

AKADEMIA WYCHOWANIA FIZYCZNEGO
im. Jerzego Kukuczki w Katowicach

Adam Rzetecki

OCENA WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW STATUSU
ANTYOKSYDACYJNEGO, GOSPODARKI LIPIDOWEJ I KOSTNEJ
U STARSZYCH KOBIET O ZRÓŻNICOWANYM POZIOMIE
AKTYWNOŚCI FIZYCZNEJ

Autoreferat rozprawy doktorskiej

Promotor dr hab. Ewa Sadowska – Krępa prof. AWF

Katowice 2023

*Serdecznie dziękuję Promotorowi mojej rozprawy doktorskiej
dr hab. Ewie Sadowskiej-Krępie, prof. AWF Katowice
za olbrzymie wsparcie, życzliwość i wszechstronną
pomoc podczas pisania pracy.*

*Dziękuję również dr hab. Izabeli Zając-Gawlak
i dr Agnieszce Nawrat-Szołtysik za życzliwą
pomoc w realizacji badań.*

Spis treści:

| | |
|---|----|
| WSTĘP..... | 6 |
| METODOLOGIA BADAŃ WŁASNYCH | 30 |
| 1.1 Cel pracy | 30 |
| 1.2 Pytania i hipotezy badawcze | 31 |
| 1.3 Charakterystyka badanej grupy | 31 |
| 1.4 Ocena poziomu aktywności fizycznej..... | 32 |
| 1.5 Przygotowanie materiału biologicznego | 33 |
| 1.6 Oznaczenia biochemiczne..... | 34 |
| 1.7. Metody statystyczne..... | 36 |
| WYNIKI | 38 |
| 2.1 Liczba kroków w grupach badanych kobiet o zróżnicowanym poziomie aktywności fizycznej..... | 38 |
| 2.2 Status antyoksydacyjny krwi u badanych kobiet o różnym poziomie aktywności fizycznej..... | 39 |
| 2.2.1 Enzymy antyoksydacyjne | 39 |
| 2.2.2 Antyoksydanty nieenzymatyczne | 41 |
| 2.2.3 Markery stresu oksydacyjnego..... | 43 |
| 2.3 Profil lipidowy krwi u badanych kobiet o różnym poziomie aktywności fizycznej..... | 44 |
| 2.3.1 Wskaźniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych..... | 47 |
| 2.4 Gospodarka kostna u badanych kobiet o różnym poziomie aktywności fizycznej..... | 49 |
| 2.5 Stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego u kobiet o różnym poziomie aktywności fizycznej..... | 52 |
| WNIOSKI..... | 73 |
| PIŚMIENNICTWO..... | 74 |

WSTĘP

Starzenie się obejmuje postępujące i nieodwracalne zmiany fizjologiczne w ustroju człowieka. Proces ten definiuje się jako akumulację uszkodzeń na poziomie molekularnym, komórkowym i tkankowym, które zmniejszają zdolność organizmu do utrzymania homeostazy w warunkach stresowych oraz zwiększają ryzyko wystąpienia wielu chorób i przedwczesnej śmierci (*Levine i wsp. 2013*). Starzenie się jest procesem złożonym i niejednorodnym, mającym indywidualny przebieg, determinowanym przez wiele czynników, wśród których wyróżnia się czynniki genetyczne i środowiskowe (*Rodriguez-Rodero i wsp. 2011*). Na tempo zmian starzenia wpływają również inne dodatkowe zmienne takie jak styl życia oraz ogólny stan zdrowia (*Levine i wsp. 2013*).

Począwszy od XXI wieku średnia długość życia człowieka zwłaszcza w krajach rozwiniętych sukcesywnie się wydłuża, a udział osób starszych w globalnej populacji ciągle wzrasta. Biorąc pod uwagę trend światowej demografii, pomiędzy 2000 a 2050 rokiem odsetek ludzi powyżej 60 roku życia wzrośnie z 11 do 22%, co w wartościach bezwzględnych oznacza wzrost z około 605 milionów ludzi do 2 miliardów (*Jin i wsp. 2014*).

W Polsce na przestrzeni ostatnich lat zwiększa się również średnia długość życia oraz liczba osób starszych. Zgodnie z danymi przedstawionymi przez główny urząd statystyczny odsetek osób powyżej 60 roku życia w 2019 roku wyniósł 25,3% (*GUS, 2020*). Wydłużenie życia zostało osiągnięte przede wszystkim dzięki poprawie warunków sanitarnych, podwyższeniu standardów życia oraz postępom w medycynie (*Brown i wsp. 2015*). W związku ze wzrostem odsetka ludzi w podeszłym wieku i przy jednoczesnym spadku przyrostu naturalnego, skutki starzenia stanowią problem w postaci rosnących kosztów zabezpieczenia społecznego oraz kosztów opieki zdrowotnej. W związku z powyższym proces starzenia w krajach rozwiniętych stanowi wyzwanie o podłożu ekonomicznym i społecznym (*Meijer i wsp. 2013*). Starzenie się społeczeństwa jest zjawiskiem wymagającym podjęcia wielosektorowych działań w medycynie szczególnie w prewencji, diagnostyce i leczeniu (*Kennedy i wsp. 2014*).

W piśmiennictwie dominuje pogląd, zgodnie z którym metrykalna starość rozpoczyna się pomiędzy 60 a 65 rokiem życia. WHO wyodrębnia trzy główne okresy starości wynikające z osiągniętego wieku:

- 1) wczesna starość – od 60 do 74 lat,
- 2) późna starość – od 75 do 89 lat oraz
- 3) długowieczność - powyżej 90 roku życia (*Borelli i wsp. 2018*).

Zmiany starzeniowe są główną przyczyną przewlekłych chorób niezakaźnych takich jak: nowotwory, choroba niedokrwienna serca, cukrzyca, czy też przewlekłe choroby płuc (*Gong i wsp. 2018*). U osób starszych w porównaniu do młodszej populacji występuje zwiększone ryzyko zachorowalności i śmiertelności z powodu chorób zakaźnych (*Jin i wsp. 2015*). Wielu problemów zdrowotnych w wieku podeszłym można uniknąć dzięki odpowiedniej profilaktyce, która ma szeroki zakres i między innymi obejmuje regularną aktywność fizyczną (AF), dbałość o prawidłową masę ciała oraz zdrową dietę (*Weyh i wsp. 2020; Pietrzak i wsp. 2016*). Niestety większość działań terapeutycznych obejmuje głównie kosztowne środki farmakologiczne, których stosowanie może się wiązać z ryzykiem wystąpienia skutków ubocznych, pomimo tego, że jednym z głównych niefarmakologicznych i bezpłatnych sposobów zachowania zdrowia może być aktywność fizyczna (*Rebello-Marques i wsp. 2018; Aparicio i wsp. 2010*). Badania wskazują, że podejmowanie zwiększonej AF poprawia stan zdrowia osób starszych, spowalnia tempo zmian inwolucyjnych oraz zapobiega rozwojowi przedwczesnego starzenia (*Pilch i wsp. 2017, Micielska i wsp. 2019, Sadowska-Krępa i wsp. 2020*). Ze względu na wymienione korzyści szczególnie ważnym aspektem społecznym jest promowanie zdrowego stylu życia poprzez zwiększenie AF u osób starszych (*McPhee i wsp. 2016*).

METODOLOGIA BADAŃ WŁASNYCH

1.1 Cel pracy

Głównym celem podjętych badań było porównanie mechanizmów obrony antyoksydacyjnej krwi, wybranych wskaźników gospodarki lipidowej oraz kostnej, jak również poziomu neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) u starszych kobiet o zróżnicowanym poziomie AF. Po zapoznaniu się z wynikami badań prezentowanych w dostępnej literaturze i omówionych w części przeglądowej pracy, sformułowano następujące pytania i hipotezy badawcze:

1.2 Pytania i hipotezy badawcze

Pytania badawcze:

1. Czy mechanizmy obrony antyoksydacyjnej krwi u badanych kobiet zależą od poziomu ich aktywności fizycznej?
2. Jak zróżnicowany poziom aktywności fizycznej wpływa na profil lipidowy krwi u badanych kobiet ?
3. Czy zmiany w metabolizmie tkanki kostnej zależą od poziomu aktywności badanych?
4. Czy stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w surowicy krwi zależy od aktywności fizycznej badanych kobiet?

Hipotezy badawcze:

1. Sprawność mechanizmów obrony antyoksydacyjnej oraz zmiany w gospodarce lipidowej i kostnej zależą od poziomu aktywności fizycznej badanych kobiet.
2. Zmiany w stężeniu BDNF w surowicy krwi zależą od poziomu aktywności fizycznej badanych kobiet.

1.3 Charakterystyka badanej grupy

Spośród 86 kobiet, badaniami objęto 62 seniorki w wieku $72,1 \pm 5,4$ lat, które były pensjonariuszkami Ośrodka Świętej Elżbiety w Rudzie Śląskiej lub słuchaczkami Górnośląskiego Uniwersytetu III wieku w Chorzowie. Wszystkie badane były ochotniczkami, które co najmniej roku aktywnie uczestniczyły w zajęciach realizowanych w ramach programu uniwersytetu (m.in. zajęcia komputerowe, warsztaty fotograficzne, lektoraty językowe) i zgłosiły dobrowolny udział w badaniu. Z badań zostały wykluczone osoby, u których stwierdzono występowanie któregośkolwiek z poniższych kryteriów:

- obecność rozrusznika serca,
- występowanie chorób przewlekłych (cukrzyca, niedoczynność tarczycy, choroby onkologiczne i metaboliczne),
- podejmowanie AF innej niż zalecana,
- stosowanie co najmniej miesiąc przed badaniami suplementów o właściwościach antyoksydacyjnych
- brak możliwości chodzenia bez zaopatrzenia ortopedycznego,
- nie dostarczenie zgody na udział w badaniu.

Kryterium włączenia do badań:

- kobiety w wieku 65-75 lat,
- słuchaczki uniwersytetu III wieku co najmniej od roku,
- pensjonariuszki przebywające co najmniej od roku w domu pomocy społecznej.

U każdej ochotniczki przeprowadzono ocenę poziomu AF i kwalifikację lekarską obejmującą badanie internistyczne i kardiologiczne.

Następnie badane zostały przydzielone odpowiednio do trzech grup, w zależności od reprezentowanego przez nie poziomu aktywności fizycznej tj. do a) grupy pierwszej (n=18), która codziennie wykonywała średnio do 5 tysięcy kroków, b) grupy drugiej (n=22), która codziennie wykonywała od 5 tysięcy do 10 tysięcy kroków oraz c) grupy trzeciej (n=22), która

średnio codziennie wykonywała powyżej 10 tysięcy kroków. W tabeli 1 przedstawiono charakterystykę badanych.

Tab. 3. Charakterystyka badanych kobiet

| Zmienna | Grupa | M | SD |
|------------------------|------------------|-------|------|
| Wiek, lata | <5 tys. kroków | 75.1 | 6.4 |
| | 5-10 tys. kroków | 72.1 | 5.6 |
| | >10 tys. kroków | 69.7 | 2.8 |
| Wysokość ciała, cm | <5 tys. kroków | 152.7 | 7.4 |
| | 5-10 tys. kroków | 157.1 | 5.9 |
| | >10 tys. kroków | 158.9 | 4.4 |
| Masa ciała, kg | <5 tys. kroków | 61.0 | 12.8 |
| | 5-10 tys. kroków | 70.6 | 10.7 |
| | >10 tys. kroków | 66.5 | 11.5 |
| BMI, kg/m ² | <5 tys. kroków | 26.1 | 5.0 |
| | 5-10 tys. kroków | 28.6 | 4.2 |
| | >10 tys. kroków | 26.3 | 4.3 |

Legenda: M – średnia arytmetyczna, SD – odchylenie standardowe.

Projekt badań został zaakceptowany przez lokalną Komisję Bioetyczną ds. Badań Naukowych działającą przy Akademii Wychowania Fizycznego (Nr KB/13/17). Badania częściowo były realizowane w ramach programu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego pod nazwą „Regionalna Inicjatywa Doskonałości”, nr projektu 019/RID/2018/19.

1.4 Ocena poziomu aktywności fizycznej

Do pomiaru poziomu AF ocenianej na podstawie dziennej liczby kroków wybrano akcelerometr ActiGraph GT1M M (Manufacturing Technology Inc., FL, USA), który rejestruje przyspieszenia przemieszczającego się ciała i służy do pomiaru liczby kroków. W ten sposób zminimalizowano błąd pomiaru wynikający ze sposobu przemieszczania się z zaburzonymi wyznacznikami chodu powszechnie określanego „szuraniem nogami”, występującego

szczególnie często u pensjonariuszy DPS-u. Badani nosili ActiGraphy w małych kieszeniach elastycznych pasków umieszczonych blisko prawego kolca biodrowego przez 12 – 16 godzin dziennie w trakcie 8 kolejnych dni. W celu zminimalizowania potencjalnego wpływu reakcji badanych na rozpoczynający się pomiar oraz upewnienia się, że rejestrowanie aktywności fizycznej było obiektywne (pełne 7-dniowe odczyty co najmniej 12 godzin noszenia dziennie), pomiary z pierwszego dnia zostały wyłączone z analizy (*Esliger i wsp. 2005*).

Badani zapisywali w specjalnym arkuszu (Ryc. I aneks) godzinę rozpoczęcia (zakładanie ActiGraphu rano) i zakończenia pomiaru (zdejście ActiGraphu przed snem). Pensjonariuszom w czynności zakładania i zdejmowania akcelerometru oraz zapisywania danych pomagali opiekunowie. W arkuszu odnotowywane były wszystkie aktywności fizyczne zorganizowane – grupowe i podejmowane indywidualnie, ich długość i rodzaj oraz wszystkie momenty bezczynności (siedzenie, leżenie, przemieszczanie się środkami transportu), zawsze wtedy, kiedy czas ich trwania przekraczał 10 minut.

1.5 Przygotowanie materiału biologicznego

Wszystkie oznaczenia przeprowadzono w certyfikowanej Pracowni Biochemii (PN-EN ISO 9001:2009) w Akademii Wychowania Fizycznego w Katowicach. Krew do analiz biochemicznych była pobierana na czczo z żyły odłokciowej przez wykwalifikowaną pielęgniarkę.

Próbki świeżej krwi pełnej (500 μ l) wykorzystano do oznaczenia stężenia hemoglobiny metodą spektrofotometryczną i zredukowanego glutationu (GSH) metodą kolorymetryczną z kwasem 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoesowym (*Beutler, 1963*). Pozostałą część krwi pełnej umieszczono w specjalnych probówkach przeznaczonych do oddzielenia osocza (BD Vacutainer PPTTM Plasma Preparation Tube, Wielka Brytania) lub surowicy (BD Vacutainer PPTTM Serum Preparation Tube, Wielka Brytania). Osocze oddzielono przez odwirowanie krwi pełnej przez 10 minut z szybkością 1000 x g w wirówce SIGMA 2-16KL (Sigma Laborzentrifugen GmbH, Niemcy). Pozostałą po odwirowaniu masę erytrocytarną 3-krotnie płukano zimnym roztworem soli fizjologicznej (4°C) i każdorazowo odwirowywano w temperaturze 4°C przy 1000 x g przez 10 min. Probówki z surowicą pozostawiono na 30 minut do wykrzepienia krwi. Po wykrzepieniu krwi oddzielono surowicę od skrzepu przez odwirowanie w temperaturze 4°C przy 1000 x g. Otrzymaną surowicę, podobnie jak eryocyty

i osocze, zamrożono i przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonania oznaczeń biochemicznych.

1.6 Oznaczenia biochemiczne

Wykonano następujące oznaczenia:

- stężenie hemoglobiny (Hb) metodą spektrofotometryczną (cyjanmethemoglobinową) z użyciem odczynnika Drabkina przy użyciu zestawu diagnostycznego firmy Randox (UK, nr kat. HG 1539),

- **markery charakteryzujące status antyoksydacyjny krwi:**

- aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD, E.C. 1.15.1.1) metodą spektrofotometryczną w hemolizatach erytrocytów przy pomocy zestawu diagnostycznego RANSOD firmy Randox (UK, nr kat. SD 125),
- aktywność peroksydazy glutationowej (GPx, E.C. 1.11.1.9) metodą spektrofotometryczną w hemolizatach erytrocytów korzystając z zestawu diagnostycznego RANSEL firmy Randox (UK, nr kat. RS 505),
- aktywność katalazy (CAT, E.C.1.11.1.6) oznaczano w hemolizatach krwinek czerwonych metodą Aebiego (1984),
- reduktazy glutationowej (GR, E.C. 1.6.4.2) oznaczano w hemolizatach krwinek czerwonych metodą Glatzego i wsp. (1970),
- stężenie kwasu moczowego (KM) w osoczu krwi metodą spektrofotometryczną korzystając z zestawu diagnostycznego firmy Randox (UK, nr kat. UA 230),
- stężenie produktów peroksydacji lipidów z kwasem tiobarbiturowym (MDA) oznaczano w osoczu metodą Buege'a i Austa (1978),
- całkowity status oksydacyjny w osoczu krwi (Perox) metodą immunoenzymatyczną korzystając z zestawu diagnostycznego Perox ELISA Kit (Niemcy, nr kat. REF 5100)

- **markery charakteryzujące profil lipidowy:**

- stężenie cholesterolu całkowitego (T-C) metodą kolorymetryczną korzystając z zestawu diagnostycznego firmy Randox (UK, nr kat.CH 201),

- stężenie cholesterolu frakcji HDL (HDL-C) oznaczano metodą kolorymetryczną korzystając z zestawu diagnostycznego firmy Randox (UK, nr kat. CH 203), po wcześniejszym ilościowym wytrąceniu frakcji lipoprotein LDL i VLDL oraz chylomikronów przez dodanie do próby roztworu kwasu fosfowolframowego w obecności jonów magnezu,
- stężenie cholesterolu frakcji LDL (LDL-C) obliczono korzystając z wzoru Friedewalda (1972),
- stężenie triglicerydów (TG) metodą kolorymetryczną korzystając z zestawu diagnostycznego firmy Randox (UK, nr kat. TR 210).

- markery charakteryzujące gospodarkę kostną:

- stężenie wapnia całkowitego (Ca) w surowicy krwi metodą kolorymetryczną korzystając z zestawu diagnostycznego firmy Randox (RX MONZA CA 590),
- stężenie osteokalcyny w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną z wykorzystaniem zestawu diagnostycznego Osteocalcin Human ELISA (DEKAP1381),
- stężenie 25-hydroksykalciferolu 25(OH)D w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną z wykorzystaniem testów diagnostycznych firmy Demeditec Diagnostic GmbH (Niemcy),
- stężenie parathormonu (PTH) w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną z wykorzystaniem zestawu diagnostycznego DRG® PTH Intact (EIA-3645),
- C-końcowego usieciowanego telopeptydu kolagenu typu I (ICPT) w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną z wykorzystaniem zestawu diagnostycznego Serum CrossLaps® (CTX-I) ELISA,

- **stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF)** w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną ELISA przy użyciu zestawu diagnostycznego firmy RayBio® Human BDNF ELISA Kit (USA, nr kat. ELH-BDNF-001).

Odczytu dokonano przy użyciu spektrofotometru Uv-1202VIS oraz czytnika mikropłytkowego EPOCH (BioTek Instruments, Inc. USA).

Tab. 4. Czulość metody, bład wewnątrz- i międzyoznaczeniowy (CV%) oraz zakres wartości referencyjnych ocenianych w pracy wskaźników.

| Wskaźnik | Czulość metody | CV% | | Zakres referencyjny | |
|-----------------|----------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------|
| | | Wewnątrz serii (%) | Między seriami (%) | | |
| Hb (g/dl) | - | - | - | K: 12 g/dl | K: 16 g/dl |
| | | | | M: 14 g/dl | M: 18 g/dl |
| GSH (μg/mgHb) | - | - | - | - | - |
| SOD (U/gHb) | - | 4,11 | 6,51 | 1102 U/gHb | 1601 U/gHb |
| CAT (U/gHb) | - | - | - | - | - |
| GPx (U/gHb) | 75 U/gHb | 5,83 | 4,03 | 27,5 U/gHb | 73,6 U/gHb |
| KM (mg/dl) | 0,059 mg/dl | 0,38 | 5,64 | 4,0 mg/dl | 7,0 mg/dl |
| MDA (μmol/l) | - | - | - | - | - |
| PerOX (μmol/l) | - | 2,94 | 6,74 | < 180 μmol/l | > 310 μmol/l |
| T-C (mg/dl) | 13,7 mg/dl | 2,74 | 3,92 | < 200 mg/dl | >240 mg/dl |
| | | 1,23 | 4,62 | | |
| TG (mg/dl) | 22,9 mg/dl | 2,90 | 5,32 | < 150 mg/dl | >200 mg/dl |
| HDL-C (mg/dl) | 2,75 mg/dl | 10,5 | 10,2 | - | - |
| Ca (mg/dl) | 1,16 mg/dl | 2,44 | 3,91 | 8.10 mg/dl | 10.4 mg/dl |
| 25(OH)D (ng/ml) | 2,89 mg/dl | 4,7 | 10,2 | < 10 ng/ml | >100 ng/ml |
| PTH (pg/ml) | 1,57 pg/ml | 6,08 | 3,6 | 9,0 pg/ml | 94,0 pg/ml |
| ICPT (ng/ml) | - | 3,0 | 10,9 | - | - |
| BDNF (pg/ml) | 80 pg/ml | < 10 | < 12 | - | - |

1.7 Metody statystyczne

W pracy zastosowano statystyki opisowe: średnie arytmetyczne (M) i odchylenia standardowe (SD) oraz mediany (Me) i odchylenia ćwiartkowe (QD) jako miary tendencji centralnej oraz rozproszenia wyników wokół wartości przeciętnych.

Zgodności rozkładu zmiennych zależnych (wskaźników biochemicznych) z rozkładem normalnym oraz jednorodności wariancji tych wskaźników w grupach osób wyodrębnionych

ze względu na poziom aktywności fizycznej oceniono odpowiednio w oparciu o testy: Shapiro-Wilka (W) i Levene'a (F) (*Stanisz, 2006*).

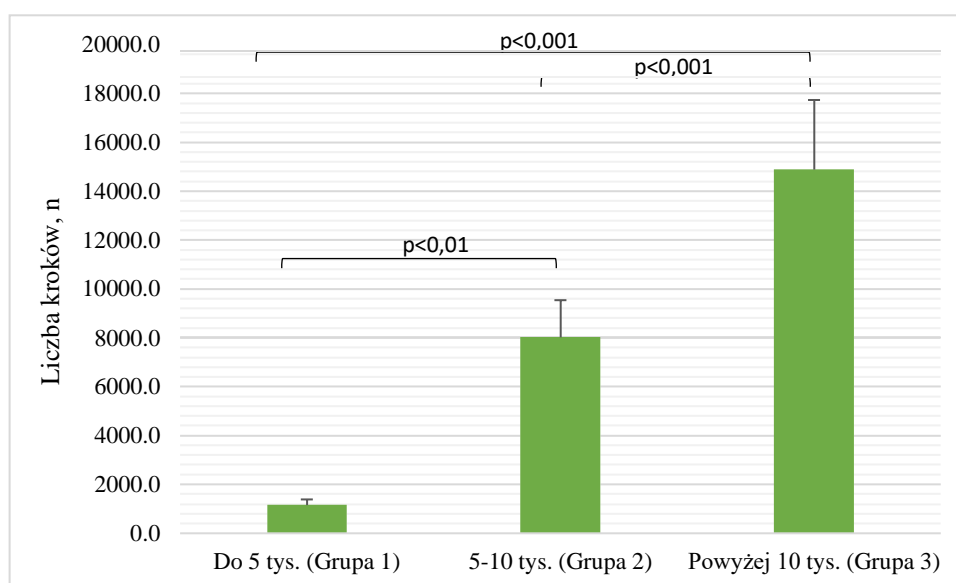
Do oceny różnic w przeciętnym poziomie wskaźników biochemicznych w grupach kobiet o zróżnicowanej aktywności fizycznej (do 5 tys., 5-10 tys. i powyżej 10 tys. kroków dziennie) zastosowano analizę wariancji rang Kruskala-Wallisa (H) oraz testy post-hoc Dunna z korektą Bonferroniego na porównanie wielokrotne (Z). Wybór tego narzędzia był podyktowany brakiem spełniania założeń ANOVA parametrycznej tj. zgodności rozkładu zmiennych zależnych z rozkładem normalnym oraz homogeniczności ich wariancji w porównywanych grupach osób o różnej aktywności fizycznej (*Stanisz, 2006*). Wyznaczono także wskaźnik wielkości efektu (wpływu) czynnika grupującego tj. poziomu aktywności fizycznej na rozpatrywane wskaźniki biochemiczne (η^2_H). Wskaźnik ten przyjmuje wartość z przedziału 0-1, a pomnożony przez 100% wskazuje procent wariancji zmiennej zależnej wyjaśniony zmienną niezależną (*Tomczak i Tomczak, 2014*). W opracowaniu przyjęto następującą klasyfikację wskaźnik wielkości efektu $\eta^2 = 0,01 - < 0,06$ efekt mały, $\eta^2 = 0,06 - < 0,14$ efekt średni, zaś $\eta^2 \geq 0,14$ efekt duży (*Cohen, 1988*).

Wnioskowanie statystyczne prowadzono na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Obliczenia statystyczne wykonano z wykorzystaniem aplikacji IBM SPSS Statistics (Version 26.0).

WYNIKI

2.1 Liczba kroków w grupach kobiet o zróżnicowanym poziomie aktywności fizycznej

Na rycinie 1 przedstawiono liczbę kroków wykazaną dla trzech grupy kobiet. Jednoczynnikowa analiza wariancji dla rang Kruskala-Wallisa wykazała statystycznie istotne różnice międzygrupowe w liczbie kroków wykonywanych w ciągu dnia przez badane kobiety ($H = 54,07$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,88$). Analiza post-hoc Dunna z korektą Bonferonniego ujawniła znamienne różnice między grupą pierwszą, a drugą ($p < 0,01$), pierwszą, a trzecią ($p < 0,001$) oraz drugą, a trzecią ($p < 0,001$).



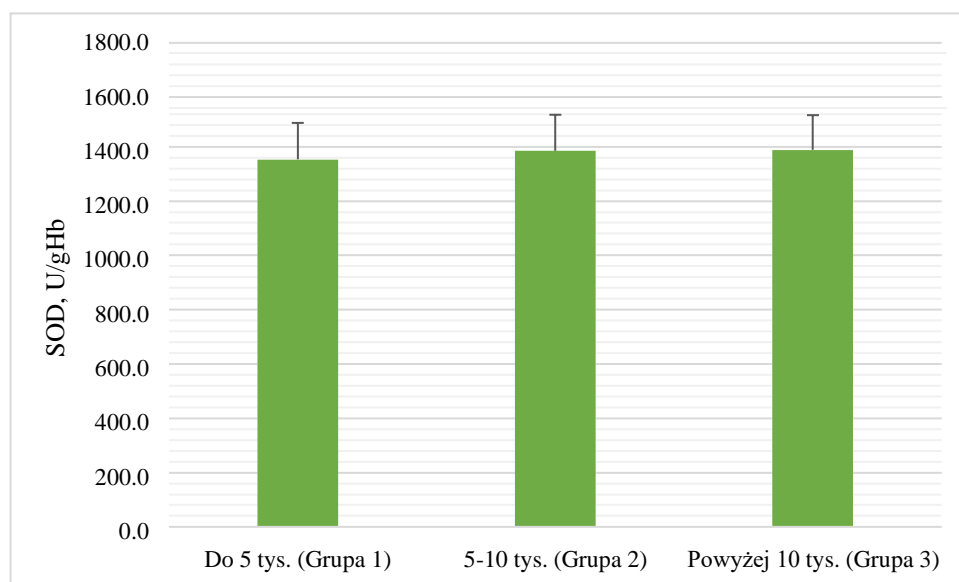
Ryc.1. Dzienna liczba kroków dla poszczególnych grup badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe.

2.2 Status antyoksydacyjny krwi u badanych kobiet o różnym poziomie aktywności fizycznej

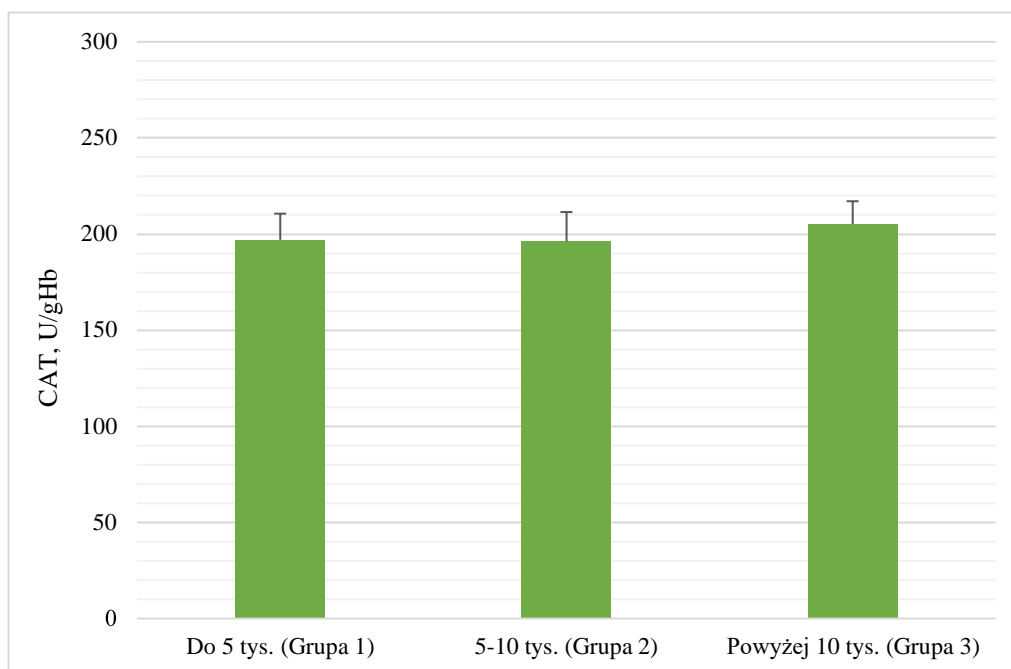
2.2.1 Enzymy antyoksydacyjne

Wyniki badań prezentujące aktywności enzymów antyoksydacyjnych (dysmutazy ponadtlenkowej – SOD, katalazy - CAT, peroksydazy glutationowej – GPx i reduktazy glutationowej – GR) odpowiednio na rycinach 1-4. Jednoczynnikowa analiza wariancji dla rang Kruskala-Wallisa nie wykazała statystycznie istotnych różnic międzygrupowych dla aktywności SOD ($H = 1.86$, $p = 0.394$, $\eta^2 < 0,01$), CAT ($H = 5.12$, $p = 0.077$, $\eta^2 = 0,05$), GPx ($H = 5.36$, $p = 0,069$, $\eta^2 = 0,06$) oraz GR ($H = 5,92$, $p = 0,052$, $\eta^2 = 0,07$).



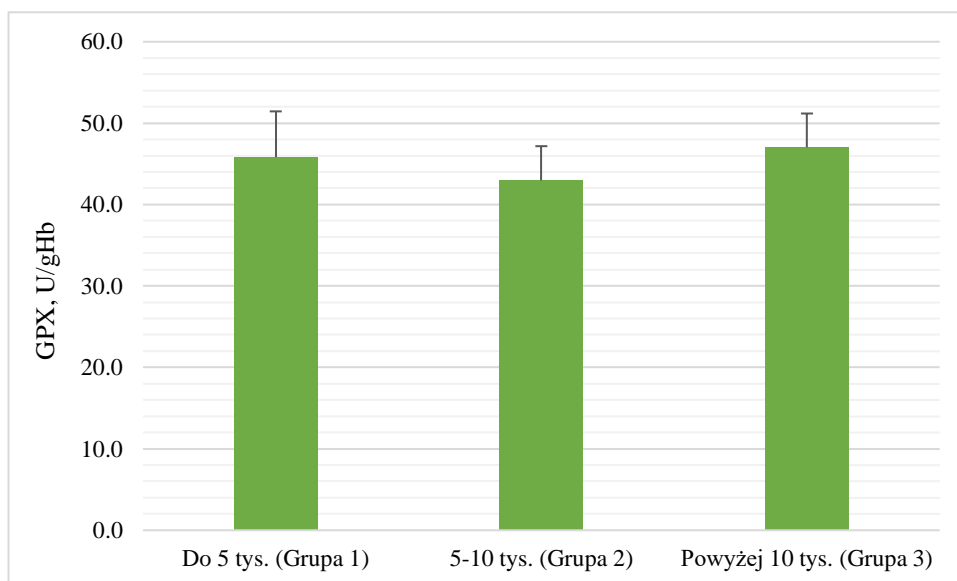
Ryc. 2. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w hemolizatach krwinek czerwonych u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, SOD – dysmutaza ponadtlenkowa



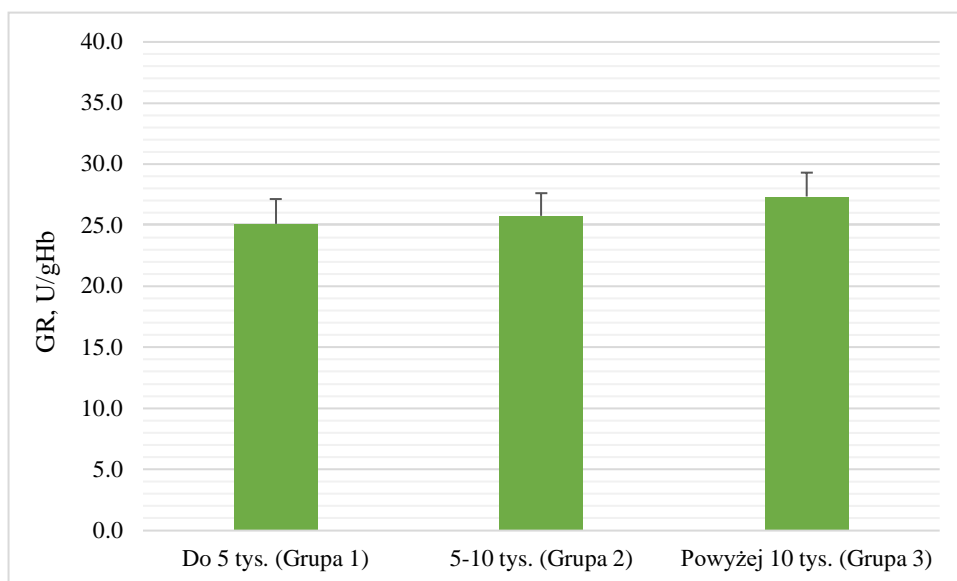
Ryc.3. Aktywność katalazy (CAT) w hemolizatach krwinek czerwonych u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, CAT - katalaza



Ryc.4. Aktywność peroksydazy glutationowej (GPx) w hemolizatach krwinek czerwonych u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, GPx – peroksydaza glutationowa



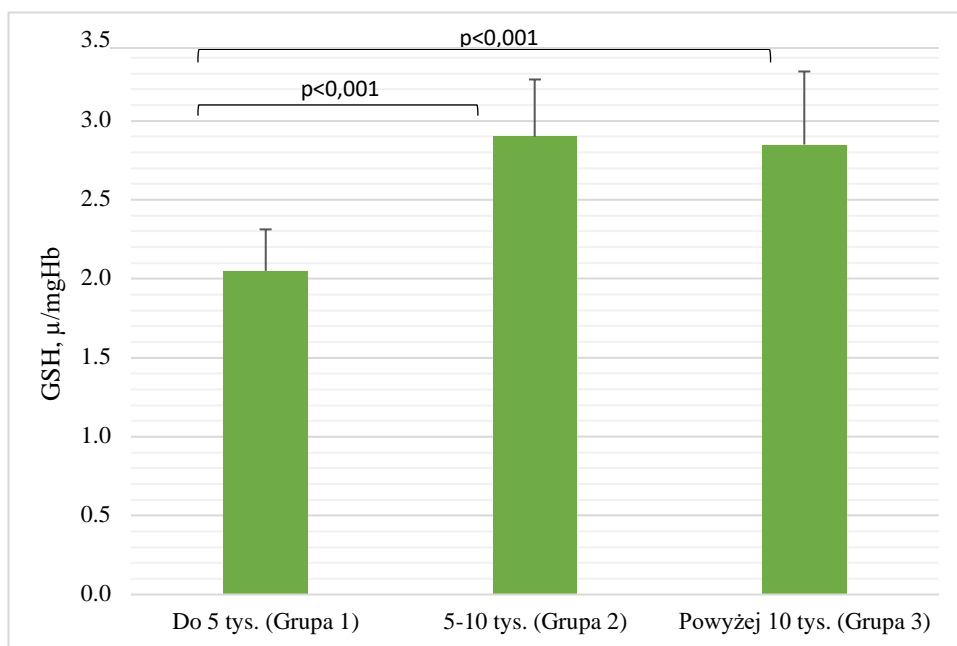
Ryc. 5 Aktywność reduktazy glutationowej (GR) w hemolizatach krwinek czerwonych u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, GR – reduktaza glutationowa

2.2.2 Antyoksydanty nieenzymatyczne

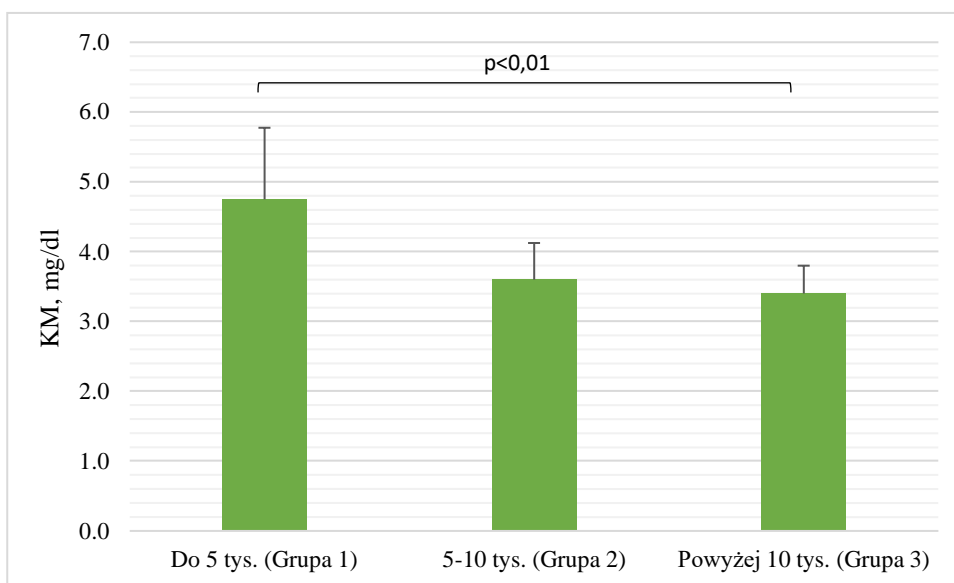
Zastosowany test Kruskala-Wallisa ujawnił, że stężenie GSH było uwarunkowane liczbą kroków ($H = 22,10$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,34$). Analiza post-hoc Dunna wskazała znamienne wyższe ($p < 0,01$) stężenia GSH w grupie drugiej i trzeciej względem grupy pierwszej.

Jednoczynnikowa analiza wariancji dla rang Kruskala-Wallisa wykazała, że stężenie KM zależy od liczby kroków ($H = 12,20$, $p = 0,002$, $\eta^2 = 0,17$) (Ryc.6). Po przeprowadzeniu testów post-hoc Dunna zaobserwowano statystycznie istotne różnice pomiędzy pierwszą a grupą trzecią ($p < 0,01$) (ryc.6).



Ryc.6 Stężenie zredukowanego glutationu (GSH) we krwi u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, GSH – zredukowany glutation

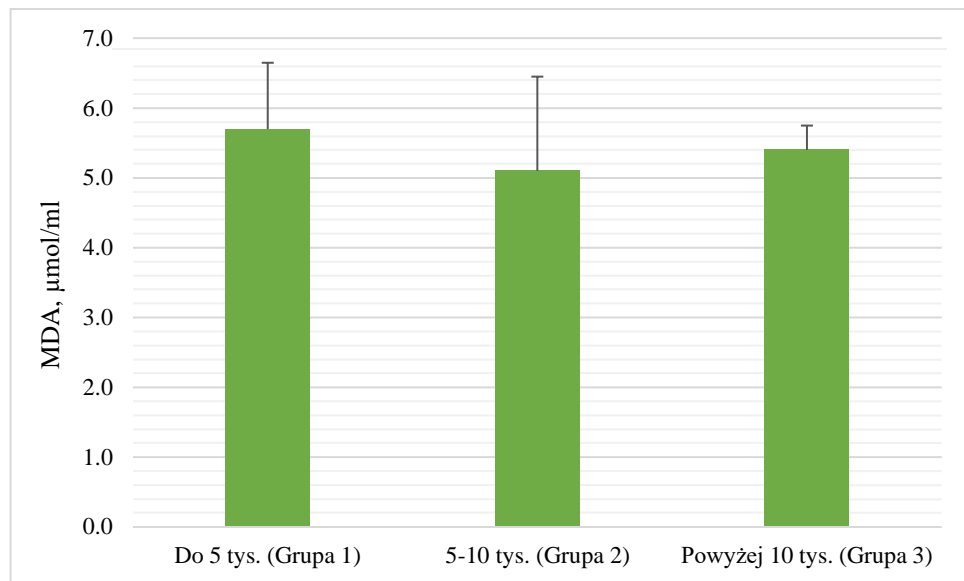


Ryc.7 Stężenie kwasu moczowego (KM) w osoczu krwi u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, KM – kwas moczowy

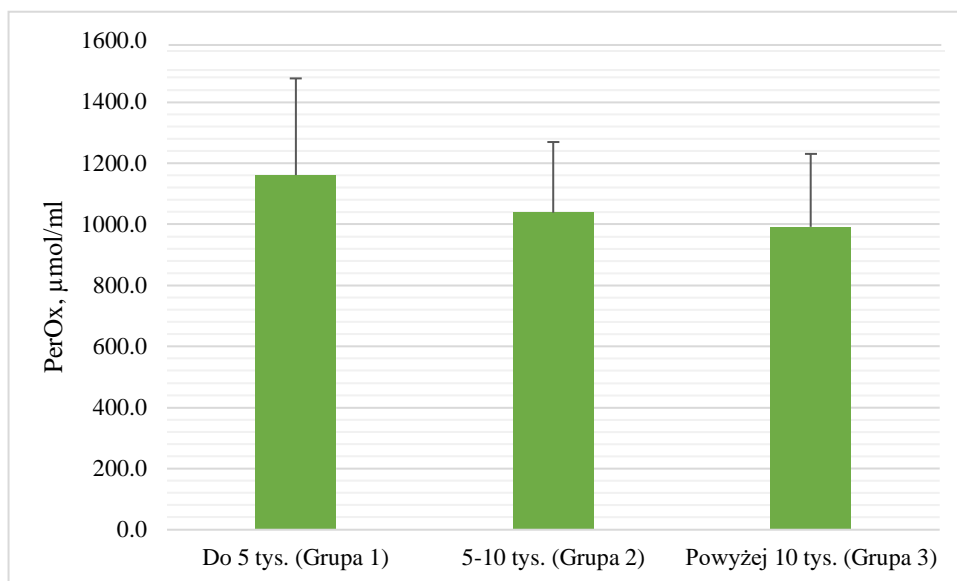
2.2.3. Markery stresu oksydacyjnego

Analiza wariancji dla rang Kruskala-Wallisa nie wykazała statystycznie istotnych różnic międzygrupowych zarówno dla stężenia MDA ($H = 0,76$, $p = 0,684$, $\eta^2 = -0,02$; Ryc.7), jak również dla PerOx ($H = 1,48$, $p = 0,476$, $\eta^2 = -0,01$; Ryc.8), chociaż w przypadku obu analizowanych wskaźników obserwowano tendencję do wyższych ich wartości w grupie pierwszej niż w grupie drugiej i trzeciej.



Ryc.8 Stężenie dialdehydu malonowego (MDA) w osoczu krwi u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, MDA – dialdehyd malonowy

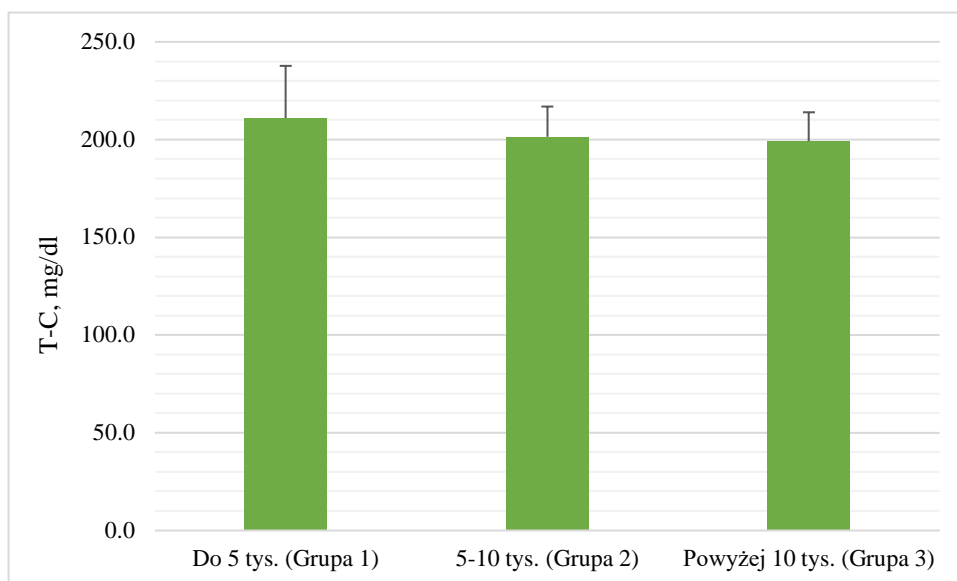


Ryc.9 Stężenie całkowitego stresu oksydacyjnego (PerOx) w surowicy krwi u kobiet
 Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, PerOx- całkowity stres oksydacyjny

2.3 Profil lipidowy krwi u badanych kobiet o różnym poziomie aktywności fizycznej

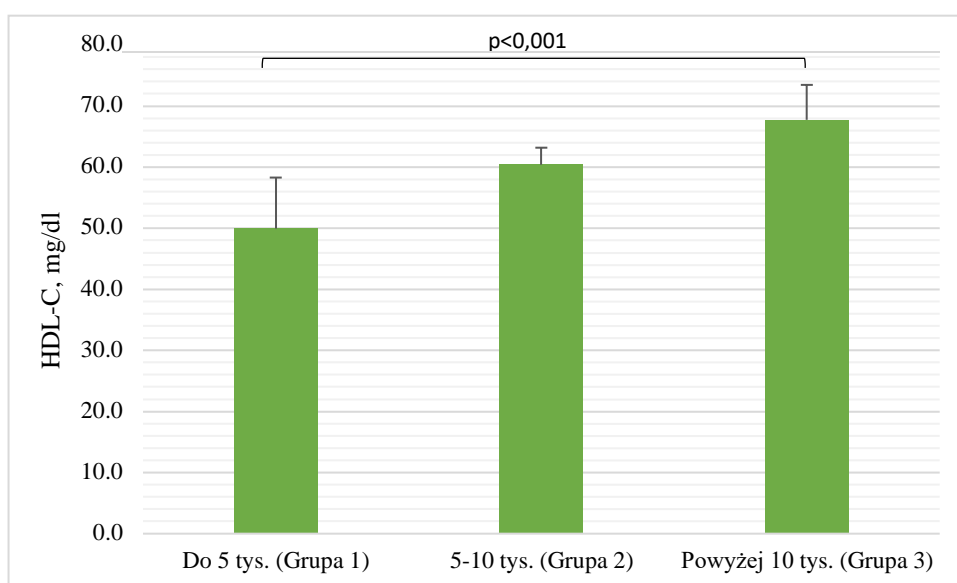
Jednoczynnikowa analiza Kruskala-Wallisa nie wykazała istotnych różnic między średnimi rangami dla stężenia T-C ($H = 14,47$, $p = 0,001$, $\eta^2 = 0,21$) (Ryc.10).

Zastosowana analiza wariancji rang Kruskala-Wallisa ujawniła, że stężenie HDL-C było zależało od poziomu aktywności fizycznej badanych kobiet ($H = 17,52$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,26$). Po przeprowadzeniu analizy post hoc stwierdzono znamienne istotne różnice pomiędzy grupą pierwszą a trzecią ($p < 0,001$) (Ryc.11).



Ryc.10 Stężenie cholesterolu całkowitego (T-C) w surowicy krwi u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, T-C – cholesterol całkowity

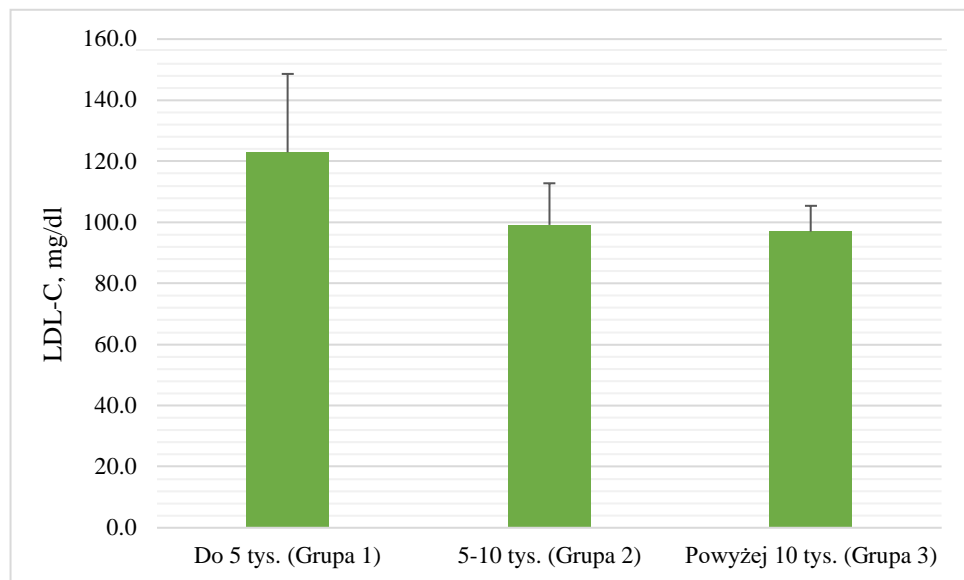


Ryc.11 Stężenie cholesterolu frakcji HDL-C w surowicy krwi u badanych kobiet.

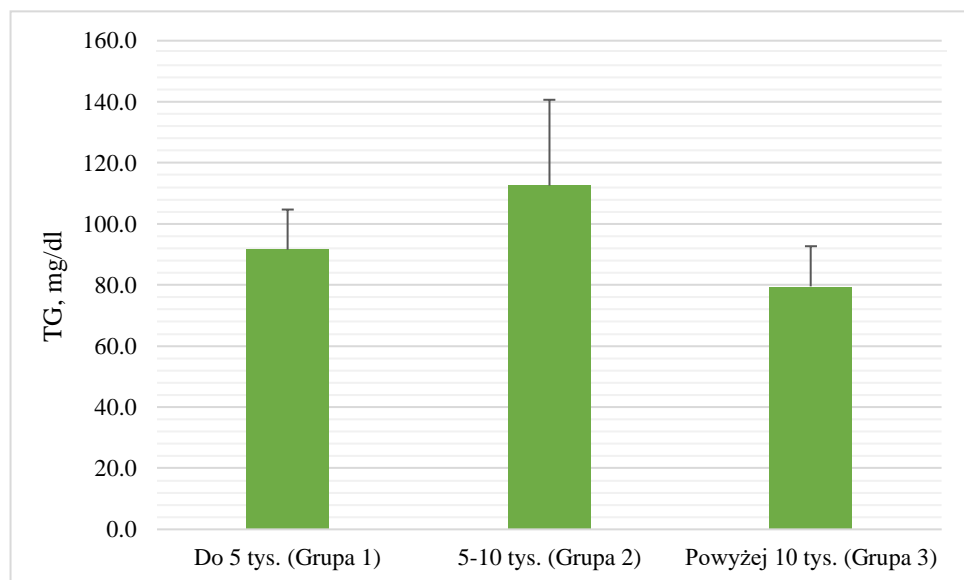
Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, HDL-C – cholesterol frakcji HDL

Analiza wariancji rang Kruskala-Wallisa nie wykazała istotnych statystycznie różnic międzygrupowych w odniesieniu do stężenia LDL-C ($H = 3,51$, $p = 0,173$, $\eta^2 = 0,03$)

(Ryc.12). W przypadku stężenia TG (Ryc.13) zaobserwowano istotne różnice między średnimi rangami ($H = 10,79$, $p = 0,005$, $\eta^2 = 0,15$) (Ryc.13). Analiza post hoc Dunna ujawniła, że znamienne stężenie TG w grupie trzeciej było znamienne niższe ($p < 0,01$) niż w grupie drugiej (Ryc.13).



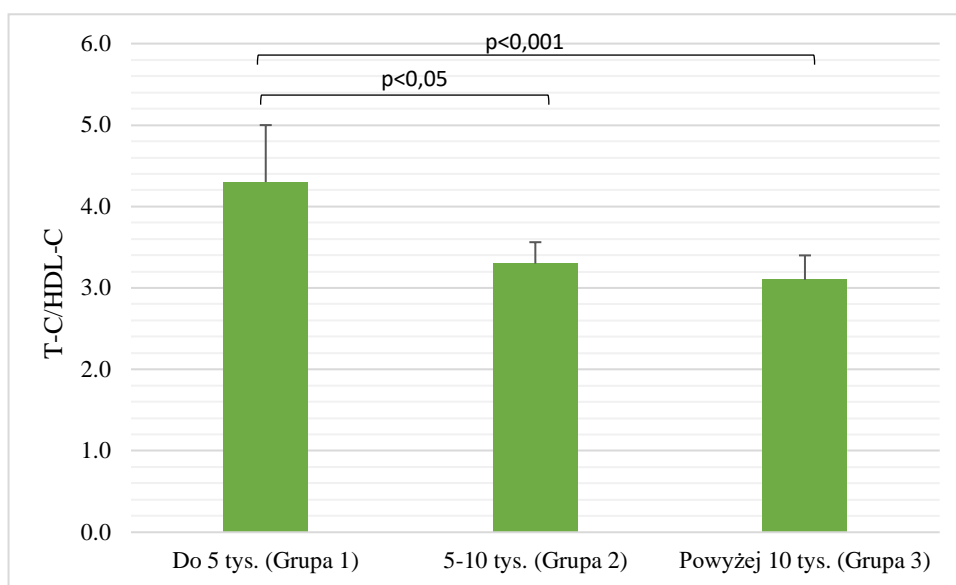
Ryc.12 Stężenie cholesterolu frakcji LDL-C w surowicy krwi u badanych kobiet.
Legenda: Me-mediana, QD – odchylenie ćwiartkowe, LDL-C – cholesterol frakcji LDL



Ryc.13 Stężenie triglicerydów (TG) w surowicy krwi u badanych kobiet.
Legenda: Me-mediana, QD – odchylenie ćwiartkowe, LDL-C – cholesterol frakcji LDL

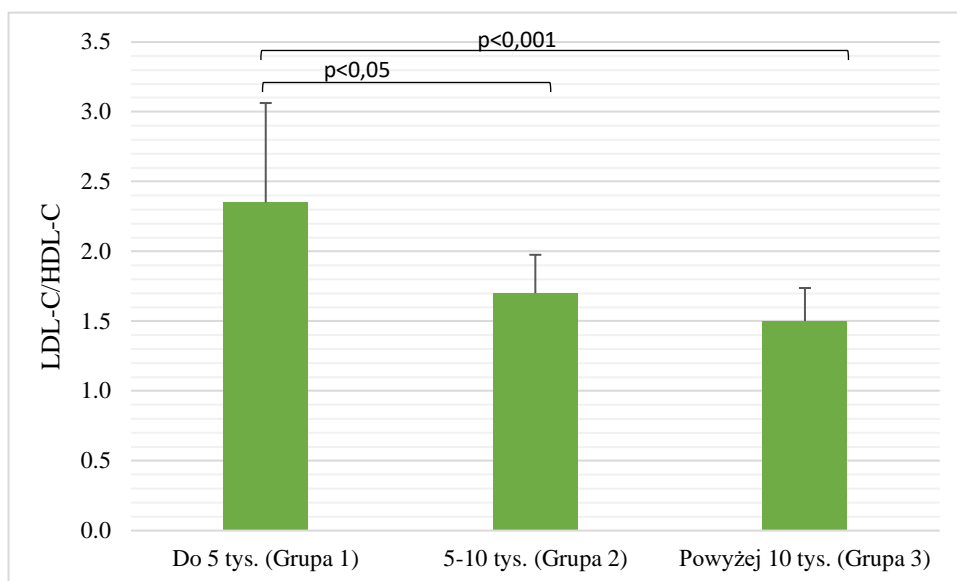
2.3.1 Wskaźniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych

Wskaźniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych tj. T-C/HDL-C, LDL-C/HDL-C i TG/HDL-C przedstawiono kolejno na rycinach 14-16. Analiza Kruskala-Wallisa wykazała, że zarówno wskaźnik TC/HDL-C ($H = 21,07$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,32$), jak również LDL-C/HDL-C ($H = 18,07$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,27$) są uwarunkowane liczbą kroków. Po przeprowadzeniu analizy post hoc dla TC/HDL-C wykazano istotne różnice pomiędzy grupą pierwszą i drugą ($p < 0,05$), a także pierwszą i trzecią ($p < 0,001$) (Ryc.13). Z kolei w przypadku LDL-C/HDL-C poziom stwierdzono statystycznie istotne różnice pomiędzy grupą pierwszą i drugą ($p < 0,05$) oraz pierwszą i trzecią ($p < 0,001$) (Ryc.14). Analiza wariancji Kruskala-Wallisa wykazała zależność pomiędzy TG/HDL a liczbą kroków ($H = 1,31$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,23$) (Ryc. 15). Po przeprowadzeniu analizy post-hoc wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy grupą pierwszą a trzecią ($p < 0,01$) i drugą a trzecią ($p < 0,01$).



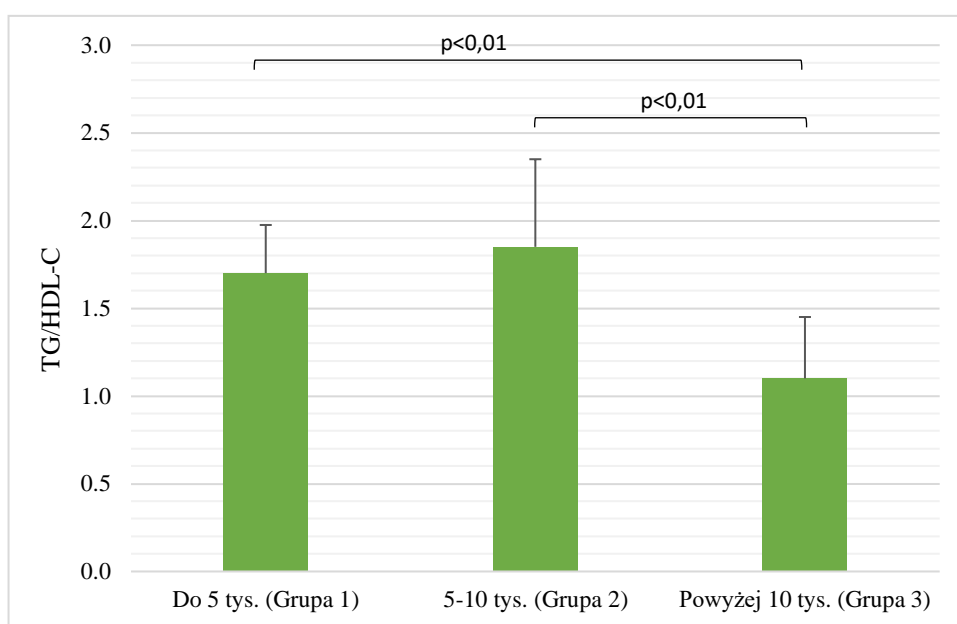
Ryc.14 Stosunek cholesterolu całkowitego (T-C) do cholesterolu frakcji HDL-C.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe



Ryc.15 Stosunek cholesterolu frakcji LDL-C do cholesterolu frakcji HDL-C.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe

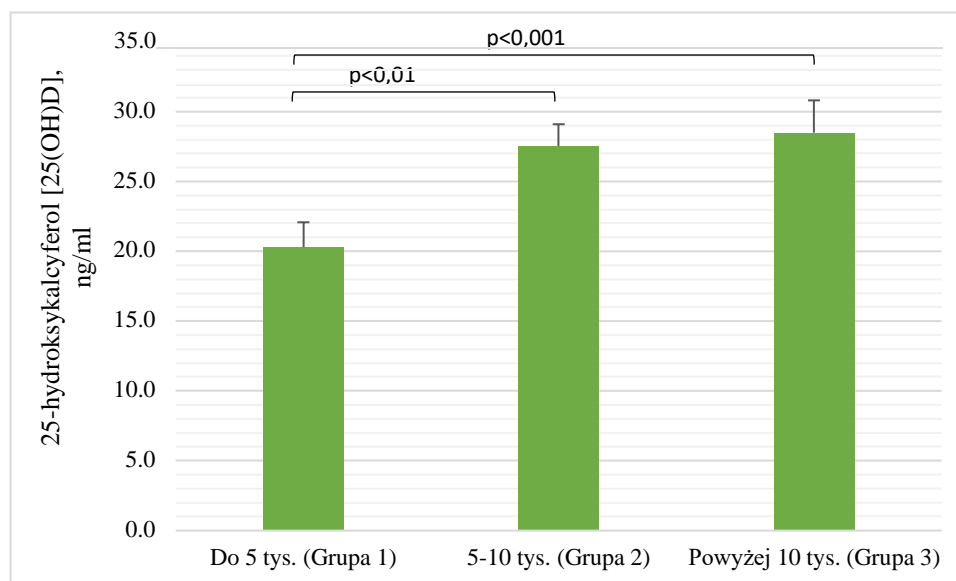


Ryc.16 Stosunek triglicerydów (TG) do cholesterolu frakcji HDL-C.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe

2.4 Gospodarka kostna u badanych kobiet o różnym poziomie aktywności fizycznej

Analiza wariancji rang Kruskala-Wallisa wykazała statystycznie istotne różnice międzygrupowe dla stężenia 25(OH)D ($H = 24,21$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,38$) (Ryc.17), podczas gdy test post-hoc Dunna z korektą Bonferroniego ujawnił statystycznie istotne różnice między grupą pierwszą a drugą ($p < 0,01$) oraz grupą pierwszą i trzecią ($p < 0,001$).

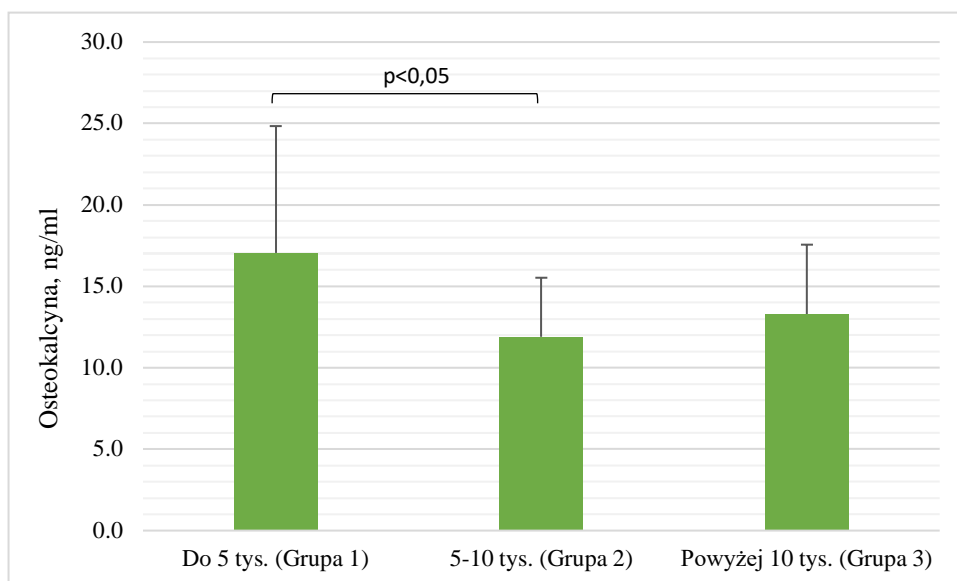


Ryc.17 Stężenie 25-hydroksykalciferolu w surowicy krwi u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, [25(OH)D] – 25-hydroksykalciferol

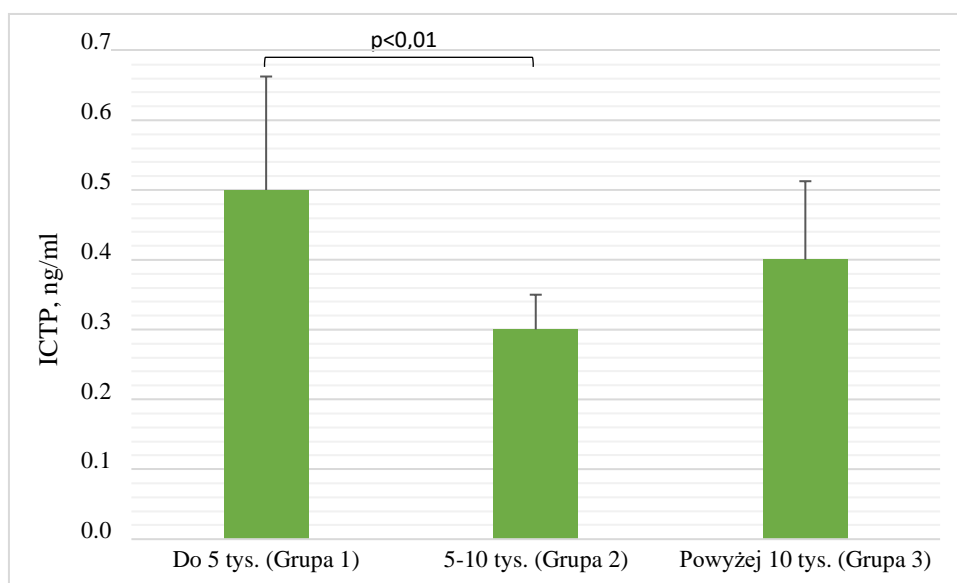
W przypadku osteokalcyny wykazano istotne różnice między średnimi rangami ($H = 7,88$, $p = 0,019$, $\eta^2 = 0,10$) statystycznie istotnie najwyższe stężenie tego wskaźnika stwierdzono w grupie pierwszej względem drugiej ($p < 0,05$) (Ryc.18).

Jednoczynnikowa analiza Kruskala-Wallisa wykazała statystycznie istotne różnice między średnimi rangami dla stężenia ICTP ($H = 12,91$, $p = 0,002$, $\eta^2 = 0,18$) (Ryc.19). Na podstawie analizy post-hoc Dunna z korektą Bonferroniego można zauważyć, że różnica między pierwszą i drugą grupą osiągnęła poziom istotności statystycznej ($p < 0,01$) (Ryc.20).



Ryc.18 Stężenie osteokalcyzny w surowicy krwi u badanych kobiet.

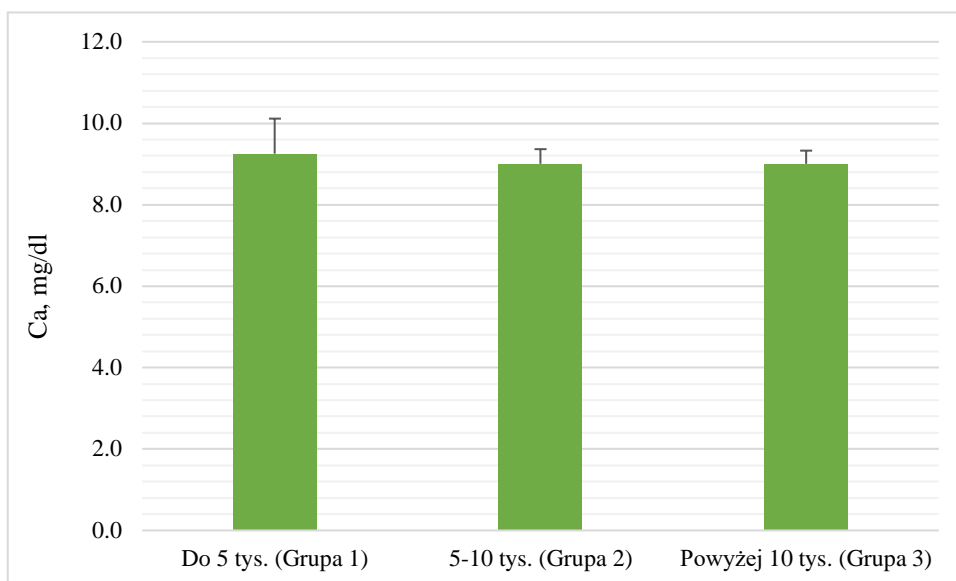
Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, [25(OH)D] – 25-hydroksykalcyferol



Ryc.19 Stężenie C-końcowego usieciowionego telopeptydu kolagenu typu I (ICTP) w surowicy krwi u badanych kobiet.

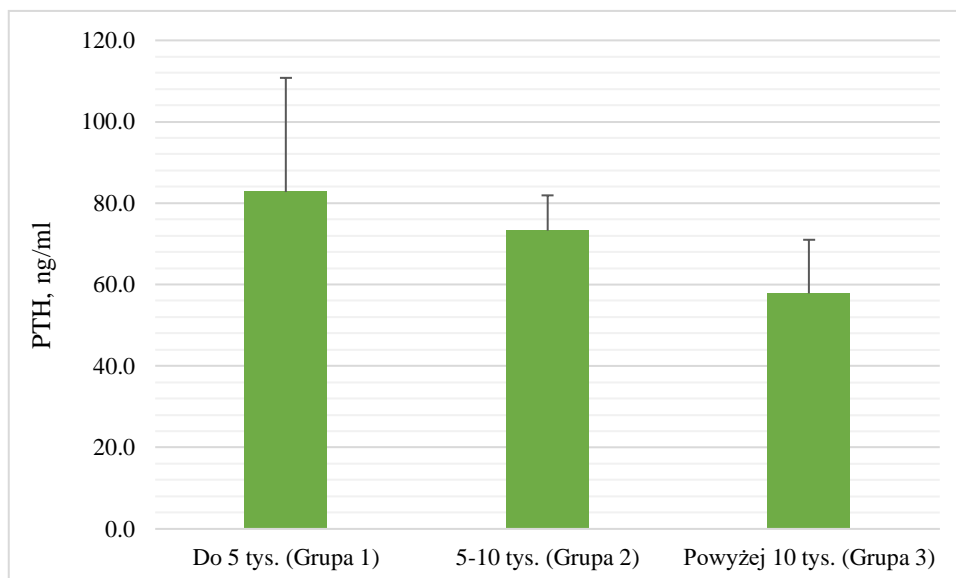
Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, ICTP - telopeptyd kolagenu typu I

Jednoczynnikowa analiza wariancji dla rang Kruskala-Wallisa nie uwidoczniła żadnych istotnych różnic międzygrupowych zarówno dla stężenia Ca ($H = 4,29$, $p = 0,117$, $\eta^2 = 0,04$), jak i PTH ($H = 5,59$, $p = 0,061$, $\eta^2=0,06$) (Ryc. 20 i 21).



Ryc.20 Stężenie wapnia (Ca) w surowicy krwi u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, ICTP - telopeptyd kolagenu typu I

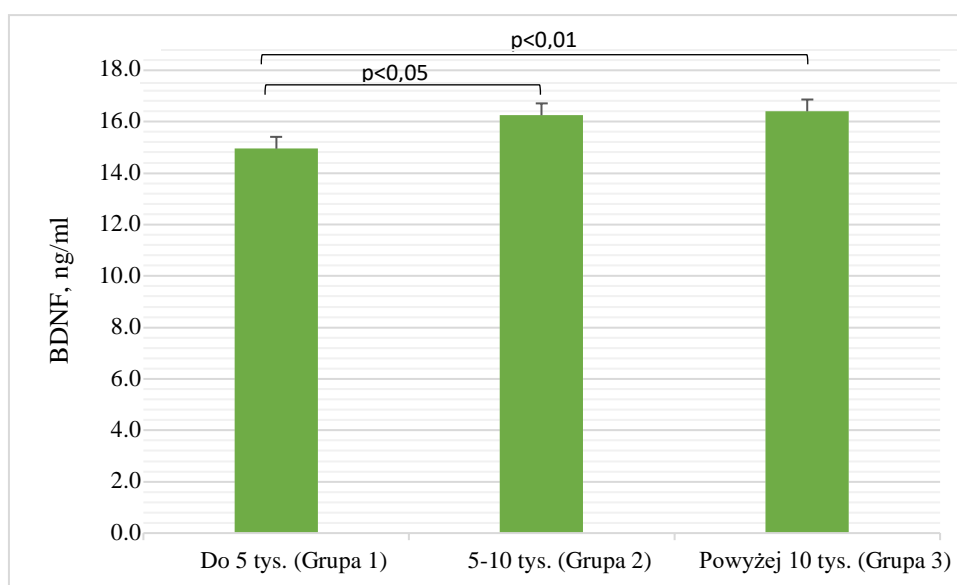


Ryc.21 Stężenie parathormonu (PTH) w surowicy krwi u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, PTH - parathormon

2.5 Stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego u kobiet o różnym poziomie aktywności fizycznej

Po przeprowadzeniu analizy Kruskala-Wallisa zaobserwowano statystycznie istotne różnice między średnimi rangami dla stężenia BDNF ($H = 14,47$, $p = 0,001$, $\eta^2 = 0,21$). Zastosowana analiza post-hoc Dunna uwidoczniła statystycznie istotnie wyższe wartości BDNF w grupie drugiej ($p < 0,05$) i trzeciej ($p < 0,01$) względem zarejestrowanych w grupie pierwszej (Ryc.22).



Ryc.22 Stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w surowicy krwi u badanych kobiet.

Legenda: Me-mediana, QD - odchylenie ćwiartkowe, BDNF - Stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego

WNIOSKI

Na podstawie uzyskanych wyników badań sformułowano następujące wnioski:

1. Podejmowanie aktywności fizycznej wywołało korzystne, chociaż w większości statystycznie nieistotne zmiany w statusie antyoksydacyjnym krwi u badanych senierek. Polegały one głównie na nieznacznym zwiększeniu stężenia zredukowanego glutationu (GSH) z jednoczesnym obniżeniem markerów stresu oksydacyjnego.
2. Aktywność fizyczna różnicuje grupy badanych kobiet pod względem wskaźników charakteryzujących gospodarkę lipidową. Wraz ze zwiększoną liczbą kroków wskaźniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych ulegają znacznej poprawie.
3. Zarejestrowane zmiany w poziomie markerów kościotworzenia i resorpcji kości u badanych kobiet wskazują na korzystną rolę aktywności fizycznej w zapobieganiu osteoporozie. Niski poziom aktywności fizycznej (<5 tys. kroków) może przyczynić się do zaburzenia metabolizmu tkanki kostnej.
4. Znamienne wzrost neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w surowicy krwi aktywnych fizycznie senierek może świadczyć o wpływie aktywności fizycznej na poprawę zdolności poznawczych u badanych kobiet.
5. Korzystny wpływ aktywności fizycznej na status antyoksydacyjny, gospodarkę lipidową i kostną oraz stężenie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) u badanych senierek pokonujących dziennie powyżej 5 tys. kroków wskazuje na jej szczególną rolę w pomyślnym starzeniu.

PIŚMIENNICTWO

1. Aparicio Vizuite A., Robles F., Rodríguez-Rodríguez E., López-Sobaler A.M., Ortega
2. Beutler E., Duron O., Kelly B.M. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-888.
3. Borelli W.V., Carmona K.C., Studart-Neto A., Nitrini R., Caramelli P., da Costa J.C. Operationalized definition of older adults with high cognitive performance. *Dement Neuropsychol* 2018; 12(3): 221-227.
4. Brown G.C. Living too long: the current focus of medical research on increasing the quantity, rather than the quality, of life is damaging our health and harming the economy. *EMBO Rep* 2015; 16(2): 137-141.
5. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (2nd ed). L. Erlbaum Associates, 1988.
6. de Meijer C., Wouterse B., Polder J., Koopmanschap M. The effect of population aging on health expenditure growth: a critical review. *Eur J Ageing* 2013; 10(4): 353-361.
7. Esliger D.W., Copeland J.L., Barnes J.D., Tremblay M.S. Standardizing and optimizing the use of accelerometer data for free-living physical activity monitoring. *J Phys Act Health* 2005; 3(3): 366-383.
8. Gong J.B., Yu X.W., Yi X.R., Wang C.H., Tuo X.P. Epidemiology of chronic noncommunicable diseases and evaluation of life quality in elderly. *Ageing Med (Milton)* 2018; 1(1): 64-66.
9. Jin K., Simpkins J.W., Ji X., Leis M., Stambler I. The Critical Need to Promote Research of Aging and Aging-related Diseases to Improve Health and Longevity of the Elderly Population. *Ageing Dis* 2014; 6(1): 1-5.
10. Kennedy B.K., Berger S.L., Brunet A., Campisi J., Cuervo A.M., Epel E.S., Franceschi C., Lithgow G.J., Morimoto R.I., Pessin J.E., Rando T.A., Richardson A., et al. Geroscience: linking aging to chronic disease. *Cell* 2014; 159(4): 709-713.
11. Levine M.E. Modeling the rate of senescence: can estimated biological age predict mortality more accurately than chronological age? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2013; 68(6): 667-674.
12. McPhee J.S., French D.P., Jackson D., Nazroo J., Pendleton N., Degens H. Physical activity in older age: perspectives for healthy ageing and frailty. *Biogerontology* 2016; 17(3): 567-580.
13. Micielska K., Gimiat A., Żychowska M., Kozłowska M., Walentukiewicz A., Lysak-

- Raadowska A., Jaworska J., Rodziewicz E., Duda-Biernacka B., Ziemann E. The beneficial effects of 15 units of high-intensity circuit training in women is modified by age, baseline insulin resistance and physical capacity. *Diab Res Clin Pract* 2019, 156-165.
14. Pietrzak M., Sygit K., Sygit M. Physical Activity as Prevention of Chronic Illnesses in Seniors. *Centr Eur J Sport Sci Med* 2016; 14(2): 79-86.
 15. Pilch W., Tota Ł., Sadowska-Krępa E., Piotrowska A., Kępińska M., Pałka T., Maszczyk. The effect of a 12-week health training program on selected anthropometric parameters and biochemical variables in middle-aged women. *Biomed Res Int.* 2017; 2017:9569513.
 16. R.M. Association between food and nutrient intakes and cognitive capacity in a group of institutionalized elderly people. *Eur J Nutr* 2010; 49(5): 293-300.
 17. Rebelo-Marques A., De Sousa Lages A., Andrade R., Ribeiro C.F., Mota-Pinto A., Carrilho F., Espregueira-Mendes J. Aging Hallmarks: The Benefits of Physical Exercise. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018; 9: 258.
 18. Rodríguez-Rodero S., Fernández-Morera J.L., Menéndez-Torre E., Calvanese V., Fernández A.F., Fraga M.F. Aging genetics and aging. *Aging Dis* 2011; 2(3): 186-195.
 19. Sadowska-Krępa E., Gdańska A., Rozpara M., Pilch W., Přidalová M., Bańkowski S. Effect of 12-Week Interventions Involving Nordic Walking Exercise and a Modified Diet on the Anthropometric Parameters and Blood Lipid Profiles in Overweight and Obese Ex- Coal Miners. *Obes Facts* 2020; 13(2): 201-212.
 20. Stanisław A. Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem Statistica PL na przykładach z medycyny. Statystyki podstawowe. StatSoft Polska 2000.
 21. Tomczak M., Tomczak E. The need to report effect size estimates revisited. An overview of some recommended measures of effect size. *Trends Sport Sci* 2014; 1(21): 19-25.
 22. Trwanie życia w 2019 r. Główny Urząd Statystyczny. Warszawa 2020.
 23. Weyh C., Krüger K., Strasser B. Physical Activity and Diet Shape the Immune System during Aging. *Nutrients* 2020; 12(3): 622.