INSTYTUT NAUK
O KULTURZE FIZYCZNEJ
UNIWERSYTETU SZCZECIŃSKIEGO

ROZPRAWA DOKTORSKA

dyscyplina: nauki o kulturze fizycznej

mgr inż. Paulina Małkowska

Ekspresja wybranych genów i białek związanych z odpowiedzią zapalną w reakcji na progresywny test do odmowy u sportowców wyczynowych i osób niećwiczących

---

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem

dr. hab. Marka Sawczuka, prof. US

Promotor pomocniczy:

dr n. med. Patrycja Tomasiak

Szczecin, 2025

Podziękowania

Pragnę wyrazić moją szczerą wdzięczność moim Promotorom,
dr hab. Markowi Sawczukowi, prof. US, oraz dr n. med. Patrycji Tomasiak.
Dziękuję Wam za to, że prowadziliście mnie przez cały proces tworzenia tej rozprawy z tak wielką życzliwością i profesjonalizmem. Dzięki Waszej wiedzy, cierpliwości i umiejętności inspirowania odkryłam, jak fascynujący potrafi być świat nauki. Wasze wsparcie, zarówno merytoryczne, jak i emocjonalne, było dla mnie bezcenne, zarówno w tej pracy, jak i we wszystkich wspólnych projektach, które mogłam dzięki Wam realizować.

Dziękuję także moim Współpracownikom z Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego,
prof. dr hab. n. med. Maćkowi Tarnowskiemu, ***dr n. med. Marcie Tkacz oraz***
dr n. med. Katarzynie Zgutce. *Wasze zaangażowanie, otwartość i gotowość do dzielenia się doświadczeniem były dla mnie ogromnym wsparciem. Za każdą rozmowę, każdą wskazówkę i każdą pomoc okazaną podczas powstawania tej pracy z całego serca dziękuję.*

Szczególne podziękowania kieruję do mojej przyjaciółki, ***Pauliny***.
Dziękuję Ci za wszystkie rozmowy, w których pozwalałaś mi odreagować, za każdy telefon wykonany w chwili kryzysu i za każde słowo, które pomagało mi odzyskać równowagę. Byłaś przy mnie wtedy, gdy presja i zmęczenie przygniatały najbardziej, i potrafiłaś sprawić, że nawet najtrudniejsze etapy stawały się możliwe do przejścia. Twoja obecność była dla mnie jak stały punkt oparcia – cichy, ale pewny. Dzięki Tobie nauczyłam się patrzeć na tę drogę z większą wyrozumiałością dla samej siebie, a końcowy efekt tej pracy jest również Twoją zasługą. Jestem Ci za to wdzięczna bardziej, niż potrafię powiedzieć

Najgłębszą wdzięczność pragnę wyrazić moim ***Rodzicom***, *którym dedykuję tę pracę.*
Dziękuję Wam za każdy dzień, w którym wspieraliście mnie w cichej, niewidocznej dla innych, ale niezwykle ważnej codzienności. Za Waszą nieustanną wiarę w moje możliwości, nawet wtedy, gdy sama w nie wątpiłam. Za to, że obserwując kolejne etapy mojej edukacji, nigdy nie przestaliście zachęcać mnie do zadawania pytań, poszukiwania odpowiedzi i rozwijania ciekawości świata. Wasza cierpliwość i zrozumienie pozwalały mi iść naprzód mimo zmęczenia, a Wasza miłość była dla mnie siłą, która prowadziła mnie przez wszystkie lata pracy. Wiem, że bez Was nie dotarłabym do tego miejsca. Ta praca jest odzwierciedleniem Waszego wsparcia i troski, a wdzięczność, którą do Was czuję, pozostanie ze mną na zawsze.

STRESZCZENIE

Ekspresja wybranych genów i białek związanych z odpowiedzią zapalną w reakcji na progresywny test do odmowy u sportowców wyczynowych i osób niećwiczących

Aktywność fizyczna stanowi kluczowy czynnik modulujący równowagę metaboliczną i immunologiczną organizmu, głównie poprzez generowanie kontrolowanego stresu fizjologicznego, który inicjuje kaskadę sygnałów odpowiedzialnych za przebudowę metaboliczną, adaptację tkankową i regulację odpowiedzi zapalnej. To właśnie ostry stres wysiłkowy wpływa na poziom krążących cytokin oraz ekspresję genów zaangażowanych w mechanizmy reagowania na stres, procesy zapalne i gospodarkę energetyczną. Regularny trening prowadzi do utrwalenia tych szlaków adaptacyjnych, dzięki czemu organizm reaguje na obciążenia bardziej efektywnie i z większą precyzją regulacyjną. Wśród markerów szczególnie istotnych dla oceny dynamiki stresu wysiłkowego znajdują się cytokiny pro- i przeciwzapalne (TNF-α, IL-4) oraz białka metaboliczne pełniące funkcje czujników stresu komórkowego (FGF21, GDF15), a także ich receptory. Dodatkowo, ocena odpowiedzi układu leukocytarnego – całkowitej liczby leukocytów, limfocytów i neutrofili – stanowi istotny element analizy immunologicznej reakcji na intensywny wysiłek i wynikający z niego stres fizjologiczny.

Celem niniejszej pracy była kompleksowa charakterystyka odpowiedzi molekularnej i immunologicznej na progresywny test wysiłkowy do odmowy u sportowców oraz osób niećwiczących. Analiza obejmowała oznaczenia stężeń białek FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 w osoczu metodą immunoenzymatyczną ELISA oraz ocenę ekspresji genów kodujących te białka i ich receptory (FGFR1, FGFR3, FGFR4, KLB, GFRAL, TNFR1, TNFR2, IL-4R) z wykorzystaniem ilościowej reakcji PCR w czasie rzeczywistym (RT-qPCR). Dodatkowo analizowano wybrane parametry hematologiczne – liczbę leukocytów, limfocytów i neutrofili – jako wskaźniki dynamiki odpowiedzi odpornościowej. Badaniem objęto 15 wytrenowanych sportowców i 15 osób nieaktywnych fizycznie, u których pobierano próbki krwi w sześciu punktach czasowych: przed wysiłkiem, bezpośrednio po jego zakończeniu oraz po 30 minutach, 6 godzinach, 24 godzinach i 48 godzinach. Test wysiłkowy stanowił progresywne obciążenie do odmowy, umożliwiające precyzyjną ocenę wydolności tlenowej.

Wyniki badań wykazały, że intensywny, jednorazowy wysiłek nie wpływa na ekspresję FGF21 i GDF15, natomiast u osób niećwiczących obserwuje się silniejszą i szybszą aktywację receptorów szlaku FGF21 (FGFR3, FGFR4, KLB), co wskazuje na większą wrażliwość stresową w porównaniu ze sportowcami. Profil ekspresji TNF-α i TNFR1 u osób nieaktywnych potwierdza dominację odpowiedzi prozapalnej, podczas gdy u sportowców brak zmian ekspresji genów zapalnych odzwierciedla działanie adaptacyjne regularnego treningu. Jednocześnie wyższe stężenia FGF21 i GDF15 w osoczu osób niećwiczących potwierdzają większe obciążenie metaboliczne i mitochondrialne wywołane wysiłkiem, natomiast spadek TNF-α po 48 godzinach u sportowców świadczy o sprawniejszym wygaszaniu reakcji zapalnej. Obniżenie stężenia IL-4 u osób niećwiczących sugeruje słabą odpowiedź przeciwzapalną w grupie bez adaptacji treningowej.

Wyniki świadczą o złożonej, dynamicznej odpowiedzi organizmu na wysiłek fizyczny, obejmującej zarówno zmiany ekspresji genów, jak i stężeń odpowiadających im białek, które różnią się między sportowcami a osobami niećwiczącymi. Uzyskane dane pozwalają lepiej zrozumieć mechanizmy regulacji metabolicznej, zapalnej i stresowej towarzyszącej obciążeniu fizycznemu oraz wskazują, które szlaki molekularne są szczególnie aktywowane w zależności od poziomu wytrenowania. Wyniki mogą być wykorzystane do projektowania spersonalizowanych programów treningowych, monitorowania adaptacji organizmu do wysiłku oraz identyfikacji biomarkerów przydatnych w ocenie wydolności i regeneracji.

SUMMARY

Expression of selected inflammatory response-related genes and proteins in response to a progressive exercise test to exhaustion in professional athletes and non-exercisers

Physical activity constitutes a key factor modulating the body's metabolic and immunological balance, primarily by generating controlled physiological stress that triggers a cascade of signals responsible for metabolic remodeling, tissue adaptation, and regulation of the inflammatory response. It is the acute exercise-induced stress that affects the levels of circulating cytokines and the expression of genes involved in stress-response mechanisms, inflammatory processes, and energy homeostasis. Regular training consolidates these adaptive pathways, enabling the body to respond to physical load more efficiently and with greater regulatory precision. Among the markers particularly important for assessing the dynamics of exercise-induced stress are pro- and anti-inflammatory cytokines (TNF-α, IL-4), metabolic proteins functioning as cellular stress sensors (FGF21, GDF15), as well as their receptors. In addition, the evaluation of the leukocyte response – including total leukocyte, lymphocyte, and neutrophil counts – is a crucial component of analyzing the immunological reaction to intense physical effort and the resulting physiological stress.

The aim of this study was to provide a comprehensive characterization of the molecular and immunological response to a progressive exercise test to exhaustion in trained athletes and physically inactive individuals. The analysis included the determination of plasma concentrations of FGF21, GDF15, TNF-α, and IL-4 using ELISA, as well as the assessment of gene expression of these proteins and their receptors (FGFR1, FGFR3, FGFR4, KLB, GFRAL, TNFR1, TNFR2, IL-4R) using quantitative real-time PCR (RT-qPCR). Selected hematological parameters – leukocyte, lymphocyte, and neutrophil counts – were also analyzed as indicators of immune response dynamics. The study involved 15 trained athletes and 15 physically inactive participants, from whom blood samples were collected at six time points: before exercise, immediately after completion, and after 30 minutes, 6 hours, 24 hours, and 48 hours. The exercise protocol consisted of a progressive test to exhaustion, allowing for precise evaluation of aerobic capacity.

The results showed that a single bout of intense exercise does not affect FGF21 and GDF15 expression; however, in non-trained individuals, a stronger and faster activation of FGF21 pathway receptors (FGFR3, FGFR4, KLB) was observed, indicating greater stress sensitivity compared with athletes. The expression profile of TNF-α and TNFR1 in inactive participants confirms a predominance of pro-inflammatory responses, whereas in athletes the absence of changes in inflammatory gene expression reflects the adaptive effects of regular training. At the same time, higher plasma levels of FGF21 and GDF15 in non-trained individuals confirm greater metabolic and mitochondrial strain induced by exercise, while a decrease in TNF-α after 48 hours in athletes indicates more efficient resolution of inflammation. The reduction in IL-4 concentration in non-exercisers suggests a weak anti-inflammatory response in the group without training adaptation.

The findings demonstrate a complex, dynamic response of the body to physical exercise, involving both changes in gene expression and protein levels, which differ between athletes and non-trained individuals. The collected data enhance understanding of the metabolic, inflammatory, and stress-related regulatory mechanisms accompanying physical exertion and identify molecular pathways particularly activated depending on training status. The results may be used to design personalized training programs, monitor physiological adaptation to exercise, and identify biomarkers useful for assessing performance and recovery.

Spis treści

WYKAZ SKRÓTÓW I SKRÓTOWCÓW 9

WSTĘP 12

1. Molekularne podstawy odpowiedzi zapalnej na wysiłek fizyczny 13

1.1. Rola wybranych cytokin prozapalnych w odpowiedzi na wysiłek fizyczny 18

1.2. Rola wybranych cytokin przeciwzapalnych w odpowiedzi na wysiłek fizyczny 19

2. Wpływ wytrenowania fizycznego na odpowiedź zapalną 20

2.1. Metody oceny wytrenowania sportowców 20

2.2. Prozdrowotny efekt regularnej aktywności fizycznej 24

3. Teoretyczne podstawy podjęcia tematu 25

3.1. Czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF-α) 28

3.2. Interleukina 4 (IL-4) 31

3.3. Czynnik wzrostu fibroblastów 21 (FGF21) 32

3.4. Czynnik różnicowania wzrostu 15 (GDF15) 34

CEL I HIPOTEZY BADAWCZE 37

MATERIAŁY I METODY 39

1. Kwalifikacja uczestników badań 39

2. Progresywny test do odmowy 41

3. Pobranie materiału biologicznego 42

4. Analizy laboratoryjne 43

5. Przygotowanie materiału 44

6. Izolacja całkowitego RNA 44

7. Synteza cDNA 45

8. Real-time PCR 46

9. Test immunoenzymatyczny (ELISA) 47

10. Analiza statystyczna 48

WYNIKI BADAŃ 49

1. Charakterystyka grup 49

2. Wyniki badań krwi 51

3. Ekspresja genów 56

3.1. Porównanie ekspresji genów między grupami 56
3.2. Porównanie ekspresji genów między punktami czasowymi 61
4. Stężenia białek w osoczu krwi obwodowej 67
5. Analiza korelacji 73
5.1. Korelacja genów oraz kodowanych przez nie białek 73
5.2. Korelacja wskaźników leukocytarnych oraz cytokin pro- i przeciwzapalnych 75

DYSKUSJA 80

WNIOSKI 96

BIBLIOGRAFIA 98

WYKAZ TABEL 120

WYKAZ RYCIN 122

ZAŁĄCZNIKI 126

WYKAZ SKRÓTÓW I SKRÓTOWCÓW

Skrót/ skrótowiec	Rozwinięcie nazwy	Nazwa w języku polskim
AMP	*adenosine monophosphate*	adenozynomonofosforan
AMPK	*adenosine monophosphate-activated protein kinase*	kinaza białkowa aktywowana adenozyno-5'monofosforanem
AMT	*adaptive microtrauma*	adaptacyjny mikrouraz
ATP	*adenosine triphosphate*	adenozynotrifosforan
CaMKII	*Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase II*	kinaza typu II zależna od wapnia i kalmoduliny
CP	*critical power*	krytyczna moc
CS	*critical speed*	krytyczna prędkość
CSF	*colony stimulating factors*	czynnik stymulujący kolonie
CSIF	*cytokine synthesis inhibitory factor*	czynnik hamujący syntezę cytokin
CT	*treshold cycle*	cykl progowy
DAMPs	*danger/damage associated molecular patterns*	wzorce molekularne związane z uszkodzeniem tkanek
DM2	*diabetes mellitus type 2*	cukrzyca typu 2
EDTA	*ethylenediaminetetraacetic acid*	kwas etylenodiaminotetraoctowy/kwas wersenowy/wersenian dwusodowy
ELISA	*enzyme-linked immunosorbent assay*	test immunoenzymatyczny
FGF21	*fibroblast growth factor 21*	czynnik wzrostu fibroblastów 21
FGFR	*fibroblast growth factor receptor*	receptory dla czynników wzrostu fibroblastów
GDF15	*growth differentiation factor 15*	czynnik różnicowania wzrostu 15
GF	*growth factor*	czynnik wzrostu
GFRAL	*GDNF family receptor alpha like*	receptor alfa podobny do receptora z rodziny GDNF
GPAQ	*global physical activity questionnaire*	Globalny Kwestionariusz Aktywności Fizycznej
HRmax	*maximum heart rate*	maksymalne tętno

HRR	*heart rate recovery*	szybkość normalizacji tętna
HRV	*heart rate variability*	zmienność rytmu serca
IFN	*interferon*	interferon
IL	*interleukin*	interleukina
JAK/STAT3	*Janus-activated kinase/signal transducer and activator of transcription*	kinaza janusowa/przekaźnik sygnału i aktywator transkrypcji
KLB	*β-Klotho*	β-Klotho
LPS	*lipopolysaccharide*	lipopolisachryd
LYM	*lymphocytes*	limfocyty
MCP-1	*monocyte chemoattractant protein-1*	białko chemotaktyczne monocytów
MIP-1	*macrophage inflammatory protein-1*	białko zapalne makrofagów
MLSS	*maximal lactate steady state*	maksymalny stan równowagi mleczanowej
MV	*minute ventilation*	wentylacja minutowa płuc
mTORC1	*mammalian target of rapamycin complex 1*	kompleks 1 kinazy mTOR
NAFLD	*nonalcoholic fatty liver disease*	niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby
NEU	*neutrophils*	neutrofile
NF-κB	*nuclear factor kappa B*	jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B
OTS	*overtraining syndrome*	zespół przetrenowania
p38 MAPK	*p38 mitogen-activated protein kinase*	kinaza białkowa aktywowaną mitogenem p38
PA	*phosphatidic acid*	kwas fosfatydowy
PAMPs	*pathogen-associated molecular patterns*	wzorce molekularne związane z patogenami
PBMC	*peripheral blood mononuclear cells*	jednojądrzaste komórki krwi obwodowej
Rf	*respiratory frequency*	częstość oddechów na minutę
ROS	*reactive oxygen species*	reaktywne formy tlenu

RT-qPCR	*quantitative real-time polymerase chain reaction*	ilościowa łańcuchowa reakcja polimerazy w czasie rzeczywistym
RQ	*respiratory quotient*	stosunek objętości wydychanego CO_2 do objętości pobranego tlenu
SIRT1	*sirtuin 1*	sirtuina 1
TGF-β1	transforming growth factor-beta 1	transformujący czynnik wzrostu β1
TNF	*tumor necrosis factor*	czynnik martwicy nowotworu
TNFR	*tumor necrosis factor receptor*	receptory czynnika martwicy nowotworu
WAnT	*Wingate anaerobic test*	beztlenowy test Wingate
WBC	*white blood cells*	leukocyty
VO_2max	*maximal oxygen uptake*	maksymalny pobór tlenu

WSTĘP

Aktywność fizyczna to każdy rodzaj ruchu wykonywany przez mięśnie szkieletowe, który prowadzi do zwiększonego zużycia energii w porównaniu do poziomu spoczynkowego. W codziennym życiu można wyróżnić różne formy aktywności fizycznej, takie jak aktywność związana z pracą zawodową, sportem, utrzymaniem kondycji, obowiązkami domowymi czy inne formy ruchu [1,2]. Ćwiczenia fizyczne stanowią szczególną kategorię aktywności. Są one celowo zaplanowane, uporządkowane i wykonywane wielokrotnie, a ich głównym lub pośrednim celem jest rozwijanie bądź podtrzymywanie sprawności fizycznej. Z kolei sprawność fizyczna to zespół cech związanych ze zdrowiem lub zdolnościami motorycznymi, które można obiektywnie ocenić przy użyciu standaryzowanych testów [1]. Rodzaje wysiłku fizycznego można wyróżniać, uwzględniając kilka kluczowych kryteriów: typ wykonywanych skurczów mięśniowych, stopień intensywności i długość trwania aktywności, a także rozległość zaangażowania grup mięśniowych – od lokalnych po ogólnoustrojowe [3]. Taki podział pozwala lepiej zrozumieć specyfikę obciążeń nakładanych na organizm podczas różnych form aktywności.

Regularna aktywność fizyczna niesie ze sobą liczne korzyści, zarówno dla zdrowia fizycznego, jak i psychicznego [4]. Udowodniono, że systematyczne ćwiczenia pozytywnie wpływają na funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego, co przekłada się na mniejsze ryzyko wystąpienia chorób serca, udaru mózgu oraz nadciśnienia tętniczego [5]. Ruch sprzyja również poprawie mineralizacji kości, dzięki czemu zmniejsza się prawdopodobieństwo rozwoju osteoporozy oraz związanych z nią złamań [6]. Dodatkowo aktywność fizyczna wspiera utrzymanie prawidłowej masy ciała [7], zwiększa wrażliwość tkanek na insulinę [8] i ogranicza ryzyko zachorowania na cukrzycę typu 2 (ang. diabetes mellitus type 2, DM2) [9]. Nie można także pominąć wpływu ćwiczeń na zdrowie psychiczne. Liczne badania wskazują, że aktywność fizyczna przyczynia się do redukcji objawów depresji i lęku [10], poprawia nastrój oraz zdolności poznawcze [11], a także może zmniejszyć ryzyko zaburzeń neurodegeneracyjnych, takich jak demencja [12]. Regularne ćwiczenia sprzyjają również lepszej jakości snu oraz obniżeniu poziomu odczuwanego stresu [13].

W istocie, aktywność fizyczna, zwłaszcza wysiłek o dużej intensywności, działa jak kontrolowany stres fizjologiczny: mobilizuje układ nerwowy i hormonalny, angażuje

oś współczulną oraz oś podwzgórze-przysadka-nadnercza, a także uruchamia odpowiedź immunologiczną związaną z podwyższoną mobilizacją leukocytów i wydzielaniem cytokin [14–16]. Ten „stres" powoduje adaptacje na poziomie komórkowym i układowym, a w dłuższym okresie treningu prowadzi do uodpornienia organizmu, lepszej regulacji gospodarki energetycznej i przeciwzapalnej oraz zwiększonej odporności immunologicznej. Dlatego regularny trening warunkuje nie tylko korzyści zdrowotne, ale również rozwój mechanizmów adaptacyjnych pozwalających przystosować się do obciążeń i minimalizować ryzyko przewlekłego stanu zapalnego [14,17].

Wraz z rosnącą popularnością ćwiczeń fizycznych, w środowisku naukowym coraz większy nacisk kładzie się na identyfikację rzetelnych biomarkerów, które umożliwią ocenę efektywności różnych programów treningowych. Biomarkery, definiowane jako mierzalne wskaźniki przebiegu procesów biologicznych, dostarczają istotnych informacji na temat oddziaływania aktywności fizycznej na organizm [18]. Kluczowe jest stosowanie wiarygodnych wskaźników, które pozwolą dostosować program treningowy do indywidualnych potrzeb osoby badanej i zmaksymalizować korzyści zdrowotne. Analiza biomarkerów przed planowanym treningiem i po jego zakończeniu umożliwia zweryfikowanie, które rodzaje ćwiczeń wywołują najbardziej pożądane zmiany biologiczne. Co więcej, dzięki systematycznemu monitorowaniu poziomów biomarkerów możliwe jest śledzenie progresu w czasie i zwracanie uwagi na subtelne, lecz istotne dokonania wynikające z regularnej pracy. Obecnie wykorzystuje się rozmaite biomarkery, w tym fizjologiczne takie jak tętno, ciśnienie tętnicze czy VO_2 max, biochemiczne, obejmujące cytokiny i hormony oraz markery metaboliczne [19–21]. Niemniej jednak stale poszukuje się bardziej precyzyjnych i czułych wskaźników, które pozwolą na dokładniejsze określenie wpływu ćwiczeń na procesy fizjologiczne i molekularne. W świetle najnowszych badań cytokiny jawią się jako szczególnie obiecujące biomarkery. Pełnią funkcję cząsteczek sygnałowych w procesach zapalnych i immunologicznych, a ich stężenie ulega dynamicznym zmianom w odpowiedzi na aktywność fizyczną [22].

1. Molekularne podstawy odpowiedzi zapalnej na wysiłek fizyczny

W ostatnich latach coraz większą uwagę zwraca się na koncepcję, według której długofalowe adaptacje organizmu do wysiłku fizycznego są w dużej mierze konsekwencją powtarzających się, krótkotrwałych zmian molekularnych zachodzących

po każdej sesji treningowej. Te przejściowe odpowiedzi komórkowe i zmiany w ekspresji genów, choć pozornie ulotne, kumulują się z biegiem czasu, prowadząc do trwałych modyfikacji w obrębie procesów syntezy i degradacji białek, co ostatecznie sprzyja przebudowie i adaptacji mięśni szkieletowych oraz poprawie ich funkcji wysiłkowej [23]. Każdy bodziec treningowy może więc być postrzegany jako impuls biologiczny inicjujący sygnalizację komórkową i szlaki transkrypcyjne, które przy odpowiedniej częstotliwości prowadzą do modyfikacji strukturalnych i funkcjonalnych [24,25].

Pomimo znacznych postępów w identyfikowaniu szlaków komórkowych i molekularnych aktywowanych przez różne formy wysiłku fizycznego, takich jak kinazy sygnałowe, czynniki transkrypcyjne czy cząsteczki sygnalizacyjne, wciąż nie ma możliwości określenia pełnego obrazu tego, jak te procesy przekładają się na konkretną poprawę zdolności wysiłkowych [26]. Wydaje się, że zależności między sygnalizacją wewnątrzkomórkową a parametrami fizjologicznymi osiąganymi w wyniku treningu są znacznie bardziej złożone, niż wcześniej sądzono, i mogą zależeć od licznych zmiennych, takich jak intensywność, objętość, typ wysiłku, a także od indywidualnych cech organizmu. W efekcie, choć znanych jest coraz więcej detali molekularnych odpowiedzi na wysiłek, pełne zrozumienie mechanizmów, które warunkują poprawę wydolności, pozostaje nadal wyzwaniem dla nauki. Złożoność interakcji pomiędzy sygnalizacją wewnątrzkomórkową, parametrami wysiłkowymi i indywidualnymi cechami organizmu utrudnia określenie, w jakim stopniu konkretne szlaki przekładają się na zmiany wydolności fizycznej.

Wysiłek aktywuje liczne procesy, w tym biogenezę mitochondriów, angiogenezę, reorganizację metabolizmu oraz regulację immunologiczną, których integracja kształtuje fizjologiczną adaptację [27–29]. Zwiększone obciążenie mechaniczne mięśni prowadzi do hipertrofii [30], której podstawą jest aktywacja szlaków inicjujących syntezę białek. Intensywny wysiłek uruchamia liczne procesy, z których kluczową rolę odgrywa aktywacja szlaku mTORC1 (ang. mammalian target of rapamycin complex 1, kompleks 1 kinazy mTOR), regulującego translację mRNA kodującego białka strukturalne i enzymatyczne [31]. Mechanizmy aktywacji mTORC1 obejmują m.in. gromadzenie kwasu fosfatydowego (PA) [31–34] oraz przemieszczanie tuberyny, co umożliwia interakcję z GTP-azą Rheb i inicjowanie translacji zależnej od czapeczki [35,36]. Centralnymi efektorami tych procesów są kinaza $p70^{S6K}$ oraz białko 4E-BP1 (ang. 4E binding protein), modulujące inicjację translacji [37].

Z kolei wysiłek wytrzymałościowy aktywuje odmienne szlaki wynikające z zaburzeń homeostazy energetycznej i zmian redoks. Kluczowe znaczenie mają tu m.in. szlak kinazy typu II zależnej od wapnia i kalmoduliny (ang. Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMKII), kinaza białkowa aktywowanej przez AMP (ang. adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK), kinaza białkowa aktywowana mitogenem p38 (ang. p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK) oraz sirtuina 1 (SIRT1), których sygnały integrują się na poziomie koaktywatora PGC-1α (ang. peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha), prowadząc do zwiększenia potencjału oksydacyjnego mięśni [27,38–40]. Choć wiele z tych mechanizmów potwierdzono *in vitro*, część wymaga dalszego potwierdzenia w badaniach z udziałem ludzi.

Jednakże intensywny lub nieregularny wysiłek fizyczny, zwłaszcza u osób niewytrenowanych może generować nadmierną produkcję reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS), prowadząc do stresu oksydacyjnego i uszkodzeń komórkowych [41]. ROS aktywują liczne szlaki sygnalizacyjne, w tym NF-κB (ang. Nuclear Factor kappa B, NF-κB) – kluczowy regulator ekspresji genów zapalnych [42].

Podczas wysiłku fizycznego aktywowana jest odpowiedź zapalna, której zadaniem jest eliminacja uszkodzeń tkankowych i uruchomienie procesów naprawczych [43–45]. Kluczową rolę w uruchamianiu mechanizmów odpowiedzi zapalnej odgrywają cytokiny oraz ich receptory [46]. Cytokiny to zróżnicowana grupa cząsteczek sygnałowych, które można podzielić na wiele różnych typów, z których każda ma unikalne funkcje i wpływ na organizm. Spośród cytokin wyróżniamy: interleukiny (ang. interleukins, IL), czynnik martwicy nowotworu (ang. tumor necrosis factor, TNF), interferony (ang. interferone, IFN), chemokiny, czynniki stymulujące kolonie (ang. colony stimulating factors, CSF) i czynniki wzrostu (ang. growth factors, GF) [47]. W literaturze często klasyfikuje się je również ze względu na miejsce ich wydzielania – jako miokiny (produkowane przez mięśnie), adipokiny (przez tkankę tłuszczową), hepatokiny (przez wątrobę) czy cytokiny zapalne (o działaniu pro- lub przeciwzapalnym) [48]. Warto jednak podkreślić, że jeden i ten sam mediator może należeć do kilku kategorii jednocześnie. Przykładowo, interleukina-6 (IL-6) może być klasyfikowana zarówno jako miokina (wydzielana przez mięśnie w odpowiedzi na wysiłek), jak i cytokinę zapalną (uczestniczącą w odpowiedzi immunologicznej) [49]. Przynależność cytokiny do danej grupy zależy od kontekstu fizjologicznego lub patologicznego, w którym jest ona wydzielana, a także od dominującego źródła jej produkcji w danym

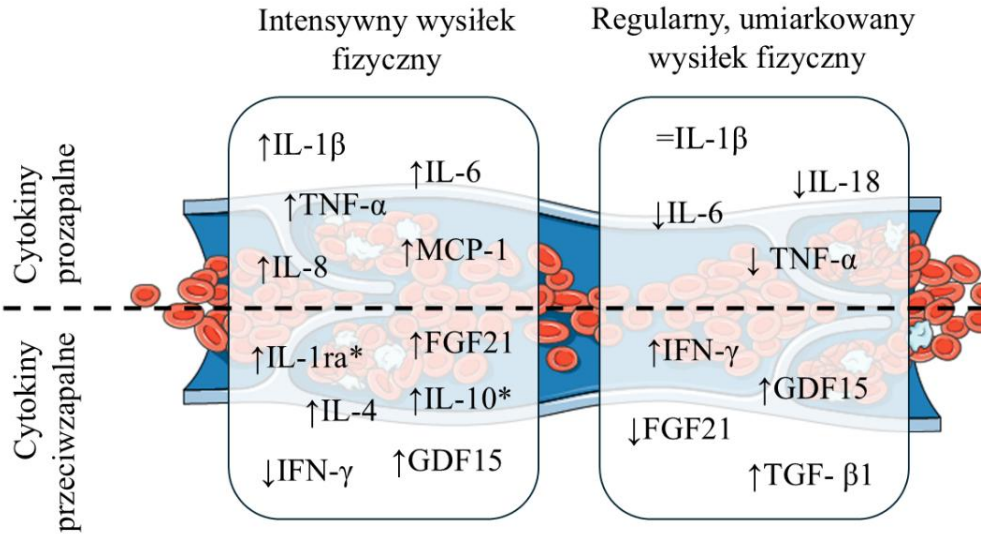
stanie [50]. Podstawą do takiej klasyfikacji są wyniki badań eksperymentalnych (*in vitro* i *in vivo*), które określają ekspresję genów, poziomy białka w konkretnych tkankach oraz dynamikę ich zmian pod wpływem określonych bodźców, takich jak wysiłek fizyczny, głód, stres czy stany zapalne. Dlatego przy analizie funkcji cytokin ważne jest uwzględnienie zarówno ich źródła, jak i działania biologicznego, ponieważ to właśnie kontekst determinuje ich rolę i przynależność funkcjonalną.

W kontekście odpowiedzi fizjologicznej na wysiłek fizyczny należy podkreślić, że choć cytokiny mogą być syntetyzowane przez różnorodne komórki organizmu, to mięśnie szkieletowe stanowią ich główne źródło podczas aktywności fizycznej [51,52]. W ostatnich latach mięśnie szkieletowe zyskały miano narządu o funkcji endokrynnej, ponieważ w odpowiedzi na skurcz mięśniowy syntetyzują i wydzielają szereg cytokin określanych właśnie mianem miokin. Dotychczas zidentyfikowano ponad 3000 takich związków, w tym interleukiny IL-6, IL-7, IL-15 oraz miostatynę, które są produkowane przez miocyty [52,53]. Miokiny wykazują głównie działanie lokalne poprzez mechanizmy autokrynne i parakrynne, jednakże niektóre z nich mogą również oddziaływać systemowo, pełniąc funkcje endokrynne i modulując aktywność metaboliczną oraz immunologiczną w odległych narządach [54]. Koncepcja mięśni szkieletowych jako dynamicznego narządu wydzielniczego otworzyła nową perspektywę badawczą w dziedzinie fizjologii i immunologii wysiłku fizycznego.

Utrzymanie równowagi pomiędzy reakcjami prozapalnymi a przeciwzapalnymi stanowi jeden z fundamentalnych mechanizmów regulacyjnych zapewniających homeostazę układu odpornościowego. Odpowiedź zapalna jest niezbędna dla eliminacji patogenów i naprawy uszkodzonych tkanek, jednak jej nadmierna lub przewlekła aktywacja może prowadzić do rozwoju stanów patologicznych, takich jak insulinooporność, miażdżyca, czy choroby autoimmunologiczne [55–57]. W kontekście intensywnej aktywności fizycznej, odpowiedź zapalna wykazuje charakter dwufazowy.

Wysiłek fizyczny o charakterze intensywnym lub długotrwałym, stymuluje wzmocnione uwalnianie cytokin prozapalnych, podczas gdy zwiększone uwalnianie cytokin przeciwzapalnych jest zjawiskiem wtórnym [58]. Wyniki licznych badań poświęconych intensywnym formom wysiłku fizycznego, takim jak maraton, ultramaraton czy wielogodzinna jazda na rowerze, wskazują na charakterystyczny profil odpowiedzi zapalnej, potwierdzający dominację cytokin prozapalnych we wczesnej fazie reakcji organizmu [47]. W trakcie takich obciążeń obserwuje się istotny wzrost stężeń mediatorów zapalnych, w tym IL-1β [59], IL-6 [60–62], IL-8 [62,63], białka

chemotaktycznego monocytów (ang. monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) [64,65], białka zapalnego makrofagów (ang. macrophage inflammatory protein-1, MIP-1) [63] oraz czynnika martwicy nowotworów alfa (ang. tumor necrosis factor alpha, TNF-α) [66], co jest wynikiem aktywacji szlaków odpowiedzi nieswoistej i rekrutacji komórek układu odpornościowego do tkanek objętych mikrourazami [67]. Następstwem tej reakcji jest wtórna aktywacja układu przeciwzapalnego, przejawiająca się zwiększonym wydzielaniem cytokin takich jak IL-1ra [62,68] i IL-10 [61,62], których funkcją jest ograniczenie nadmiernej odpowiedzi zapalnej i przywracanie homeostazy [69]. Tutaj przejawia się plejotropowe działanie IL-6, która uwalniana z mięśni szkieletowych z jednej strony promuje odpowiedź zapalną, z drugiej aktywuje uwalnianie IL-10 i IL-1ra, wykazując tym samym działanie przeciwzapalne [70]. Dodatkowo, niektóre badania wskazują, że poziom interferonu gamma (IFN-γ), znanego z działania immunomodulującego i przeciwzapalnego, obniża się po jednorazowym wysiłku o wysokiej intensywności [71], co może wskazywać na przejściową supresję odporności komórkowej w fazie powysiłkowej.



Rycina 1. Graficzna reprezentacja wpływu pojedynczego intensywnego wysiłku fizycznego i regularnego umiarkowanego wysiłku fizycznego na poziom wydzielania cytokin pro- i przeciwzapalnych (↑ – zwiększone stężenie; ↓ – zmniejszone stężenie; = – brak zmian w stężeniu). Ilustracja została częściowo wygenerowana przy użyciu programu Servier Medical Art, dostarczonego przez firmę Servier, na licencji Creative Commons Attribution 3.0 unported (wykonanie własne, źródło: [47])

Jednak intensywność wysiłku ma duży wpływ na odpowiedź immunologiczną. Umiarkowana aktywność (aerobowa lub oporowa) sprzyja dominacji procesów przeciwzapalnych, w przeciwieństwie do wysiłku o wysokiej intensywności. Badania

wykazały wzrost ekspresji cytokin przeciwzapalnych, takich jak IL-1ra [72,73], IL-2 [74], IL-4 [72], IL-13 [72] i IFN-γ [71,75], oraz zmniejszone wydzielanie cytokin prozapalnych takich jak IL-18 [76], IL-6 [77] oraz TNF-α [78]. Schemat wydzielania cytokin pro- i przeciwzapalnych podczas zarówno intensywnego, jak i umiarkowanego wysiłku fizycznego został przedstawiony na rycinie 1, która powstała na podstawie dostępnej literatury.

Regularna aktywność fizyczna stanowi istotną formę interwencji niefarmakologicznej, wykazującą korzystny wpływ na funkcjonowanie mikrokrążenia [79–81]. Wyniki wielu badań naukowych wskazują, że zarówno trening aerobowy, oporowy, jak i ćwiczenia realizowane w warunkach hipoksji czy w ramach funkcjonalnej aktywności fizycznej, skutecznie poprawiają zdolność adaptacyjną naczyń mikrokrążenia oraz ograniczają ryzyko jego dysfunkcji, szczególnie w kontekście starzenia się organizmu i chorób przewlekłych [82–85]. Warto jednak zaznaczyć, że pojedyncze sesje intensywnych ćwiczeń u osób nieaktywnych mogą wywoływać przejściową dysfunkcję śródbłonka mikronaczyniowego. Odmienną odpowiedź obserwuje się u osób regularnie trenujących oporowo, u których funkcja rozszerzania naczyń zostaje zachowana nawet w warunkach obciążenia fizycznego, co potwierdza zdolność adaptacyjną układu naczyniowego do bodźców treningowych [86]. Korzyści te wynikają z aktywacji wielu szlaków fizjologicznych, w tym obniżenia poziomu mediatorów stanu zapalnego i redukcji stresu oksydacyjnego, co jest jedną z kluczowych dróg łagodzenia dysfunkcji mikrokrążenia przez aktywność fizyczną [87].

1.1. Rola wybranych cytokin prozapalnych w odpowiedzi na wysiłek fizyczny

Wysiłek fizyczny o dużej intensywności stanowi istotny bodziec fizjologiczny, prowadzący do przejściowej aktywacji układu odpornościowego, w tym nasilenia ekspresji cytokin prozapalnych. Molekuły te pełnią kluczową funkcję w inicjowaniu i modulowaniu odpowiedzi zapalnej, która warunkuje adaptację ustroju do obciążeń treningowych. Ich działanie wpływa nie tylko na przebieg lokalnych procesów zapalnych i naprawczych w obrębie tkanki mięśniowej, ale także na regulację odpowiedzi ogólnoustrojowej, w tym aktywność szlaków metabolicznych i immunologicznych. Charakterystyka ekspresji poszczególnych cytokin w odpowiedzi na wysiłek może dostarczać cennych informacji o fizjologicznych mechanizmach adaptacyjnych oraz różnicach indywidualnych pomiędzy osobami aktywnymi fizycznie a nieaktywnymi.

Badania nad wpływem wysiłku fizycznego na ekspresję i stężenie cytokin prozapalnych wskazują na znaczną zmienność odpowiedzi organizmu w zależności od rodzaju, intensywności i czasu trwania aktywności oraz stopnia wytrenowania uczestników. Jednocześnie część z tych mediatorów, takich jak IL-6 czy TNF-α, została już stosunkowo dobrze poznana, a ich reakcje na wysiłek fizyczny są relatywnie dobrze udokumentowane. Pozwala to nie tylko na zrozumienie podstawowych mechanizmów odpowiedzi zapalnej indukowanej wysiłkiem, ale także na identyfikację różnic indywidualnych i specyfiki reakcji w zależności od charakteru i intensywności obciążenia. IL-1β i IL-18, aktywowane m.in. przez inflamasom, nasilają przepuszczalność śródbłonka, rekrutację leukocytów i odpowiedź typu Th1, wykazując po wysiłku zróżnicowane zmiany stężenia zależne od intensywności i wytrenowania [66,88–91,91–104]. IL-6 silnie wzrasta podczas wysiłku i wpływa na regulację metabolizmu, produkcję białek ostrej fazy i aktywację limfocytów, a jej odpowiedź zależy od czasu trwania i obciążenia [60,62,64,66,105–115]. MCP-1, indukowana w mięśniach i śródbłonku, kieruje migracją monocytów do tkanek uszkodzonych, wspierając regenerację i przebudowę mięśni, a jej poziom wzrasta po ćwiczeniach w zależności od rodzaju i intensywności wysiłku [64,65,116–120]. IL-8 z kolei odpowiada za rekrutację neutrofili i powstaje zarówno systemowo, jak i lokalnie w mięśniach, wykazując nawet wielokrotny wzrost po wysiłkach wytrzymałościowych oraz uczestnicząc w angiogenezie i adaptacjach treningowych [62,63,121–123].

1.2. Rola wybranych cytokin przeciwzapalnych w odpowiedzi na wysiłek fizyczny

Odpowiedź immunologiczna wywołana intensywnym wysiłkiem fizycznym obejmuje nie tylko przejściowe nasilenie procesów prozapalnych, lecz także aktywację mechanizmów kompensacyjnych o charakterze przeciwzapalnym. Cytokiny przeciwzapalne oraz ich receptory odgrywają kluczową rolę w ograniczaniu nadmiernej reakcji zapalnej oraz w przywracaniu homeostazy immunologicznej po zakończeniu wysiłku. Molekuły te mogą modulować aktywność komórek układu odpornościowego, hamować produkcję cytokin prozapalnych oraz wspierać procesy regeneracyjne w obrębie uszkodzonych tkanek. Równowaga pomiędzy cytokinami pro- i przeciwzapalnymi uznawana jest za istotny wyznacznik jakości odpowiedzi adaptacyjnej na obciążenie fizyczne.

Dotychczasowe badania jednoznacznie wskazują, że odpowiedź przeciwzapalna indukowana wysiłkiem fizycznym cechuje się znaczną zmiennością, zależną od rodzaju,

intensywności i czasu trwania aktywności, a także poziomu wytrenowania osób badanych. W literaturze szeroko opisano reakcje kilku kluczowych cytokin, takich jak IL-1ra, IL-4, IL-10, IFN-γ czy transformujący czynnik wzrostu beta 1 (ang. transforming growth factor-beta 1, TGF-β1), których zmiany po wysiłku są stosunkowo dobrze udokumentowane i stanowią fundament współczesnego rozumienia immunologicznych mechanizmów adaptacji do aktywności fizycznej. IL-1ra, jako endogenny antagonista IL-1β, szybko wzrasta po intensywnym wysiłku i ogranicza nadmierną kaskadę prozapalną, przy czym jego odpowiedź jest przejściowa i szczególnie nasilona w sportach wytrzymałościowych [62,68,124,125]. IL-10, hamująca liczne cytokiny prozapalne, zwiększa się głównie po długotrwałym obciążeniu i osiąga szczyt w fazie regeneracji, a jej indukcja jest silnie zależna od czasu trwania wysiłku oraz wtórnej stymulacji przez IL-6 [61,62,64,126–130]. IFN-γ, tradycyjnie uznawany za cytokinę prozapalną, rozważany jest jako cytokina przeciwzapalna w kontekście wysiłku fizycznego oraz niskich stężeń tego białka [71]. Wykazano, że po pojedynczym wysiłku ulega obniżeniu, lecz regularny trening prowadzi do jego stopniowego wzrostu, co wskazuje na korzystną, długoterminową immunomodulację wynikającą z systematycznej aktywności fizycznej [71,75,131–135]. TGF-β1 natomiast wykazuje złożoną, zależną od obciążenia odpowiedź: umiarkowany wysiłek zwykle podnosi jego poziom, intensywny może powodować chwilowy spadek, a regularna aktywność zwiększa wartości wyjściowe, odzwierciedlając równowagę między zapaleniem, regeneracją i adaptacją wysiłkową [136–140]. Wspólnie cytokiny te stabilizują środowisko zapalne, umożliwiają efektywną regenerację i chronią przed przeciążeniem immunologicznym związanym z wysiłkiem fizycznym.

2. Wpływ wytrenowania fizycznego na odpowiedź zapalną

2.1. Metody oceny wytrenowania sportowców

Aby w sposób rzetelny analizować wpływ wytrenowania organizmu na odpowiedź zapalną, w pierwszej kolejności konieczne jest precyzyjne określenie samego poziomu wytrenowania. Pojęcie to nie odnosi się wyłącznie do ogólnej sprawności fizycznej, lecz obejmuje złożony zespół adaptacji fizjologicznych, biochemicznych i funkcjonalnych, które rozwijają się pod wpływem systematycznego treningu. Dopiero znajomość metod pozwalających na obiektywną ocenę wydolności i stanu przygotowania sportowca umożliwia interpretację mechanizmów odpowiedzi immunologicznej

i metabolicznej w kontekście wysiłku fizycznego. W tym celu stosuje się szereg wskaźników, zarówno bezpośrednio związanych z układem krążeniowo-oddechowym, jak i pośrednich, odzwierciedlających adaptacje metaboliczne, które łącznie tworzą obraz poziomu wytrenowania sportowca.

Kluczowym wskaźnikiem zdolności organizmu do wysiłku tlenowego jest maksymalny pobór tlenu (ang. maximal oxygen uptake, VO_2max), definiowany jako najwyższa szybkość zużycia tlenu przez organizm podczas wysiłku o narastającej intensywności [141]. VO_2max koreluje z wydolnością tlenową i u sportowców zwykle rośnie wraz z poziomem treningu wytrzymałościowego; u zawodników wysokokwalifikowanych osiąga wartości skrajne warunkowane zarówno adaptacją treningową, jak i predyspozycją genetyczną. Ograniczenia VO_2max obejmują m.in. pojemność transportu tlenu, pojemność minutową serca i dyfuzję w mięśniu, co odzwierciedla złożoność tego fenotypu wydolnościowego [142].

Kolejną osią oceny są progi wentylacyjne (VT1/VT2) i ich odpowiedniki metaboliczne, w szczególności próg mleczanowy wyznaczany metodami krwiopochodnymi oraz koncepcja maksymalnego stanu równowagi mleczanowej (ang. maximal lactate steady state, MLSS). Próg gazometryczny wyznacza się na podstawie punktów nieproporcjonalnego wzrostu wentylacji względem poboru tlenu i produkcji dwutlenku węgla, co odzwierciedla narastający udział glikolizy beztlenowej i buforowania kwasicy wysiłkowej [143]. MLSS, wyrażające najwyższą stałą intensywność wysiłku bez systematycznego narastania mleczanu, podobnie wzrasta wraz z adaptacją treningową. Przykładowo, w biegu trwającym 12 minut, prowadzonym przy optymalnej intensywności, dochodzi zazwyczaj do przekroczenia progu niekompensowanej kwasicy metabolicznej. Skutkuje to wyraźnym wzrostem stężenia mleczanu we krwi, większym niż w przypadku wysiłków o krótszym czasie trwania [141,144].

W ostatnich dekadach ugruntowała się rola krytycznej mocy/prędkości (critical power, CP; critical speed, CS) jako parametru integrującego tolerancję wysiłku ciężkiego i bardzo ciężkiego. CP/CS wyznacza granicę intensywności, powyżej której zasoby energetyczne i tolerancja zmęczenia ulegają szybkiemu wyczerpaniu; towarzyszący jej parametr W′ (lub D′) opisuje skończony „zasób pracy” możliwy do wykonania powyżej CP/CS. Wytrenowanie wytrzymałościowe zwiększa zarówno CP/CS, jak i ekonomię wykorzystania W′, co przekłada się na dłuższy czas do wyczerpania przy wysiłkach nadprogowych. CP/CS pozostaje ściśle powiązana z fizjologią transportu i zużycia tlenu,

kinetyką VO_2 i metabolizmem fosfokreatyny, stanowiąc czuły wskaźnik zmian treningowych [145].

Parametry gazometrii oddechowej i ich pochodne dostarczają dalszych informacji o wytrenowaniu. Prędkość/ moc na VO_2max (vVO_2max/PVO_2max) określa minimalną prędkość lub moc, przy której osiągany jest VO_2max; wzrost vVO_2max przy niezmienionym VO_2max odzwierciedla poprawę ekonomii i tolerancji wysiłku ciężkiego [146]. Z kolei kinetyka VO_2 (szybkość narastania poboru tlenu po rozpoczęciu wysiłku) u sportowców wytrzymałościowych jest szybsza, co zmniejsza wczesne poleganie na glikolizie beztlenowej i akumulację metabolitów zmęczenia [147]. Dopełnieniem są wskaźniki wentylacyjne, takie jak równoważniki VE/VO_2 i VE/VCO_2 [148], czy iloraz wymiany oddechowej (RER/RQ) [149], które charakteryzują koszty wentylacyjne i strategię metaboliczną wraz ze wzrostem intensywności; korzystniejsze profile obserwuje się u osób bardziej wytrenowanych.

Cennym markerem określającym poziom wytrenowania jest tzw. ekonomia ruchu/pracy fizycznej (exercise economy), rozumiana jako koszt tlenowy submaksymalnej prędkości lub mocy. Lepsza ekonomia oznacza niższe zużycie tlenu przy tej samej intensywności i często różnicuje zawodników o podobnym VO_2max. Na ekonomię wpływają m.in. cechy neuromięśniowe, sprężystość układu ścięgnisto-mięśniowego, technika i warunki środowiskowe; korzystniejsze wartości stwierdza się u zawodników bardziej zaawansowanych treningowo [150]. Na poziom ekonomii ruchu wpływają zarówno czynniki wewnętrzne, takie jak właściwości neuromięśniowe, sprężystość ścięgien i mięśni, aktywacja włókien mięśniowych, jak i czynniki zewnętrzne, w tym technika ruchu, biomechanika oraz warunki środowiskowe (np. temperatura, nawierzchnia) [151,152]. U zawodników o wyższym poziomie zaawansowania treningowego obserwuje się korzystniejsze wartości ekonomii, co wiąże się z bardziej efektywną koordynacją ruchową, wyższą elastycznością mięśniowo-ścięgnistą i lepszym wykorzystaniem energii sprężystej w fazie odbicia [152,153].

W przypadku biegania stosuje się pojęcie ekonomii biegu (ang. running economy), która określa ilość zużywanego tlenu przy zadanej prędkości, np. 12 km/h lub 16 km/h [154]. Lepsza ekonomia biegu oznacza mniejsze zapotrzebowanie tlenowe przy tej samej prędkości, co przekłada się na dłuższe utrzymanie intensywnego tempa biegu i lepsze wyniki sportowe [153]. Na wartość tego wskaźnika wpływa m.in. technika biegu, długość i częstotliwość kroków, elastyczność ścięgien Achillesa oraz aktywność mięśni stabilizujących postawę [151]. Wykazano, że trening siłowy i plyometryczny poprawia

ekonomię biegu poprzez zwiększenie sztywności mięśniowo-ścięgnistej oraz efektywności wykorzystania energii elastycznej [155].

W kolarstwie stosuje się analogiczny parametr – ekonomię kolarstwa (ang. cycling economy), określającą zużycie tlenu przy ustalonej mocy (wyrażonej w watach) podczas jazdy na ergometrze kolarskim [156,157]. Podobnie jak w bieganiu, wyższa efektywność tlenowa przy tej samej mocy jest cechą zawodników o lepszej technice i wyższym stopniu wytrenowania [158]. Na ekonomię kolarstwa wpływają m.in. technika pedałowania, kąt ułożenia stopy, rytm (kadencja) oraz biomechaniczna synchronizacja pracy kończyn dolnych [157]. Z kolei długotrwały trening wytrzymałościowy prowadzi do poprawy ekonomii kolarstwa poprzez adaptacje mięśniowe (zwiększenie udziału włókien typu I) oraz metaboliczne (większa oksydacyjna zdolność mitochondriów) [159]. Zarówno ekonomia biegu, jak i ekonomia kolarstwa są uznawane za istotne wskaźniki efektywności energetycznej i adaptacji do wysiłku tlenowego, które uzupełniają klasyczne pomiary wydolności, takie jak VO_2max, próg mleczanowy czy tętno progowe [154,158].Parametry rytmu serca uzupełniają ocenę wytrenowania. Spoczynkowa częstość serca u sportowców bywa istotnie niższa (tzw. bradykardia sportowa) w wyniku przystosowań autonomicznych i strukturalno-elektrycznych serca; zjawisko to odzwierciedla zwiększoną aktywność przywspółczulną i adaptacje w węźle zatokowym [160]. Maksymalna częstość serca (HRmax) jest w większym stopniu uwarunkowana wiekiem i osobniczo, jednak efektywnie wytrenowani sportowcy osiągają wysokie obciążenia przy relatywnie niższym odsetku HRmax na danej intensywności submaksymalnej [161]. Po wysiłku wskaźniki odnowy, takie jak szybkość normalizacji tętna (ang. heart rate recovery, HRR), wykazują u osób wytrenowanych szybszy spadek częstości, co świadczy o sprawnej reaktywacji układu przywspółczulnego [162]. Zmienność rytmu serca (ang. heart rate variability, HRV), mierzona w dziedzinie czasowej i częstotliwościowej, odzwierciedla równowagę autonomiczną; wyższa HRV (zwłaszcza składowe przywspółczulne) i korzystna dynamika dobowo-tygodniowa są typowe dla zawodników w stanie dobrej formy i adekwatnego obciążenia treningowego, podczas gdy spadki HRV sygnalizują przeciążenie lub niedostateczną regenerację [163]. Standardy pomiaru HRV i interpretacji kliniczno-sportowej zostały szczegółowo opisane w wytycznych grupy roboczej ESC/ESH [164] oraz w opracowaniach dotyczących monitorowania sportowców.

Kompleksowa, powtarzalna ocena tych parametrów, z zachowaniem rzetelnych protokołów ergospirometrycznych i kontroli czynników zakłócających, pozwala

wiarygodnie różnicować poziom zaawansowania sportowców i śledzić efekty periodyzacji treningu.

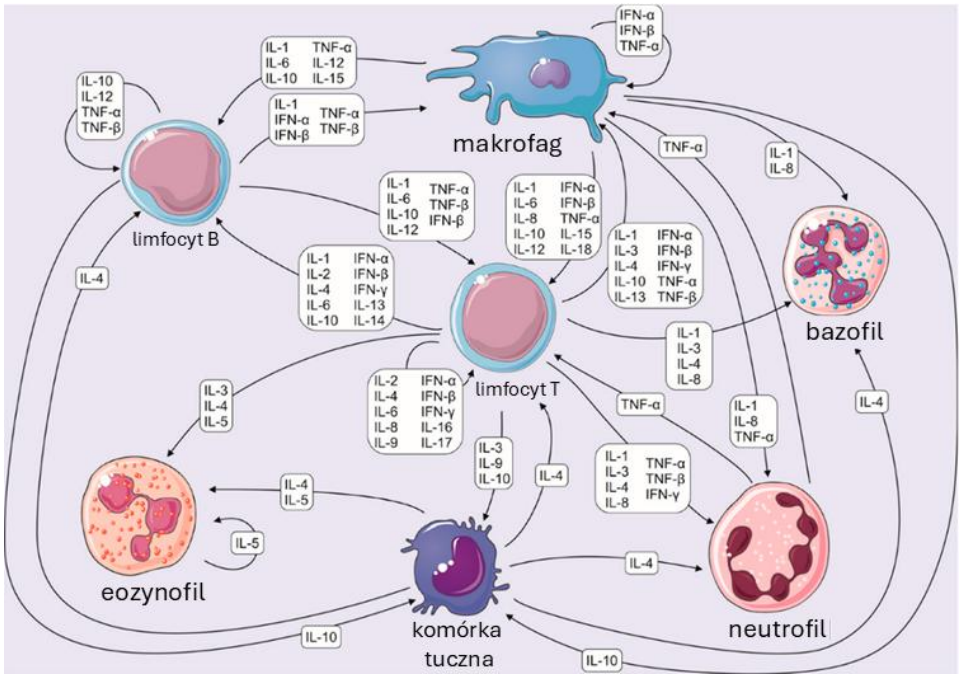
2.2. Prozdrowotny efekt regularnej aktywności fizycznej

Zmienność odpowiedzi cytokinowej na wysiłek fizyczny w zależności od stopnia wytrenowania jednostki stanowi istotny, lecz nadal niewystarczająco rozpoznany aspekt immunofizjologii wysiłku. W dostępnej literaturze naukowej pojawiają się doniesienia sugerujące, że regularna aktywność fizyczna może modulować wydzielanie zarówno cytokin prozapalnych, jak i przeciwzapalnych, co może stanowić mechanizm adaptacyjny organizmu do przewlekłego obciążenia fizycznego. Część badań wskazuje, że osoby o wysokim poziomie wytrenowania wykazują niższe stężenia wyjściowe wybranych mediatorów zapalnych oraz mniejszy zakres zmian ich poziomu w odpowiedzi na bodziec wysiłkowy. Przykładowo, stwierdzono, że sportowcy wytrenowani wykazują obniżony poziom chemokiny CCL2 w porównaniu do osób niećwiczących, co może wskazywać na zmniejszoną aktywność monocytarną w stanie spoczynku oraz osłabioną rekrutację komórek zapalnych po wysiłku [119]. Ponadto obserwowano, że osoby wytrenowane charakteryzują się łagodniejszym wzrostem stężenia IL-6 i TNF-α po intensywnym wysiłku w porównaniu do osób o niskiej aktywności fizycznej [165]. W odniesieniu do IL-8 wykazano natomiast, że jej wzrost w odpowiedzi na ćwiczenia dynamiczne występuje jedynie u sportowców, co może świadczyć o specyficznej adaptacji mięśni szkieletowych do przewlekłego obciążenia [166]. Z drugiej strony, nie wszystkie wyniki badań są zgodne. Przykładowo, w badaniu przeprowadzonym na grupie zawodniczek uprawiających wioślarstwo nie wykazano istotnych różnic w stężeniach IL-6, TNF-α i IL-1ra pomiędzy osobami wytrenowanymi a niewytrenowanymi, co wskazuje na potencjalny wpływ rodzaju aktywności, jej intensywności, a także cech indywidualnych (takich jak płeć, wiek czy status hormonalny) na odpowiedź cytokinową [167].

Zróżnicowane wyniki uzyskane w dotychczasowych badaniach podkreślają złożoność interakcji pomiędzy statusem wytrenowania a reakcją immunologiczną na wysiłek fizyczny. Istotne wydaje się uwzględnienie licznych zmiennych wpływających na ten proces, w tym rodzaju i czasu trwania wysiłku, momentu pobrania próbek biologicznych, a także fenotypowych cech uczestników. W związku z powyższym konieczne są dalsze badania o ujednoliconej metodologii, które umożliwią jednoznaczne określenie wpływu wytrenowania na profil cytokinowy w odpowiedzi na wysiłek fizyczny.

3. Teoretyczne podstawy podjęcia tematu

Współczesna nauka coraz częściej wskazuje na cytokiny jako potencjalne biomarkery o szerokim zastosowaniu, nie tylko w klasycznych kontekstach immunologicznych, lecz także w dziedzinach takich jak medycyna sportowa, neurobiologia czy zdrowie psychiczne [168]. W literaturze naukowej coraz częściej podnosi się możliwość wykorzystania cytokin jako biomarkerów służących ocenie skuteczności treningu fizycznego u sportowców oraz osób aktywnych fizycznie. Niemniej jednak wszechstronność funkcjonalna wielu cytokin, wynikająca z ich plejotropii oraz zdolności do uczestniczenia w licznych szlakach sygnałowych, znacząco utrudnia jednoznaczną interpretację ich poziomów w kontekście oceny stanu fizjologicznego organizmu [47]. Z tego względu konieczne jest staranne wyselekcjonowanie tych cytokin, które wykazują potencjał diagnostyczny w odniesieniu do określonych zjawisk fizjologicznych zachodzących w odpowiedzi na wysiłek fizyczny, jak również precyzyjne określenie kontekstu, w jakim powinny być analizowane.



Rycina 2. Schemat przedstawiający różne typy komórek odpornościowych i sposób, w jaki oddziałują ze sobą za pośrednictwem cytokin. Ilustracja została częściowo wygenerowana przy użyciu programu Servier Medical Art, dostarczonego przez firmę Servier, na licencji Creative Commons Attribution 3.0 unported (wykonanie własne, źródło: [47])

Wybór właściwych markerów jest jednak zadaniem trudnym, a problemem pozostaje zarówno różnorodność ról pełnionych przez pojedyncze cytokiny, jak i trudność w przypisaniu ich stężenia do jednoznacznych zmian adaptacyjnych, zapalnych

bądź regeneracyjnych. Cytokiny, jako molekuły sygnałowe, często funkcjonują w sieciach wzajemnych interakcji, w których jedna cząsteczka może inicjować lub modulować różne odpowiedzi immunologiczne i metaboliczne, w zależności od kontekstu fizjologicznego lub patologicznego (rycina 2) [21].

Na podstawie przeglądu dotychczasowych danych eksperymentalnych oraz badań klinicznych, możliwe jest jednak wyodrębnienie wybranych cytokin, które wykazują szczególny potencjał jako wskaźniki odpowiedzi organizmu na wysiłek fizyczny. Wybór ten uwzględnia zarówno ich funkcję biologiczną, jak i charakterystyczne zmiany poziomu stężenia w odpowiedzi na różne formy aktywności fizycznej.

Jednym z bardziej obiecujących kierunków badań nad zastosowaniem cytokin jako biomarkerów w medycynie sportowej jest ich wykorzystanie w identyfikacji zespołu przetrenowania. Koncepcja ta opiera się na założeniu, że mikro- i makrourazy układu mięśniowo-szkieletowego, szczególnie te powstałe na skutek kontynuowania aktywności fizycznej bez odpowiedniego okresu regeneracji, mogą prowadzić do kumulacji uszkodzeń oraz rozwoju przewlekłego stanu zapalnego o niskim nasileniu (adaptacyjny mikrouraz, ang. adaptive microtrauma, AMT). Stan ten może stanowić punkt wyjścia do wykształcenia się OTS, w przebiegu, którego obserwuje się zaburzenia równowagi pomiędzy bodźcami treningowymi a procesami naprawczymi. W tym kontekście za istotne uznaje się monitorowanie stężenia cytokin prozapalnych, takich jak IL-1β, IL-6 oraz TNF-α, których przewlekle podwyższone poziomy są utożsamiane z zaburzoną adaptacją do obciążenia fizycznego oraz nasileniem katabolicznych procesów w tkance mięśniowej [169]. Poza funkcją potencjalnych markerów przeciążenia treningowego, cytokiny te mogą również pełnić rolę wskaźników mikrourazów mięśniowych oraz ogólnego stanu zapalnego [170]. Równocześnie cytokiny przeciwzapalne, takie jak IL-10 czy TGF-β, były proponowane jako wskaźniki regeneracji i adaptacji fizjologicznej, szczególnie w okresie powysiłkowym [170,171]. Wzrost ich stężenia odnotowywany jest przede wszystkim w fazie regeneracyjnej u osób o wysokim stopniu wytrenowania, co sugeruje ich potencjalne zastosowanie jako wskaźników skutecznej kompensacji treningowej. Na podstawie tych założeń, niektórzy autorzy proponują także, aby ocena spadku poziomów cytokin prozapalnych – takich jak IL-1β, IL-6 i TNF-α – była traktowana jako pośredni wskaźnik efektywnej adaptacji organizmu do zastosowanego programu treningowego [47].

Pomimo postępujących badań nad zastosowaniem cytokin jako biomarkerów stanu fizjologicznego organizmu, obecnie brakuje wystarczających podstaw do ich

rutynowego wykorzystania w ocenie kondycji zdrowotnej sportowców. Główną barierą pozostaje brak ustalonych wartości referencyjnych, które pozwalałyby jednoznacznie interpretować stężenia poszczególnych cytokin jako fizjologicznie prawidłowe, podwyższone bądź obniżone [21]. W konsekwencji niemożliwe jest ich jednoznaczne zastosowanie w praktyce treningowej jako obiektywnych wskaźników adaptacji czy przeciążenia organizmu. Wobec tej ograniczonej przydatności danych populacyjnych, coraz częściej proponuje się podejście oparte na analizie intraindywidualnej, zakładające porównanie wartości spoczynkowych i powysiłkowych uzyskanych od tej samej osoby. Pomiary takie, wykonywane cyklicznie mogą umożliwić ustalenie indywidualnego profilu cytokinowego, stanowiącego punkt odniesienia w dalszym monitorowaniu adaptacji wysiłkowej [47]. Za zasadnością takiego podejścia przemawia fakt, iż poziom ekspresji cytokin może podlegać wpływowi szeregu zmiennych biologicznych i środowiskowych, takich jak wiek, płeć, poziom wytrenowania, intensywność i czas trwania wysiłku, jak również obecność współistniejących jednostek chorobowych. Starzenie się jest naturalnie związane z nasileniem stanu zapalnego o niskim stopniu (tzw. "inflammaging"), co znajduje odzwierciedlenie w wyższych poziomach IL-6 i TNF-α u osób starszych [172,173]. Ponadto czynniki środowiskowe, takie jak dieta, aktywność fizyczna i styl życia, mają istotny wpływ na profil cytokinowy jednostki, co jeszcze bardziej komplikuje jego interpretację. W kontekście specyfiki wysiłku fizycznego również obserwuje się zróżnicowanie odpowiedzi cytokinowej w zależności od rodzaju wykonywanej aktywności. Przykładowo, badania porównawcze wskazują na odmienny wzorzec ekspresji cytokin w odpowiedzi na trening siłowy, wytrzymałościowy i interwałowy, co potwierdza konieczność kontekstualnej interpretacji danych [174]. Z technicznego punktu widzenia różnorodność metod oznaczania poziomu cytokin (ELISA, multipleksowe testy immunoenzymatyczne, RT-PCR) stanowi dodatkowe wyzwanie w porównywaniu wyników między badaniami [175,176]. Brak standaryzacji narzędzi analitycznych utrudnia tworzenie jednolitych norm i ogranicza potencjalne zastosowanie biomarkerów zapalnych w monitorowaniu adaptacji treningowej.

Zarysowane trudności nie przekreślają jednak możliwości zastosowania cytokin jako narzędzi oceny reakcji organizmu na wysiłek fizyczny. Przeciwnie, wskazują one na potrzebę dalszych, zintegrowanych badań łączących dane molekularne z obserwacjami klinicznymi i parametrami fizjologicznymi. Pozwoliłoby to nie tylko na identyfikację markerów przetrenowania czy efektywności treningu, ale również na opracowanie spersonalizowanych interwencji treningowych. W tym kontekście wybrano do analizy

grupę cytokin, które mimo że różnią się funkcją biologiczną i miejscem działania, wykazują istotny udział w regulacji odpowiedzi zapalnej indukowanej wysiłkiem. Szczególne znaczenie mają tu czynnik wzrostu fibroblastów 21 (ang. fibroblast growth factor 21, FGF21) i czynnik różnicowania wzrostu (ang. growth differentiation factor 15, GDF15), tradycyjnie kojarzone z regulacją metaboliczną, lecz coraz częściej opisywane jako kluczowe mediatory odpowiedzi stresowej i immunologicznej, zdolne modulować przebieg reakcji zapalnej zarówno na poziomie komórkowym, jak i systemowym [177,178]. Uzupełniono je o klasyczne cytokiny zapalne i przeciwzapalne, takie jak TNF-α oraz IL-4. Choć GDF15, FGF21, TNF-α i IL-4 reprezentują odmienne osie regulacyjne, łączy je możliwość współdziałania w kształtowaniu odpowiedzi zapalnej na wysiłek fizyczny, co uzasadnia ich równoległą analizę. Ekspresja GDF15 w komórkach monocytoidalnych może być nasilana przez różne bodźce prozapalne, w tym TNF-α [179], co wskazuje, że wzrost GDF15 może odzwierciedlać aktywację klasycznych szlaków zapalnych i powinien być interpretowany w kontekście zmian TNF-α. Z uwagi na tę dwutorową, potencjalnie przeciwstawną funkcję GDF15 [178], włączenie do panelu badanych markerów zarówno klasycznej cytokiny prozapalnej TNF-α, jak i przeciwzapalnej IL-4, miało kluczowe znaczenie dla oceny kierunku działania GDF15 w odpowiedzi na wysiłek fizyczny, umożliwiając sprawdzenie, czy zmiany GDF15 towarzyszą wzmacnianiu, czy raczej hamowaniu sygnalizacji zapalnej. Choć w przypadku FGF21 dostępnych jest mniej danych na temat jego bezpośrednich interakcji z innymi cytokinami, część doniesień sugeruje, że TNF-α może ograniczać ekspresję β-Klotho i reaktywność FGF21 w adipocytach [180], co zwraca uwagę na potencjalną interakcję między tymi białkami w odpowiedzi zapalnej indukowanej wysiłkiem. Z tych powodów zestawienie GDF15, FGF21, TNF-α i IL-4 tworzy logiczny i spójny panel biomarkerów, umożliwiający całościową ocenę dynamiki odpowiedzi zapalnej na obciążenie fizyczne oraz identyfikację potencjalnych zależności między badanymi osiami sygnałowymi. Włączenie do analizy odpowiednich receptorów (FGFR1, FGFR3, FGFR4 i KLB dla FGF21; GFRAL dla GDF15; TNFR-1 i TNFR-2 dla TNF-α; oraz IL-4R dla IL-4) umożliwia dodatkowo ocenę funkcjonalności kluczowych szlaków sygnałowych.

3.1. Czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF-α)

Czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF-α), znany również jako TNFSF2 (ang. tumor necrosis factor superfamily member 2), jest jedną z kluczowych cytokin prozapalnych, odgrywających centralną rolę w ostrej odpowiedzi zapalnej. Jest

wytwarzany głównie przez aktywowane makrofagi, ale także przez adipocyty, komórki dendrytyczne, keratynocyty i inne typy komórek [181]. TNF-α uczestniczy w szerokim spektrum procesów fizjologicznych i patologicznych, takich jak regulacja odporności wrodzonej, gorączka, apoptoza, insulinooporność oraz progresja chorób przewlekłych, w tym cukrzycy typu 2 i zespołu metabolicznego [182]. Cytokina ta oddziałuje za pośrednictwem dwóch receptorów: TNFR1 (p55) i TNFR2 (p75). TNFR1 jest konstytutywnie eksprymowany na większości komórek i odpowiada za klasyczne działanie prozapalne TNF-α, często prowadzące do aktywacji kaspaz i indukcji apoptozy, zwłaszcza w warunkach stresu oksydacyjnego, niedokrwienia lub urazu ośrodkowego układu nerwowego [183,184]. W kontekście wysiłku fizycznego, szczególnie intensywnego i powtarzanego, mechanizmy te mogą być istotne dla zrozumienia neuroimmunologicznej odpowiedzi organizmu. Z kolei TNFR2, występujący selektywnie na komórkach układu odpornościowego, śródbłonka i komórkach nabłonka, może aktywować szlaki przeciwzapalne i promować proliferację oraz przeżycie komórek [185,186]. Równoczesna aktywacja obu receptorów może mieć istotne znaczenie dla utrzymania równowagi pomiędzy uszkodzeniem a adaptacją fizjologiczną w odpowiedzi na trening.

W kontekście fizjologii wysiłku, TNF-α uznawany jest za jeden z najważniejszych wskaźników reakcji zapalnej organizmu na obciążenie treningowe. Odpowiedź TNF-α na wysiłek fizyczny jest zależna od intensywności i rodzaju aktywności, a także od stanu wytrenowania i wieku osoby badanej. Jego poziom może wzrastać przejściowo po intensywnym wysiłku, szczególnie u osób niewytrenowanych, i koreluje z poziomem uszkodzeń mięśniowych oraz ogólnoustrojowego stresu zapalnego [187]. Natomiast, krótkotrwałe, umiarkowane ćwiczenia prowadzą do supresji TNF-α. W badaniu dotyczącym reakcji na bieg maratoński wykazano 2,3-krotny wzrost stężenia TNF-α w osoczu w ciągu pierwszej godziny po zakończeniu biegu [188]. Z kolei po godzinie ćwiczeń na ergometrze ekscentrycznym nie zaobserwowano istotnych zmian w poziomach TNF-α ani u młodych, ani u starszych mężczyzn. Jednak u obu grup wystąpił wzrost poziomów rozpuszczalnego receptora sTNF-R1, co może świadczyć o aktywacji osi TNF-α bez bezpośredniego wzrostu jego stężenia w osoczu [137]. Regularna aktywność fizyczna, szczególnie o charakterze wytrzymałościowym lub oporowym, może długoterminowo obniżać poziomy TNF-α. Zjawisko to przypisuje się działaniu IL-6, która indukuje wydzielanie cytokin przeciwzapalnych (np. IL-1ra, IL-10), prowadząc do supresji TNF-α [189]. Przykładowo, u starszych kobiet po treningu

oporowym stwierdzono istotny spadek zarówno stężenia TNF-α w surowicy, jak i ekspresji jego genu w leukocytach [190]. Na poziomie mięśni szkieletowych wzrost ekspresji TNF-α obserwuje się przede wszystkim w odpowiedzi na ćwiczenia ekscentryczne, które są związane z mikrourazami mięśniowymi. Nie wykazano jednak różnic w spoczynkowych poziomach mRNA TNF-α, co wskazuje, że ekspresja ta jest ściśle związana z bodźcem wysiłkowym, a nie trwałą zmianą fenotypu mięśni [191].

TNF-α, jako jedna z najważniejszych cytokin prozapalnych, pełni istotną rolę w regulacji reakcji immunologicznej w odpowiedzi na uszkodzenia tkankowe i infekcje. Podczas wysiłku fizycznego może brać udział w aktywacji komórek układu odpornościowego i mobilizacji leukocytów do miejsc mikrouszkodzeń mięśniowych. Niemniej jednak jego nadmierna i długotrwała aktywacja jest niepożądana, ponieważ TNF-α jest również związany z katabolizmem białek mięśniowych, rozwojem insulinooporności, stanem zapalnym niskiego stopnia i pogorszeniem funkcji metabolicznych. Z punktu widzenia aktywności fizycznej, TNF-α jest również uważany za potencjalny marker przetrenowania i przeciążenia treningowego, szczególnie w sytuacjach, gdy wzrostowi tej cytokiny towarzyszą zaburzenia regeneracji, zmęczenie i obniżona odporność. Wykazano także, że chroniczne podwyższenie stężenia TNF-α może być związane z zespołem przetrenowania (ang. overtraining syndrome, OTS), a także z zaburzoną regeneracją potreningową i nieefektywną adaptacją do bodźców treningowych [21,47,170]. Utrzymujące się podwyższone poziomy TNF-α mogą przyczyniać się do rozwoju chronicznego stanu zapalnego, zwłaszcza u osób z dodatkowymi czynnikami ryzyka metabolicznego (np. otyłość, cukrzyca typu 2, zespół metaboliczny). W związku z tym, pomiar TNF-α i jego rozpuszczalnych receptorów (sTNF-R1, sTNF-R2) może stanowić przydatne narzędzie diagnostyczne i prognostyczne w monitorowaniu adaptacji do wysiłku, wczesnego wykrywania przetrenowania oraz ocenie skutków interwencji treningowych, szczególnie w populacjach klinicznych.

TNF-α ma również wpływ na działanie innych cytokin. Jest on bezpośrednim modulatorem ekspresji i działania cytokin: czynnika wzrostu fibroblastów 21 (ang. fibroblast growth factor 21, FGF21) i różnicującego czynnika wzrostu 15 (ang. growth differentiation factor 15, GDF15), które również stanowią przedmiot badań niniejszego projektu. W przypadku FGF21 wykazano, że TNF-α, kluczowy czynnik w zapaleniu tkanki tłuszczowej, hamuje ekspresję białka koaktywującego β-Klotho (KLB) i upośledza biologiczne działania FGF21 w adipocytach [192]. W badaniach wykazano, że TNF-α obniża ekspresję kofaktora KLB poprzez aktywację szlaku sygnałowego JNK1 (ang.

c-Jun N-terminal kinase 1). Zwiększony kwas mikrorybonukleinowy-34a (miR-34a) w tkance tłuszczowej zmniejsza ekspresję KLB [193,194]. Warto również podkreślić, że TNF-α nie tylko wpływa na funkcjonalną aktywność FGF21 poprzez represję ekspresji KLB, ale także odgrywa istotną rolę w regulacji GDF15. Wykazano, że TNF-α, obok innych cytokin prozapalnych, takich jak IL-1β i IL-2, może bezpośrednio indukować ekspresję genu *GDF15*, sugerując, że GDF15 działa jako sygnał autokrynowy hamujący nadmierną odpowiedź zapalną. Mechanizm ten wydaje się opierać na aktywacji szlaku sygnałowego NF-κB, kluczowego regulatora ekspresji genów zapalnych, w szczególności jego podjednostki p65, która w transformowanych fibroblastach warunkuje produkcję GDF15 [195].

3.2. Interleukina 4 (IL-4)

Interleukina 4 (IL-4) to cytokina przeciwzapalna i regulatorowa, należąca do rodziny cytokin typu I, odgrywająca kluczową rolę w odpowiedzi immunologicznej zależnej od limfocytów Th2. IL-4 promuje różnicowanie naiwnych limfocytów T (Th0) do profilu Th2, a także pobudza produkcję immunoglobulin klasy IgE przez limfocyty B [196]. Źródłem IL-4 są głównie limfocyty Th2, a także bazofile, eozynofile i komórki tuczne [46], co wiąże jej funkcję z odpornością typu humoralnego oraz z mechanizmami regulacyjnymi układu immunologicznego. W warunkach fizjologicznych IL-4 pełni funkcję przeciwzapalną, hamując ekspresję niektórych cytokin prozapalnych oraz hamując aktywację makrofagów klasyczną drogą (M1), wspierając ich alternatywną aktywację (M2), związaną z procesami naprawy i przebudowy tkanek.

W kontekście fizjologii wysiłku jej rola nie została dotąd jednoznacznie określona, jednak dostępne dane sugerują, że może ona odgrywać istotną funkcję w późnych fazach odpowiedzi immunologicznej oraz w procesach naprawczych po wysiłku o dużym nasileniu. Ze względu na niski poziom ekspresji i niewielką zmienność bezpośrednio po ćwiczeniach, IL-4 była dotychczas rzadko uwzględniana w analizach cytokinowych związanych z aktywnością fizyczną [61,188]. Ten brak istotnych zmian w odpowiedzi na wysiłek fizyczny sugeruje jej ograniczoną rolę w ostrej fazie odpowiedzi immunologicznej na ćwiczenia. W większości badań dotyczących biegaczy długodystansowych nie odnotowano żadnych znaczących zmian poziomu IL-4 zarówno w osoczu, jak i w ekspresji mRNA po intensywnym wysiłku [61,197–200]. Podobne wyniki uzyskano u wioślarek wykonujących test na ergometrze wioślarskim, gdzie poziomy IL-4 również pozostały niezmienione [64]. Jednak w innym badaniu wykazano,

że wpływ wysiłku fizycznego na IL-4 może być zależny od jego objętości i czasu trwania. W przypadku wyścigu kolarskiego na dystansie 40 km, poziomy IL-4 nie zmieniały się istotnie, natomiast po ukończeniu wyścigu na 171 km, odnotowano znaczący wzrost stężenia IL-4 [201]. Może to wskazywać na udział IL-4 w późnej fazie odpowiedzi immunologicznej na ekstremalnie długotrwały wysiłek, potencjalnie związany z mechanizmami regeneracyjnymi lub tłumieniem wtórnego stanu zapalnego.

Chociaż IL-4 nie odgrywa głównej roli w ostrej odpowiedzi zapalnej wywołanej ćwiczeniami fizycznymi, może uczestniczyć w długoterminowej adaptacji immunologicznej do wysiłku, zwłaszcza w kontekście równowagi między odpornością typu Th1 i Th2. Poprzez promowanie profilu Th2, IL-4 może hamować nadmierną aktywację prozapalnych szlaków Th1, co sprzyja zachowaniu homeostazy immunologicznej i ograniczeniu ryzyka przewlekłego stanu zapalnego. Klinicznie, niewielkie lub opóźnione zmiany stężenia IL-4 mogą świadczyć o tym, że pełni ona bardziej regulatorową niż efektorową funkcję w odpowiedzi na wysiłek. Jej aktywność może być istotna w okresie regeneracji i odbudowy tkanek, szczególnie po bardzo długotrwałych lub ekstremalnych wysiłkach, takich jak ultramaratony czy długodystansowe wyścigi kolarskie.

Rola IL-4 w odpowiedzi zapalnej na wysiłek fizyczny może także polegać na wykorzystaniu jej zdolności do indukowania ekspresji FGF21 w wątrobie w sposób zależny od aktywacji szlaku indukowanego przez transduktor sygnału i aktywator transkrypcji 6 (ang. signal transducer and activator of transcription 6, STAT6). Efekt ten jest specyficzny tkankowo. Wzrost poziomu FGF21 pod wpływem IL-4 zaobserwowano w wątrobie, ale nie w białej tkance tłuszczowej (WAT) ani w mięśniach szkieletowych, pomimo aktywacji tego samego szlaku sygnałowego [202,203]. Taka lokalna specyfika działania sugeruje istnienie selektywnych mechanizmów regulacyjnych, w których IL-4 pełni funkcję pośredniego modulatora ekspresji cytokin metabolicznych, takich jak FGF21, a wzrost ekspresji FGF21 w wątrobie w odpowiedzi na bodźce takie jak aktywność fizyczna ma istotne znaczenie fizjologiczne, które dokładniej jest opisane w części przeznaczonej dla tej cytokiny.

3.3. Czynnik wzrostu fibroblastów 21 (FGF21)

Czynnik wzrostu fibroblastów 21 (FGF21) jest hormonem o silnym działaniu endokrynnym, odgrywającym kluczową rolę w regulacji homeostazy energetycznej oraz metabolizmu glukozy i lipidów. Główne źródła jego ekspresji to wątroba, tkanka

tłuszczowa, mięśnie szkieletowe oraz trzustka [204,205], co podkreśla jego znaczenie jako hepatokiny, adipokiny oraz miokiny. FGF21 zyskał duże zainteresowanie naukowe ze względu na potencjalne zastosowanie terapeutyczne w leczeniu otyłości, insulinooporności oraz zespołów metabolicznych [206–208]. W kontekście działania przeciwzapalnego, FGF21 wykazuje zdolność do tłumienia szlaków zapalnych, m.in. poprzez blokowanie translokacji jądrowej czynnika transkrypcyjnego NF-κB w adipocytach i tkance tłuszczowej, co skutkuje poprawą metabolizmu glukozy u osób z insulinoopornością [209]. Ponadto, FGF21 hamuje zapalenie indukowane przez lipopolisacharyd (LPS) w makrofagach dzięki aktywacji szlaku Nrf2 i zwiększonej ekspresji HO-1, co przekłada się na zahamowanie prozapalnej sygnalizacji NF-κB [210]. FGF21 zwiększa również ekspresję i wydzielanie adiponektyny poprzez aktywację PPARγ, co dodatkowo wspiera jego działanie metaboliczne i przeciwzapalne [211].

Wzrost ekspresji FGF21 w wątrobie w odpowiedzi na bodźce takie jak aktywność fizyczna ma istotne znaczenie fizjologiczne, gdyż organ ten stanowi główne źródło krążącego FGF21. Podwyższone stężenie tej cytokiny po wysiłku odgrywa kluczową rolę w regulacji homeostazy energetycznej i adaptacji metabolicznej poprzez nasilanie utleniania kwasów tłuszczowych, lipolizę oraz poprawę wrażliwości na insulinę, co czyni FGF21 jednym z ważniejszych mediatorów przystosowania organizmu do zwiększonego zapotrzebowania energetycznego i regeneracji powysiłkowej [212,213]. Co istotne, efekt ten występuje niezależnie od klasycznych czynników zapalnych, co wskazuje na jego unikalny, metaboliczny profil działania. Wzrost FGF21 indukowany przez IL-4 może zatem stanowić mechanizm wspomagający powysiłkową odbudowę równowagi energetycznej, co uzasadnia badanie tej osi sygnałowej w kontekście treningu fizycznego i adaptacji wysiłkowej.

Regularna aktywność fizyczna, uznawana za skuteczne narzędzie w prewencji chorób przewlekłych, takich jak otyłość, cukrzyca typu 2 czy choroby układu krążenia [214], modyfikuje jednocześnie metabolizm FGF21 i może wpływać na jego poziomy w sposób zależny od intensywności, czasu trwania wysiłku oraz stanu metabolicznego badanych osób. Przykładowo, 20-krotny wzrost stężenia FGF21 w osoczu odnotowano u biegaczy bezpośrednio po ukończeniu maratonu, z normalizacją poziomu w ciągu 48 godzin [215]. Jednakże inne badania wskazują, że regularne ćwiczenia mogą prowadzić do spadku jego stężenia, np. 5-tygodniowy program treningu wytrzymałościowego obniżył poziom FGF21 u starszych mężczyzn [216], a 12 tygodni

ćwiczeń oporowych skutkowało niemal dwukrotnym spadkiem stężenia FGF21 u pacjentów z niealkoholową stłuszczeniową chorobą wątroby (ang. nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) [217]. Również literatura potwierdza niejednoznaczność tych obserwacji. U osób starszych i otyłych kobiet poziom FGF21 obniżał się w odpowiedzi na ćwiczenia o umiarkowanej i wysokiej intensywności [218,219], natomiast u młodych zdrowych kobiet zaobserwowano wzrost FGF21 już po dwóch tygodniach aktywności fizycznej [220]. Inne badania wykazały brak istotnych zmian po 8 tygodniach treningu wytrzymałościowego [221], a u gryzoni obserwowano zarówno wzrost [222], jak i spadek [223] stężeń FGF21 po dłuższym programie treningowym.

To co może czynić z FGF21 potencjalnym kandydatem na biomarker adaptacji treningowej oraz ryzyka przeciążenia organizmu jest fakt, że jego poziom ulega modulacji w zależności od wytrenowania i statusu metabolicznego jednostki. FGF21 działa głównie poprzez kompleks receptorowy składający się z receptora FGFR1 (oraz w mniejszym stopniu FGFR3 i FGFR4) oraz KLB. Właśnie obecność KLB warunkuje specyficzność tkankową działania FGF21, umożliwiając jego selektywne działanie w wątrobie, tkance tłuszczowej oraz ośrodkowym układzie nerwowym [224,225]. Włączenie analizy ekspresji receptorów FGFR1, FGFR3, FGFR4 oraz KLB do badań pozwala na pogłębioną interpretację wyników, umożliwiając ocenę potencjalnych zmian wrażliwości tkanek docelowych na FGF21, a nie jedynie jego stężenia krążącego. Dodatkowo, badania wskazują, że zmienność ekspresji receptorów FGF21 może stanowić istotny czynnik różnicujący odpowiedź metaboliczną na wysiłek fizyczny i stan odżywienia [226].

3.4. Czynnik różnicowania wzrostu 15 (GDF15)

Czynnik różnicowania wzrostu 15 (GDF15), znany również jako cytokina hamująca makrofagi 1 (MIC-1), jest nietypowym członkiem nadrodziny transformującego czynnika wzrostu β (TGF-β), odkrytym w 1997 roku [227]. GDF15 jest szeroko eksprymowany w łożysku, nerkach, wątrobie i jelitach, a jego poziomy krążące ulegają istotnemu zwiększeniu w warunkach zaburzeń mitochondrialnych i innych form stresu komórkowego [228]. Coraz więcej dowodów sugeruje, że GDF15 pełni funkcję cytokin stresoreaktywnych, silnie powiązanych z zaburzeniami metabolicznymi, takimi jak otyłość i cukrzyca typu 2 [229]. Zarówno u ludzi, jak i w modelach zwierzęcych obserwuje się podwyższone poziomy GDF15 w surowicy w warunkach otyłości i insulinooporności [230–232], co koreluje dodatnio z masą ciała oraz ilością tkanki

tłuszczowej. U otyłych myszy ekspresja mRNA GDF15 jest szczególnie nasilona w wątrobie i tkance tłuszczowej [232,233], a u ludzi z ciężką otyłością – głównie w wątrobie, co potwierdza jej kluczową rolę jako źródła GDF15 w tym stanie patologicznym. Po operacji bariatrycznej ekspresja GDF15 ulega zmniejszeniu [234], co dodatkowo wspiera to założenie. Fizjologicznie, GDF15 pełni funkcję regulatora apetytu i masy ciała. Nadekspresja tego czynnika wiąże się z ograniczeniem przyjmowania pokarmu, redukcją masy tłuszczowej, poprawą wrażliwości na insulinę, a także wydłużeniem życia w modelach zwierzęcych. Usunięcie genu GDF15 skutkuje zwiększonym apetytem i przyrostem masy ciała [235], natomiast jego egzogenne podanie lub nadekspresja prowadzi do efektów odwrotnych niezależnie od zawartości tłuszczu w diecie [236]. Korzyści metaboliczne GDF15 przypisuje się również jego działaniu przeciwzapalnemu. Udowodniono, że hamuje on aktywność inflamasomu NLRP3, ogranicza nacieki makrofagów do tkanki tłuszczowej oraz obniża poziom cytokin prozapalnych, takich jak leptyna [237]. Z kolei blokowanie GDF15 przeciwciałami prowadzi do pogorszenia parametrów metabolicznych, wzrostu masy ciała oraz intensyfikacji stanu zapalnego w tkankach [238]. Pomimo pozytywnych właściwości metabolicznych, GDF15 bywa także wiązany z patologią sarkopenii. U ludzi jego poziomy są istotnie wyższe u pacjentów z utratą masy mięśniowej [239–241], co koreluje ujemnie z masą i siłą mięśni szkieletowych [239,242]. W modelach zwierzęcych wykazano, że nadmiar GDF15 może wywoływać apoptozę włókien mięśniowych [243,244], natomiast jego brak zwiększa zdolność mięśni do odpowiedzi na stres fizyczny, zwiększając ekspresję markerów stresu, takich jak Atf3, Atf6 i Xbp1s [245].

Dotychczasowe badania koncentrowały się głównie na jego roli w kardiologii, onkologii i chorobach przewlekłych, natomiast zastosowanie GDF15 jako biomarkera w kontekście wysiłku fizycznego dopiero zaczyna być eksplorowane. Na podstawie dotychczasowych badań, GDF15 uznawany jest za wskaźnik obciążenia metabolicznego i stresu tkankowego. Jego poziom w osoczu istotnie wzrasta po wysiłku, a skalę tej odpowiedzi wiąże się z intensywnością oraz czasem trwania aktywności fizycznej. Przykładowo, zaobserwowano 4,2-krotny wzrost jego stężenia w osoczu bezpośrednio po maratonie u zdrowych mężczyzn, przy czym poziom ten powracał do wartości wyjściowych po 48 godzinach [215]. Podobne wyniki uzyskano w innych badaniach: test wysiłkowy na ergometrze rowerowym spowodował wzrost GDF15 o 34% w trakcie wysiłku i o 64% dwie godziny po jego zakończeniu [246]. Zarówno wysiłek wytrzymałościowy, jak i oporowy powodowały około 15% wzrost stężenia GDF15

u umiarkowanie wytrenowanych mężczyzn, a u triathlonistów 4-godzinna jazda na rowerze zwiększyła jego poziom 5,3-krotnie w stosunku do wartości spoczynkowych. Poziomy te powracały do normy w ciągu 24 godzin [247].

Warto jednak zauważyć, że chociaż poziomy GDF15 rosną w odpowiedzi na różne formy aktywności fizycznej, mięśnie szkieletowe nie są jego głównym źródłem. Sugeruje się, że zwiększenie jego stężenia po wysiłku może być skutkiem ogólnoustrojowej odpowiedzi stresowej organizmu, a nie lokalnej produkcji przez mięśnie.

Ponadto, wykazano, że osoby wytrenowane wykazują mniejszą odpowiedź GDF15 na bodźce wysiłkowe w porównaniu do osób niewytrenowanych, co sugeruje jego potencjalne zastosowanie jako biomarkera adaptacji treningowej. GDF15 wiąże się z dużym powinowactwem z receptorem alfa-podobnym rodziny neurotroficznego czynnika pochodzenia glejowego (ang. glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF family receptor alpha-like, GFRAL) [248]. Z tego względu, analiza ekspresji GFRAL stanowi istotne uzupełnienie badań nad GDF15. Co istotne, GDF15 i FGF21 wykazują liczne punkty styczne w zakresie pełnionych funkcji biologicznych, w szczególności w kontekście odpowiedzi na stres metaboliczny. Obie cytokiny są wytwarzane w warunkach obciążenia energetycznego i mitochondrialnego, a ich podwyższone stężenia po wysiłku sugerują udział w homeostatycznej regulacji adaptacji organizmu do intensywnego treningu [249]. W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano, że FGF21 i GDF15 działają równolegle lub synergistycznie w zakresie regulacji apetytu, glukoneogenezy, lipolizy i wrażliwości insulinowej [250]. Obserwuje się również ich współzależne wzorce ekspresji w odpowiedzi na bodźce fizjologiczne, np. restrykcję kaloryczną lub aktywność fizyczną, co podkreśla zasadność ich łącznego badania w celu pełniejszej charakterystyki profilu odpowiedzi na wysiłek.

Zastosowanie GDF15 i FGF21 jako wzajemnie komplementarnych biomarkerów może umożliwić bardziej holistyczną ocenę adaptacji treningowej, uwzględniając zarówno aspekt metaboliczny (FGF21), jak i neuroimmunologiczny (GDF15), co stanowi wartość dodaną w kontekście zindywidualizowanego planowania obciążeń treningowych.

CEL I HIPOTEZY BADAWCZE

Celem głównym pracy była ocena wpływu intensywnego wysiłku fizycznego na odpowiedź immunometaboliczną, mierzoną poprzez analizę ekspresji genów oraz poziomów białek wybranych cytokin pro- i przeciwzapalnych oraz czynników wzrostu u osób wytrenowanych i niewytrenowanych w różnych punktach czasowych po wysiłku. Szczegółowe cele badawcze obejmowały:

- Określenie zmian ekspresji genów kodujących białka FGF21, GDF15, FGFR1, FGFR3, FGFR4, KLB, GFRAL, TNF-α, TNFR1, TNFR2, IL-4 oraz IL-4R w komórkach krwi obwodowej po intensywnym wysiłku fizycznym;
- Analiza dynamiki zmian stężeń białek (FGF21, GDF15, TNF-α, IL-4) w osoczu krwi w odpowiedzi na intensywny wysiłek fizyczny;
- Określenie zależności czasowych między odpowiedzią prozapalną i przeciwzapalną w kolejnych punktach czasowych po zakończeniu wysiłku (0 h, 0.5 h, 6 h, 24 h, 48 h);
- Ocena wartości diagnostycznej profilu transkrypcyjnego genów kodujących białka FGF21, GDF15, FGFR1, FGFR3, FGFR4, KLB, GFRAL, TNF-α, TNFR1, TNFR2, IL-4 oraz IL-4R jako kandydatów w ocenie adaptacji do treningu;
- Ocena wpływu stopnia wytrenowania organizmu na odpowiedź pro- i przeciwzapalną po intensywnym wysiłku fizycznym, ze szczególnym uwzględnieniem cytokin tj. FGF21, GDF15, TNF-α oraz IL-4;
- Ocena zmian liczby leukocytów, limfocytów i neutrofili w odpowiedzi na maksymalny wysiłek fizyczny, z analizą różnic pomiędzy sportowcami a osobami niećwiczącymi oraz ich znaczenia dla interpretacji adaptacji wysiłkowych.

Hipotezy badawcze:

- Ekspresja genów kodujących FGF21 i GDF15 oraz ich receptorów (FGFR1, FGFR3, FGFR4, KLB, GFRAL) ulega istotnym zmianom w odpowiedzi na maksymalny wysiłek fizyczny, przy czym stopień tej zmienności różni się między sportowcami a osobami niećwiczącymi;
- Poziom ekspresji genów kodujących TNF-α i IL-4 oraz ich receptorów (TNFR1, TNFR2, IL-4R) jest modulowany przez intensywny wysiłek, z przewagą odpowiedzi prozapalnej w grupie osób niećwiczących;

- W grupie sportowców i osób niećwiczących obserwuje się odmienne poziomy spoczynkowe FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 oraz różne profile zmian tych białek po intensywnym wysiłku fizycznym;
- Intensywny wysiłek fizyczny wywołuje odmienne zmiany w liczbie leukocytów, neutrofili i limfocytów u sportowców oraz osób niećwiczących, a większa stabilność tych parametrów obserwowana jest w grupie sportowców.

MATERIAŁY I METODY

Testy wysiłkowe oraz pobieranie materiału genetycznego odbyło się w okresie od czerwca 2024 roku do września 2024 roku. Wszystkie procedury eksperymentalne, w tym testy wysiłkowe i pobieranie próbek krwi, odbywały się w Centrum Badań Strukturalno-Funkcjonalnych Człowieka Uniwersytetu Szczecińskiego. Czynności te były realizowane przez wykwalifikowany personel, zgodnie z obowiązującymi standardami medycznymi i etycznymi. W trosce o bezpieczeństwo uczestników, podczas każdego badania obecny był ratownik medyczny, odpowiedzialny za nadzór nad stanem zdrowia i natychmiastową interwencję w przypadku jakichkolwiek niepożądanych reakcji.

Badanie zostało przeprowadzone zgodnie z zasadami Deklaracji Helsińskiej oraz obowiązującymi przepisami prawa krajowego w zakresie badań z udziałem ludzi. Projekt badawczy uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Szczecińskim, wydaną w dniu 22 maja 2024 roku (nr zgody: US.003.5.2024) (załącznik nr 1). Uczestnicy zostali szczegółowo poinformowani o celu, przebiegu oraz potencjalnych ryzykach związanych z udziałem w badaniu, a następnie podpisali świadomą zgodę na udział w eksperymencie.

1. Kwalifikacja uczestników badań

W badaniu udział wzięły dwie grupy uczestników: grupa sportowców oraz grupa osób niećwiczących, które były kwalifikowane do badania na podstawie ściśle określonych kryteriów włączenia i wyłączenia. Dobór uczestników został przeprowadzony w sposób zapewniający jednorodność próby pod względem kluczowych zmiennych biologicznych. Zarówno w grupie sportowców, jak i osób niećwiczących znaleźli się wyłącznie mężczyźni w wieku 18-25 lat. Takie podejście ograniczało wpływ różnic płciowych i rozwojowych na analizowane parametry fizjologiczne, co umożliwiło bardziej precyzyjną ocenę efektów wysiłku fizycznego oraz porównanie odpowiedzi organizmu pomiędzy badanymi grupami.

1) Grupa sportowców:

Grupę stanowiło 15 zawodników piłki nożnej, aktywnie trenujących w ramach klubów sportowych. Kryteriami włączenia do tej grupy były:

- płeć męska,
- wiek w przedziale 18-25 lat,

- udokumentowana historia systematycznego treningu sportowego trwającego ponad 10 lat,
- średni tygodniowy czas treningu wynoszący minimum 12 godzin,
- brak urazów w okresie poprzedzającym badanie wpływających na poziom cytokin pro- i przeciwzapalnych,
- dobry stan zdrowia, potwierdzony negatywnym wywiadem lekarskim w kierunku:
    - chorób układu sercowo-naczyniowego,
    - zaburzeń neurologicznych i psychicznych,
    - innych chorób mogących wpływać na przebieg badań, np. choroby o podłożu autoimmunologicznym (stwardnienie rozsiane, Choroba Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego, cukrzyca typu 1), nowotworowym i zakaźnym (zakażenia wirusowe, w tym wirusowe zapalenia wątroby) mogące zaburzać profil cytokinowy
- nieprzyjmowanie suplementów diety ani leków, które mogłyby zaburzyć analizowane parametry fizjologiczne i molekularne.

Kryteriami wyłączenia z udziału w badaniu były:

- aktualna kontuzja lub stan pourazowy,
- potwierdzone lub podejrzewane zaburzenia zdrowotne wpływające na zdolność do wykonania testu wysiłkowego,
- przyjmowanie leków i suplementów wpływających na metabolizm, układ odpornościowy lub hormonalny.

2) Grupa osób niećwiczących:

Grupę stanowiło 15 mężczyzn w wieku 18-25 lat, dobranych pod względem podstawowych parametrów morfologicznych tak, aby zapewnić porównywalność z grupą sportowców. Kryteriami włączenia były:

- płeć męska,
- wiek 18-25 lat,
- niski poziom aktywności fizycznej, oceniany na podstawie wyników Globalnego Kwestionariusza Aktywności Fizycznej (ang. global physical activity questionnaire, GPAQ),
- brak regularnych treningów sportowych w okresie ostatnich dwóch lat,

- brak urazów w okresie poprzedzającym badanie wpływających na poziom cytokin pro- i przeciwzapalnych,
- dobry stan zdrowia, potwierdzony negatywnym wywiadem lekarskim w kierunku:
    - chorób układu sercowo-naczyniowego,
    - zaburzeń neurologicznych i psychicznych,
    - innych chorób mogących wpływać na przebieg badań, np. choroby o podłożu autoimmunologicznym (stwardnienie rozsiane, Choroba Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego, cukrzyca typu 1), nowotworowym i zakaźnym (zakażenia wirusowe, w tym wirusowe zapalenia wątroby) mogące zaburzać profil cytokinowy
- brak stosowania suplementów diety oraz leków mogących zaburzyć odpowiedź fizjologiczną na wysiłek.

Kryteriami wyłączenia były:

- wykonywanie jakiejkolwiek formy regularnej aktywności fizycznej przekraczającej poziom uznawany za niski wg GPAQ,
- schorzenia przewlekłe lub ostre uniemożliwiające bezpieczne wykonanie testu wysiłkowego,
- przyjmowanie leków i suplementów wpływających na metabolizm, odporność, funkcje mięśniowe lub hormonalne.

Obie grupy przed przystąpieniem do badania zostały szczegółowo poinformowane
o jego przebiegu, celach i potencjalnym ryzyku, a każdy uczestnik wyraził pisemną zgodę na udział w eksperymencie.

2. Progresywny test do odmowy

W niniejszym badaniu zastosowano bezpośrednią metodę oznaczania maksymalnego poboru tlenu (VO_2max), stanowiącą złoty standard oceny wydolności tlenowej organizmu. Procedura opierała się na wykonaniu przez badanego testu wysiłkowego o progresywnej intensywności, trwającego od 15 do 25 minut, aż do momentu osiągnięcia przez uczestnika maksymalnego, indywidualnie tolerowanego obciążenia fizycznego.

Podczas testu uczestnik wykonywał progresywny test do odmowy na bieżni venus® 200/75 (h/p/cosmos ®, Nussdorf-Traunstein, Germany) przy jednoczesnym

ciągłym monitorowaniu parametrów oddechowych i krążeniowych. Wśród rejestrowanych zmiennych znalazły się m.in.:

- częstość skurczów serca (ang. heart rate, HR),
- pobór tlenu (ang. oxygen uptake, VO_2) – określający objętość tlenu pochłanianego przez organizm w jednostce czasu,
- wentylacja minutowa płuc (ang. minute ventilation, MV) – całkowita objętość powietrza wymienianego w jednostce czasu,
- stosunek objętości wydychanego CO_2 do objętości pobranego tlenu (ang. respiratory quotient, RQ),
- częstość oddechów na minutę (ang. respiratory frequency, Rf).

Obliczenia wartości VO_2 oparto na różnicy stężeń tlenu w powietrzu wdychanym i wydychanym, pomnożonej przez objętość powietrza wentylowanego w ciągu jednej minuty (MV). Umożliwia to precyzyjne określenie poziomu pochłaniania tlenu, będącego wskaźnikiem wydolności tlenowej oraz efektywności funkcjonowania układu oddechowego, krążeniowego i mięśniowego.

Równolegle, na podstawie zmian parametrów wymiany gazowej, wyznaczono próg przemian anaerobowych (tzw. próg wentylacyjny, VT). Jest to intensywność wysiłku, przy której mechanizmy resyntezy ATP zaczynają być dominująco wspierane przez beztlenowe szlaki metaboliczne. W badaniu próg ten określono za pomocą nieinwazyjnej metody V-slope, polegającej na analizie regresji liniowej krzywych: wzrostu produkcji dwutlenku węgla (VCO_2) względem wzrostu zużycia tlenu (VO_2). Punkt załamania, w którym tempo produkcji CO_2 nieproporcjonalnie przekracza tempo pochłaniania O_2, wyznacza granicę przejścia od dominujących procesów tlenowych do rosnącego udziału mechanizmów beztlenowych w generowaniu energii.

Zarówno VO_2max, jak i próg anaerobowy, stanowią kluczowe wskaźniki oceny wydolności fizjologicznej uczestników badania. Uzyskane wyniki umożliwiają nie tylko klasyfikację poziomu sprawności fizycznej, ale również stanowią cenną podstawę do interpretacji odpowiedzi molekularnych i metabolicznych na intensywny wysiłek fizyczny.

3. Pobranie materiału biologicznego

W celu oceny molekularnych i immunologicznych skutków intensywnego wysiłku fizycznego od wszystkich uczestników pobierano próbki krwi żylnej zgodnie

z wcześniej ustalonym i zatwierdzonym protokołem badawczym. Pobrania były realizowane w ściśle kontrolowanych warunkach, o stałej porze dnia oraz po spełnieniu określonych wymogów przygotowania uczestników, co miało na celu minimalizację wpływu czynników zakłócających. Procedury realizował wykwalifikowany personel medyczny, z zachowaniem obowiązujących standardów bioetycznych, zasad dobrej praktyki kliniczno-laboratoryjnej (GLP) oraz wytycznych dotyczących postępowania z materiałem biologicznym. Takie podejście zapewniało wysoką powtarzalność pomiarów oraz wiarygodność uzyskanych danych, umożliwiając rzetelną ocenę zmian zachodzących w odpowiedzi na zastosowane obciążenie wysiłkowe.

Próbki krwi żylnej (objętość 500 µl) pobierano z żyły łokciowej do probówek zawierających EDTA jako antykoagulant. Krew była pobierana w następujących punktach czasowych: przed rozpoczęciem próby wysiłkowej (pre-test), bezpośrednio po zakończeniu testu (0h), 30 minut po zakończeniu wysiłku (0,5h), 6 godzin po wysiłku (6h), 24 godziny po wysiłku (24h), 48 godzin po wysiłku (48h).

Po pobraniu próbki były odwirowywane w celu oddzielenia osocza od elementów morfotycznych. Uzyskane osocze było natychmiast zamrażane i przechowywane w temperaturze -80 °C z przeznaczeniem do dalszej analizy poziomu białek (FGF21, GDF15, TNF-α, IL-4) metodą immunoenzymatyczną ELISA (ang. enzyme-linked immunosorbent assay).

Elementy morfotyczne krwi po odwirowaniu były poddawane lizie komórkowej, a uzyskany pelet komórkowy był zawieszany w roztworze RNAlater (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), co umożliwiało stabilizację RNA przed jego izolacją. Tak zabezpieczone próbki były przechowywane w temperaturze –80 °C do momentu wykonania izolacji RNA oraz dalszych analiz ekspresji genów (*FGF21*, *FGFR1*, *FGFR3*, *FGFR4*, *KLB*, *GDF15*, *GFRAL*, *TNF-α*, *TNFR-1*, *TNFR-2*, *IL-4*, *IL-4R*).

Cały proces pobierania próbek przebiegał z zachowaniem szczególnej ostrożności i pod stałym nadzorem ratownika medycznego, który czuwał nad bezpieczeństwem i dobrostanem uczestników badania.

4. Analizy laboratoryjne

Część próbek krwi została pobrana do probówek dostarczonych przez laboratorium diagnostyczne i w takiej postaci, odpowiednio zabezpieczona, przekazana do dalszych badań. Analizy obejmowały całkowitą liczbę leukocytów (WBC), neutrofili (NEU) i limfocytów (LYM). Parametry te stanowią kluczowe wskaźniki funkcjonowania

reaktywności immunologicznej organizmu, umożliwiając ocenę zmian zachodzących pod wpływem obciążenia wysiłkowego.

Wszystkie oznaczenia wykonano w certyfikowanym laboratorium diagnostycznym, z wykorzystaniem zwalidowanych metod analitycznych oraz obowiązujących procedur wewnętrznej kontroli jakości, co gwarantowało wysoką wiarygodność i powtarzalność uzyskanych wyników.

5. Przygotowanie materiału

Pobrana krew pełna była poddana wirowaniu z prędkością 1800 rpm przez 10 minut. Po zakończeniu wirowania warstwę osocza przenoszono do jałowych probówek. Pozostałą frakcję komórkową przenoszono do probówek typu Falcon o pojemności 50 ml i uzupełniano buforem lizującym BD Pharm Lyse™ Lysing Buffer (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) do pełnej objętości probówki. Próbki inkubowano przez 10 minut w temperaturze pokojowej, umożliwiając efektywną lizę erytrocytów. Następnie przeprowadzano drugie wirowanie z prędkością 1800 rpm przez 10 minut. Po oddzieleniu supernatantu osad komórkowy resuspendowano w 1 ml roztworu PBS (EurX, Gdańsk, Polska), po czym uzupełniano probówkę do objętości 15 ml buforem lizującym i ponownie inkubowano przez 10 minut.

Po kolejnej inkubacji zawiesinę komórkową uzupełniano buforem PBS do końcowej objętości 35 ml i przeprowadzano trzecie wirowanie z prędkością 1800 rpm przez 10 minut. Supernatant ostrożnie usuwano, a uzyskany pelet komórkowy resuspendowano w 1 ml PBS. Z tak przygotowanej zawiesiny pobierano 300 µl do osobnych probówek przeznaczonych do dalszej izolacji RNA, po czym każdą próbkę stabilizowano przez dodanie 500 µl roztworu RNAlater (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

6. Izolacja całkowitego RNA

Całkowity RNA został wyizolowany z komórek krwi obwodowej zabezpieczonych uprzednio w roztworze RNAlater (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Izolację przeprowadzono przy użyciu zestawu GeneMATRIX Universal RNA Purification Kit (EurX, Gdańsk, Polska), dedykowanego do pozyskiwania wysokiej jakości RNA z materiału biologicznego. Na początku próbkę wirowano przez 10 minut w temperaturze 4°C z prędkością 400 x g. Po zakończeniu wirowania supernatant odlewano, a pozostałą ciecz nad osadem komórkowym ostrożnie usuwano pipetą.

Uzyskany pelet komórkowy zawieszano w 400 µl buforu RL, starannie mieszając zawiesinę przy użyciu wytrząsarki przez 10 sekund. Następnie cała próbka była przenoszona do minikolumny homogenizacyjnej (oznaczonej kolorem fioletowym) umieszczonej w probówce odbierającej o pojemności 2 ml. Minikolumnę wirowano przez 2 minuty z maksymalną prędkością. Do przesączu dodawano 250 µl 96-100% alkoholu etylowego i mieszano dokładnie przez pipetowanie. Całą mieszaninę przenoszono do minikolumny wiążącej RNA (oznaczonej kolorem żółtym) umieszczonej w probówce odbierającej, po czym wirowano przez 1 minutę z prędkością 11 000 x g. Przesącz usuwano, a minikolumnę ponownie umieszczano w tej samej probówce. Do minikolumny dodawano 600 µl buforu płuczącego Wash RBW i wirowano przez 1 minutę z prędkością 11 000 x g. Po usunięciu przesączu etap płukania powtarzano przy użyciu 300 µl tego samego buforu, również wirowaniem przez 1 minutę z prędkością 11 000 x g. W przypadku, gdy membrana minikolumny nie była całkowicie sucha, przesącz usuwano, a minikolumnę ponownie wirowano przez 1 minutę z tą samą prędkością. Ostatecznie minikolumnę umieszczano w nowej probówce typu Eppendorf (1,5-2 ml), a RNA elucjonowano przez dodanie 30-100 µl wody wolnej od RNaz bezpośrednio na membranę. Wirowano przez 1 minutę z prędkością 11 000 x g, po czym minikolumnę usuwano, a probówkę z RNA zamykano. Po zakończeniu izolacji oceniano stężenie oraz czystość uzyskanego kwasu nukleinowego metodą spektrofotometryczną, wykorzystując czytnik mikropłytkowy Synergy H1 (BioTek, Agilent Technologies, Santa Clara, USA), co umożliwiało weryfikację integralności oraz przydatności RNA do dalszych analiz molekularnych. Materiał przechowywano w temperaturze -20°C, unikając wielokrotnego cyklu zamrażania i rozmrażania. Uzyskany RNA był gotowy do dalszych analiz molekularnych, w tym do syntezy cDNA i badań ekspresji genów.

7. Synteza cDNA

Całkowity RNA wyizolowany z komórek krwi obwodowej został poddany odwrotnej transkrypcji z zastosowaniem zestawu smART First Strand cDNA Synthesis kit (EurX, Gdańsk, Polska) w celu uzyskania komplementarnego DNA (cDNA). Przygotowanie cDNA rozpoczęto od rozmrożenia buforu 5x cDNA Buffer w temperaturze pokojowej, a następnie delikatnego wymieszania za pomocą vortexu. Reakcję odwrotnej transkrypcji składano w probówkach wolnych od RNaz, łącząc odpowiednią objętość RNA (10 ng-5 µg) z 1 µl startera, 1 µl 10 mM mieszaniny dNTP oraz wodą wolną od RNaz do objętości 12,5 µl. Jako startery stosowano: oligo$(dT)_{20}$.

Następnie do próbki dodawano składniki reakcji w kolejności: 4 µl 5x cDNA Buffer, 2 µl 0,1 M DTT, 0,5 µl inhibitora RNaz (50 U/µl) oraz 1 µl enzymu smART (200 U/µl), uzyskując łączną objętość reakcji 20 µl. Próbkę umieszczano w termocyklerze T100 Thermal Cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Zaplanowany profil termiczny był zgodny z instrukcją producenta i obejmował następujące etapy: 37°C przez 5 minut, 50°C przez 45 minut, 65°C przez 10 minut oraz 85°C przez 5 minut celem przerwania reakcji. Powstałe próbki cDNA przechowywano w temperaturze -20 °C do momentu wykonania ilościowej reakcji PCR w czasie rzeczywistym (RT-qPCR).

8. Real-time PCR

Ekspresję genów *FGF21*, *GDF15*, *FGFR1*, *FGFR3*, *FGFR4*, *KLB*, *GFRAL*, *TNF-α*, *TNFR1*, *TNFR2*, *IL-4* oraz *IL-4R* oceniono metodą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (real-time PCR, RT-qPCR). Do normalizacji poziomu transkryptów zastosowano gen referencyjny *GAPDH*, kodujący dehydrogenazę aldehydu 3-fosfoglicerynowego, co umożliwiło kontrolę zmienności ilości materiału wyjściowego.

Reakcje RT-qPCR przeprowadzono w duplikatach dla każdej próbki, wykorzystując termocykler CFX96 Real-Time System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Analizę fluorescencji przeprowadzano w 96-dołkowych płytach typu low-skirted (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), z zastosowaniem odczynnika SsoAdvanced Universal SYBR Green SuperMix (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Wszystkie zamrożone odczynniki zostały uprzednio rozmrożone do temperatury pokojowej i dokładnie wymieszane w celu uzyskania jednorodnej mieszaniny, a następnie krótko wirowane. Reakcje PCR przygotowywano w temperaturze pokojowej, dodając wszystkie składniki oprócz matrycy cDNA. W objętości 20 µl reakcji użyto 10 µl Supermixu SYBR® Green, po 1,5 µl starterów badanych genów oraz wodę wolną od nukleaz do uzupełnienia objętości. Matrycę cDNA dodawano w końcowym etapie przygotowania reakcji, zachowując zalecaną ilość 100 ng-100 fg.

Zaplanowany profil termiczny obejmował następujące etapy: początkową denaturację w 95°C przez 30 s, a następnie 40 cykli składających się z etapu denaturacji w 95°C przez 10 s oraz etapu przyłączania starterów połączonego z elongacją w 60°C przez 30 s. Odczyt fluorescencji wykonywano po każdym cyklu amplifikacji, co pozwalało na monitorowanie przebiegu reakcji w czasie rzeczywistym.

Dla każdego z analizowanych genów zaprojektowano odpowiednie pary starterów, których sekwencje przedstawiono w tabeli 1. Analiza ekspresji mRNA została

przeprowadzona metodą względną, z zastosowaniem metody porównawczej $2^{-\Delta CT}$, umożliwiający ocenę różnic ekspresji pomiędzy badanymi punktami czasowymi i grupami uczestników [251].

Tabela 1. Sekwencje starterów wykorzystanych w badaniach

GEN	FORWARD	REVERSE	ŹRÓDŁO
GAPDH	TGCACCACCAACTG CTTAGC	GGCATGGACTGTGGTCA TGAG	[252]
FGF21	CTGCAGCTGAAAGCCTT GAAGC	GTATCCGTCCTCAAGAAG CAGC	[253]
FGFR1	TAATGGACTCTGTGGTG CCCTC	ATGTGTGGTTGATGCTG CCG	[254]
FGFR3	TCCATCTCCTGGCTGAA GAACG	TGTTCTCCACGACGCAGG TGTA	[255]
FGFR4	AACACCGTCAAGTTCC GCTGTC	CATCACGAGACTCCAGTG CTGA	[256]
KLB	TCTGTCATCCTGTCAG CACTT	CCAGTCCCAATACCCCAG AAAAA	[257]
GDF15	CAACCAGAGCTGGGAA GATTCG	CCCGAGAGATACGCAGG TGCA	[258]
GFRAL	GGAGAGTAATGGAAGAT GCCTGC	GAAGTCATCAGTGCAAAG ACACTC	[259]
TNF-α	CTCTTCTGCCTGCTGCA CTTTG	ATGGGCTACAGGCTTGTC ACTC	[260]
TNFR-1	CCGCTTCAGAAAACCAC CTCAG	ATGCCGGTACTGGTTCTT CCTG	[260]
TNFR-2	CGTTCTCCAACACGACT TCATCC	ACGTGCAGACTGCATCC ATGCT	[261]
IL4	CCAACTGCTTCCCCC TCTG	TCTGTTACGGTCAACTC GGTG	[262]
IL4Rα	TTGCGAGTGGAAGATG AATG	CTCCGTTGTTCTCAGGG ATAC	[263]

9. Test immunoenzymatyczny (ELISA)

Stężenia wybranych białek (FGF21, GDF15, IL-4 oraz TNF-α) zostały oznaczone w osoczu krwi pobranym od wszystkich uczestników badania w wyznaczonych punktach czasowych (przed testem wysiłkowym, bezpośrednio po nim, po 0,5 h, 6 h, 24 h i 48 h). Do analizy wykorzystano test immunoenzymatyczny typu ELISA, przeprowadzony zgodnie z instrukcjami producenta zestawów komercyjnych.

Stężenia białek FGF21 (nr kat. SEC918Hu) oraz GDF15 (nr kat. SEC034Hu) oznaczano z wykorzystaniem komercyjnych testów immunoenzymatycznych firmy Cloud-Clone Corp. (Houston, TX, USA). Do oznaczeń IL-4 (nr kat. 950.020.192) oraz TNF-α (nr kat. 950.090.192) zastosowano zestawy ELISA produkcji Diaclone (Medix Biochemica, Espoo, Finlandia). Wszystkie analizy wykonano zgodnie z instrukcjami

producentów, z zachowaniem standardowych procedur przygotowania próbek, etapów inkubacji, płukania i odczytu absorbancji.

Pomiar absorbancji przeprowadzono w 96-dołkowych płytkach wykorzystując czytnik mikropłytkowy Synergy H1 (BioTek, Agilent Technologies, Santa Clara, USA) oraz długość fali 450 nm. Wartości stężeń białek obliczono na podstawie krzywych kalibracyjnych wygenerowanych na podstawie standardów dołączonych do każdego zestawu.

10. Analiza statystyczna

Wyniki ekspresji badanych genów uzyskano na podstawie CT (ang. cycle threshold) będącego podstawą do obliczeń wartości $2^{-\Delta CT}$, które następnie poddano analizie statystycznej. W pierwszym etapie oceniono rozkład zmiennych pod kątem zgodności z rozkładem normalnym przy użyciu testu Shapiro-Wilka. Ponieważ większość rozkładów istotnie odbiegała od normalności, do porównań zastosowano metody nieparametryczne.

Do porównań grup niezależnych (sportowcy vs. osoby nietrenujące) wykorzystano test U Manna-Whitneya. Natomiast porównania zmiennych zależnych (zmiany w czasie w obrębie tej samej grupy) przeprowadzono za pomocą testu rang Wilcoxona. Dodatkowo, w celu oceny związku pomiędzy poziomem ekspresji genów a stężeniem odpowiadających im białek w osoczu krwi, przeprowadzono analizę korelacji za pomocą nieparametrycznego współczynnika korelacji rang Spearmana. Umożliwiło to ocenę siły i kierunku zależności pomiędzy zmiennymi biologicznymi, niezależnie od rodzaju ich rozkładu. Wszystkie analizy statystyczne przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania Statistica 13 (TIBCO Software Inc., USA, Palo Alto, Kalifornia). Wartość $p < 0,05$ uznawano za statystycznie istotną.

WYNIKI BADAŃ

1. Charakterystyka grup

Analiza porównawcza median wybranych cech antropometrycznych (tabela 2) i parametrów wydolnościowych (tabela 3) między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących wykazała istotne różnice w kilku kluczowych zmiennych. Ze względu na rozkład zmiennych zastosowano nieparametryczny test U Manna-Whitneya; w tabeli podano wartości p oraz statystyki Z.

Tabela 2. Wyniki pomiarów antropometrycznych uczestników badania (mediana ± rozstęp międzykwartylowy, poziom istotności p <0,05)

PARAMETR	T	UT	P	Z
WIEK [LATA]	20 ± 1	22 ± 1	**0,024**	-2,204
MASA CIAŁA [KG]	71,5 ± 7	75,2 ± 11	**0,038**	-2,073
WZROST [CM]	1,78 ± 0,07	1,8 ± 0,05	0,100	-1,637
BMI	22,87 ± 1,30	23,84 ± 1,19	**0,042**	-2,029

T – grupa sportowców; UT – grupa osób niećwiczących; Z- wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; p < 0,05 pogrubioną czcionką

Mediany wieku wynosiły odpowiednio 20 lat w grupie sportowców i 22 lata w grupie niećwiczących (p = 0,024, Z = -2,204). W odniesieniu do cech somatycznych sportowcy wykazywali niższą medianę masy ciała (71,0 kg vs 75,2 kg; p = 0,038, Z = -2,073) oraz niższe wartości wskaźnika BMI (22,60 vs 23,84; p = 0,042, Z = -2,029), natomiast różnice w medianie wzrostu nie osiągnęły istotności statystycznej (1,78 m vs 1,80 m; p = 0,100, Z = -1,637). Obserwowane niższe wartości masy ciała i BMI w grupie sportowców są zgodne z oczekiwanym profilem antropometrycznym populacji trenującej wytrzymałościowo i mogą odzwierciedlać korzystniejszą kompozycję ciała (mniejszy udział tkanki tłuszczowej) w tej grupie.

W zakresie parametrów wydolnościowych najistotniejszą różnicę zaobserwowano dla VO_2max, której mediana była znacząco wyższa wśród sportowców w porównaniu z osobami niećwiczącymi (55,9 vs 40,9 ml/kg/min; p < 0,000001, Z = 4,561). Tak wyraźna przewaga VO_2max w grupie sportowców odzwierciedla typowe adaptacje układu sercowo-naczyniowego i mitochondrialnego wynikające z regularnego treningu wytrzymałościowego i ma bezpośrednie przełożenie na możliwości wysiłkowe badanych. Mediany wentylacji minutowej (MV) nie różniły się istotnie między grupami

(145,6 vs 137,5 L/min; p = 0,182, Z = 1,331), podobnie jak maksymalna częstość skurczów serca (HRmax: 199 vs 196; p = 0,165, Z = 1,375). Współczynnik wymiany oddechowej (RQ) wykazał istotną różnicę pomiędzy grupami, przy czym mediana RQ była wyższa u sportowców (1,24 vs 1,12; p = 0,00004, Z = 4,081). Wyższy RQ w tej próbce, odnotowany przy pomiarze wysiłkowym, może świadczyć o większym udziale przemian węglowodanowych w końcowej fazie wysiłku maksymalnego u sportowców lub o różnicach w intensywności osiąganej podczas testu; interpretacja RQ powinna uwzględniać punkt pomiaru (okres wysiłku vs odpoczynku) oraz stan odżywienia badanych. Częstość oddechów (RF) również była istotnie wyższa w grupie sportowców (60,2 vs 55 oddechów/min; p = 0,0004, Z = 3,513), co może odzwierciedlać większe zaangażowanie mechanizmów wentylacyjnych podczas wysiłku maksymalnego lub różnice w strategii wentylacyjnej między grupami.

Tabela 3. Wyniki testów wydolnościowych uczestników badania wykonywane w trakcie testu wysiłkowego (mediana ± rozstęp międzykwartylowy, poziom istotności p <0,05)

PARAMETR	T	UT	P	Z
HRmax	199 ± 5	196 ± 16,5	0,165	1,375
VO_2max [ML/MIN/KG]	55,9 ± 0,58	43,25 ± 8,76	**0,000002**	4,561
MV [L/MIN]	145,6 ± 12,13	137,5 ± 24,5	0,182	1,331
RQ	1,24 ± 0,11	1,12 ± 0,05	**0,00004**	4,081
Rf [1/MIN]	60,2 ± 3,5	55 ± 9	**0,0004**	3,513

HR_{max} – maksymalna częstość skurczów serca; VO_2max – maksymalna objętość tlenu pochłanianego przez organizm w jednostce czasu; MV – objętość minutowa płuc, całkowita objętość powietrza wymienianego w jednostce czasu; RQ – stosunek objętości wydychanego CO_2 (VCO_2) do objętości pobranego tlenu (VO_2); Rf – częstość oddechów na minutę; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; p <0,05 pogrubioną czcionką

Podsumowując, grupa sportowców charakteryzowała się korzystniejszym profilem wydolności tlenowej (wyraźnie wyższe VO_2max) oraz odmiennymi wskaźnikami wymiany gazowej (wyższe RQ i RF) w porównaniu z osobami niećwiczącymi, przy jednoczesnym braku istotnych różnic w HRmax i MV. Uzyskane wyniki są spójne z dotychczasową literaturą dotyczącą adaptacji do treningu wytrzymałościowego i wskazują na znaczące różnice metaboliczne i wydolnościowe między badanymi grupami.

2. Wyniki badań krwi

Tabela 4 obejmuje wyniki porównania parametrów hematologicznych i biochemicznych między grupą zawodowych sportowców a osobami niećwiczącymi w sześciu punktach czasowych, począwszy od momentu przed testem wysiłkowym aż do 48 godzin po jego zakończeniu. Analiza uwzględniała istotność statystyczną różnic pomiędzy grupami (test U Manna-Whitneya).

Tabela 4. Tabela podsumowująca różnice statystyczne dla parametrów leukocytarnych oraz biochemicznych między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych

PARAMETR	PRZED TESTEM	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
WBC (tys/µl)	UT > T (Z=-0.230, p=0.818)	UT < T (Z=0.184, p=0.854)	UT < T (Z=-0.438, p=0.662)	UT < T (Z=-1.612, p=0.107)	UT > T (Z=0.415, p=0.678)	UT > T (Z=0.760, p=0.447)
NEU (tys/µl)	UT > T (Z=0.156, p=0.876)	UT > T (Z=-0.472, p=0.637)	UT < T (Z=-0.882, p=0.378)	UT < T (Z=-1.194, p=0.233)	UT > T (Z=0.104, p=0.917)	UT > T (Z=0.545, p=0.586)
LYM (tys/µl)	UT < T (Z=-0.130, p=0.897)	UT < T (Z=0.220, p=0.825)	UT > T (Z=-0.208, p=0.836)	UT < T (Z=-1.765, p=0.078)	UT < T (Z=-0.545, p=0.586)	UT < T (Z=-0.493, p=0.622)

WBC – leukocyty; NEU – neutrofile; LYM – limfocyty; UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; p < 0,05 pogrubioną czcionką

W przypadku liczby leukocytów, płytek krwi, neutrofili i limfocytów nie zaobserwowano istotnych różnic statystycznych między sportowcami a osobami niećwiczącymi, choć kierunki zmian wskazywały na przejściowe wahania zależne od czasu po wysiłku.

Tabela 5. Wyniki badań krwi uczestników z grupy sportowców (T) (mediana ± rozstęp międzykwartylowy, poziom istotności p <0,05)

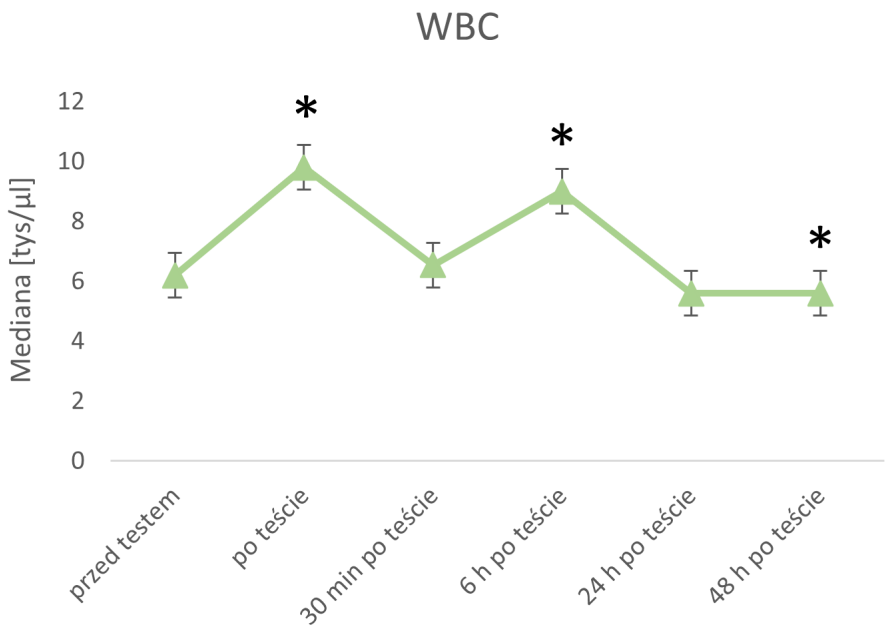
PARAMETR	PRZED TESTEM	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
WBC [tys/µl]	6,2 ± 2,32	**9,8 ± 4,61**	6,54 ± 3,7	**9,08 ± 2,59**	5,3 ± 2,38	**5,6 ± 1,6**
NEU [tys/µl]	3,17 ± 1,67	**4,41 ± 1,61**	**4,16 ± 2,7**	**6,43 ± 1,92**	2,84 ± 0,76	**2,80 ± 0,91**
LYM [tys/µl]	2,28 ± 0,68	**3,61 ± 1,45**	**1,47 ± 0,76**	2,1 ± 0,98	2,2 ± 1,0	2,0 ± 1,26

WBC – leukocyty; NEU – neutrofile; LYM – limfocyty; p < 0,05 pogrubioną czcionką

Tabela 5 przedstawia zestawienie wyników badań krwi wykonanych u uczestników z grupy sportowców w sześciu punktach czasowych: przed testem wysiłkowym, bezpośrednio po jego zakończeniu, a następnie po 30 min, 6 h, 24 h oraz 48 h. Wyniki zaprezentowano w formie median wraz z oznaczeniem istotności

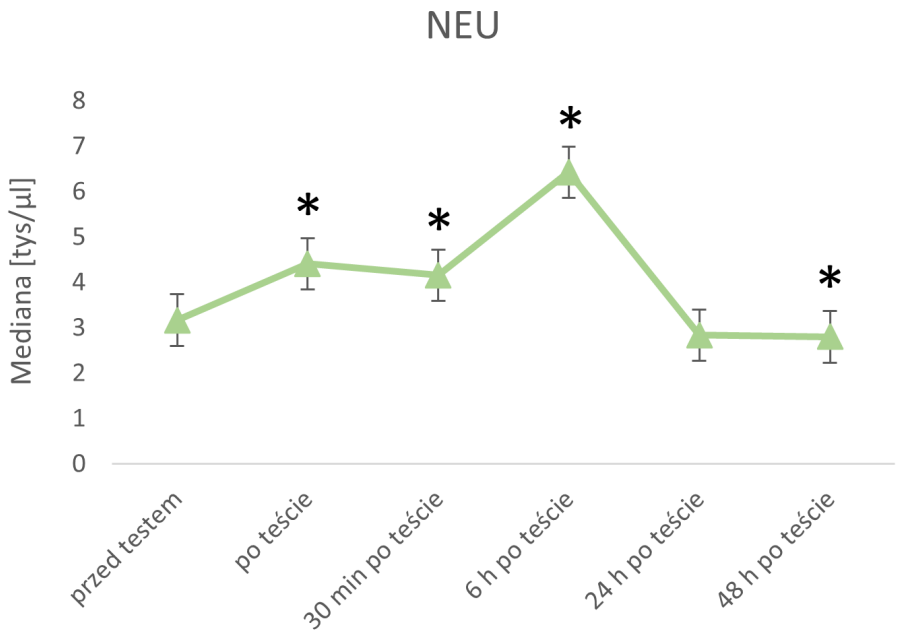
statystycznej (p < 0,05), która była wynikiem porównania wyników uzyskanych w poszczególnych punktach czasowych do wartości spoczynkowej (przed testem).

W zakresie parametrów morfologii krwi odnotowano istotne zmiany w liczbie leukocytów. W porównaniu z wartością spoczynkową ich liczba istotnie wzrosła bezpośrednio po wysiłku (p = 0,001; rycina 3) oraz 6 godzin po wysiłku (p = 0,001, rycina 3). Jednakże po 48 godzinach obserwowano istotny statystycznie spadek ilości WBC względem wartości wyjściowej (p = 0,006; rycina 3).

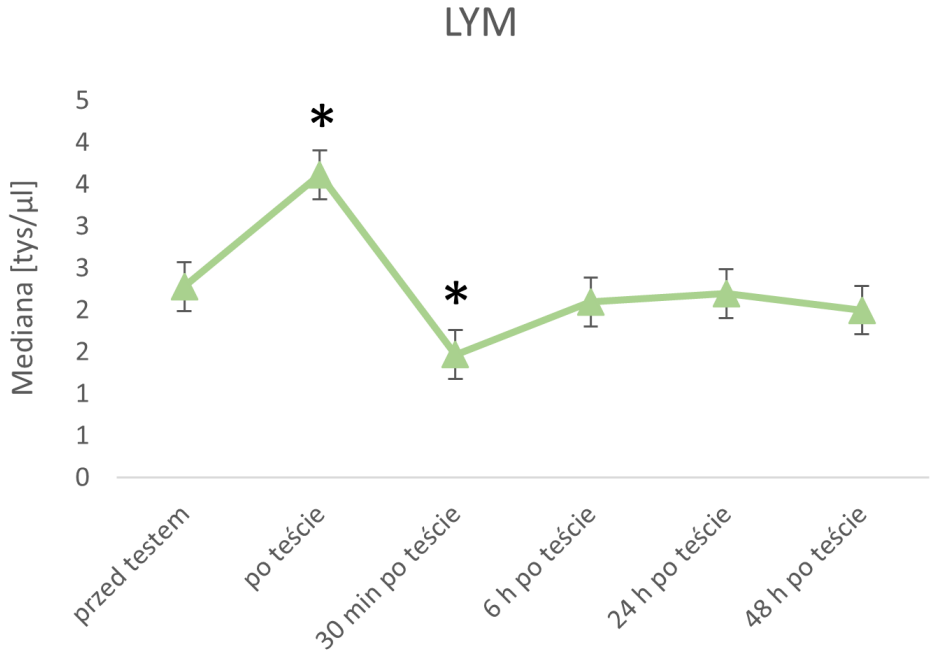


Rycina 3. Porównanie liczby leukocytów w grupie sportowców między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * p < 0,05

W odniesieniu do rozdziału leukocytów wykazano istotne zmiany zarówno w populacji neutrofili, jak i limfocytów. Liczba neutrofili wzrosła po wysiłku (p = 0,001, rycina 4), utrzymywała się na podwyższonym poziomie we wczesnym okresie powysiłkowym (p = 0,002; rycina 4), osiągając szczyt w jednym z późniejszych pomiarów (6 godzin po teście, p = 0,001, rycina 6), a następnie obniżyła się istotnie, osiągając wartości niższe niż wyjściowe (p = 0,005; rycina 4). Liczba limfocytów także zwiększyła się istotnie bezpośrednio po teście (p = 0,001; rycina 5), po czym gwałtownie spadła 30 minut po teście (p = 0,001; rycina 5), a następnie stabilizowała się, oscylując wokół wartości zbliżonych do wyjściowych.



Rycina 4. Porównanie liczby neutrofili w grupie sportowców między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * $p < 0,05$



Rycina 5. Porównanie liczby limfocytów w grupie sportowców między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * $p < 0,05$

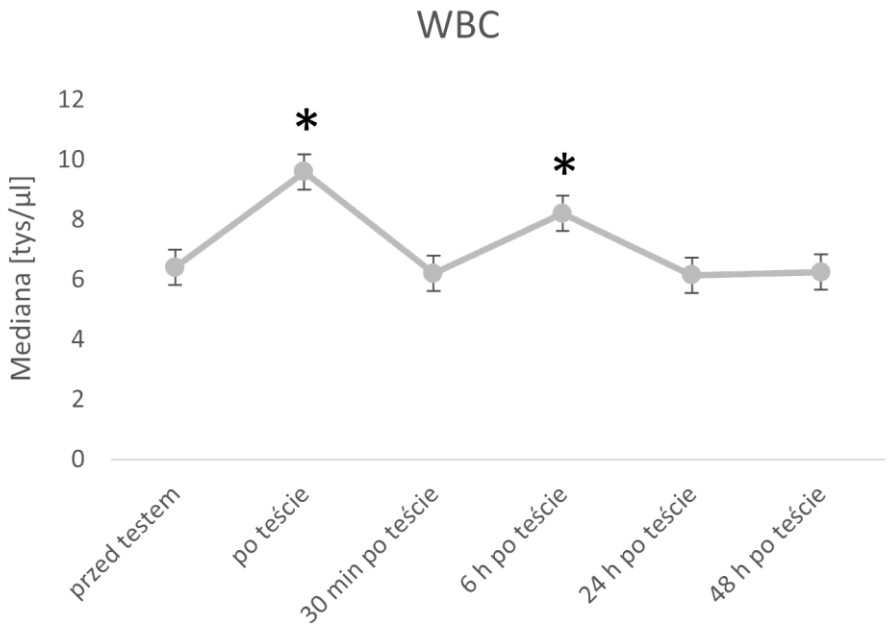
Tabela 6 przedstawia wyniki badań krwi uczestników z grupy osób niećwiczących.

Tabela 6. Wyniki badań krwi uczestników z grupy niećwiczących (UT) (mediana ± rozstęp międzykwartylowy, poziom istotności p <0,05)

PARAMETR	PRZED TESTEM	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
WBC [tys/µl]	6,4 ± 2,09	**9,59 ± 2,77**	6,2 ± 1,53	**8,2 ±1,82**	6,14 ± 1,11	6,25 ± 1,2
NEU [tys/µl]	3,36 ± 0,43	**4,44 ± 0,48**	3,4 ± 0,55	**6,27 ± 2,27**	3,06 ± 0,31	**3,0 ± 0,58**
LYM [tys/µl]	2,1 ± 1,18	**3,52 ± 0,77**	**1,6 ± 0,5**	**1,76 ± 0,46**	**1,725 ± 0,25**	1,81 ± 0,5

WBC – leukocyty; NEU – neutrofile; LYM – limfocyty; p < 0,05 pogrubioną czcionką

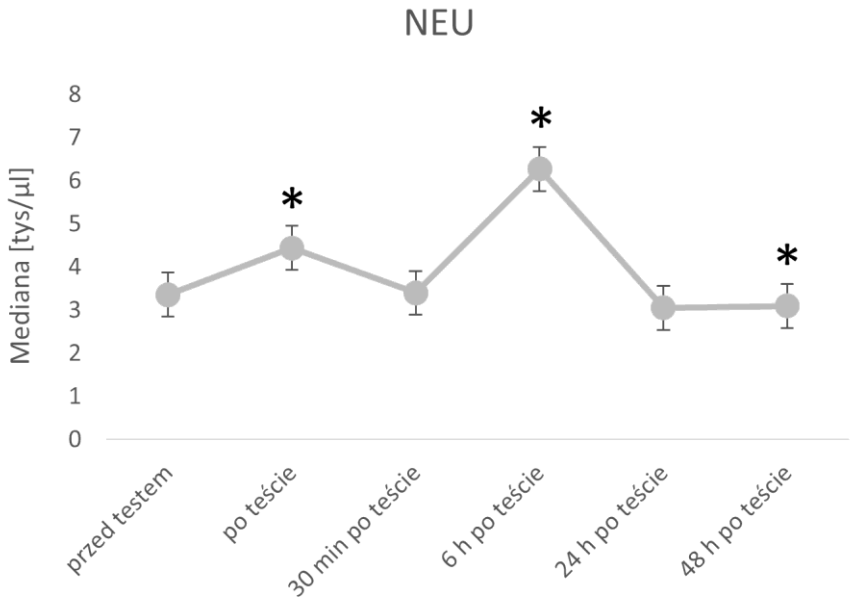
Analiza parametrów hematologicznych w grupie osób niećwiczących wykazała, że liczba leukocytów istotnie wzrosła bezpośrednio po zakończeniu wysiłku (p = 0,001; rycina 6). W krótkim czasie po teście zaobserwowano wyraźny spadek liczby leukocytów, natomiast po 6 godzinach ponownie odnotowano ich istotny wzrost względem wartości spoczynkowych (p = 0,004; rycina 6). W najpóźniejszych pomiarach wartości powracały do zakresu wyjściowego, bez kolejnych istotnych odchyleń.



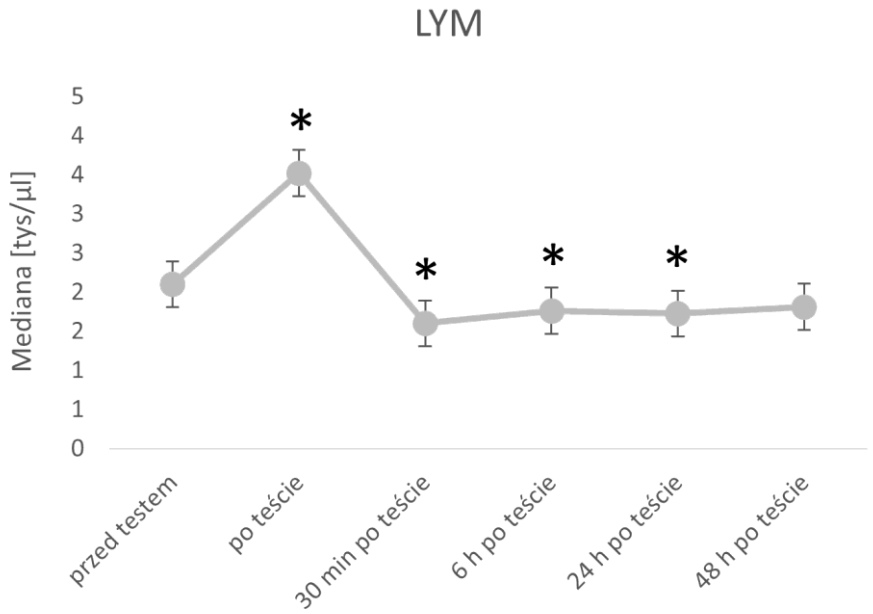
Rycina 6. Porównanie liczby leukocytów w grupie osób niećwiczących między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * p < 0,05

W przypadku neutrofili zaobserwowano wzrost bezpośrednio po zakończeniu wysiłku (p = 0,04, rycina 7), który nasilił się jeszcze w pomiarze po 6 godzinach (p = 0,02, rycina 7), gdzie osiągnął najwyższy poziom w całej serii obserwacji. W dwóch ostatnich punktach czasowych liczba neutrofili obniżyła się, powracając do wartości

zbliżonych do wyjściowych, osiągając istotność statystyczną w 48 godzinie (p = 0,03, rycina 7).



Rycina 7. Porównanie liczby neutrofili w grupie osób niećwiczących między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * p < 0,05



Rycina 8. Porównanie liczby limfocytów w grupie osób niećwiczących między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * p < 0,05

Odmienny przebieg dotyczył limfocytów. Bezpośrednio po teście ich liczba zwiększyła się istotnie (p = 0,001; rycina 8), natomiast 30 minut (p = 0,002, rycina 8),

6 godzin (p = 0,01, rycina 8) oraz 24 godziny po teście (p = 0,02, rycina 8) odnotowano wyraźny spadek, a wartości były istotnie niższe od wartości spoczynkowej.

3. Ekspresja genów

3.1. Porównanie ekspresji genów między grupami

Wyniki uzyskane metodą RT-qPCR zostały przedstawione w układzie cytokina-receptor, co pozwala na kompleksową ocenę zarówno ligandów, jak i ich receptorów warunkujących skuteczność odpowiedzi biologicznej. Takie zestawienie umożliwia analizę zależności funkcjonalnych między ekspresją genu kodującego cytokinę a poziomem transkrypcji jej receptora, co daje pełniejszy obraz mechanizmów regulacji odpowiedzi na wysiłek fizyczny.

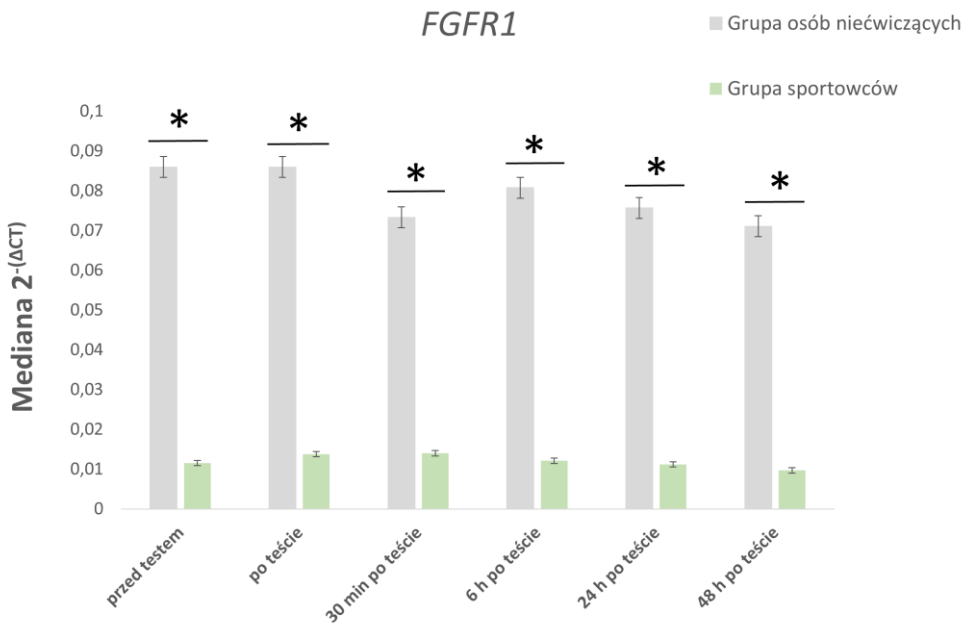
Tabela 7. Tabela podsumowująca różnice w ekspresji genów *FGF21*, *FGFR1*, *FGFR3*, *FGFR4* oraz *KLB* między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych

GEN	PRZED TESTEM	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
FGF21	UT < T (Z=-1.198, p=0.231)	UT < T (Z=-0.415, p=0.678)	UT < T (Z=-0.967, p=0.333)	UT < T (Z=-1.267, p=0.205)	UT < T (Z=-0.760, p=0.447)	UT < T (Z=-0.184, p=0.854)
FGFR1	UT > T (Z=3.869, **p=0.0001**)	UT > T (Z=3.824, **p=0.0001**)	UT > T (Z=3.869, **p=0.0001**)	UT > T (Z=3.271, **p=0.0011**)	UT > T (Z=3.685, **p=0.0002**)	UT > T (Z=3.962, **p=0.00007**)
FGFR3	UT < T (Z=-1.013, p=0.311)	UT < T (Z=-1.289, p=0.197)	UT < T (Z=-1.013, p=0.311)	UT < T (Z=-0.829, p=0.407)	UT < T (Z=-2.257, **p=0.024**)	UT > T (Z=0.253, p=0.800)
FGFR4	UT < T (Z=-1.843, p=0.065)	UT < T (Z=-0.576, p=0.565)	UT < T (Z=-2.303, **p=0.021**)	UT < T (Z=0.345, p=0.730)	UT < T (Z=-1.681, p=0.093)	UT < T (Z=-2.879, **p=0.004**)
KLB	UT < T (Z=-0.921, p=0.357)	UT < T (Z=-0.553, p=0.580)	UT < T (Z=-0.645, p=0.519)	UT < T (Z=-1.129, p=0.259)	UT < T (Z=-0.345, p=0.730)	UT < T (Z=-0.184, p=0.854)

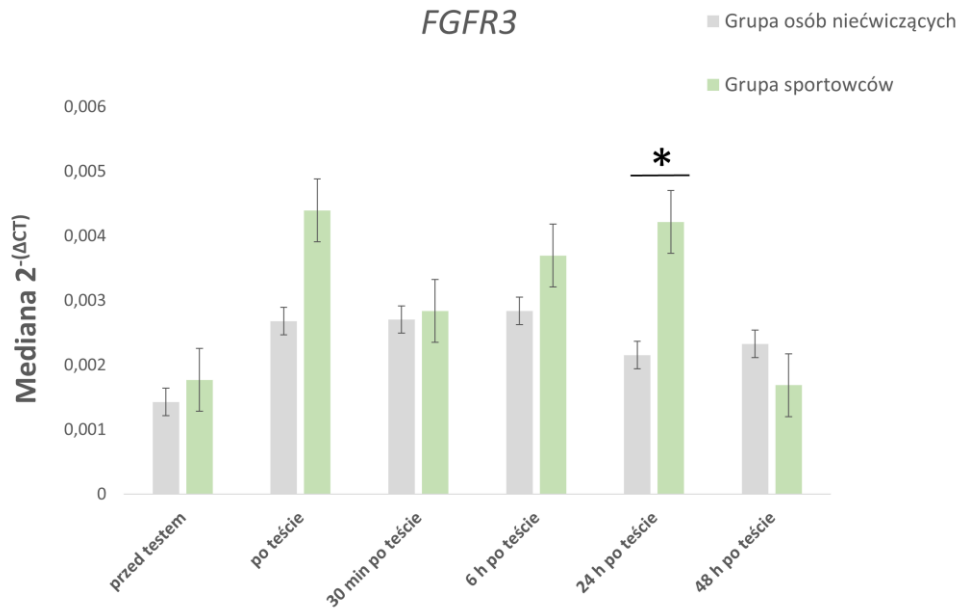
UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; poziom istotności p < 0,05 pogrubioną czcionką

FGF21 oraz jego koreceptor *KLB* nie wykazały istotnych różnic między grupami (p > 0,05, tabela 7) w żadnym punkcie czasowym. W przypadku *FGFR1*, był to jedyny gen, którego ekspresja różniła się statystycznie między obiema grupami w każdym punkcie czasowym (rycina 9). Podczas pomiarów wykonywanych przed testem wysiłkowym ekspresja *FGFR1* była znacząco wyższa w grupie osób niećwiczących niż w grupie sportowców (p = 0,0001). Wynik ten utrzymywał się podczas wszystkich pomiarów (tabela 7, rycina 9).

Ekspresja *FGFR3* była istotnie niższa u osób niećwiczących (p = 0,024) tylko 24 godziny po teście (tabela 7, rycina 10). Nie zaobserwowano znaczących zmian między grupami w innych punktach czasowych.

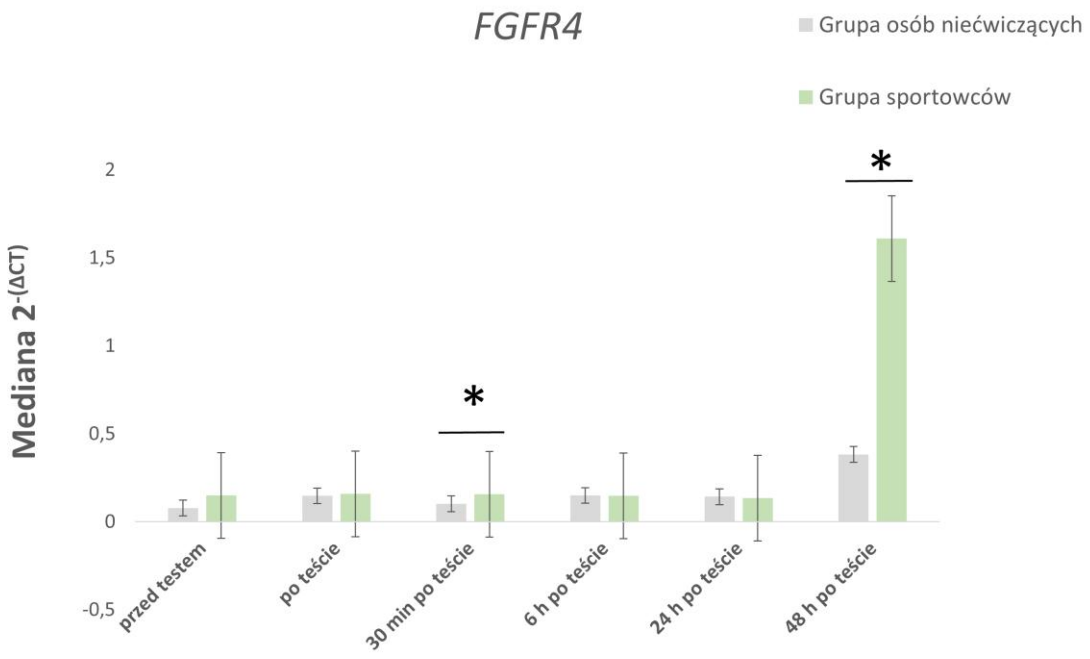


Rycina 9. Porównanie poziomu ekspresji genu *FGFR1* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)



Rycina 10. Porównanie poziomu ekspresji genu *FGFR3* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)

Ekspresja *FGFR4* wykazała statystycznie istotną różnicę między grupami (p = 0,021) 30 minut po teście (tabela 7, rycina 11), gdzie *FGFR4* był istotnie wyższy w grupie sportowców. W kolejnym punkcie czasowym, 6 godzin po wysiłku, efekt ten nie był już obecny (p = 0,730). Gen *FGFR4* wykazywał znacznie wyższą (p = 0,004, rycina 11) ekspresję również 48 godzin po teście, w grupie sportowców w porównaniu z grupą osób niećwiczących.



Rycina 11. Porównanie poziomu ekspresji genu *FGFR4* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice (p < 0,05)

Tabela 8. Tabela podsumowująca różnice w ekspresji genów *GDF15* oraz *GFRAL* między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych

GEN	PRZED TESTEM	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
GDF15	UT < T (Z=-1.059, p=0.289)	UT < T (Z=-0.829, p=0.407)	UT < T (Z=-1.152, p=0.249)	UT < T (Z=-1.013, p=0.311)	UT < T (Z=-1.106, p=0.269)	UT < T (Z=-0.553, p=0.580)
GFRAL	UT < T (Z=-1.474, p=0.140)	UT < T (Z=-0.875, p=0.381)	UT < T (Z=-1.036, p=0.300)	UT < T (Z=-1.566, p=0.117)	UT < T (Z=-1.152, p=0.249)	UT < T (Z=1.244, p=0.214)

UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; poziom istotności p < 0,05 pogrubioną czcionką

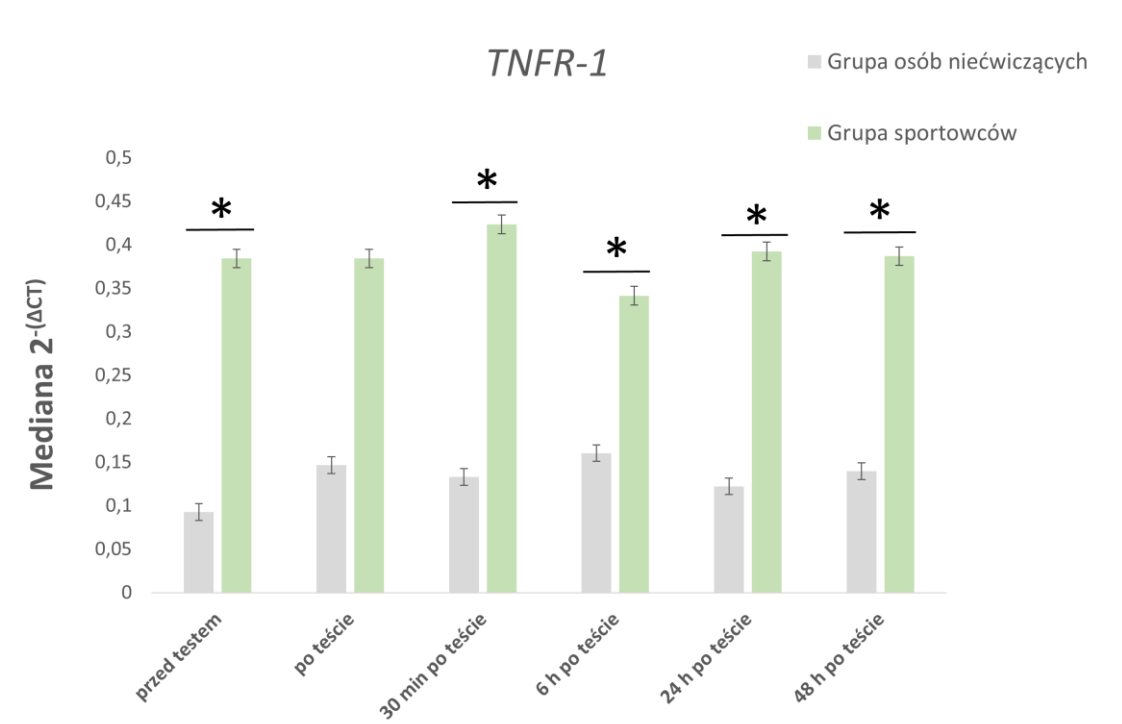
GDF15 oraz *GFRAL* nie wykazały istotnych różnic między grupami (p > 0,05, tabela 8) w żadnym punkcie czasowym.

TNF-α oraz jego receptor *TNFR-2* nie wykazały istotnych różnic między grupami (p > 0,05, tabela 9) w żadnym punkcie czasowym. W przypadku *TNFR-1*, był to jedyny gen, którego ekspresja różniła się statystycznie między obiema grupami przed testem oraz 30 min, 6 h, 24 h i 48 h po teście (rycina 12). Ekspresja *TNFR-1* była znacząco niższa w grupie osób niećwiczących niż w grupie sportowców, a najwyższa różnica była obserwowana w stanie spoczynkowym (p = 0,0099, rycina 12).

Tabela 9. Tabela podsumowująca różnice w ekspresji genów *TNF-α*, *TNFR-1* oraz *TNFR-2* między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych

GEN	PRZED TESTEM	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
TNF-α	UT < T (Z=-1.750, p=0.08)	UT < T (Z=-0.576, p=0.565)	UT < T (Z=-1.474, p=0.140)	UT < T (Z=-0.645, p=0.519)	UT < T (Z=-1.382, p=0.166)	UT < T (Z=-1.382, p=0.167)
TNFR-1	UT < T (Z=-2., **p=0.0099**)	UT < T (Z=-1.797, p=0.072)	UT < T (Z=-2.395, **p=0.0166**)	UT < T (Z=-2.119, **p=0.034**)	UT < T (Z=-2.303, **p=0.021**)	UT < T (Z=-2.142, **p=0.032**)
TNFR-2	UT < T (Z=-0.921, p=0.357)	UT < T (Z=-1.059, p=0.289)	UT < T (Z=-1.175, p=0.240)	UT > T (Z=0.276, p=0.782)	UT > T (Z=0.023, p=0.982)	UT < T (Z=-1.221, p=0.222)

UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; poziom istotności p < 0,05 pogrubioną czcionką



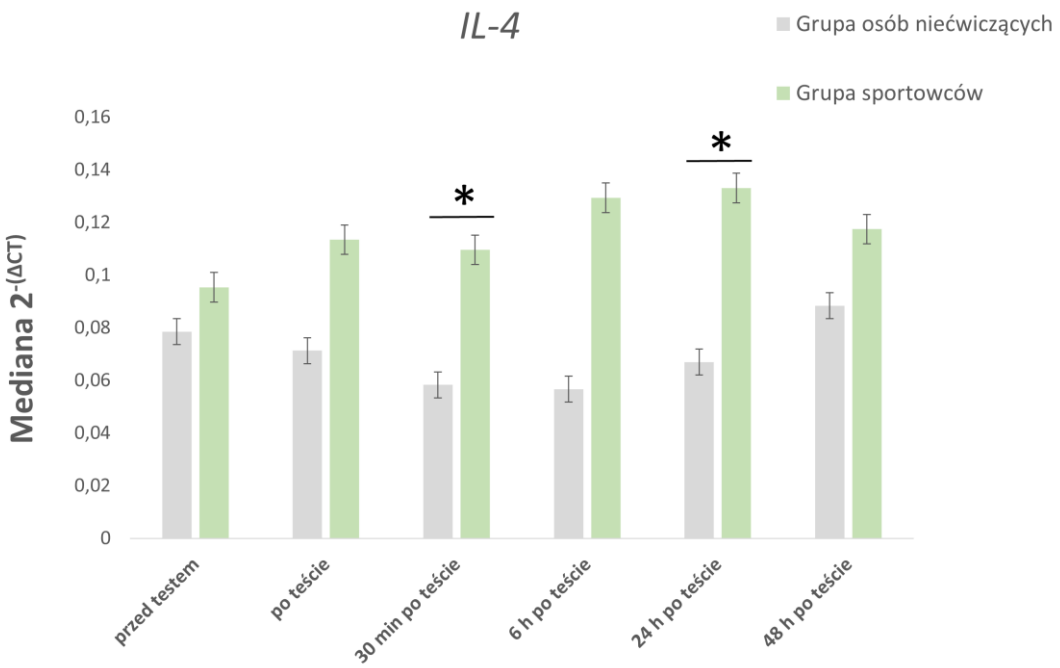
Rycina 12. Porównanie poziomu ekspresji genu *TNFR-1* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice (p < 0,05)

W przypadku *IL-4* oraz *IL-4R*, obserwowane były pojedyncze istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących ($p < 0,05$, tabela 10). Ekspresja *IL-4* była istotnie wyższa w grupie sportowców niż w grupie osób niećwiczących 30 minut oraz 24 godziny po teście wysiłkowym (rycina 13). Najwyższa różnica była obserwowana 24 godziny po aktywności fizycznej ($p = 0,002$, rycina 13). Istotną statystycznie różnice w ekspresji *IL-4R* między dwoma grupami obserwowano jedynie bezpośrednio po teście. Wyższa ekspresja *IL-4R* odnotowana była w grupie osób niećwiczących (rycina 14).

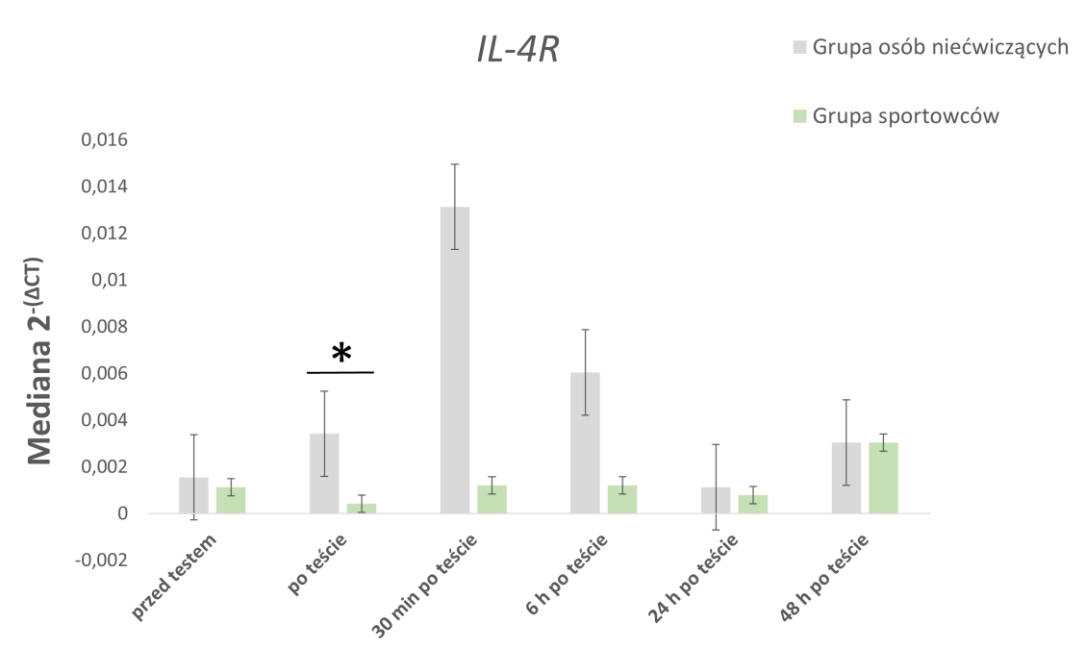
Tabela 10. Tabela podsumowująca różnice w ekspresji genów *IL-4* oraz *IL-4R* między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych

GEN	PRZED TESTEM	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
IL-4	UT < T (Z=-1.543, p=0.123)	UT < T (Z=-1.843, p=0.065)	UT < T (Z=-2.073, **p=0.038**)	UT < T (Z=-1.428, p=0.153)	UT < T (Z=-3.086, **p=0.002**)	UT < T (Z=-1.290, p=0.197)
IL-4R	UT > T (Z=0.645, p=0.519)	UT > T (Z=2.211, **p=0.027**)	UT > T (Z=1.290, p=0.197)	UT > T (Z=1.842, p=0.065)	UT > T (Z=1.129, p=0.259)	UT > T (Z=0.345, p=0.730)

UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; poziom istotności $p < 0,05$ pogrubioną czcionką



Rycina 13. Porównanie poziomu ekspresji genu *IL-4* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)



Rycina 14. Porównanie poziomu ekspresji genu *IL-4R* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)

3.2. Porównanie ekspresji genów między punktami czasowymi

Tabela 11 przedstawia wyniki uzyskane przez porównanie zmian ekspresji genów *FGF21*, *FGFR1*, *FGFR3*, *FGFR4* oraz *KLB* między różnymi punktami czasowymi u sportowców i osób niećwiczących. Ponownie, wyniki zostały przedstawione w zestawieniu cytokina-receptor.

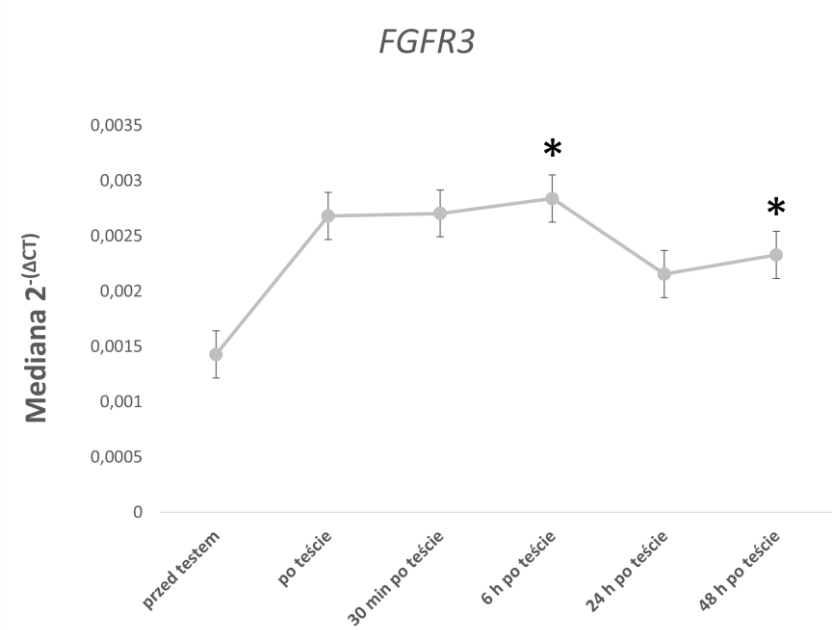
W grupie osób niećwiczących nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w ekspresji *FGF21* i *FGFR1* w żadnym punkcie czasowym w porównaniu do wartości spoczynkowych ($p > 0,05$ dla wszystkich porównań). W grupie sportowców dokonano podobnych obserwacji. Nie było statystycznie istotnej różnicy w jakimkolwiek punkcie czasowym po wysiłku dla genów *FGF21*, *FGFR1*, ale także dla *FGFR3* oraz *KLB* w porównaniu do wartości spoczynkowych ($p > 0,05$ we wszystkich porównaniach).

Statystycznie istotne różnice w ekspresji *FGFR3* zaobserwowano w grupie osób niećwiczących w dwóch punktach czasowych w porównaniu do wartości sprzed testu wysiłkowego. Pierwszym z nich był znaczący wzrost ekspresji *FGFR3* ($Z = 2,131$, $p = 0,0330$, rycina 15) 6 godzin po wysiłku. Drugim był znaczący wzrost ekspresji *FGFR3* ($Z = 1,992$, $p = 0,0464$, rycina 15) 48 godzin po wysiłku. Nie zaobserwowano statystycznie istotnych zmian w pozostałych punktach czasowych.

Tabela 11. Tabela podsumowująca wyniki analizy statystycznej dla genów *FGF21*, *FGFR1*, *FGFR3*, *FGFR4* oraz *KLB*, podkreślająca istotne różnice między punktami czasowymi i poziomem spoczynkowym (p < 0,05)

GEN	GRUPA	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
FGF21	UT	nd	nd	nd	nd	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd
FGFR1	UT	nd	nd	nd	nd	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd
FGFR3	UT	nd	nd	**↑ (Z = 2.132, p = 0.0330)**	nd	**↑ (Z = 1.992, p = 0.0464)**
	T	nd	nd	nd	nd	nd
FGFR4	UT	**↑ (Z = 2.411, p = 0.0159)**	nd	**↑ (Z = 2.691, p = 0.0071)**	**↑ (Z = 2.481, p = 0.0131)**	**↑ (Z = 2.760, p = 0.0058)**
	T	nd	nd	nd	nd	**↑ (Z = 3.408, p = 0.0007)**
KLB	UT	nd	**↑ (Z = 2.510, p = 0.0121)**	**↑ (Z = 2.621, p = 0.0088)**	**↑ (Z = 1.992, p = 0.0464)**	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd

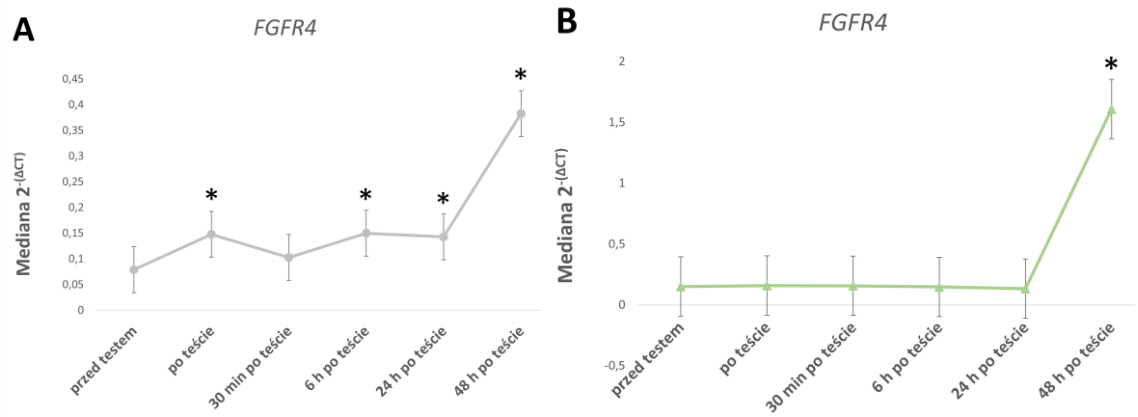
UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; nd – brak istotnych statystycznie różnic; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; poziom istotności p < 0,05 pogrubioną czcionką; ↑ – zwiększona ekspresja



Rycina 15. Zmiany poziomu ekspresji genu *FGFR3* w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między danym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym (p < 0,05)

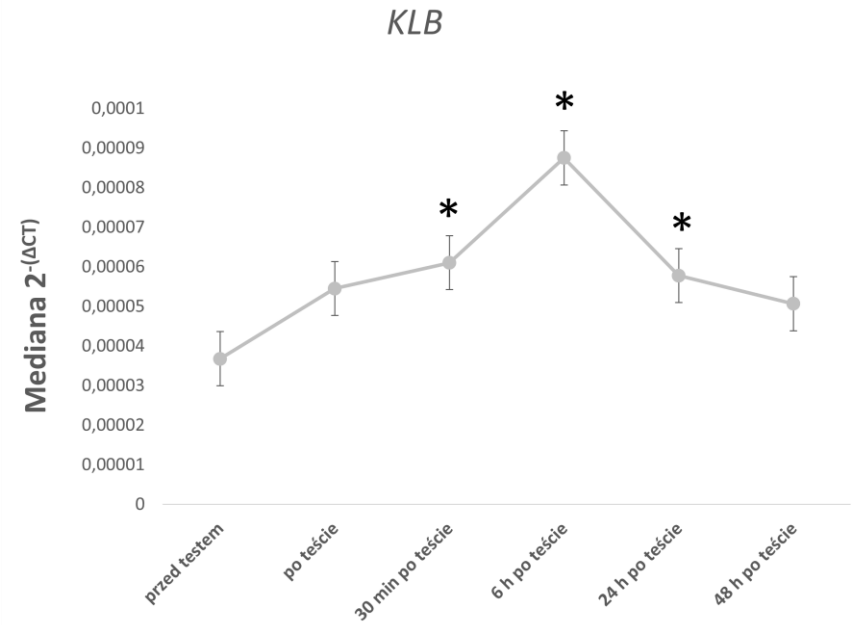
Ekspresja *FGFR4* wzrosła znacząco w wielu punktach czasowych w grupie osób niećwiczących. Istotnie wyższą ekspresję w porównaniu z wartościami spoczynkowymi obserwowano bezpośrednio po wysiłku (Z = 2,411, p = 0,0159, rycina 16A), 6 godzin po wysiłku (Z = 2,691, p = 0,0071, rycina 16A), 24 godziny po wysiłku (Z = 2,481,

p = 0,0131, rycina 16A) i 48 godzin po wysiłku (Z = 2,760, p = 0,0058, rycina 16A). Istotną statystycznie różnicę do wartości spoczynkowych odnotowano również w grupie sportowców 48 godzin po teście (Z = 3,408, p = 0,0007, rycina 16B).



Rycina 16. Zmiany poziomu ekspresji genu *FGFR4* w (A) grupie osób niećwiczących oraz (B) grupie sportowców między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między danym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

Wyniki w grupie osób niećwiczących sugerują, że ekspresja *KLB* znacząco wzrosła 30 min po teście wysiłkowym (Z = 2,510, p = 0,0121, rycina 17). Ekspresja pozostała podwyższona, z istotnością statystyczną (Z = 2,6207, p = 0,0088, rycina 17) 6 godzin oraz 24 godziny po teście (Z = 1,992, p = 0,0464, rycina 17).



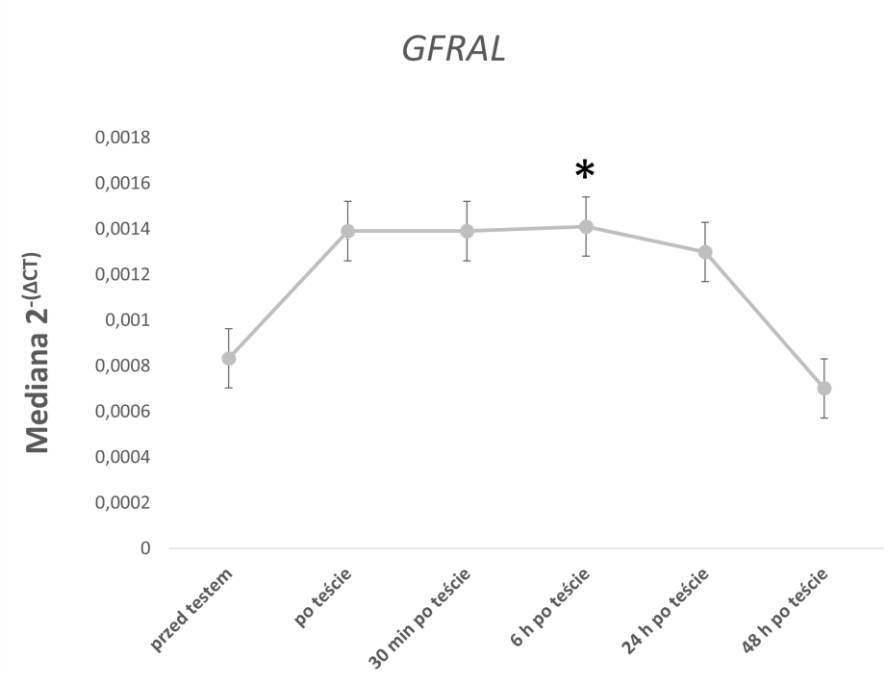
Rycina 17. Zmiany poziomu ekspresji genu *KLB* w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między tym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

Zarówno w grupie osób niećwiczących, jak i grupie sportowców, nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w ekspresji *GDF15* w żadnym punkcie czasowym w porównaniu do wartości sprzed testu wysiłkowego ($p > 0,05$ dla wszystkich porównań, tabela 12). Jednakże, ekspresja *GFRAL* znacząco wzrosła po 6 godzinach po wysiłku ($Z = 2,341$, $p = 0,0192$, tabela 12, rycina 18) w grupie osób niećwiczących. W grupie sportowców ekspresja *GFRAL* pozostała stabilna we wszystkich punktach czasowych. Nie było statystycznie istotnych różnic we wszystkich porównaniach ($p > 0,05$, tabela 12).

Tabela 12. Tabela podsumowująca wyniki analizy statystycznej dla genów *GDF15* oraz *GFRAL*, podkreślająca istotne różnice między punktami czasowymi i poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

GEN	GRUPA	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
GDF15	UT	nd	nd	nd	nd	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd
GFRAL	UT	nd	nd	**↑ (Z = 2.341, p = 0.0192)**	nd	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd

UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; nd – brak istotnych statystycznie różnic; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; poziom istotności $p < 0,05$ pogrubioną czcionką; ↑ – zwiększona ekspresja



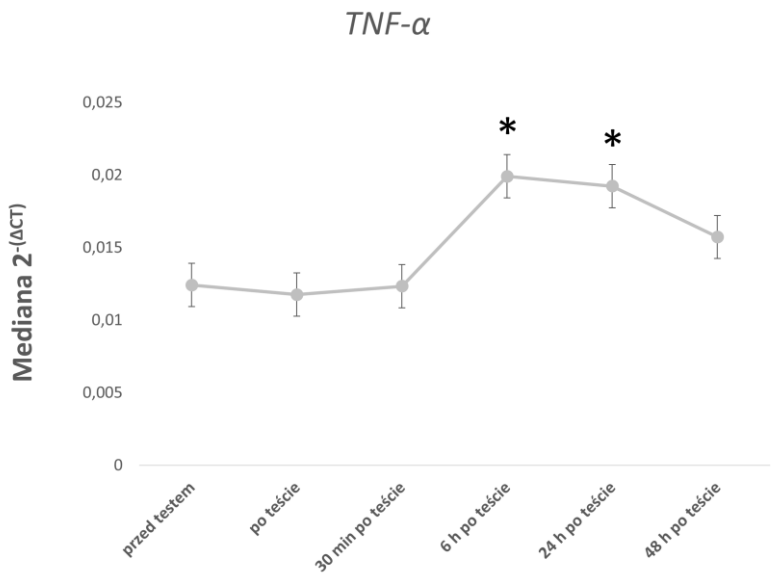
Rycina 18. Zmiany poziomu ekspresji genu *GFRAL* w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między tym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

W tabeli 13 przedstawiono wyniki uzyskane przez porównanie zmian ekspresji genów *TNF-α, TNFR-1 oraz TNFR-2* między różnymi punktami czasowymi u sportowców i osób niećwiczących. W grupie sportowców nie zaobserwowano istotnych zmian pomiędzy poszczególnymi punktami czasowymi a wartościami spoczynkowymi zarówno w ekspresji *TNF-α, TNFR-1*, jak i *TNFR-2* ($p > 0,05$ dla wszystkich porównań, tabela 13). Jednakże, w grupie osób niećwiczących nastąpiło kilka istotnych statystycznie zmian. Istotny wzrost ekspresji *TNF-α* obserwowano 6 oraz 24 godziny po teście wysiłkowym (rycina 19). W przypadku *TNFR-1* znaczący wzrost ekspresji obserwowany był w 6-tej godzinie po wysiłku w porównaniu do wartości spoczynkowej (rycina 20).

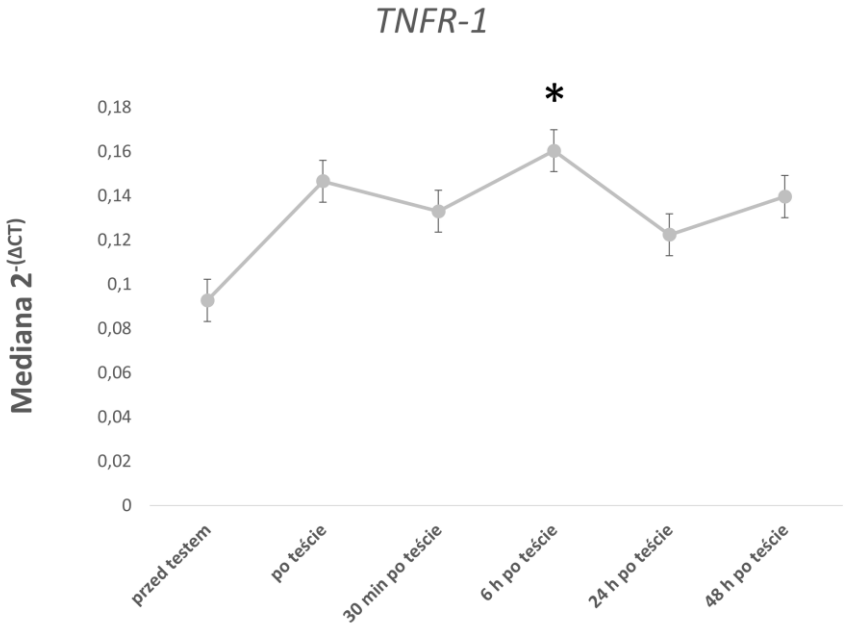
Tabela 13. Tabela podsumowująca wyniki analizy statystycznej dla genów *TNF-α, TNFR-1 oraz TNFR-2,* podkreślająca istotne różnice między punktami czasowymi i poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

GEN	GRUPA	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
TNF-α	UT	nd	nd	**↑ (Z = 2.271, p = 0.0231)**	**↑ (Z = 1.992, p = 0.0464)**	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd
TNFR-1	UT	nd	nd	**↑ (Z = 2.275, p = 0.0229)**	nd	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd
TNFR2-	UT	nd	nd	nd	nd	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd

UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; nd – brak istotnych statystycznie różnic; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; $p < 0,05$ pogrubioną czcionką; ↑ – zwiększona ekspresja



Rycina 19. Zmiany poziomu ekspresji genu *TNF-α* w grupie osób niećwiczących między pretestem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między tym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)



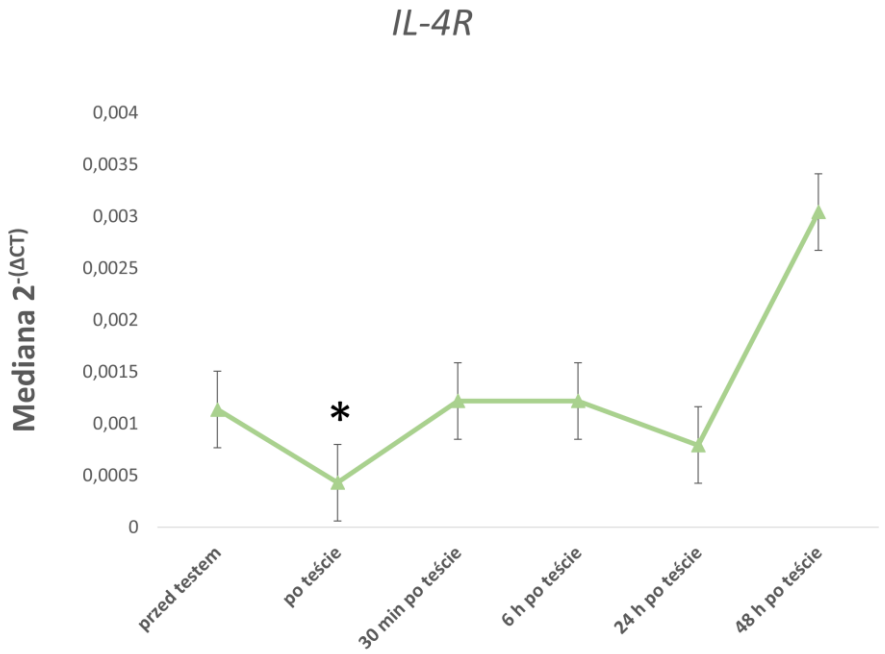
Rycina 20. Zmiany poziomu ekspresji genu *TNFR-1* w grupie osób niećwiczących między pretestem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między tym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

Wyniki dotyczące genów *IL-4* oraz *IL-4R* zostały przedstawione w tabeli 14. Nie odnotowano istotnych zmian w ekspresji *IL-4* między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową zarówno w grupie osób niećwiczących, jak i w grupie sportowców. Jednakże, w grupie sportowców można było zauważyć istotny spadek ekspresji *IL-4R* bezpośrednio po teście wysiłkowym (rycina 21). Następne punkty czasowe nie wykazały istotnych zmian w ekspresji genu. W przypadku grupy osób niećwiczących, nie odnotowano żadnych istotnych statystycznie zmian ekspresji *IL-4R* względem wartości spoczynkowej.

Tabela 14. Tabela podsumowująca wyniki analizy statystycznej dla genów *IL-4* oraz *IL-4R*, podkreślająca istotne różnice między punktami czasowymi i poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

GEN	GRUPA	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
IL-4	UT	nd	nd	nd	nd	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd
IL-4R	UT	nd	nd	nd	nd	nd
	T	**↓ (Z = 2.045, p = 0.0409)**	nd	nd	nd	nd

UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; nd – brak istotnych statystycznie różnic; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; poziom istotności $p < 0,05$ pogrubioną czcionką; ↓ – zmniejszona ekspresja



Rycina 21. Zmiany poziomu ekspresji genu *IL-4R* w grupie sportowców między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między tym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

4. Stężenia białek w osoczu krwi obwodowej

Wyniki testu U Manna-Whitneya, który określa istotne statystycznie różnice pomiędzy dwoma grupami niezależnymi dla białek FGF21, GDF15, TNF-α oraz IL-4 zostały przedstawione w tabeli 15.

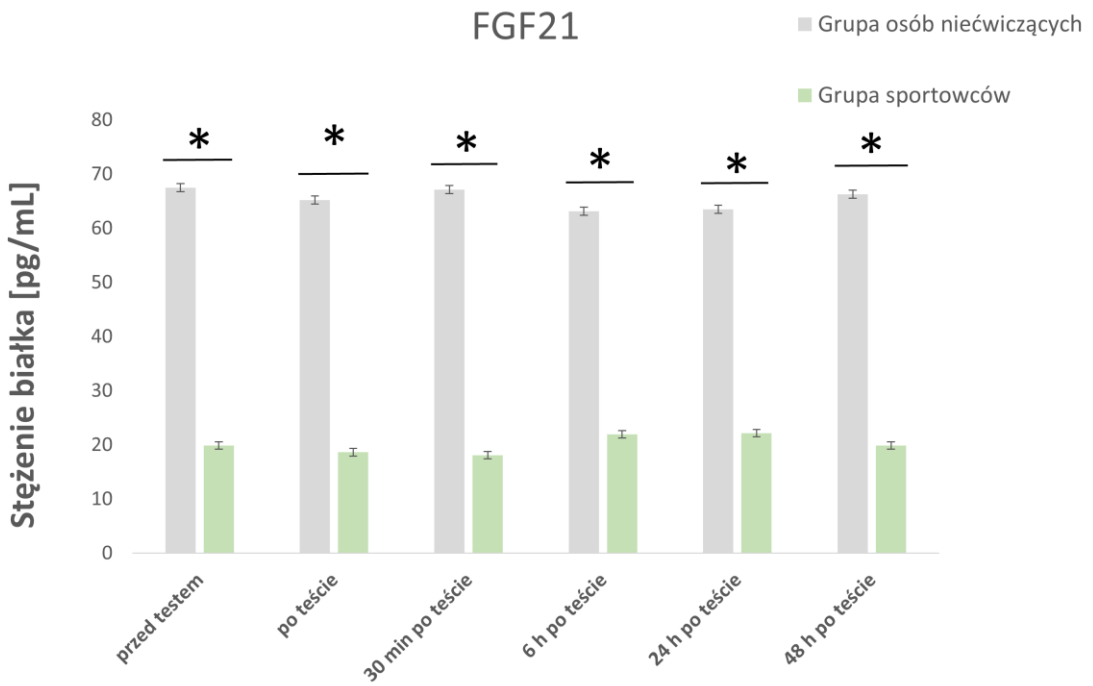
Tabela 15. Tabela podsumowująca różnice w stężeniu białka FGF21, GDF15, TNF-α oraz IL-4 między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych

GEN	PRZED TESTEM	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
FGF21	UT > T (Z=-4.468, **p=0.000008**)	UT > T (Z=-4.468, **p=0.000008**)	UT > T (Z=-4.468, **p=0.000008**)	UT > T (Z=-3.869, **p=0.000109**)	UT > T (Z=-4.468, **p=0.000008**)	UT > T (Z=-4.468, **p=0.000008**)
GDF15	UT > T (Z=-3.916, **p=0.00009**)	UT > T (Z=-2.534, **p=0.011**)	UT > T (Z=-3.132, **p=0.0017**)	UT > T (Z=-3.202, **p=0.0014**)	UT > T (Z=-3.478, **p=0.0005**)	UT > T (Z=-3.271, **p=0.0011**)
TNF-α	UT < T (Z=-2.027, **p=0.0426**)	UT > T (Z=0.023, p=0.9816)	UT > T (Z=-0.207, p=0.8358)	UT < T (Z=-0.921, p=0.3569)	UT < T (Z=-1.497, p=0.1343)	UT < T (Z=-1.198, p=0.2310)
IL-4	UT > T (Z=1.129, p=0.259)	UT > T (Z=0.507, p=0.612)	UT > T (Z=0.484, p=0.629)	UT > T (Z=0.415, p=0.678)	UT > T (Z=0.161, p=0.872)	UT > T (Z=0.530, p=0.596)

UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; poziom istotności $p < 0,05$ pogrubioną czcionką

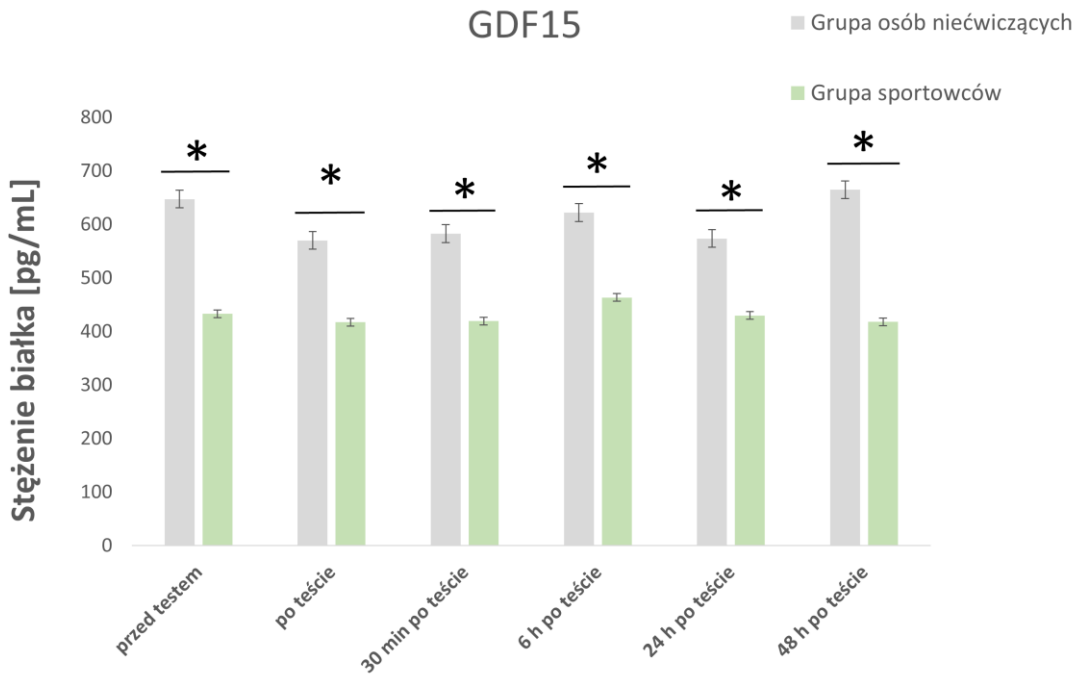
Prezentowane wyniki pokazują statystycznie istotną różnicę w stężeniach białek FGF21 i GDF15 między grupą sportowców, a grupą osób niećwiczących we wszystkich sześciu punktach czasowych. Wartości p są znacznie poniżej konwencjonalnego progu istotności wynoszącego 0,05.

Poziom białka FGF21 dla grupy sportowców jest istotnie statystycznie niższa w porównaniu do grupy osób niećwiczących we wszystkich sześciu punktach czasowych ($p < 0,05$, tabela 15, rycina 22). Utrzymująca się we wszystkich pomiarach istotność wskazuje na stabilną i systematyczną różnicę w poziomach FGF21 między grupami, a nie przejściowy efekt ćwiczeń lub regeneracji.

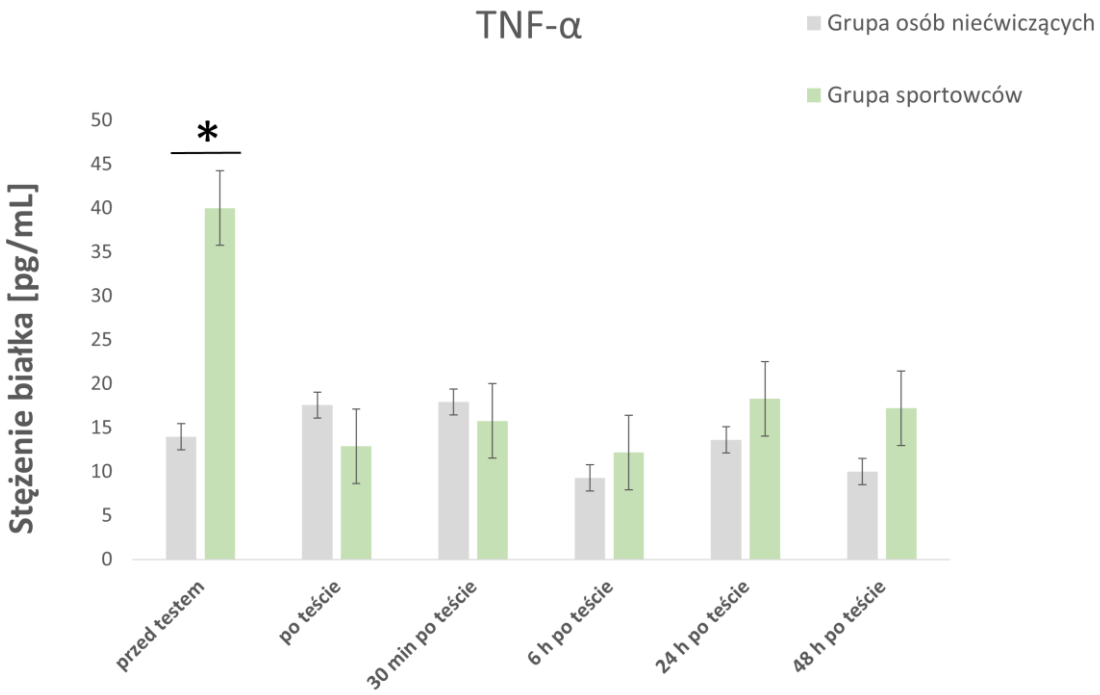


Rycina 22. Porównanie stężenia białka FGF21 pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości stężeń oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)

Wyniki dla GDF15 również wykazały znaczące różnice między grupami. Wszystkie sześć punktów czasowych wykazuje wartości p poniżej 0,05 (tabela 15), przy czym większość porównań wykazuje wysoce znaczące różnice ($p < 0,01$, rycina 23). Sugeruje to, że stężenie GDF15 różni się konsekwentnie między dwiema grupami. Stężenia GDF15 były ogólnie wyższe u osób niećwiczących. Największa różnica pojawia się podczas pierwszego pomiaru (przed testem) z wysoce istotną wartością p ($p < 0,0001$, rycina 23), co sugeruje wyjściową rozbieżność w poziomach GDF15 między osobami wytrenowanymi i niećwiczącymi.



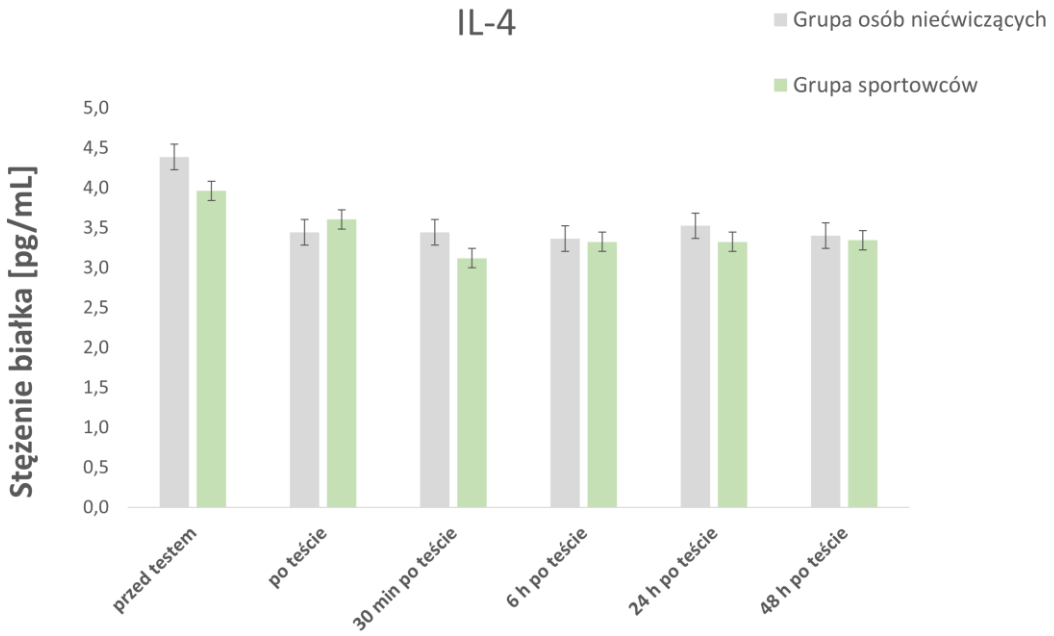
Rycina 23. Porównanie stężenia białka GDF15 pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości stężeń oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)



Rycina 24. Porównanie stężenia białka TNF-α pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości stężeń oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)

Wyniki dla TNF-α wykazały znaczące różnice między grupami jedynie podczas pierwszego pomiaru – przed testem wysiłkowym. Wartość spoczynkowa TNF-α była

istotnie wyższa w grupie sportowców w porównaniu do grupy osób niećwiczących ($p < 0,05$, tabela 15, rycina 24). Pomimo obserwacji wyższego stężenia TNF-α w grupie osób niećwiczących bezpośrednio po oraz 30 minut po teście, a także w grupie sportowców 6 godzin, 24 godziny oraz 48 godzin po teście, to nie można w nich stwierdzić istotnych statystycznie różnic ($p < 0,05$, rycina 24).



Rycina 25. Porównanie stężenia białka IL-4 pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości stężeń oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)

Wyniki dla IL-4 nie wykazały znaczących różnic między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących ($p > 0,05$, tabela 16, rycina 26) w żadnym z badanych punktów czasowych.

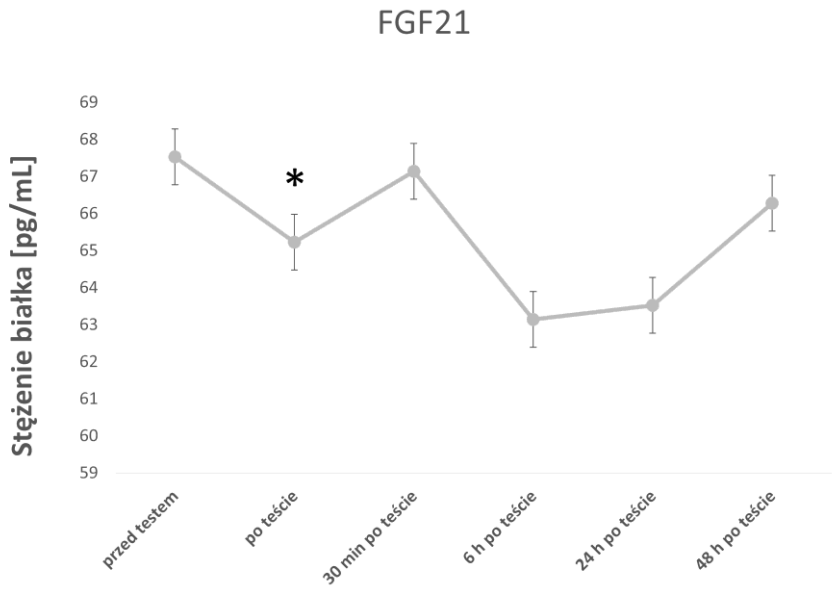
W badaniu przeanalizowano również różnice w ekspresji wybranych białek między punktami czasowymi oddzielnie dla grupy sportowców i grupy osób niećwiczących.

Znaczący spadek ekspresji FGF21 zaobserwowano natychmiast po teście w grupie osób niećwiczących w porównaniu do poziomu spoczynkowego ($Z = 2,06$, $p = 0,039$, tabela 16, rycina 26), co sugeruje ostrą reakcję na ćwiczenia. Nie zaobserwowano statystycznie istotnych zmian po 30 minutach, 6 godzinach, 24 godzinach lub 48 godzinach po wysiłku w porównaniu z pomiarami sprzed testu wysiłkowego, co wskazuje na powrót do poziomów wyjściowych po początkowej odpowiedzi. W grupie trenującej nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic między punktami czasowymi.

Tabela 16. Tabela podsumowująca wyniki analizy statystycznej dla białek FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 podkreślająca istotne różnice (p ≤ 0,05) między punktami czasowymi i poziomem spoczynkowym

BIAŁKO	GRUPA	PO TEŚCIE	30 MIN PO TEŚCIE	6H PO TEŚCIE	24H PO TEŚCIE	48H PO TEŚCIE
FGF21	UT	**↓ (Z = 2.062, p = 0.0392)**	nd	nd	nd	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd
GDF15	UT	nd	**↓ (Z = 2.481, p = 0.0131)**	nd	**↓ (Z = 1.992, p = 0.0464)**	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd
TNF-α	UT	nd	nd	nd	nd	nd
	T	nd	nd	nd	nd	**↓ (Z = 2.215, p = 0.027)**
IL-4	UT	nd	nd	**↓ (Z = 2.589, p = 0.0096)**	**↓ (Z = 2.341, p = 0.0192)**	nd
	T	nd	nd	nd	nd	nd

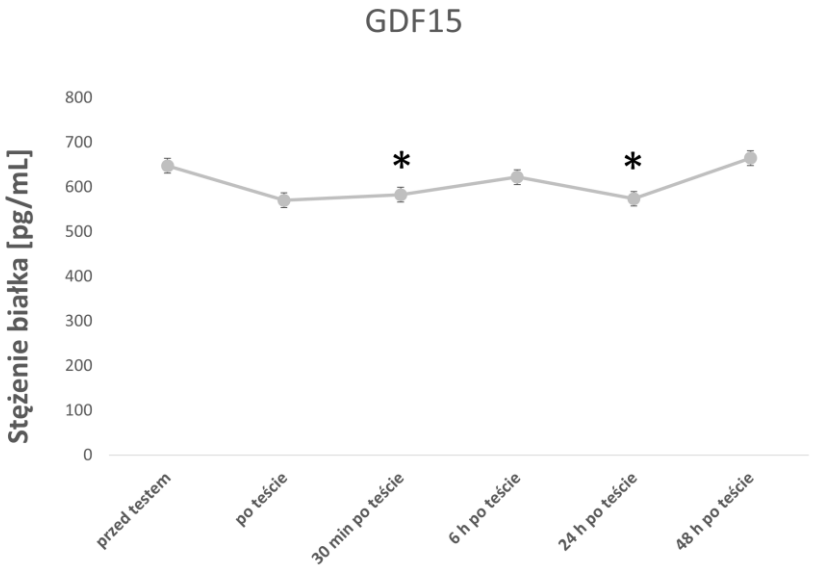
UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; nd – brak istotnych statystycznie różnic; Z – wynik testu różnic dla dwóch niezależnych grup; ↓ – zmniejszona ekspresja; p < 0,05 pogrubioną czcionką



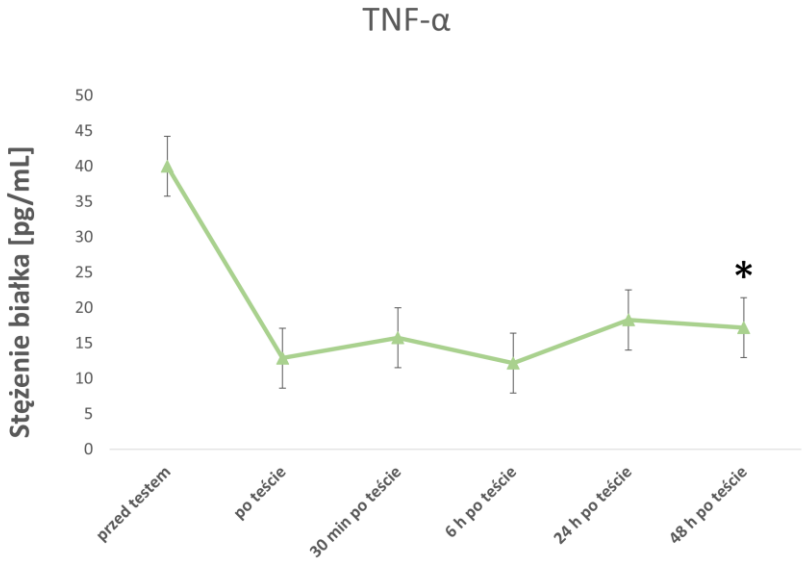
Rycina 26. Porównanie stężenia białka FGF21, która wykazała znaczące zmiany w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku. * istotna różnica między punktem czasowym a poziomem spoczynkowym (p < 0,05)

Statystycznie istotny spadek stężenia GDF15 w grupie osób niećwiczących zaobserwowano 30 minut po teście (p = 0,013, tabela 16, rycina 27) oraz po 24 godzinach w porównaniu do wartości spoczynkowej (p = 0,046, tabela 16, rycina 27). Nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian bezpośrednio, 6 godzin lub 48 godzin po wysiłku w porównaniu z wartościami spoczynkowymi. W grupie sportowców nie

zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w ekspresji GDF15 między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi.



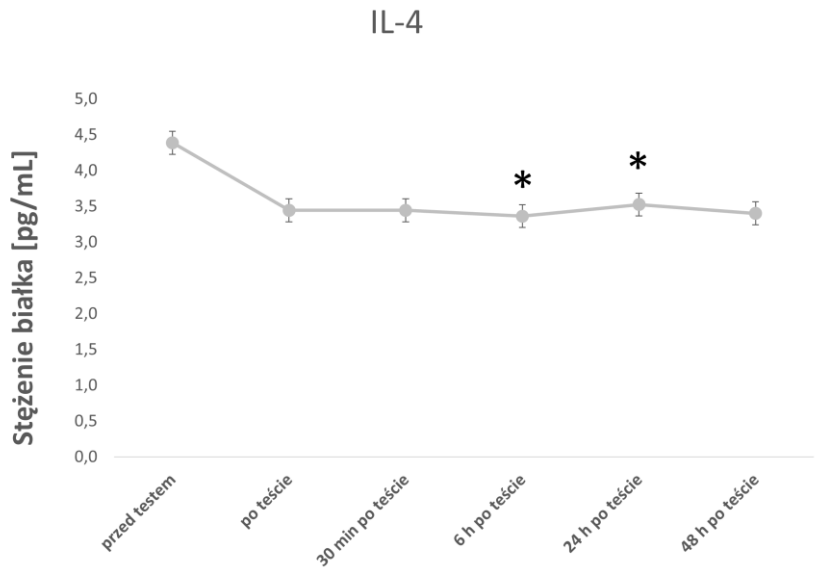
Rycina 27. Porównanie stężenia białka GDF15, która wykazała znaczące zmiany w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku. * istotna różnica między punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)



Rycina 28. Porównanie stężenia białka TNF-α, która wykazała znaczące zmiany w grupie sportowców między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku. * istotna różnica między punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

Wyniki uzyskane dla TNF-α wykazują istotny spadek stężenia w 48 godzinie po teście wysiłkowym w porównaniu z wartością spoczynkową w grupie sportowców ($p = 0,027$, tabela 16, rycina 28). Nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian w ekspresji TNF-α bezpośrednio, 30 minut, 6 godzin, 24 godziny lub 48 godzin po

wysiłku w porównaniu z wartościami spoczynkowymi w grupie sportowców (p > 0,05, tabela 16, rycina 28). Nie odnotowano także żadnych istotnych różnic w porównaniu do wartości spoczynkowych w grupie osób niećwiczących (tabela 16).



Rycina 29. Porównanie stężenia białka IL-4, która wykazała znaczące zmiany w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku. * istotna różnica między punktem czasowym a poziomem spoczynkowym (p < 0,05)

Analiza stężenia IL-4 wykazała istotny spadek zarówno 6 godzin (p = 0,0096, tabela 16, rycina 29, jak i 24 godziny (p = 0,0192, tabela 16, rycina 29) po teście wysiłkowym w porównaniu z wartością spoczynkową w grupie osób niećwiczących. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian bezpośrednio, 30 minut oraz 48 godzin po wysiłku w porównaniu z wartościami spoczynkowymi w grupie osób niećwiczących (p > 0,05, tabela 16, rycina 29). W grupie sportowców nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w ekspresji IL-4 między dowolnymi punktami czasowymi a wartościami spoczynkowymi (tabela 16).

5. Analiza korelacji

5.1. Korelacja genów oraz kodowanych przez nie białek

Przeprowadzono analizę zależności pomiędzy poziomem ekspresji wybranych genów (kodujących białka: FGF21, GDF15, TNF-α oraz IL-4) a stężeniem odpowiadających im produktów białkowych, w poszczególnych punktach czasowych pomiaru: przed testem wysiłkowym, bezpośrednio po jego zakończeniu, po 30 minutach, 6 godzinach, 24 godzinach oraz 48 godzinach od zakończenia wysiłku. Obliczenia

wykonano osobno dla grupy osób niećwiczących i sportowców przy użyciu współczynnika korelacji rang Spearmana. Wyniki te przedstawiono w tabeli 17.

Tabela 17. Analiza korelacji między ekspresją genetyczną FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 a stężeniem tych białek w różnych punktach czasowych

PUNKT CZASOWY	GEN/ BIAŁKO	R SPEARMANA (UT)	WARTOŚĆ P (UT)	R SPEARMANA (T)	WARTOŚĆ P (T)
PRZED TESTEM	FGF21	0,0604	0,845	-0,0268	0,924
	GDF15	-0,0604	0,845	0,2250	0,420
	TNF-α	0,1129	0,713	-0,3139	0,255
	IL-4	0,1293	0,674	0,1215	0,666
PO TEŚCIE	FGF21	-0,2641	0,383	0,2390	0,391
	GDF15	-0,2473	0,415	0,2750	0,321
	TNF-α	0,4237	0,149	0,1750	0,533
	IL-4	-0,0385	0,901	0,2143	0,443
0.5H	FGF21	0,0385	0,901	0,0947	0,737
	GDF15	-0,4505	0,122	0,3000	0,277
	TNF-α	-0,0276	0,929	-0,2073	0,458
	IL-4	0,0219	0,943	0,1896	0,499
6H	FGF21	0,2393	0,431	-0,1107	0,695
	GDF15	-0,1099	0,721	0,3643	0,182
	TNF-α	0,1270	0,679	-0,0035	0,990
	IL-4	-0,0854	0,782	0,1340	0,634
24H	FGF21	0,3269	0,276	0,2182	0,435
	GDF15	-0,2143	0,482	0,4701	0,077
	TNF-α	0,2821	0,350	-0,2287	0,412
	IL-4	0,0748	0,808	0,2147	0,442
48H	FGF21	0,0934	0,762	0,0206	0,942
	GDF15	-0,2967	0,325	0,0876	0,756
	TNF-α	-0,1623	0,596	-0,2484	0,372
	IL-4	0,0385	0,901	0,1036	0,713

UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; *p < 0,05 pogrubioną czcionką

W analizowanej próbie nie stwierdzono istotnych statystycznie korelacji pomiędzy ekspresją analizowanych genów a stężeniem odpowiadających im białek (wszystkie p > 0,05), zarówno w grupie osób niećwiczących, jak i sportowców. Choć niektóre obserwacje wskazują na umiarkowane dodatnie korelacje – np. pomiędzy ekspresją GDF15 a stężeniem białka po 24 h w grupie sportowców (R = 0,4701;

p = 0,0770) – nie osiągnęły one progu istotności statystycznej. W większości przypadków współczynniki korelacji przyjmowały wartości niskie lub bliskie zeru, co wskazuje na brak silnego związku pomiędzy poziomem transkryptów i stężeniem białka w analizowanych próbach. Dotyczy to zarówno parametrów prozapalnych (TNF-α), jak i przeciwzapalnych (IL-4, FGF21, GDF15).

Wyniki te sugerują, że regulacja stężeń badanych białek może zachodzić nie tylko na poziomie transkrypcyjnym, ale również posttranskrypcyjnym lub translacyjnym, co mogłoby tłumaczyć obserwowaną niespójność między poziomem mRNA a stężeniem białek. Dodatkowo brak istotnych korelacji może wynikać z ograniczeń liczebności próby lub dużej zmienności osobniczej w odpowiedzi na bodziec wysiłkowy.

5.2. Korelacja wskaźników leukocytarnych oraz cytokin pro- i przeciwzapalnych

Przeprowadzono także analizę zależności pomiędzy wskaźnikami leukocytarnymi, a stężeniami białek w osoczu (FGF21, GDF15, TNF-α oraz IL-4) w poszczególnych punktach czasowych pomiaru: przed testem wysiłkowym, bezpośrednio po jego zakończeniu, po 30 minutach, 6 godzinach, 24 godzinach oraz 48 godzinach od zakończenia wysiłku. Obliczenia wykonano osobno dla grupy osób niećwiczących i sportowców przy użyciu współczynnika korelacji rang Spearmana. Wyniki te przedstawiono w tabelach 18-20.

Analiza zależności pomiędzy liczbą leukocytów a stężeniami białek FGF21, GDF15, TNF-α oraz IL-4 w osoczu, przeprowadzona osobno dla osób niećwiczących i sportowców (tabela 18) wykazała zróżnicowane i w większości nieistotne statystycznie zależności w poszczególnych punktach czasowych. Wyniki wskazują, że przed testem wysiłkowym nie występowały istotne związki między liczbą leukocytów a żadnym z analizowanych białek w obu grupach ($p > 0,05$, tabela 18). Bezpośrednio po wysiłku w grupie sportowców pojawiły się umiarkowane dodatnie i istotne statystycznie korelacje liczby leukocytów ze stężeniami GDF15 ($R = 0,5630$; $p = 0,029$) oraz TNF-α ($R = 0,5559$; $p=0,031$). W grupie niećwiczących w tym samym czasie nie stwierdzono istotnych zależności, a obserwowane współczynniki miały niską wartość lub wykazywały trend ujemny. Po 30 minutach od zakończenia wysiłku ponownie brak było istotnych korelacji w grupie niećwiczących, natomiast u sportowców utrzymywała się istotna dodatnia zależność pomiędzy liczbą leukocytów a stężeniem GDF15 ($R = 0,5893$; $p = 0,021$). Po 6 godzinach oraz 24 godzinach od wysiłku w obu grupach nie odnotowano istotnych statystycznie zależności, choć w grupie sportowców stężenia IL-4 po 24 godzinach

wykazywały umiarkowaną dodatnią korelację z liczbą leukocytów (R = 0,5546; p = 0,032). Najbardziej wyraźne zależności w okresie późnym (48 godzin) zaobserwowano u sportowców, u których liczba leukocytów istotnie korelowała dodatnio ze stężeniem TNF-α (R=0,5214; p=0,046) oraz bardzo silnie z IL-4 (R = 0,7464; p = 0,001). W grupie niećwiczących w tym samym czasie nie zaobserwowano istotnych zależności.

Tabela 18. Analiza korelacji między liczbą leukocytów a stężeniem białek FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 w różnych punktach czasowych

PUNKT CZASOWY	BIAŁKO	R SPEARMANA (UT)	WARTOŚĆ P (UT)	R SPEARMANA (T)	WARTOŚĆ P (T)
PRZED TESTEM	FGF21	0,0055	0,986	0,4647	0,081
	GDF15	-0,0220	0,943	-0,0357	0,899
	TNF-α	-0,4959	0,085	0,3498	0,201
	IL-4	-0,4945	0,086	0,2357	0,398
PO TEŚCIE	FGF21	-0,0083	0,979	0,5076	0,053
	GDF15	0,1044	0,734	**0,5630***	**0,029***
	TNF-α	-0,4319	0,141	**0,5559***	**0,031***
	IL-4	-0,4011	0,174	0,2788	0,314
0.5H	FGF21	0,0000	1,000	0,3357	0,221
	GDF15	-0,3297	0,271	**0,5893***	**0,021***
	TNF-α	-0,2431	0,424	0,2214	0,428
	IL-4	-0,4835	0,094	0,0358	0,899
6H	FGF21	0,1293	0,674	0,0912	0,747
	GDF15	-0,1429	0,642	0,2985	0,280
	TNF-α	-0,4641	0,110	0,4329	0,107
	IL-4	-0,3576	0,230	0,4436	0,098
24H	FGF21	0,2291	0,452	-0,2021	0,470
	GDF15	-0,3022	0,316	0,4964	0,060
	TNF-α	-0,3425	0,252	0,3771	0,166
	IL-4	-0,1162	0,705	**0,5546***	**0,032***
48H	FGF21	0,3466	0,246	-0,1521	0,589
	GDF15	-0,4264	0,146	0,2681	0,334
	TNF-α	-0,5172	0,070	**0,5214***	**0,046***
	IL-4	0,0605	0,844	**0,7464***	**0,001***

UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; *p < 0,05 pogrubioną czcionką

Analiza korelacji między liczbą neutrofili a stężeniem białek FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 (tabela 19) ujawniła wyraźnie odmienne wzorce zależności w grupie sportowców i osób niećwiczących, a istotne związki obserwowano jedynie w populacji wytrenowanej. Przed wysiłkiem nie odnotowano żadnych istotnych statystycznie korelacji w żadnej z grup.

Tabela 19. Analiza korelacji między liczbą neutrofili a stężeniem białek FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 w różnych punktach czasowych

PUNKT CZASOWY	BIAŁKO	R SPEARMANA (UT)	WARTOŚĆ P (UT)	R SPEARMANA (T)	WARTOŚĆ P (T)
PRZED TESTEM	FGF21	-0,0773	0,802	0,5112	0,051
	GDF15	0,0773	0,802	-0,0250	0,930
	TNF-α	-0,3213	0,284	0,1812	0,518
	IL-4	-0,3260	0,277	0,0286	0,919
PO TEŚCIE	FGF21	0,5073	0,077	**0,6321***	**0,011***
	GDF15	0,1557	0,612	**0,5987***	**0,018***
	TNF-α	0,2324	0,445	0,3628	0,184
	IL-4	0,0283	0,927	0,2109	0,451
0.5H	FGF21	0,3705	0,213	0,1214	0,666
	GDF15	-0,4123	0,162	**0,5929***	**0,020***
	TNF-α	-0,1569	0,609	0,1714	0,541
	IL-4	-0,4346	0,138	0,0179	0,950
6H	FGF21	0,1853	0,544	0,0571	0,840
	GDF15	-0,2376	0,434	0,2857	0,302
	TNF-α	-0,4389	0,134	0,4290	0,111
	IL-4	-0,2988	0,321	0,4075	0,132
24H	FGF21	0,4571	0,116	-0,0608	0,830
	GDF15	-0,0415	0,893	**0,5500***	**0,034***
	TNF-α	0,0111	0,971	0,3110	0,259
	IL-4	0,1671	0,585	0,3381	0,218
48H	FGF21	**0,5667***	**0,043***	0,0358	0,899
	GDF15	-0,4099	0,164	0,4526	0,090
	TNF-α	-0,0715	0,816	0,2449	0,379
	IL-4	0,2036	0,505	**0,5576***	**0,031***

UT – grupa osób niećwiczących; T – grupa sportowców; *p < 0,05 pogrubioną czcionką

Bezpośrednio po wysiłku u sportowców wystąpiły dwie istotne korelacje: dodatnia zależność liczby neutrofili ze stężeniem FGF21 (R = 0,6321; p = 0,011) oraz

GDF15 (R = 0,5987; p = 0,018). W 30 minucie po teście obserwowany wzorzec utrzymywał się: u sportowców ponownie stwierdzono istotną dodatnią korelację między neutrofilami a GDF15 (R = 0,5929; p = 0,020).

Tabela 20. Analiza korelacji między liczbą limfocytów a stężeniem białek FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 w różnych punktach czasowych

PUNKT CZASOWY	BIAŁKO	R SPEARMANA (UT)	WARTOŚĆ P (UT)	R SPEARMANA (T)	WARTOŚĆ P (T)
PRZED TESTEM	FGF21	-0,1160	0,706	-0,1288	0,647
	GDF15	0,4309	0,142	0,1108	0,694
	TNF-α	**-0,6011***	**0,030***	0,3609	0,186
	IL-4	-0,1271	0,679	0,5130	0,051
PO TEŚCIE	FGF21	0,0877	0,776	-0,2225	0,445
	GDF15	**0,6161***	**0,025***	0,0725	0,805
	TNF-α	-0,0170	0,956	0,4154	0,140
	IL-4	0,0057	0,985	0,4418	0,114
0.5H	FGF21	0,0194	0,950	0,3292	0,231
	GDF15	0,3043	0,312	0,2576	0,354
	TNF-α	0,1280	0,677	0,3059	0,268
	IL-4	0,1853	0,544	0,3728	0,171
6H	FGF21	0,0180	0,953	-0,2842	0,305
	GDF15	0,3851	0,194	0,0323	0,909
	TNF-α	0,0585	0,849	0,4714	0,076
	IL-4	0,4316	0,141	0,4061	0,133
24H	FGF21	-0,1814	0,553	-0,1146	0,684
	GDF15	-0,1411	0,646	0,0894	0,751
	TNF-α	-0,4145	0,159	0,2701	0,330
	IL-4	-0,1894	0,535	**0,5354***	**0,040***
48H	FGF21	0,1191	0,698	-0,3864	0,155
	GDF15	0,4321	0,140	-0,1448	0,607
	TNF-α	-0,4571	0,116	0,3964	0,143
	IL-4	-0,1440	0,639	0,4893	0,064

UT- grupa osób niećwiczących; T- grupa sportowców; *p < 0,05 pogrubioną czcionką

U osób niećwiczących zależności nadal nie osiągały istotności statystycznej. W 6 godzinie po wysiłku żadna z korelacji nie była istotna. Po 24 godzinach pojawiła się kolejna istotna zależność w grupie sportowców: dodatnia korelacja liczby neutrofili ze stężeniem GDF15 (R = 0,5500; p = 0,034). Po 48 godzinach u sportowców

zaobserwowano istotną dodatnią korelację między liczbą neutrofili a IL-4 (R = 0,5576; p = 0,031). U osób niećwiczących jedyną istotną korelacją w całej analizie była umiarkowana dodatnia zależność między neutrofilami a FGF21 (R = 0,5667; p = 0,043).

Analiza korelacji między liczbą limfocytów a stężeniem badanych białek (tabela 20) wykazała odmienne zależności w porównaniu z tymi obserwowanymi dla neutrofili, a istotne statystycznie związki pojawiały się rzadko i przede wszystkim w pojedynczych punktach czasowych. Przed wysiłkiem jedyną istotną korelacją była silna ujemna zależność między limfocytami a TNF-α u osób niećwiczących (R = -0,6011; p = 0,030). Bezpośrednio po wysiłku również tylko u osób niećwiczących stwierdzono istotną dodatnią korelację – między limfocytami a GDF15 (R = 0,6161; p = 0,025). W 30 minucie po teście zarówno u sportowców, jak i u osób niećwiczących nie zaobserwowano istotnych zależności. W 6 godzinie po wysiłku nadal nie występowały istotne korelacje. Dopiero 24 godziny po wysiłku pojawiła się kolejna istotna zależność – tym razem w grupie sportowców – dodatnia korelacja między limfocytami a IL-4 (R = 0,5354; p = 0,040). Po 48 godzinach zależności ponownie pozostawały nieistotne statystycznie.

DYSKUSJA

Przeprowadzone badania pozwoliły na kompleksową ocenę odpowiedzi na pojedynczy wysiłek fizyczny w dwóch odmiennych populacjach – sportowców oraz osób niećwiczących. Analizie poddano zarówno ekspresję genów kodujących wybrane cytokiny (*FGF21*, *GDF15*, *TNF-α*, *IL-4*) oraz ich receptory (*FGFR1*, *FGFR3*, *FGFR4*, *KLB*, *GFRAL*, *TNFR1*, *TNFR2*, *IL-4R*), jak również stężenia odpowiadających im białek w surowicy krwi. Badania zostały uzupełnione o analizę wskaźników leukocytarnych. Uzyskane wyniki zapewniają nowy wgląd w adaptacje molekularne związane z regularnym treningiem fizycznym i ostrą reakcją na stres wysiłkowy.

Główna część badań dotyczyła analizy porównawczej ekspresji poszczególnych genów między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących, dzięki którym można było zaobserwować wpływ wytrenowania organizmu na odpowiedź molekularną po intensywnym wysiłku fizycznym. Ponadto, wykonane analizy wykazały także zróżnicowaną odpowiedź ekspresji genów kodujących kluczowe czynniki regulacyjne szlaków metabolicznych i zapalnych po teście wysiłkowym w porównaniu do wartości spoczynkowej. W szczególności, istotne różnice obserwowane były w grupie osób niećwiczących, natomiast u sportowców odpowiedź zapalna była generalnie bardziej stonowana. Wyniki przeprowadzonych analiz wykazały także istotne różnice w odpowiedzi humoralnej na wysiłek fizyczny pomiędzy osobami aktywnymi fizycznie a osobami niećwiczącymi, szczególnie w kontekście stężeń białek FGF21 i GDF15. Obserwowane różnice występowały konsekwentnie we wszystkich sześciu punktach czasowych, co może świadczyć o długotrwałym wpływie regularnej aktywności fizycznej na układ regulacji metabolicznej i zapalnej.

W badaniu zaobserwowano istotne różnice w ekspresji wybranych genów kodujących cytokiny oraz ich receptorów. Ekspresja genu *FGF21* oraz jego koreceptora β-Klotho (*KLB*) nie różniła się istotnie między grupą sportowców a osobami niećwiczącymi. Wynik ten sugeruje, że sam wysiłek fizyczny, jak i status wytrenowania, nie wpływa w sposób znaczący na regulację osi FGF21-KLB. Zgodnie z wcześniejszymi obserwacjami, FGF21 wykazuje większą dynamikę w odpowiedzi na stres metaboliczny, głodzenie lub długotrwałe zaburzenia homeostazy energetycznej niż w odpowiedzi na krótkotrwały wysiłek fizyczny [212,264]. W analizowanych danych nie zaobserwowano także istotnych zmian ekspresji *FGF21* po wysiłku w żadnej z grup. Z dostępnych danych literaturowych wynika, że ekspresja *FGF21* w znaczny sposób wzrasta u maratończyków

płci męskiej w porównaniu do wartości spoczynkowych [215]. Z kolei, 5-tygodniowy program treningu wytrzymałościowego u starszych mężczyzn, składający się z trzech sesji tygodniowo na ergometrze rowerowym, doprowadził do obniżenia poziomu FGF21 w surowicy [216]. Uzyskanie odmiennych wyników dotyczących ekspresji *FGF21* można wytłumaczyć odmiennym protokołem ćwiczeń zastosowanym w niniejszym badaniu, który różnił się czasem oraz intensywnością wykonywanej aktywności fizycznej, które potencjalnie mogą wpływać na poziom ekspresji *FGF21*. Brak odpowiedzi FGFR1 potwierdza te obserwacje. Wcześniejsze badania sugerowały, że FGFR1 odgrywa centralną rolę w pośredniczeniu w metabolicznych efektach FGF21, w tym w zwiększonym wychwycie glukozy i utlenianiu lipidów [265]. Jednakże, w przypadku stężenia białka, FGF21 było istotnie niższe u sportowców niż u osób niećwiczących w każdym z badanych punktów czasowych. Może to odzwierciedlać adaptacyjne obniżenie poziomu krążącego FGF21 w odpowiedzi na przewlekły wysiłek fizyczny. FGF21 jest hepatokiną o kluczowej roli w homeostazie energetycznej, a jego podwyższone stężenia obserwuje się w warunkach stresu metabolicznego, takich jak otyłość czy insulinooporność [212]. Niższe poziomy FGF21 u osób wytrenowanych mogą zatem wskazywać na ich lepszy stan metaboliczny i większą wrażliwość insulinową. Jednocześnie, mimo że stężenie białka FGF21 spadła istotnie po teście wysiłkowym w grupie osób niećwiczących, nie odnotowano takiej reakcji w grupie sportowców. Może to sugerować, że osoby niećwiczące wykazują ostrzejszą, prawdopodobnie kompensacyjną reakcję na nagły stres fizjologiczny, podczas gdy u sportowców mechanizmy adaptacyjne stabilizują stężenie białka.

W przeciwieństwie do *FGF21*, ekspresja *FGFR1* była istotnie niższa u sportowców niż u osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych, zarówno w spoczynku, jak i po wysiłku. Sugeruje to, że regularny trening fizyczny może wiązać się z adaptacyjnym obniżeniem ekspresji FGFR1, przy zachowanej efektywnej sygnalizacji komórkowej, co może odzwierciedlać optymalizację mechanizmów metabolicznych i naprawczych w warunkach przewlekłego wysiłku [266]. Wynik ten może wskazywać na odmienną regulację transkrypcyjną tego receptora w warunkach adaptacji do przewlekłego wysiłku fizycznego. FGFR1 jest zaangażowany w różne procesy metaboliczne i regeneracyjne [267], a jego obniżona ekspresja może odzwierciedlać obniżoną potrzebę sygnalizacji mitogennej w spoczynku przy lepszej sprawności metabolicznej komórek u osób wytrenowanych. Nie zaobserwowaliśmy jednak zmian w ekspresji genu *FGFR1* po ćwiczeniach w porównaniu z wartościami

spoczynkowymi zarówno w grupie wytrenowanej, jak i niewytrenowanej. Badanie z udziałem pacjentów wybranych po pomostowaniu tętnic wieńcowych wykazało, że trening aerobowy i oporowy nie wpłynął znacząco na zmiany poziomu białka FGFR1, porównując wartości spoczynkowe z wartościami bezpośrednio po wysiłku [266]. Jednak to samo badanie wykazało, że grupa pacjentów, którzy przeszli 8-tygodniowy program treningowy, miała znacznie wyższe poziomy ekspresji FGFR1 w porównaniu z grupą kontrolną, która nie uczestniczyła w treningu [266]. Obserwacje te mogą wydawać się nieintuicyjne w świetle uzyskanych przez nas wyników, które wskazywały na wyższą ekspresję *FGFR1* w grupie osób niećwiczących. Jednakże, warto tutaj podkreślić, że ekspresja *FGFR1* może być regulowana odmiennie w zależności od etapu adaptacji treningowej. W badaniach interwencyjnych, takich jak to cytowane [266], osoby uprzednio nieaktywne fizycznie wykazują wyraźne zmiany w ekspresji genów i szlaków sygnałowych w odpowiedzi na nowy bodziec fizjologiczny, jakim jest wysiłek. Wzrost ekspresji *FGFR1* może być więc typowym przejawem wczesnej adaptacji molekularnej do regularnego treningu, szczególnie w komórkach układu metabolicznego i odpornościowego. U osób zaawansowanych treningowo, takich jak sportowcy, te adaptacje mogą już zostać ustabilizowane na innym poziomie regulacyjnym, obejmującym nie tylko transkrypcję, ale również translację, lokalizację białka czy jego aktywność receptorową. W literaturze zwraca się uwagę, że u osób wytrenowanych odpowiedź transkryptomiczna na pojedynczy wysiłek fizyczny może być stępiona, ponieważ organizm osiągnął stan tzw. „efektywnej adaptacji" [39]. To zjawisko, określane jako zmniejszona plastyczność molekularna, polega na tym, że osoby trenujące od dłuższego czasu wykazują mniejsze zmiany ekspresji wielu genów odpowiedzi stresowej, ponieważ ich szlaki sygnałowe są już efektywnie zreorganizowane lub stale aktywne w sposób niezależny od zmian poziomu mRNA.

Ekspresja *FGFR3* różniła się jedynie 24 godziny po teście, będąc niższą u osób niećwiczących. Może to odzwierciedlać opóźnioną odpowiedź transkrypcyjną w komórkach regenerujących się po wysiłku, szczególnie w warunkach braku wcześniejszej adaptacji treningowej. Znaczący wzrost ekspresji, w porównaniu do wartości spoczynkowych, zaobserwowano 6 godzin i 48 godzin po wysiłku w grupie osób niećwiczących. Zgodnie z naszą wiedzą, wpływ ćwiczeń na *FGFR3* oraz zrozumienie roli i potencjału FGFR3 w stresie metabolicznym i regeneracji mięśni jest obecnie luką badawczą. Na podstawie dostępnych badań ustalono, że kluczową rolą FGFR3 jest regulacja osteogenezy i przebudowy kości poprzez wpływ na osteoblasty i płytki

wzrostowe [268]. Badania na myszach wykazały, że warunkowa inaktywacja FGFR3 w chondrocytach prowadzi do nadmiernej osteogenezy, zwiększonej liczby osteoblastów i zwiększonej przebudowy kości [268,269]. Sugeruje to, że FGFR3 jest kluczowym regulatorem proliferacji i różnicowania komórek kostnych oraz dynamicznej równowagi między resorpcją a tworzeniem kości. Chociaż FGFR3 jest najlepiej znany z regulowania wzrostu chrząstki i kości, jego wpływ na tkankę mięśniową nie jest dobrze poznany. Jednak inne receptory FGFR (np. FGFR1 i FGFR4) pełnią kluczowe funkcje w regeneracji i metabolizmie mięśni [265,270]. Ponieważ FGFR3 jest częścią tej samej rodziny receptorów, można założyć, że jest on również zaangażowany w szlaki regulujące adaptację mięśni do wysiłku i procesy regeneracyjne.

Podobny efekt obserwowany był dla *FGFR4*, którego ekspresja była istotnie wyższa u sportowców 30 minut i 48 godzin po teście. Ponieważ FGFR4 jest związany z sygnalizacją metaboliczną oraz regeneracją tkankową [270], wyższa jego ekspresja może świadczyć o nasilonej odpowiedzi regeneracyjnej lub przeciwzapalnej u osób wytrenowanych. W przeciwieństwie do *FGFR3*, ekspresja *FGFR4* wykazała wyraźną dynamikę, zwłaszcza u osób niećwiczących, u których obserwowano istotne wzrosty po wysiłku. U osób niećwiczących ekspresja *FGFR4* jest znacznie zwiększona bezpośrednio po wysiłku i pozostaje zwiększona przez co najmniej 48 godzin. Ta przedłużona reakcja może być związana z procesami naprawy i adaptacji mięśni po ostrym wysiłku fizycznym. Może to wskazywać na przejściową odpowiedź wywołaną wysiłkiem fizycznym. FGFR4 jest zaangażowany w różnicowanie mięśni szkieletowych i naprawę tkanek [270]. Warto podkreślić, że u sportowców również zaobserwowano wzrost ekspresji *FGFR4*, jednak jedynie po 48 godzinach. Ta opóźniona odpowiedź, może odzwierciedlać bardziej efektywną regulację FGFR4 u osób wytrenowanych, potencjalnie ze względu na wzmocnione mechanizmy naprawy mięśni, które wymagają dłuższych okresów aktywacji. Zgodnie z naszą wiedzą, jest to pierwsze badanie oceniające wpływ ćwiczeń na ekspresję genu *FGFR4* u osób wytrenowanych i niewytrenowanych.

W grupie niewytrenowanej zaobserwowano znaczące zmiany w ekspresji genu *KLB* w wielu punktach czasowych w stosunku do wartości przed testem. Ekspresja genu *KLB* w grupie osób niećwiczących jest znacząco zmieniona po wysiłku, z najbardziej znaczącymi zmianami występującymi po 30 minutach, 6 i 24 godzinach po teście, prawdopodobnie odzwierciedlając stres fizjologiczny i procesy regeneracyjne związane z intensywnym wyzwaniem fizycznym. Brak znaczących wyników w grupie sportowców

może sugerować, że regularne ćwiczenia prowadzą do bardziej stabilnej regulacji ekspresji genu KLB. Może to wskazywać na adaptacyjną odpowiedź na trening, w której wpływ ostrego wysiłku na ekspresję genu KLB jest mniej wyraźny u osób wytrenowanych w porównaniu do osób niećwiczących.

W przeprowadzonym badaniu nie zaobserwowano istotnych różnic w ekspresji *GDF15* ani jego receptora *GFRAL* między grupą osób aktywnych fizycznie a grupą niećwiczących w żadnym z analizowanych punktów czasowych po jednorazowym wysiłku fizycznym. Wynik ten może być zaskakujący, zwłaszcza w kontekście dotychczasowych doniesień wskazujących na istotną modulację GDF15 w odpowiedzi na wysiłek oraz jego potencjalne różnice w poziomie wyjściowym między osobami o odmiennym poziomie wytrenowania. GDF15 uznawany jest za cząsteczkę stresu mitochondrialnego i wskaźnik ogólnoustrojowego obciążenia fizjologicznego. Jego stężenie wzrasta w odpowiedzi na różne formy stresu komórkowego, w tym wysiłek fizyczny, infekcje, nowotwory oraz zaburzenia metaboliczne [271,272]. Brak różnic między grupami w prezentowanym badaniu może mieć kilka potencjalnych przyczyn. Po pierwsze, odpowiedź *GDF15* na wysiłek może być zależna głównie od intensywności i objętości wysiłku, a nie od poziomu wytrenowania. Choć niektóre badania sugerują, że stężenie GDF15 jest odwrotnie proporcjonalne do aktywnego trybu życia i osoby aktywne fizycznie, w szczególności sportowcy, będą cechowali się niższym stężeniem GDF15 w osoczu [273], jednak danych na ten temat jest mało. Brak różnic w ekspresji *GDF15*, w prezentowanym badaniu, między grupą sportowców, a grupą osób niećwiczących sugeruje, że rodzaj i intensywność zastosowanego testu wysiłkowego nie były wystarczające do wywołania zróżnicowanej odpowiedzi GDF15 między grupami. Ponadto, GDF15 działa w organizmie głównie za pośrednictwem receptora GFRAL, którego ekspresja jest ograniczona do pnia mózgu [274]. Ekspresja *GFRAL* w krwi obwodowej, jak w niniejszym badaniu, może więc nie odzwierciedlać rzeczywistej aktywności szlaku GDF15–GFRAL. Wykrywalna ekspresja GFRAL w krwinkach może być niska i mało dynamiczna, co ogranicza jej przydatność jako markera odpowiedzi na wysiłek. Ponadto, możliwe jest, że GDF15 działa również niezależnie od GFRAL, poprzez inne receptory lub mechanizmy parakrynne, szczególnie w kontekście stresu mięśniowego i metabolicznego. Brak istotnych zmian w ekspresji *GDF15*, w porównaniu z wartościami spoczynkowymi, w żadnej z grup, podczas gdy GDF15 został zaproponowany jako miokina indukowana wysiłkiem fizycznym [272], sugeruje, że jej wzrost obserwowany na poziomie białka (omówiony w dalszej części dyskusji) może

również wynikać z regulacji posttranskrypcyjnej. Według dostępnych badań, aktywność taka jak bieg maratoński powinno znacząco wpłynąć na wzrost GDF15 [215]. Co ciekawe, poziom GDF15 wydaje się wzrastać w odpowiedzi na różne rodzaje aktywności fizycznej. U zdrowych mężczyzn poziom GDF15 wzrósł o 34% podczas ćwiczeń i o 64% dwie godziny po wysiłku [249]. Umiarkowanie wytrenowani mężczyźni wykazywali 15% wzrost w odpowiedzi zarówno na ćwiczenia wytrzymałościowe, jak i oporowe, podczas gdy triathloniści wykazywali 5,3-krotny wzrost po 4 godzinach jazdy na rowerze, z poziomami powracającymi do wartości wyjściowych w ciągu 24 godzin [247]. Nasze wyniki sugerują, że regulacja transkrypcji *GDF15* we krwi może być minimalna lub opóźniona poza 48-godzinne okno oceniane w tym badaniu. Znacząco wyższe stężenia tego białka u osób niećwiczących mogą wskazywać na większe obciążenie metaboliczne związane z wysiłkiem, jak również na gorszy stan zdrowia mitochondrialnego. Co więcej, obserwowane spadki ekspresji GDF15 w grupie niećwiczących po 30 minutach oraz po 24 godzinach od zakończenia wysiłku mogą odzwierciedlać próbę szybkiej homeostazy molekularnej po jednorazowym wysiłku. Brak zmian ekspresji w grupie sportowców wspiera hipotezę o ich lepszej adaptacji do bodźców wysiłkowych, co może być skutkiem długotrwałego treningu.

Biorąc pod uwagę różnice w ekspresji genów po teście wydolnościowym w porównaniu do wartości spoczynkowych, zauważyliśmy znaczny wzrost *GFRAL* w grupie osób niećwiczących po 6 godzinach po teście. GDF15 został zidentyfikowany jako cytokina reagująca na stres z potencjalną rolą w metabolizmie energetycznym i adaptacji mitochondriów [250]. Występowanie wzrostu ekspresji *GFRAL*, receptora GDF15, sugeruje, że brak regularnej aktywności fizycznej może wpływać na mniej skuteczną adaptację organizmu do stresu wywołanego wysiłkiem fizycznym. Wyniki sugerują, że osoby niećwiczące mają gorszą zdolność reagowania na stres fizyczny, co może prowadzić do niekorzystnych zmian w metabolizmie energetycznym i funkcji mitochondriów. Ponadto, wzrost ekspresji *GFRAL* w grupie osób niećwiczących może wskazywać na zwiększoną wrażliwość ośrodkowego układu nerwowego na sygnalizację GDF15, potencjalnie związaną z indukcją efektów przeciwwysiłkowych, takich jak tłumienie apetytu czy zmniejszenie motywacji [275,276].

Wyniki wykazały brak istotnych różnic międzygrupowych w zakresie ekspresji genu kodującego *TNF-α* oraz *TNFR-2* w żadnym z analizowanych punktów czasowych. Jednocześnie stwierdzono istotnie wyższą ekspresję *TNFR-1* w grupie sportowców w porównaniu do osób niećwiczących, zarówno w stanie spoczynkowym, jak i na każdym

etapie odpowiedzi potreningowej, przy czym największą różnicę zaobserwowano w pomiarze przedwysiłkowym. Wyniki te mogą wskazywać na odmienny, trwały status regulacji immunologicznej u osób regularnie podejmujących aktywność fizyczną, niezależny od jego intensywności. Porównując ekspresję genów po wysiłku do wartości spoczynkowej odnotowano, że *TNF-α* oraz *TNFR-1* i *TNFR-2* nie ulegały istotnym zmianom u sportowców, co sugeruje skuteczniejszą kontrolę reakcji zapalnej po wysiłku w tej grupie.

Brak różnic w ekspresji *TNF-α* pomiędzy grupami w prezentowanym badaniu może świadczyć o tym, że poziom wytrenowania nie ma wpływu na ekspresję genu *TNF-α*, a kluczowym czynnikiem stymulującym jest długość i intensywność treningu. U osób niećwiczących natomiast ekspresja *TNF-α* wzrosła znacząco 6 i 24 godziny po wysiłku, co odzwierciedla nasilony stan zapalny typowy dla osób nieadaptowanych do regularnej aktywności fizycznej [165]. Wyniki dotyczące TNF-α w surowicy ukazały nieco odmienny wzorzec. Pomimo istotnie wyższych wartości spoczynkowych tej cytokiny w grupie sportowców, nie zaobserwowano wyraźnych różnic pomiędzy grupami w pozostałych punktach czasowych. Może to sugerować, że przewlekły trening powoduje podstawowe, niskie podwyższenie czynników prozapalnych, będące komponentą fizjologicznej adaptacji do regularnego wysiłku [187]. Z kolei istotny spadek stężenia TNF-α po 48 godzinach w grupie sportowców może świadczyć o efektywnym mechanizmie wygaszania odpowiedzi zapalnej po intensywnym wysiłku. Warto przy tym zauważyć, że ekspresja genu TNF-α nie uległa istotnym zmianom, co może świadczyć o istotnym udziale regulacji posttranskrypcyjnej i translacyjnej.

Interesującym wynikiem niniejszego badania jest natomiast istotnie wyższa ekspresja *TNFR-1* u sportowców w porównaniu do osób niećwiczących, utrzymująca się we wszystkich analizowanych punktach czasowych. TNFR-1 jest głównym mediatorem efektów biologicznych TNF-α, odpowiedzialnym zarówno za sygnalizację prozapalną, jak i proapoptotyczną [277]. Jego wyższa ekspresja u sportowców może wskazywać na bardziej efektywną gotowość immunologiczną lub wyższą zdolność do aktywnej regeneracji poprzez apoptozę uszkodzonych komórek mięśniowych. Z kolei brak różnic w ekspresji *TNFR-2* może wskazywać na jego mniejszą rolę w długoterminowej adaptacji do regularnej aktywności fizycznej, co jest zgodne z wcześniejszymi doniesieniami. TNFR-2 ulega ekspresji głównie na limfocytach T i komórkach śródbłonka, a jego aktywacja wiąże się bardziej z procesami regeneracyjnymi i immunoregulacyjnymi niż klasyczną reakcją zapalną [278]. Możliwe jest zatem, że TNFR-2 pełni rolę bardziej

kontekstualną i dynamiczną, ujawniającą się w określonych warunkach patologicznych lub przy długotrwałym stresie immunologicznym.

Ekspresja *IL-4* była istotnie wyższa u sportowców w porównaniu do osób niećwiczących w dwóch punktach czasowych – 30 minut oraz 24 godziny po zakończeniu testu wysiłkowego. IL-4 to cytokina o charakterze przeciwzapalnym, odgrywająca istotną rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej typu humoralnego, zwłaszcza poprzez indukcję różnicowania limfocytów Th2 oraz promowanie produkcji przeciwciał klasy IgE i IgG1 [196]. W kontekście fizjologicznej odpowiedzi na wysiłek fizyczny, IL-4 uznawana jest za jeden z mediatorów odpowiedzi przeciwzapalnej, przeciwważącej działanie cytokin prozapalnych takich jak IL-1β [279]. Obserwowanie największej różnicy między grupami 24 godziny po wysiłku może sugerować wydłużoną aktywację szlaków związanych z regeneracją i tłumieniem reakcji zapalnej u osób regularnie trenujących. Zwiększona ekspresja *IL-4* u sportowców może być interpretowana jako efekt wytrenowania i wcześniejszych adaptacji immunologicznych, prowadzących do bardziej efektywnego ograniczania potencjalnie szkodliwej reakcji zapalnej po wysiłku. U osób wytrenowanych układ odpornościowy zdaje się szybciej przełączać z fazy odpowiedzi zapalnej na fazę regeneracyjną, co może tłumaczyć różnicę widoczną po 24 godzinach. Nieco odmienny wynik uzyskano w przypadku receptora IL-4 (*IL-4R*), którego ekspresja bezpośrednio po wysiłku była wyższa u osób niećwiczących. Może to świadczyć o kompensacyjnym mechanizmie w populacji nieprzyzwyczajonej do wysiłku, u której aktywacja odpowiedzi zapalnej jest bardziej nasilona, a zwiększenie wrażliwości komórek na IL-4 może stanowić próbę ograniczenia nadmiernej reakcji immunologicznej. Warto jednak zaznaczyć, że ekspresja receptorów cytokin często podlega dynamicznej i krótkotrwałej regulacji [280], co może tłumaczyć brak trwałych różnic w innych punktach czasowych. W przypadku porównania punktów czasowych dla *IL-4* i jej receptora *IL-4R* zaobserwowano jedynie pojedynczą zmianę – spadek ekspresji *IL-4R* bezpośrednio po wysiłku u sportowców, co może wskazywać na szybki, przejściowy mechanizm kontroli odpowiedzi przeciwzapalnej w tej grupie. Brak wyraźnych zmian ekspresji IL-4 sugeruje, że pełni on bardziej stabilną, konstytutywną rolę w regulacji środowiska immunologicznego po wysiłku. W przypadku IL-4 w surowicy istotne spadki stężeń odnotowano wyłącznie w grupie niećwiczących po 6 i 24 godzinach. Obserwacja ta może sugerować, że osoby nieadaptowane do wysiłku wykazują osłabioną odpowiedź przeciwzapalną po jego zakończeniu. Brak istotnych

zmian w ekspresji *IL-4* w obu grupach wskazuje, że poziom tego białka również może być regulowany głównie na poziomie translacyjnym.

Brak istotnych korelacji pomiędzy poziomem ekspresji analizowanych genów a stężeniem odpowiadających im białek, niezależnie od grupy i punktu czasowego, stanowi istotny aspekt tej analizy. Choć w pojedynczych przypadkach odnotowano umiarkowane korelacje, jak w przypadku GDF15 po 24 godzinach u sportowców, nie osiągnęły one poziomu istotności statystycznej. Sugeruje to, że regulacja ekspresji tych białek jest bardziej złożona i zależy od licznych czynników poza aktywnością transkrypcyjną, takich jak stabilność mRNA, szybkość translacji, aktywność proteaz czy tempo wydzielania. Takie wyniki są zgodne z obserwacjami innych autorów wskazujących na rozbieżność pomiędzy poziomami mRNA i odpowiadających im białek w odpowiedzi na wysiłek fizyczny [281,282].

Analiza zależności między parametrami leukocytarnymi a stężeniami białek FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 ujawniła wyraźne różnice w odpowiedzi immunologiczno-molekularnej pomiędzy osobami wytrenowanymi a niećwiczącymi. Najbardziej konsekwentne i wielopunktowe wzorce obserwowano w grupie sportowców, co potwierdza, że regularny trening modyfikuje sposób, w jaki komórki układu odpornościowego reagują na sygnały endokrynne i miokinowe związane z wysiłkiem fizycznym [14]. U osób niećwiczących korelacje pojawiały się rzadko, były nieregularne i nie układały się w żaden spójny schemat, co sugeruje bardziej chaotyczną, mniej zsynchronizowaną odpowiedź immunologiczną na obciążenie fizyczne.

W przypadku liczby leukocytów istotne korelacje występowały niemal wyłącznie u sportowców, szczególnie bezpośrednio po wysiłku oraz w fazie późnej (24-48 h). Bezpośrednio po teście stwierdzono dodatnie związki liczby leukocytów z GDF15 i TNF-α, co może wskazywać, że u osób wytrenowanych mobilizacja leukocytów zachodzi równolegle z podwyższoną ekspresją białek stresu metabolicznego i cytokin prozapalnych. GDF15 jest znanym markerem przeciążenia metabolicznego i mitochondrialnego stresu komórkowego, a jego wzrost po wysiłku był wielokrotnie odnotowywany w literaturze jako zjawisko nasilone u sportowców o wysokiej tolerancji wysiłku [249]. TNF-α, mimo że klasyfikowany jako cytokina prozapalna, w odpowiedzi na wysiłek pełni również funkcję sygnału regulującego mobilizację leukocytów i przebieg wczesnej fazy regeneracji [17]. Zależności te, obserwowane wyłącznie w grupie wytrenowanej, mogą zatem odzwierciedlać bardziej skoordynowane sprzężenie między odpowiedzią komórkową a molekularną w ostrym stresie wysiłkowym. Warto

podkreślić, że korelacje między leukocytami a IL-4 oraz TNF-α po 24 i 48 godzinach również były obecne wyłącznie u sportowców, co sugeruje, że późne fazy regeneracji u osób wytrenowanych wiążą się z aktywacją zarówno mechanizmów prozapalnych (TNF-α), jak i przeciwzapalnych (IL-4). Zjawisko to jest zgodne z modelem, w którym trening przewlekły prowadzi do naprzemienności szlaków pro- i przeciwzapalnych, kluczowych dla procesów adaptacyjnych [283]. Brak takich zależności u osób niećwiczących wskazuje, że ich proces regeneracji ma charakter mniej uporządkowany i mniej zależny od sygnałów cytokinowych.

Wyniki dotyczące neutrofili jeszcze wyraźniej podkreślają różnice pomiędzy grupami. W praktyce wszystkie istotne korelacje dotyczyły sportowców. Już bezpośrednio po wysiłku neutrofile korelowały dodatnio ze stężeniami FGF21 i GDF15, czyli białek silnie związanych z metaboliczną odpowiedzią stresową. Może to podkreślać fakt, że neutrofile, jako pierwsza linia odpowiedzi immunologicznej, są szczególnie wrażliwe na sygnały wynikające ze zwiększonego obciążenia energetycznego, co u sportowców może być elementem adaptacyjnego „czujnika" równowagi metaboliczno-immunologicznej. Istotne korelacje neutrofili z GDF15 utrzymywały się u sportowców również po 30 minutach oraz ponownie po 24 godzinach, co jest wyjątkowo interesujące. Taki dwufazowy wzorzec może odzwierciedlać zarówno natychmiastową mobilizację komórek odpornościowych, jak i późniejszą fazę odbudowy homeostazy metabolicznej. Pojawienie się istotnej korelacji neutrofili z IL-4 po 48 godzinach sugeruje natomiast przejście do fazy przeciwzapalnej, zgodnie z mechanizmem przesunięcia równowagi immunologicznej ku procesom odbudowy i regeneracji w późniejszym okresie powysiłkowym [283]. W grupie niećwiczących jedyną istotną zależnością była korelacja neutrofili z FGF21 po 48 godzinach – pojedyncza i izolowana. Brak innych korelacji sugeruje, że ścieżki sygnalizacyjne powiązane z neutrofilami u osób niewytrenowanych nie są silnie sprzężone z działaniem białek stresowych ani cytokinowych, co może wynikać ze słabszej adaptacji układu odpornościowego do wysiłku.

W przypadku limfocytów pojawiały się pojedyncze istotne zależności, jednak ich wzorzec był odmienny w porównaniu z neutrofilami. Co istotne, w przeciwieństwie do trendów obserwowanych dla leukocytów i neutrofili, pierwsze fazy odpowiedzi limfocytarnej były bardziej widoczne u osób niećwiczących. U osób niewytrenowanych przed wysiłkiem stwierdzono silną ujemną korelację limfocytów z TNF-α, co może odzwierciedlać podwyższony „ton" prozapalny w spoczynku charakterystyczny dla osób o niższym poziomie aktywności fizycznej [17]. Bezpośrednio po wysiłku w tej samej

grupie pojawiła się dodatnia korelacja z GDF15, co sugeruje, że limfocyty osób niewytrenowanych mogą być bardziej wrażliwe na sygnały stresu metabolicznego niż komórki osób aktywnych fizycznie. U sportowców natomiast istotna zależność limfocytów pojawiła się dopiero po 24 godzinach i dotyczyła IL-4. Wskazuje to, że u osób wytrenowanych populacje limfocytów mogą odgrywać rolę głównie w późniejszej fazie przeciwzapalnej regeneracji, kiedy aktywowane są szlaki związane z naprawą tkanek i równoważeniem wcześniejszej odpowiedzi zapalnej. Jest to zgodne z koncepcją, w której trening przewlekły przesuwa profil immunologiczny ku bardziej wyciszonemu i przeciwzapalnemu [14].

W niniejszym badaniu parametry fizjologiczne uzyskane w progresywnym teście wysiłkowym zostały wykorzystane jako uzupełniające wskaźniki, mające na celu scharakteryzowanie różnic pomiędzy sportowcami a osobami niepodejmującymi regularnej aktywności fizycznej. Zgodnie z wcześniejszymi doniesieniami naukowymi, osoby trenujące regularnie powinny charakteryzować się wyższymi wartościami VO_2max, efektywniejszą wentylacją płuc oraz lepszą tolerancją wysiłku w porównaniu do osób niećwiczących [284,285]. VO_2max jest powszechnie uznawany za złoty standard w ocenie wydolności tlenowej, a jego wartości rosną wraz z poziomem wytrenowania, odzwierciedlając zwiększoną zdolność do poboru, transportu i wykorzystania tlenu w mięśniach szkieletowych [286]. Również literatura wskazuje, że sportowcy osiągają wyższe wartości HRmax, choć różnice te są mniej wyraźne, ponieważ maksymalna częstość skurczów serca jest w dużej mierze determinowana genetycznie i obniża się wraz z wiekiem [287]. Z kolei parametry wentylacyjne, takie jak MV czy Rf, u osób wytrenowanych charakteryzują się większą dynamiką zmian i bardziej efektywną odpowiedzią na obciążenie wysiłkowe [288].

Na podstawie powyższych założeń można było spodziewać się, że sportowcy w badanej próbie osiągną wyższe wartości VO_2max, MV oraz Rf, a także wyższy współczynnik oddechowy RQ, świadczący o większym udziale metabolizmu węglowodanów przy wysiłku maksymalnym. Rzeczywiście, wyniki uzyskane w niniejszym badaniu są zgodne z tymi przewidywaniami. Sportowcy charakteryzowali się wyższą wydolnością tlenową, lepszym dostosowaniem układu oddechowego i zwiększoną częstotliwością oddechów podczas wysiłku. Podobne obserwacje opisywano wcześniej, wskazując, że trening wytrzymałościowy sprzyja szybszej adaptacji wentylacyjnej i skuteczniejszej regulacji wymiany gazowej [289].

Wyższy RQ u sportowców wskazuje na większe wykorzystanie węglowodanów jako substratu energetycznego w trakcie intensywnego wysiłku. Literatura potwierdza, że osoby wytrenowane szybciej przechodzą w fazę dominacji metabolizmu węglowodanowego podczas wysiłku o maksymalnej intensywności, co związane jest z adaptacjami mitochondrialnymi i zwiększoną aktywnością enzymów glikolitycznych [290,291]. Otrzymane wyniki w dużej mierze pokrywają się z przewidywaniami teoretycznymi i wcześniejszymi doniesieniami naukowymi, potwierdzając wyższy poziom adaptacji wysiłkowej u osób regularnie trenujących, którymi w niniejszym badanu byli piłkarze nożni. Piłka nożna jest sportem wyczynowym o charakterze przerywanym. Charakteryzuje się przerywanym profilem treningowym, w którym okresy aktywności o niskiej lub umiarkowanej intensywności są przeplatane wysiłkiem o wysokiej intensywności [292]. Zawodowi piłkarze podczas meczu wykonują około 60 sprintów, w zależności od roli i pozycji zawodnika [293]. Parametr VO_2max stanowi istotny wskaźnik poziomu przygotowania fizycznego zawodników i pozwala on ocenić poziom wytrzymałości niezbędny do utrzymania wysokiej intensywności gry przez dłuższy czas oraz szybkiej regeneracji po wysiłku. Wartości VO_2max uznawane za typowe dla zawodowych piłkarzy mieszczą się w zakresie 55-68 ml/kg/min [294,295]. Maksymalny pobór tlenu nie jest jednak jedynym komponentem przygotowania motorycznego w piłce nożnej, ponieważ inne zdolności, takie jak szybkość, wytrzymałość beztlenowa, (w tym zdolność do powtarzanych sprintów), siła (szczególnie moc generowana w czasie sprintu i skoków) oraz zdolność do zmiany kierunku są równie istotne. Wyniki zbliżone do dolnej granicy VO_2max typowej dla sportowców mogą zatem wynikać zarówno ze specyfiki wymagań motorycznych w piłce nożnej, jak i z charakterystyki badanej populacji młodych dorosłych, u których potencjał wydolności tlenowej może być fizjologicznie wysoki, nawet przy braku systematycznego treningu.

Parametry leukocytarne (WBC, NEU, LYM) nie różniły się istotnie między grupami, choć w literaturze opisywano wyraźniejsze zmiany leukocytarne u osób niewytrenowanych w odpowiedzi na intensywny wysiłek, co interpretowane jest jako przejaw większego stresu fizjologicznego [296]. W niniejszym badaniu podobne kierunki zmian w obu grupach, ale brak istotnych różnic, mogą wynikać z jednorodności wiekowej próby oraz krótkiego czasu obserwacji poprocesowej, który nie ujawnia w pełni różnic w immunomodulacji związanej z treningiem.

Otrzymane wyniki w grupie sportowców wskazują na szereg dynamicznych zmian zachodzących w odpowiedzi na wysiłek fizyczny, co pozostaje zgodne z aktualnym stanem wiedzy dotyczącej fizjologii wysiłku. Typową reakcją na wysiłek jest leukocytoza wysiłkowa, której mechanizm wiąże się z mobilizacją leukocytów pod wpływem katecholamin i kortyzolu [297]. W prezentowanym badaniu obserwowano istotny wzrost liczby leukocytów bezpośrednio po wysiłku, co jest zjawiskiem oczekiwanym i szeroko opisywanym w literaturze [298]. Interesującym elementem jest jednak wtórny wzrost liczby neutrofili po 6 godzinach, który wskazuje na aktywację procesów zapalnych i może świadczyć o nasilonej odpowiedzi immunologicznej wtórnej wobec mikrourazów mięśniowych [299]. Z kolei obserwowany spadek liczby limfocytów po 30 minutach jest charakterystycznym przejawem tzw. „open window", które po wysiłku intensywnym może przejściowo zwiększać podatność na infekcje [300].

Uzyskane wyniki parametrów leukocytarnych w grupie osób niećwiczących wskazują, że ostry wysiłek fizyczny wywołuje istotne zmiany w regulacji odpowiedzi immunologicznej. W literaturze wielokrotnie podkreślano, że nawet u osób bez regularnej aktywności fizycznej, intensywny wysiłek prowadzi do przemijających zmian w liczbie krwinek, stężeniu metabolitów czy aktywności enzymów wątrobowych [300,301]. W związku z tym można było oczekiwać przejściowego wzrostu liczby leukocytów czy nasilenia leukocytozy neutrofilowej w wyniku hemokoncentracji i mobilizacji komórek krwi z rezerw ustrojowych [16,302].

Wzrost liczby leukocytów bezpośrednio po wysiłku jest zgodny z dotychczasowymi doniesieniami i stanowi efekt mobilizacji zarówno neutrofili, jak i limfocytów pod wpływem katecholamin oraz przesunięć płynów ustrojowych [303]. Najwyraźniejsze nasilenie neutrofilii obserwuje się zwykle w okresie kilku godzin po zakończonym wysiłku, co również potwierdziły nasze wyniki – maksymalna wartość została odnotowana po 6 godzinach. Z kolei limfocyty wzrosły bezpośrednio po wysiłku, by następnie ulec obniżeniu poniżej wartości spoczynkowych, co odpowiada tzw. zjawisku limfopenii powysiłkowej, dobrze opisanej w literaturze [300]. Takie zmiany są charakterystyczne dla mechanizmów „okna immunologicznego", w którym organizm wykazuje przejściowo obniżoną odporność komórkową.

Uzyskane wyniki krwi od obu grup w dużej mierze pokrywają się z oczekiwaniami teoretycznymi oraz doniesieniami literaturowymi dotyczącymi odpowiedzi organizmu na wysiłek.

Podsumowując, przeprowadzone badania wyraźnie pokazują, że odpowiedź molekularna na pojedynczy wysiłek fizyczny jest zależna od stopnia wytrenowania organizmu. Osoby niećwiczące wykazują silniejsze i bardziej dynamiczne zmiany w ekspresji receptorów FGF21 (FGFR3, FGFR4, KLB) oraz receptora GDF15 (GFRAL), co może wskazywać na ostrzejszą reakcję kompensacyjną organizmu na nagły stres fizjologiczny. U sportowców natomiast reakcje ekspresji receptorów były bardziej stonowane, z istotnym wzrostem FGFR4 obserwowanym dopiero 48 godzin po wysiłku, co sugeruje, że u osób regularnie trenujących mechanizmy metaboliczne i regeneracyjne działają w sposób bardziej stabilny i adaptacyjny. Ekspresja genów kodujących czynniki FGF21 i GDF15 nie uległa istotnym zmianom w żadnej grupie, jednak niższe stężenia FGF21 u sportowców w porównaniu do osób niećwiczących mogą odzwierciedlać lepszą efektywność metaboliczną, większą wrażliwość insulinową i bardziej optymalną homeostazę energetyczną. Z kolei wyższa ekspresja TNFR-1 i IL-4 u sportowców w wybranych punktach czasowych wskazuje na sprawniejszą regulację odpowiedzi zapalnej i szybsze przełączanie się układu odpornościowego z fazy prozapalnej na regeneracyjną, co podkreśla znaczenie regularnego treningu dla utrzymania równowagi immunometabolicznej. Brak istotnych korelacji między poziomem mRNA a stężeniem białek sugeruje, że adaptacja organizmu do wysiłku fizycznego odbywa się wielopoziomowo, obejmując regulację transkrypcyjną, translacyjną i posttranslacyjną. Wyniki te dostarczają cennych wskazówek dla nauki o fizjologii wysiłku, pokazując, że wytrenowanie prowadzi do stabilizacji odpowiedzi molekularnej i efektywniejszej kontroli procesów metabolicznych oraz zapalnych, podczas gdy brak regularnej aktywności wiąże się z bardziej gwałtownymi, lecz mniej zrównoważonymi reakcjami organizmu.

Wyniki uzyskane w progresywnym teście wysiłkowym potwierdzają, że sportowcy charakteryzują się wyższym poziomem wydolności tlenowej, lepszą adaptacją układu oddechowego oraz bardziej efektywnym wykorzystaniem węglowodanów jako substratu energetycznego podczas wysiłku o wysokiej intensywności. Wyższe wartości VO_2max, MV, Rf i RQ u osób wytrenowanych odzwierciedlają adaptacje wynikające z regularnego treningu wytrzymałościowego oraz specyfikę dyscypliny, w tym przypadku piłki nożnej, która wymaga zarówno intensywnych sprintów, jak i umiejętności szybkiej regeneracji. Uzyskane dane są zgodne z literaturą i wskazują, że systematyczny trening prowadzi do zwiększenia pojemności tlenowej, lepszej regulacji wymiany gazowej oraz bardziej efektywnego wykorzystania energetycznego podczas wysiłku, co stanowi istotny

czynnik w ocenie przygotowania fizycznego zawodników i ich zdolności do utrzymania wysokiej intensywności wysiłku w warunkach meczowych.

Analiza parametrów leukocytarnych potwierdziła, że odpowiedź organizmu na intensywny wysiłek fizyczny jest zależna od poziomu wytrenowania. U sportowców zmiany były w większości przejściowe i subtelne, co wskazuje na adaptacje układu immunologicznego. W grupie osób niećwiczących obserwowano bardziej dynamiczne wahania liczby krwinek, co odzwierciedla większy stres fizjologiczny i mniejszą zdolność adaptacyjną organizmu. Wzrost leukocytów i neutrofili oraz spadek limfocytów po wysiłku były zgodne z opisanymi w literaturze mechanizmami „okna immunologicznego" i reakcji zapalnej na mikrourazy mięśniowe. Uzyskane wyniki potwierdzają, że regularna aktywność fizyczna sprzyja stabilności i efektywności procesów metabolicznych, ogranicza nasilenie stresu fizjologicznego wywoływanego wysiłkiem oraz wspiera adaptacyjne mechanizmy immunologiczne i regeneracyjne. U osób nieaktywnych pojedynczy wysiłek wywołuje natomiast wyraźniejsze, choć w większości przejściowe, zmiany w wielu układach, co podkreśla znaczenie treningu w modulacji odpowiedzi organizmu na stres fizjologiczny.

Z punktu widzenia dyscypliny, badania te rozszerzają wiedzę na temat mechanizmów molekularnych adaptacji do wysiłku i podkreślają znaczenie różnic w wytrenowaniu w interpretacji odpowiedzi biologicznej na wysiłek. Wyniki te mogą posłużyć jako podstawa do projektowania interwencji treningowych ukierunkowanych na optymalizację procesów regeneracyjnych i metabolicznych, a także do dalszych badań nad rolą receptorów i cytokin w modulacji homeostazy energetycznej i odpowiedzi immunologicznej. Ponadto, pokazują one konieczność prowadzenia analiz wielopoziomowych, obejmujących genotyp, transkryptom i proteom, w celu pełnego zrozumienia adaptacji organizmu do stresu fizjologicznego.

Analiza ekspresji genów i stężeń białek wyżej wymienionych cytokin i ich receptorów w odpowiedzi na wysiłek może znacząco poszerzyć wiedzę na temat mechanizmów immunometabolicznych adaptacji. W kontekście naukowym, badania te mają istotne znaczenie dla dyscypliny oraz dostarczają danych umożliwiających ich praktyczne zastosowanie do:

- identyfikacji biomarkerów zmęczenia, adaptacji i ryzyka przetrenowania,
- zrozumienia różnic w odpowiedzi zapalnej między osobami o różnym poziomie wytrenowania,

- modelowania dynamiki ekspresji genów i białek w różnych fazach restytucji powysiłkowej,
- projektowania interwencji ukierunkowanych na wspomaganie regeneracji i minimalizację stanu zapalnego.

Z kolei w praktyce sportowej i klinicznej, uzyskane dane mogą zostać wykorzystane do:

- personalizacji programów treningowych z uwzględnieniem markerów zapalnych i metabolicznych,
- monitorowania przeciążeń i planowania regeneracji.

WNIOSKI

Celem niniejszego badania była ocena wielopoziomowej odpowiedzi organizmu na intensywny wysiłek fizyczny w dwóch odmiennych grupach – sportowców i osób niećwiczących – z uwzględnieniem zmian molekularnych, hematologicznych oraz fizjologicznych. Uzyskane wyniki pozwoliły na szczegółową weryfikację wszystkich postawionych hipotez badawczych.

1) U wszystkich badanych, niezależnie od stopnia wytrenowania, nie zaobserwowano zmian w ekspresji FGF21 i GDF15, co wskazuje, że jednorazowy, intensywny wysiłek fizyczny w postaci progresywnego testu do odmowy nie moduluje poziomu transkrypcji tych genów w komórkach krwi obwodowe. Natomiast, wyniki uzyskane w zakresie zmian ekspresji genów kodujących receptory FGFR3, FGFR4 oraz KLB wykazują, że osoby niećwiczące charakteryzują się silniejszą doraźną aktywacją receptorową, co może być elementem reakcji stresowej na wysiłek, podczas gdy u sportowców odpowiedź ta jest ograniczona i opóźniona w stosunku do osób niećwiczących. Niższa ekspresja *FGFR1* we wszystkich punktach czasowych u sportowców sugeruje, że przewlekła adaptacja treningowa obejmuje także regulację w dół pewnych komponentów szlaku FGF21.
2) Istotny wzrost ekspresji genu *TNF-α* i *TNFR-1* oraz brak istotnych różnic w ekspresji *IL-4* i *IL-4R* w grupie osób niećwiczących wskazuje na pobudzenie szlaku TNF-α oraz przewagę odpowiedzi prozapalnej u osób nieaktywnych fizycznie. Brak istotnych różnic w ekspresji *TNF-α*, *TNFR-1*, *TNFR-2*, *IL-4* i *IL-4R* u sportowców wskazuje, że regularny trening fizyczny wycisza odpowiedź zapalną.
3) Istotne wyższe stężenie FGF21 i GDF15 w grupie osób niećwiczących w porównaniu do grupy sportowców wykazały, że osoby niećwiczące charakteryzują się mniejszą efektywnością metaboliczno-mitochondrialną oraz większym stresem komórkowym w odpowiedzi na intensywny wysiłek fizyczny. Istotnie wyższe stężenie spoczynkowe TNF-α u sportowców może wskazywać, że regularna aktywność fizyczna wiąże się z utrzymywaniem nieznacznie podwyższonego poziomu wybranych cytokin prozapalnych jako elementu stałej adaptacji organizmu do powtarzalnego obciążenia treningowego. Istotny spadek stężenia TNF-α po 48 godzinach obserwowany u sportowców sugeruje sprawne

uruchamianie mechanizmów wygaszających odpowiedź zapalną po wysiłku, co odzwierciedla wyższą efektywność procesów regeneracyjnych w tej grupie. Istotne obniżenie poziomu IL-4 w surowicy w grupie osób niećwiczących po 6 oraz 24 godzinach od wysiłku, może wskazywać, że u osób bez adaptacji treningowej mechanizmy regulujące odpowiedź przeciwzapalną są mniej stabilne i ulegają wyraźnemu zachwianiu po obciążeniu fizycznym. Jednocześnie nie stwierdzono korelacji między poziomem mRNA a stężeniem białka, co sugeruje, że odpowiedź białkowa zachodzi niezależnie od zmian transkrypcyjnych w krwinkach.

4) Brak istotnych różnic w liczbie leukocytów, neutrofili i limfocytów między grupą sportowców a osobami niećwiczącymi świadczy o tym, że w krótkim okresie po wysiłku intensywnym stabilność parametrów leukocytarnych nie różni się statystycznie pomiędzy sportowcami a osobami niećwiczącymi. Istotny wzrost liczby leukocytów bezpośrednio po wysiłku świadczy o typowej leukocytozie wysiłkowej będącej efektem mobilizacji komórek krwi pod wpływem katecholamin i kortyzolu, natomiast wtórny wzrost liczby neutrofili po 6 godzinach wskazuje na aktywację procesów zapalnych i odpowiedź immunologiczną wtórną wobec mikrourazów mięśniowych. Obserwowany spadek liczby limfocytów po 30 minutach po wysiłku charakteryzuje zjawisko „open window”.

BIBLIOGRAFIA

1. Caspersen, C.J.; Powell, K.E.; Christenson, G.M. Physical Activity, Exercise, and Physical Fitness: Definitions and Distinctions for Health-Related Research. *Public Health Rep* **1985**, *100*, 126–131.
2. Physical Activity Available online: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity (accessed on 6 June 2025).
3. Jaskólski, A.; Jaskólska, A. *Podstawy Fizjologii Wysiłku Fizycznego z Zarysem Fizjologii Człowieka*; AWF: Wrocław, 2002;
4. Schuch, F.B.; Vancampfort, D. Physical Activity, Exercise, and Mental Disorders: It Is Time to Move On. *Trends Psychiatry Psychother* **2021**, *43*, 177–184, doi:10.47626/2237-6089-2021-0237.
5. Nystoriak, M.A.; Bhatnagar, A. Cardiovascular Effects and Benefits of Exercise. *Front Cardiovasc Med* **2018**, *5*, 135, doi:10.3389/fcvm.2018.00135.
6. Benedetti, M.G.; Furlini, G.; Zati, A.; Letizia Mauro, G. The Effectiveness of Physical Exercise on Bone Density in Osteoporotic Patients. *Biomed Res Int* **2018**, *2018*, 4840531, doi:10.1155/2018/4840531.
7. Pinckard, K.; Baskin, K.K.; Stanford, K.I. Effects of Exercise to Improve Cardiovascular Health. *Front Cardiovasc Med* **2019**, *6*, 69, doi:10.3389/fcvm.2019.00069.
8. Conn, V.S.; Koopman, R.J.; Ruppar, T.M.; Phillips, L.J.; Mehr, D.R.; Hafdahl, A.R. Insulin Sensitivity Following Exercise Interventions: Systematic Review and Meta-Analysis of Outcomes Among Healthy Adults. *J Prim Care Community Health* **2014**, *5*, 211–222, doi:10.1177/2150131913520328.
9. Knowler, W.C.; Barrett-Connor, E.; Fowler, S.E.; Hamman, R.F.; Lachin, J.M.; Walker, E.A.; Nathan, D.M.; Diabetes Prevention Program Research Group Reduction in the Incidence of Type 2 Diabetes with Lifestyle Intervention or Metformin. *N Engl J Med* **2002**, *346*, 393–403, doi:10.1056/NEJMoa012512.
10. Schuch, F.B.; Stubbs, B.; Meyer, J.; Heissel, A.; Zech, P.; Vancampfort, D.; Rosenbaum, S.; Deenik, J.; Firth, J.; Ward, P.B.; et al. Physical Activity Protects from Incident Anxiety: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Depress Anxiety* **2019**, *36*, 846–858, doi:10.1002/da.22915.
11. Callaghan, P. Exercise: A Neglected Intervention in Mental Health Care? *Journal of psychiatric and mental health nursing* **2004**, *11*, doi:10.1111/j.1365-2850.2004.00751. x.
12. Wang, S.; Liu, H.-Y.; Cheng, Y.-C.; Su, C.-H. Exercise Dosage in Reducing the Risk of Dementia Development: Mode, Duration, and Intensity—A Narrative Review. *Int J Environ Res Public Health* **2021**, *18*, 13331, doi:10.3390/ijerph182413331.
13. Kline, C.E. The Bidirectional Relationship between Exercise and Sleep: Implications for Exercise Adherence and Sleep Improvement. *Am J Lifestyle Med* **2014**, *8*, 375–379, doi:10.1177/1559827614544437.
14. Pedersen, B.K.; Febbraio, M.A. Muscles, Exercise and Obesity: Skeletal Muscle as a Secretory Organ. *Nat Rev Endocrinol* **2012**, *8*, 457–465, doi:10.1038/nrendo.2012.49.
15. Guimarães, M.E.A.; Derhon, V.; Signori, L.U.; Seiffer, B.A.; Wolf, S.; Schuch, F.B. Acute and Chronic Effects of Physical Exercise in Inflammatory Biomarkers in People with Depression: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Journal of Psychiatric Research* **2024**, *179*, 26–32, doi: 10.1016/j.jpsychires.2024.08.025.

16. Gleeson, M. Immune Function in Sport and Exercise. *J Appl Physiol (1985)* **2007**, *103*, 693–699, doi:10.1152/japplphysiol.00008.2007.
17. Nieman, D.C.; Wentz, L.M. The Compelling Link between Physical Activity and the Body's Defense System. *Journal of Sport and Health Science* **2019**, *8*, 201–217, doi: 10.1016/j.jshs.2018.09.009.
18. Strimbu, K.; Tavel, J.A. What Are Biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS* **2010**, *5*, 463–466, doi:10.1097/COH.0b013e32833ed177.
19. Craighead, D.H.; Heinbockel, T.C.; Freeberg, K.A.; Rossman, M.J.; Jackman, R.A.; Jankowski, L.R.; Hamilton, M.N.; Ziemba, B.P.; Reisz, J.A.; D'Alessandro, A.; et al. Time-Efficient Inspiratory Muscle Strength Training Lowers Blood Pressure and Improves Endothelial Function, NO Bioavailability, and Oxidative Stress in Midlife/Older Adults With Above-Normal Blood Pressure. *J Am Heart Assoc* **2021**, *10*, e020980, doi:10.1161/JAHA.121.020980.
20. Tesema, G.; George, M.; Mondal, S.; Mathivana, D. Serum Cardiac Markers Are Inversely Associated with VO2max of Amateur Athletes in Response to Endurance Training Adaptations. *BMJ Open Sport Exerc Med* **2019**, *5*, e000537, doi:10.1136/bmjsem-2019-000537.
21. Lee, E.C.; Fragala, M.S.; Kavouras, S.A.; Queen, R.M.; Pryor, J.L.; Casa, D.J. Biomarkers in Sports and Exercise: Tracking Health, Performance, and Recovery in Athletes. *J Strength Cond Res* **2017**, *31*, 2920–2937, doi:10.1519/JSC.0000000000002122.
22. Zhang, J.-M.; An, J. Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesthesiol Clin* **2007**, *45*, 27–37, doi:10.1097/AIA.0b013e318034194e.
23. Perry, C.G.R.; Lally, J.; Holloway, G.P.; Heigenhauser, G.J.F.; Bonen, A.; Spriet, L.L. Repeated Transient mRNA Bursts Precede Increases in Transcriptional and Mitochondrial Proteins during Training in Human Skeletal Muscle. *The Journal of Physiology* **2010**, *588*, 4795–4810, doi:10.1113/jphysiol.2010.199448.
24. Hawley, J.A.; Hargreaves, M.; Joyner, M.J.; Zierath, J.R. Integrative Biology of Exercise. *Cell* **2014**, *159*, 738–749, doi: 10.1016/j.cell.2014.10.029.
25. Hawley, J.A. Adaptations of Skeletal Muscle to Prolonged, Intense Endurance Training. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **2002**, *29*, 218–222, doi:10.1046/j.1440-1681.2002.03623. x.
26. Camera, D.M.; Smiles, W.J.; Hawley, J.A. Exercise-Induced Skeletal Muscle Signaling Pathways and Human Athletic Performance. *Free Radical Biology and Medicine* **2016**, *98*, 131–143, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.007.
27. Camera, D.M.; Smiles, W.J.; Hawley, J.A. Exercise-Induced Skeletal Muscle Signaling Pathways and Human Athletic Performance. *Free Radic Biol Med* **2016**, *98*, 131–143, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.007.
28. Walzik, D.; Wences Chirino, T.Y.; Zimmer, P.; Joisten, N. Molecular Insights of Exercise Therapy in Disease Prevention and Treatment. *Sig Transduct Target Ther* **2024**, *9*, 1–34, doi:10.1038/s41392-024-01841-0.
29. Chen, J.; Zhou, R.; Feng, Y.; Cheng, L. Molecular Mechanisms of Exercise Contributing to Tissue Regeneration. *Sig Transduct Target Ther* **2022**, *7*, 1–24, doi:10.1038/s41392-022-01233-2.
30. Adams, G.R.; Bamman, M.M. Characterization and Regulation of Mechanical Loading-Induced Compensatory Muscle Hypertrophy. *Comprehensive Physiology* **2012**, *2*, 2829–2870, doi:10.1002/cphy.c110066.
31. Goodman, C.A. The Role of mTORC1 in Regulating Protein Synthesis and Skeletal Muscle Mass in Response to Various Mechanical Stimuli. In *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology 166*; Nilius, B., Gudermann, T., Jahn, R., Lill, R.,

Offermanns, S., Petersen, O.H., Eds.; Springer International Publishing: Cham, 2014; pp. 43–95 ISBN 978-3-319-04906-9.
32. Hornberger, T.A.; Chu, W.K.; Mak, Y.W.; Hsiung, J.W.; Huang, S.A.; Chien, S. The Role of Phospholipase D and Phosphatidic Acid in the Mechanical Activation of mTOR Signaling in Skeletal Muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2006**, *103*, 4741–4746, doi:10.1073/pnas.0600678103.
33. O'neil, T.K.; Duffy, L.R.; Frey, J.W.; Hornberger, T.A. The Role of Phosphoinositide 3-Kinase and Phosphatidic Acid in the Regulation of Mammalian Target of Rapamycin Following Eccentric Contractions. *Journal of Physiology* **2009**, *587*, 3691–3701, doi:10.1113/jphysiol.2009.173609.
34. Fang, Y.; Vilella-Bach, M.; Bachmann, R.; Flanigan, A.; Chen, J. Phosphatidic Acid-Mediated Mitogenic Activation of mTOR Signaling. *Science* **2001**, *294*, 1942–1945, doi:10.1126/science.1066015.
35. Inoki, K.; Li, Y.; Xu, T.; Guan, K.-L. Rheb GTPase Is a Direct Target of TSC2 GAP Activity and Regulates mTOR Signaling. *Genes Dev.* **2003**, *17*, 1829–1834, doi:10.1101/gad.1110003.
36. Garami, A.; Zwartkruis, F.J.T.; Nobukuni, T.; Joaquin, M.; Roccio, M.; Stocker, H.; Kozma, S.C.; Hafen, E.; Bos, J.L.; Thomas, G. Insulin Activation of Rheb, a Mediator of mTOR/S6K/4E-BP Signaling, Is Inhibited by TSC1 and 2. *Molecular Cell* **2003**, *11*, 1457–1466, doi:10.1016/S1097-2765(03)00220-X.
37. Chauvin, C.; Koka, V.; Nouschi, A.; Mieulet, V.; Hoareau-Aveilla, C.; Dreazen, A.; Cagnard, N.; Carpentier, W.; Kiss, T.; Meyuhas, O.; et al. Ribosomal Protein S6 Kinase Activity Controls the Ribosome Biogenesis Transcriptional Program. *Oncogene* **2014**, *33*, 474–483, doi:10.1038/onc.2012.606.
38. Coffey, V.G.; Hawley, J.A. The Molecular Bases of Training Adaptation. *Sports Medicine* **2007**, *37*, 737–763, doi:10.2165/00007256-200737090-00001.
39. Egan, B.; Zierath, J.R. Exercise Metabolism and the Molecular Regulation of Skeletal Muscle Adaptation. *Cell Metabolism* **2013**, *17*, 162–184, doi: 10.1016/j.cmet.2012.12.012.
40. Gurd, B.J.; Perry, C.G.; Heigenhauser, G.J.; Spriet, L.L.; Bonen, A. High--nterval Training Increases SIRT1 Activity in Human Skeletal Muscle. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquée, nutrition et métabolisme* **2010**, *35*, 350–357, doi:10.1139/H10-030.
41. He, F.; Li, J.; Liu, Z.; Chuang, C.-C.; Yang, W.; Zuo, L. Redox Mechanism of Reactive Oxygen Species in Exercise. *Front Physiol* **2016**, *7*, 486, doi:10.3389/fphys.2016.00486.
42. Tiwari, R.; Mondal, Y.; Bharadwaj, K.; Mahajan, M.; Mondal, S.; Sarkar, A. Reactive Oxygen Species (ROS) and Their Profound Influence on Regulating Diverse Aspects of Cancer: A Concise Review. *Drug Development Research* **2025**, *86*, e70107, doi:10.1002/ddr.70107.
43. Yang, W.; Hu, P. Skeletal Muscle Regeneration Is Modulated by Inflammation. *J Orthop Translat* **2018**, *13*, 25–32, doi: 10.1016/j.jot.2018.01.002.
44. Pierce, A.; Pittet, J.-F. Inflammatory Response to Trauma: Implications for Coagulation and Resuscitation. *Curr Opin Anaesthesiol* **2014**, *27*, 246–252, doi:10.1097/ACO.0000000000000047.
45. Roh, J.S.; Sohn, D.H. Damage-Associated Molecular Patterns in Inflammatory Diseases. *Immune Netw* **2018**, *18*, e27, doi:10.4110/in.2018.18. e27.
46. Ferreira, V.L.; Borba, H.H.L.; Bonetti, A. de F.; P.Leonart, L.; Pontarolo, R.; Ferreira, V.L.; Borba, H.H.L.; Bonetti, A. de F.; P.Leonart, L.; Pontarolo, R.

Cytokines and Interferons: Types and Functions; IntechOpen, 2018; ISBN 978-1-78984-853-3.
47. Małkowska, P.; Sawczuk, M. Cytokines as Biomarkers for Evaluating Physical Exercise in Trained and Non-Trained Individuals: A Narrative Review. *Int J Mol Sci* **2023**, *24*, 11156, doi:10.3390/ijms241311156.
48. Ren, Y.; Zhao, H.; Yin, C.; Lan, X.; Wu, L.; Du, X.; Griffiths, H.R.; Gao, D. Adipokines, Hepatokines and Myokines: Focus on Their Role and Molecular Mechanisms in Adipose Tissue Inflammation. *Front Endocrinol (Lausanne)* **2022**, *13*, 873699, doi:10.3389/fendo.2022.873699.
49. Belizário, J.E.; Fontes-Oliveira, C.C.; Borges, J.P.; Kashiabara, J.A.; Vannier, E. Skeletal Muscle Wasting and Renewal: A Pivotal Role of Myokine IL-6. *SpringerPlus* **2016**, *5*, 619, doi:10.1186/s40064-016-2197-2.
50. Morán, G.A.G.; Parra-Medina, R.; Cardona, A.G.; Quintero-Ronderos, P.; Rodríguez, É.G. Cytokines, Chemokines and Growth Factors. In *Autoimmunity: From Bench to Bedside [Internet]*; El Rosario University Press, 2013.
51. Keller, C.; Steensberg, A.; Pilegaard, H.; Osada, T.; Saltin, B.; Pedersen, B.K.; Neufer, P.D. Transcriptional Activation of the IL-6 Gene in Human Contracting Skeletal Muscle: Influence of Muscle Glycogen Content. *FASEB J* **2001**, *15*, 2748–2750, doi: 10.1096/fj.01-0507fje.
52. Lightfoot, A.P.; Cooper, R.G. The Role of Myokines in Muscle Health and Disease. *Curr Opin Rheumatol* **2016**, *28*, 661–666, doi:10.1097/BOR.0000000000000337.
53. Piccirillo, R. Exercise-Induced Myokines with Therapeutic Potential for Muscle Wasting. *Front Physiol* **2019**, *10*, 287, doi:10.3389/fphys.2019.00287.
54. Schnyder, S.; Handschin, C. Skeletal Muscle as an Endocrine Organ: PGC-1α, Myokines and Exercise. *Bone* **2015**, *80*, 115–125, doi: 10.1016/j.bone.2015.02.008.
55. de Luca, C.; Olefsky, J.M. Inflammation and Insulin Resistance. *FEBS Lett* **2008**, *582*, 97–105, doi: 10.1016/j.febslet.2007.11.057.
56. Ajoolabady, A.; Pratico, D.; Lin, L.; Mantzoros, C.S.; Bahijri, S.; Tuomilehto, J.; Ren, J. Inflammation in Atherosclerosis: Pathophysiology and Mechanisms. *Cell Death Dis* **2024**, *15*, 1–16, doi:10.1038/s41419-024-07166-8.
57. Chavda, V.P.; Feehan, J.; Apostolopoulos, V. Inflammation: The Cause of All Diseases. *Cells* **2024**, *13*, 1906, doi:10.3390/cells13221906.
58. Kurowski, M.; Seys, S.; Bonini, M.; Del Giacco, S.; Delgado, L.; Diamant, Z.; Kowalski, M.L.; Moreira, A.; Rukhadze, M.; Couto, M. Physical Exercise, Immune Response, and Susceptibility to Infections—Current Knowledge and Growing Research Areas. *Allergy* **2022**, *77*, 2653–2664, doi:10.1111/all.15328.
59. Sprenger, H.; Jacobs, C.; Nain, M.; Gressner, A.M.; Prinz, H.; Wesemann, W.; Gemsa, D. Enhanced Release of Cytokines, Interleukin-2 Receptors, and Neopterin after Long-Distance Running. *Clin Immunol Immunopathol* **1992**, *63*, 188–195, doi:10.1016/0090-1229(92)90012-d.
60. Castell, L.M.; Poortmans, J.R.; Leclercq, R.; Brasseur, M.; Duchateau, J.; Newsholme, E.A. Some Aspects of the Acute Phase Response after a Marathon Race, and the Effects of Glutamine Supplementation. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **1997**, *75*, 47–53, doi:10.1007/s004210050125.
61. Suzuki, K.; Yamada, M.; Kurakake, S.; Okamura, N.; Yamaya, K.; Liu, Q.; Kudoh, S.; Kowatari, K.; Nakaji, S.; Sugawara, K. Circulating Cytokines and Hormones with Immunosuppressive but Neutrophil-Priming Potentials Rise after Endurance Exercise in Humans. *Eur J Appl Physiol* **2000**, *81*, 281–287, doi:10.1007/s004210050044.

62. Nieman, D.C.; Dumke, C.I.; Henson, D.A.; McAnulty, S.R.; McAnulty, L.S.; Lind, R.H.; Morrow, J.D. Immune and Oxidative Changes during and Following the Western States Endurance Run. *Int J Sports Med* **2003**, *24*, 541–547, doi:10.1055/s-2003-42018.
63. Ostrowski, K.; Rohde, T.; Asp, S.; Schjerling, P.; Pedersen, B.K. Chemokines Are Elevated in Plasma after Strenuous Exercise in Humans. *Eur J Appl Physiol* **2001**, *84*, 244–245, doi:10.1007/s004210170012.
64. Jürimäe, J.; Vaiksaar, S.; Purge, P. Circulating Inflammatory Cytokine Responses to Endurance Exercise in Female Rowers. *Int J Sports Med* **2018**, *39*, 1041–1048, doi:10.1055/a-0723-4421.
65. Suzuki, K.; Nakaji, S.; Yamada, M.; Liu, Q.; Kurakake, S.; Okamura, N.; Kumae, T.; Umeda, T.; Sugawara, K. Impact of a Competitive Marathon Race on Systemic Cytokine and Neutrophil Responses. *Med Sci Sports Exerc* **2003**, *35*, 348–355, doi: 10.1249/01.MSS.0000048861.57899.04.
66. Ostrowski, K.; Rohde, T.; Asp, S.; Schjerling, P.; Pedersen, B.K. Pro- and Anti-Inflammatory Cytokine Balance in Strenuous Exercise in Humans. *J Physiol* **1999**, *515*, 287–291, doi:10.1111/j.1469-7793.1999.287ad.x.
67. Hannoodee, S.; Nasuruddin, D.N. Acute Inflammatory Response. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island (FL), 2025.
68. Cox, A.J.; Pyne, D.B.; Saunders, P.U.; Callister, R.; Gleeson, M. Cytokine Responses to Treadmill Running in Healthy and Illness-Prone Athletes. *Med Sci Sports Exerc* **2007**, *39*, 1918–1926, doi:10.1249/mss.0b013e318149f2aa.
69. Bhol, N.K.; Bhanjadeo, M.M.; Singh, A.K.; Dash, U.C.; Ojha, R.R.; Majhi, S.; Duttaroy, A.K.; Jena, A.B. The Interplay between Cytokines, Inflammation, and Antioxidants: Mechanistic Insights and Therapeutic Potentials of Various Antioxidants and Anti-Cytokine Compounds. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2024**, *178*, 117177, doi: 10.1016/j.biopha.2024.117177.
70. Docherty, S.; Harley, R.; McAuley, J.J.; Crowe, L.A.N.; Pedret, C.; Kirwan, P.D.; Siebert, S.; Millar, N.L. The Effect of Exercise on Cytokines: Implications for Musculoskeletal Health: A Narrative Review. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation* **2022**, *14*, 5, doi:10.1186/s13102-022-00397-2.
71. Vijayaraghava, A.; K, R. Alteration of Interferon Gamma (IFN-γ) in Human Plasma with Graded Physical Activity. *J Clin Diagn Res* **2014**, *8*, BC05–BC07, doi:10.7860/JCDR/2014/9502.4440.
72. Prokopchuk, O.; Liu, Y.; Wang, L.; Wirth, K.; Schmidtbleicher, D.; Steinacker, J.M. Skeletal Muscle IL-4, IL-4Ralpha, IL-13 and IL-13Ralpha1 Expression and Response to Strength Training. *Exerc Immunol Rev* **2007**, *13*, 67–75.
73. Forti, L.N.; Njemini, R.; Beyer, I.; Eelbode, E.; Meeusen, R.; Mets, T.; Bautmans, I. Strength Training Reduces Circulating Interleukin-6 but Not Brain-Derived Neurotrophic Factor in Community-Dwelling Elderly Individuals. *Age (Dordr)* **2014**, *36*, 9704, doi:10.1007/s11357-014-9704-6.
74. Leelarungrayub, D.; Saidee, K.; Pothongsunun, P.; Pratanaphon, S.; YanKai, A.; Bloomer, R.J. Six Weeks of Aerobic Dance Exercise Improves Blood Oxidative Stress Status and Increases Interleukin-2 in Previously Sedentary Women. *J Bodyw Mov Ther* **2011**, *15*, 355–362, doi: 10.1016/j.jbmt.2010.03.006.
75. Zamani, A.; Salehi, I.; Alahgholi-Hajibehzad, M. Moderate Exercise Enhances the Production of Interferon-γ and Interleukin-12 in Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Immune Netw* **2017**, *17*, 186–191, doi:10.4110/in.2017.17.3.186.

76. Stensvold, D.; Slørdahl, S.A.; Wisløff, U. Effect of Exercise Training on Inflammation Status among People with Metabolic Syndrome. *Metab Syndr Relat Disord* **2012**, *10*, 267–272, doi:10.1089/met.2011.0140.
77. Borges, L.; Passos, M.E.P.; Silva, M.B.B.; Santos, V.C.; Momesso, C.M.; Pithon-Curi, T.C.; Gorjão, R.; Gray, S.R.; Lima, K.C.A.; de Freitas, P.B.; et al. Dance Training Improves Cytokine Secretion and Viability of Neutrophils in Diabetic Patients. *Mediators of Inflammation* **2019**, *2019*, e2924818, doi:10.1155/2019/2924818.
78. Koh, Y.; Park, K.-S. Responses of Inflammatory Cytokines Following Moderate Intensity Walking Exercise in Overweight or Obese Individuals. *J Exerc Rehabil* **2017**, *13*, 472–476, doi:10.12965/jer.1735066.533.
79. LaMonte, M.J. Cardiorespiratory Fitness in the Prevention and Management of Cardiovascular Disease. *Rev Cardiovasc Med* **2022**, *23*, 382, doi:10.31083/j. rcm2311382.
80. Gaesser, G.A. Type 2 Diabetes Incidence and Mortality: Associations with Physical Activity, Fitness, Weight Loss, and Weight Cycling. *Rev Cardiovasc Med* **2022**, *23*, 364, doi:10.31083/j. rcm2311364.
81. Alkhatib, A.; Klonizakis, M. Effects of Exercise Training and Mediterranean Diet on Vascular Risk Reduction in Post-Menopausal Women. *Clin Hemorheol Microcirc* **2014**, *57*, 33–47, doi:10.3233/CH-131770.
82. Lapi, D.; Federighi, G.; Lonardo, M.S.; Chiurazzi, M.; Muscariello, E.; Tenore, G.; Colantuoni, A.; Novellino, E.; Scuri, R. Effects of Physical Exercise Associated with a Diet Enriched with Natural Antioxidants on Cerebral Hypoperfusion and Reperfusion Injury in Spontaneously Hypertensive Rats. *Front Physiol* **2023**, *14*, 1091889, doi:10.3389/fphys.2023.1091889.
83. Guimarães-Ervilha, L.O.; Soares, L.L.; Bento, I. da S.P.; Carvalho, R.P.R.; Lima, T.I.; Dias, F.C.R.; Bastos, D.S.S.; Cossolin, J.F.S.; Souza, A.C.F.; Reis, E.C.C.; et al. Effect of Induced Pulmonary Arterial Hypertension on Testicular Parameters of Wistar Rats Subjected to Resistance Exercise Training. *Microsc Microanal* **2023**, *29*, 635–648, doi:10.1093/micmic/ozac037.
84. Jeffries, O.; Waldron, M.; Pattison, J.R.; Patterson, S.D. Enhanced Local Skeletal Muscle Oxidative Capacity and Microvascular Blood Flow Following 7-Day Ischemic Preconditioning in Healthy Humans. *Front Physiol* **2018**, *9*, 463, doi:10.3389/fphys.2018.00463.
85. Meng, Z.; Gao, B.; Gao, H.; Ge, P.; Li, T.; Wang, Y. Four Weeks of Hypoxia Training Improves Cutaneous Microcirculation in Trained Rowers. *Physiol Res* **2019**, *68*, 757–766, doi:10.33549/physiolres.934175.
86. Valensi, P.; Barber-Chamoux, N.; Rezki, A.; Lambert, C.; Pereira, B.; Dualé, C.; Delmas, D.; Duclos, M. Effects of Single and Multiple Sessions of Lower Body Diastole-Synchronized Compressions Using a Pulsating Pneumatic Suit on Endothelium Function and Metabolic Parameters in Patients with Type 2 Diabetes: Two Controlled Cross-over Studies. *Cardiovasc Diabetol* **2022**, *21*, 286, doi:10.1186/s12933-022-01710-6.
87. de Moraes, R.; Van Bavel, D.; Gomes, M. de B.; Tibiriçá, E. Effects of Non-Supervised Low Intensity Aerobic Excise Training on the Microvascular Endothelial Function of Patients with Type 1 Diabetes: A Non-Pharmacological Interventional Study. *BMC Cardiovasc Disord* **2016**, *16*, 23, doi:10.1186/s12872-016-0191-9.
88. Lopez-Castejon, G.; Brough, D. Understanding the Mechanism of IL-1β Secretion. *Cytokine Growth Factor Rev* **2011**, *22*, 189–195, doi: 10.1016/j.cytogfr.2011.10.001.

89. Pyrillou, K.; Burzynski, L.C.; Clarke, M.C.H. Alternative Pathways of IL-1 Activation, and Its Role in Health and Disease. *Front. Immunol.* **2020**, *11*, doi:10.3389/fimmu.2020.613170.
90. Puhlmann, M.; Weinreich, D.M.; Farma, J.M.; Carroll, N.M.; Turner, E.M.; Alexander, H.R. Interleukin-1β Induced Vascular Permeability Is Dependent on Induction of Endothelial Tissue Factor (TF) Activity. *J Transl Med* **2005**, *3*, 37, doi:10.1186/1479-5876-3-37.
91. Moldoveanu, A.I.; Shephard, R.J.; Shek, P.N. The Cytokine Response to Physical Activity and Training. *Sports Med* **2001**, *31*, 115–144, doi:10.2165/00007256-200131020-00004.
92. Nieman, D.C.; Konrad, M.; Henson, D.A.; Kennerly, K.; Shanely, R.A.; Wallner-Liebmann, S.J. Variance in the Acute Inflammatory Response to Prolonged Cycling Is Linked to Exercise Intensity. *Journal of Interferon & Cytokine Research* **2012**, *32*, 12–17, doi:10.1089/jir.2011.0038.
93. Mucci, P.; Durand, F.; Lebel, B.; Bousquet, J.; Préfaut, C. Interleukins 1-Beta, -8, and Histamine Increases in Highly Trained, Exercising Athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise* **2000**, *32*, 1094.
94. Marklund, P.; Mattsson, C.M.; Wåhlin-Larsson, B.; Ponsot, E.; Lindvall, B.; Lindvall, L.; Ekblom, B.; Kadi, F. Extensive Inflammatory Cell Infiltration in Human Skeletal Muscle in Response to an Ultraendurance Exercise Bout in Experienced Athletes. *Journal of Applied Physiology* **2013**, *114*, 66–72, doi:10.1152/japplphysiol.01538.2011.
95. Bruunsgaard, H.; Galbo, H.; Halkjaer-Kristensen, J.; Johansen, T.L.; MacLean, D.A.; Pedersen, B.K. Exercise-Induced Increase in Serum Interleukin-6 in Humans Is Related to Muscle Damage. *J Physiol* **1997**, *499 (Pt 3)*, 833–841, doi:10.1113/jphysiol. 1997.sp021972.
96. Ullum, H.; Haahr, P.M.; Diamant, M.; Palmø, J.; Halkjaer-Kristensen, J.; Pedersen, B.K. Bicycle Exercise Enhances Plasma IL-6 but Does Not Change IL-1 Alpha, IL-1 Beta, IL-6, or TNF-Alpha Pre-mRNA in BMNC. *J Appl Physiol (1985)* **1994**, *77*, 93–97, doi:10.1152/jappl.1994.77.1.93.
97. Natelson, B.H.; Zhou, X.; Ottenweller, J.E.; Bergen, M.T.; Sisto, S.A.; Drastal, S.; Tapp, W.N.; Gause, W.L. Effect of Acute Exhausting Exercise on Cytokine Gene Expression in Men. *Int J Sports Med* **1996**, *17*, 299–302, doi:10.1055/s-2007-972850.
98. Cannon, J.G.; Fielding, R.A.; Fiatarone, M.A.; Orencole, S.F.; Dinarello, C.A.; Evans, W.J. Increased Interleukin 1 Beta in Human Skeletal Muscle after Exercise. *I am J Physiol* **1989**, *257*, R451-455, doi:10.1152/ajpregu.1989.257.2. R451.
99. Oda, K.; Miyatake, N.; Sakano, N.; Saito, T.; Miyachi, M.; Tabata, I.; Numata, T. Serum Interleukin-18 Levels Are Associated with Physical Activity in Japanese Men. *PLoS One* **2013**, *8*, e81497, doi: 10.1371/journal.pone.0081497.
100. Charan, H.V.; Dwivedi, D.K.; Khan, S.; Jena, G. Mechanisms of NLRP3 Inflammasome-Mediated Hepatic Stellate Cell Activation: Therapeutic Potential for Liver Fibrosis. *Genes & Diseases* **2023**, *10*, 480–494, doi: 10.1016/j.gendis.2021.12.006.
101. Ihim, S.A.; Abubakar, S.D.; Zian, Z.; Sasaki, T.; Saffarioun, M.; Maleknia, S.; Azizi, G. Interleukin-18 Cytokine in Immunity, Inflammation, and Autoimmunity: Biological Role in Induction, Regulation, and Treatment. *Front Immunol* **2022**, *13*, 919973, doi:10.3389/fimmu.2022.919973.
102. Kaplanski, G. Interleukin-18: Biological Properties and Role in Disease Pathogenesis. *Immunol Rev* **2018**, *281*, 138–153, doi:10.1111/imr.12616.

103. Adachi, O.; Kawai, T.; Takeda, K.; Matsumoto, M.; Tsutsui, H.; Sakagami, M.; Nakanishi, K.; Akira, S. Targeted Disruption of the MyD88 Gene Results in Loss of IL-1- and IL-18-Mediated Function. *Immunity* **1998**, *9*, 143–150, doi:10.1016/s1074-7613(00)80596-8.
104. Neumayr, G.; Ludwiczek, O.; Hoertnagl, H.; Pfister, R.; Mitterbauer, G.; Moschen, A.; Novick, D.; Rubinstein, M.; Tilg, H. The Impact of Prolonged Strenuous Endurance Exercise on Interleukin 18 and Interleukin 18 Binding Protein in Recreational Cyclists. *Int J Sports Med* **2005**, 836–840, doi:10.1055/s-2005-837466.
105. Muñoz-Cánoves, P.; Scheele, C.; Pedersen, B.K.; Serrano, A.L. Interleukin-6 Myokine Signaling in Skeletal Muscle: A Double-edged Sword? *FEBS J* **2013**, *280*, 4131–4148, doi:10.1111/febs.12338.
106. Nash, D.; Hughes, M.G.; Butcher, L.; Aicheler, R.; Smith, P.; Cullen, T.; Webb, R. IL-6 Signaling in Acute Exercise and Chronic Training: Potential Consequences for Health and Athletic Performance. *Scand J Med Sci Sports* **2023**, *33*, 4–19, doi:10.1111/sms.14241.
107. Tanaka, T.; Narazaki, M.; Kishimoto, T. IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2014**, *6*, a016295, doi:10.1101/cshperspect. a016295.
108. Li, B.; Jones, L.L.; Geiger, T.L. IL-6 Promotes T Cell Proliferation and Expansion under Inflammatory Conditions in Association with Low-Level RORγt Expression. *J Immunol* **2018**, *201*, 2934–2946, doi:10.4049/jimmunol.1800016.
109. Lehrskov, L.L.; Christensen, R.H. The Role of Interleukin-6 in Glucose Homeostasis and Lipid Metabolism. *Semin Immunopathol* **2019**, *41*, 491–499, doi:10.1007/s00281-019-00747-2.
110. Ostrowski, K.; Rohde, T.; Zacho, M.; Asp, S.; Pedersen, B.K. Evidence That Interleukin-6 Is Produced in Human Skeletal Muscle during Prolonged Running. *The Journal of Physiology* **1998**, *508*, 949–953, doi:10.1111/j.1469-7793.1998.949bp.x.
111. Fensham, N.C.; McKay, A.K.A.; Tee, N.; Lundy, B.; Anderson, B.; Morabito, A.; Ross, M.L.R.; Burke, L.M. Sequential Submaximal Training in Elite Male Rowers Does Not Result in Amplified Increases in Interleukin-6 or Hepcidin. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* **2022**, *32*, 177–185, doi:10.1123/ijsnem.2021-0263.
112. Halson, S.L.; Lancaster, G.I.; Jeukendrup, A.E.; Gleeson, M. Immunological Responses to Overreaching in Cyclists. *Med Sci Sports Exerc* **2003**, *35*, 854–861, doi: 10.1249/01.MSS.0000064964. 80040.E9.
113. Xiao, W.; Chen, P.; Dong, J. Effects of Overtraining on Skeletal Muscle Growth and Gene Expression. *Int J Sports Med* **2012**, *33*, 846–853, doi:10.1055/s-0032-1311585.
114. Pereira, B.C.; Pauli, J.R.; de Souza, C.T.; Ropelle, E.R.; Cintra, D.E.; Rocha, E.M.; Freitas, E.C.; Papoti, M.; da Silva, L.; Lira, F.S.; et al. Nonfunctional Overreaching Leads to Inflammation and Myostatin Upregulation in Swiss Mice. *Int J Sports Med* **2014**, *35*, 139–146, doi:10.1055/s-0033-1349077.
115. da Rocha, A.L.; Pereira, B.C.; Teixeira, G.R.; Pinto, A.P.; Frantz, F.G.; Elias, L.L.K.; Lira, F.S.; Pauli, J.R.; Cintra, D.E.; Ropelle, E.R.; et al. Treadmill Slope Modulates Inflammation, Fiber Type Composition, Androgen, and Glucocorticoid Receptors in the Skeletal Muscle of Overtrained Mice. *Frontiers in Immunology* **2017**, *8*.
116. Deshmane, S.L.; Kremlev, S.; Amini, S.; Sawaya, B.E. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An Overview. *J Interferon Cytokine Res* **2009**, *29*, 313–326, doi:10.1089/jir.2008.0027.

117. Gschwandtner, M.; Derler, R.; Midwood, K.S. More Than Just Attractive: How CCL2 Influences Myeloid Cell Behavior Beyond Chemotaxis. *Front Immunol* **2019**, *10*, 2759, doi:10.3389/fimmu.2019.02759.
118. Lin, Z.; Shi, J.-L.; Chen, M.; Zheng, Z.-M.; Li, M.-Q.; Shao, J. CCL2: An Important Cytokine in Normal and Pathological Pregnancies: A Review. *Front. Immunol.* **2023**, *13*, doi:10.3389/fimmu.2022.1053457.
119. Maciejewska-Skrendo, A.; Tarnowski, M.; Kopytko, P.; Kochanowicz, A.; Mieszkowski, J.; Stankiewicz, B.; Sawczuk, M. CCL2 Gene Expression and Protein Level Changes Observed in Response to Wingate Anaerobic Test in High-Trained Athletes and Non-Trained Controls. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **2022**, *19*, 9947, doi:10.3390/ijerph19169947.
120. Peake, J.M.; Suzuki, K.; Hordern, M.; Wilson, G.; Nosaka, K.; Coombes, J.S. Plasma Cytokine Changes in Relation to Exercise Intensity and Muscle Damage. *Eur J Appl Physiol* **2005**, *95*, 514–521, doi:10.1007/s00421-005-0035-2.
121. Gilman-Sachs, A.; DuChateau, B. Clinical Relevance of Chemokines. *Clinical Immunology Newsletter* **1997**, *17*, 93–98, doi:10.1016/S0197-1859(97)80318-4.
122. Nielsen, A.R.; Pedersen, B.K. The Biological Roles of Exercise-Induced Cytokines: IL-6, IL-8, and IL-15. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2007**, *32*, 833–839, doi:10.1139/H07-054.
123. Nieman, D.C.; Davis, J.M.; Henson, D.A.; Gross, S.J.; Dumke, C.L.; Utter, A.C.; Vinci, D.M.; Carson, J.A.; Brown, A.; Mcanulty, S.R.; et al. Muscle Cytokine mRNA Changes after 2.5 h of Cycling: Influence of Carbohydrate. *Medicine & Science in Sports & Exercise* **2005**, *37*, 1283, doi: 10.1249/01.mss.0000175054.99588.b1.
124. Arend, W.P.; Gabay, C. Physiologic Role of Interleukin-1 Receptor Antagonist. *Arthritis Res* **2000**, *2*, 245–248, doi:10.1186/ar94.
125. Ronsen, O.; Lea, T.; Bahr, R.; Pedersen, B.K. Enhanced Plasma IL-6 and IL-1ra Responses to Repeated vs. Single Bouts of Prolonged Cycling in Elite Athletes. *Journal of Applied Physiology* **2002**, *92*, 2547–2553, doi:10.1152/japplphysiol.01263.2001.
126. Verma, R.; Balakrishnan, L.; Sharma, K.; Khan, A.A.; Advani, J.; Gowda, H.; Tripathy, S.P.; Suar, M.; Pandey, A.; Gandotra, S.; et al. A Network Map of Interleukin-10 Signaling Pathway. *J Cell Commun Signal* **2016**, *10*, 61–67, doi:10.1007/s12079-015-0302-x.
127. Koppelman, B.; Neefjes, J.J.; de Vries, J.E.; de Waal Malefyt, R. Interleukin-10 down-Regulates MHC Class II Alphabeta Peptide Complexes at the Plasma Membrane of Monocytes by Affecting Arrival and Recycling. *Immunity* **1997**, *7*, 861–871, doi:10.1016/s1074-7613(00)80404-5.
128. Shaw, D.M.; Merien, F.; Braakhuis, A.; Dulson, D. T-Cells and Their Cytokine Production: The Anti-Inflammatory and Immunosuppressive Effects of Strenuous Exercise. *Cytokine* **2018**, *104*, 136–142, doi: 10.1016/j.cyto.2017.10.001.
129. Cabral-Santos, C.; de Lima Junior, E.A.; Fernandes, I.M. da C.; Pinto, R.Z.; Rosa-Neto, J.C.; Bishop, N.C.; Lira, F.S. Interleukin-10 Responses from Acute Exercise in Healthy Subjects: A Systematic Review. *Journal of Cellular Physiology* **2019**, *234*, 9956–9965, doi:10.1002/jcp.27920.
130. Steensberg, A.; Fischer, C.P.; Keller, C.; Møller, K.; Pedersen, B.K. IL-6 Enhances Plasma IL-1ra, IL-10, and Cortisol in Humans. *I am J Physiol Endocrinol Metab* **2003**, *285*, E433-437, doi:10.1152/ajpendo.00074.2003.
131. Kline, J.; Kitagaki, K. Interferons. In *Encyclopedia of Respiratory Medicine*; Academic Press: Oxford, UK, 2006; pp. 346–350 ISBN 978-0-12-370879-3.

132. Parkin, J.; Cohen, B. An Overview of the Immune System. *The Lancet* **2001**, *357*, 1777–1789, doi:10.1016/S0140-6736(00)04904-7.
133. Weerd, N.A. de; Samarajiwa, S.A.; Hertzog, P.J. Type I Interferon Receptors: Biochemistry and Biological Functions *. *Journal of Biological Chemistry* **2007**, *282*, 20053–20057, doi:10.1074/jbc. R700006200.
134. Liu, Y.-J. IPC: Professional Type 1 Interferon-Producing Cells and Plasmacytoid Dendritic Cell Precursors. *Annual Review of Immunology* **2005**, *23*, 275–306, doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115633.
135. Hermant, P.; Michiels, T. Interferon-λ in the Context of Viral Infections: Production, Response and Therapeutic Implications. *JIN* **2014**, *6*, 563–574, doi:10.1159/000360084.
136. Baba, A.B.; Rah, B.; Bhat, Gh.R.; Mushtaq, I.; Parveen, S.; Hassan, R.; Hameed Zargar, M.; Afroze, D. Transforming Growth Factor-Beta (TGF-β) Signaling in Cancer-A Betrayal Within. *Front Pharmacol* **2022**, *13*, 791272, doi:10.3389/fphar.2022.791272.
137. Toft, A.D.; Jensen, L.B.; Bruunsgaard, H.; Ibfelt, T.; Halkjær-Kristensen, J.; Febbraio, M.; Pedersen, B.K. Cytokine Response to Eccentric Exercise in Young and Elderly Humans. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* **2002**, *283*, C289–C295, doi:10.1152/ajpcell.00583.2001.
138. Eka Widiastuti, I.A.; Arsyad, A.; Idris, I.; Patellongi, I.; Kadriyan, H.; Buanayuda, G.W.; Sari, D.P.; Rosyidi, R.M. Exercise Adaptations and TGF-B1 Levels in Recreational Cyclists. *Ann Med Surg (Lond)* **2021**, *70*, 102872, doi: 10.1016/j.amsu.2021.102872.
139. Alexander, L.C.; Han, A.J.; Huebner, J.L.; Kraus, V.B. Transforming Growth Factor Beta Variation with Physical Activity in Knee Osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* **2020**, *28*, S332, doi: 10.1016/j.joca.2020.02.513.
140. Czarkowska-Paczek, B.; Zendzian-Piotrowska, M.; Bartlomiejczyk, I.; Przybylski, J.; Gorski, J. The Influence of Physical Exercise on the Generation of TGF-B1, PDGF-AA, and VEGF-A in Adipose Tissue. *Eur J Appl Physiol* **2011**, *111*, 875–881, doi:10.1007/s00421-010-1693-2.
141. Szopa, J.; Mleczko, E.; Żak, S. *Podstawy antropomotoryki*; Wyd. 2.; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2000; ISBN 978-83-01-11946-1.
142. Podlogar, T.; Leo, P.; Spragg, J. Using V̇o2max as a Marker of Training Status in Athletes—Can We Do Better? *J Appl Physiol (1985)* **2022**, *133*, 144–147, doi:10.1152/japplphysiol.00723.2021.
143. Ozkaya, O.; Balci, G.A.; As, H.; Yildiztepe, E. A New Technique to Analyse Threshold-Intensities Based on Time Dependent Change-Points in the Ratio of Minute Ventilation and End-Tidal Partial Pressure of Carbon-Dioxide Production. *Respiratory Physiology & Neurobiology* **2021**, *294*, 103735, doi: 10.1016/j.resp.2021.103735.
144. Faude, O.; Kindermann, W.; Meyer, T. Lactate Threshold Concepts. *Sports Med* **2009**, *39*, 469–490, doi:10.2165/00007256-200939060-00003.
145. Jones, A.M.; Wilkerson, D.P.; DiMenna, F.; Fulford, J.; Poole, D.C. Muscle Metabolic Responses to Exercise above and below the "Critical Power" Assessed Using 31P-MRS. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **2008**, *294*, R585–R593, doi:10.1152/ajpregu.00731.2007.
146. Picoli, C. de C.; Romero, P.V. da S.; Gilio, G.R.; Guariglia, D.A.; Tófolo, L.P.; de Moraes, S.M.F.; Machado, F.A.; Peres, S.B. Peak Velocity as an Alternative Method for Training Prescription in Mice. *Front. Physiol.* **2018**, *9*, doi:10.3389/fphys.2018.00042.

147. Burnley, M.; Jones, A.M. Oxygen Uptake Kinetics as a Determinant of Sports Performance. *European Journal of Sport Science* **2007**, *7*, 63–79, doi:10.1080/17461390701456148.
148. Ozkaya, O.; Balci, G.A.; As, H.; Yildiztepe, E. A New Technique to Analyse Threshold-Intensities Based on Time Dependent Change-Points in the Ratio of Minute Ventilation and End-Tidal Partial Pressure of Carbon-Dioxide Production. *Respiratory Physiology & Neurobiology* **2021**, *294*, 103735, doi: 10.1016/j.resp.2021.103735.
149. Smarż, K.; Jaxa-Chamiec, T.; Chwyczko, T.; Główczyńska, R.; Jegier, A.; Niedoszytko, P.; Piotrowicz, E.; Rybicki, J.; Straburzyńska-Migaj, E.; Szalewska, D.; et al. Sercowo-płucne testy wysiłkowe w kardiologii dorosłych. *Polish Heart Journal (Kardiologia Polska)* **2019**, *77*, 23–37, doi:10.33963/v.kp.83182.
150. Tartaruga, M.P.; Brisswalter, J.; Peyré-Tartaruga, L.A.; Avila, A.O.V.; Alberton, C.L.; Coertjens, M.; Cadore, E.L.; Tiggemann, C.L.; Silva, E.M.; Kruel, L.F.M. The Relationship between Running Economy and Biomechanical Variables in Distance Runners. *Res Q Exerc Sport* **2012**, *83*, 367–375, doi:10.1080/02701367.2012.10599870.
151. Ziliaskoudis, C.; Park, S.-Y.; Lee, S.-H. Running Economy - a Comprehensive Review for Passive Force Generation. *J Exerc Rehabil* **2019**, *15*, 640–646, doi:10.12965/jer.1938406.203.
152. Fletcher, J.R.; Esau, S.P.; MacIntosh, B.R. Changes in Tendon Stiffness and Running Economy in Highly Trained Distance Runners. *Eur J Appl Physiol* **2010**, *110*, 1037–1046, doi:10.1007/s00421-010-1582-8.
153. Saunders, P.U.; Pyne, D.B.; Telford, R.D.; Hawley, J.A. Factors Affecting Running Economy in Trained Distance Runners. *Sports Med* **2004**, *34*, 465–485, doi:10.2165/00007256-200434070-00005.
154. Barnes, K.R.; Kilding, A.E. Running Economy: Measurement, Norms, and Determining Factors. *Sports Medicine - Open* **2015**, *1*, 8, doi:10.1186/s40798-015-0007-y.
155. Blagrove, R.C.; Howatson, G.; Hayes, P.R. Effects of Strength Training on the Physiological Determinants of Middle- and Long-Distance Running Performance: A Systematic Review. *Sports Med* **2018**, *48*, 1117–1149, doi:10.1007/s40279-017-0835-7.
156. Faria, E.W.; Parker, D.L.; Faria, I.E. The Science of Cycling: Physiology and Training - Part 1. *Sports Med* **2005**, *35*, 285–312, doi:10.2165/00007256-200535040-00002.
157. Ettema, G.; Lorås, H.W. Efficiency in Cycling: A Review. *Eur J Appl Physiol* **2009**, *106*, 1–14, doi:10.1007/s00421-009-1008-7.
158. Lucía, A.; Pardo, J.; Durántez, A.; Hoyos, J.; Chicharro, J.L. Physiological Differences between Professional and Elite Road Cyclists. *Int J Sports Med* **1998**, *19*, 342–348, doi:10.1055/s-2007-971928.
159. Coyle, E.F. Integration of the Physiological Factors Determining Endurance Performance Ability. *Exerc Sport Sci Rev* **1995**, *23*, 25–63.
160. Raczak, G.; Daniłowicz-Szymanowicz, L.; Kobuszewska-Chwirot, M.; Ratkowski, W.; Figura-Chmielewska, M.; Kubica, J.; Toruński, M.S. i A.B. Ocena Długotrwałego Wpływu Sportu Wyczynowego Na Czynność Autonomicznego Układu Nerwowego. *Folia Cardiologica* **2005**, *12*, 504–509.
161. Lach, J.; Śliż, D.; Wiecha, S.; Price, S.; Brzozowski, A.; Mamcarz, A. Jak prawidłowo wyliczyć tętno maksymalne? *Folia Cardiologica* **2022**, *17*, 293–296.

162. Dupuy, A.; Birat, A.; Maurelli, O.; Garnier, Y.M.; Blazevich, A.J.; Rance, M.; Ratel, S. Post-Exercise Heart Rate Recovery and Parasympathetic Reactivation Are Comparable between Prepubertal Boys and Well-Trained Adult Male Endurance Athletes. *Eur J Appl Physiol* **2022**, *122*, 345–355, doi:10.1007/s00421-021-04823-0.
163. Damoun, N.; Amekran, Y.; Taiek, N.; Hangouche, A.J.E. Heart Rate Variability Measurement and Influencing Factors: Towards the Standardization of Methodology. *Glob Cardiol Sci Pract 2024*, e202435, doi:10.21542/gcsp.2024.35.
164. It4u Wytyczne ESC 2024 dotyczące postępowania w podwyższonym ciśnieniu tętniczym i nadciśnieniu tętniczym Available online: https://ptkardio.pl/wytyczne/1-wytyczne_esc_2024_dotyczace_postepowania_w_podwyzszonym_cisnieniu_tetniczym_i_nadcisnieniu_tetniczym (accessed on 3 September 2025).
165. Gokhale, R.; Chandrashekara, S.; Vasanthakumar, K.C. Cytokine Response to Strenuous Exercise in Athletes and Non-Athletes—an Adaptive Response. *Cytokine* **2007**, *40*, 123–127, doi: 10.1016/j.cyto.2007.08.006.
166. Kapilevich, L.V.; Zakharova, A.N.; Kabachkova, A.V.; Kironenko, T.A.; Orlov, S.N. Dynamic and Static Exercises Differentially Affect Plasma Cytokine Content in Elite Endurance- and Strength-Trained Athletes and Untrained Volunteers. *Front Physiol* **2017**, *8*, 35, doi:10.3389/fphys.2017.00035.
167. Nieman, D.C.; Nehlsen-Cannarella, S.L.; Fagoaga, O.R.; Henson, D.A.; Shannon, M.; Hjertman, J.M.E.; Schmitt, R.L.; Bolton, M.R.; Austin, M.D.; Schilling, B.K.; et al. Immune Function in Female Elite Rowers and Non-Athletes. *British Journal of Sports Medicine* **2000**, *34*, 181–187, doi:10.1136/bjsm.34.3.181.
168. Monastero, R.N.; Pentyala, S. Cytokines as Biomarkers and Their Respective Clinical Cutoff Levels. *Int J Inflam* **2017**, *2017*, 4309485, doi:10.1155/2017/4309485.
169. Smith, L.L. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? *Medicine & Science in Sports & Exercise* **2000**, *32*, 317.
170. Pretolani, M. Interleukin-10: An Anti-Inflammatory Cytokine with Therapeutic Potential. *Clinical & Experimental Allergy* **1999**, *29*, 1164–1171, doi:10.1046/j.1365-2222.1999.00456. x.
171. Kim, J.; Lee, J. Plasma MMP-9, TIMP-1, and TGF-B1 Responses to Exercise-Induced Muscle Injury. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **2020**, *17*, 566, doi:10.3390/ijerph17020566.
172. Ligthart, G.J.; Corberand, J.X.; Fournier, C.; Galanaud, P.; Hijmans, W.; Kennes, B.; Müller-Hermelink, H.K.; Steinmann, G.G. Admission Criteria for Immunogerontological Studies in Man: The Senieur Protocol. *Mechanisms of Ageing and Development* **1984**, *28*, 47–55, doi:10.1016/0047-6374(84)90152-0.
173. Rall, L.C.; Roubenoff, R.; Cannon, J.G.; Abad, L.W.; Dinarello, C.A.; Meydani, S.N. Effects of Progressive Resistance Training on Immune Response in Aging and Chronic Inflammation. *Med Sci Sports Exerc* **1996**, *28*, 1356–1365, doi:10.1097/00005768-199611000-00003.
174. Sohail, M.U.; Al-Mansoori, L.; Al-Jaber, H.; Georgakopoulos, C.; Donati, F.; Botrè, F.; Sellami, M.; Elrayess, M.A. Assessment of Serum Cytokines and Oxidative Stress Markers in Elite Athletes Reveals Unique Profiles Associated With Different Sport Disciplines. *Front Physiol* **2020**, *11*, 600888, doi:10.3389/fphys.2020.600888.
175. Liu, C.; Chu, D.; Kalantar-Zadeh, K.; George, J.; Young, H.A.; Liu, G. Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. *Adv Sci (Weinh)* **2021**, *8*, 2004433, doi:10.1002/advs.202004433.

176. Zhou, X.; Fragala, M.S.; McElhaney, J.E.; Kuchel, G.A. Conceptual and Methodological Issues Relevant to Cytokine and Inflammatory Marker Measurements in Clinical Research. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **2010**, *13*, 541–547, doi:10.1097/MCO.0b013e32833cf3bc.
177. Zou, Y.; Wang, D.; Sun, W.; Wu, Q.; Liu, S.; Ren, Z.; Li, Y.; Zhao, T.; Li, Z.; Li, X.; et al. Fibroblast Growth Factor 21 Mitigates Lupus Nephritis Progression via the FGF21/Irgm 1/NLRP3 Inflammasome Pathway. *International Immunopharmacology* **2024**, *131*, 111875, doi: 10.1016/j.intimp.2024.111875.
178. Conte, M.; Giuliani, C.; Chiariello, A.; Iannuzzi, V.; Franceschi, C.; Salvioli, S. GDF15, an Emerging Key Player in Human Aging. *Ageing Research Reviews* **2022**, *75*, 101569, doi: 10.1016/j.arr.2022.101569.
179. Reyes, J.; Yap, G.S. Emerging Roles of GDF-15 in Immunoregulation and Pathogenesis. *J Immunol* **2023**, *210*, 5–11, doi:10.4049/jimmunol.2200641.
180. Díaz-Delfín, J.; Hondares, E.; Iglesias, R.; Giralt, M.; Caelles, C.; Villarroya, F. TNF-α Represses β-Klotho Expression and Impairs FGF21 Action in Adipose Cells: Involvement of JNK1 in the FGF21 Pathway. *Endocrinology* **2012**, *153*, 4238–4245, doi:10.1210/en.2012-1193.
181. Jiménez-Maldonado, A.; Montero, S.; Lemus, M.; Cerna-Cortés, J.; Rodríguez-Hernández, A.; Mendoza, M.A.; Melnikov, V.; Gamboa-Domínguez, A.; Muñiz, J.; Virgen-Ortiz, A.; et al. Moderate and High Intensity Chronic Exercise Reduces Plasma Tumor Necrosis Factor Alpha and Increases the Langerhans Islet Area in Healthy Rats. *J Musculoskelet Neuronal Interact* **2019**, *19*, 354–361.
182. Sethi, J.K.; Hotamisligil, G.S. Metabolic Messengers: Tumour Necrosis Factor. *Nat Metab* **2021**, *3*, 1302–1312, doi:10.1038/s42255-021-00470-z.
183. Marchetti, L.; Klein, M.; Schlett, K.; Pfizenmaier, K.; Eisel, U.L.M. Tumor Necrosis Factor (TNF)-Mediated Neuroprotection against Glutamate-Induced Excitotoxicity Is Enhanced by N-Methyl-D-Aspartate Receptor Activation. Essential Role of a TNF Receptor 2-Mediated Phosphatidylinositol 3-Kinase-Dependent NF-Kappa B Pathway. *J Biol Chem* **2004**, *279*, 32869–32881, doi:10.1074/jbc.M311766200.
184. McCoy, M.K.; Tansey, M.G. TNF Signaling Inhibition in the CNS: Implications for Normal Brain Function and Neurodegenerative Disease. *J Neuroinflammation* **2008**, *5*, 45, doi:10.1186/1742-2094-5-45.
185. Heir, R.; Stellwagen, D. TNF-Mediated Homeostatic Synaptic Plasticity: FFromVitro to in Vivo Models. *Frontiers in Cellular Neuroscience* **2020**, *14*.
186. Gough, P.; Myles, I.A. Tumor Necrosis Factor Receptors: Pleiotropic Signaling Complexes and Their Differential Effects. *Frontiers in Immunology* **2020**, *11*.
187. Cerqueira, É.; Marinho, D.A.; Neiva, H.P.; Lourenço, O. Inflammatory Effects of High and Moderate Intensity Exercise—A Systematic Review. *Frontiers in Physiology* **2020**, *10*.
188. Ostrowski, K.; Rohde, T.; Asp, S.; Schjerling, P.; Pedersen, B.K. Pro- and Anti-Inflammatory Cytokine Balance in Strenuous Exercise in Humans. *The Journal of Physiology* **1999**, *515*, 287–291, doi:10.1111/j.1469-7793.1999.287ad.x.
189. Petersen, A.M.W.; Pedersen, B.K. The Anti-Inflammatory Effect of Exercise. *Journal of Applied Physiology* **2005**, *98*, 1154–1162, doi:10.1152/japplphysiol.00164.2004.
190. Macêdo Santiago, L.Â.; Neto, L.G.L.; Borges Pereira, G.; Leite, R.D.; Mostarda, C.T.; de Oliveira Brito Monzani, J.; Sousa, W.R.; Rodrigues Pinheiro, A.J.M.; Navarro, F. Effects of Resistance Training on Immunoinflammatory Response, TNF-Alpha Gene Expression, and Body Composition in Elderly Women. *J Aging Res* **2018**, *2018*, 1467025, doi:10.1155/2018/1467025.

191. Hamada, K.; Vannier, E.; Sacheck, J.M.; Witsell, A.L.; Roubenoff, R. Senescence of Human Skeletal Muscle Impairs the Local Inflammatory Cytokine Response to Acute Eccentric Exercise. *FASEB J* **2005**, *19*, 264–266, doi: 10.1096/fj.03-1286fje.
192. Díaz-Delfín, J.; Hondares, E.; Iglesias, R.; Giralt, M.; Caelles, C.; Villarroya, F. TNF-α Represses β-Klotho Expression and Impairs FGF21 Action in Adipose Cells: Involvement of JNK1 in the FGF21 Pathway. *Endocrinology* **2012**, *153*, 4238–4245, doi:10.1210/en.2012-1193.
193. Chen, Z.; Yang, L.; Liu, Y.; Huang, P.; Song, H.; Zheng, P. The Potential Function and Clinical Application of FGF21 in Metabolic Diseases. *Front Pharmacol* **2022**, *13*, 1089214, doi:10.3389/fphar.2022.1089214.
194. Pan, Y.; Hui, X.; Hoo, R.L.C.; Ye, D.; Chan, C.Y.C.; Feng, T.; Wang, Y.; Lam, K.S.L.; Xu, A. Adipocyte-Secreted Exosomal microRNA-34a Inhibits M2 Macrophage Polarization to Promote Obesity-Induced Adipose Inflammation. *J Clin Invest* **2019**, *129*, 834–849, doi:10.1172/JCI123069.
195. Ratnam, N.M.; Peterson, J.M.; Talbert, E.E.; Ladner, K.J.; Rajasekera, P.V.; Schmidt, C.R.; Dillhoff, M.E.; Swanson, B.J.; Haverick, E.; Kladney, R.D.; et al. NF-κB Regulates GDF-15 to Suppress Macrophage Surveillance during Early Tumor Development. *J Clin Invest 127*, 3796–3809, doi:10.1172/JCI91561.
196. Bullens, D.M.A.; Rafiq, K.; Kasran, A.; Van Gool, S.W.; Ceuppens, J.L. Naive Human T Cells Can Be a Source of IL-4 during Primary Immune Responses. *Clin Exp Immunol* **1999**, *118*, 384–391, doi:10.1046/j.1365-2249.1999.01072. x.
197. Santos, V.C.; Levada-Pires, A.C.; Alves, S.R.; Pithon-Curi, T.C.; Curi, R.; Cury-Boaventura, M.F. Effects of DHA-Rich Fish Oil Supplementation on Lymphocyte Function before and after a Marathon Race. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* **2013**, *23*, 161–169, doi:10.1123/ijsnem.23.2.161.
198. Junior, L.A.L.; Santo, J. de M.B. dos; Bachi, A.L.L.; Foster, R.; Amaro, A.S.; Oliveira, A.P.L. de; Sierra, A.P.R.; Kiss, M.A.P.D.M.; Vaisberg, M.W. Relationship between Cytokines and Running Economy in Marathon Runners. *Open Life Sciences* **2016**, *11*, 308–312, doi:10.1515/biol-2016-0041.
199. Clifford, T.; Allerton, D.M.; Brown, M.A.; Harper, L.; Horsburgh, S.; Keane, K.M.; Stevenson, E.J.; Howatson, G. Minimal Muscle Damage after a Marathon and No Influence of Beetroot Juice on Inflammation and Recovery. *Appl Physiol Nutr Metab* **2017**, *42*, 263–270, doi:10.1139/apnm-2016-0525.
200. Batatinha, H.; Tavares-Silva, E.; Leite, G.S.F.; Resende, A.S.; Albuquerque, J.A.T.; Arslanian, C.; Fock, R.A.; Lancha, A.H.; Lira, F.S.; Krüger, K.; et al. Probiotic Supplementation in Marathonists and Its Impact on Lymphocyte Population and Function after a Marathon: A Randomized Placebo-Controlled Double-Blind Study. *Sci Rep* **2020**, *10*, 18777, doi:10.1038/s41598-020-75464-0.
201. Skinner, S.; Nader, E.; Stauffer, E.; Robert, M.; Boisson, C.; Cibiel, A.; Foschia, C.; Feasson, L.; Robach, P.; Millet, G.Y.; et al. Differential Impacts of Trail and Ultra-Trail Running on Cytokine Profiles: An Observational Study. *Clin Hemorheol Microcirc* **2021**, *78*, 301–310, doi:10.3233/CH-211121.
202. Kang, S.-G.; Lee, S.-E.; Choi, M.-J.; Chang, J.-Y.; Kim, J.-T.; Zhang, B.-Y.; Kang, Y.-E.; Lee, J.-H.; Yi, H.-S.; Shong, M. Th2 Cytokines Increase the Expression of Fibroblast Growth Factor 21 in the Liver. *Cells* **2021**, *10*, 1298, doi:10.3390/cells10061298.
203. Ricardo-Gonzalez, R.R.; Red Eagle, A.; Odegaard, J.I.; Jouihan, H.; Morel, C.R.; Heredia, J.E.; Mukundan, L.; Wu, D.; Locksley, R.M.; Chawla, A. IL-4/STAT6 Immune Axis Regulates Peripheral Nutrient Metabolism and Insulin Sensitivity.

Proceedings of the National Academy of Sciences **2010**, *107*, 22617–22622, doi:10.1073/pnas.1009152108.
204. Nishimura, T.; Nakatake, Y.; Konishi, M.; Itoh, N. Identification of a Novel FGF, FGF-21, Preferentially Expressed in the Liver. *Biochim Biophys Acta* **2000**, *1492*, 203–206, doi:10.1016/s0167-4781(00)00067-1.
205. Fon Tacer, K.; Bookout, A.L.; Ding, X.; Kurosu, H.; John, G.B.; Wang, L.; Goetz, R.; Mohammadi, M.; Kuro-o, M.; Mangelsdorf, D.J.; et al. Research Resource: Comprehensive Expression Atlas of the Fibroblast Growth Factor System in Adult Mouse. *Mol Endocrinol* **2010**, *24*, 2050–2064, doi:10.1210/me.2010-0142.
206. Jimenez, V.; Jambrina, C.; Casana, E.; Sacristan, V.; Muñoz, S.; Darriba, S.; Rodó, J.; Mallol, C.; Garcia, M.; León, X.; et al. FGF21 Gene Therapy as Treatment for Obesity and Insulin Resistance. *EMBO Mol Med* **2018**, *10*, e8791, doi:10.15252/emmm.201708791.
207. Flippo, K.H.; Potthoff, M.J. Metabolic Messengers: FGF21. *Nat Metab* **2021**, *3*, 309–317, doi:10.1038/s42255-021-00354-2.
208. Ogawa, Y.; Kurosu, H.; Yamamoto, M.; Nandi, A.; Rosenblatt, K.P.; Goetz, R.; Eliseenkova, A.V.; Mohammadi, M.; Kuro-o, M. βKlotho Is Required for Metabolic Activity of Fibroblast Growth Factor 21. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2007**, *104*, 7432–7437, doi:10.1073/pnas.0701600104.
209. Wang, N.; Xu, T.-Y.; Zhang, X.; Li, J.-Y.; Wang, Y.-X.; Guo, X.-C.; Li, S.-M.; Wang, W.-F.; Li, D.-S. Improving Hyperglycemic Effect of FGF-21 Is Associated with Alleviating Inflammatory State in Diabetes. *Int Immunopharmacol* **2018**, *56*, 301–309, doi: 10.1016/j.intimp.2018.01.048.
210. Yu, Y.; He, J.; Li, S.; Song, L.; Guo, X.; Yao, W.; Zou, D.; Gao, X.; Liu, Y.; Bai, F.; et al. Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21) Inhibits Macrophage-Mediated Inflammation by Activating Nrf2 and Suppressing the NF-κB Signaling Pathway. *Int Immunopharmacol* **2016**, *38*, 144–152, doi: 10.1016/j.intimp.2016.05.026.
211. Lin, Z.; Tian, H.; Lam, K.S.L.; Lin, S.; Hoo, R.C.L.; Konishi, M.; Itoh, N.; Wang, Y.; Bornstein, S.R.; Xu, A.; et al. Adiponectin Mediates the Metabolic Effects of FGF21 on Glucose Homeostasis and Insulin Sensitivity in Mice. *Cell Metab* **2013**, *17*, 779–789, doi: 10.1016/j.cmet.2013.04.005.
212. Kim, K.H.; Lee, M.-S. FGF21 as a Stress Hormone: The Roles of FGF21 in Stress Adaptation and the Treatment of Metabolic Diseases. *Diabetes Metab J* **2014**, *38*, 245–251, doi:10.4093/dmj.2014.38.4.245.
213. Fisher, F.M.; Maratos-Flier, E. Understanding the Physiology of FGF21. *Annual Review of Physiology* **2016**, *78*, 223–241, doi:10.1146/annurev-physiol-021115-105339.
214. Blair, S.N.; Church, T.S. Fitness, Obesity, and Health Equation: Is Physical Activity the Common Denominator? *JAMA* **2004**, *292*, 1232–1234, doi:10.1001/jama.292.10.1232.
215. Campderrós, L.; Sánchez-Infantes, D.; Villarroya, J.; Nescolarde, L.; Bayès-Genis, A.; Cereijo, R.; Roca, E.; Villarroya, F. Altered GDF15 and FGF21 Levels in Response to Strenuous Exercise: A Study in Marathon Runners. *Front Physiol* **2020**, *11*, 550102, doi:10.3389/fphys.2020.550102.
216. Taniguchi, H.; Tanisawa, K.; Sun, X.; Kubo, T.; Higuchi, M. Endurance Exercise Reduces Hepatic Fat Content and Serum Fibroblast Growth Factor 21 Levels in Elderly Men. *J Clin Endocrinol Metab* **2016**, *101*, 191–198, doi:10.1210/jc.2015-3308.
217. Takahashi, A.; Abe, K.; Fujita, M.; Hayashi, M.; Okai, K.; Ohira, H. Simple Resistance Exercise Decreases Cytokeratin 18 and Fibroblast Growth Factor 21

Levels in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Retrospective Clinical Study. *Medicine (Baltimore)* **2020**, *99*, e20399, doi:10.1097/MD.0000000000020399.
218. Matsui, M.; Kosaki, K.; Tanahashi, K.; Akazawa, N.; Osuka, Y.; Tanaka, K.; Kuro-O, M.; Maeda, S. Relationship between Physical Activity and Circulating Fibroblast Growth Factor 21 in Middle-Aged and Older Adults. *Exp Gerontol* **2020**, *141*, 111081, doi: 10.1016/j.exger.2020.111081.
219. Yang, S.J.; Hong, H.C.; Choi, H.Y.; Yoo, H.J.; Cho, G.J.; Hwang, T.G.; Baik, S.H.; Choi, D.S.; Kim, S.M.; Choi, K.M. Effects of a Three-Month Combined Exercise Programme on Fibroblast Growth Factor 21 and Fetuin-A Levels and Arterial Stiffness in Obese Women. *Clin Endocrinol (Oxf)* **2011**, *75*, 464–469, doi:10.1111/j.1365-2265.2011.04078. x.
220. Cuevas-Ramos, D.; Almeda-Valdés, P.; Meza-Arana, C.E.; Brito-Córdova, G.; Gómez-Pérez, F.J.; Mehta, R.; Oseguera-Moguel, J.; Aguilar-Salinas, C.A. Exercise Increases Serum Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21) Levels. *PLoS One* **2012**, *7*, e38022, doi: 10.1371/journal.pone.0038022.
221. Besse-Patin, A.; Montastier, E.; Vinel, C.; Castan-Laurell, I.; Louche, K.; Dray, C.; Daviaud, D.; Mir, L.; Marques, M.-A.; Thalamas, C.; et al. Effect of Endurance Training on Skeletal Muscle Myokine Expression in Obese Men: Identification of Apelin as a Novel Myokine. *Int J Obes (Lond)* **2014**, *38*, 707–713, doi:10.1038/ijo.2013.158.
222. Yang, W.; Liu, L.; Wei, Y.; Fang, C.; Zhou, F.; Chen, J.; Han, Q.; Huang, M.; Tan, X.; Liu, Q.; et al. Exercise Ameliorates the FGF21–Adiponectin Axis Impairment in Diet-Induced Obese Mice. *Endocr Connect* **2019**, *8*, 596–604, doi:10.1530/EC-19-0034.
223. Geng, L.; Liao, B.; Jin, L.; Huang, Z.; Triggle, C.R.; Ding, H.; Zhang, J.; Huang, Y.; Lin, Z.; Xu, A. Exercise Alleviates Obesity-Induced Metabolic Dysfunction via Enhancing FGF21 Sensitivity in Adipose Tissues. *Cell Rep* **2019**, *26*, 2738-2752.e4, doi: 10.1016/j.celrep.2019.02.014.
224. Dushay, J.; Chui, P.C.; Gopalakrishnan, G.S.; Varela-Rey, M.; Crawley, M.; Fisher, F.M.; Badman, M.K.; Martinez-Chantar, M.L.; Maratos-Flier, E. Increased Fibroblast Growth Factor 21 in Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* **2010**, *139*, 456–463, doi: 10.1053/j.gastro.2010.04.054.
225. Adams, A.C.; Cheng, C.C.; Coskun, T.; Kharitonenkov, A. FGF21 Requires Bklotho to Act in Vivo. *PLoS One* **2012**, *7*, e49977, doi: 10.1371/journal.pone.0049977.
226. Cuevas-Ramos, D.; Almeda-Valdes, P.; Aguilar-Salinas, C.A.; Cuevas-Ramos, G.; Cuevas-Sosa, A.A.; Gomez-Perez, F.J. The Role of Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21) on Energy Balance, Glucose and Lipid Metabolism. *Curr Diabetes Rev* **2009**, *5*, 216–220, doi:10.2174/157339909789804396.
227. Bootcov, M.R.; Bauskin, A.R.; Valenzuela, S.M.; Moore, A.G.; Bansal, M.; He, X.Y.; Zhang, H.P.; Donnellan, M.; Mahler, S.; Pryor, K.; et al. MIC-1, a Novel Macrophage Inhibitory Cytokine, Is a Divergent Member of the TGF-β Superfamily. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1997**, *94*, 11514–11519, doi:10.1073/pnas.94.21.11514.
228. Chung, H.K.; Ryu, D.; Kim, K.S.; Chang, J.Y.; Kim, Y.K.; Yi, H.-S.; Kang, S.G.; Choi, M.J.; Lee, S.E.; Jung, S.-B.; et al. Growth Differentiation Factor 15 Is a Myomitokine Governing Systemic Energy Homeostasis. *J Cell Biol* **2017**, *216*, 149–165, doi:10.1083/jcb.201607110.

229. Keipert, S.; Ost, M. Stress-Induced FGF21 and GDF15 in Obesity and Obesity Resistance. *Trends Endocrinol Metab* **2021**, *32*, 904–915, doi: 10.1016/j.tem.2021.08.008.
230. Dostálová, I.; Roubícek, T.; Bártlová, M.; Mráz, M.; Lacinová, Z.; Haluzíková, D.; Kaválková, P.; Matoulek, M.; Kasalicky, M.; Haluzík, M. Increased Serum Concentrations of Macrophage Inhibitory Cytokine-1 in Patients with Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus: The Influence of Very Low Calorie Diet. *Eur J Endocrinol* **2009**, *161*, 397–404, doi:10.1530/EJE-09-0417.
231. Vila, G.; Riedl, M.; Anderwald, C.; Resl, M.; Handisurya, A.; Clodi, M.; Prager, G.; Ludvik, B.; Krebs, M.; Luger, A. The Relationship between Insulin Resistance and the Cardiovascular Biomarker Growth Differentiation Factor-15 in Obese Patients. *Clin Chem* **2011**, *57*, 309–316, doi:10.1373/clinchem.2010.153726.
232. Xiong, Y.; Walker, K.; Min, X.; Hale, C.; Tran, T.; Komorowski, R.; Yang, J.; Davda, J.; Nuanmanee, N.; Kemp, D.; et al. Long-Acting MIC-1/GDF15 Molecules to Treat Obesity: Evidence from Mice to Monkeys. *Sci Transl Med* **2017**, *9*, eaan8732, doi:10.1126/scitranslmed. aan8732.
233. Patel, S.; Alvarez-Guaita, A.; Melvin, A.; Rimmington, D.; Dattilo, A.; Miedzybrodzka, E.L.; Cimino, I.; Maurin, A.-C.; Roberts, G.P.; Meek, C.L.; et al. GDF15 Provides an Endocrine Signal of Nutritional Stress in Mice and Humans. *Cell Metab* **2019**, *29*, 707-718.e8, doi: 10.1016/j.cmet.2018.12.016.
234. Adolph, T.E.; Grabherr, F.; Mayr, L.; Grander, C.; Enrich, B.; Moschen, A.R.; Tilg, H. Weight Loss Induced by Bariatric Surgery Restricts Hepatic GDF15 Expression. *J Obes* **2018**, *2018*, 7108075, doi:10.1155/2018/7108075.
235. Tsai, V.W.-W.; Macia, L.; Johnen, H.; Kuffner, T.; Manadhar, R.; Jørgensen, S.B.; Lee-Ng, K.K.M.; Zhang, H.P.; Wu, L.; Marquis, C.P.; et al. TGF-b Superfamily Cytokine MIC-1/GDF15 Is a Physiological Appetite and Body Weight Regulator. *PLoS One* **2013**, *8*, e55174, doi: 10.1371/journal.pone.0055174.
236. Macia, L.; Tsai, V.W.-W.; Nguyen, A.D.; Johnen, H.; Kuffner, T.; Shi, Y.-C.; Lin, S.; Herzog, H.; Brown, D.A.; Breit, S.N.; et al. Macrophage Inhibitory Cytokine 1 (MIC-1/GDF15) Decreases Food Intake, Body Weight and Improves Glucose Tolerance in Mice on Normal & Obesogenic Diets. *PLoS One* **2012**, *7*, e34868, doi: 10.1371/journal.pone.0034868.
237. Wang, X.; Chrysovergis, K.; Kosak, J.; Eling, T.E. Lower NLRP3 Inflammasome Activity in NAG-1 Transgenic Mice Is Linked to a Resistance to Obesity and Increased Insulin Sensitivity. *Obesity (Silver Spring)* **2014**, *22*, 1256–1263, doi:10.1002/oby.20638.
238. Tsai, V.W.-W.; Zhang, H.P.; Manandhar, R.; Schofield, P.; Christ, D.; Lee-Ng, K.K.M.; Lebhar, H.; Marquis, C.P.; Husaini, Y.; Brown, D.A.; et al. GDF15 Mediates Adiposity Resistance through Actions on GFRAL Neurons in the Hindbrain AP/NTS. *Int J Obes (Lond)* **2019**, *43*, 2370–2380, doi:10.1038/s41366-019-0365-5.
239. Patel, M.S.; Lee, J.; Baz, M.; Wells, C.E.; Bloch, S.; Lewis, A.; Donaldson, A.V.; Garfield, B.E.; Hopkinson, N.S.; Natanek, A.; et al. Growth Differentiation Factor-15 Is Associated with Muscle Mass in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Promotes Muscle Wasting in Vivo. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* **2016**, *7*, 436–448, doi:10.1002/jcsm.12096.
240. Garfield, B.E.; Crosby, A.; Shao, D.; Yang, P.; Read, C.; Sawiak, S.; Moore, S.; Parfitt, L.; Harries, C.; Rice, M.; et al. Growth/Differentiation Factor 15 Causes TGFβ-Activated Kinase 1-Dependent Muscle Atrophy in Pulmonary Arterial Hypertension. *Thorax* **2019**, *74*, 164–176, doi:10.1136/thoraxjnl-2017-211440.

241. Semba, R.D.; Gonzalez-Freire, M.; Tanaka, T.; Biancotto, A.; Zhang, P.; Shardell, M.; Moaddel, R.; CHI Consortium; Ferrucci, L. Elevated Plasma Growth and Differentiation Factor 15 Is Associated With Slower Gait Speed and Lower Physical Performance in Healthy Community-Dwelling Adults. *The Journals of Gerontology: Series A* **2020**, *75*, 175–180, doi:10.1093/gerona/glz071.
242. Nakajima, T.; Shibasaki, I.; Sawaguchi, T.; Haruyama, A.; Kaneda, H.; Nakajima, T.; Hasegawa, T.; Arikawa, T.; Obi, S.; Sakuma, M.; et al. Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) Is a Biomarker of Muscle Wasting and Renal Dysfunction in Preoperative Cardiovascular Surgery Patients. *Journal of Clinical Medicine* **2019**, *8*, 1576, doi:10.3390/jcm8101576.
243. Ito, T.; Nakanishi, Y.; Yamaji, N.; Murakami, S.; Schaffer, S.W. Induction of Growth Differentiation Factor 15 in Skeletal Muscle of Old Taurine Transporter Knockout Mouse. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **2018**, *41*, 435–439, doi:10.1248/bpb. b17-00969.
244. Tang, H.; Inoki, K.; Brooks, S.V.; Okazawa, H.; Lee, M.; Wang, J.; Kim, M.; Kennedy, C.L.; Macpherson, P.C.D.; Ji, X.; et al. mTORC1 Underlies Age-Related Muscle Fiber Damage and Loss by Inducing Oxidative Stress and Catabolism. *Aging Cell* **2019**, *18*, e12943, doi:10.1111/acel.12943.
245. Gil, C.I.; Ost, M.; Kasch, J.; Schumann, S.; Heider, S.; Klaus, S. Role of GDF15 in Active Lifestyle Induced Metabolic Adaptations and Acute Exercise Response in Mice. *Sci Rep* **2019**, *9*, 20120, doi:10.1038/s41598-019-56922-w.
246. Kleinert, M.; Clemmensen, C.; Sjøberg, K.A.; Carl, C.S.; Jeppesen, J.F.; Wojtaszewski, J.F.P.; Kiens, B.; Richter, E.A. Exercise Increases Circulating GDF15 in Humans. *Mol Metab* **2018**, *9*, 187–191, doi: 10.1016/j.molmet.2017.12.016.
247. Klein, A.B.; Nicolaisen, T.S.; Ørtenblad, N.; Gejl, K.D.; Jensen, R.; Fritzen, A.M.; Larsen, E.L.; Karstoft, K.; Poulsen, H.E.; Morville, T.; et al. Pharmacological but Not Physiological GDF15 Suppresses Feeding and the Motivation to Exercise. *Nat Commun* **2021**, *12*, 1041, doi:10.1038/s41467-021-21309-x.
248. Fichtner, K.; Kalwa, H.; Lin, M.-M.; Gong, Y.; Müglitz, A.; Kluge, M.; Krügel, U. GFRAL Is Widely Distributed in the Brain and Peripheral Tissues of Mice. *Nutrients* **2024**, *16*, 734, doi:10.3390/nu16050734.
249. Kleinert, M.; Clemmensen, C.; Sjøberg, K.A.; Carl, C.S.; Jeppesen, J.F.; Wojtaszewski, J.F.P.; Kiens, B.; Richter, E.A. Exercise Increases Circulating GDF15 in Humans. *Mol Metab* **2018**, *9*, 187–191, doi: 10.1016/j.molmet.2017.12.016.
250. Jena, J.; García-Peña, L.M.; Pereira, R.O. The Roles of FGF21 and GDF15 in Mediating the Mitochondrial Integrated Stress Response. *Front Endocrinol (Lausanne)* **2023**, *14*, 1264530, doi:10.3389/fendo.2023.1264530.
251. Harshitha, R.; Arunraj, D.R. Real-Time Quantitative PCR: A Tool for Absolute and Relative Quantification. *Biochem Mol Biol Educ* **2021**, *49*, 800–812, doi:10.1002/bmb.21552.
252. Hänninen, M.M.; Haapasalo, J.; Haapasalo, H.; Fleming, R.E.; Britton, R.S.; Bacon, B.R.; Parkkila, S. Expression of Iron-Related Genes in Human Brain and Brain Tumors. *BMC Neurosci* **2009**, *10*, 36, doi:10.1186/1471-2202-10-36.
253. Li, X.; Liu, P.; Wang, Z.; Wei, X.; Gao, S.; Fan, Y.; Liu, H.; Wang, K. The Value of Promoter Methylation of Fibroblast Factor 21 (FGF21) in Predicting the Course of Chronic Hepatitis B and the Occurrence of Oxidative Stress. *Virol J* **2024**, *21*, 332, doi:10.1186/s12985-024-02605-6.
254. Marek, L.; Ware, K.E.; Fritzsche, A.; Hercule, P.; Helton, W.R.; Smith, J.E.; McDermott, L.A.; Coldren, C.D.; Nemenoff, R.A.; Merrick, D.T.; et al. Fibroblast Growth Factor (FGF) and FGF Receptor-Mediated Autocrine Signaling in Non-

Small-Cell Lung Cancer Cells. *Mol Pharmacol* **2009**, *75*, 196–207, doi:10.1124/mol.108.049544.
255. Gizaw, N.Y.; Kallio, P.; Punger, T.; Gucciardo, E.; Haglund, C.; Böhling, T.; Lehti, K.; Sampo, M.; Alitalo, K.; Kivelä, R. PROX1 Transcription Factor Controls Rhabdomyosarcoma Growth, Stemness, Myogenic Properties and Therapeutic Targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2022**, *119*, e2116220119, doi:10.1073/pnas.2116220119.
256. Wu, Q.; Liao, R.; Miao, C.; Hasnat, M.; Li, L.; Sun, L.; Wang, X.; Yuan, Z.; Jiang, Z.; Zhang, L.; et al. Oncofetal SNRPE Promotes HCC Tumorigenesis by Regulating the FGFR4 Expression through Alternative Splicing. *Br J Cancer* **2024**, *131*, 77–89, doi:10.1038/s41416-024-02689-5.
257. Tzur, Y.; Winek, K.; Madrer, N.; Dubnov, S.; Bennett, E.R.; Greenberg, D.S.; Hanin, G.; Gammal, A.; Tam, J.; Arkin, I.T.; et al. Lysine tRNA Fragments and miR-194-5p Co-Regulate Hepatic Steatosis via β-Klotho and Perilipin 2. *Mol Metab* **2023**, *79*, 101856, doi: 10.1016/j.molmet.2023.101856.
258. Wechter, N.; Rossi, M.; Anerillas, C.; Tsitsipatis, D.; Piao, Y.; Fan, J.; Martindale, J.L.; De, S.; Mazan-Mamczarz, K.; Gorospe, M. Single-Cell Transcriptomic Analysis Uncovers Diverse and Dynamic Senescent Cell Populations. *Aging (Albany NY)* **2023**, *15*, 2824–2851, doi:10.18632/aging.204666.
259. Huang, M.; Narita, S.; Koizumi, A.; Nara, T.; Numakura, K.; Satoh, S.; Nanjo, H.; Habuchi, T. Macrophage Inhibitory Cytokine-1 Induced by a High-Fat Diet Promotes Prostate Cancer Progression by Stimulating Tumor-Promoting Cytokine Production from Tumor Stromal Cells. *Cancer Communications* **2021**, *41*, 389–403, doi:10.1002/cac2.12137.
260. Xia, Y.; Huang, P.; Qian, Y.; Wang, Z.; Jin, N.; Li, X.; Pan, W.; Wang, S.-Y.; Jin, P.; Drokow, E.K.; et al. PARP Inhibitors Enhance Antitumor Immune Responses by Triggering Pyroptosis via TNF–Caspase 8–GSDMD/E Axis in Ovarian Cancer. *J Immunother Cancer* **2024**, *12*, doi:10.1136/jitc-2024-009032.
261. Yang, M.; Tran, L.; Torrey, H.; Song, Y.; Perkins, H.; Case, K.; Zheng, H.; Takahashi, H.; Kuhtreiber, W.M.; Faustman, D.L. Optimizing TNFR2 Antagonism for Immunotherapy with Tumor Microenvironment Specificity. *Journal of Leukocyte Biology* **2020**, *107*, 971–980, doi: 10.1002/JLB.5AB0320-415RRRRR.
262. Zeng, Q.; Zhou, C.; Li, M.; Qiu, Y.; Wei, X.; Liu, H. Concentrated Growth Factor Combined with iRoot BP Plus Promotes Inflamed Pulp Repair: An in Vitro and in Vivo Study. *BMC Oral Health* **2023**, *23*, 225, doi:10.1186/s12903-023-02903-5.
263. Arensdorf, A.M.; Rutkowski, D.T. Endoplasmic Reticulum Stress Impairs IL-4/IL-13 Signaling through C/EBPβ-Mediated Transcriptional Suppression. *J Cell Sci* **2013**, *126*, 4026–4036, doi:10.1242/jcs.130757.
264. Fazeli, P.K.; Lun, M.; Kim, S.M.; Bredella, M.A.; Wright, S.; Zhang, Y.; Lee, H.; Catana, C.; Klibanski, A.; Patwari, P.; et al. FGF21 and the Late Adaptive Response to Starvation in Humans. *J Clin Invest* **2015**, *125*, 4601–4611, doi:10.1172/JCI83349.
265. Kharitonenkov, A.; Shiyanova, T.L.; Koester, A.; Ford, A.M.; Micanovic, R.; Galbreath, E.J.; Sandusky, G.E.; Hammond, L.J.; Moyers, J.S.; Owens, R.A.; et al. FGF-21 as a Novel Metabolic Regulator. *J Clin Invest* **2005**, *115*, 1627–1635, doi:10.1172/JCI23606.
266. Bakhtiar, S.; Barari, A.; Abdi, A. The Effect of Special Training Exercise on FGF21 Expression and FGFR-1 among CABG Patients. *Researcher Bulletin of Medical Sciences* **2021**, *26*, e16–e16.

267. Isaacsson Velho, P.H.; Castro, G.; Chung, C.H. Novel Targeted Agents in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Hematology/Oncology Clinics of North America* **2015**, *29*, 993–1009, doi: 10.1016/j.hoc.2015.07.006.
268. Wen, X.; Li, X.; Tang, Y.; Tang, J.; Zhou, S.; Xie, Y.; Guo, J.; Yang, J.; Du, X.; Su, N.; et al. Chondrocyte FGFR3 Regulates Bone Mass by Inhibiting Osteogenesis. *J Biol Chem* **2016**, *291*, 24912–24921, doi:10.1074/jbc.M116.730093.
269. Kozhemyakina, E.; Lassar, A.B.; Zelzer, E. A Pathway to Bone: Signaling Molecules and Transcription Factors Involved in Chondrocyte Development and Maturation. *Development (Cambridge, England)* **2015**, *142*, 817, doi:10.1242/dev.105536.
270. Tang, S.; Hao, Y.; Yuan, Y.; Liu, R.; Chen, Q. Role of Fibroblast Growth Factor Receptor 4 in Cancer. *Cancer Sci* **2018**, *109*, 3024–3031, doi:10.1111/cas.13759.
271. Patel, S.; Alvarez-Guaita, A.; Melvin, A.; Rimmington, D.; Dattilo, A.; Miedzybrodzka, E.L.; Cimino, I.; Maurin, A.-C.; Roberts, G.P.; Meek, C.L.; et al. GDF15 Provides an Endocrine Signal of Nutritional Stress in Mice and Humans. *Cell Metab* **2019**, *29*, 707-718.e8, doi: 10.1016/j.cmet.2018.12.016.
272. Johann, K.; Kleinert, M.; Klaus, S. The Role of GDF15 as a Myomitokine. *Cells* **2021**, *10*, 2990, doi:10.3390/cells10112990.
273. Conte, M.; Martucci, M.; Mosconi, G.; Chiariello, A.; Cappuccilli, M.; Totti, V.; Santoro, A.; Franceschi, C.; Salvioli, S. GDF15 Plasma Level Is Inversely Associated With Level of Physical Activity and Correlates With Markers of Inflammation and Muscle Weakness. *Front. Immunol.* **2020**, *11*, doi:10.3389/fimmu.2020.00915.
274. Hes, C.; Gui, L.T.; Bay, A.; Alvarez, F.; Katz, P.; Paul, T.; Bozadjieva-Kramer, N.; Seeley, R.J.; Piccirillo, C.A.; Sabatini, P.V. GDNF Family Receptor Alpha-like (GFRAL) Expression Is Restricted to the Caudal Brainstem. *Mol Metab* **2024**, *91*, 102070, doi: 10.1016/j.molmet.2024.102070.
275. Zhang, J.; Sun, J.; Li, J.; Xia, H. Targeting the GDF15 Signalling for Obesity Treatment: Recent Advances and Emerging Challenges. *J Cell Mol Med* **2024**, *28*, e70251, doi:10.1111/jcmm.70251.
276. Wang, D.; Townsend, L.K.; DesOrmeaux, G.J.; Frangos, S.M.; Batchuluun, B.; Dumont, L.; Kuhre, R.E.; Ahmadi, E.; Hu, S.; Rebalka, I.A.; et al. GDF15 Promotes Weight Loss by Enhancing Energy Expenditure in Muscle. *Nature* **2023**, *619*, 143–150, doi:10.1038/s41586-023-06249-4.
277. Li, Y.; Ye, R.; Dai, H.; Lin, J.; Cheng, Y.; Zhou, Y.; Lu, Y. Exploring TNFR1: From Discovery to Targeted Therapy Development. *J Transl Med* **2025**, *23*, 71, doi:10.1186/s12967-025-06122-0.
278. Faustman, D.L.; Davis, M. TNF Receptor 2 and Disease: Autoimmunity and Regenerative Medicine. *Front Immunol* **2013**, *4*, 478, doi:10.3389/fimmu.2013.00478.
279. Docherty, S.; Harley, R.; McAuley, J.J.; Crowe, L.A.N.; Pedret, C.; Kirwan, P.D.; Siebert, S.; Millar, N.L. The Effect of Exercise on Cytokines: Implications for Musculoskeletal Health: A Narrative Review. *BMC Sports Sci Med Rehabil* **2022**, *14*, 5, doi:10.1186/s13102-022-00397-2.
280. Petersen, P.S.; Lei, X.; Seldin, M.M.; Rodriguez, S.; Byerly, M.S.; Wolfe, A.; Whitlock, S.; Wong, G.W. Dynamic and Extensive Metabolic State-Dependent Regulation of Cytokine Expression and Circulating Levels. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **2014**, *307*, R1458–R1470, doi:10.1152/ajpregu.00335.2014.
281. Thomas, A.C.Q.; Stead, C.A.; Burniston, J.G.; Phillips, S.M. Exercise-Specific Adaptations in Human Skeletal Muscle: Molecular Mechanisms of Making Muscles

Fit and Mighty. *Free Radical Biology and Medicine* **2024**, *223*, 341–356, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2024.08.010.
282. Bishop, D.J.; Hoffman, N.J.; Taylor, D.F.; Saner, N.J.; Lee, M.J.-C.; Hawley, J.A. Discordant Skeletal Muscle Gene and Protein Responses to Exercise. *Trends in Biochemical Sciences* **2023**, *48*, 927–936, doi: 10.1016/j.tibs.2023.08.005.
283. Peake, J.M.; Neubauer, O.; Della Gatta, P.A.; Nosaka, K. Muscle Damage and Inflammation during Recovery from Exercise. *Journal of Applied Physiology* **2017**, *122*, 559–570, doi:10.1152/japplphysiol.00971.2016.
284. Bassett, D.R.; Howley, E.T. Limiting Factors for Maximum Oxygen Uptake and Determinants of Endurance Performance. *Med Sci Sports Exerc* **2000**, *32*, 70–84, doi:10.1097/00005768-200001000-00012.
285. Midgley, A.W.; McNaughton, L.R.; Wilkinson, M. Is There an Optimal Training Intensity for Enhancing the Maximal Oxygen Uptake of Distance Runners? Empirical Research Findings, Current Opinions, Physiological Rationale and Practical Recommendations. *Sports Med* **2006**, *36*, 117–132, doi:10.2165/00007256-200636020-00003.
286. Joyner, M.J.; Coyle, E.F. Endurance Exercise Performance: The Physiology of Champions. *J Physiol* **2008**, *586*, 35–44, doi:10.1113/jphysiol.2007.143834.
287. Tanaka, H.; Monahan, K.D.; Seals, D.R. Age-Predicted Maximal Heart Rate Revisited. *J Am Coll Cardiol* **2001**, *37*, 153–156, doi:10.1016/s0735-1097(00)01054-8.
288. Sheel, A.W. Respiratory Muscle Training in Healthy Individuals: Physiological Rationale and Implications for Exercise Performance. *Sports Med* **2002**, *32*, 567–581, doi:10.2165/00007256-200232090-00003.
289. Dempsey, J.A.; Romer, L.; Rodman, J.; Miller, J.; Smith, C. Consequences of Exercise-Induced Respiratory Muscle Work. *Respir Physiol Neurobiol* **2006**, *151*, 242–250, doi: 10.1016/j.resp.2005.12.015.
290. Holloszy, J.O.; Coyle, E.F. Adaptations of Skeletal Muscle to Endurance Exercise and Their Metabolic Consequences. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* **1984**, *56*, 831–838, doi:10.1152/jappl.1984.56.4.831.
291. Brooks, G.A. Science and Translation of Lactate Shuttle Theory. *Cell Metab* **2018**, *27*, 757–785, doi: 10.1016/j.cmet.2018.03.008.
292. Bahtra, R.; Crisari, S.; Dinata, W.W.; Susanto, N.; Andria, Y. VO2Max in Soccer Players: Comparison of Interval Training and Continuous Running. *JOSSAE (Journal of Sport Science and Education)* **2023**, *8*, 46–53, doi:10.26740/jossae.v8n1.p46-53.
293. Barnes, C.; Archer, D.T.; Hogg, B.; Bush, M.; Bradley, P.S. The Evolution of Physical and Technical Performance Parameters in the English Premier League. *Int J Sports Med* **2014**, *35*, 1095–1100, doi:10.1055/s-0034-1375695.
294. Granero-Gallegos, A.; González-Quílez, A.; Plews, D.; Carrasco-Poyatos, M. HRV-Based Training for Improving VO2max in Endurance Athletes. A Systematic Review with Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health* **2020**, *17*, 7999, doi:10.3390/ijerph17217999.
295. Bergkamp, T.L.G.; den Hartigh, R.J.R.; Frencken, W.G.P.; Niessen, A.S.M.; Meijer, R.R. The Validity of Small-Sided Games in Predicting 11-vs-11 Soccer Game Performance. *PLoS One* **2020**, *15*, e0239448, doi: 10.1371/journal.pone.0239448.
296. Gabriel, H.; Kindermann, W. The Acute Immune Response to Exercise: What Does It Mean? *Int J Sports Med* **1997**, *18 Suppl 1*, S28-45, doi:10.1055/s-2007-972698.
297. Nieman, D.C. Is Infection Risk Linked to Exercise Workload? *Med Sci Sports Exerc* **2000**, *32*, S406-411, doi:10.1097/00005768-200007001-00005.

298. Suzuki, K.; Nakaji, S.; Yamada, M.; Totsuka, M.; Sato, K.; Sugawara, K. Systemic Inflammatory Response to Exhaustive Exercise. Cytokine Kinetics. *Exerc Immunol Rev* **2002**, *8*, 6–48.
299. Peake, J.; Suzuki, K. Neutrophil Activation, Antioxidant Supplements and Exercise-Induced Oxidative Stress. *Exerc Immunol Rev* **2004**, *10*, 129–141.
300. Walsh, N.P.; Gleeson, M.; Shephard, R.J.; Gleeson, M.; Woods, J.A.; Bishop, N.C.; Fleshner, M.; Green, C.; Pedersen, B.K.; Hoffman-Goetz, L.; et al. Position Statement. Part One: Immune Function and Exercise. *Exerc Immunol Rev* **2011**, *17*, 6–63.
301. Nieman, D.C. Immune Response to Heavy Exertion. *J Appl Physiol (1985)* **1997**, *82*, 1385–1394, doi:10.1152/jappl.1997.82.5.1385.
302. Peake, J.; Nosaka, K.; Suzuki, K. Characterization of Inflammatory Responses to Eccentric Exercise in Humans. *Exerc Immunol Rev* **2005**, *11*, 64–85.
303. Krüger, K.; Mooren, F.-C.; Pilat, C. The Immunomodulatory Effects of Physical Activity. *Curr Pharm Des* **2016**, *22*, 3730–3748, doi:10.2174/1381612822666160322145107.

WYKAZ TABEL

Tabela 1 47
Sekwencje starterów wykorzystanych w badaniach
Tabela 2 49
Wyniki pomiarów antropometrycznych uczestników badania (mediana ± rozstęp międzykwartylowy, poziom istotności p <0,05)
Tabela 3 50
Wyniki testów wydolnościowych uczestników badania wykonywane w trakcie testu wysiłkowego (mediana ± rozstęp międzykwartylowy, poziom istotności p <0,05)
Tabela 4 51
Tabela podsumowująca różnice statystyczne dla parametrów leukocytarnych oraz biochemicznych między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych
Tabela 5 51
Wyniki badań krwi uczestników z grupy sportowców (T) (mediana ± rozstęp międzykwartylowy, poziom istotności p <0,05)
Tabela 6 54
Wyniki badań krwi uczestników z grupy niećwiczących (UT) (mediana ± rozstęp międzykwartylowy, poziom istotności p <0,05)
Tabela 7 56
Tabela podsumowująca różnice w ekspresji genów *FGF21*, *FGFR1*, *FGFR3*, *FGFR4* oraz *KLB* między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych
Tabela 8 58
Tabela podsumowująca różnice w ekspresji genów *GDF15* oraz *GFRAL* między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych
Tabela 9 59
Tabela podsumowująca różnice w ekspresji genów *TNF-α*, *TNFR-1* oraz *TNFR-2* między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych
Tabela 10 60
Tabela podsumowująca różnice w ekspresji genów *IL-4* oraz *IL-4R* między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych

Tabela 11 62
Tabela podsumowująca wyniki analizy statystycznej dla genów *FGF21*, *FGFR1*, *FGFR3*, *FGFR4* oraz *KLB*, podkreślająca istotne różnice między punktami czasowymi i poziomem spoczynkowym (p < 0,05)
Tabela 12 64
Tabela podsumowująca wyniki analizy statystycznej dla genów *GDF15* oraz *GFRAL*, podkreślająca istotne różnice między punktami czasowymi i poziomem spoczynkowym (p < 0,05)
Tabela 13 65
Tabela podsumowująca wyniki analizy statystycznej dla genów *TNF-α, TNFR-1 oraz TNFR-2,* podkreślająca istotne różnice między punktami czasowymi i poziomem spoczynkowym (p < 0,05)
Tabela 14 66
Tabela podsumowująca wyniki analizy statystycznej dla genów *IL-4* oraz *IL-4R*, podkreślająca istotne różnice między punktami czasowymi i poziomem spoczynkowym (p < 0,05)
Tabela 15 67
Tabela podsumowująca różnice w stężeniu białka FGF21, GDF15, TNF-α oraz IL-4 między grupą sportowców a grupą osób niećwiczących w sześciu punktach czasowych
Tabela 16 71
Tabela podsumowująca wyniki analizy statystycznej dla białek FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 podkreślająca istotne różnice (p ≤ 0,05) między punktami czasowymi i poziomem spoczynkowym
Tabela 17 74
Analiza korelacji między ekspresją genetyczną FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 a stężeniem tych białek w różnych punktach czasowych
Tabela 18 76
Analiza korelacji między liczbą leukocytów a stężeniem białek FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 w różnych punktach czasowych
Tabela 19 77
Analiza korelacji między liczbą neutrofili a stężeniem białek FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 w różnych punktach czasowych
Tabela 20 78
Analiza korelacji między liczbą limfocytów a stężeniem białek FGF21, GDF15, TNF-α i IL-4 w różnych punktach czasowych

WYKAZ RYCIN

Rycina 1 17

Graficzna reprezentacja wpływu pojedynczego intensywnego wysiłku fizycznego i regularnego umiarkowanego wysiłku fizycznego na poziom wydzielania cytokin pro- i przeciwzapalnych (↑ – zwiększone stężenie; ↓ – zmniejszone stężenie; = – brak zmian w stężeniu). Ilustracja została częściowo wygenerowana przy użyciu programu Servier Medical Art, dostarczonego przez firmę Servier, na licencji Creative Commons Attribution 3.0 unported (wykonanie własne, źródło: [47])

Rycina 2 25

Schemat przedstawiający różne typy komórek odpornościowych i sposób, w jaki oddziałują ze sobą za pośrednictwem cytokin. Ilustracja została częściowo wygenerowana przy użyciu programu Servier Medical Art, dostarczonego przez firmę Servier, na licencji Creative Commons Attribution 3.0 unported (wykonanie własne, źródło: [47])

Rycina 3 52

Porównanie liczby leukocytów w grupie sportowców między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * $p < 0,05$

Rycina 4 53

Porównanie liczby neutrofili w grupie sportowców między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * $p < 0,05$

Rycina 5 53

Porównanie liczby limfocytów w grupie sportowców między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * $p < 0,05$

Rycina 6 54

Porównanie liczby leukocytów w grupie osób niećwiczących między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * $p < 0,05$

Rycina 7 55

Porównanie liczby neutrofili w grupie osób niećwiczących między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * $p < 0,05$

Rycina 8 55
Porównanie liczby limfocytów w grupie osób niećwiczących między poszczególnymi punktami czasowymi a wartością spoczynkową. Wykres prezentuje mediany uzyskanych wyników wraz z wartością błędu standardowego. * $p < 0,05$
Rycina 9 57
Porównanie poziomu ekspresji genu *FGFR1* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)
Rycina 10 57
Porównanie poziomu ekspresji genu *FGFR3* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)
Rycina 11 58
Porównanie poziomu ekspresji genu *FGFR4* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)
Rycina 12 59
Porównanie poziomu ekspresji genu *TNFR-1* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)
Rycina 13 60
Porównanie poziomu ekspresji genu *IL-4* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)
Rycina 14 61
Porównanie poziomu ekspresji genu *IL-4R* pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)

Rycina 15 62

Zmiany poziomu ekspresji genu *FGFR3* w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między danym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

Rycina 16 63

Zmiany poziomu ekspresji genu *FGFR4* w (A) grupie osób niećwiczących oraz (B) grupie sportowców między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między danym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

Rycina 17 63

Zmiany poziomu ekspresji genu *KLB* w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między tym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

Rycina 18 64

Zmiany poziomu ekspresji genu *GFRAL* w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między tym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

Rycina 19 65

Zmiany poziomu ekspresji genu *TNF-α* w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między tym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

Rycina 20 66

Zmiany poziomu ekspresji genu *TNFR-1* w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między tym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

Rycina 21 67
Zmiany poziomu ekspresji genu *IL-4R* w grupie sportowców między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku fizycznym. Wykres prezentuje mediany wartości $2^{-(\Delta CT)}$ uzyskaną metodą PCR w czasie rzeczywistym oraz wartości błędu standardowego. * istotna różnica między tym punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)
Rycina 22 68
Porównanie stężenia białka FGF21 pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości stężeń oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)
Rycina 23 69
Porównanie stężenia białka GDF15 pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości stężeń oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)
Rycina 24 69
Porównanie stężenia białka TNF-α pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości stężeń oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)
Rycina 25 70
Porównanie stężenia białka IL-4 pomiędzy grupą sportowców a grupą osób niećwiczących we wszystkich punktach czasowych. Wykres prezentuje mediany wartości stężeń oraz wartości błędu standardowego. * istotne różnice ($p < 0,05$)
Rycina 26 71
Porównanie stężenia białka FGF21, która wykazała znaczące zmiany w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku. * istotna różnica między punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)
Rycina 27 72
Porównanie stężenia białka GDF15, która wykazała znaczące zmiany w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku. * istotna różnica między punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)
Rycina 28 72
Porównanie stężenia białka TNF-α, która wykazała znaczące zmiany w grupie sportowców między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku. * istotna różnica między punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

Rycina 29 **73**

Porównanie stężenia białka IL-4, która wykazała znaczące zmiany w grupie osób niećwiczących między pre-testem a pięcioma punktami czasowymi po wysiłku. * istotna różnica między punktem czasowym a poziomem spoczynkowym ($p < 0,05$)

ZAŁĄCZNIKI

Załącznik nr 1. Zgoda Komisji Bioetycznej wydana przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Szczecińskim, wydaną w dniu 22 maja 2024 roku (nr zgody: US.003.5.2024)

KOMISJA BIOETYCZNA
PRZY UNIWERSYTECIE
SZCZECIŃSKIM

Komisja Bioetyczna
przy Uniwersytecie Szczecińskim
al. Papieża Jana Pawła II 22a
70-453 Szczecin
e-mail: komisja.bioetyczna@usz.edu.pl
tel. 91 444 12 84

US.003.5.2024

UCHWAŁA NR 7 / 2024
KOMISJI BIOETYCZNEJ PRZY UNIWERSYTECIE SZCZECIŃSKIM

z dnia 22 maja 2024 r.

w sprawie wyrażenia pozytywnej opinii o projekcie eksperymentu medycznego.

Na podstawie art. 29 ust. 2 i ust. 14 ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. z 2023 r. poz. 1516) uchwala się, co następuje:

§ 1.

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Szczecińskim, w składzie:

1) dr hab. n. med. Marek Bulsa, prof. US;
2) dr hab. n. med. Andrzej Potemkowski, prof. US;
3) dr n. med. Katarzyna Maciejewska;

po zapoznaniu się z przedstawioną dokumentacją oraz projektem opinii o eksperymencie medycznym sporządzonym przez Pana dra hab. n. med. Marka Bulsę Przewodniczącego Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Szczecińskim,

wyraża pozytywną opinię o projekcie eksperymentu medycznego pod tytułem: „Zmiany ekspresji wybranych genów kodujących białka związane z reakcją zapalną w odpowiedzi na jednorazowy intensywny wysiłek fizyczny u zawodowych sportowców oraz osób nietrenujących".

Główny Badacz:
dr hab. Marek Sawczuk, prof. US – pracownik badawczo-dydaktyczny Uniwersytetu Szczecińskiego Instytutu Nauk o Kulturze Fizycznej

Współbadacze:

1) dr hab. Agnieszka Maciejewska-Skrendo, prof. US - pracownik

badawczy Uniwersytetu Szczecińskiego Instytutu Nauk o Kulturze Fizycznej;

2) dr n. med. Patrycja Tomasiak - pracownik badawczo-dydaktyczny Uniwersytetu Szczecińskiego Instytutu Nauk o Kulturze Fizycznej;

3) mgr inż. Joanna Kubaszewska - pracownik naukowo-techniczny Uniwersytetu Szczecińskiego w Centrum Badań Strukturalno-Funkcjonalnych Człowieka, Instytut Nauk o Kulturze Fizycznej;

4) mgr inż. Paulina Małkowska – doktorant Szkoły Doktorskiej Uniwersytetu Szczecińskiego;

5) mgr Olga Sierawska - doktorant Szkoły Doktorskiej Uniwersytetu Szczecińskiego;

6) mgr Łukasz Rosiński - doktorant Szkoły Doktorskiej Uniwersytetu Szczecińskiego;

7) prof. dr hab. Maciej Tarnowski - pracownik badawczy Uniwersytetu Szczecińskiego Instytutu Nauk o Kulturze Fizycznej oraz kierownik Zakładu Fizjologii w Naukach o Zdrowiu, Wydziału Nauk o Zdrowiu Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie;

8) dr n. med. Marta Tkacz – pracownik spoza US - pracownik naukowo-dydaktyczny Zakładu Fizjologii w Naukach o Zdrowiu, Wydziału Nauk o Zdrowiu Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie;

9) dr n. med. Katarzyna Zgutka – pracownik spoza US - pracownik naukowo-dydaktyczny Zakładu Fizjologii w Naukach o Zdrowiu, Wydziału Nauk o Zdrowiu Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie.

Termin rozpoczęcia eksperymentu medycznego: 27 maja 2024 r.

Termin zakończenia eksperymentu medycznego: 30 czerwca 2025 r.

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Szczecińskim
al. Papieża Jana Pawła II 22a
70-453 Szczecin
e-mail: komisja.bioetyczna@usz.edu.pl
tel. 91 444 12 84

§ 2.

Wyrażona opinia dotyczy tylko rozpatrywanego wniosku i przedstawionego projektu. Każda zmiana i modyfikacja projektu eksperymentu medycznego wymaga uzyskania odrębnej opinii. Wnioskodawca zobowiązany jest do informowania o wszelkich poprawkach, które mogłyby mieć wpływ na opinię Komisji, o ciężkich lub niespodziewanych zdarzeniach niepożądanych i nieprzewidzianych okolicznościach, o zakończeniu badania i o jego wynikach.

§ 3.

Zgodnie z § 3 rozporządzenia Ministra Finansów, Funduszy i Polityki Regionalnej z dnia 23 grudnia 2020 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej podmiotu przeprowadzającego eksperyment medyczny (Dz. U. z 2020 r. poz. 2412), eksperyment medyczny może być przeprowadzony po zawarciu przez podmiot przeprowadzający eksperyment medyczny umowy ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej na rzecz jego uczestnika oraz osoby, której skutki eksperymentu mogą bezpośrednio dotknąć, przy czym obowiązek ten powstaje najpóźniej w dniu poprzedzającym dzień rozpoczęcia eksperymentu medycznego.

§ 4.

Uchwała wchodzi w życie z dniem podjęcia.

POUCZENIE

Odwołanie od niniejszej uchwały może wnieść:

1) wnioskodawca;
2) kierownik podmiotu, w którym eksperyment medyczny ma być przeprowadzony;

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Szczecińskim
al. Papieża Jana Pawła II 22a
70-453 Szczecin
e-mail: komisja.bioetyczna@usz.edu.pl
tel. 91 444 12 84

3) komisja bioetyczna właściwa dla ośrodka, który ma uczestniczyć w wieloośrodkowym eksperymencie medycznym.

Odwołanie wnosi się za pośrednictwem Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Szczecińskim do Odwoławczej Komisji Bioetycznej przy Ministrze Zdrowia, w terminie 14 dni od dnia doręczenia uchwały.

22 MAJ 2024

dr hab. n. med. Marek Bulsa, prof. US
Przewodniczący Komisji Bioetycznej
przy Uniwersytecie Szczecińskim
al. Papieża Jana Pawła II 22a
70-453 Szczecin
e-mail: komisja.bioetyczna@usz.edu.pl

.....

Podpis i pieczęć Przewodniczącego Komisji Bioetycznej
przy Uniwersytecie Szczecińskim

Otrzymują:

1. Wnioskodawca.
2. Kierownik podmiotu, w którym eksperyment medyczny ma być przeprowadzony.
3. Komisja bioetyczna właściwa dla ośrodka, który ma uczestniczyć w wieloośrodkowym eksperymencie medycznym.
4. Ad acta.