of *FABP2*, expressed in a differentiated enterocyte model, may inhibit fatty acid incorporation by a currently-undefined mechanism [10].

In humans, the *FABP2* gene is located in the long arm of chromosome 4 (4q28–4q31) and consists of 4 exons separated by 3 introns [11]. In 1995, Baier et al. described a common nucleotide transition from guanine (G) to adenine (A) at codon 54 in exon 2 of the *FABP2* gene that results in an alanine (Ala) to a threonine (Thr) change (Ala54Thr; rs1799883) [7]. Many, but not all studies, have shown this amino acid substitution to be a functional mutation which results in physiological consequences at the molecular, cellular, and organ levels [7,9,12].

Although numerous investigators have shown that carriers of the Thr54 variant of *FABP2* have nearly twice the affinity for long-chain fatty acids compared with those with the Ala54 allele, supporting the potential function of the Ala54Thr polymorphism in the etiology of human obesity, others have not [7,13–16]. A sexual dimorphism with regard to body mass index (BMI) was shown for the Ala54Thr polymorphism [13,14]. The inconsistency of these results may be explained by the fact that in most of the previous studies on physical activity and/or diet composition were usually not taken into account.

In light of the evidence that the missense variation is strongly associated with lipid and carbohydrate metabolism, *FABP2* is an extensively studied candidate gene related to metabolic disorders including obesity, diabetes, and metabolic syndrome [7,9,14–17]. However, it is unclear whether physical activity levels affect the relationship between the obesity-related traits and genetic variation in *FABP2*. Accordingly, the aim of the present study was to investigate the influence of the Ala54Thr polymorphism on post-training changes of selected body mass and body composition measurements, as well as with biochemical parameters of energy metabolism. We studied the alleles and the genotype distribution in women engaged in a 12-week aerobic training program, searching for any associations.

2. Materials and Methods

2.1. Ethics Statement

The investigation protocols were performed in accordance with the rules of the World Medical Association Declaration of Helsinki, as well as ethical standards in sport and exercise science research. The procedures were accepted by the Ethics Committee of the Regional Medical Chamber in Szczecin (no. 09/KB/IV/2011 and 01/KB/VI/2017). Participants received a written information sheet concerning the study purpose, procedures used, benefits and risks, as well as a consent form. The experimental protocols were conducted according to the Strengthening the Reporting of Genetic Association studies (STREGA) Statement.

2.2. Participants

One hundred sixty eight Polish Caucasian women (age: 21 ± 1 years; body mass: 61 ± 2 kg; body height: 168 ± 2 cm) were included in the study. The following inclusion criteria were considered: low level of physical activity self-reported by each participant

with the use of the Global Physical Activity Questionnaire (according to the World Health Organization in the Polish adaptation), no metabolic, neuromuscular or musculoskeletal disorders, refrained from using supplements or medications, nonsmokers. The participants took part in a dietary program and were asked to keep a balanced diet based on their individual dietary plan which was established during a nutritional appointment including a recommendation and a prescription of an adequate diet fitted for individual energy need and nutritional status, as well as a food replacement list. The following average daily macronutrient ratio was recommended (expressed as a percentage of total calories): 45–65% from carbohydrates, 10–20% from protein, and 20–35% from fat (with a simultaneous focus on decreasing the intake of saturated fats and increasing the intake of unsaturated fats). A daily cholesterol intake was recommended to be lower than 300 mg, while the intake of dietary fiber was recommended to be higher than 25 g. All participants kept a daily “diet diary” in which they included everything they ate and drank during the program. The quantity and quality of meals were assessed during diet consultations, which were carried out every week.

2.3. Body Composition Measurements

All participants were measured for selected body mass and body composition parameters before and after the 12-week training period. The variables were assessed using the bioimpedance method, using a Tanita TBF 300M electronic scale (Arlington Heights, IL, USA). The following parameters were measured with the electronic scale: total body mass (kg), BMI (kg/m^2), fat mass (FM, kg), fat mass percentage (%FM, %), fat free mass (FFM, kg), and total body water (TBW, kg) [18].

2.4. Biochemical and Hematological Analyses

Fasting blood samples were obtained from the elbow vein in the morning, before the aerobic fitness training program, and after the 36th training unit, which occurred during the 12th week of the program. The biochemical and hematological analyses were performed as described earlier, immediately after blood collection [18]. The parameters received using the Random Access Automatic Biochemical Analyzer for Clinical Chemistry and Turbidimetry A15 (BioSystems S.A., Barcelona, Spain) were: glucose (mg/dL), triglycerides (TGL, mg/dL), total cholesterol (TC, mg/dL), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C, mg/dL), and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C, mg/dL).

2.5. Training Phase

A week-long familiarization stage preceded the proper training stage. During this stage, participants exercised 3 times a week for 30 min at an intensity of about fifty percent of their maximum heart rate (HRmax). After the familiarization stage, the main training program started. Each training unit consisted of the following stages: warm-up routine (10 min), main aerobic routine (43 min), stretching and breathing exercises (7 min). The major aerobic routine consisted of a combination of 2 alternating styles—low and high impact, as presented by Leońska-Duniec et al. [18].

2.6. Genetic Analyses

GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma, Steinheim, Germany) was used for the extraction of DNA from the buccal cells in accordance with the manufacturer's procedure. An allelic discrimination assay on a C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad, Feldkirchen, Germany) instrument with TaqMan probes was used to genotype all samples in duplicate. TaqMan® Pre-Designed SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) (assay ID: C____761961_10), including primers and fluorescently labelled (FAM and VIC) minor groove binder (MGB) probes were used in order to discriminate the *FABP2* Ala54Thr alleles.

2.7. Statistical Analyses

Gene counting was used to determine allele frequencies. A chi-square test was used to test the Hardy–Weinberg equilibrium. 2×2 mixed-design ANOVA tests were used to test the influence of the Ala54Thr polymorphism of the *FABP2* gene on training response. In addition, the Kolmogorov–Smirnov test was used to check for data normality, as well as the post hoc Fisher’s least significant difference (LSD) test. The models of inheritance, i.e., codominant, dominant, recessive and overdominant were constructed assuming a minor allele as the risk allele. The level of statistical significance was set at $p < 0.05$.

3. Results

Genotype frequencies of the *FABP2* polymorphism: Ala54/Ala54—80 (47.62%), Ala54/Thr54—80 (47.62%) and Thr54/Thr54—8 (4.76%) deviated significantly from the Hardy–Weinberg expectations ($\chi^2 = 4.67$, $p = 0.031$). The selected body composition and metabolic parameters before the 12-week training period initialization are presented in Table 1.

Table 1. Body composition and metabolic parameters before training program initialization.

Parameter	Pre
body mass (kg)	59.2 (55.2–65.5)
BMI (kg/m ²)	21.3 (19.9–22.9)
%FM (%)	24.3 (20.2–28.1)
FM (kg)	14.5 (11.2–17.4)
FFM (kg)	45.4 (43.6–47.6)
TBW (kg)	33.2 (31.8–35.0)
TC (mg/dL)	167.0 (150.5–184.5)
TGL (mg/dL)	73.0 (60.0–92.0)
HDL-C (mg/dL)	64.4 (55.0–73.9)
LDL-C (mg/dL)	87.3 (71.2–103.9)
Glucose (mg/dL)	80.0 (71.0–85.0)

Median (lower quartile–upper quartile).

Pre- and post-training body composition and metabolic parameters with respect to the *FABP2* genotype are presented in Table 2. Most parameters (body mass, BMI, %FM, FM, FFM, TBW, HDL-C, and glucose) changed significantly during the intervention (main effect of training), however, the training response did not tend to be modulated by genotype (non-significant genotype $\times$ training interactions).

Table 2. The *FABP2* genotypes and response to training (2-way repeated measures ANOVA).

Parameter	Ala54/Ala54 (<i>n</i> = 80)		Ala54/Thr54 + Thr54/Thr54 (<i>n</i> = 88)		Genotype <i>p</i>	Training <i>p</i>	Genotype $\times$ Training Interaction <i>p</i>
	Pre	Post	Pre	Post			
body mass (kg)	59.9 $\pm$ 7.8	59.0 $\pm$ 7.6	61.4 $\pm$ 7.5	60.7 $\pm$ 7.4	0.166	<0.0001	0.583
BMI (kg/m ²) *	21.1 (18.9–23.5)	20.9 (18.8–23.2)	21.9 (19.6–24.4)	21.6 (19.4–24.2)	0.033	<0.0001	0.954
%FM (%)	23.3 $\pm$ 5.4	21.7 $\pm$ 5.7	24.5 $\pm$ 5.4	23.4 $\pm$ 5.4	0.079	<0.0001	0.128
FM (kg)	14.3 $\pm$ 5.1	13.2 $\pm$ 5.2	15.4 $\pm$ 5.0	14.5 $\pm$ 4.9	0.124	<0.0001	0.379
FFM (kg)	45.5 $\pm$ 3.2	46.0 $\pm$ 3.2	45.9 $\pm$ 3.2	46.2 $\pm$ 3.3	0.465	0.00002	0.235
TBW (kg)	33.3 $\pm$ 2.8	33.8 $\pm$ 2.4	33.6 $\pm$ 2.4	33.8 $\pm$ 2.4	0.589	0.002	0.318
TC (mg/dL)	170 $\pm$ 26	166 $\pm$ 26	170 $\pm$ 23	171 $\pm$ 28	0.514	0.380	0.068
TGL (mg/dL) *	75.9 (52.6–109.7)	77.4 (52.1–115.2)	74.1 (52.4–104.9)	79.2 (58.4–107.3)	0.719	0.175	0.847

Table 2. Cont.

Parameter	Ala54/Ala54 (n = 80)		Ala54/Thr54r + Thr54/Thr54 (n = 88)		Genotype <i>p</i>	Training <i>p</i>	Genotype × Training Interaction <i>p</i>
	Pre	Post	Pre	Post			
HDL-C (mg/dL)	63.7 ± 12.1	59.2 ± 12.9	66.6 ± 14.5	63.3 ± 13.9	0.063	0.000005	0.436
LDL-C (mg/dL)	90.2 ± 23.3	89.9 ± 23.5	87.2 ± 20.5	91.3 ± 23.7	0.798	0.218	0.147
Glucose(mg/dL)	78.1 ± 10.2	74.9 ± 9.7	78.3 ± 9.4	76.2 ± 10.5	0.579	0.001	0.498

Mean ± SD; * geometric mean (antilog of the log data), in brackets—antilog of the log mean + log SD and log mean–log SD; BMI—body mass index; %FM—fat mass percentage; FM—fat mass; FFM—fat free mass; TBW—total body water; TC—total cholesterol; TGL—triglycerides; HDL-C—high density lipoprotein cholesterol, LDL-C—low density lipoprotein cholesterol; the level of statistical significance was set at $p < 0.05$.

Instead, we found a main effect of genotype on BMI ($F(1,166) = 4.63$, $p = 0.033$, $\eta^2 = 0.027$) only under the dominant model. The Fisher's least significant difference test was significant at baseline (Ala54/Thr54 + Thr54/Thr54, 21.9 (19.6–24.4) vs Ala54/Ala54, 21.1 (18.9–23.5); $p = 0.023$) and at the end (Ala54/Thr54 + Thr54/Thr54, 21.6 (19.4–24.2) vs Ala54/Ala54, 20.9 (18.8–23.2); $p = 0.033$). No significant associations were found when other underlying genetic models were assumed.

4. Discussion

A number of papers focusing on physical activity behavior and exercise intolerance, cardiorespiratory fitness and endurance performance, muscular strength and power, body weight and adiposity, lipid and lipoprotein metabolism, glucose and insulin metabolism, as well as hemodynamic traits, have revealed genetic markers influencing the functional response of human body to regular physical activities [2,19]. One of the proposed genes associated with obesity, and with potential significance on the body's adaptive response to training in healthy individuals, is *FABP2*.

Although the present study of Caucasian women demonstrated changes of many selected body mass measurements and biochemical parameters of energy metabolism, such as body mass, BMI, FM, FFM, %FM, TBW, HDL-C, and glucose levels during the 12-week training program, none of the selected parameters changed significantly across *FABP2* genotypes (genotype × training interaction). Another important finding of the data is the identification of a statistically significant association between BMI and *FABP2* genotype. Carriers of the Thr54 variant of *FABP2* had a higher BMI during the entire study period compared with the Ala54 carriers, suggesting that the Thr54 allele is a risk allele involved in excess body weight in Caucasian females. Some genotype effects may be evident only in Thr54/Thr54 homozygotes. Unfortunately, we had insufficient Thr54 homozygotes to analyze separately, which may affect our results.

Many studies have generally focused on the role of the intestinal *FABP2* in the absorption, transport, and metabolism of saturated and unsaturated long-chain fatty acids [7–9]. Darimont et al., (2000) showed that a high level of *FABP2* expressed in a differentiated enterocyte model inhibits incorporation of fatty acid, but the mechanism is still unknown [10]. Additionally, animal model experiments revealed that *Fabp2* null (*Fabpi*−/−) mice show changes in body weight and are hyperinsulinemic. Male *Fabpi*−/− mice had higher plasma TGL and body weight regardless of the fat content in their diet. In contrast, female *Fabpi*−/− mice gained less weight in response to a high-fat diet. The studies on *Fabpi*−/− mice and human Ala54Thr polymorphism suggest that *FABP2* is not a direct part of fatty acid absorption but may act as a lipid-sensing component of energy homeostasis that modifies body weight gain in a gender-dependent fashion [20]. However, the exact physiological role of the protein has never been revealed clearly.

While the excess absorption of saturated and unsaturated long-chain fatty acids during sedentary state is considered as a risk factor for obesity, in trained participants this condition may give additional advantage for endurance performance, as suggested by Nasibulina et al. [21], who demonstrated that Thr54 allele frequency was significantly

higher in elite Russian endurance (50.0%) and combat (46.2%) athletes compared to controls (32.2%). This is in line with a previous study showing that increased availability of free fatty acids, following a high-fat diet, may provide for increased oxidative potential as evidenced by a growth in VO_2max and a decreased running time in trained runners [22].

The possible relationship between the Ala54Thr polymorphism and BMI, a measure widely accepted as an index for identifying human overweight and obesity, have been widely described; however, the obtained results are so far conflicting and inconclusive [23]. Fisher et al., (2006) showed that German women with the Thr54 allele have higher BMI and suggested that the Thr54 allele is an effect-modifier for BMI in females [13]. These results are supported by Khattab et al., (2017) who indicated that both the Ala54/Thr54 heterozygotes and carriers of the rare Thr54/Thr54 genotype had significantly higher BMI among an Egyptian population [24]. The presence of the Thr54/Thr54 homozygotes was also significantly associated with obesity in a study of 430 Caucasians of Greek ethnic origin. Here, Tavridou et al., (2009) suggested that the *FABP2* Ala54Thr polymorphism may help identify Caucasian participants at risk for obesity [25]. Additionally, our study confirmed this association in Polish women. Conversely, several studies do not support the relationship between the *FABP2* Ala54Thr polymorphism and BMI. A meta-analysis including 27 studies with 10 974 participants revealed a lack of association between the polymorphism and BMI across populations. Zhao et al., (2011) also analyzed subgroups stratified by ethnicity, gender, health condition but again detected no statistically significant differences [26].

Numerous investigators have also looked for associations between the specific *FABP2* genotype and a variety of biochemical parameters [7,16,24,27–29]. Previously, Baier et al., (1995) revealed that the Thr54-containing protein may increase absorption and/or processing of fatty acids in the intestine, therefore increasing fat oxidation. This has been demonstrated to decrease insulin action, resulting in insulinemia, along with increased LDL-C, TC, and TGL [7]. In a meta-analysis of 30 studies with 14,401 participants, the Thr54/Thr54 genotype was strongly associated with increased TC and LDL-C levels, as well as decreased HDL-C levels [16]. Khattab et al., (2017) confirmed that carriers of the Thr54/Thr54 genotype had decreased HDL-C concentrations [24]. Conversely, some studies have reported that lipid profiles do not significantly differ based on *FABP2* genotype [27,28]. A study performed on the Finnish population indicated that fasting serum insulin, glucose, lipids and lipoprotein concentrations, BMR, respiratory quotient, glucose and lipid oxidation levels did not vary among the genotypes [28]. Similar to our results, Kops et al., (2017) described that Thr54 allele carriers showed higher BMI, but with similar lipid profiles in both carriers and noncarriers [29]. A study performed on 111 nondiabetic obese participants following an enriched polyunsaturated fatty acids hypocaloric diet, De Luis et al., (2012) reported no differences in basal values of insulin, glucose, TGL, or LDL-C between genotypes. However, participants with the Thr54 allele demonstrated an improvement in TC, LDL-C, and insulin levels following weight loss [27]. Similarly, Martinez-Lopez et al., (2013) showed that dietary modification through limitation of saturated fat intake significantly decreases BMI, waist-to-hip ratio, waist circumference, and CRP in Thr54 allele carriers [17]. We did not confirm the association between the specific *FABP2* genotype and different post-training changes of selected body composition measurements, lipid profile, and glucose levels. Our findings are consistent with Han (2013), who described that 12-week regular aerobic exercise training may beneficially prevent obesity-related traits; however, none of the examined parameters changed significantly across the *FABP2* genotypes [15]. Additionally, fasting blood lipids, such as TC, HDL-C, and TGL levels, were not affected significantly by the related effects of the *FABP2* Ala54Thr genotype and cardiorespiratory fitness in 837 Japanese participants [30].

The gender-specific effects of the functional influence of the *FABP2* Ala54Thr polymorphism may explain these conflicting results [13,31]. Fisher et al., (2006) reported an important association of the polymorphism with higher BMI and decreased risk of type 2 diabetes only in German female participants [13]. Nakanishi et al., (2004) described that,

amongst non-obese women, BMI was higher in the Thr54 carriers [31], which is consistent with our findings. Unfortunately, the presented study included only women, because men did not report to our experiment, and, as a result, we could not examine these dependences. Variation in ethnicities, physical activity, diet, methodology, as well as different statistical approaches in respect to risk ratio estimation, such as pooling homozygous and heterozygous individuals, may also affect results. Additionally, dietary lipid intake is a key determinant of blood cholesterol levels; therefore, differences in lipid intake among different cultures may partly explain the inconclusive results obtained in the mentioned studies [30].

5. Conclusions

Our results confirm that the *FABP2* Ala54Thr polymorphism may help identify Caucasian participants at risk for obesity. Carriers of the Thr54 variant had a higher BMI during the entire study period compared with the Ala54 carriers, suggesting that the Thr54 allele is a risk allele involved in body weight excess in Caucasian females. However, whilst many body composition parameters, lipid profile, and glucose levels changed significantly during the 12-week training program, we did not find evidence of the association between the *FABP2* Ala54Thr polymorphism and physical activity on the examined parameters.

Author Contributions: Conceptualization, A.L.-D.; methodology, A.L.-D. and K.Ś.; formal analysis, K.Ś. and E.M.; investigation, A.L.-D. and K.Ś.; resources, A.L.-D., K.Ś. and E.M.; data curation, M.B.; writing—original draft preparation, A.L.-D., I.I.A., C.P. and M.M.; writing—review and editing, A.L.-D. and K.Ś.; supervision, A.M., I.I.A., C.P. and M.M.; funding acquisition, E.M. and A.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The study was financed by the Ministry of Science and Higher Education in 2020/2022 as part of the Scientific School of the Academy of Physical Education in Warsaw—SN No. 5 “Biomedical determinants of physical fitness and sports training in adult population”.

Institutional Review Board Statement: The Ethics Committee of the Regional Medical Chamber in Szczecin (approval number 09/KB/IV/2011 and 01/KB/VI/2017) approved the study. The investigation protocols were conducted ethically according to the World Medical Association Declaration of Helsinki and to the Strengthening the Reporting of Genetic Association studies statement (STREGA).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy/ethical restrictions.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

- Rankinen, T.; Bouchard, C. Gene–Physical Activity Interactions: Overview of Human Studies. *Obesity* **2008**, *16*, S47–S50. [\[CrossRef\]](#)
- Leońska-Duniec, A.; Ahmetov, I.I.; Zmijewski, P. Genetic Variants Influencing Effectiveness of Exercise Training Programmes in Obesity—An Overview of Human Studies. *Biol. Sport* **2016**, *33*, 207–214. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Li, S.; Zhao, J.H.; Luan, J.; Ekelund, U.; Luben, R.N.; Khaw, K.-T.; Wareham, N.J.; Loos, R.J.F. Physical Activity Attenuates the Genetic Predisposition to Obesity in 20,000 Men and Women from EPIC-Norfolk Prospective Population Study. *PLoS Med.* **2010**, *7*, e1000332. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Deram, S.; Villares, S.M.F. Genetic Variants Influencing Effectiveness of Weight Loss Strategies. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* **2009**, *53*, 129–138. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Yengo, L.; Sidorenko, J.; Kempner, K.E.; Zheng, Z.; Wood, A.R.; Weedon, M.N.; Frayling, T.M.; Hirschhorn, J.; Yang, J.; Visscher, P.M. Meta-Analysis of Genome-Wide Association Studies for Height and Body Mass Index in ~700,000. *Hum. Mol. Genet.* **2018**, *27*, 3641–3649. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

6. Hertzfel, A.V.; Bernlohr, D.A. The Mammalian Fatty Acid-Binding Protein Multigene Family: Molecular and Genetic Insights into Function. *Trends Endocrinol. Metab.* **2000**, *11*, 175–180. [\[CrossRef\]](#)
7. Baier, L.J.; Sacchettini, J.C.; Knowler, W.C.; Eads, J.; Paolisso, G.; Tataranni, P.A.; Mochizuki, H.; Bennett, P.H.; Bogardus, C.; Prochazka, M. An Amino Acid Substitution in the Human Intestinal Fatty Acid Binding Protein Is Associated with Increased Fatty Acid Binding, Increased Fat Oxidation, and Insulin Resistance. *J. Clin. Investig.* **1995**, *95*, 1281–1287. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Lowe, J.B.; Sacchettini, J.C.; Laposata, M.; McQuillan, J.J.; Gordon, J.I. Expression of Rat Intestinal Fatty Acid-Binding Protein in Escherichia Coli. Purification and Comparison of Ligand Binding Characteristics with That of Escherichia Coli-Derived Rat Liver Fatty Acid-Binding Protein. *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 5931–5937. [\[CrossRef\]](#)
9. Baier, L.J.; Bogardus, C.; Sacchettini, J.C. A Polymorphism in the Human Intestinal Fatty Acid Binding Protein Alters Fatty Acid Transport across Caco-2 Cells. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 10892–10896. [\[CrossRef\]](#)
10. Darimont, C.; Gradoux, N.; Persohn, E.; Cumin, F.; De Pover, A. Effects of Intestinal Fatty Acid-Binding Protein Overexpression on Fatty Acid Metabolism in Caco-2 Cells. *J. Lipid Res.* **2000**, *41*, 84–92. [\[CrossRef\]](#)
11. Sweetser, D.A.; Birkenmeier, E.H.; Klisak, I.J.; Zollman, S.; Sparkes, R.S.; Mohandas, T.; Lusi, A.J.; Gordon, J.I. The Human and Rodent Intestinal Fatty Acid Binding Protein Genes. A Comparative Analysis of Their Structure, Expression, and Linkage Relationships. *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 16060–16071. [\[CrossRef\]](#)
12. Levy, E.; Ménard, D.; Delvin, E.; Stan, S.; Mitchell, G.; Lambert, M.; Ziv, E.; Feoli-Fonseca, J.C.; Seidman, E. The Polymorphism at Codon 54 of the FABP2 Gene Increases Fat Absorption in Human Intestinal Explants. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 39679–39684. [\[CrossRef\]](#)
13. Fisher, E.; Li, Y.; Burwinkel, B.; Kühr, V.; Hoffmann, K.; Möhlig, M.; Spranger, J.; Pfeiffer, A.; Boeing, H.; Schrezenmeier, J.; et al. Preliminary Evidence of FABP2 A54T Polymorphism Associated with Reduced Risk of Type 2 Diabetes and Obesity in Women from a German Cohort. *Horm. Metab. Res.* **2006**, *38*, 341–345. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Albala, C.; Santos, J.L.; Cifuentes, M.; Villarroel, A.C.; Lera, L.; Liberman, C.; Angel, B.; Pérez-Bravo, F. Intestinal FABP2 A54T Polymorphism: Association with Insulin Resistance and Obesity in Women. *Obes. Res.* **2004**, *12*, 340–345. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Han, T.K. Effects Ala54Thr Polymorphism of FABP2 on Obesity Index and Biochemical Variable in Response to a Aerobic Exercise Training. *J. Exerc. Nutr. Biochem.* **2013**, *17*, 209–217. [\[CrossRef\]](#)
16. Zhao, T.; Nzekebaloudou, M.; Lv, J. Ala54Thr Polymorphism of Fatty Acid-Binding Protein 2 Gene and Fasting Blood Lipids: A Meta-Analysis. *Atherosclerosis* **2010**, *210*, 461–467. [\[CrossRef\]](#)
17. Martinez-Lopez, E.; Garcia-Garcia, M.R.; Gonzalez-Avalos, J.M.; Maldonado-Gonzalez, M.; Ruiz-Madrigal, B.; Vizmanos, B.; Hernandez-Nazara, Z.; Roman, S.; Panduro, A. Effect of Ala54Thr Polymorphism of FABP2 on Anthropometric and Biochemical Variables in Response to a Moderate-Fat Diet. *Nutrition* **2013**, *29*, 46–51. [\[CrossRef\]](#)
18. Leńska-Duniec, A.; Jastrzębski, Z.; Zarębska, A.; Maciejewska, A.; Ficek, K.; Cieszczyk, P. Assessing Effect of Interaction between the FTO A/T Polymorphism (Rs9939609) and Physical Activity on Obesity-Related Traits. *J. Sport Health Sci.* **2018**, *7*, 459–464. [\[CrossRef\]](#)
19. Pérusse, L.; Rankinen, T.; Hagberg, J.M.; Loos, R.J.F.; Roth, S.M.; Sarzynski, M.A.; Wolfarth, B.; Bouchard, C. Advances in Exercise, Fitness, and Performance Genomics in 2012. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2013**, *45*, 824–831. [\[CrossRef\]](#)
20. Vassileva, G.; Huwyler, L.; Poirier, K.; Agellon, L.B.; Toth, M.J. The Intestinal Fatty Acid Binding Protein Is Not Essential for Dietary Fat Absorption in Mice. *FASEB J.* **2000**, *14*, 2040–2046. [\[CrossRef\]](#)
21. Nasibulina, E.S.; Borisova, A.V.; Akhmetov, I.I. Study on Association of FABP2 Gene Ala54Thr Polymorphism with Risk of Obesity, Body Fat Mass and Physical Activity. *Vopr. Pitan.* **2013**, *82*, 23–28.
22. Muoio, D.M.; Leddy, J.J.; Horvath, P.J.; Awad, A.B.; Pendergast, D.P. Effect of dietary fat on metabolic adjustments to maximal VO2 and endurance in runners. *Med. Sci. Sport Exerc.* **1994**, *26*, 81–88. [\[CrossRef\]](#)
23. Deurenberg, P.; Deurenberg-Yap, M.; Guricci, S. Asians Are Different from Caucasians and from Each Other in Their Body Mass Index/Body Fat per Cent Relationship. *Obes. Rev.* **2002**, *3*, 141–146. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Khattab, S.A.; Abo-Elmatty, D.M.; Ghattas, M.H.; Mesbah, N.M.; Mehanna, E.T. Intestinal Fatty Acid Binding Protein Ala54Thr Polymorphism Is Associated with Peripheral Atherosclerosis Combined with Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Diabetes* **2017**, *9*, 821–826. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Tavridou, A.; Arvanitidis, K.I.; Tiptiri-Kourpeti, A.; Petridis, I.; Ragia, G.; Kyroglou, S.; Christakidis, D.; Manolopoulos, V.G. Thr54 Allele of Fatty-Acid Binding Protein 2 Gene Is Associated with Obesity but Not Type 2 Diabetes Mellitus in a Caucasian Population. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2009**, *84*, 132–137. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Zhao, T.; Zhao, J.; Lv, J.; Nzekebaloudou, M. Meta-Analysis on the Effect of the Ala54Thr Polymorphism of the Fatty Acid-Binding Protein 2 Gene on Body Mass Index. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2011**, *21*, 823–829. [\[CrossRef\]](#)
27. De Luis, D.; Aller, R.; Izaola, O.; Sagrado, M.G.; De La Fuente, B.; Conde, R.; Primo, D. Effect of Fatty Acid-Binding Protein 2 Ala54Thr Genotype on Weight Loss and Cardiovascular Risk Factors after a High-Polyunsaturated Fat Diet in Obese Patients. *J. Investig. Med.* **2012**, *60*, 1194–1198. [\[CrossRef\]](#)
28. Sipiläinen, R.; Uusitupa, M.; Heikkinen, S.; Rissanen, A.; Laakso, M. Variants in the Human Intestinal Fatty Acid Binding Protein 2 Gene in Obese Subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1997**, *82*, 2629–2632. [\[CrossRef\]](#)
29. Kops, N.L.; Horvath, J.D.C.; de Castro, M.L.D.; Friedman, R. Anthropometric and Lipid Profile of Individuals with Severe Obesity Carrying the Fatty Acid-Binding Protein-2 Thr54 Allele. *Nutrition* **2017**, *41*, 45–50. [\[CrossRef\]](#)

-
30. Fujie, S.; Iemitsu, M.; Murakami, H.; Sanada, K.; Kawano, H.; Gando, Y.; Kawakami, R.; Miyachi, M. Higher Cardiorespiratory Fitness Attenuates Arterial Stiffening Associated with the Ala54Thr Polymorphism in FABP2. *Physiol. Genom.* **2013**, *45*, 237–242. [[CrossRef](#)]
 31. Nakanishi, S.; Yamane, K.; Kamei, N.; Okubo, M.; Kohno, N. The Effect of Polymorphism in the Intestinal Fatty Acid-Binding Protein 2 Gene on Fat Metabolism Is Associated with Gender and Obesity amongst Non-Diabetic Japanese-Americans. *Diabetes Obes. Metab.* **2004**, *6*, 45–49. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



Article

Impact of the *DRD2* Polymorphisms on the Effectiveness of the Training Program

Katarzyna Świtła^{1,*}, Aleksandra Bojarczuk¹, Jacek Hajto², Marcin Piechota², Maciej Buryta³
and Agata Leońska-Duniec¹

¹ Faculty of Physical Education, Gdansk University of Physical Education and Sport, 80-336 Gdansk, Poland; aleksbojar@gmail.com (A.B.); agata.leonska-duniec@awf.gda.pl (A.L.-D.)

² Laboratory of Pharmacogenomics, Department of Molecular Pharmacology, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, 31-343 Krakow, Poland; hajto@if-pan.krakow.pl (J.H.); marpiech@if-pan.krakow.pl (M.P.)

³ Institute of Physical Culture Sciences, University of Szczecin, 70-453 Szczecin, Poland; maciej.buryta@usz.edu.pl

* Correspondence: katarzyna.switala@awf.gda.pl

Abstract: Dopamine receptor D2 gene (*DRD2*) polymorphisms have been associated with cognitive abilities, obesity, addictions, and physical-activity-related behaviors, which may underlie differences in the effectiveness of training programs. What is not yet clear is the impact of *DRD2* polymorphisms on the effectiveness of exercise programs. Thus, the aim of this study was to investigate the association between the *DRD2* polymorphic sites (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, and rs1800498) and the body's response to regular physical activity. We studied genotypes and haplotypes distribution in a group of 165 females measured for body mass and body composition measurements, lipid profile, and glucose levels before and after realization of a 12-week training program. When tested individually, statistical analyses revealed one significant genotype by training interaction under the general model (for the basal metabolic rate, BMR, $p = 0.033$). Carriers of the rs1076560 CC genotype exhibited a decrease in BMR in response to training ($p = 0.006$). Haplotype analyses also showed that (i) the CACCC and CACTT haplotypes were associated with a post-training decrease in glucose level ($\beta = -4.11$, $p = 0.032$; $\beta = -6.86$, $p = 0.020$, respectively); (ii) the CGCCT with an increase in BMR ($\beta = 0.65$, $p = 0.003$) and fat free mass (FFM, $\beta = 1.20$, $p = 0.009$); (iii) the CA-CT with a decrease in low-density lipoprotein cholesterol (LDL, $\beta = -17.26$, $p = 0.046$). These results provide some evidence that the *DRD2* polymorphisms may play a role in post-training changes in lipid and carbohydrate metabolism, and, as a consequence, in the effectiveness of training programs.

Keywords: sports genetics; physical activity; *DRD2* polymorphisms; post-training effects; obesity-related traits; Caucasian women



Citation: Świtła, K.; Bojarczuk, A.; Hajto, J.; Piechota, M.; Buryta, M.; Leońska-Duniec, A. Impact of the *DRD2* Polymorphisms on the Effectiveness of the Training Program. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2022**, *19*, 4942. <https://doi.org/10.3390/ijerph19094942>

Academic Editor: Eduarda Sousa-Sá

Received: 21 February 2022

Accepted: 17 April 2022

Published: 19 April 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Since the discovery of the physiological functions of dopamine (DA; 3,4-dihydroxy-phenylethylamine) in 1957 [1], this catecholamine neurotransmitter and its receptors have attracted the attention of many scientists from around the world. DA is synthesized from the amino acid tyrosine (Tyr), and generally acts on neuronal circuitry via a rather slow modulation of the fast neurotransmission that is mediated by glutamate and gamma-aminobutyric acid (GABA) [2,3].

DA in the brain is involved in numerous key central nervous system (CNS) functions, including motivation, feeding, stress tolerance, reward system, sleep regulation, attention, self-control, working memory, and learning [2,3]. In the periphery, DA plays essential physiological roles in the control of olfaction, retinal processes, cardiovascular functions, hormonal regulation, sympathetic regulation, and the immune system, among others [3]. Additionally, its impact on physical-activity-related behaviors was described in animal and

human studies. More specifically, DA is engaged in the development of fatigue, which leads to a reduction in exercise intensity or its interruption, through the modulation of circuits linked to motor control and tolerance to heat stress, as well as the previously mentioned motivation and reward system [2,4–6].

DA acts through five distinct membrane receptors, which belong to the family of seven-transmembrane domain G protein-coupled receptors. Based on their structural, biochemical, and pharmacological properties, the DA receptors (DRDs) were divided into two subtypes: D1-like (DRD1 and DRD5) and D2-like (DRD2, DRD3, and DRD4). These receptors, respectively, stimulate and inhibit adenylyl cyclase, thereby regulating intracellular levels of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) [7]. DRD2s are highly expressed in the striatum and pituitary gland. The deficiency of these receptors has been associated with decreased locomotor activity, increased prevalence of obesity, and the modification of the electrophysiological characteristics of DRD2-expressing neurons, among others [8–10]. Thus, these receptors play a key role at the postsynaptic level, in addition to acting as autoreceptors, in regulating of synthesis and release of DA [9].

The human *DRD2* gene is localized on the long arm of chromosome 11 at the q23.2 locus, and involves an area of 65.56 kb [11,12]. By the mechanism of alternative splicing, two main molecularly and functionally distinct isoforms (a short variant—D2S and a long variant—D2L) are generated [9]. Numerous single nucleotide polymorphisms (SNPs) are localized within the gene, which is important for the modulation of central nervous dopaminergic signaling. We selected five functional *DRD2* polymorphic sites (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, and rs1800498) which are considered to alter expression, splicing, and/or neuronal activity. Detailed characteristics of selected SNPs are presented in Table 1 [13–17].

Table 1. Characteristics of the studied *DRD2* polymorphic sites.

<i>DRD2</i> Polymorphisms			
Variant	Position in the Gene	Reported Functional Consequences at the Molecular Level	Reported Clinical Associations
rs1076560; A/C	Intron 6	Affects alternative splicing: the A allele reduces the formation of D2S in favor of D2L.	The A allele: - higher risk of alcoholism, drug abuse, non-small cell lung cancer, schizophrenia; - reduced performance in working memory and maintaining attention.
rs12364283; A/G	Promoter	Affects allelic mRNA expression: the G allele confers higher transcriptional activity.	The G allele: - increased risk of binge eating disorder, symptoms of schizophrenia, response to stressful situations, better working memory; - decreased risk of autism, obesity and insulin resistance, alcoholism, and drug addiction.
rs1799732; −141C Ins/Del	Promoter	Affects allelic mRNA expression: the C-del allele reduced promoter activity which results in decreased protein expression.	The C-del allele: - higher risk of overweight/obese; - antipsychotic-induced weight gain in schizophrenia.
rs1800497; TaqIA; C/T; Glu713Lys	10.5 kb downstream of <i>DRD2</i> in ankyrin repeat and kinase domain containing-1 gene (<i>ANKK1</i>)	Altered substrate bindingspecificity and D2R expression: AA and GA reduced D2R densities.	The AA and GA genotypes: - improvements in the working memory training program; - higher risk of obesity, alcohol, nicotine and drug addiction, emotional eating habits, and certain neuropsychiatric disorders.
rs1800498; TaqID; C/T	Intron 2	Affects allelic mRNA expression.	The T allele: - higher risk of autism spectrum disorders, schizophrenia, alcohol and nicotine addiction.

In light of the above-mentioned findings suggesting that the *DRD2* variants are associated with cognitive abilities, obesity phenotypes, and physical-activity-related behaviors, among others, *DRD2* is a candidate gene related to the body's training response. These associations are mainly confirmed in females [18]. However, the potential impact of the *DRD2* polymorphisms on the effectiveness of fitness programs is still unclear. Therefore, the study aimed to determine whether the selected *DRD2* polymorphic sites (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, and rs1800498), individually or in haplotype combination, would influence the post-training changes of selected body mass and body composition measurements, as well as biochemical parameters (lipid profile and glucose levels). To investigate the potential association between SNPs and physical outcomes, we assessed the genotypes and haplotypes distribution in Caucasian females taking part in a 12-week aerobic training program. Selected body mass and body composition, as well as biochemical parameters, were measured before and after the completion of the training program.

2. Materials and Methods

2.1. Ethics Statement

The experimental protocols were positively verified by The Ethics Committee of the Regional Medical Chamber in Szczecin (no. 09/KB/IV/2011 and 01/KB/VI/2017), and were conducted according to the World Medical Association Declaration of Helsinki and Strengthening the Reporting of Genetic Association studies statement (STREGA). Participants qualified for the research received an information sheet about the aim of the study, procedures used, benefits and risks, and gave a written consent form. Pseudonymization was used as the data protection method.

2.2. Participants

Caucasian women of Polish nationality ($n = 165$; age: 21 ± 1 years; body mass: 61 ± 2 kg; body height: 168 ± 2 cm) were selected for the study. The inclusion criteria were as follows:

- low level of physical activity self-reported with the use of the Global Physical Activity Questionnaire;
- no metabolic, neuromuscular, or musculoskeletal disorders;
- refrained from using medications and supplements;
- nonsmokers.

2.3. Dietary Program

The women participated in a dietary program, and were asked to keep a balanced diet based on their dietary plan, which was established during a nutritional appointment. The meeting included a recommendation and a prescription for a proper diet matched with nutritional status and individual energy needs. The average daily macronutrient ratio was recommended (expressed as a percentage of total calories): 45–65% from carbohydrates, 10–20% from protein, and 20–35% from fat (decreasing the intake of saturated fats, and increasing the intake of unsaturated fats). The participants were also advised to keep a daily cholesterol intake of less than 300 mg, with a minimum dietary fiber intake of 25 g. The women wrote down their daily food and drink consumption during the program. Their diet was assessed at weekly consultations.

2.4. Training Phase

The experimental training sessions were preceded by a week-long familiarization stage (3 training units, 30 min each, at ~50% of HRmax). Each proper training session included a warm-up (10 min), aerobic exercise (a combination of two styles, including high and low impact; 43 min), and a cool-down phase (breathing–relaxing exercise with stretching; 7 min). The high-impact style contained running, jumping, and hopping. The low-impact style included movements with at least 1 foot on the floor at all times. A 12-week program of low–high impact aerobics was divided as follows:

- 3 weeks (9 training units), 60 min each, at 50–60% of HRmax, tempo 135–140 BPM;
- 3 weeks (9 training units), 60 min each, at 60–70% of HRmax, tempo 140–152 BPM;
- 3 weeks (9 training units), 60 min each, at 65–75% of HRmax, tempo 145–158 BPM;
- 3 weeks (9 training units), 60 min each, at 65–80% of HRmax, tempo 145–160 BPM.

More detailed information on the training phase is presented by Leońska-Duniec et al. [19]. The adherence rate to the exercise program was 80%.

2.5. Body Composition Measurements

The selected body mass and body composition variables were measured before and after the realization of a 12-week training program. They were assessed using the bioimpedance method, which was performed using electronic scale Tanita TBF 300 M (Arlington Heights, IL, USA) as described by Leońska-Duniec et al. [19]. The following parameters were noted:

- total body mass (BM; kg);
- body mass index (BMI; kg/m²);
- basal metabolic rate (BMR; kcal);
- fat mass (FM; kg);
- fat free mass (FFM; kg);
- fat mass percentage (%FM; %);
- total body water (TBW; kg).

2.6. Biochemical and Hematological Analyses

Fasting blood samples were obtained from the elbow vein in the morning, before and after the training program. The biochemical and hematological analyses were performed as described earlier [19], immediately after blood collection. The parameters obtained using the Random Access Automatic Biochemical Analyzer for Clinical Chemistry and Turbidimetry A15 (BioSystems S.A., Barcelona, Spain) were:

- total cholesterol (TC, mg/dL);
- triglycerides (TGL, mg/dL);
- high-density lipoprotein cholesterol (HDL, mg/dL);
- low-density lipoprotein cholesterol (LDL, mg/dL);
- glucose (mg/dL).

2.7. Genetic Analyses

A GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma, Steinheim, Germany) was used for the extraction of genomic DNA from the buccal cells according to the manufacturer's protocol. An allelic discrimination assay on a C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad, Feldkirchen, Germany) instrument with TaqMan[®] probes was used to genotype all samples. To discriminate *DRD2* rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, and rs1800498 alleles, TaqMan[®] Pre-Designed SNP Genotyping Assays were used (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) (assay ID: C_2278888_10, C_31503501_10, C_33641686_10, C_7486676_10, and C_2601166_10, respectively). The assays contained primers and fluorescently-labeled (FAM and VIC) minor groove binder (MGB) probes to detect alleles.

2.8. Statistical Analyses

All statistical analyses were performed in R (<https://cran-r.project.org>, accessed on 18 October 2021, version 4.1.0). An HWChisq function from Hardy–Weinberg v. 1.7.4 R package was used to test for the Hardy–Weinberg equilibrium. No variants violating HW equilibrium were found. To check the influence of the *DRD2* rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, and rs1800498 polymorphisms on training response, the mixed 2 × 2 ANOVA with one between-subject factor (genotype) and one within-subject factor (time: before training vs. after training) was used. Additionally, for a parameter with statistically significant interaction, a normality Kolmogorov–Smirnov test and one-way ANOVA for a

simple main effect of each variable with Bonferroni correction as post hoc analysis were performed. Haplotype analysis was conducted with haplo.stats v. 1.8.7 R package and haplo.glm regression function. Percentage change overtraining was used as the dependent variable, whereas the *DRD2* haplotypes were used as the independent variables. The level of statistical significance was set at $p < 0.05$.

3. Results

All variants conformed to Hardy–Weinberg equilibrium ($p = 0.946$, $p = 0.206$, $p = 0.183$, $p = 0.504$, $p = 0.674$, for the rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, and rs1800498, respectively). Tables 2–6 present the results of the analysis of the training responses by the *DRD2* genotypes using a mixed 2×2 ANOVA. The majority of studied parameters altered significantly during training; however, these changes did not differ concerning the *DRD2* genotypes. We found only one statistically significant genotype by training interaction under the general model (for the BMR, $p = 0.033$, Table 2). Carriers of the *DRD2* rs1076560 CC genotype exhibited a significant ~0.5% decrease in BMR in response to applied training ($p = 0.006$ with Bonferroni correction). However, under the dominant model, no significant genotype $\times$ training interactions were found.

Reconstruction of haplotypes revealed 8 haplotypes with frequency $> 1\%$. The most common (a baseline haplotype) was CACCT (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, and rs1800498, respectively). We found a significant association of four haplotypes CACCC, CACTT, CGCCT, and CA-CT (Table 7). The CACCC and CACTT haplotypes were associated with a greater decrease in glucose ($\beta = -4.11$, $p = 0.032$; $\beta = -6.86$, $p = 0.020$, respectively) compared with the baseline haplotype. The CGCCT haplotype was associated with a greater increase compared with a baseline haplotype in BMR ($\beta = 0.65$, $p = 0.003$) and FFM ($\beta = 1.20$, $p = 0.009$), whereas the CA-CT was associated with a greater decrease in LDL ($\beta = -17.26$, $p = 0.046$).

Table 2. Training responses by *DRD2* rs1076560 genotypes.

Parameter	DRD2 rs1076560 Genotypes						<i>p</i> Values			
	AA (<i>n</i> = 6)		CA (<i>n</i> = 49)		CC (<i>n</i> = 110)		Genotype	Training	Genotype × Training	Genotype × Training AA + CA vs. CC
	Before Training	After Training	Before Training	After Training	Before Training	After Training				
Body mass (kg)	60.43 ± 6.08	58.8 ± 5.63	60.86 ± 7.59	60.17 ± 7.6	60.52 ± 7.89	59.8 ± 7.73	0.945	0.000	0.379	0.793
BMI (kg/m ²)	21.7 ± 2.68	21.13 ± 2.48	21.37 ± 2.11	21.19 ± 2.06	21.71 ± 2.58	21.48 ± 2.54	0.747	0.000	0.228	0.983
BMR (kJ)	6081 ± 261.78	5926.67 ± 206.31	6082.18 ± 336.36	6053.41 ± 326.79	6043.97 ± 330.64	6009.3 ± 319.92	0.730	0.000	0.033	0.678
%FM (%)	24.5 ± 7.65	21.58 ± 7.02	23.62 ± 5.47	22.41 ± 5.97	23.93 ± 5.41	22.65 ± 5.48	0.956	0.000	0.207	0.752
FM (kg)	14.9 ± 5.78	13 ± 5.24	14.73 ± 5	13.84 ± 5.2	14.85 ± 5.16	13.94 ± 5.16	0.974	0.000	0.344	0.747
FFM (kg)	45.17 ± 2.04	46.02 ± 1.65	46.15 ± 3.32	46.43 ± 3.44	45.54 ± 3.23	46.01 ± 3.28	0.620	0.005	0.508	0.570
TBW (kg)	32.88 ± 1.64	33.67 ± 1.34	34.01 ± 2.77	34.06 ± 2.5	33.26 ± 2.55	33.7 ± 2.45	0.388	0.042	0.204	0.187
TC (mg/dL)	160.83 ± 21.05	155.33 ± 22.63	167.59 ± 28.79	166.51 ± 32.44	171.15 ± 23.01	169.38 ± 24.99	0.392	0.374	0.888	0.954
TGL (mg/dL)	81.5 ± 24.17	73.33 ± 25.66	71.39 ± 23.68	81.69 ± 35.49	84.16 ± 35.49	84.95 ± 35.72	0.268	0.842	0.173	0.173
HDL (mg/dL)	68.73 ± 26.52	62.52 ± 17.44	65.56 ± 13.22	59.67 ± 13.96	64.66 ± 12.44	61.52 ± 13.26	0.851	0.002	0.296	0.118
LDL (mg/dL)	75.67 ± 14.57	78.15 ± 11.16	87.69 ± 23.32	90.5 ± 27.92	89.57 ± 21.27	90.87 ± 22.01	0.298	0.457	0.904	0.655
Glucose (mg/dL)	77.67 ± 6.98	68.83 ± 8.33	79.16 ± 8.63	75.37 ± 9.19	77.88 ± 10.54	76 ± 10.58	0.561	0.001	0.178	0.143

Mean ± standard deviation; *p* values (ANOVA) for main effects (genotype and training) and genotype × training interaction; bold *p* values—statistically significant differences (*p* < 0.05).

Table 3. Training responses by *DRD2* rs12364283 genotypes.

Parameter	DRD2 rs12364283 Genotypes						<i>p</i> Values			
	AA (<i>n</i> = 147)		GA (<i>n</i> = 16)		GG (<i>n</i> = 2)		Genotype	Training	Genotype × Training	Genotype × Training GG + GA vs. AA
	Before Training	After Training	Before Training	After Training	Before Training	After Training				
Body mass (kg)	60.62 ± 7.9	59.85 ± 7.79	60.61 ± 6.36	60.08 ± 6.17	60.45 ± 4.74	60.1 ± 4.53	0.998	0.174	0.801	0.516
BMI (kg/m ²)	21.61 ± 2.51	21.39 ± 2.47	21.82 ± 1.86	21.53 ± 1.8	20.05 ± 0.78	19.95 ± 0.64	0.652	0.117	0.816	0.692
BMR (kJ)	6056.8 ± 336.52	6020.04 ± 325.18	6053.5 ± 278.96	6008.69 ± 274.83	6072 ± 203.65	6057.5 ± 195.87	0.989	0.265	0.926	0.869
%FM (%)	23.83 ± 5.59	22.45 ± 5.74	24.33 ± 4.8	23.23 ± 5.24	22.65 ± 3.46	23.25 ± 2.05	0.905	0.269	0.431	0.415
FM (kg)	14.81 ± 5.24	13.83 ± 5.29	15.04 ± 4.02	14.28 ± 4.04	13.75 ± 3.18	14 ± 2.26	0.961	0.228	0.515	0.420

Table 3. Cont.

Parameter	DRD2 rs12364283 Genotypes						<i>p</i> Values			
	AA (<i>n</i> = 147)		GA (<i>n</i> = 16)		GG (<i>n</i> = 2)		Genotype	Training	Genotype × Training	Genotype × Training GG + GA vs. AA
	Before Training	After Training	Before Training	After Training	Before Training	After Training				
FFM (kg)	45.69 ± 3.28	46.15 ± 3.36	45.75 ± 2.93	45.98 ± 2.63	46.7 ± 1.56	46.1 ± 2.26	0.975	0.925	0.403	0.299
TBW (kg)	33.46 ± 2.67	33.82 ± 2.5	33.51 ± 2.14	33.69 ± 1.9	34.2 ± 1.13	33.75 ± 1.63	0.979	0.928	0.647	0.471
TC (mg/dL)	168.59 ± 24.91	167.84 ± 27.48	177.31 ± 22.47	169.06 ± 28.27	192 ± 19.8	173 ± 11.31	0.528	0.078	0.201	0.098
TGL (mg/dL)	80.12 ± 32.77	84.04 ± 36.46	81.25 ± 32.42	78.31 ± 24.42	83.5 ± 9.19	90.5 ± 16.26	0.930	0.752	0.729	0.490
HDL (mg/dL)	64.79 ± 13.2	60.83 ± 13.61	65.11 ± 13.01	60.51 ± 12.93	85.95 ± 2.9	78.25 ± 5.3	0.087	0.048	0.870	0.716
LDL (mg/dL)	87.7 ± 21.74	90.19 ± 23.53	95.81 ± 21.95	92.95 ± 25.87	89.05 ± 21.28	76.85 ± 19.59	0.546	0.404	0.362	0.199
Glucose (mg/dL)	78.4 ± 10.05	75.67 ± 10.39	77.88 ± 7.44	76 ± 6.23	70.5 ± 16.26	63.5 ± 16.26	0.264	0.134	0.795	0.909

Mean ± standard deviation; *p* values (ANOVA) for main effects (genotype and training) and genotype × training interaction; bold *p* values—statistically significant differences (*p* < 0.05).

Table 4. Training responses by DRD2 rs1799732 genotypes.

Parameter	DRD2 rs1799732 Genotypes				<i>p</i> Values		
	C (-) (<i>n</i> = 38)		CC (<i>n</i> = 127)		Genotype	Training	Genotype × Training
	Before Training	After Training	Before Training	After Training			
Body mass (kg)	60.78 ± 7.34	59.84 ± 7.11	60.57 ± 7.84	59.89 ± 7.76	0.956	0.000	0.391
BMI (kg/m ²)	21.58 ± 2.11	21.32 ± 1.92	21.62 ± 2.55	21.4 ± 2.53	0.893	0.000	0.595
BMR (kJ)	6068.74 ± 310.58	6023.82 ± 311.16	6053.06 ± 335.31	6018.07 ± 321.59	0.856	0.000	0.636
%FM (%)	24.02 ± 4.84	22.78 ± 4.5	23.82 ± 5.68	22.47 ± 5.97	0.800	0.000	0.796
FM (kg)	14.9 ± 4.64	13.96 ± 4.47	14.79 ± 5.25	13.85 ± 5.34	0.911	0.000	0.996
FFM (kg)	45.67 ± 3.14	45.93 ± 3.18	45.71 ± 3.25	46.2 ± 3.31	0.792	0.002	0.332
TBW (kg)	33.44 ± 2.3	33.71 ± 2.45	33.48 ± 2.7	33.84 ± 2.43	0.844	0.018	0.731
TC (mg/dL)	170.45 ± 24.64	165.66 ± 25.41	169.5 ± 24.91	168.72 ± 27.92	0.811	0.154	0.302
TGL (mg/dL)	88.37 ± 43.07	83 ± 27.01	77.85 ± 28.29	83.73 ± 37.46	0.372	0.933	0.067

Table 4. Cont.

Parameter	DRD2 rs1799732 Genotypes				p Values		
	C (-) (n = 38)		CC (n = 127)		Genotype	Training	Genotype × Training
	Before Training	After Training	Before Training	After Training			
HDL (mg/dL)	61.69 ± 9.75	58.86 ± 11.88	66.09 ± 14.03	61.65 ± 14.01	0.114	0.000	0.420
LDL (mg/dL)	90.99 ± 21.26	90.19 ± 20.81	87.76 ± 21.93	90.33 ± 24.52	0.684	0.632	0.360
Glucose (mg/dL)	78.71 ± 10.27	73.87 ± 9.65	78.12 ± 9.78	76.06 ± 10.28	0.619	0.000	0.140

Mean ± standard deviation; p values (ANOVA) for main effects (genotype and training) and genotype × training interaction; bold p values—statistically significant differences ($p < 0.05$).

Table 5. Training responses by DRD2 rs1800497 genotypes.

Parameter	DRD2 rs1800497 Genotypes						p Values			
	C/T (n = 57)		CC (n = 103)		TT (n = 5)		Genotype	Training	Genotype × Training	Genotype × Training TT + CT vs. CC
	Before Training	After Training	Before Training	After Training	Before Training	After Training				
Body mass (kg)	60.55 ± 7.93	59.78 ± 7.75	60.64 ± 7.69	59.96 ± 7.63	60.84 ± 6.71	59.32 ± 6.13	0.993	0.000	0.514	0.558
BMI (kg/m ²)	21.36 ± 2.19	21.12 ± 2.04	21.73 ± 2.57	21.52 ± 2.57	21.96 ± 2.91	21.42 ± 2.66	0.612	0.000	0.366	0.524
BMR (kJ)	6067.28 ± 350.35	6031.6 ± 339.09	6050.59 ± 321.28	6017.22 ± 311.69	6060.8 ± 287.41	5925 ± 230.61	0.910	0.000	0.140	0.569
%FM (%)	23.89 ± 5.49	22.45 ± 5.63	23.85 ± 5.4	22.63 ± 5.61	23.76 ± 8.31	21.58 ± 7.85	0.973	0.000	0.572	0.427
FM (kg)	14.85 ± 5.13	13.75 ± 5.15	14.81 ± 5.08	13.98 ± 5.16	14.58 ± 6.4	13.18 ± 5.84	0.973	0.000	0.491	0.259
FFM (kg)	45.71 ± 3.32	46.07 ± 3.24	45.7 ± 3.24	46.16 ± 3.37	45.82 ± 1.41	46.4 ± 1.52	0.989	0.024	0.840	0.651
TBW (kg)	33.66 ± 2.75	33.78 ± 2.36	33.37 ± 2.58	33.82 ± 2.52	33.32 ± 1.4	33.94 ± 1.3	0.951	0.079	0.352	0.217
TC (mg/dL)	168.21 ± 26.93	167.11 ± 30.24	170.92 ± 23.7	169.18 ± 25.74	162 ± 23.31	154.4 ± 25.18	0.500	0.301	0.804	0.974
TGL (mg/dL)	73.12 ± 24.7	81.65 ± 34.34	83.92 ± 35.96	84.91 ± 36.31	86.6 ± 23.14	77.6 ± 26.21	0.355	0.974	0.275	0.253
HDL (mg/dL)	66.08 ± 13.77	60.92 ± 15.05	64.18 ± 12	60.92 ± 12.51	72.12 ± 28.16	63.88 ± 19.14	0.593	0.001	0.387	0.217
LDL (mg/dL)	87.45 ± 21.82	89.88 ± 26.17	89.87 ± 21.84	91.27 ± 22.53	72.4 ± 13.61	75 ± 9.02	0.186	0.501	0.949	0.745
Glucose (mg/dL)	79 ± 8.49	75.05 ± 9.31	77.94 ± 10.71	76.23 ± 10.56	76.2 ± 6.69	67.2 ± 8.17	0.393	0.003	0.153	0.106

Mean ± standard deviation; p values (ANOVA) for main effects (genotype and training) and genotype × training interaction; bold p values—statistically significant differences ($p < 0.05$).

Table 6. Training responses by *DRD2* rs1800498 genotypes.

Parameter	DRD2 rs1800498 Genotypes						<i>p</i> Values		
	C/T (<i>n</i> = 78)		CC (<i>n</i> = 34)		TT (<i>n</i> = 53)		Genotype	Training	Genotype × Training
	Before Training	After Training	Before Training	After Training	Before Training	After Training			
Body mass (kg)	61.25 ± 7.78	60.47 ± 7.78	59.63 ± 6.28	58.96 ± 6.24	60.33 ± 8.44	59.59 ± 8.15	0.575	0.000	0.945
BMI (kg/m ²)	21.92 ± 2.5	21.7 ± 2.46	21.08 ± 1.78	20.87 ± 1.7	21.48 ± 2.69	21.24 ± 2.64	0.211	0.000	0.948
BMR (kJ)	6074.36 ± 334.49	6027.65 ± 324.7	6042.59 ± 278.89	6007.68 ± 256.45	6039.66 ± 353.95	6014.75 ± 348.48	0.885	0.000	0.554
%FM (%)	24.53 ± 5.58	23.09 ± 5.75	23.75 ± 5.06	22.23 ± 5.67	22.96 ± 5.56	21.92 ± 5.52	0.363	0.000	0.515
FM (kg)	15.41 ± 5.2	14.38 ± 5.2	14.38 ± 4.35	13.5 ± 4.71	14.24 ± 5.39	13.37 ± 5.35	0.420	0.000	0.844
FFM (kg)	45.79 ± 3.32	46.22 ± 3.54	45.2 ± 2.75	45.95 ± 2.53	45.91 ± 3.37	46.12 ± 3.34	0.783	0.000	0.160
TBW (kg)	33.66 ± 2.66	33.86 ± 2.59	33.06 ± 2.04	33.66 ± 1.85	33.45 ± 2.85	33.83 ± 2.55	0.724	0.001	0.384
TC (mg/dL)	171.08 ± 23.76	167.33 ± 26.88	162 ± 28.65	162.38 ± 29.85	172.66 ± 22.99	172.64 ± 25.98	0.135	0.517	0.497
TGL (mg/dL)	79.73 ± 35.01	79.18 ± 29.6	76.71 ± 29.9	84.29 ± 35.37	83.36 ± 30.33	89.55 ± 41.98	0.395	0.109	0.368
HDL (mg/dL)	65.77 ± 11.89	60.42 ± 13.39	62 ± 15.74	59.95 ± 12.89	66.02 ± 13.45	62.56 ± 14.34	0.473	0.000	0.290
LDL (mg/dL)	89.29 ± 21.45	91.08 ± 25.16	84.6 ± 23.78	85.64 ± 21.95	89.86 ± 20.98	92.13 ± 22.42	0.383	0.303	0.961
Glucose (mg/dL)	79.64 ± 10.17	76.65 ± 10.37	78.82 ± 8.42	73.47 ± 8.98	75.85 ± 10	75.26 ± 10.49	0.205	0.000	0.096

Mean ± standard deviation; *p* values (ANOVA) for main effects (genotype and training) and genotype × training interaction; bold *p* values—statistically significant differences (*p* < 0.05).

Table 7. Haplotype analysis with a relative change as the dependent variable, and haplotype and baseline value as independent variables.

Parameter	C/A/C/C/C		C/A/C/T/T		C/G/C/C/C		C/G/C/C/T		A/A/C/T/C		C/A/-/C/C		C/A/-/C/T	
	14.62%		1.79%		3.27%		1.77%		15.34%		6.90%		2.54%	
	coef	p	coef	p	coef	p	coef	p	coef	p	coef	p	coef	p
Body mass (kg)	0.0170	0.9673	−0.2562	0.7337	1.3757	0.2163	0.6695	0.1153	1.4922	0.2560	0.5591	0.5075	0.9027	0.3630
BMI (kg/m ²)	0.0842	0.8245	0.4673	0.4506	1.1705	0.2827	0.6478	0.0977	1.9021	0.0810	−0.0822	0.9116	0.5959	0.5129
BMR (kJ)	−0.1524	0.0000	0.0049	0.0000	0.3525	0.0000	0.2063	0.0000	−0.1967	0.0000	−0.2665	0.0000	0.2850	0.0000
FM (%)	−1.0129	0.5500	2.1964	0.3864	6.3480	0.1259	−0.6316	0.7126	3.6267	0.4817	0.1311	0.9695	6.0718	0.1242
Extent of fat mass (kg)	−0.8987	0.6534	2.1774	0.4781	6.2615	0.1952	1.1277	0.5759	−2.0462	0.7353	1.4107	0.7237	6.8413	0.1413
FFM (kg)	−0.0707	0.8753	−0.3929	0.5492	−1.1845	0.3160	1.1992	0.0093	0.1639	0.8889	−0.2564	0.7754	−1.3644	0.1861
TBW (kg)	−0.4526	0.5038	−1.1448	0.2426	0.4075	0.8098	0.6765	0.3204	−0.7086	0.6963	−0.6302	0.6468	−1.4940	0.3297
TC (mg/dL)	−1.2554	0.5265	−4.8291	0.1024	−0.2949	0.9510	0.4733	0.8127	−0.0521	0.9914	−0.5233	0.9028	−8.0054	0.0708
TGL (mg/dL)	−0.4640	0.9381	−7.0028	0.4185	−5.9037	0.6649	0.1760	0.9761	−15.4462	0.3171	−14.0280	0.2389	5.0381	0.7640
HDL (mg/dL)	−3.8704	0.1490	−0.3162	0.9365	−5.5992	0.3969	2.4488	0.3677	13.3063	0.0497	2.0698	0.7265	−0.2356	0.9718
LDL (mg/dL)	0.4191	0.9104	−6.6574	0.2144	2.6792	0.7631	−2.4015	0.5245	−8.9420	0.3162	1.9869	0.8058	−17.2637	0.0455
Glucose (mg/dL)	−4.1140	0.0318	−6.8617	0.0204	2.3896	0.6034	0.3082	0.8716	−5.1268	0.3511	−0.5601	0.8862	−8.1499	0.0773

Bold *p* values—statistically significant differences (*p* < 0.05).

4. Discussion

Systematic physical activity is one of the key factors for the prevention of lifestyle diseases, such as obesity. The number of people with overweight and obesity is growing worldwide; consequently, the prevention of weight gain is a very important health problem [19,20]. Currently, the difficulty is still in defining the detailed molecular mechanism of post-training changes in the human organism. Numerous components affect the body's response to training, including individual predispositions, different types of physical effort and training, degree of training, age, gender, diseases, and others [17,21,22]. To answer the question of whether the *DRD2* polymorphisms influence effectiveness of the training program, we assessed the genotypes and haplotypes distribution described in five *DRD2* polymorphic sites (rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, and rs1800498) in Caucasian females taking part in the 12-week training program. The changes of selected body mass and body composition measurements, as well as biochemical parameters (lipid profile and glucose levels) measured before and after the training, have been analyzed in the context of carrying the *DRD2* genotypes their haplotypes combinations.

Although the majority of studied parameters altered significantly during the 12-week aerobic training program, these changes did not differ concerning the *DRD2* genotypes. Only one statistically significant genotype by training interaction under the general model was found. Carriers of the rs1076560 CC genotype exhibited a decrease in BMR in response to applied training in comparison with individuals carrying AA and CA. Although the declines in BMR were significant, they were small (~0.5%), and may not have been physiologically relevant, especially because under the dominant model (where rare AA homozygotes were added to CA heterozygotes), no significant genotype by training interaction was found.

The animal studies demonstrated an association between *DRD2* and both movement patterns and overall locomotor activity level. The *DRD2* knockout mice showed decreased initiation of spontaneous activity in comparison to wild-type mice [8]. The higher expressions of *DRD2* and *DRD4* (19% and 24%, respectively) in mice selectively bred for high levels of physical activity than the controls were also shown [23]. In human studies, the associations between these genes and physical activity are mainly confirmed in women. In a study including a cohort consisting of 721 participants, Simonen et al. (2003) revealed that variation in the *DRD2* gene was significantly associated with the level of sport participation and occupational physical activity among white women [18]. Another study performed on 900 Polish adults showed a lack of relationship between selected *DRD2* polymorphic variants and the level of physical activity in men [24]. In addition, Lee et al. (2020) revealed that the effect of the *DRD2* polymorphisms, particularly rs1800497, on females participating in sport is much greater in the younger population, suggesting that genetic influences on physical-activity-related behaviors reduce with age. They implied that adult physically active women are weakly affected by *DRD2* because adult females are more exposed to behavioral and environmental factors that may influence physical-activity-related behaviors for a much longer period in comparison to adolescents [25]. This observation was confirmed by other studies, which have shown that adult females are more susceptible to the social environment than males [26]. Unfortunately, our study only included adult women (men did not report to the experiment); thus, we did not have the opportunity to compare the results between genders and different age groups.

The influence of the *DRD2* polymorphisms on the post-training effects is largely unknown. Organization of the experiment, consisting of careful regulation of both food intake and physical activity of a homogeneous population, is very difficult. Thus, only a few authors have tried to explain this problematic issue. In a study including 202 obese adults participating in a 1-year weight-loss program, Winkler et al. (2012) analyzed whether rs1800497 polymorphic site within *DRD2* was associated with body mass changes in response to applied training and diet. They revealed that younger hetero- or homozygous for the T allele (often referred to as A1+) participants showed higher BMI at baseline, and had problems in losing weight and maintaining weight loss during the experiment [27]. Addi-

tionally, Cameron et al. (2013) examined if the rs1800497 genotype was related to changes in body weight, energy expenditure, and food preference in 127 obese postmenopausal women taking part in a 6-month intervention including caloric restriction with or without resistance training. The carriers of the T allele lost significantly less body mass, BMI, and FM than the C allele carriers, and had increased carbohydrate intake in the group in which diet was connected with training [28]. However, our results did not confirm the relationship between rs1800497 polymorphism and post-training changes in body weight and composition. The reasons for the inconsistency of results may be due to factors such as the age of the participants, ethnical origin, too low initial BMI, or too short time of the experiment. We established only one association between the rs1076560 CC genotype and post-training decrease in BMR; however, the declines in BMR were small and may not have been physiologically relevant. The obtained results cannot be discussed because we did not find studies that assessed the influence of this polymorphism on the post-training effects.

When the obtained results were included in the complex haplotype analysis, the novel finding was that carriers of the CACCC and CACTT haplotypes displayed greater post-training effects, in terms of glucose level decrease, in comparison with individuals carrying the most common CACCT haplotype. This result suggests that harboring these specific haplotypes might be favorable for achieving the desired training-induced glucose level changes. Additionally, the CGCCT haplotype was significantly associated with an increase in BMR and FFM in response to applied training, when compared with a baseline haplotype. These results imply that some individuals might benefit from carrying the CGCCT haplotype, as regards the post-training FFM and BMR changes. Another observation was that carriers of the CA-CT haplotype displayed a greater post-training decrease in LDL, suggesting that harboring this haplotype might be beneficial for achieving the training-induced LDL level changes. Our results confirmed that methods based on haplotypes referring to multiple SNPs which are located closely together on the same inherited chromosome are more informative than methods based on individual SNP. The haplotypes analysis may provide additional power for mapping genes, and insight on factors affecting the dependency among genetic markers. Such results may give information important for understanding complicated interactions between numerous gene variants. Biologically, polymorphisms on a haplotype may cause several changes in coding, expression, or splicing, and, therefore, lead to a greater joint effect on the studied trait than the single change caused by SNP [29].

To the best of our knowledge, this is the first study to analyze the association of the *DRD2* rs1076560, rs12364283, rs1799732, rs1800497, and rs1800498 polymorphisms in haplotype combination with post-training changes of selected body mass and body composition measurements, as well as biochemical parameters in physically active participants. Therefore, the obtained results cannot be discussed with direct comparisons to other studies. However, Zhang et al. (2007) performed a detection of allelic mRNA expression in the human striatum and prefrontal cortex, and then performed SNP scans of the *DRD2* locus and genotyped 23 SNPs. The analysis showed complicated interactions between *DRD2* variants that modify mRNA expression and splicing [13]. So far, many authors have analyzed the relationship between *DRD2* haplotype and alcohol, nicotine, or drug addiction; some types of cancer; and psychiatric disorders such as ADHD or schizophrenia; confirming that this type of analysis is more informative and provides new associations [30–35].

5. Conclusions

The obtained results provide some evidence that *DRD2* may play an important role in post-training changes of lipid and carbohydrate metabolism, and, as a consequence, in the effectiveness of training programs. The individual and complex haplotype analysis provided new information about the associations between training-induced glucose levels and lipid profile changes and the *DRD2* polymorphisms. More specifically, novel findings of the study were: (i) the rs1076560 CC genotype exhibited a small decrease in BMR in response to applied training, but only under the general model; (ii) the CACCC and CACTT haplotypes might be favorable for achieving the desired training-induced glucose level

changes; (iii) the CGCCT haplotype might be favorable for achieving the desired training-induced BMR and FFM changes; and (iv) the CA-CT haplotype might be beneficial for achieving the training-induced LDL level changes. This preliminary data suggest that *DRD2* may be a promising molecular marker to predict the benefits from training programs or a physically active lifestyle; however, more studies are needed to establish precisely the *DRD2* gene $\times$ physical activity interactions. An understanding of the genetic background of training-induced body changes will allow us to clarify the conditions of physical activities for individuals. In the future, this knowledge may help to identify people who are expected to react well or poorly to exercise, which may help reduce the number of obese people, and improve their health.

Author Contributions: Conceptualization, K.Ś. and A.L.-D.; methodology, K.Ś., A.L.-D. and M.B.; software, J.H. and M.P.; formal analysis, J.H. and M.P.; investigation, K.Ś. and A.L.-D.; resources, K.Ś.; data curation, K.Ś.; writing—original draft preparation, K.Ś., A.B. and A.L.-D.; writing—review and editing, K.Ś. and A.B.; visualization, K.Ś. and M.B.; supervision, A.L.-D.; project administration, A.L.-D.; funding acquisition, A.L.-D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the National Science Centre of Poland, No. 2012/07/B/NZ7/01155.

Institutional Review Board Statement: The experimental protocols were positively verified by The Ethics Committee of the Regional Medical Chamber in Szczecin (no. 09/KB/IV/2011 and 01/KB/VI/2017), and were conducted according to World Medical Association Declaration of Helsinki and Strengthening the Reporting of Genetic Association studies statement (STREGA).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy/ethical restrictions.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Carlsson, A.; Lindqvist, M.; Magnusson, T. 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-Hydroxytryptophan as Reserpine Antagonists. *Nature* **1957**, *180*, 1200. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Cordeiro, L.M.S.; Rabelo, P.C.R.; Moraes, M.M.; Teixeira-Coelho, F.; Coimbra, C.C.; Wanner, S.P.; Soares, D.D. Physical Exercise-Induced Fatigue: The Role of Serotonergic and Dopaminergic Systems. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2017**, *50*, e6432. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Beaulieu, J.M.; Gainetdinov, R.R. The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. *Pharmacol. Rev.* **2011**, *63*, 182–217. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Heyes, M.P.; Garnett, E.S.; Coates, G. Central Dopaminergic Activity Influences Rats Ability to Exercise. *Life Sci.* **1985**, *36*, 671–677. [\[CrossRef\]](#)
5. Gerald, M.C. Effects of (+)-Amphetamine on the Treadmill Endurance Performance of Rats. *Neuropharmacology* **1978**, *17*, 703–704. [\[CrossRef\]](#)
6. Zmijewski, P.; Leońska-Duniec, A.; Stula, A.; Sawczuk, M. Evaluation of the Association of COMT Rs4680 Polymorphism with Swimmers' Competitive Performance. *Genes* **2021**, *12*, 1641. [\[CrossRef\]](#)
7. Jackson, D.M.; Westlind-Danielsson, A. Dopamine Receptors: Molecular Biology, Biochemistry and Behavioural Aspects. *Pharmacol. Ther.* **1994**, *64*, 291–370. [\[CrossRef\]](#)
8. Kelly, M.A.; Rubinstein, M.; Phillips, T.J.; Lessov, C.N.; Burkhart-Kasch, S.; Zhang, G.; Bunzow, J.R.; Fang, Y.; Gerhardt, G.A.; Grandy, D.K.; et al. Locomotor Activity in D2 Dopamine Receptor-Deficient Mice Is Determined by Gene Dosage, Genetic Background, and Developmental Adaptations. *J. Neurosci.* **1998**, *18*, 3470–3479. [\[CrossRef\]](#)
9. Usiello, A.; Baik, J.H.; Rougé-Pont, F.; Picetti, R.; Dierich, A.; LeMeur, M.; Piazza, P.V.; Borrelli, E. Distinct Functions of the Two Isoforms of Dopamine D2 Receptors. *Nature* **2000**, *408*, 199–203. [\[CrossRef\]](#)
10. Comings, D.E.; Flanagan, S.D.; Dietz, G.; Muhleman, D.; Knell, E.; Gysin, R. The Dopamine D2 Receptor (DRD2) as a Major Gene in Obesity and Height. *Biochem. Med. Metab. Biol.* **1993**, *50*, 176–185. [\[CrossRef\]](#)
11. Grandy, D.K.; Litt, M.; Allen, L.; Bunzow, J.R.; Marchionni, M.; Makam, H.; Reed, L.; Magenis, R.E.; Civelli, O. The Human Dopamine D2 Receptor Gene Is Located on Chromosome 11 at Q22–Q23 and Identifies a TaqI RFLP. *Am. J. Hum. Genet.* **1989**, *45*, 778–785. [\[PubMed\]](#)

12. Eubanks, J.H.; Djabali, M.; Selleri, L.; Grandy, D.K.; Civelli, O.; McElligott, D.L.; Evans, G.A. Structure and Linkage of the D2 Dopamine Receptor and Neural Cell Adhesion Molecule Genes on Human Chromosome 11q23. *Genomics* **1992**, *14*, 1010–1018. [\[CrossRef\]](#)
13. Zhang, Y.; Bertolino, A.; Fazio, L.; Blasi, G.; Rampino, A.; Romano, R.; Lee, M.L.T.; Xiao, T.; Papp, A.; Wang, D.; et al. Polymorphisms in Human Dopamine D2 Receptor Gene Affect Gene Expression, Splicing, and Neuronal Activity during Working Memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 20552–20557. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Doebering, A.; Kirchhof, A.; Lötsch, J. Genetic Diagnostics of Functional Variants of the Human Dopamine D2 Receptor Gene. *Psychiatr. Genet.* **2009**, *19*, 259–268. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Mi, H.; Thomas, P.D.; Ring, H.Z.; Jiang, R.; Sangkuhl, K.; Klein, T.E.; Altman, R.B. Pharm GKB Summary: Dopamine Receptor D2. *Pharm. Genom.* **2011**, *21*, 350–356. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Aliasghari, F.; Nazm, S.A.; Yasari, S.; Mahdavi, R.; Bonyadi, M. Associations of the ANKK1 and DRD2 Gene Polymorphisms with Overweight, Obesity and Hedonic Hunger among Women from the Northwest of Iran. *Eat. Weight. Disord.* **2021**, *26*, 305–312. [\[CrossRef\]](#)
17. Switala, K.; Leonska-Duniec, A. Physical Activity and Gene Association with Human Obesity. *Balt. J. Health Phys. Act.* **2021**, *13*, 99–111. [\[CrossRef\]](#)
18. Simonen, R.L.; Rankinen, T.; Pérusse, L.; Leon, A.S.; Skinner, J.S.; Wilmore, J.H.; Rao, D.C.; Bouchard, C. A Dopamine D2 Receptor Gene Polymorphism and Physical Activity in Two Family Studies. *Physiol. Behav.* **2003**, *78*, 751–757. [\[CrossRef\]](#)
19. Leonska-Duniec, A.; Jastrzębski, Z.; Jażdżewska, A.; Krzysztof, F.; Cieśczyk, P. Leptin and Leptin Receptor Genes Are Associated With Obesity-Related Traits Changes in Response to Aerobic Training Program. *J. Strength Cond. Res.* **2018**, *32*, 1036–1044. [\[CrossRef\]](#)
20. Grzywacz, E.; Jaron, A. Well-Being and Mental Health—Diet, Supplements, Exercise or Sleep? A Review of Reports from the Last Five Years. *Balt. J. Health Phys. Act.* **2020**, *12*, 73–82. [\[CrossRef\]](#)
21. Maciejewska-Skrendo, A.; Mieszkowski, J.; Kochanowicz, A.; Stankiewicz, B.; Cieśczyk, P.; Switala, K.; Gomes de Assis, G.; Kecler, K.; Tarnowski, M.; Sawczuk, M. TNFA Expression Level Changes Observed in Response to the Wingate Anaerobic Test in Non-Trained and Trained Individuals. *Balt. J. Health Phys. Act.* **2019**, *11*, 1–10. [\[CrossRef\]](#)
22. Leonska-Duniec, A.; Jastrzębski, Z.; Zarębska, A.; Maciejewska, A.; Ficek, K.; Cieśczyk, P. Assessing Effect of Interaction between the FTO A/T Polymorphism (Rs9939609) and Physical Activity on Obesity-Related Traits. *J. Sport Health Sci.* **2018**, *7*, 459–464. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Bronikowski, A.M.; Rhodes, J.S.; Garland, T.; Prolla, T.A.; Awad, T.A.; Gammie, S.C. The Evolution of Gene Expression in Mouse Hippocampus in Response to Selective Breeding for Increased Locomotor Activity. *Evolution* **2004**, *58*, 2079–2086. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Jozkow, P.; Slowinska-Lisowska, M.; Laczmanski, L.; Medras, M. DRD2 C313T and DRD4 48-Bp VNTR Polymorphisms and Physical Activity of Healthy Men in Lower Silesia, Poland (HALS Study). *Ann. Hum. Biol.* **2013**, *40*, 186–190. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Lee, C.G.; Moon, H.; Park, S. The Effects of Dopamine Receptor Genes on the Trajectories of Sport Participation from Adolescence through Young Adulthood. *Ann. Hum. Biol.* **2020**, *47*, 256–262. [\[CrossRef\]](#)
26. Rose, A.J.; Rudolph, K.D. A Review of Sex Differences in Peer Relationship Processes: Potential Trade-Offs for the Emotional and Behavioral Development of Girls and Boys. *Psychol. Bull.* **2006**, *132*, 98–131. [\[CrossRef\]](#)
27. Winkler, J.K.; Woehning, A.; Schultz, J.H.; Brune, M.; Beaton, N.; Challa, T.D.; Minkova, S.; Roeder, E.; Nawroth, P.P.; Friederich, H.C.; et al. TaqIA Polymorphism in Dopamine D2 Receptor Gene Complicates Weight Maintenance in Younger Obese Patients. *Nutrition* **2012**, *28*, 996–1001. [\[CrossRef\]](#)
28. Cameron, J.D.; Riou, M.É.; Tesson, F.; Goldfield, G.S.; Rabasa-Lhoret, R.; Brochu, M.; Doucet, É. The TaqIA RFLP Is Associated with Attenuated Intervention-Induced Body Weight Loss and Increased Carbohydrate Intake in Post-Menopausal Obese Women. *Appetite* **2013**, *60*, 111–116. [\[CrossRef\]](#)
29. Liu, N.; Zhang, K.; Zhao, H. Haplotype-Association Analysis. *Adv. Genet.* **2008**, *60*, 335–405.
30. Chien, Y.L.; Hwu, H.G.; Fann, C.S.J.; Chang, C.C.; Tsuang, M.T.; Liu, C.M. DRD2 Haplotype Associated with Negative Symptoms and Sustained Attention Deficits in Han Chinese with Schizophrenia in Taiwan. *J. Hum. Genet.* **2013**, *58*, 229–232. [\[CrossRef\]](#)
31. Luo, H.R.; Hou, Z.F.; Wu, J.; Zhang, Y.P.; Wan, Y.J.Y. Evolution of the DRD2 Gene Haplotype and Its Association with Alcoholism in Mexican Americans. *Alcohol* **2005**, *36*, 117–125. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Nyman, E.S.; Loukola, A.; Varilo, T.; Taanila, A.; Hurtig, T.; Moilanen, I.; Loo, S.; McGough, J.J.; Järvelin, M.R.; Smalley, S.L.; et al. Sex-Specific Influence of DRD2 on ADHD-Type Temperament in a Large Population-Based Birth Cohort. *Psychiatr. Genet.* **2012**, *22*, 197–201. [\[CrossRef\]](#)
33. Zhang, J.; Yan, P.; Li, Y.; Cai, X.; Yang, Z.; Miao, X.; Chen, B.; Li, S.; Dang, W.; Jia, W.; et al. A 35.8 Kilobases Haplotype Spanning ANKK1 and DRD2 Is Associated with Heroin Dependence in Han Chinese Males. *Brain Res.* **2018**, *1688*, 54–64. [\[CrossRef\]](#)
34. Voisey, J.; Swagell, C.D.; Hughes, I.P.; van Daal, A.; Noble, E.P.; Lawford, B.R.; Young, R.M.D.; Morris, C.P. A DRD2 and ANKK1 Haplotype Is Associated with Nicotine Dependence. *Psychiatry Res.* **2012**, *196*, 285–289. [\[CrossRef\]](#)
35. Gemignani, F.; Landi, S.; Moreno, V.; Gioia-Patricola, L.; Chabrier, A.; Guino, E.; Navarro, M.; Cambray, M.; Capellà, G.; Canzian, F.; et al. Polymorphisms of the Dopamine Receptor Gene DRD2 and Colorectal Cancer Risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **2005**, *14*, 1633–1638. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

Article

Association of the G>A (rs6265) polymorphism in the brain derived neurotrophic factor gene (*BDNF*) with post-training changes in Caucasian women

Katarzyna ŚWITAŁA^{1*}, Agata LEOŃSKA-DUNIEC², Monika MICHAŁOWSKA-SAWCZYN³,
Andrzej BRODKIEWICZ⁴, Kinga ŁOSIŃSKA⁵, Anna GRZYWACZ⁶

¹ Faculty of Physical Education, Gdansk University of Physical Education and Sport, Gdansk, Poland; ORCID 0000-0001-7935-4642

² Faculty of Physical Education, Gdansk University of Physical Education and Sport, Gdansk; Independent Laboratory of Health Promotion, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland; ORCID 0000-0001-6787-3760

³ Faculty of Physical Education, Gdansk University of Physical Education and Sport, Gdansk, Poland; ORCID 0000-0003-3223-1084

⁴ Department of Pediatrics, Pediatric Nephrology, Dialysis and Treatment of Acute Poisonings, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland; ORCID 0000-0001-7951-8969

⁵ Faculty of Physical Education, Gdansk University of Physical Education and Sport, Gdansk, Poland;

⁶ Faculty of Physical Education, Gdansk University of Physical Education and Sport, Gdansk; Independent Laboratory of Health Promotion, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland; ORCID 0000-0002-2633-520X

* Correspondence: katarzyna.switala@awf.gda.pl

Citation: Switala K, Leonska-Duniec A, Michalowska-Sawczyn M, Brodkiewicz A, Losinska K, Grzywacz A.

Association of the G>A (rs6265) polymorphism in the brain derived neurotrophic factor gene (*BDNF*) with post-training changes in Caucasian women. *Balt J Health Phys Act.* 2023;15(4):Article3.

<https://doi.org/10.29359/BJHPA.15.4.03>

Academic Editor:
Aleksandra Bojarczuk

Received: October 2023
Accepted: November 2023
Published: December 2023

Publisher's Note: BJHPA stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2023 by Gdansk University of Physical Education and Sport. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-ND) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The brain-derived neurotrophic factor (*BDNF*) rs6265 (G196A; Val66Met) polymorphism has been associated with obesity and type 2 diabetes, with contradictory results involving either A or G as the risk allele. The main aim of this study was to examine whether the *BDNF* rs6265 polymorphism would influence the efficiency of a training program. An additional aim was to determine whether selected polymorphism can be used as a genetic marker for obesity-related parameters. We studied the genotype distribution in a group of 160 Caucasian females in whom body mass and composition parameters, lipid profile, and glucose levels were measured before and after the 12-week aerobic training program. The majority of obesity-related parameters significantly changed during the intervention (main effect of training); however, the training response was not modulated by genotype (non-significant genotype × training interactions). We also did not find an effect of genotype on selected parameters. Our study showed that the rs6265 polymorphism does not affect the efficiency of the applied training program and is not a good genetic marker for assessing the obesity-related parameters in the studied population. However, we confirmed that regular physical activity is associated with an improvement in obesity-related parameters, which is an important observation for public health.

Keywords: sport genetics, obesity, physical activity, *BDNF*, genotype × training interaction.

1. Introduction

Human obesity is a serious medical abnormality worldwide that has a well-confirmed genetic basis, but requires behavioral, developmental, and/or environmental factors to develop [1–3]. Numerous studies have shown the role of the lifestyle factor, including caloric intake and physical activity, in weight control [4–6]. However, the problem lies in defining the specific genes and polymorphisms related to obesity and describing the

mechanisms by which they exert their effects [2]. A complex meta-analysis of genome-wide association studies (GWAS) for the body mass index (BMI) in ~700,000 individuals of European ancestry revealed 941 near-independent single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with BMI. These variants are frequently localized in genes involved in neurogenesis and more generally involved in the development of the central nervous system (CNS) [7]. Thus, the gene encoding brain derived neurotrophic factor (BDNF) seems to be a promising genetic marker for both a risk of developing obesity and post-training changes in selected body mass, body composition, and biochemical parameters of energy metabolism.

BDNF belongs to the neurotrophin family of nerve growth factors (NGF) and is widely expressed in CNS. It plays a key role in the proliferation, differentiation, survival, outgrowth, and death of central and peripheral neurons [8]. In addition, its expression in the hypothalamus, a key region of the brain involved in controlling appetite, seems to affect balance between energy consumption and energy expenditure [9]. Mechanistically, BDNF is supposed to function as a downstream regulator of the leptin proopiomelanocortin pathway, which controls body mass and general metabolic fitness [10]. Thus, polymorphisms of the *BDNF* gene, which is located at chromosomal position 11p14.1, may affect energy homeostasis and, consequently, lead to the development of the obese phenotype. One common polymorphism rs6265 present in the coding region (exon 11) of the *BDNF* gene involves G→A transition at the nucleotide position 196 (G196A), which in turn results in valine to methionine substitution at the amino acid position 66 (Val66Met) of the N-terminal domain region of pro-BDNF. This single nucleotide substitution affects BDNF expression, localization, and signal transduction contributing to alterations in the phenotype [11–13]. Numerous studies have associated this SNP with early seizures, bipolar affective disorders, obsessive-compulsive disorders, eating disorders, and obesity [8, 14–18]. The G allele has been usually connected with increased risk for obesity and type 2 diabetes, as well as appearing to predict weight regain in treatment studies [18–20]. However, some authors have shown a lack of association or even the opposite direction of association [15, 22, 23].

Although, the association of *BDNF* with overweight and obesity in both children and adults has been observed in diverse ethnic populations, including European, Asian, and Hispanic individuals [18], a connection between this gene, physical activity, and obesity-related traits is still unclear. Therefore, the main aim of this study was to examine whether the rs6265 polymorphism in the *BDNF* gene would influence the efficiency of a 12-week training program. An additional aim was to determine whether the selected polymorphism can be used as a genetic marker to determine the predisposition to the development of obesity and the unfavorable metabolic properties associated with it.

2. Materials and Methods

2.1. Participants

One hundred sixty Polish Caucasian females (age: 21 ± 1 years) were selected for the study. The inclusion criteria were as follows: low level of physical activity (the Global Physical Activity Questionnaire was used); no musculoskeletal, neuromuscular or metabolic diseases; having refrained from using medications and supplements for 6 months before the experiment and being nonsmokers. Participants received an information sheet and a written consent form. The experiment was approved by the Ethics Committee of the Regional Medical Chamber in Szczecin (no. 09/KB/IV/2011 and 01/KB/VI/2017).

2.2. Dietary and training program

Participants took part in a dietary program and were expected to keep a balanced diet based on their personal dietary plan, which was established during a nutritional meeting involving a recommendation of an adequate diet matched with personal energy needs and nutritional status. The medium daily macronutrient ratio was proposed

(expressed as a percentage of total calories): 45–65% from carbohydrates, 20–35% from fat (reducing the intake of saturated fats and increasing the intake of unsaturated fats), and 10–20% from proteins. The women were also asked to maintain a daily cholesterol intake of less than 300 mg, with a minimum dietary fiber intake of 25 g.

The proper training was preceded by a week-long familiarization stage (3 units, 30 min each). Then, a 12-week (36 units, 60 min each) experimental training program was divided into 4 stages (3 weeks each) of increasing intensity. Each training unit included a warm-up (10 min), the main low and high impact aerobic exercises (43 min), and a cool-down phase (7 min). The training program was previously described in detail [24].

2.3. Body mass and body composition measurements

Before and after the completion of the training program, the selected body mass and body composition parameters were assessed with the bioimpedance method using an electronic scale, Tanita TBF 300 M (Arlington Heights, Illinois, United States), as previously described [24]. The investigated parameters are shown in Table 1.

2.4. Biochemical analyses

Biochemical analyses were also performed before and after the training program. Fasting blood samples were obtained from the elbow vein in the morning. The analyses were performed immediately after the blood collection, as previously described in detail [24]. The chosen parameters received using the Random Access Automatic Biochemical Analyzer for Clinical Chemistry and Turbidimetry A15 (BioSys-tems S.A., Barcelona, Spain) are given in Table 1.

Table 1. Investigated body mass, body composition, and biochemical parameters

Body mass and body composition parameters		
body mass	BM	kg
body mass index	BMI	kg/m ²
basal metabolic rate	BMR	kJ
fat mass	FM	kg
fat free mass	FFM	kg
fat mass percentage	%FM	%
total body water	TBW	kg
Biochemical parameters		
total cholesterol	TC	mg/dL
triglycerides	TGL	mg/dL
high density lipoprotein	HDL	mg/dL
low density lipoprotein	LDL	mg/dL
blood glucose	BG	mg/dL

2.5. Genetic analyses

Genomic DNA was extracted from the buccal cells using a GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma, Steinheim, Germany) according to the manufacturer's recommendation. All samples were genotyped in duplicate using TaqMan® Pre-Designed SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) on a C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad, Feldkirchen, Germany) instrument according to the manufacturer's procedures. The assay C_11592758_10 included primers and fluorescently labeled (FAM and VIC) probes to discriminate the *BDNF* alleles.

2.6. Statistical analyses

Statistical analysis was performed in R statistical software (R Core Team, 2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. Hardy-Weinberg equilibrium was evaluated using an exact test implemented in the R package SNPassoc (version 2.0-18). A linear mixed effect model was used for association analysis between rs6265 genotypes and outcome variables over time. The R packages effects (version 4.2-2) and marginal effects (version 0.15.1) were used to visualize predictor effects and estimate contrasts, respectively.

3. Results

Genotype frequencies of the *BDNF* polymorphism: AA – 43 (26.875%), AG – 79 (49.375%), GG – 38 (23.750%) were tested for Hardy-Weinberg equilibrium, and no significant deviations from theoretical frequencies were found ($p = 0.875$).

Body mass and composition parameters, lipid profile, and glucose levels measured before and after the training period with respect to the *BDNF* genotype are presented in Table 2. Most parameters (BM, BMI, BMR, %FM, FM, FFM, TBW, HDL, and BG) significantly changed during the intervention (main effect of training); however, the training response was not modulated by genotype (non-significant genotype $\times$ training interactions). We also did not find an effect of genotype on selected parameters.

Table 2. Contrast of estimated marginal effects for the time and rs6265*

Parameter	Term	Contrast	Estimate	SE	P	95% CI
BM	Time	After – Before	-0.763	0.133	< 0.001	-1.02 -0.503
	rs6265	AG – AA	0.671	1.48	0.651	-2.23 3.58
		GG – AA	-0.136	1.74	0.938	-3.54 3.27
BMI	Time	After – Before	-0.233	0.0419	< 0.001	-0.315 -0.151
	rs6265	AG – AA	-0.143	0.464	0.758	-1.05 0.767
		GG – AA	-0.255	0.544	0.639	-1.32 0.812
BMR	Time	After – Before	-38.3	9.16	< 0.001	-56.2 -20.3
	rs6265	AG – AA	43.3	62.1	0.486	-78.5 165
		GG – AA	12.9	72.9	0.859	-129.9 156
%FM	Time	After – Before	-1.34	0.179	< 0.001	-1.69 -0.986
	rs6265	AG – AA	0.158	1.06	0.882	-1.92 2.24
		GG – AA	0.646	1.24	0.604	-1.79 3.09
FM	Time	After – Before	-0.954	0.131	< 0.001	-1.21 -0.697
	rs6265	AG – AA	0.463	0.986	0.639	-1.47 2.39
		GG – AA	0.439	1.156	0.704	-1.83 2.70
FFM	Time	After – Before	0.426	0.0994	< 0.001	0.231 0.621
	rs6265	AG – AA	-0.018	0.620	0.977	-1.23 1.198
		GG – AA	-0.577	0.727	0.428	-2.00 0.849
TBW	Time	After – Before	0.336	0.111	0.00241	0.119 0.553
	rs6265	AG – AA	-0.00768	0.472	0.987	-0.933 0.918
		GG – AA	-0.39983	0.554	0.470	-1.485 0.686

Parameter	Term	Contrast	Estimate	SE	P	95% CI
TC	Time	After – Before	-1.65	1.69	0.329	-4.96 1.66
	rs6265	AG – AA	1.30	4.61	0.777	-7.73 10.3
		GG – AA	1.07	5.41	0.843	-9.53 11.7
TGL	Time	After – Before	2.86	2.37	0.226	-1.77 7.5
	rs6265	AG – AA	2.16	5.23	0.679	-8.08 12.4
		GG – AA	3.87	6.13	0.528	-8.15 15.9
HDL	Time	After – Before	-4.12	0.894	<0.001	-5.87 -2.37
	rs6265	AG – AA	-0.442	2.33	0.850	-5.01 4.13
		GG – AA	0.363	2.74	0.895	-5.00 5.72
LDL	Time	After – Before	1.97	1.62	0.223	-1.2 5.14
	rs6265	AG – AA	1.2827	3.94	0.745	-6.44 9.01
		GG – AA	-0.0669	4.62	0.988	-9.13 9.00
BG	Time	After – Before	-2.82	0.868	0.00114	-4.53 -1.12
	rs6265	AG – AA	1.32	1.61	0.412	-1.84 4.48
		GG – AA	1.18	1.89	0.531	-2.52 4.89

* time by rs6265 interaction was not significant for any parameter, SE – standard error, 95% CI – confidence interval, the level of statistical significance was set at $p < 0.05$

4. Discussion

To answer the question of whether the common *BDNF* rs6265 polymorphism influences the post training changes in selected body mass and composition parameters, lipid profile, and glucose levels, we assessed the allele and genotype distribution in young healthy women participating in 12-week aerobic training. The obtained results provide evidence that the rs6265 polymorphism in the *BDNF* gene does not affect the efficiency of a training program. In addition, we have shown that this polymorphism is not a good genetic marker for assessing the obesity-related parameters in the studied group.

Previous studies have shown the *BDNF* binds to its tropomyosin-related kinase B (TrkB) receptor [25] and regulates food intake and energy metabolism by central and peripheral actions, as well as affects the physical activity level, hyperactivity, anxiety, and hyperphagia [26, 27]. According to these findings, lower *BDNF* levels were found in obese, compared to normal weight participants [28]. However, some studies showed opposite results [29]. One possible explanation for these inconsistent observations could be differences in physical activity and sedentary behavior, which can greatly affect the interpretation of the noticed associations [18]. Consequently, variants in the *BDNF* gene may be responsible for obesity and eating disorders [8, 16, 18]. A meta-analysis study, which has been conducted to evaluate the association of the *BDNF* gene polymorphisms with BMI, has shown that the rs6265, rs925946, rs10501087, and rs988712 polymorphisms significantly increased the risk of an excess of human body mass gain, indicating that these variants may be involved in the development of obesity [8]. The rs6265 (G196A or Val66Met) is a well-characterized functional SNP that influences intracellular trafficking of *BDNF* mRNA to dendrites, activity-dependent secretion, and subsequently hippocampal function in transgenic mice and in humans [12]. In addition, G→A transition eliminates a CpG methylation site (the G/Val allele has a CpG at this position while the A/Met allele does not), allowing for epigenetic association that may in part explain environmentally influenced phenotypes such as the obesity phenotype [30]. In the *BDNF* protein, the methionine substitution interrupts a sortilin binding site that disrupts activity-dependent secretion of *BDNF* at the synapse. The amino acid substitution also causes different signal transduction events and functional results among the three isoforms of the *BDNF*

peptides. This change directly modifies the BDNF precursor (proBDNF), subsequent signaling, and confers an acquired binding ability of the cleaved prodomain to sortilin related Vps10p-domain sorting receptor 2 (SorCS2). The Met proBDNF variant shows decreased binding to sortilin, changed intracellular trafficking, and a reduction in the activity-dependent secretion of BDNF. This SNP even impacts downstream signaling of the otherwise identical "mature" portion, albeit indirectly via aberrant compartmentalization and dysregulation of the balance of proBDNF/p75 neurotrophin receptor (p75^{NTR}) and mature BDNF/TrkB signaling complexes [13, 31].

With regard to obesity-related parameters, the majority of studies, particularly those with larger sample sizes, have shown the G allele (Val66 variant) to be associated with increased BMI in both children and adults across diverse ethnic populations. The G allele also appears to predict body mass regain in interventional studies [18]. In patients with impaired glucose tolerance in the Diabetes Prevention Program (DPP) and patients with diabetes in the Look Action for Health in Diabetes (AHEAD) study, the G allele was connected with greater body mass regain across interventions, reaching significance in the DPP [32] and borderline significance in the Look AHEAD [33]. However, some studies have shown a lack of association or even inverse association, with the A allele (Met66 variant) being identified as the obesity risk allele [15, 22, 23]. Our results also did not show any relationship between the SNP and obesity-related traits or training effectiveness. Differences in sample sizes and selection, methodology, variation in study duration, ethnicity, age, body mass of participants, moderate genetic effects, and other characteristics may explain the inconsistent results [8]. In addition, epigenetic mechanisms related to environmental factors, such as physical activity and diet, modulate the effect of *BDNF* rs6265, thus weakening the effect of the rs6265 genotype [30].

We have also shown that the majority of the tested parameters changed significantly during the training program. We noticed a favorable decrease in BM, BMI, BMR, %FM, FM, TC, and BG, as well as an increase in FFM and TBW. Thus, we confirmed that living a physically active lifestyle is associated with an improvement in obesity-related parameters, which is still an important observation for public health. This observation is consistent with numerous studies that have clearly indicated that systematic physical activity has significant benefits for human health, including a reduction of the risk of cardiovascular diseases, type 2 diabetes, excessive body weight gain because of an increase in adipose tissue, and improved obesity-related parameters [34, 35]. However, the unfavorable changes in some lipid profile parameters, such as an increase in TGL and LDL, and a decrease in HDL were also noticed. Other authors confirmed that the effect of exercise on lipid profile is inconsistent in humans, and there are even results opposite to expected [36, 37]. Wang and Xu [36] explained that the differences in results may be due to variations in people's weight. Some studies showed that aerobic exercise alone did not change the lipid profile levels unless the weight during this period also changed. O'Donovan et al. [37] suggested that changes in coronary heart disease risk factors such as TC, TGL, LDL, and HDL concentrations are influenced by exercise intensity. They showed that high-intensity training is more effective than moderate-intensity training at the same energy cost. In a study including 34 young women divided into three groups: underweight, normal weight, and overweight, participating in a 12-week training program, Kostrzewa-Nowak [38] showed favorable changes in body compositions together with a significant decrease in TGL, TC, HDL, and LDL concentrations only in the overweight group (in underweight and normal weight groups they did not observe those changes).

5. Conclusions

In conclusion, although BDNF is an important regulator of energy balance, the common *BDNF* rs6265 polymorphism does not affect the efficiency of the applied training program and is not a good genetic marker for assessing the obesity-related parameters in the studied population. We have also demonstrated that the majority of tested parameters significantly changed during the training program. Thus, we confirmed that living a

physically active lifestyle is associated with an improvement in most obesity-related parameters, which is an important observation for public health.

References

1. Switala K, Leonska-Duniec A. Physical activity and gene association with human obesity. *Balt J Health Phys Act.* 2021;13(4):99–111. DOI: 10.29359/BJHPA.13.4.10
2. Leonska-Duniec A, Ahmetov II, Zmijewski P. Genetic variants influencing effectiveness of exercise training programmes in obesity – An overview of human studies. *Biol Sport.* 2016;33(3):207–214. DOI: 10.5604/20831862.1201052
3. Derigny T, Schnitzler C, Joseph G, François P. Resilience of adolescents in physical activity during the Covid-19 pandemic: a preliminary case study in France. *Phys Act Rev.* 2022;10:86–97. DOI: 10.16926/rp.2020.12.10
4. Bray G A, Bellanger T. Epidemiology, trends, and morbidities of obesity and the metabolic syndrome. *Endocrine.* 2006;29(1):109–118. DOI: 10.1385/ENDO:29:1:109
5. Rank M, Siegrist M, Wilks DC, Haller B, Wolfarth B, Langhof H, et al. Long-term effects of an inpatient weight-loss program in obese children and the role of genetic predisposition-rationale and design of the LOGIC-trial. *BMC Pediatr.* 2012;12(1):573. DOI: 10.1186/1471-2431-12-30
6. Sriramatr S, Maphong R. The acute effects of actively play on the executive functions of Thai children. *Phys Act Rev.* 2022;10:1–9. DOI: 10.16926/par.2022.10.01
7. Yengo L, Sidorenko J, Kemper KE, Zheng Z, Wood AR, Weedon MN, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies for height and body mass index in ~700 000 individuals of European ancestry. *Hum Mol Genet.* 2018;27(20):3641–3649. DOI: 10.1093/hmg/ddy271
8. Akbarian SA, Salehi-Abargouei A, Pourmasoumi M, Kelishadi R, Nikpour P, Heidari-Beni M. Association of brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms with body mass index: A systematic review and meta-analysis. *Advances in Medical Sciences. Medical University of Bialystok.* 2018;43–56. DOI: 10.1016/j.advms.2017.07.002
9. Rios M, Guoping FAN, Fekete C, Kelly J, Bates B, Kuehn R, et al. Conditional deletion of brain-derived neurotrophic factor in the postnatal brain leads to obesity and hyperactivity. *Mol Endocrinol.* 2001;15(10):1748–1757. DOI: 10.1210/mend.15.10.0706
10. Xu B, Goulding EH, Zang K, Cepoi D, Cone RD, Jones KR, et al. Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat Neurosci.* 2003;6(7):736–742. DOI: 10.1038/nn1073
11. Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, et al. The BDNF Val66Met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell.* 2003;112(2):257–269. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00035-7
12. Chiaruttini C, Vicario A, Li Z, Baj G, Braiuca P, Wu Y, et al. Dendritic trafficking of BDNF mRNA is mediated by translin and blocked by the G196A (Val66Met) mutation. *Proc Natl. Acad Sci USA.* 2009;106(38):16481–16486. DOI: 10.1073/pnas.0902833106
13. Nguyen V T, Hill B, Sims N, Heck A, Negron M, Lusk C, et al. Brain-derived neurotrophic factor Rs6265 (Val66Met) single nucleotide polymorphism as a master modifier of human pathophysiology. *Neural Regeneration Res. Wolters Kluwer Medknow.* 2023;102–106. DOI: 10.4103/1673-5374.343894
14. Nakazato M, Hashimoto K, Shimizu E, Niitsu T, Iyo M. Possible involvement of brain-derived neurotrophic factor in eating disorders. *IUBMB Life.* 2012;355–361. DOI: 10.1002/iub.1012
15. Martínez-Ezquerro JD, Rendón-Macías ME, Zamora-Mendoza G, Serrano-Meneses J, Rosales-Rodríguez B, Escalante-Bautista D, et al. Association between the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and overweight/obesity in pediatric population. *Arch Med Res.* 2017;48(7):599–608. DOI: 10.1016/j.arcmed.2018.02.005
16. Rana S, Mirza S, Rahmani S. The BDNF Rs6265 variant may interact with overweight and obesity to influence obesity-related physical, metabolic and behavioural traits in Pakistani individuals. *Ann Hum Biol.* 2018;45(6–8):496–505. DOI: 10.1080/03014460.2018.1561947
17. Szarowicz CA, Steece-Collier K, Caulfield ME. New frontiers in neurodegeneration and regeneration associated with brain-derived neurotrophic factor and the Rs6265 single nucleotide polymorphism. *Int J Molecul Sci.* 2022;23(14):8011. DOI: 10.3390/ijms23148011
18. Han JC. Rare syndromes and common variants of the brain-derived neurotrophic factor gene in human obesity. *Progress Molecul Biol Translat Sci.* 2016;140:75–95. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2015.12.002

19. Daily JW, Park S. Interaction of BDNF rs6265 variants and energy and protein intake in the risk for glucose intolerance and type 2 diabetes in middle-aged adults. *Nutrition*. 2017;33:187–194. DOI: 10.1016/j.nut.2016.07.001
20. Gunstad J, Schofield P, Paul RH, Spitznagel MB, Cohen RA, Williams LM, et al. BDNF Val66Met polymorphism is associated with body mass index in healthy adults. *Neuropsychobiol*. 2006;53(3):153–156. DOI: 10.1159/000093341
21. Mitchell JA, Hakonarson H, Rebbeck TR, Grant SFA. Obesity-susceptibility loci and the tails of the pediatric BMI distribution. *Obesity*. 2013;21(6):1256–1260. DOI: 10.1002/oby.20319
22. Nikolac Perkovic M, Mustapic M, Pavlovic M, Uzun S, Kozumplik O, Barisic I, et al. Lack of association between brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and body mass index change over time in healthy adults. *Neurosci Lett*. 2013;545:127–131. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.04.036
23. Skledar M, Nikolac M, Dodig-Curkovic K, Curkovic M, Borovecki F, Pivac N. Association between brain-derived neurotrophic factor Val66Met and obesity in children and adolescents. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012;36(1):136–140. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2011.08.003
24. Leonska-Duniec A, Jastrzebski Z, Jazdzewska A, Ficek K, Cieszczyk P. Leptin and leptin receptor genes are associated with obesity-related traits changes in response to aerobic training program. *J Strength Cond Res*. 2018;32(4):1036–1044. DOI: 10.1519/JSC.0000000000002447
25. Noble EE, Billington CJ, Kotz CM, Wang C. The lighter side of BDNF. *Am J Physiol Regul Integr Comp*. 2011. DOI: 10.1152/ajpregu.00776.2010
26. Tapia-Arancibia L, Rage F, Givalois L, Arancibia S. Physiology of BDNF: Focus on hypothalamic function. *Front Neuroendocrinol*. 2004;25(2):77–107. DOI: 10.1016/j.yfrne.2004.04.001
27. Lebrun B, Bariohay B, Moyse E, Jean A. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and food intake regulation: A mini-review. *Auton Neurosci*. 2006;30–38. DOI: 10.1016/j.autneu.2006.02.027
28. Araya A V, Orellana X, Espinoza J. Evaluation of the effect of caloric restriction on serum BDNF in overweight and obese subjects: Preliminary evidences. *Endocrine*. 2008;33(3):300–304. DOI: 10.1007/s12020-008-9090-x
29. Bus BAA, Molendijk ML, Penninx BJWH, Buitelaar JK, Kenis G, Prickaerts J, et al. Determinants of serum brain-derived neurotrophic factor. *Psychoneuroendocrinol*. 2011;36(2):228–239. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2010.07.013
30. Ursini G, Cavalleri T, Fazio L, Angrisano T, Iacovelli L, Porcelli A, et al. A. BDNF rs6265 methylation and genotype interact on risk for schizophrenia. *Epigenetics*. 2016;11 (1):11–23. DOI: 10.1080/15592294.2015.1117736
31. Zanin JP, Unsain N, Anastasia A. Growth factors and hormones pro-peptides: The unexpected adventures of the BDNF prodomain. *J Neurochemistry*. 2017;330–340. DOI: 10.1111/jnc.13993
32. Delahanty LM, Pan Q, Jablonski KA, Watson KE, McCaffery JM, Shuldiner A, et al. W. Genetic predictors of weight loss and weight regain after intensive lifestyle modification, metformin treatment, or standard care in the diabetes prevention program. *Diabetes Care*. 2012;35(2):363–366. DOI: 10.2337/dc11-1328
33. McCaffery JM, Papandonatos GD, Huggins GS, Peter I, Kahn SE, Knowler WC, et al. FTO predicts weight regain in the look AHEAD clinical trial. *Int J Obes*. 2013;37(12): 1545–1552. DOI: 10.1038/ijo.2013.54
34. Piché ME, Tchernof A, Després J P. Obesity phenotypes, diabetes, and cardiovascular diseases. *Circulation Res*. 2020;1477–1500. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.316101
35. Jakicic JM, Davis KK. Obesity and physical activity. *Psychiatric clinics of North America*. *Psychiatr Clin North Am* December. 2011; 829–840. DOI: 10.1016/j.psc.2011.08.009
36. Wang Y, Xu D. Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins. *Lipids In Health And Disease*. 2017;16:132. DOI: 10.1186/s12944-017-0515-5
37. O'Donovan G, Owen A, Bird SR, Kearney EM, Nevill AM, Jones, DW, et al. Changes in cardiorespiratory fitness and coronary heart disease risk factors following 24 wk of moderate- or high-intensity exercise of equal energy cost. *J Appl Physiol*. 2005;98(5):1619–1625. DOI: 10.1152/jappphysiol.01310.2004
38. Kostrzewa-Nowak D, Nowak R, Jastrzebski Z, Zarebska A, Bichowska M, Drobnik-Kozakiewicz I, et al. Effect of 12-week-long aerobic training programme on body composition, aerobic capacity, complete blood count and blood lipid profile among young women. *Biochem Medica*. 2015;25(1):103–113. DOI: 10.11613/BM.2015.013

Author Contributions: Study Design, KS and AL-D; Data Collection, KS and AL-D; Statistical Analysis, AB; Data Interpretation, KS, AG; Manuscript Preparation, KS and MMS. Literature Search, KS and KL; Funding Acquisition, AL-D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the National Science Centre of Poland, No. 2012/07/B/NZ7/01155.

Institutional Review Board Statement: The experimental protocols were positively verified by The Ethics Committee of the Regional Medical Chamber in Szczecin (no. 09/KB/IV/2011 and 01/KB/VI/2017) and were conducted according to the World Medical Association Declaration of Helsinki and Strengthening the Reporting of Genetic Association Studies Statement (STREGA).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Data available from the corresponding author on request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Akceptuję 19.12.2023

Leonola-Druica

Akceptuję 19.12.2023r.

Michałowska-Sawczyn
Monika