

Akademia Wychowania Fizycznego im. Eugeniusza Piaseckiego
w Poznaniu

mgr Anna Huta-Osiecka

Rozprawa doktorska

**Wpływ czynników środowiskowych oraz aktywności fizycznej na poziom
25(OH)D oraz wybranych wskaźników metabolizmu węglowodanów i
lipidów u kobiet w wieku pomenopauzalnym**

w formie cyklu artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych



Akademia Wychowania Fizycznego
im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

Promotor:

prof. dr hab. Alicja Nowak

Promotor pomocniczy:

dr Krystian Wochna

Poznań, 2022

Spis treści	strony
Spis stosowanych w pracy skrótów.....	3
I. Autoreferat.....	4
1. Wstęp.....	6-8
2. Cele i hipotezy badań.....	8-9
3. Grupa badana i metody badań.....	10-15
3.1. Grupa badana.....	10-11
3.2. Metody badań.....	11-15
3.2.1. Pomiary antropometryczne.....	12
3.2.2. Pomiary biochemiczne.....	12-13
3.2.3. Program treningowy (publikacja druga).....	13-14
3.2.4. Analiza statystyczna.....	14-15
4. Wyniki.....	15-19
5. Dyskusja.....	19-28
6. Wnioski.....	28-29
7. Piśmiennictwo.....	30-37
II. Streszczenie/Abstract.....	38-44
III. Załączniki.....	45
1. Oświadczenia współautorów	
2. Publikacje	

Spis stosowanych w pracy skrótów

25(OH)D - 25-hydroksywitamina D, kalcydiol

BIA - analiza elektrycznej bioimpedancji

BMI - wskaźnik masy ciała

CLIA - metoda chemiluminescencyjna

DXA - absorpcjometria podwójnej energii promieniowania rentgenowskiego

EIA - metoda immunoenzymatyczna

ELISA - metoda immunoenzymatyczna

FM - masa tłuszczowa

GRA - granulocyty

HDL-C - frakcja cholesterolu HDL

HOMA-IR - wskaźnik insulinooporności - model oceny homeostazy

HRR - rezerwa tętna

LDL-C – frakcja cholesterolu LDL

LYM - limfocyty

MON - monocyty

NW - Nordic walking

PTH - parathormon

RSA - element oporowy

TC - cholesterol całkowity

TG - triglicerydy

VDR - receptor witaminy D

WBC - białe krwinki, leukocyty

I. Autoreferat

Podstawą niniejszej dysertacji doktorskiej jest cykl publikacji pod wspólnym tytułem: „Wpływ czynników środowiskowych i aktywności fizycznej na poziom 25(OH)D oraz wybranych wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów u kobiet w wieku pomenopauzalnym”, na którą składają się dwie prace opublikowane w czasopismach indeksowanych o zasięgu międzynarodowym.

1. Huta-Osiecka A., Wochna K., Kasprzak Z., Nowak A. 2021. Seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and indices of carbohydrate and lipid metabolism in postmenopausal women. PeerJ 9:e11341, doi: 10.7717/peerj.11341, Impact Factor - 2,98; punktacja MEiN - 100 pkt
2. Huta-Osiecka A., Wochna K., Stemplewski R., Marciniak K., Podgórski T., Kasprzak Z., Leszczyński P., Nowak A. 2022. Influence of Nordic walking with poles with an integrated resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood cell subpopulations in postmenopausal women. PeerJ 10:e13643 <https://doi.org/10.7717/peerj.13643>, Impact Factor - 2,98; punktacja MEiN - 100 pkt

Prace opublikowane poza cyklem:

1. Kasprzak Z., Śliwicka E., Hennig K., Pilaczyńska-Szcześniak Ł., Huta-Osiecka A., Nowak A. 2015. Vitamin D, iron metabolism, and diet in alpinists during a 2-week high-altitude climb. High Alt Med Biol. 16(3):230-235. doi: 10.1089/ham.2015.0008. Impact Factor - 1,525; punktacja MEiN - 25 pkt
2. Dalz M., Śliwicka E., Huta-Osiecka A., Nowak A. 2016. The role of physical activity in bone metabolism and osteoporosis prevention. Trends in Sport Sciences. 2(23):63-71, punktacja MEiN - 9 pkt

3. Huta-Osiecka A., Kasprzak Z., Wochna K., Nowak A. 2017. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and selected diet components in postmenopausal women. *Acta Sci Pol Technol Aliment.* 16(4):443-449. doi: 10.17306/J.AFS.0519. punktacja MEiN - 15 pkt
4. Wochna K., Nowak A., Huta-Osiecka A., Sobczak K., Kasprzak Z., Leszczyński P. 2019. Bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women subjected to an aqua fitness training program. *Int J Environ Res Public Health.* 16(14):2505. doi: 10.3390/ijerph16142505. Impact Factor - 2,849; punktacja MEiN - 140 pkt

1. Wstęp

W okresie pomenopauzalnym u kobiet dochodzi do istotnych zmian hormonalnych oraz obserwuje się zmiany metaboliczne, m.in. w metabolizmie węglowodanów i lipidów [Stachowiak i wsp. 2015]. Procesy metaboliczne regulowane są przez wiele czynników, w tym podlegają istotnemu wpływowi czynników związanych ze stylem życia. Wśród wymienionych czynników (modyfikowalnych) należy wymienić m.in. poziom aktywności fizycznej [Khalafi i wsp. 2021; Moreira i wsp. 2014; Sternfeld, Dugan, 2011]. W ostatnich latach zwrócono szczególną uwagę na oddziaływanie witaminy D na różne tkanki [Christakos i wsp. 2016] i na wiele procesów zachodzących w organizmie człowieka [Grimnes i wsp. 2011; Greco i wsp. 2019; Kayaniyil i wsp. 2010].

Witamina D wykazuje działanie plejotropowe, co potwierdza obecność receptorów witaminy D (VDRs) w wielu tkankach i narządach organizmu, między innymi w komórkach beta trzustki [Christakos i wsp. 2016] oraz w tkance tłuszczowej i wątrobie [Cimini i wsp. 2019]. Status witaminy D mierzony jest w surowicy krwi poziomem 25-hydroksywitaminy D (kalcydiol, 25(OH)D), metabolitu będącego efektem hydroksylacji witaminy D₃ w wątrobie [Jukic i wsp. 2018]. W badaniach populacyjnych potwierdzono pozytywne zależności między stężeniem 25(OH)D w surowicy krwi a wrażliwością na insulinę ocenianą różnymi metodami [Grimnes i wsp. 2011; Kayaniyil i wsp. 2010] oraz istotne związki ze wskaźnikami metabolizmu lipidowego krwi [Grimnes i wsp. 2011; Jungert i wsp. 2015].

W organizmie człowieka witamina D₃ powstaje w skórze w wyniku izomeryzacji 7-dehydrocholesterolu, która zachodzi pod wpływem promieniowania słonecznego (UVB) lub pochodzi z diety, zwłaszcza z ryb [Nakamura i wsp. 2000; Norval i wsp. 2010]. Badania niektórych autorów wykazały, że zmiana natężenia promieniowania UV w różnych porach

roku wiąże się ze zmianą stężenia 25(OH)D w surowicy krwi badanych osób [Papadakis i wsp. 2015; Andersen i wsp. 2013]. We wcześniejszych badaniach obserwowano również sezonowe (zima-lato) zmiany insulinowrażliwości i poziomu wskaźników metabolizmu lipidów, a zmiany poziomu tych wskaźników tłumaczono zmiennością temperatury zewnętrznej oraz wynikającą z tego modyfikacją diety i składu ciała [Berghlund i wsp. 2012; Skutecki i wsp. 2019]. Jednak w tych badaniach nie analizowano wpływu 25(OH)D na wymienione procesy metaboliczne.

Z literatury przedmiotu wynika, że istotnym czynnikiem modyfikującym wiele procesów metabolicznych, w tym metabolizm węglowodanów i lipidów jest regularna aktywność fizyczna o odpowiedniej intensywności [Hagner-Derengowska i wsp. 2015a i 2015b; Witkowska i wsp. 2021, Prusik i wsp. 2020, Sentinelli i wsp. 2015]. Aktywnością fizyczną chętnie podejmowaną, bezpieczną i łatwo dostępną, szczególnie dla osób dorosłych i w późniejszym okresie życia, jest Nordic walking (NW) [Bullo 2018]. Wśród wielu różnych form treningu fizycznego, NW zaliczany jest do zajęć o charakterze aerobowym, podczas których angażowane jest całe ciało, co sprzyja poprawie parametrów fizjologicznych oraz siły i sprawności mięśniowej [Perez-Soriano i wsp. 2014]. Dodatkowym atutem tej formy treningu jest wykonywanie ćwiczeń na świeżym powietrzu, co może się przyczyniać do korzystnych efektów metabolicznych poprzez zwiększenie stężenia witaminy D w organizmie [Nowak i wsp. 2020].

Nową formą NW jest marsz z kijami ze zintegrowanym elementem oporowym (ang. *resistance shock absorber*, RSA). W tym rodzaju aktywności fizycznej wprowadzona została modyfikacja kijów używanych do chodzenia. Założeniem konstrukcji kijów z RSA jest zwiększone obciążenie górnej partii ciała poprzez pracę z oporem. Marciniak i wsp. [2020] w swoich badaniach wykazali, że uczestnicy biorący udział w treningu z zastosowaniem tego rodzaju kijów wykonywali dodatkową pracę kończynami górnymi,

zwiększając w ten sposób ogólną intensywność ćwiczeń, nieporównywalną z klasyczną formą NW.

2. Cele i hipotezy badań

Celem badań niniejszej dysertacji doktorskiej była ocena zmian stężenia/poziomu wybranych wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów u kobiet po menopauzie, w odpowiedzi na sezonowe zmiany stężenia w surowicy krwi metabolitu witaminy D (25(OH)D) oraz na program treningowy NW o zróżnicowanych obciążeniach, związanych z rodzajem zastosowanych kijów. Podjęty temat badawczy wydaje się być istotny z uwagi na fakt, iż modyfikacja stężenia 25(OH)D przez czynniki środowiskowe (promieniowanie UVB) i systematycznie podejmowana aktywność fizyczna, mogą istotnie wpływać na stężenie/poziom niektórych wskaźników biochemicznych (m.in. metabolizmu węglowodanów i lipidów). Poznanie wymienionego zjawiska może zatem być istotne w przypadku wskaźników używanych rutynowo dla oceny stanu zdrowia.

W pierwszej publikacji, zmiany poziomu wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów oraz 25(OH)D w okresie obserwacji były dodatkowo analizowane w zależności od wartości wskaźnika masy ciała (BMI, ang. *body mass index*). W tym celu, w oparciu o wartość wskaźnika BMI, wydzielono dwie grupy kobiet.

W drugiej publikacji, w analizie odpowiedzi na program treningowy wymienionych wcześniej wskaźników metabolicznych, dodatkowo obserwowano ich reakcję w zależności od wartości wybranych cech somatycznych (całkowitej masy ciała, BMI i masy tłuszczowej) i stężenia w surowicy krwi 25(OH)D, mierzonych przed podjęciem aktywności fizycznej (pierwszy termin badań). Ponadto, poza wymienionymi wskaźnikami metabolicznymi, dodatkowo oceniono liczbę białych krwinek i wybranych ich subpopulacji.

Podczas realizacji badań sformułowano następujące hipotezy:

Publikacja pierwsza

1. Stężenie w surowicy krwi 25(OH)D zmniejsza się w okresie od końca września/początku października do połowy grudnia u kobiet, które w tym czasie nie przyjmują preparatów zawierających witaminę D.
2. Istnieje związek między sezonową zmianą stężenia w surowicy krwi 25(OH)D i stężeniem/poziomem wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów.
3. Zmiany stężenia w surowicy krwi 25(OH)D zależne są od masy ciała.

Publikacja druga

1. Udział kobiet po menopauzie w systematycznych zajęciach Nordic walking modyfikuje stężenie/poziom wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów oraz liczbę białych krwinek i ich subpopulacji.
2. Stopień modyfikacji poziomu badanych wskaźników metabolicznych związany jest z rodzajem stosowanych kijów, NW i RSA, które różnicują obciążenia wysiłkiem fizycznym.
3. W okresie badań (zima, luty - kwiecień) nie wystąpią zmiany w stężeniu 25(OH)D w surowicy krwi.
4. Stężenie w surowicy krwi 25(OH)D, oznaczone przed przystąpieniem do programu treningowego, oraz wybrane cechy somatyczne determinują odpowiedź ocenianych wskaźników metabolicznych na zastosowaną aktywność fizyczną.

3. Grupa badana i metody badań

3.1. Grupa badana

Badania zostały zatwierdzone przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu nr 901/17 (publikacja pierwsza) oraz nr 1041/18 i 245/19 (publikacja druga). W obu badaniach brały udział kobiety w wieku pomenopauzalnym. Wszystkie uczestniczki zostały poinformowane o celu badań i zastosowanych metodach oraz przedstawiły pisemną zgodę na udział w badaniu.

Publikacja pierwsza

Do badań zgłosiło się 38 kobiet po menopauzie, deklarujących dobry stan zdrowia i nie stosujących hormonalnej terapii zastępczej. Na podstawie zebranych danych do kolejnych etapów nie zakwalifikowano osób, które deklarowały występowanie cukrzycy, insulinooporności, chorób wątroby, stosowanie preparatów modyfikujących metabolizm lipidów, pobyt za granicą w krajach o dużym nasłonecznieniu w okresie krótszym niż dwa tygodnie poprzedzającym badanie oraz systematyczne uczestnictwo w zajęciach związanych z podejmowaniem aktywności fizycznej. Badane osoby poproszono, aby w okresie obserwacji nie przyjmowały preparatów zawierających witaminę D oraz nie wprowadzały zmian w stylu życia (aktywność fizyczna, dieta) w okresie badań. Uczestniczki, które nie przestrzegły protokołu, zostały wykluczone z badań. Ostatecznie do analizy statystycznej zostało włączonych 16 kobiet w wieku średnio $62 \pm 4,76$ lat. Kobiety zostały przydzielone do dwóch grup w oparciu o wskaźnik BMI (według Babiarczyk i Turbiarz, 2012): grupa A (n=10) osoby z prawidłowym BMI oraz grupa B (n=6) osoby z BMI powyżej wartości referencyjnych.

Publikacja druga

Po wstępnej ocenie w badaniach wzięło udział 40 kobiet po menopauzie. Kobiety zostały losowo, przy pomocy komputera, przydzielone do dwóch grup w zależności od rodzaju

stosowanych kijów - klasycznych (NW) lub ze zintegrowanym elementem oporowym (RSA). Przydziału do grup dokonała osoba niezaangażowana w prowadzeniu badań. W celu uzyskania informacji na temat stylu życia, chorób, stosowanych leków i suplementów posłużono się kwestionariuszem. Z dalszych etapów wykluczono kobiety, które deklarowały stosowanie hormonalnej terapii zastępczej, leki modyfikujące metabolizm lipidów, występowanie cukrzycy lub chorób wątroby, a także brano pod uwagę czy kobiety nie przebywały za granicą w krajach o dużym nasłonecznieniu w ciągu dwóch tygodni poprzedzających badanie. Z analizy statystycznej dodatkowo wykluczono osoby, które nie przestrzegały protokołu badania, czyli nie wykazały się odpowiednią frekwencją podczas treningów marszowych lub deklarowały w tym okresie regularne uczestnictwo w innych zajęciach związanych z aktywnością fizyczną. Ostatecznie do analizy badawczej zakwalifikowano 23 kobiety (NW: n = 15, RSA: n = 8) w wieku średnio $66 \pm 3,65$ lat. Osoby biorące udział w badaniu deklarowały, że nie uczestniczyły wcześniej w zorganizowanych zajęciach Nordic walking.

3.2. Metody badań

Dla potrzeb pierwszej publikacji badania zostały przeprowadzone w okresie od końca września/początku października (pierwszy termin badań) do połowy grudnia (drugi termin badań). W okresie między wymienionymi terminami badań kobiety zostały poproszone o nie stosowanie preparatów z witaminą D oraz nie zmienianie swojego stylu życia (sposób żywienia, aktywność fizyczna).

Dla potrzeb drugiej publikacji badania przeprowadzono w okresie od lutego (pierwszy termin badań) do kwietnia (drugi termin badań). W okresie między wymienionymi terminami kobiety uczestniczyły w programie treningowym NW z zastosowaniem dwóch rodzajów kijów (opis treningu poniżej).

W obu publikacjach, w pierwszym i drugim terminie badań, u uczestniczek oceniono wybrane cechy somatyczne oraz masę tłuszczową i pobierano krew do analizy biochemicznej.

Dla potrzeb badań obu publikacji oceniono stężenie w surowicy krwi wybranych wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów oraz metabolitu witaminy D (25(OH)D), a także w pierwszej publikacji dodatkowo oznaczono stężenie parathormonu i sklerostyny, natomiast w drugiej publikacji liczbę krwinek białych (WBC) i ich subpopulacji.

3.2.1. Pomiary antropometryczne

W badaniach prezentowanych w obu publikacjach masę i wysokość ciała mierzono certyfikowanym urządzeniem Radwag (Radom, Polska) z dokładnością do 0,5 cm. Zawartość masy tłuszczowej dla potrzeb pierwszej publikacji oceniano metodą bioimpedancji elektrycznej (BIA, analizator Tanita BC 418-MA), natomiast w drugiej publikacji oceniano za pomocą metody densytometrycznej z zastosowaniem podwójnej absorpcjometrii rentgenowskiej (ang. *dual energy X-ray absorptiometr, DXA*) przy użyciu densytometru Lunar Prodigy Advance, General Electric, USA. Wartość wskaźnika masy ciała (BMI) dla potrzeb obu publikacji obliczono ze wzoru: masa ciała (kg) / wysokość ciała² (m²), z uwzględnieniem wartości referencyjnych zgodnie z zaleceniami Komisji ds. Diety i Zdrowia (ang. *Committee on Diet and Health*) [Babiarczyk, Turbiarz, 2012].

3.2.2. Pomiary biochemiczne

Krew do analiz biochemicznych pobierano z żyły łokciowej rano, na czczo, w godzinach od 7:30 do 9:30, a następnie odwirowywano w celu uzyskania surowicy. Surowicę przechowywano w temperaturze -70°C do czasu wykonania analiz biochemicznych. Stężenie 25(OH)D w surowicy oznaczono metodą chemiluminescencyjnego testu immunochemicznego (CLIA) (LIAISON® 25OH Vitamin D TOTAL Assay, DiaSorin Inc, USA, czułość 4 ng/ml). Stężenie glukozy oraz wskaźników metabolizmu lipidów (TC, cholesterol całkowity; TG, triglicerydy; HDL-C, cholesterol o wysokiej gęstości lipoprotein; LDL-C, cholesterol o niskiej gęstości lipoprotein) oznaczono przy pomocy testów firmy Cormay, Polska (czułość testów wynosiła odpowiednio 0,41 mg/dl, 1,95 mg/dl, 1,4 mg/dl, 1,1 mg/dl, 3,9 mg/dl) oraz analizatora

ACCENT 220s. Do oznaczenia stężenia insuliny zastosowano metodę immunoenzymatyczną ELISA (Insulin ELISA, DRG Instruments GmbH, Niemcy, czułość 1,76 μ IU/ml). Wskaźnik insulinooporności HOMA-IR (model oceny homeostazy ang. *Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*) obliczono za pomocą wzoru opracowanego przez Matthews i wsp. [1985]: $HOMA-IR = (Insulina [\mu IU/ml] \times Glukoza [mmol/l]) / 22,5$.

Dla potrzeb pierwszej publikacji, metodą immunoenzymatyczną ELISA również oznaczono stężenie parathormonu (PTH) (parathormon Intact ELISA, DRG Instruments GmbH, Niemcy, czułość 1,57 pg/ml) oraz metodą EIA stężenie sklerostyny (Human Sclerostin HS EIA Kit, TECOmedical Groupe, QUIDEL, USA, czułość 0,008 ng/ml).

Dla potrzeb drugiej publikacji oznaczono liczbę krwinek białych i wybranych subpopulacji: limfocyty (LYM), monocyty (MON) i granulocyty (GRA) z zastosowaniem 20-parametrycznego automatycznego analizatora hematologicznego Mythic® 18 (Orphée, Genewa, Szwajcaria).

3.3.3. Program treningowy - publikacja druga

Program treningowy trwał 8 tygodni, treningi odbywały się dwa razy w tygodniu, łącznie 16 sesji. Kobiety zostały przydzielone do dwóch grup w zależności od rodzaju stosowanych kijów: klasycznych (grupa NW) i kijów ze zintegrowanym elementem oporowym o wytrzymałości 4 kg (grupa RSA). Kije RSA (Slimline BungyPump, Sport Progress International AB, Szwecja) posiadają wbudowany amortyzator o łącznej długości 20 cm, zatem marsz z kijami RSA prowadzi do innego ustawienia kończyn górnych w porównaniu do marszu z klasycznymi kijami (NW). Po naciśnięciu drążka RSA mięśnie wykonują dodatkową pracę, aby pokonać opór elastycznego amortyzatora. Wciśnięcie amortyzatora zmienia długość tyczki, która po maksymalnym skróceniu jest taka sama jak w klasycznych kijach NW [Marciniak i wsp. 2021]. Każda sesja treningowa rozpoczynała się rozgrzewką, która trwała 10–15 min. Po każdej połowie zaplanowanego dystansu (ok. 1,7–2,2 km, w tempie ok. 1 km na 10 min)

uczestniczki wykonywały ćwiczenia siłowe oraz trening równowagi (15 min), natomiast na koniec każdej sesji treningowej - ćwiczenia rozciągające (15 min). W trakcie sesji stopniowo zwiększano dystans marszu z 3,5 do 4,5 km, a liczbę wykonywanych ćwiczeń z 8 do 12 powtórzeń. Długość trasy została oceniona wcześniej za pomocą aplikacji Endomondo. Wymagana frekwencja w programie treningowym to uczestnictwo w 13 sesjach, co stanowi 80% jednostek treningowych. Przed interwencją, podczas 60-minutowej sesji instruktażowej, uczestniczki zostały zapoznane ze sprzętem i przeszkolone w zakresie prawidłowej techniki marszu. Szkolenie zostało przeprowadzone przez instruktora (z uprawnieniami Polskiego Związku Nordic Walking); badane kobiety spacerowały alejkami parku, po urozmaiconym terenie. W dalszym etapie program treningowy został przeprowadzony pod opieką tego samego instruktora [Marciniak i wsp. 2020].

3.3.4. Analiza statystyczna

W obu publikacjach dane przedstawiono jako średnią, odchylenie standardowe (SD), medianę i rozstęp międzykwartyłowy. Normalność rozkładów zweryfikowano testem Shapiro-Wilka. Do oceny istotności różnic między grupami dla zmiennych o rozkładzie normalnym zastosowano test t, natomiast dla zmiennych które nie miały normalnego rozkładu - test U Manna-Whitney'a. Dla oceny istotności różnic w czasie trwania badań (pomiędzy dwoma terminami pomiarów) dla zmiennych o rozkładzie normalnym zastosowano test t, natomiast dla zmiennych, które nie miały normalnego rozkładu - test Wilcoxon. Dla obliczenia współczynników korelacji wykorzystano analizę Pearsona (dla zmiennych o rozkładzie normalnym) oraz analizę rang Spearmana (dla zmiennych, które nie miały normalnego rozkładu). Założono, że jeżeli wystąpią istotne różnice zmiennych w okresie badań (czas) i między grupami kobiet (grupa), to zastosowana będzie analiza powtórzonych pomiarów ANOVA 2 x 2 (grupa x czas).

Istotność statystyczną ustalono na poziomie alfa 0,05 dla wszystkich procedur statystycznych. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu oprogramowania do analizy danych Dell Statistica (wersja 13, software.dell.com; Dell Inc., Round Rock, TX, USA).

4. Wyniki

Zastosowane w obu publikacjach obliczenia statystyczne dotyczyły analizy zmian i korelacji zmiennych zarówno w całych grupach badanych kobiet (publikacja pierwsza $n = 16$, publikacja druga $n = 23$), jak i w grupach wydzielonych w pierwszej publikacji na podstawie wskaźnika BMI, a w drugiej publikacji na podstawie rodzaju kijów używanych podczas marszu.

Publikacja pierwsza

W całej grupie badanych kobiet analiza porównawcza zmiennych pomiędzy terminami badań wykazała istotne zmniejszenie stężenia 25(OH)D ($p \leq 0,0001$), insuliny ($p = 0,0243$), HOMA-IR ($p = 0,0284$). Nie stwierdzono istotnych zmian w zakresie cech somatycznych i pozostałych wskaźników biochemicznych (Tabela 1).

W Tabeli 2 przedstawiono statystyki opisowe cech somatycznych i wskaźników biochemicznych obu badanych grup kobiet, wydzielonych na podstawie wartości wskaźnika BMI oraz zamieszczono tam wyniki analizy porównawczej zmiennych między tymi grupami w dwóch terminach badań i analizy porównań zmiennych między terminami badań dla każdej grupy badanych kobiet. Analiza porównawcza cech somatycznych i wskaźników biochemicznych między grupami kobiet w pierwszym terminie badań wykazała istotnie niższe wartości całkowitej masy ciała ($p = 0,0201$), BMI ($p = 0,0014$), masy tłuszczowej (FM%, $p = 0,0046$) i glukozy ($p = 0,0255$) w grupie A w porównaniu z grupą B. Tendencję do istotności różnic odnotowano dla wskaźnika HOMA-IR ($p = 0,0596$). Analiza porównawcza cech

somatycznych i wskaźników biochemicznych pomiędzy tymi grupami, w drugim terminie badań, wykazała istotnie niższe wartości całkowitej masy ciała ($p = 0,0180$), BMI ($p = 0,0020$), FM (kg, $p = 0,0200$; %, $p = 0,0029$), glukozy ($p = 0,0393$) w grupie A w porównaniu z grupą B. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami A i B w zakresie pozostałych cech somatycznych i wskaźników biochemicznych.

Analiza porównawcza cech somatycznych i wskaźników biochemicznych pomiędzy terminami badań u kobiet z grupy A i grupy B wykazała istotne zmniejszenie stężenia 25(OH)D (odpowiednio $p = 0,0009$ i $p = 0,0039$), a średnia wartość tego wskaźnika zmalała na koniec badań o odpowiednio 17,8% i 23% w grupie A i B (Rycina 1).

Analiza porównawcza zmian (Δ) cech somatycznych i wskaźników biochemicznych w okresie badań (pomiędzy terminami I i II) pomiędzy dwiema grupami kobiet (A i B) nie wykazała istotnych różnic.

Dla wszystkich badanych kobiet, jak i grup wydzielonych na podstawie wskaźnika BMI, przeprowadzono analizę zależności cech somatycznych i wskaźników biochemicznych oraz ich zmian między terminami badań. Wyniki tych zależności zostały szczegółowo przedstawione w publikacji, natomiast w autoreferacie omówiono tylko wybrane korelacje. Dla całej grupy kobiet analiza nie wykazała zależności między zmianą stężenia 25(OH)D w okresie obserwacji (Δ) a wskaźnikami somatycznymi i biochemicznymi ocenianymi na początku badań (w I terminie badań). Stwierdzono jedynie tendencję do dodatniej korelacji między zmianą (Δ) stężenia 25(OH)D i stężeniem insuliny w pierwszym terminie badań ($r = 0,44$, $p = 0,0888$). Natomiast oceniając zależności dla każdej badanej grupy kobiet (A i B), w grupie A stwierdzono istotny dodatni związek zmian (Δ) stężenia 25(OH)D (zmniejszenie między terminami I i II) z masą ciała ($r=0,70$, $p=0,0249$) mierzoną w pierwszym terminie badań. W przypadku FM, mierzonej w pierwszym terminie badań, zaobserwowano dodatnie zależności tej zmiennej ze zmianą (Δ) stężenia 25(OH)D (obniżenie średniej wartości między terminami

I i II) w grupie A (FM [%] $r = 0,74$, $p = 0,0135$; FM [kg] $r = 0,79$, $p = 0,0062$) i ujemne w grupie B (FM [%] $r = -0,89$, $p = 0,0187$; FM [kg] $r = -0,84$, $p = 0,0342$, Rycina 2). Na podstawie uzyskanych wyników analizy korelacji można stwierdzić, że w grupie A spadek stężenia 25(OH)D w okresie badań jest większy, gdy wartość masy tłuszczowej jest większa, natomiast w grupie B im większa wartość masy tłuszczowej, tym mniejszy spadek stężenia 25(OH)D.

Analiza zależności przeprowadzona dla całej grupy kobiet ($n=16$) wykazała istotne ujemne korelacje zmian (Δ) stężenia glukozy między terminami badań oraz tendencję do korelacji zmian (Δ) stężenia insuliny, zmian (Δ) HOMA-IR ze stężeniem sklerostyny mierzonym w pierwszym terminie ($r = -0,50$, $p = 0,0490$; $r = -0,48$, $p = 0,0621$; $r = -0,45$, $p = 0,0825$, odpowiednio). Wykazano również zależność zmiany między terminami badań (Δ) stężenia glukozy ze zmianą (Δ) stężenia sklerostyny ($r=0,64$, $p=0,0076$).

Publikacja druga

W Tabeli 1 przedstawiono statystyki opisowe cech somatycznych i wskaźników metabolicznych oraz liczby subpopulacji krwinek białych w grupie badanych kobiet ($n = 23$) w dwóch terminach badań. Analiza porównawcza wymienionych zmiennych pomiędzy terminami badań wykazała istotne zmiany w zakresie całkowitej masy ciała ($p = 0,0153$), BMI ($p = 0,0099$), masy tłuszczowej (%; $p = 0,0169$; kg; $p = 0,0371$), insuliny ($p = 0,0036$), HOMA-IR ($p = 0,0101$), TG ($p = 0,0455$), TC ($p = 0,0101$), WBC ($p = 0,0001$), LYM ($p = 0,0055$), MON ($p < 0,0001$), GRA ($p = 0,0152$). W przypadku pozostałych zmiennych nie odnotowano istotnych zmian.

Analiza porównawcza wyżej wymienionych zmiennych pomiędzy grupami kobiet (RSA i NW) zarówno w pierwszym, jak i drugim terminie badań nie wykazała istotnych różnic. Analiza porównawcza cech somatycznych i wskaźników biochemicznych pomiędzy terminami badań, w grupie kobiet stosujących kije RSA wykazała istotne zmiany w zakresie

masy tłuszczowej (% , $p = 0,0066$; kg, $p = 0,0142$), stężenia insuliny ($p = 0,0326$), HOMA-IR ($p = 0,0267$), TG ($p = 0,0117$), TC ($p = 0,0430$) i MON ($p = 0,0038$). Natomiast w grupie kobiet, które stosowały klasyczne kije (NW), stwierdzono istotne zwiększenie całkowitej masy ciała ($p = 0,0049$) i BMI ($p = 0,0047$) oraz zmniejszenie liczby WBC ($p = 0,0004$), LYM ($p = 0,0271$), MON ($p < 0,0001$) i GRA ($p = 0,0169$).

Pomiędzy grupami kobiet, stosujących dwa rodzaje kijów (RSA i NW) stwierdzono tendencję do interakcji (grupa x czas) w stężeniu HDL-C [$F(1,21) = 4,2689$; $p = 0,0514$] i w liczbie WBC [$F(1,21) = 3,7441$; $p = 0,0666$].

W całej grupie kobiet ($n=23$) przeprowadzono analizę zależności dla całkowitej masy ciała, BMI, masy tłuszczowej (% i kg) oraz 25(OH)D przed programem treningowym (pierwszy termin badań) ze zmianami (Δ) po programie treningowym stężenia/poziomu wskaźników metabolicznych (glukoza, insulina, HOMA-IR, TC, LDL-C, HDL-C, TG) oraz liczby WBC i ich subpopulacji (LEU, MON, GRA). Analiza statystyczna wykazała jedynie istotną korelację całkowitej masy ciała w pierwszym terminie badań ze zmianą (Δ) stężenia glukozy ($p = 0,0482$).

W całej grupie kobiet stwierdzono liczne zależności zmian (Δ) pomiędzy terminami badań w odniesieniu do cech somatycznych, stężenia/poziomu wskaźników metabolicznych oraz liczby WBC i ich subpopulacji. Zaobserwowano między innymi dodatnie korelacje zmian (Δ) masy tłuszczowej [%] ze zmianą (Δ) liczby LYM ($r = 0,52$, $p = 0,011$); zmian (Δ) stężenia insuliny ze zmianą (Δ) liczby WBC ($r = 0,54$, $p = 0,008$) i zmianą (Δ) liczby GRA ($r = 0,53$, $p = 0,009$); zmian (Δ) HOMA-IR ze zmianą (Δ) liczby WBC ($R=0,056$, $p=0,006$) i zmianą (Δ) liczby GRA ($r = 0,56$, $p = 0,005$). Stwierdzono ujemne korelacje zmian (Δ) masy tłuszczowej [% i kg] ze zmianą (Δ) liczby WBC (odpowiednio $r = -0,56$, $p = 0,005$ oraz $r = -0,47$, $p = 0,025$), zmianą (Δ) liczby GRA (odpowiednio $r = -0,64$, $p = 0,001$

oraz $r = -0.52$, $p = 0,012$); zmiany (Δ) stężenia insuliny ze zmianą (Δ) liczby LYM ($r = -0,46$, $p = 0,26$); zmiany (Δ) HOMA-IR ze zmianą (Δ) LYM ($r = -0,47$, $p = 0,024$). Zaobserwowano również liczne zależności zmian (Δ) zmiennych między terminami badań dla każdej z grup kobiet wydzielonych ze względu na rodzaj stosowanych kijów (RSA i NW), które przedstawione zostały w tekście publikacji.

5. Dyskusja

Publikacja pierwsza

W niniejszej publikacji, u kobiet po menopauzie, został zaobserwowany istotny spadek stężenia 25(OH)D w okresie koniec września/początek października do połowy grudnia (w całej grupie badanych kobiet średnia wartość zmniejszyła się o około 19,7%, a mediana o 20,8%). Biorąc pod uwagę fakt, że witamina D bierze udział w metabolizmie węglowodanów i lipidów zakładano, że w okresie objętym badaniem wystąpią również niekorzystne zmiany w odniesieniu do tych procesów. Paradoksalnie, mimo obniżenia stężenia 25(OH)D w surowicy krwi kobiet wystąpiła u nich poprawa insulinowrażliwości, wyrażona obniżeniem stężenia insuliny oraz wskaźnika insulinooporności (HOMA-IR). Stężenie pozostałych wskaźników metabolicznych nie uległo istotnym zmianom.

Dla uzyskania odpowiedzi na pytanie, czy sezonowe zmiany stężenia 25(OH)D i wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów będą zależne od masy ciała, dokonano podziału kobiet na dwie grupy: z prawidłowym wskaźnikiem BMI oraz ze wskaźnikiem BMI powyżej wartości referencyjnych dla danego wieku [według Babiarczyk i Turbiarz, 2012]. Istotną obserwacją niniejszych badań było wystąpienie w dwóch grupach kobiet, wydzielonych w zależności od wskaźnika BMI, związku między sezonowymi zmianami stężenia 25(OH)D, a procentową zawartością masy tłuszczowej, mierzoną w pierwszym terminie badań (koniec września/początek października). Na podstawie uzyskanych wyników zaobserwowano, że kierunek tych korelacji jest zróżnicowany w obu badanych grupach. U kobiet z prawidłową

wartością wskaźnika BMI (grupa A) spadek stężenia 25(OH)D był większy, im większa była wartość masy tłuszczowej, natomiast u kobiet z wartością BMI powyżej wartości referencyjnych (grupa B) im większy był odsetek masy tłuszczowej, tym mniejszy obserwowano spadek stężenia 25(OH)D. Uzyskane wyniki badań trudne są do wyjaśnienia i wymagają dalszych analiz, szczególnie z możliwością włączenia do badań większej liczby osób. Badania niektórych autorów wykazały bowiem związek niskiego stężenia w surowicy 25(OH)D z masą tłuszczową [Tosunbayraktar i wsp. 2005] oraz z całkowitą zawartością witaminy D w tkance tłuszczowej, zarówno u osób otyłych, jak i z prawidłową masą ciała [Carrelli i wsp. 2017]. Carrelli i wsp. [2017], którzy wykorzystali biopsję tkanki tłuszczowej, wysunęli hipotezę, że duża ilość tej tkanki u otyłych kobiet (w wieku 18-70 lat) jest rezerwuarem witaminy D. Zawartość witaminy D w tkance tłuszczowej może zatem predysponować osoby otyłe do obniżonego poziomu 25(OH)D w surowicy krwi. W badaniach własnych, mimo że nie zaobserwowano istotnego związku stężenia 25(OH)D z procentową zawartością masy tłuszczowej w całej grupie kobiet, w obu terminach badań, to jednak potwierdzono zależność między sezonową zmianą (Δ) stężenia 25(OH)D a zawartością masy tłuszczowej (FM, %) w obu grupach kobiet, wydzielonych w oparciu o wskaźnik BMI. Interesujący jest jednak odmienny kierunek tych korelacji w badanych grupach.

W niniejszym badaniu nie zaobserwowano związku między stężeniem w surowicy krwi 25(OH)D i wskaźnikami metabolizmu lipidów, ani istotnych zmian w profilu lipidowym krwi, w okresie od końca września/początku października do połowy grudnia. Badania innych autorów wykazały jednak zależność stężenia 25(OH)D z TC, HDL-C, LDL-C [Jungert i wsp. 2015] oraz z TG [Grimnes i wsp. 2011]. Jungert i wsp. [2015] zaobserwowali te zależności tylko przy stężeniu 25(OH)D większym/równym 62 nmol/l, niezależnie od składu ciała i stylu życia. Co więcej, Grimnes i wsp. [2011] stwierdzili, że dodatkowa suplementacja witaminą D nie miała wpływu na stężenie TG i innych wskaźników lipidowych.

W prezentowanych badaniach, jak wspomniano wcześniej, nastąpiło istotne zmniejszenie stężenia insuliny i poziomu HOMA-IR w okresie od końca września/początku października do połowy grudnia, co wskazuje na poprawę insulinowrażliwości. Sezonowe zmiany wrażliwości na insulinę i profilu lipidowego krwi obserwowali też inni autorzy w badaniach osób starszych [Berglund i wsp. 2012; Skutecki i wsp. 2019]. Wymienieni autorzy tłumaczyli swoje wyniki zmiennością temperatury zewnętrznej oraz nawykami żywieniowymi, prowadzącymi do zmian w składzie ciała, nie brali jednak pod uwagę zmian stężenia 25(OH)D. W badaniach przeprowadzonych dla potrzeb niniejszej dysertacji doktorskiej, z uwagi na znajomość problemu, iż witamina D ma wpływ na metabolizm węglowodanów i lipidów, spodziewano się zmian metabolicznych w przeciwnym kierunku do obserwowanych (szczególnie w zakresie metabolizmu węglowodanów). Z literatury przedmiotu wynika, że witamina D moduluje homeostazę glikemiczną poprzez regulację wydzielania insuliny przez komórki β i usprawnianie transportu glukozy do tkanek [Greco i wsp. 2019; Girgis i wsp. 2013]. Wykazano, że 1,25(OH)₂D₃ w istotny sposób przyczynia się do ekspresji receptorów insulinowych, sygnalizacji insuliny w mięśniach szkieletowych oraz zmniejszenia hiperglikemii i hiperinsulinemii [Girgis i wsp. 2013]. W badaniach własnych nie zidentyfikowano jednak istotnych korelacji pomiędzy stężeniem 25(OH)D a ocenianymi wskaźnikami metabolizmu węglowodanów; odnotowano jedynie tendencję do dodatniej korelacji zmian (Δ) stężenia 25(OH)D ze stężeniem insuliny mierzonym w pierwszym terminie badań ($p = 0,0888$). Może to wskazywać na większy spadek stężenia 25(OH)D u osób z mniejszą wrażliwością na insulinę. Zauważono również tendencję do dodatniej zależności między spadkiem (Δ) stężenia 25(OH)D a spadkiem (Δ) stężenia insuliny ($p = 0,0969$) w okresie obserwacji.

Poprawa insulinowrażliwości (obniżenie stężenia insuliny i poziomu HOMA-IR) w prezentowanych badaniach w okresie od końca września/początku października do połowy grudnia (wbrew zakładanym hipotezom i pomimo obniżenia stężenia 25(OH)D) może wynikać

z wpływu kilku czynników. Skutecki i wsp. [2019] sugerują, iż na wymienione procesy może mieć wpływ obniżenie temperatury zewnętrznej w okresie zimowym i w związku z tym zwiększenie podstawowej przemiany materii prowadzącej do redukcji masy ciała. Wymienieni autorzy sugerują również, iż w populacji polskiej w okresie przedświątecznym, w związku z obyczajami kulturowymi, może dochodzić do pewnych zmian w zakresie przyjmowania pokarmów, co również może modyfikować poziom mierzonych wskaźników metabolicznych. Należy podkreślić, że drugi termin badań niniejszej publikacji, opracowanej na potrzeby dysertacji doktorskiej, został przeprowadzony w okresie przedświątecznym (w połowie grudnia), co mogło mieć wpływ na polepszenie statusu wskaźników metabolizmu węglowodanów, niezależnie od kierunku zmian poziomu 25(OH)D.

Dodatkowo w prezentowanych badaniach oceniono stężenie PTH i sklerostyny. Nie odnotowano istotnych zmian stężenia wymienionych wskaźników między terminami badań. PTH jest głównym stymulatorem hydroksylacji witaminy D w nerkach, z kolei witamina D wywiera negatywny wpływ na wydzielanie PTH [Heaney, 2008]. Sklerostyna jest glikoproteiną produkowaną przez osteocyty i w mniejszym stopniu przez inne typy komórek (nerki, naczynia krwionośne). Poprzez hamowanie kanonicznego szlaku sygnałowego Wnt/ β -katenina jest ona negatywnym regulatorem aktywności osteoblastów [Clarke, Drake, 2013]. Czynnikiem, który modyfikuje poziom tej cząsteczki jest aktywność fizyczna, a niski jej poziom lub unieruchomienie stymulują jej syntezę [Janik i wsp. 2018]. Brak istotnych zmian stężenia sklerostyny w badaniach przeprowadzonych dla potrzeb dysertacji doktorskiej może sugerować, że badane kobiety nie podejmowały dodatkowej aktywności fizycznej w okresie obserwacji. Poza aktywnością związaną z resorpcją kości, sklerostyna jest również zaangażowana w metabolizm węglowodanów [Daniele i wsp. 2015]. Na taki związek mogą wskazywać istotne ujemne korelacje, jakie zaobserwowano w prezentowanych badaniach między stężeniem sklerostyny w pierwszym terminie badań, a zmianą stężenia glukozy między

terminami badań oraz wysoka dodatnia korelacja między zmianą stężenia sklerostyny, a zmianą stężenia glukozy w okresie obserwacji. Daniele i wsp. [2015] wykazali, że stężenie sklerostyny jest zwiększone u pacjentów w stanie przedcukrzycowym i koreluje z poziomem insuliny i insulinoopornością, mierzonymi za pomocą doustnego testu tolerancji glukozy (OGGT) oraz klamry euglikemiczno-hiperinsulinemicznej. Wymienieni autorzy doszli do wniosku, że w początkowej fazie nietolerancji glukozy i insulinooporności sklerostyna może odgrywać rolę w działaniu insuliny na tkanki i jej klirensie oraz wysunęli hipotezę, że może ona brać udział w regulacji metabolizmu glukozy w wątrobie poprzez szlak Wnt. W badaniu kohortowym, Yu i wsp. [2017] zaobserwowali związek między stężeniem sklerostyny, a stężeniem insuliny na czczo i wskaźnikiem HOMA-IR, ale nie stwierdzili wyraźnego związku z ryzykiem wystąpienia cukrzycy typu 2.

Publikacja druga

Z literatury przedmiotu wynika, że odpowiedni poziom aktywności fizycznej pomaga w utrzymaniu dobrego stanu zdrowia [Khalafi i wsp. 2021; Moreira i wsp. 2014; Sternfeld, Dugan, 2011]. Badania niektórych autorów wykazały, że systematyczny trening marszowy Nordic walking podejmowany przez kobiety po menopauzie, czy w starszym wieku, wpłynął korzystnie na wybrane cechy somatyczne i poziom wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów [Hagner-Derengowska i wsp. 2015a i 2015b; Prusik i wsp. 2020; Witkowska i wsp. 2021].

W niniejszych badaniach, po okresie treningu marszowego, w całej grupie badanych kobiet (grupa stosująca kije NW i RSA), stwierdzono istotną poprawę stężenia/poziomu wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów. Należy zauważyć, że poprawa w zakresie wymienionych wskaźników nastąpiła pomimo stosunkowo krótkiego czasu trwania interwencji treningowej (8 tygodni). Zaobserwowano obniżenie stężenia insuliny i

poziomu wskaźnika HOMA-IR, co świadczy o poprawie insulinowrażliwości, a także obniżenie stężenia wskaźników metabolizmu lipidów (TC i TG) oraz masy tłuszczowej (kg i %). Odnotowano również istotne obniżenie liczby WBC i jej subpopulacji (LYM, MON, GRA). Celem badań przeprowadzonych dla potrzeb niniejszej dysertacji była ocena wpływu treningu marszowego z użyciem kijów RSA w porównaniu do efektów z użyciem kijów klasycznych, powodujących zróżnicowane obciążenia wysiłkiem fizycznym. Zastosowany program treningowy przyczynił się do istotnych zmian stężenia/poziomu wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów jedynie w grupie kobiet stosujących kije RSA (obniżenie stężenia TG, TC, insuliny i poziomu wskaźnika HOMA-IR), u których obserwowano również niewielką modyfikację masy tłuszczowej. Uzyskane wyniki badań sugerują, że obciążenia stosowane przy użyciu kijów RSA są bardziej efektywne w odniesieniu do wskaźników metabolicznych niż stosowanie klasycznych kijów NW. Pippi i wsp. [2020] w swoich badaniach porównujących efekty różnych programów treningowych w grupach osób otyłych z cukrzycą i bez cukrzycy (45-65 lat) wykazali, że program NW i program z zastosowaniem ćwiczeń siłowych były równie skuteczne w poprawie niektórych parametrów somatycznych i fizjologicznych (masa ciała, skład ciała, elastyczność mięśni i poziom VO_{2max}). Jednakże tylko w przypadku treningu NW autorzy zaobserwowali istotną poprawę stężenia HbA_{1c} , cholesterolu całkowitego i HDL.

W prezentowanym badaniu oceniana była liczba WBC i ich subpopulacji (LYM, MON, GRA). Poza tym, że WBC są komórkami układu odpornościowego i nieswoistymi wskaźnikami stanu zapalnego, wykazano, że są one związane z metabolizmem węglowodanów [Lorenzo i wsp. 2014; Vozarova i wsp. 2002]. W badaniu przeprowadzonym w populacji Indian Pima, Vozarova i wsp. [2002] zaobserwowali, że wysoka liczba WBC wiązała się ze zmniejszoną wrażliwością na insulinę; autorzy zasugerowali zatem, że przewlekła aktywacja układu odpornościowego może odgrywać

rolę w patogenezie cukrzycy typu 2. Ponadto, w badaniu Insulin Resistance Atherosclerosis Study, prowadzonym przez 5 lat w różnych grupach etnicznych (56% kobiet; wiek 40-69 lat), stwierdzono, że u osób u których występowało zwiększone ryzyko cukrzycy, podwyższona była całkowita liczba WBC, neutrofilów (NEU) i LYM; liczba LYM była związana z wrażliwością na insulinę, liczba NEU i MON z subklinicznym stanem zapalnym, a całkowita liczba WBC zarówno z wrażliwością na insulinę, jak i subklinicznym stanem zapalnym [Lorenzo i wsp. 2014]. W badaniu przeprowadzonym dla potrzeb niniejszej dysertacji doktorskiej, obniżenie (Δ) liczby WBC i GRA po okresie programu treningowego korelowało ze spadkiem (Δ) poziomu wskaźnika insulinowrażliwości (HOMA-IR), co potwierdza zależność między tymi wskaźnikami. Należy jednak zaznaczyć, że istotne obniżenie liczby WBC i ich subpopulacji (LYM, MON, GRA) mieściło się w granicach wartości referencyjnych.

Podobne zmiany w odniesieniu do WBC odnotowano w badaniu z udziałem nieaktywnych zawodowo kobiet po menopauzie, z nadwagą i otyłością, o średniej wieku 57 lat; zaobserwowano, że trening aerobowy (chód na bieżni i jazda na ergometrze w pozycji półleżącej) przez 6 miesięcy (intensywność 50% VO_{2max}) przyczynił się do zmniejszenia liczby WBC i NEU w badanej grupie, przy czym spadek ten był największy w grupie o największym obciążeniu treningowym [Johannsen i wsp. 2012]. Zróżnicowana odpowiedź subpopulacji WBC na program treningowy w grupach kobiet NW i RSA w prezentowanych badaniach jest trudna do wyjaśnienia, ale można wnioskować, że specyfika obciążenia treningowego odgrywa istotną rolę w modyfikacji odpowiedzi układu odpornościowego; wymaga to jednak dalszych badań.

W odniesieniu do stężenia 25(OH)D, nie zaobserwowano zmian tego metabolitu podczas okresu treningowego, zarówno w całej grupie badanych kobiet ($n = 23$), jak i porównując grupy RSA i NW. Pilch i wsp. [2016], w badaniach przeprowadzonych u kobiet

w wieku powyżej 55 lat stwierdzili, że zastosowanie 6. tygodniowego treningu NW, podejmowanego późną jesienią, przyczyniło się do obniżenia stężenia we krwi 25(OH)D. Autorzy zasugerowali, że obniżenie poziomu 25(OH)D mogło być wynikiem zmniejszonej biosyntezy witaminy D w skórze (ze względu na zmniejszającą się intensywność promieniowania UV w okresie badania), albo zaangażowania tej witaminy w metabolizm mięśni. Z tego względu, w badaniach przeprowadzonych dla potrzeb niniejszej dysertacji doktorskiej, program treningowy został przeprowadzony w okresie zimowym, założono, że natężenie promieniowania UV w tym czasie nie ulegnie istotnej zmianie. Andersen i wsp. [2013], w badaniach przeprowadzonych w populacji duńskiej, w okresie luty-kwiecień, zaobserwowali niskie stężenie 25(OH)D w związku z niską intensywnością promieniowania UV w tym okresie (podobna szerokość geograficzna, jak w Polsce). Dlatego też w prezentowanych badaniach sformułowana została hipoteza, że okres przeprowadzenia badania pozwoli na uniknięcie sezonowych zmian stężenia 25(OH)D w surowicy krwi badanych kobiet, umożliwiając tym samym obserwację poziomu tego wskaźnika i ocenę ewentualnych zmian w odpowiedzi na obciążenie wysiłkiem fizycznym. W badaniach innych autorów sugerowano, że aktywność fizyczna może modyfikować poziom witaminy D. Na przykład Fernandes i Barreto Junior [2017] zasugerowali, że aktywność fizyczna może mieć wpływ na uzyskanie wyższego poziomu witaminy D w populacji, ponieważ obserwując wyniki badań innych autorów stwierdzili, że poziom tej witaminy był wyższy u bardziej aktywnych osób; autorzy stwierdzili, że zjawisko to wymaga jednak dalszych badań. Podsiadło i wsp. [2021], u kobiet w wieku 65-74 lat, po uczestniczeniu w treningu Nordic walking na świeżym powietrzu (3 razy w tygodniu po 60 minut), w okresie od kwietnia do czerwca, stwierdzili zwiększone stężenie witaminy D ($p < 0,0001$); w grupie kontrolnej nie zaobserwowali istotnych zmian. W świetle tych wyników autorzy zasugerowali, że aktywność fizyczna o średniej intensywności,

podejmowana na świeżym powietrzu (z ekspozycją na słońce), pozytywnie wpływa na poziom witaminy D; jednak biorąc pod uwagę inne badania, doszli do wniosku, że aktywność w pomieszczeniach (bez bezpośredniej ekspozycji na światło słoneczne) może mieć również pozytywny wpływ [Podsiadło i wsp. 2021].

W badaniach przeprowadzonych dla potrzeb niniejszej dysertacji dodatkowo analizie poddano wpływ treningu marszowego na wskaźniki metabolizmu węglowodanów i lipidów w odniesieniu do stężenia 25(OH)D i cech somatycznych (całkowita masa ciała, BMI, masa tłuszczowa), które oceniano przed programem treningowym. W badaniach innych autorów sugerowano występowanie związku między stężeniem we krwi 25(OH)D a wskaźnikami metabolizmu węglowodanów i lipidów [Grimnes i wsp. 2011; Jungert i wsp. 2015]. Receptory dla witaminy D zostały zidentyfikowane w komórkach trzustki [Christakos i wsp. 2016], tkance tłuszczowej i wątrobie [Cimini i wsp. 2019], co wskazuje na udział tej witaminy w metabolizmie energetycznym. Jednak w badaniu przeprowadzonym w publikacji pierwszej nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy sezonowymi zmianami stężenia 25(OH)D a poziomem wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów u kobiet, które nie podejmowały aktywności fizycznej w badanym okresie [Huta-Osiecka i wsp. 2021]. W niniejszym badaniu również nie zaobserwowano związku między stężeniem 25(OH)D a wskaźnikami metabolicznymi, jak również nie stwierdzono korelacji między zmianami wskaźników metabolicznych (porównując poziomy przed i po programie treningowym), a stężeniem 25(OH)D zarówno w całej grupie, jak i w grupach RSA i NW. Można zatem założyć, że zmiany stężenia/poziomu wskaźników metabolicznych obserwowane w niniejszym badaniu raczej były związane z aktywnością fizyczną i nie zależały od stężenia 25(OH)D, mierzonego na początku tych badań.

W całej grupie badanych kobiet nie zaobserwowano zależności między całkowitą masą ciała, BMI i masą tłuszczową (kg, %) ocenianymi przed programem treningowym a

wielkością zmian większości wskaźników metabolicznych obserwowanych po zakończeniu programu treningowego. Można zatem stwierdzić, że wielkość zmian tych wskaźników nie była zależna od zawartości masy tłuszczowej. Odnotowano jedynie związek zmiany (Δ) masy tłuszczowej ze zmianą (Δ) liczby LYM i liczby WBC. W badaniach przeprowadzonych w pierwszej publikacji został wykazany istotny związek między sezonowymi zmianami stężenia 25(OH)D, a procentową zawartością tkanki tłuszczowej w organizmie, mierzoną na początku badania (pierwszy termin badań) u kobiet po menopauzie [Huta-Osiecka i wsp. 2021].

6. Wnioski

Na podstawie prezentowanych w obu publikacjach wyników badań można sformułować następujące wnioski:

Publikacja pierwsza

1. W przeprowadzonych badaniach odnotowano istotny sezonowy spadek stężenia 25(OH)D w surowicy krwi kobiet po menopauzie w okresie od końca września/początku października do połowy grudnia.
2. Zmiany stężenia 25(OH)D nie wpływały istotnie na stężenie/poziom wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów. Odnotowano odwrotny kierunek zmian, do zakładanego, wskaźników metabolizmu węglowodanów w okresie od końca września/początku października do połowy grudnia oraz nie zaobserwowano w tym okresie zmian w odniesieniu do wskaźników metabolizmu lipidów. Można zatem przypuszczać, że zmiany stężenia/poziomu wskaźników metabolizmu węglowodanów nie były związane ze spadkiem stężenia 25(OH)D, lecz inne czynniki, związane ze stylem życia np. zachowania żywieniowe, mogły mieć większy wpływ na badane wskaźniki.

3. Zmiany stężenia 25(OH)D zależne były od całkowitej masy ciała i procentowej zawartości masy tłuszczowej w badanych grupach kobiet. Istotny sezonowy spadek stężenia 25(OH)D w okresie badań u kobiet z prawidłowym wskaźnikiem masy ciała BMI był większy, im większa była procentowa zawartość masy tłuszczowej, natomiast w grupie kobiet o wartości BMI powyżej wartości referencyjnych, im większa była zawartość masy tłuszczowej, tym mniejszy był spadek stężenia 25(OH)D. Zjawisko to wymaga dalszych badań.

Publikacja druga

1. Program treningu marszowego, w całej grupie badanych kobiet po menopauzie, przyczynił się do poprawy profilu wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów oraz zmian liczby WBC i ich subpopulacji.
2. Zmiany stężenia/poziomu wskaźników metabolicznych były zróżnicowane w zależności od rodzaju stosowanych kijów (klasycznych kijów NW i kijów RSA), co świadczy o tym, że specyfika wysiłku fizycznego w zastosowanym treningu różnicuje odpowiedź metaboliczną.
3. Zmiany stężenia/poziomu wskaźników metabolicznych nie były zależne od stężenia 25(OH)D ani od zawartości masy tłuszczowej badanych kobiet, ocenianych na początku badań.

7. Piśmiennictwo

1. Andersen R., Brot C., Jakobsen J., Mejbom H., Mølgaard C., Skovgaard L.T., Trolle E., Tetens I., Ovesen L. 2013. Seasonal changes in vitamin D status among Danish adolescent girls and elderly women: the influence of sun exposure and vitamin D intake. *European Journal of Clinical Nutrition* 67(3):270-274 doi: 10.1038/ejcn.2013.3.
2. Babiarczyk B., Turbiarz A. 2012. Body mass index in elderly people - do the reference ranges matter? *Progress in Health Sciences* 2(1):58–67.
3. Berglund L., Berne Ch., Svärdsudd K., Garmo H., Melhus H., Zethelius B. 2012. Seasonal variations of insulin sensitivity from a euglycemic insulin clamp in elderly men. *Upsala Journal of Medical Sciences* 117(1):35-40 doi: 10.3109/03009734.2011.628422.
4. Bullo V., Gobbo S., Vendramin B., Duregon F., Cugusi L., Di Blasio A., Bocalini D.S., Zaccaria M., Bergamin M., Ermolao A. 2018. Nordic walking can be incorporated in the exercise prescription to increase aerobic capacity, strength, and quality of life for elderly: a systematic review and meta-analysis. *Rejuvenation Research*. 21(2):141-161 doi: 10.1089/rej.2017.1921.
5. Carrelli A., Bucovsky M., Horst R., Cremers S., Zhang C., Bessler M., Schrope B., Evanko J., Blanco J., Silverberg S.J., Stein E.M. 2017. Vitamin D storage in adipose tissue of obese and normal weight women. *Journal of Bone Mineral Research* 32(2):237-242 doi: 10.1002/jbmr.2979.
6. Cebula A., Tyka A.K., Tyka A., Pałka T., Pilch W., Luty L., Mucha D. 2020. Physiological response and cardiorespiratory adaptation after a 6-week Nordic Walking training targeted at lipid oxidation in a group of post-menopausal women. *PLoS One* 15(4):e0230917 doi: 10.1371/journal.pone.0230917.

7. Cimini F.A., Barchetta I., Carotti S., Morini S., Cavallo M.G. 2019. Overview of studies of the vitamin D/vitamin D receptor system in the development of non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology* 10(2):11-16 doi: 10.4291/wjgp.v10.i2.11.
8. Christakos S., Dhawan P., Verstuyf A., Verlinden L., Carmeliet G. 2016. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiological Reviews* 96(1):365-408 doi: 10.1152/physrev.00014.2015.
9. Clarke B.L., Drake M.T. 2013. Clinical utility of serum sclerostin measurements. *Bonekey Reports* 2:361 doi: 10.1038/bonekey.2013.95.
10. Daniele G., Winnier D., Mari A., Bruder J., Fourcaudot M., Pengou Z., Tripathy D., Jenkinson C., Folli F. 2015. Sclerostin and insulin resistance in prediabetes: evidence of a cross talk between bone and glucose metabolism. *Diabetes Care* 38(8):1509-1517 doi: 10.2337/dc14-2989.
11. Fernandes M.R., Barreto W.D.R. Junior. 2017. Association between physical activity and vitamin D: A narrative literature review. *Revista da Associação Médica Brasileira* 63(6):550-556 doi: 10.1590/1806-9282.63.06.550.
12. Girgis C.M., Clifton-Bligh R.J., Hamrick M.W., Holick M.F., Gunton J.E. 2013. The roles of vitamin D in skeletal muscle: form, function, and metabolism. *Endocrine Reviews* 34(1):33-82 doi: 10.1210/er.2012-1012.
13. Greco E.A., Lenzi A., Migliaccio S. 2019. Role of hypovitaminosis D in the pathogenesis of obesity-induced insulin resistance. *Nutrients* 11(7):1506 doi: 10.3390/nu11071506.
14. Grimnes G., Figenschau Y., Almås B., Jorde R. 2011. Vitamin D, insulin secretion, sensitivity, and lipids: results from a case-control study and a randomized controlled trial using hyperglycemic clamp technique. *Diabetes* 60(11):2748-2757

doi: 10.2337/db11-0650.

15. Hagner-Derengowska M., Kałużny K., Hagner W., Kochański B., Plaskiewicz A., Borkowska A., Bronisz A., Budzyński J. 2015. The influence of a ten-week Nordic walking training-rehabilitation program on the level of lipids in blood in overweight and obese postmenopausal women. *The Journal of Physical Therapy Science* 27(10):3039-3044. doi: 10.1589/jpts.27.3039.
16. Hagner-Derengowska M., Kałużny K., Kochański B., Hagner W., Borkowska A., Czamara A., Budzyński J. 2015. Effects of Nordic walking and pilates exercise programs on blood glucose and lipid profile in overweight and obese postmenopausal women in an experimental, nonrandomized, open-label, prospective controlled trial. *Menopause* 22(11):1215-1223. doi: 10.1097/GME.0000000000000446.
17. Heaney R.P. 2008. Vitamin D in health and disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 3(5):1535-1541 doi: 10.2215/CJN.01160308.
18. Huta-Osiecka A., Wochna K., Kasprzak Z., Nowak A. 2021. Seasonal variation of 25-Hydroxyvitamin D and indices of carbohydrate and lipid metabolism in postmenopausal women. *PeerJ* 9:e11341 doi: 10.7717/peerj.11341
19. Janik M., Stuss M., Michalska-Kasiczak M., Jegier A., Sewerynek E. 2018. Effects of physical activity on sclerostin concentrations. *Endokrynologia Polska* 69(2):142-149 doi: 10.5603/EP.a2018.0008.
20. Johannsen N.M., Swift D.L., Johnson W.D., Dixit V.D., Earnest C.P., Blair S.N., Church T.S. 2012. Effect of different doses of aerobic exercise on total white blood cell (WBC) and WBC subfraction number in postmenopausal women: results from DREW. *PLoS One* 7(2):e31319 doi: 10.1371/journal.pone.0031319.

21. Jukic A.M.Z., Hoofnagle A.N., Lutsey P.L. 2018. Measurement of vitamin D for epidemiologic and clinical research: shining light on a complex decision. *American Journal of Epidemiology* 187(4):879–890 doi: 10.1093/aje/kwx297.
22. Jungert A., Roth H.J., Neuhäuser-Berthold M. 2015. Associations of serum 25-hydroxycholecalciferol and parathyroid hormone with serum lipids differ by sex and vitamin D status. *Public Health Nutrition* 18(9):1684-1691 doi: 10.1017/S1368980014002286.
23. Kayaniyil S., Vieth R., Retnakaran R., Knight J.A., Qi Y., Gerstein H.C., Perkins B.A., Harris S.B., Zinman B., Hanley A.J. 2010. Association of vitamin D with insulin resistance and beta-cell dysfunction in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes Care* 33(6):1379-1381 doi: 10.2337/dc09-2321.
24. Khalafi M., Malandish A., Rosenkranz S.K. 2021. The impact of exercise training on inflammatory markers in postmenopausal women: A systemic review and meta-analysis. *Experimental Gerontology* 150: 111398 doi: 10.1016/j.exger.2021.111398.
25. Lorenzo C., Hanley A.J., Haffner S.M. 2014. Differential white cell count and incident type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetologia* 57(1):83-92 doi: 10.1007/s00125-013-3080-0.
26. Marciniak K., Maciaszek J., Cyma-Wejchenig M., Szeklicki R., Maćkowiak Z., Sadowska D., Stemplewski R. 2020. The effect of Nordic walking training with poles with an integrated resistance shock absorber on the functional fitness of women over the age of 60. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(7):2197 doi: 10.3390/ijerph17072197.
27. Marciniak K., Maciaszek J., Cyma-Wejchenig M., Szeklicki R., Stemplewski R. 2021. The effect of Nordic walking training with poles with an integrated resistance shock

- absorber on the body balance of women over the age of 60. *Healthcare* 9(3):267 doi: 10.3390/healthcare9030267.
28. Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S., Naylor B.A., Treacher D.F., Turner R.C. 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28(7):412-419 doi: 10.1007/BF00280883.
29. Moreira L.D., Oliveira M.L., Lirani-Galvão A.P., Marin-Mio R.V., Santos R.N., Lazaretti-Castro M. 2014. Physical exercise and osteoporosis: effects of different types of exercises on bone and physical function of postmenopausal women. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* 58(5):514-22 doi: 10.1590/0004-2730000003374.
30. Muollo V., Rossi A.P., Milanese C., Masciocchi E., Taylor M., Zamboni M., Rosa R., Schena F., Pellegrini B. 2019. The effects of exercise and diet program in overweight people - Nordic walking versus walking. *Clinical Interventions in Aging* 14:1555-1565 doi: 10.2147/CIA.S217570.
31. Nakamura K., Nashimoto M., Hori Y., Yamamoto M. 2000. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and related dietary factors in peri- and postmenopausal Japanese women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71(5):1161-1165 doi: 10.1093/ajcn/71.5.1161.
32. Norval M., Björn L.O., de Grujil F.R. 2010. Is the action spectrum for the UV-induced production of previtamin D₃ in human skin correct? *Photochemical and Photobiological Sciences* 9(1):11-17 doi: 10.1039/b9pp00012g.
33. Nowak A., Dalz M., Śliwicka E., Elegañczyk-Kot H., Kryściak J., Domaszewska K., Laurentowska M., Kocur P., Pospieszna B. 2020. Vitamin D and indices of bone and carbohydrate metabolism in postmenopausal women subjected to a 12-week aerobic

- training]program - the pilot study. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(3):1074 doi: 10.3390/ijerph17031074.
34. Papadakis G., Keramidas I., Kakava K., Pappa T., Villiotou V., Triantafyllou E., Drosou A., Tertipi A., Kaltzidou V., Pappas A. 2015. Seasonal variation of serum vitamin D among Greek female patients with osteoporosis. *In Vivo* 29(3):409-413.
35. Pérez-Soriano P., Encarnación-Martínez A., Aparicio-Aparicio I., Giménez J.V., Llana-Belloch S. 2014. Nordic walking: a systematic review. *European Journal of Human Movement* 33, 26-45.
36. Pilch W., Tyka A., Cebula A., Śliwicka E., Pilaczyńska-Szcześniak Ł., Tyka A. 2016. Effects of 6-week Nordic walking training on changes in 25(OH)D blood concentration in women after 55 years of age. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 57(1-2):124-129 doi: 10.23736/S0022-4707.16.05964-X.
37. Pippi R., Di Blasio A., Aiello C., Fanelli C., Bullo V., Gobbo S., Cugusi L., Bergamin M. 2020. Effects of a supervised nordic walking program on obese adults with and without type 2 Diabetes: the C.U.R.I.A.Mo. Centre Experience. *Journal of Functional Morphology and Kinesiology* 5(3):62. doi: 10.3390/jfmk5030062.
38. Podsiadło S., Skiba A., Kałuża A., Ptaszek B., Stożek J., Skiba A., Marchewka A. 2021. Influence of nordic walking training on vitamin D level in the blood and quality of life among women aged 65-74. *Healthcare (Basel)* 9(9):1146. doi: 10.3390/healthcare9091146.
39. Prusik K., Kortas J., Prusik K., Mieszkowski J., Jaworska J., Skrobot W., Lipinski M., Ziemann E., Antosiewicz J. 2018. Nordic walking training causes a decrease in blood cholesterol in elderly women supplemented with vitamin D. *Frontiers in Endocrinology* 9:42. doi: 10.3389/fendo.2018.00042.

40. Sentinelli F., La Cava V., Serpe R., Boi A., Incani M., Manconi E., Solinas A., Cossu E., Lenzi A., Baroni M.G. 2015. Positive effects of Nordic walking on anthropometric and metabolic variables in women with type2 diabetes mellitus. *Science&Sports* 30: 25-32 doi.org/10.1016/j.scispo.2014.10.005.
41. Skutecki R., Cymes I., Dragańska E., Glińska-Lewczuk K., Buciąński A., Drozdowski M., Romaszko J. 2019. Are the levels of lipid parameters associated with biometeorological conditions?. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(23):4636 doi: 10.3390/ijerph16234636.
42. Stachowiak G., Pertyński T., Pertyńska-Marczewska M. 2015. Metabolic disorders in menopause. *Prz. Menopauzalny* 14(1):59-64 doi: 10.5114/pm.2015.50000.
43. Sternfeld B., Dugan S. 2011. Physical activity and health during the menopausal transition. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America* 38(3):537-566 doi: 10.1016/j.ogc.2011.05.008.
44. Tosunbayraktar G., Bas M., Kut A., Buyukkaragoz A.H. 2005. Low serum 25(OH)D levels are associated to higher BMI and metabolic syndrome parameters in adult subjects in Turkey. *African Health Sciences* 15(4):1161-1169 doi: 10.4314/ahs.v15i4.15.
45. Vozarova B., Weyer C., Lindsay R.S., Pratley R.E., Bogardus C., Tataranni P.A. 2002. High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes* 51(2):455-461 doi: 10.2337/diabetes.51.2.455.
46. Witkowska A., Grabara M., Kopeć D., Nowak Z. 2021. The effects of Nordic walking compared to conventional walking on aerobic capacity and lipid profile in women over 55 years of age. *Journal of Physical Activity and Health* 18(6):669-676 doi: 10.1123/jpah.2020-0182.

47. Yu O.H., Richards B., Berger C., Josse R.G., Leslie W.D., Goltzman D., Kaiser S.M., Kovacs C.S., Davison K.S. 2017. The association between sclerostin and incident type 2 diabetes risk: a cohort study. *Clinical Endocrinology* 86(4):520-525
doi: 10.1111/cen.13300.

II. Streszczenie/Abstract

Streszczenie

Wstęp. Metabolizm węglowodanów i lipidów regulowany jest przez wiele czynników, w tym podlega istotnemu wpływowi czynników związanych ze stylem życia. Wśród wymienionych czynników należy wymienić m.in. poziom aktywności fizycznej. W ostatnich latach zwrócono szczególną uwagę na oddziaływanie witaminy D na różne tkanki i jej udział w regulacji niektórych procesów zachodzących w organizmie człowieka, oraz związku jej metabolitu - 25-hydroksywitaminy D (kalcydiolu, 25(OH)D) ze wskaźnikami metabolizmu węglowodanów i lipidów.

Istotnym czynnikiem modyfikującym wiele procesów metabolicznych jest regularna aktywność fizyczna o odpowiedniej intensywności, która jak wykazano, może zapobiegać niekorzystnym zmianom związanym z procesem starzenia się. Popularnym rodzajem aktywności fizycznej stał się trening marszowy z kijami, tzw. Nordic walking (NW). Nową jego formą jest marsz z kijami ze zintegrowanym elementem oporowym (ang. *resistance shock absorber*, RSA). Założeniem konstrukcji kijów z RSA jest zwiększone obciążenie górnej partii ciała poprzez pracę z oporem.

Cel badań. Celem badań była ocena, u kobiet po menopauzie, zmian stężenia/poziomu wybranych wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów, w odpowiedzi na sezonowe zmiany stężenia 25(OH)D w surowicy krwi oraz na program treningowy NW z zastosowaniem dwóch rodzajów kijów (klasycznych – NW, oraz RSA). W pierwszej publikacji, w okresie obserwacji, oceniano również zmiany stężenia/poziomu wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów w zależności od wartości wskaźnika masy ciała (BMI, ang. *body mass index*). W drugiej publikacji dodatkowo oceniono liczbę białych krwinek i wybranych ich subpopulacji. Ponadto analizie badawczej poddano odpowiedź wymienionych wcześniej wskaźników metabolicznych na program treningowy w

zależności od wartości wybranych cech somatycznych (całkowitej masy ciała, BMI i masy tłuszczowej) i stężenia 25(OH)D w surowicy krwi, mierzonych przed podjęciem aktywności fizycznej.

Metody badań. W pierwszej publikacji do badań zakwalifikowano 16 kobiet po menopauzie. Dwukrotnie (koniec września/początek października – pierwszy termin badań i w połowie grudnia - drugi termin badań) oceniano cechy somatyczne (masa ciała, wysokość ciała, BMI) oraz masę tłuszczową i pobrano krew do analiz biochemicznych. W drugiej publikacji do analiz statystycznych zakwalifikowano 23 kobiety po menopauzie, które uczestniczyły w 8. tygodniowym programie treningowym z użyciem kijów NW i RSA, w okresie od lutego (pierwszy termin badań) do kwietnia (drugi termin badań). Przed i po programie treningowym oceniano cechy somatyczne (masa ciała, wysokość ciała, BMI) oraz masę tłuszczową i pobierano krew do analiz biochemicznych. Dla potrzeb obu publikacji oceniano stężenie 25(OH)D, glukozy i insuliny, oraz wskaźników metabolizmu lipidów: całkowity cholesterol (ang. *total cholesterol*, TC), frakcja cholesterolu HDL (ang. *high density lipoprotein*, HDL-C), frakcja cholesterolu LDL (ang. *low density lipoprotein*, LDL-C), triglicerydy (ang. *triglycerides*, TG). Obliczano również wskaźnik insulinooporności HOMA-IR (ang. *homeostasis model assesment of insulin resistance*). Dla potrzeb pierwszej publikacji dodatkowo oznaczono w surowicy krwi stężenie parathormonu (PTH) i sklerostyny. Dla potrzeb drugiej publikacji dodatkowo oceniano liczbę WBC i ich subpopulacji: limfocyty (LYM), monocyty (MON), granulocyty (GRA). Zastosowane w obu publikacjach obliczenia statystyczne dotyczyły analizy zmian i korelacji zmiennych zarówno w całych grupach badanych kobiet (publikacja pierwsza n = 16, publikacja druga n = 23), jak i w grupach wydzielonych w pierwszej publikacji na podstawie wskaźnika BMI (grupa A, kobiety z prawidłową masą ciała, n = 10 i grupa B, kobiety z wartością BMI

powyżej wartości referencyjnych, $n = 6$), a w drugiej publikacji na podstawie rodzaju kijów używanych podczas marszu (NW, $n = 15$ i RSA, $n = 8$).

Wyniki. W pierwszej publikacji analiza porównawcza zmiennych przeprowadzona między terminami badań wykazała istotny spadek stężenia 25(OH)D ($p \leq 0,01$), insuliny ($p < 0,05$), wskaźnika HOMA-IR ($p < 0,05$). Po dokonaniu podziału badanych kobiet na grupy w zależności od wartości wskaźnika BMI, w grupie A stwierdzono istotny dodatni związek zmian (Δ) stężenia 25(OH)D (zmniejszenie między terminami I i II) z masą ciała ($p < 0,05$) mierzoną w pierwszym terminie badań. W przypadku masy tłuszczowej (FM), mierzonej w pierwszym terminie badań, zaobserwowano dodatnie zależności tej zmiennej ze zmianą (Δ) stężenia 25(OH)D (obniżenie średniej wartości między terminami I i II) w grupie A (% , $p < 0,05$ i kg, $p \leq 0,01$) i ujemne w grupie B (% i kg, $p < 0,05$). Na podstawie uzyskanych wyników analizy korelacji można stwierdzić, że w grupie A spadek stężenia 25(OH)D w okresie badań jest większy, gdy zawartość masy tłuszczowej jest większa, natomiast w grupie B im większa zawartość masy tłuszczowej, tym mniejszy spadek stężenia 25(OH)D.

W drugiej publikacji analiza porównawcza cech somatycznych i wskaźników biochemicznych między terminami badań w grupie kobiet, które używały kijów RSA, wykazała istotne zmniejszenie masy tłuszczowej ($p < 0,05$), insuliny ($p < 0,05$), wskaźnika HOMA-IR ($p < 0,05$), triglicerydów ($p < 0,05$), cholesterolu całkowitego ($p < 0,05$) i monocytów ($p \leq 0,01$). W grupie kobiet, które stosowały klasyczne kije (NW), stwierdzono istotne zmniejszenie liczby WBC ($p \leq 0,01$), limfocytów ($p < 0,05$), monocytów ($p \leq 0,01$) i granulocytów ($p < 0,05$).

Wnioski. Wyniki badań realizowanych w pierwszej publikacji wskazują na istotny spadek stężenia 25(OH)D w okresie od końca września/początku października do połowy grudnia. Obniżenie wymienionego wskaźnika w okresie badań u kobiet z prawidłowym wskaźnikiem masy ciała (BMI) był większy, im większa była procentowa zawartość masy

tłuszczowej, natomiast w grupie kobiet o wartości BMI powyżej wartości referencyjnych, im większa była zawartość masy tłuszczowej, tym mniejszy był spadek stężenia 25(OH)D. Zjawisko to wymaga dalszych badań. Zmiany stężenia 25(OH)D nie wpłynęły istotnie na stężenie wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów. Wyniki badania drugiej publikacji wskazują, że obciążenie treningowe poprzez zastosowanie kijów RSA spowodowało większe zmiany wskaźników metabolizmu węglowodanów i lipidów w porównaniu z zastosowaniem klasycznych kijów NW. Z kolei bardziej znaczący wpływ na liczbę WBC i ich subpopulacji wywarł trening z kijami NW, co może wskazywać, że specyfika obciążenia wysiłkiem fizycznym jest istotnym czynnikiem modyfikującym odpowiedź układu odpornościowego na podejmowaną aktywność fizyczną.

Abstract

Introduction. Carbohydrate and lipid metabolism is regulated by many factors, between others associated with lifestyle for example the level of physical activity. The level of physical activity is one important factor. In recent years, special attention has been paid to the effects of vitamin D on various tissues and its involvement in the regulation of metabolic processes in the human body, and the associations of its metabolite 25-hydroxyvitamin D (calcidiol, 25(OH)D) with indicators of carbohydrate and lipid metabolism. An important factor modifying many metabolic processes is regular physical activity at an appropriate intensity, which has been shown to prevent adverse changes associated with aging. Nordic walking (NW) has become a popular type of physical activity. A new form of NW is walking with poles with an integrated resistance shock absorber (RSA). The construction of RSA poles allows to increase the load on the upper body by working with resistance.

Purpose of the study. The aim of the study was to evaluate changes in the concentration/level of selected carbohydrate and lipid metabolism parameters in postmenopausal women in response to seasonal changes in serum 25(OH)D levels and to an NW training program using two types of poles (classical NW and RSA). In the first publication, changes in concentrations/levels of carbohydrate and lipid metabolic indicators were also evaluated in relation to body mass index (BMI) during the study period. In the second publication, white blood cell counts and selected their subpopulations were additionally assessed. In addition, the response of the aforementioned metabolic indices to the training program in relation to the values of selected somatic characteristics (total body mass, BMI and fat mass) and serum 25(OH)D concentration, measured prior to physical activity, was subjected to research analysis.

Methods. In the first publication, 16 postmenopausal women were enrolled in the study. On two terms of the study (the end of September/beginning October - the first term of research and middle December - the second term of research), somatic characteristics (body mass, height, BMI) and fat mass were assessed and blood was drawn for biochemical analyses. In the second publication, 23 postmenopausal women who participated in an 8-week training program with NW and RSA poles between February (the first study date) and April (the second study date) were eligible for statistical analyses. Before and after the training program, somatic characteristics (body mass, height, BMI) and fat mass were assessed, and fasting blood samples for biochemical analyses were taken. For both publications, 25(OH)D, glucose and insulin levels were assessed, as well as lipid metabolic indices: total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and triglycerides (TG). The homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) index was also calculated. For the first publication, serum parathormone (PTH) and sclerostin levels were additionally determined. For the second

publication, the count of WBCs and their subpopulations: lymphocytes (LYM), monocytes (MON), granulocytes (GRA) were additionally evaluated. The statistical analyses used in both publications involved changes and correlations of variables both in the whole groups of women studied (the first publication $n = 16$, the second publication $n = 23$) and in the groups separated in the first publication on the basis of BMI (group A, women with normal BMI, $n = 10$ and group B, women with BMI above reference values, $n = 6$), and in the second publication on the basis of the type of poles used during walking (NW, $n = 15$ and RSA, $n = 8$).

Results. In the first publication, a comparative analysis of variables conducted between study terms showed a significant decrease in 25(OH)D concentration ($p \leq 0.01$), insulin ($p < 0.05$), HOMA-IR index ($p < 0.05$). After dividing the study women into groups according to BMI values, group A showed a significant positive association of changes (Δ) in 25(OH)D concentration (reduction between terms I and II) with body mass ($p < 0.05$) measured at the first examination term. In the case of fat mass (FM), measured on the first examination term, there were positive correlations of this variable with change (Δ) in 25(OH)D concentration (reduction in mean value between terms I and II) in group A (% , $p < 0.05$ and kg, $p \leq 0.01$) and negative in group B (% and kg, $p < 0.05$). Based on the results of the correlation analysis, it can be concluded that in group A, the decrease in 25(OH)D concentration during the study period is greater when the fat mass content is higher, while in group B, the higher the fat mass content, the smaller the decrease in 25(OH)D concentration.

In the second publication, a comparative analysis of somatic characteristics and biochemical indices between study terms in the group of women who used RSA poles showed significant reductions in fat mass ($p < 0.05$), insulin ($p < 0.05$), HOMA-IR index ($p < 0.05$), triglycerides ($p < 0.05$), total cholesterol ($p < 0.05$) and monocytes ($p \leq 0.01$). In

the group of women who used classic poles (NW), there were significant reductions in WBCs ($p \leq 0.01$), lymphocytes ($p < 0.05$), monocytes ($p \leq 0.01$) and granulocytes ($p < 0.05$) count.

Conclusions. The results of the study carried out in the first publication indicate a significant decrease in 25(OH)D concentrations between the end of September/beginning of October and middle December. The decrease in the aforementioned metabolite of vitamin D during the study period in women with normal body mass index (BMI) was greater the higher the percentage of fat mass, while in the group of women with BMI values above the reference values, the higher the percentage of fat mass, the smaller the decrease in 25(OH)D concentration. This phenomenon requires further study. Changes in 25(OH)D concentrations did not significantly affect the concentrations of indicators of carbohydrate and lipid metabolism. The results of the study of the second publication indicate that the training demands through the use of RSA poles caused greater changes in the indices of carbohydrate and lipid metabolism compared to the use of classic NW poles. On the other hand, the count of WBCs and their subpopulations were more significantly affected by training with NW poles, which may indicate that the specificity of the exercise load is an important factor modifying the response of the immune system to the exercise undertaken.

III. Załączniki

1. Oświadczenia współautorów

2. Publikacje:

Publikacja pierwsza: Huta-Osiecka A., Wochna K., Kasprzak Z., Nowak A. 2021. Seasonal variation of 25-Hydroxyvitamin D and indices of carbohydrate and lipid metabolism in postmenopausal women. PeerJ 9:e11341 doi.org/10.7717/peerj.11341

Publikacja druga: Huta-Osiecka A., Wochna K., Stemplewski R., Marciniak K., Podgórski T., Kasprzak Z., Leszczyński P., Nowak A. 2022. Influence of Nordic walking with poles with an integrated resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood cell subpopulations in postmenopausal women. PeerJ 10:e13643 <https://doi.org/10.7717/peerj.13643>

mgr Anna Huta-Osiecka

Poznań, dnia 22.06.2022 r.

Zakład Higieny

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Oświadczenie współautora

Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Kasprzak Z, Nowak A. Seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and indices of carbohydrate and lipid metabolism in postmenopausal women. PeerJ 2021. 9:e11341, DOI 10.7717/peerj.11341,

mój udział polegał na realizacji badań, gromadzeniu i analizie wyników badań, analizie piśmiennictwa, przygotowaniu rycin i tabel, opracowanie tekstu publikacji oraz redagowaniu odpowiedzi na recenzje.

Potwierdzenie współautora

mgr Anna Huta-Osiecka Anna Huta-Osiecka

dr Krystian Wochna

Poznań, dnia22-06-2022.....

Pracownia Pływania i Ratownictwa Wodnego

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Dotyczy wniosku o przeprowadzenie postępowania doktorskiego mgr Anny Huta-
Osieckiej

Oświadczenie współautora

Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Kasprzak Z, Nowak A. Seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and indices of carbohydrate and lipid metabolism in postmenopausal women. PeerJ 2021. 9:e11341, DOI 10.7717/peerj.11341,

mój udział polegał na współpracy w realizacji i analizie wyników badań oraz weryfikacji tekstu publikacji.

Potwierdzenie współautora

dr Krystian Wochna

dr inż. Zbigniew Kasprzak

Poznań, dnia 23 06 2022

Zakład Higieny

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Dotyczy wniosku o przeprowadzenie postępowania doktorskiego mgr Anny Huta-Osieckiej

Oświadczenie współautora

Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Kasprzak Z, Nowak A. Seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and indices of carbohydrate and lipid metabolism in postmenopausal women. PeerJ 2021. 9:e11341, DOI 10.7717/peerj.11341,

mój udział polegał na współpracy w realizacji badań i weryfikacji tekstu publikacji.

Potwierdzenie współautora

dr inż. Zbigniew Kasprzak



prof. dr hab. Alicja Nowak

Poznań, dnia 22.06.2022

Zakład Higieny

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Dotyczy wniosku o przeprowadzenie postępowania doktorskiego mgr Anny Huta-Osieckiej

Oświadczenie współautora

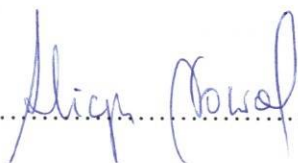
Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Kasprzak Z, Nowak A. Seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and indices of carbohydrate and lipid metabolism in postmenopausal women. PeerJ 2021. 9:e11341, DOI 10.7717/peerj.11341,

mój udział polegał na sformułowaniu koncepcji badawczej, współpracy w realizacji badań, interpretacji wyników badań, współpracy w przygotowaniu rycin, opracowaniu i weryfikacji tekstu publikacji oraz pisaniu odpowiedzi na recenzje.

Potwierdzenie współautora

prof. dr hab. Alicja Nowak



mgr Anna Huta-Osiecka

Poznań, dnia 22.06.2022r.

Zakład Higieny

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Oświadczenie współautora

Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Stemplewski R, Marciniak K, Podgórski T, Kasprzak Z, Leszczyński P, Nowak A. Influence of Nordic walking with poles with an integrated resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood cell subpopulations in postmenopausal women, PeerJ 2022. DOI 10.7717/peerj.13643,

mój udział polegał na realizacji badań, gromadzeniu i analizie wyników badań, analizie piśmiennictwa, przygotowaniu tabel, opracowaniu tekstu publikacji oraz pisaniu odpowiedzi na recenzje.

Potwierdzenie współautora

mgr Anna Huta-Osiecka Anna Huta-Osiecka

dr Krystian Wochna

Poznań, dnia 22-06-2022

Pracownia Pływania i Ratownictwa Wodnego

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Dotyczy wniosku o przeprowadzenie postępowania doktorskiego mgr Anny Huta-Osieckiej

Oświadczenie współautora

Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Stemplewski R, Marciniak K, Podgórski T, Kasprzak Z, Leszczyński P, Nowak A. Influence of Nordic walking with poles with an integrated resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood cell subpopulations in postmenopausal women, PeerJ 2022. DOI 10.7717/peerj.13643,

mój udział polegał na współpracy w realizacji badań, gromadzeniu i analizie wyników badań oraz współpracy w przygotowaniu tabel i weryfikacji tekstu publikacji.

Potwierdzenie współautora

dr Krystian Wochna



prof. AWF dr hab. Rafał Stemplewski

Poznań, dnia 22.06.2022

Zakład Cyfrowych Technologii w Aktywności Fizycznej

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Dotyczy wniosku o przeprowadzenie postępowania doktorskiego mgr Anny Huta-Osieckiej

Oświadczenie współautora

Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Stemplewski R, Marciniak K, Podgórski T, Kasprzak Z, Leszczyński P, Nowak A. Influence of Nordic walking with poles with an integrated resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood cell subpopulations in postmenopausal women, Peer J 2022. DOI 10.7717/peerj.13643

mój udział polegał na współpracy w formułowaniu koncepcji badań oraz weryfikacji tekstu publikacji.

Potwierdzenie współautora

prof. AWF dr hab. Rafał Stemplewski.....

mgr Katarzyna Marciniak

Poznań, dnia 22.06.2022 r.

Zakład Cyfrowych Technologii w Aktywności Fizycznej

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Dotyczy wniosku o przeprowadzenie postępowania doktorskiego mgr Anny Huta-Osieckiej

Oświadczenie współautora

Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Stemplewski R, Marciniak K, Podgórski T, Kasprzak Z, Leszczyński P, Nowak A. Influence of Nordic walking with poles with an integrated resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood cell subpopulations in postmenopausal women, PeerJ 2022. DOI 10.7717/peerj.13643,

mój udział polegał na współpracy w przeprowadzeniu badań oraz weryfikacji tekstu publikacji.

Potwierdzenie współautora

mgr Katarzyna Marciniak.....*Katarzyna Marciniak*

dr Tomasz Podgórski

Poznań, dnia 22.06.2022

Zakład Biochemii i Fizjologii

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Dotyczy wniosku o przeprowadzenie postępowania doktorskiego mgr Anny Huta-
Osieckiej

Oświadczenie współautora

Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Stemplewski R, Marciniak K, Podgórski T, Kasprzak Z, Leszczyński P, Nowak A. Influence of Nordic walking with poles with an integrated resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood cell subpopulations in postmenopausal women, PeerJ 2022. DOI 10.7717/peerj.13643,

mój udział polegał na współpracy w realizacji badań oraz weryfikacji tekstu publikacji.

Potwierdzenie współautora

dr Tomasz Podgórski.....
Tomasz Podgórski

dr inż. Zbigniew Kasprzak

Poznań, dnia 23.06.2022

Zakład Higieny

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Dotyczy wniosku o przeprowadzenie postępowania doktorskiego mgr Anny Huta-Osieckiej

Oświadczenie współautora

Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Stemplewski R, Marciniak K, Podgórski T, Kasprzak Z, Leszczyński P, Nowak A. Influence of Nordic walking with poles with an integrated resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood cell subpopulations in postmenopausal women, PeerJ 2022. DOI 10.7717/peerj.13643,

mój udział polegał na współpracy w realizacji badań oraz weryfikacji tekstu publikacji.

Potwierdzenie współautora

dr inż. Zbigniew Kasprzak.....


prof. dr hab. n. med. Piotr Leszczyński

23. 06. 2022
Poznań, dnia

Katedra Reumatologii, Rehabilitacji i Chorób Wewnętrznych

Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

ul. Fredry 10, 61-701 Poznań

Dotyczy wniosku o przeprowadzenie postępowania doktorskiego mgr Anny Huta-
Osieckiej

Oświadczenie współautora

Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Stemplewski R, Marciniak K, Podgórski T, Kasprzak Z,
Leszczyński P, Nowak A. Influence of Nordic walking with poles with an integrated
resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood
cell subpopulations in postmenopausal women, PeerJ 2022. DOI 10.7717/peerj.13643,

mój udział polegał na współpracy w realizacji badań oraz weryfikacji tekstu
publikacji.

Potwierdzenie współautora

prof. dr hab. n. med. Piotr Leszczyński



prof. dr hab. Alicja Nowak

Poznań, dnia... 22.06.2022

Zakład Higieny

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu

ul. Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

Dotyczy wniosku o przeprowadzenie postępowania doktorskiego mgr Anny Huta-Osieckiej

Oświadczenie współautora

Oświadczam, że w pracy:

Huta-Osiecka A, Wochna K, Stemplewski R, Marciniak K, Podgórski T, Kasprzak Z, Leszczyński P, Nowak A. Influence of Nordic walking with poles with an integrated resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood cell subpopulations in postmenopausal women, PeerJ 2022. DOI 10.7717/peerj.13643,

mój udział polegał na sformułowaniu koncepcji badawczej, współpracy w realizacji badań, interpretacji wyników badań, przygotowaniu i weryfikacji tekstu publikacji oraz redagowaniu odpowiedzi na recenzje.

Potwierdzenie współautora

prof. dr hab. Alicja Nowak.....



Seasonal variation of 25-Hydroxyvitamin D and indices of carbohydrate and lipid metabolism in postmenopausal women

Anna Huta-Osiecka¹, Krystian Wochna², Zbigniew Kasprzak¹ and Alicja Nowak¹

¹Department of Hygiene, Poznań University of Physical Education, Poznań, Poland

²Laboratory of Swimming and Water Lifesaving, Poznań University of Physical Education, Poznań, Poland

ABSTRACT

Background. Some studies indicate vitamin D's significant contribution to metabolic processes. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the level of carbohydrate and lipid metabolism indices in relation to seasonal changes in 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) concentration in postmenopausal women.

Methods. Sixteen postmenopausal women meeting health criteria and not using vitamin D supplementation were included in the study. Seasonal variation of somatic features and the serum concentration of 25(OH)D, glucose, insulin, parathormon, sclerostin and lipid profile were determined on two terms (autumn-winter).

Results. Comparative analysis of the variables between the study terms revealed a marked decrease in the concentration of 25(OH)D ($p \leq 0.0001$), insulin ($p < 0.05$), insulin resistance index (HOMA-IR), ($p < 0.05$). The significant positive correlations of changes (Δ) between autumn and winter in 25(OH)D with body mass ($p < 0.05$), and fat mass ($p \leq 0.01$), measured in the first study term, in the group of women with normal body mass index (BMI), and negative correlation with fat mass ($p < 0.05$) in women with a BMI value above the reference values, were found. The relationship analysis showed that in women with normal BMI, the decrease in 25(OH)D concentrations was greater when the body fat percentage was higher, whereas in women with a BMI value above the reference values, the higher the fat percentage, the smaller was the decrease in 25(OH)D concentration.

Conclusions. Seasonal changes in 25(OH)D concentration did not significantly affect the concentration of carbohydrate and lipid metabolism indices. The magnitude of decline in 25(OH)D levels depends on the fat mass. We suppose that environmental or lifestyle-related factors, e.g., nutritional behaviours, may have had more influence on metabolic indices than changes in 25(OH)D.

Subjects Biochemistry, Geriatrics, Women's Health, Metabolic Sciences

Keywords Vitamin D, Fat mass, Insulin sensitivity, Lipid profile, Postmenopausal women, Seasonal variation

INTRODUCTION

Vitamin D exhibits pleiotropic effects, supported by the presence of vitamin D receptors (VDRs) in many of the body's tissues and organs (*Christakos et al., 2016*). The identification of VDRs in pancreatic cells (*Christakos et al., 2016*), adipose tissue and the liver (*Cimini*

Submitted 18 December 2020

Accepted 3 April 2021

Published 13 May 2021

Corresponding author

Anna Huta-Osiecka,
osiecka@awf.poznan.pl

Academic editor

Gwyn Gould

Additional Information and
Declarations can be found on
page 12

DOI 10.7717/peerj.11341

© Copyright

2021 Huta-Osiecka et al.

Distributed under
Creative Commons CC-BY 4.0

OPEN ACCESS

et al., 2019) allows us to conclude that apart from its known calcitropic functions, it also contributes to energy metabolism and the organism's energy balance. Some studies indicate vitamin D's significant contribution to carbohydrate and lipid metabolism (*Grimnes et al.*, 2011; *Jungert, Roth & Neuhäuser-Berthold*, 2015; *Greco, Lenzi & Migliaccio*, 2019; *Kayaniyil et al.*, 2010). The population-based study confirmed positive relationships between serum 25(OH)D concentration and insulin sensitivity measured using a 3-h hyperglycemic clamp (*Grimnes et al.*, 2011) or oral glucose tolerance tests (*Kayaniyil et al.*, 2010) and significant relationships with lipid profiles (*Grimnes et al.*, 2011; *Jungert, Roth & Neuhäuser-Berthold*, 2015).

In humans, vitamin D₃ is formed in the skin as a result of 7-dehydrocholesterol isomerization, which occurs under the influence of sunlight (UVB) or comes from the diet, especially from fish (*Nakamura et al.*, 2000; *Norval, Björn & de Gruijl*, 2010). However, it is suggested that only frequent fish consumption may help to supply adequate vitamin D (*Nakamura et al.*, 2000). In epidemiological studies, the status of vitamin D in the human body is assessed by determining the blood level of 25(OH)D, a metabolite resulting from the hydroxylation of vitamin D in the liver. The biologically active form of vitamin D, which activates intracellular nuclear vitamin D receptors (VDRs), is 1,25-dihydroxycholecalciferol (1,25(OH)₂D₃), the product of 25(OH)D hydroxylation in the kidneys (*Jukic, Hoofnagle & Lutsey*, 2018).

The change in UV intensity during the different seasons of the year influences the change in serum 25(OH)D (*Papadakis et al.*, 2015; *Andersen et al.*, 2013). There was, however, no clear explanation of whether seasonal changes in 25(OH)D concentration may be related to changes in carbohydrate and lipid metabolism indices. Seasonal (winter-summer) changes in insulin sensitivity and the level of lipid metabolism indices were observed in earlier studies conducted on elderly people (*Berglund et al.*, 2012; *Skutecki et al.*, 2019). In these studies, the changes in these indices were explained by the variability of the external temperature and changes in diet and body composition.

The aim of the present study is to assess the level of lipid and carbohydrate metabolism indices in the autumn-winter period in relation to seasonal changes in 25(OH)D concentrations in postmenopausal women. Some authors' studies point to the dependence of 25(OH)D level on the content of adipose tissue (*Carrelli et al.*, 2017; *Tosunbayraktar et al.*, 2005); therefore the influence of this factor was taken into account in the analysis of the research findings.

MATERIALS & METHODS

Participants and the study protocol

Thirty-eight postmenopausal women declaring good health and not using hormone replacement therapy applied for the study. The survey questionnaire provided information on lifestyle, diseases, drugs and supplements used and the frequency of fish consumption. Based on the data collected at this stage of the study, those who declared the occurrence of diabetes, insulin resistance, liver diseases, using drugs and supplements modifying lipid metabolism, a stay abroad in countries with high levels of sunlight during the two

weeks preceding the study and systematic participation in physical activity classes were not qualified for the subsequent stages of the study. The subjects were asked not to take any preparations containing vitamin D and not to introduce changes in their lifestyle (physical activity, diet) during the study period. Participants who failed to abide by the research protocol were excluded. Finally, 16 women aged 62.44 ± 4.76 years were qualified for the study. Before the research was conducted, all subjects were informed of the study's purpose and methods involved. All participants provided written consent to participating in the study. The research was approved by the Bioethics Committee at the Karol Marcinkowski Medical University in Poznań (code no.901/17).

The research was carried out in the period from autumn to winter (the first term of research—end of September/beginning of October, the second term of research—middle of December (seventy-five days between the two measurements)). The study assessed serum concentrations of 25(OH)D and selected indicators of carbohydrate and lipid metabolism.

Anthropometric and biochemical measurements

During the first and second terms of the study, body composition was assessed and blood was collected for the biochemical analysis. Body composition, body mass and height were measured in a fasting state, using the electrical bioimpedance method (BIA, the Tanita BC 418-MA analyzer) and a certified Radwag device (Radom, Poland) with an accuracy of 0.5 cm. The value of body mass index (BMI) was calculated as body mass (kg)/body height² (m²). Based on the BMI scores, groups of women were distinguished using the recommendations of the Committee on Diet and Health, according to which the range of normal BMI values is determined on the basis of the age of subjects (*Babiarczyk & Turbiarz, 2012*). Two groups of women were formed: group A ($n = 10$) with normal BMI (for age 45–54 y—proper BMI: 22–27 kg/m², for age 55–65 y—BMI:23–28 kg/m², for age >65 y BMI: 24–29 kg/m²) and group B ($n = 6$) with BMI above normal range.

The fasting blood samples for biochemical analyses were taken from the antecubital vein, between 7.30 and 9.30 a.m. and then centrifuged to obtain serum. The serum was stored at -70°C until the biochemical analyses were performed. The serum concentration of 25(OH)D was determined by chemiluminescence immunoassay (CLIA) (LIAISON[®] 25 OH Vitamin D TOTAL Assay, DiaSorin Inc, USA, sensitivity 4 ng/ml). The concentrations of glucose and lipid metabolism indices (TC, total cholesterol; TG, triglycerides; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol) were determined with the ACCENT 220s analyzer and Cormay tests, Poland (the sensitivity of the tests was 0.41 mg/dl, 1.95 mg/dl, 1.4 mg/dl, 1.1 mg/dl, 3.9 mg/dl, respectively). The immunoenzymatic enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) methods were used to determine the insulin concentration (Insulin ELISA, DRG Instruments GmbH, Germany, sensitivity 1.76 $\mu\text{IU/ml}$) and the parathormone (PTH) concentration (Parathyroid Intact ELISA, DRG Instruments GmbH, Germany, sensitivity 1.57 pg/ml) and the enzymeimmunoassay (EIA) method was used to determine the sclerostin concentration (Human Sclerostin HS EIA Kit, TECOmedical Groupe, QUIDEL, USA, sensitivity 0.008 ng/ml). The homeostatic model assessment of insulin resistance index (HOMA-IR,) was

calculated using the formula developed by *Matthews et al. (1985)*:

$$\text{HOMA-IR} = (\text{Insulin}[\mu\text{IU/ml}] \times \text{Glucose} [\text{mmol/l}]) / 22.5$$

Statistical methods

The data are presented as mean, standard deviation (SD), median and interquartile range. The normality of distributions was verified using the Shapiro–Wilk test. The *t*-test and Mann–Whitney *U* test were employed for normally and non-normally distributed variables, respectively, to evaluate the significance of differences between the groups. The *t*-test and Wilcoxon test were used for normally and non-normally distributed variables, respectively, to evaluate the significance of differences over time (between both terms of the measurements). It was assumed that the analysis of repeated-measures ANOVA 2x2 (time x group) will be performed if the differences in variables over time and between groups are significant. The Pearson analysis for normally distributed variables and Spearman's rank analysis for non-normally distributed variables were used to calculate correlation coefficients.

Statistical significance was set at an alpha of 0.05 for all statistical procedures. The results were analysed statistically using the Dell Inc. (2016) Dell Statistica (data analysis software system), version 13. software.dell.com.

RESULTS

Table 1 presents descriptive statistics of somatic features and biochemical indices of the women examined on two terms of the study.

Comparative analysis of these variables between the study terms revealed significant decrease in concentrations of 25(OH)D ($p \leq 0.0001$), insulin ($p = 0.0243$), HOMA-IR ($p = 0.0284$) and the tendency to decrease in BMI ($p = 0.0995$) and TG concentration ($p = 0.0995$). No significant changes were noted for somatic features and other biochemical indices.

The women were divided into groups according to their BMI: group A ($n = 10$) subjects with normal BMI and group B ($n = 6$) subjects with BMI above normal. **Table 2** presents descriptive statistics of somatic features and biochemical indices of the both groups of women and comparative analysis between these groups in two terms of the study and between the study terms.

A comparative analysis of somatic features and biochemical indices between these groups in the first study term showed significantly lower values of body mass ($p = 0.0201$), BMI ($p = 0.0014$), fat mass (FM%) ($p = 0.0046$) and glucose ($p = 0.0255$) in group A compared to group B. Tendency to the significance of differences were recorded for HOMA-IR ($p = 0.0596$). Comparative analysis of somatic features and biochemical indices between these groups in the second term of the study revealed significantly lower values of body mass ($p = 0.0180$), BMI ($p = 0.0020$), FM (kg) ($p = 0.0200$), FM (%) ($p = 0.0029$), glucose ($p = 0.0393$) in group A compared to group B. There were no significant differences between groups A and B with respect to other somatic features and biochemical indices.

Table 1 Somatic characteristics and biochemical indices in the two study terms for the entire group of women involved in the study ($n = 16$).

Parameters	Assessment at baseline (term I)	Assessment at the end (term II)
Body mass (kg)	70.04 ± 12.48 67.55 (61.15–72.15)	69.76 ± 12.20 66.85 (61.15–72.30)
BMI (kg/m ²)	27.79 ± 4.97 27.05 (24.85–29.05)	27.69 ± 4.98 27.15 (24.60–28.95)
Fat mass (kg)	26.26 ± 7.46 24.90 (21.70–28.70)	26.22 ± 7.66 24.90 (21.45–28.35)
Fat mass (%)	36.96 ± 3.88 36.60 (34.75–39.20)	37.02 ± 4.23 35.95 (33.95–39.60)
25(OH)D (ng/ml)	30.58 ± 9.37 29.45 (25.90–34.15)	24.73 ± 9.35 21.85 (18.65–29.15)**
Glucose (mmol/l)	5.42 ± 0.52 5.31 (5.14–5.63)	5.25 ± 0.52 5.28(4.90–5.42)
Insulin (μIU/ml)	12.73 ± 4.56 11.45 (9.57–14.99)	10.51 ± 2.49 10.52 (8.53–11.70)*
HOMA-IR	3.09 ± 1.25 3.04(2.33–3.64)	2.46 ± 0.63 2.56 (1.84–2.77)*
TC (mg/dl)	252.06 ± 44.11 246.50 (217.00–293.50)	255.25 ± 44.21 256.00 (232.50–283.00)
TG (mg/dl)	107.44 ± 51.80 91.00 (70.50–125.00)	97.31 ± 40.61 92.00 (66.00–114.50)
HDL-C (mg/dl)	66.10 ± 12.53 68.00 (55.50–73.45)	65.92 ± 12.66 65.85 (57.45–71.05)
LDL-C (mg/dl)	161.74 ± 39.42 155.95 (146.80–184.65)	165.61 ± 42.33 162.65 (138.55–188.95)
PTH (pg/ml)	48.53 ± 12.74 46.41 (38.44–54.76)	46.95 ± 14.72 47.11(32.92–57.31)
Sclerostin (ng/ml)	0.51 ± 0.12 0.49 (0.46–0.60)	0.57 ± 0.27 0.54 (0.36–0.69)

Notes.

Results are expressed as mean (SD); median (interquartile range).

*Significant difference ($p < 0.05$).

**Significant difference ($p < 0.01$).

BMI, body mass index; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; HOMA-IR, homeostatic model assessment of insulin resistance index; TC, total cholesterol; TG, triglycerides; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; PTH, parathormone.

Comparative analysis of somatic features and biochemical indices between the study terms in women from group A and group B showed a significant decrease only in relation to 25(OH)D concentration ($p = 0.0009$ and $p = 0.0039$, respectively). The 25(OH)D concentration decreased about 17.8% and 23% in the group A and B, respectively (Fig. 1).

Comparative analysis of the values of changes (Δ) in somatic features and biochemical indices during the study period (between terms I and II) between the two groups of women (A and B) showed no significant differences.

With respect to the variables that were measured, there was no simultaneous influence of time and group, therefore ANOVA was not carried out.

Table 2 Somatic characteristics and biochemical indices in the two study terms for the group A ($n = 10$) and group B ($n = 6$) of women.

Parameters	Groups	Assessment at baseline (term I)	Assessment at the end (term II)
Body mass (kg)	A	63.25 ± 4.81 [#]	63.11 ± 5.08 [#]
	B	81.35 ± 13.43	80.83 ± 12.83
BMI (kg/m ²)	A	25.25 ± 1.75 [#]	25.19 ± 1.89 [#]
	B	32.02 ± 5.86	31.79 ± 5.36
Fat mass (kg)	A	22.22 ± 3.19 [#]	22.05 ± 2.90 [#]
	B	32.98 ± 7.85	33.18 ± 8.25
Fat mass (%)	A	35.01 ± 2.91 [#]	34.83 ± 2.54 [#]
	B	40.20 ± 3.12	40.68 ± 4.04
25(OH)D (ng/ml)	A	32.04 ± 10.24	26.69 ± 10.63 ^{**}
	B	28.15 ± 7.96	21.47 ± 6.19 ^{**}
Glucose (mmol/l)	A	5.2 ± 0.31 [#]	5.06 ± 0.42 [#]
	B	5.78 ± 0.63	5.57 ± 0.53
Insulin (μIU/ml)	A	11.38 ± 3.97	10.09 ± 2.34
	B	14.98 ± 4.95	11.21 ± 2.79
HOMA-IR	A	2.64 ± 0.95	2.28 ± 0.59
	B	3.85 ± 1.42	2.76 ± 0.62
TC (mg/dl)	A	262.60 ± 43.41	262.60 ± 35.56
	B	234.50 ± 43.04	243.00 ± 57.45
TG (mg/dl)	A	107.00 ± 52.63	97.8 ± 37.01
	B	108.17 ± 55.35	96.50 ± 49.81
HDL-C (mg/dl)	A	66.91 ± 13.86	67.02 ± 12.55
	B	64.77 ± 11.04	64.08 ± 13.82
LDL-C (mg/dl)	A	170.55 ± 32.58	169.64 ± 34.28
	B	147.07 ± 48.35	158.90 ± 56.33
PTH (pg/ml)	A	46.22 ± 9.66	44.58 ± 13.46
	B	52.40 ± 17.05	50.89 ± 17.15
Sclerostin (ng/ml)	A	0.52 ± 0.12	0.52 ± 0.22
	B	0.51 ± 0.12	0.65 ± 0.35

Notes.

Results are expressed as mean ± SD.

[#]Significant difference between groups A and B ($p < 0.05$).

[#]Significant difference between groups A and B ($p \leq 0.01$).

*Significant difference ($p < 0.05$).

**Significant difference ($p < 0.01$).

BMI, body mass index; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; HOMA-IR, homeostatic model assessment of insulin resistance index; TC, total cholesterol; TG, triglycerides; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; PTH, parathormone.

The relationship analysis conducted for the whole group of the women showed no significant correlation between the magnitude of the reduction in 25(OH)D concentrations between the first and second terms of the study (Δ) and the somatic features and biochemical indices assessed at the beginning of the study (term I). Only a tendency for positive correlations between changes (Δ) 25(OH)D and insulin concentration on the first study term ($r = 0.44$, $p = 0.0888$) was noted. However, in the division into groups (A

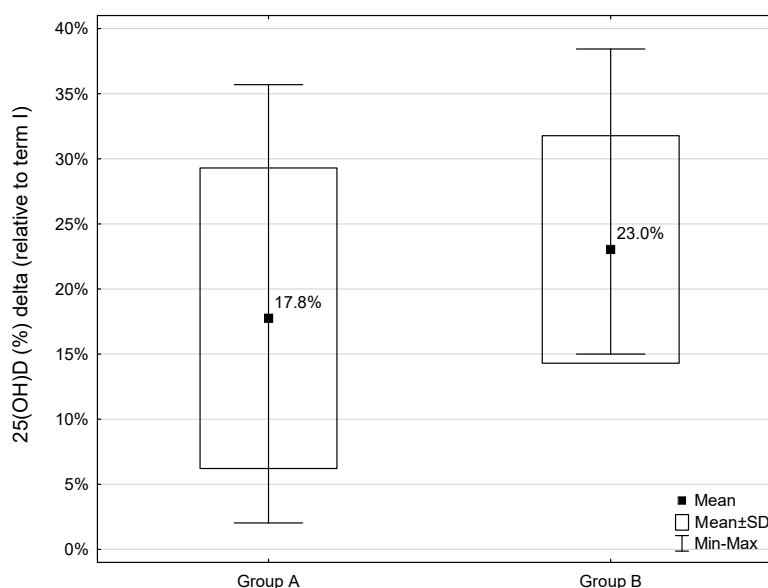


Figure 1 Percentage decrease (Δ) in 25(OH)D concentrations during the study period (relative to term I) for groups A and B (A - group with a normal BMI, B - group with a BMI above the norm). Decrease in 25(OH)D concentrations was observed in all participants.

Full-size [DOI: 10.7717/peerj.11341/fig-1](https://doi.org/10.7717/peerj.11341/fig-1)

and B), in group A significant positive relationship of Δ 25(OH)D concentration (reduction between terms I and II) with body mass ($r = 0.70$, $p = 0.0249$) measured on the first study term was found. In the case of FM, measured on the first study term, the relationships of this variable with Δ 25(OH)D concentration (reduction between terms I and II) were found to be positive in group A [FM(%) $r = 0.74$, $p = 0.0135$; FM (kg) $r = 0.79$, $p = 0.0062$] and negative in group B [FM(%) $r = -0.89$, $p = 0.0187$; FM(kg) $r = -0.84$, $p = 0.0342$, Fig. 2].

On the basis of the correlation results, it can be stated that in group A the decrease in 25(OH)D concentration during the study period is greater when the fat mass content is higher, whereas in group B, the higher the fat mass, the smaller the decrease in 25(OH)D concentration.

The analysis of the relationships for the whole group of women ($n = 16$) showed significant negative correlations of Δ (difference between the first and second terms of the study) glucose and tendency to correlation of Δ insulin, Δ HOMA-IR with sclerostin concentrations measured at the term I ($r = -0.50$, $p = 0.0490$; $r = -0.48$, $p = 0.0621$; $r = -0.45$, $p = 0.0825$, respectively) and tendency to correlation of Δ PTH concentrations with FM (%) value measured at the term I ($r = -0.46$, $p = 0.0730$).

The analysis of correlations of changes during the study period of biochemical indicators and somatic features, carried out for the whole group of women ($n = 16$), showed significant positive relationships of Δ TC with: Δ TG ($r = 0.51$, $p = 0.0449$), Δ HDL-C ($r = 0.65$, $p = 0.0069$), Δ LDL-C ($r = 0.94$, $p \leq 0.0001$), Δ insulin ($r = 0.53$, $p = 0.0338$), then Δ LDL-C with: Δ insulin ($r = 0.59$, $p = 0.0159$) and Δ HOMA-IR ($r = 0.56$, $p = 0.0244$), as well as Δ glucose with Δ sclerostin ($r = 0.64$, $p = 0.0076$). Moreover, a tendency of relationship of

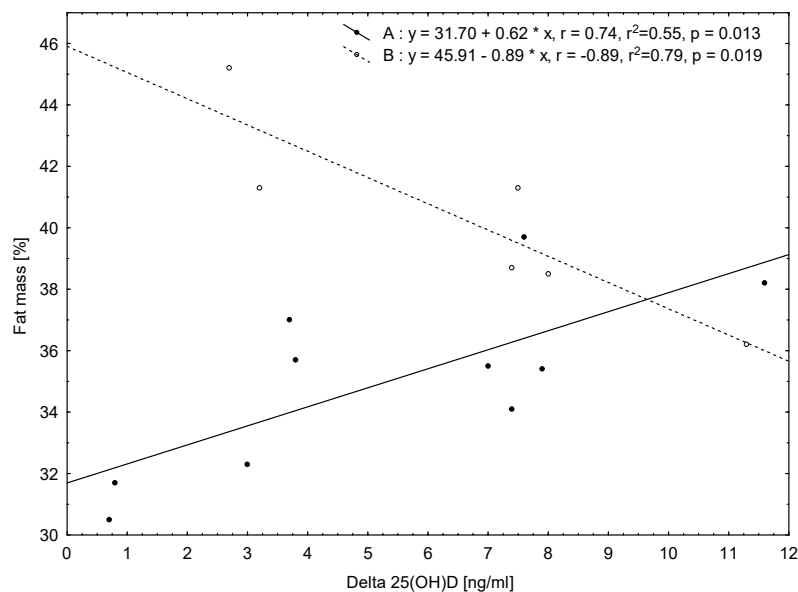


Figure 2 Relationship between values of change (Δ) in 25(OH)D concentrations from term I to term II and fat mass (%) measured in term I for the two groups of women according to their BMI category: group A (normal BMI) and group B (BMI above the norm).

Full-size DOI: [10.7717/peerj.11341/fig-2](https://doi.org/10.7717/peerj.11341/fig-2)

Δ FM (%) with: Δ insulin ($r = 0.48$, $p = 0.0588$), Δ HOMA-IR ($r = 0.52$, $p = 0.0394$) and then Δ 25(OH)D with Δ insulin ($r = 0.43$, $p = 0.0969$) was found.

DISCUSSION

In our study of postmenopausal women, we recorded a significant decrease in 25(OH)D concentration in the period from autumn to winter (the mean value decreased by about 19.7% and the median by 20.8%). Taking into account the fact that vitamin D contributes to the metabolism of carbohydrates and lipids, we expected that during the study period we would also observe a deterioration in these processes. Paradoxically, we also observed a significant decrease in the insulin resistance index.

With regard to seasonal changes in 25(OH)D concentration, it is difficult to compare the results of our research to those obtained by other authors, because these changes in 25(OH)D concentration in blood can be influenced by numerous factors, such as climate zone and related UV intensity. *Andersen et al. (2013)* also conducted a study on 25(OH)D concentrations in winter and late summer (February–March and August–September), and also in February–March the following year for Danish women (aged 70–75 years). Their findings show that between summer and winter, the level of vitamin D (median) decreased on average by approximately 25%. These results are comparable to the changes recorded in our study. The authors concluded that in order to reach suboptimal level of 25(OH)D in blood serum during winter (in line with the recommended level of approximately 50 nmol/l, 20 ng/dl), it is necessary to reach a level of around 100 nmol/l (40 ng/dl)

during summer. In our study, we observed that at the beginning of the winter, the average 25(OH)D was higher than 20 ng/dl if the women's 25(OH)D was higher than 25 ng/dl in early autumn. However, it should be noted that in our study we measured 25(OH)D at the beginning of the winter season (December), while in the study by [Andersen et al. \(2013\)](#) it was measured during the February-to-March period. Similarly, in studies conducted in an Estonian population (women and men aged 25-70) it was observed that the average concentration of 25(OH)D in women in the winter period (January–March) was 26.3% lower than in the summer (September) ([Kull Jr et al., 2009](#)). In these studies, it was observed that the 25(OH)D concentrations were strongly correlated with sunbathing habits, both in winter and in summer time. [Andersen et al. \(2013\)](#) observed that vitamin D intake from supplements ($p < 0.0001$) and diet ($p = 0.002$) were also determinants of the change in vitamin D status in the period from summer to winter.

The main source of vitamin D in the human body in winter is food, especially fish. [Nakamura et al. \(2000\)](#) study conducted in a Japanese female population revealed that fish consumption was significantly associated with 25(OH)D serum concentrations ($p < 0.001$) and the frequency of fish consumption (≥ 4 times/wk) may be an important determinant of 25(OH)D level in the winter. In the women in our study, fish consumption was relatively low. The majority of the women declared that they consume fish once a week ($n = 13$) or less ($n = 2$) and only one woman declared fish consumption twice a week.

The main finding of this study was to reveal a significant relationship between seasonal changes in 25(OH)D concentrations and body fat percentage measured at the beginning of the study (the first term of the study—the autumn period) in both groups of postmenopausal women. However, on the basis of these results it can be concluded that there is a different direction of these correlations, depending on BMI. In women with normal BMI (group A), the decrease in 25(OH)D concentration was greater when the body fat percentage was higher, whereas in women with a BMI value above the reference values (group B), the higher the fat percentage, the smaller the decrease in 25(OH)D concentration. This finding may suggest that in women with higher BMI and a higher percentage of fat mass, fat tissue can be a reservoir of vitamin D that attenuates its decrease, however, it needs further investigations.

The relationships of a low serum 25(OH)D concentration with an increased fat mass ([Tosunbayraktar et al., 2005](#)), and with total vitamin D in omental and subcutaneous fat in both obese individuals and those with normal body mass ([Carrelli et al., 2017](#)) were confirmed by several studies. [Carrelli et al. \(2017\)](#), who used fat tissue biopsy, advanced the hypothesis that a large amount of this tissue in obese women (18–70 years old) is a reservoir of vitamin D. Vitamin D content in adipose tissue may therefore predispose obese individuals to a reduced serum 25(OH)D level. In our study, although it was confirmed that there is the significant relationship between seasonal variations (Δ) in 25(OH)D and FM(%) in the autumn period in both groups of women, it is interesting that there are different directions of these correlations. We did not observe any significant relationship of 25(OH)D concentration with the body fat percentage in the whole group of women in both study terms. However, it should be emphasized that other factors, such as the

frequency of women's outdoor activities, especially during the first study period, may have also influenced 25(OH)D concentrations.

In our study, we did not observe any associations of 25(OH)D with lipid metabolism indices and any significant changes in lipid profile from the beginning of autumn to winter. The associations of 25(OH)D with TC, HDL-C, LDL-C (*Jungert, Roth & Neuhäuser-Berthold, 2015*) and with TG's (*Grimnes et al., 2011*) have been confirmed in previous studies. However, *Jungert, Roth & Neuhäuser-Berthold (2015)* observed these relationships only at 25(OH)D levels ≥ 62 nmol/l, independent of body composition and lifestyle. Moreover, *Grimnes et al. (2011)* found that additional supplementation with vitamin D had no effects on TG and other lipids concentrations.

We did confirm a significant decrease in insulin and HOMA-IR during the study period, which indicates an improvement in insulin sensitivity. Seasonal changes in insulin sensitivity and lipid profile were observed in studies of other authors investigating elderly people (*Berglund et al., 2012; Skutecki et al., 2019*). In these studies, authors have explained their results by the variability of the external temperature and nutritional habits leading to changes in body composition. In our study, we wanted to check whether the seasonal changes in 25(OH)D concentration would be related to changes in insulin sensitivity and lipid profile. Due to the seasonal decrease in 25(OH)D and its contribution to carbohydrate and lipid metabolism, we expected changes in the opposite direction. Vitamin D modulates glycemic homeostasis by modulating the secretion of insulin by β -cells and increasing glucose uptake in tissues (*Greco, Lenzi & Migliaccio, 2019; Girgis et al., 2013*). It was demonstrated that 1,25(OH)₂D₃ is a significant contributor to the expression of insulin receptors, insulin signaling in skeletal muscles and the reduction in hyperglycemia and hyperinsulinemia (*Girgis et al., 2013*). However, in our study we did not identify significant correlations between 25(OH)D concentrations and carbohydrate metabolism indices; we only noted a tendency towards a positive correlation of 25(OH)D changes (Δ) with insulin concentration measured on the first study term ($p = 0.0888$). This may indicate a greater decrease in 25(OH)D concentration in subjects with lower insulin sensitivity. We have also noticed a trend of a positive relationship between the decrease (Δ) in 25(OH)D concentration and the decrease (Δ) in insulin concentration ($p = 0.0969$) over the study period.

The explanation that improved insulin sensitivity (reduction in insulin and HOMA-IR levels) in our study in the period from early autumn to winter (contrary to our expectations and despite the reduction in 25(OH)D levels) can hypothetically be based on the composition of several factors—drop in the external temperature and an increased basic metabolism leading to body mass reduction or religious-based limitations in food intake because of completing the study in the pre-Christmas period (*Skutecki et al., 2019*).

In our study, we did not observe any significant changes in the PTH concentrations, neither in the women as a whole nor when divided by groups. PTH is the main stimulator of vitamin D hydroxylation in the kidneys, while vitamin D exerts a negative influence on PTH secretion. A low level of 25(OH)D leads to reduced intestinal calcium absorption efficiency and the body reacts by increasing the secretion of PTH (*Heaney, 2008*). However,

there are suggestions that the threshold of serum 25(OH)D, where serum PTH starts to rise, is about 75 nmol/l (30 ng/ml), according to most surveys ([Lips, 2006](#)).

In our study, we evaluated the concentration of sclerostin. However, changes in 25(OH)D concentrations between the terms of the study in postmenopausal women were not significantly related to the change in serum sclerostin or its concentrations at the beginning of the study. [Azzam et al. \(2019\)](#) in the cross-sectional study of subjects with obesity and normal body mass hypothesized that the relationship between sclerostin and vitamin D levels has an important role in the link between obesity and bone metabolism. Sclerostin is a glycoprotein produced by osteocytes and to a lesser extent by other cell types (the kidneys, vessels). By inhibiting the canonical signal pathway of the Wnt/ β -catenin tract, it is a negative regulator of osteoblast activity ([Clarke & Drake, 2013](#)). Apart from its main activity related to bone resorption, sclerostin is also involved in carbohydrate metabolism ([Daniele et al., 2015](#)). Such a relationship may be indicated by the significant negative correlations we observed between the concentrations of sclerostin in term I and the change in the concentrations of glucose and tendency to relationship with insulin and HOMA-IR and a high positive correlation between the change in the sclerostin concentration and the change in glucose concentration between the study terms. [Daniele et al. \(2015\)](#) demonstrated that sclerostin levels are increased in pre-diabetic patients and correlated with insulin levels and insulin resistance measured using the oral glucose tolerance test (OGTT) and with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp. The authors concluded that in the initial stage of glucose intolerance and insulin resistance, sclerostin may play a role in the action of insulin and its clearance and put forward the hypothesis that it may be involved in the Wnt signaling of liver glucose metabolism. In a cohort study, [Yu et al. \(2017\)](#) also observed a relationship between sclerostin concentrations and fasting insulin levels and HOMA-IR, but found no clear link to the risk of type 2 diabetes.

The limitation of the study is that we did not study women's diet in the two terms - at the beginning and at the end of the study. This would have allowed us to assess the influence of diet on the indices being studied (especially insulin concentration). Moreover, the study was carried out on a small sample. On the other hand, the strength of this study was that it excluded participants with factors such as drugs or supplements which would have impacted the data, and therefore our study limited these confounding factors. It is also worth noting that the women participating in the study declared that they did not engage in systematic intensive physical activity, which may be confirmed by the absence of changes in sclerostin concentrations ([Janik et al., 2018](#)).

CONCLUSION

The results of this study indicate a significant seasonal decrease in 25(OH)D in the autumn-winter period, which in women with normal BMI was greater as the body fat percentage became higher, while in the higher BMI group, a higher body fat percentage tracked with a smaller decrease in 25(OH)D. Changes in 25(OH)D concentrations did not significantly affect the concentration of carbohydrate and lipid metabolism indices. Therefore, it may be environmental or lifestyle-related factors, such as nutritional behaviour, that may have had a greater impact on these indices.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Ms. Magdalena Lewandowska and co-workers for their assistance in statistical analysis.

ADDITIONAL INFORMATION AND DECLARATIONS

Funding

The authors received no funding for this work.

Competing Interests

The authors declare there are no competing interests.

Author Contributions

- Anna Huta-Osiecka and Alicja Nowak conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the paper, and approved the final draft.
- Krystian Wochna performed the experiments, prepared figures and/or tables, and approved the final draft.
- Zbigniew Kasprzak performed the experiments, authored or reviewed drafts of the paper, and approved the final draft.

Human Ethics

The following information was supplied relating to ethical approvals (i.e., approving body and any reference numbers):

The Bioethics Committee at the Karol Marcinkowski Medical University in Poznań, Poland approved this research (901/17).

Data Availability

The following information was supplied regarding data availability:

The raw measurements are available in the [Supplementary File](#).

Supplemental Information

Supplemental information for this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.11341#supplemental-information>.

REFERENCES

- Andersen R, Brot C, Jakobsen J, Mejborn H, Mølgaard C, Skovgaard LT, Trolle E, Tetens I, Ovesen L. 2013. Seasonal changes in vitamin D status among Danish adolescent girls and elderly women: the influence of sun exposure and vitamin D intake. *European Journal of Clinical Nutrition* **67**(3):270–274 DOI 10.1038/ejcn.2013.3.
- Azzam EZ, Ata MN, Younan DN, Salem TM, Abdul-Aziz AAD. 2019. Obesity: relationship between vitamin D deficiency, obesity and sclerostin as a novel biomarker of bone metabolism. *Journal of Clinical and Translational Endocrinology* **21**(17):100197 DOI 10.1016/j.jcte.2019.100197.

- Babiarczyk B, Turbiarz A. 2012.** Body mass index in elderly people—do the reference ranges matter? *Progress in Health Sciences* 2(1):58–67.
- Berglund L, Berne Ch, Svärdsudd K, Garmo H, Melhus H, Zethelius B. 2012.** Seasonal variations of insulin sensitivity from a euglycemic insulin clamp in elderly men. *Upsala Journal of Medical Sciences* 117(1):35–40 DOI 10.3109/03009734.2011.628422.
- Carrelli A, Bucovsky M, Horst R, Cremers S, Zhang C, Bessler M, Schrope B, Evanko J, Blanco J, Silverberg SJ, Stein EM. 2017.** Vitamin D storage in adipose tissue of obese and normal weight women. *Journal of Bone Mineral Research* 32(2):237–242 DOI 10.1002/jbmr.2979.
- Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. 2016.** Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiological Reviews* 96(1):365–408 DOI 10.1152/physrev.00014.2015.
- Cimini FA, Barchetta I, Carotti S, Morini S, Cavallo MG. 2019.** Overview of studies of the vitamin D/vitamin D receptor system in the development of non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology* 10(2):11–16 DOI 10.4291/wjgp.v10.i2.11.
- Clarke BL, Drake MT. 2013.** Clinical utility of serum sclerostin measurements. *Bonekey Reports* 2:361 DOI 10.1038/bonekey.2013.95.
- Daniele G, Winnier D, Mari A, Bruder J, Fourcaudot M, Pengou Z, Tripathy D, Jenkinson C, Folli F. 2015.** Sclerostin and insulin resistance in prediabetes: evidence of a cross talk between bone and glucose metabolism. *Diabetes Care* 38(8):1509–1517 DOI 10.2337/dc14-2989.
- Girgis CM, Clifton-Bligh RJ, Hamrick MW, Holick MF, Gunton JE. 2013.** The roles of vitamin D in skeletal muscle: form, function, and metabolism. *Endocrine Reviews* 34(1):33–82 DOI 10.1210/er.2012-1012.
- Greco EA, Lenzi A, Migliaccio S. 2019.** Role of hypovitaminosis D in the pathogenesis of obesity-induced insulin resistance. *Nutrients* 11(7):1506 DOI 10.3390/nu11071506.
- Grimnes G, Figenschau Y, Almås B, Jorde R. 2011.** Vitamin D, insulin secretion, sensitivity, and lipids: results from a case-control study and a randomized controlled trial using hyperglycemic clamp technique. *Diabetes* 60(11):2748–2757 DOI 10.2337/db11-0650.
- Heaney RP. 2008.** Vitamin D in health and disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 3(5):1535–1541 DOI 10.2215/CJN.01160308.
- Janik M, Stuss M, Michalska-Kasiczak M, Jegier A, Sewerynek E. 2018.** Effects of physical activity on sclerostin concentrations. *Endokrynologia Polska* 69(2):142–149 DOI 10.5603/EP.a2018.0008.
- Jukic AMZ, Hoofnagle AN, Lutsey PL. 2018.** Measurement of vitamin D for epidemiologic and clinical research: shining light on a complex decision. *American Journal of Epidemiology* 187(4):879–890 DOI 10.1093/aje/kwx297.
- Jungert A, Roth HJ, Neuhäuser-Berthold M. 2015.** Associations of serum 25-hydroxycholecalciferol and parathyroid hormone with serum lipids differ by sex and vitamin D status. *Public Health Nutrition* 18(9):1684–1691 DOI 10.1017/S1368980014002286.

- Kayaniyil S, Vieth R, Retnakaran R, Knight JA, Qi Y, Gerstein HC, Perkins BA, Harris SB, Zinman B, Hanley AJ. 2010. Association of vitamin D with insulin resistance and beta-cell dysfunction in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes Care* 33(6):1379–1381 DOI 10.2337/dc09-2321.
- Kull Jr M, Kallikorm R, Tamm A, Lember M. 2009. Seasonal variance of 25-(OH) vitamin D in the general population of Estonia, a Northern European country. *BMC Public Health* 9:22 DOI 10.1186/1471-2458-9-22.
- Lips P. 2006. Vitamin D physiology. *Progress in Biophysics & Molecular Biology* 92(1):4–8 DOI 10.1016/j.pbiomolbio.2006.02.016.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28(7):412–419 DOI 10.1007/BF00280883.
- Nakamura K, Nashimoto M, Hori Y, Yamamoto M. 2000. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and related dietary factors in peri- and postmenopausal Japanese women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71(5):1161–1165 DOI 10.1093/ajcn/71.5.1161.
- Norval M, Björn LO, De Gruijl FR. 2010. Is the action spectrum for the UV-induced production of previtamin D3 in human skin correct? *Photochemical and Photobiological Sciences* 9(1):11–17 DOI 10.1039/b9pp00012.
- Papadakis G, Keramidis I, Kakava K, Pappa T, Villiotou V, Triantafillou E, Drosou A, Tertipi A, Kaltzidou V, Pappas A. 2015. Seasonal variation of serum vitamin D among Greek female patients with osteoporosis. *In Vivo* 29(3):409–413.
- Skutecki R, Cymes I, Dragańska E, Glińska-Lewczuk K, Buciński A, Drozdowski M, Romaszko J. 2019. Are the levels of lipid parameters associated with biometeorological conditions? *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(23):4636 DOI 10.3390/ijerph16234636.
- Tosunbayraktar G, Bas M, Kut A, Buyukkaragoz AH. 2005. Low serum 25(OH)D levels are associated to higher BMI and metabolic syndrome parameters in adult subjects in Turkey. *African Health Sciences* 15(4):1161–1169 DOI 10.4314/ahs.v15i4.15.
- Yu OH, Richards B, Berger C, Josse RG, Leslie WD, Goltzman D, Kaiser SM, Kovacs CS, Davison KS. 2017. The association between sclerostin and incident type 2 diabetes risk: a cohort study. *Clinical Endocrinology* 86(4):520–525 DOI 10.1111/cen.13300.



Influence of Nordic walking with poles with an integrated resistance shock absorber on carbohydrate and lipid metabolic indices and white blood cell subpopulations in postmenopausal women

Anna Huta-Osiecka¹, Krystian Wochna², Rafał Stemplewski³, Katarzyna Marciniak³, Tomasz Podgórski⁴, Zbigniew Kasprzak¹, Piotr Leszczyński⁵ and Alicja Nowak¹

¹ Department of Hygiene, Poznan University of Physical Education, Poznań, Poland

² Laboratory of Swimming and Water Lifesaving, Poznan University of Physical Education, Poznań, Poland

³ Department of Physical Activity Sciences and Health Promotion, Poznan University of Physical Education, Poznań, Poland

⁴ Department of Physiology and Biochemistry, Poznan University of Physical Education, Poznań, Poland

⁵ Department of Rheumatology, Rehabilitation and Internal Medicine, Poznan University of Medical Sciences, Poznań, Poland

ABSTRACT

Background. Regular and individualised physical activities have been shown to prevent adverse changes associated with the aging process. The main purpose of this study was to evaluate changes in carbohydrate and lipid metabolism and white blood cell (WBC) subpopulations in postmenopausal women participating in Nordic walking (NW) training and to compare the use of poles with an integrated resistance shock absorber (RSA) with the use of classic poles.

Materials & Methods. A total of 23 postmenopausal women participated in a 8-week programme of systematic physical activity between February and April. Before and after the training programme, somatic features and serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D, glucose, and insulin, were assessed, as well as lipid profile and WBC count and its specific subpopulations.

Results. Analysis of differences in somatic features and biochemical indices before and after training in the group of women who used RSA poles showed significant decreases in fat mass content ($p < 0.05$), insulin ($p < 0.05$), homeostatic model assessment of insulin resistance ($p < 0.05$), triglycerides ($p < 0.05$), total cholesterol ($p < 0.05$) and monocytes ($p \leq 0.01$). In the group of women who used classic poles (NW), there was a significant decrease in WBC ($p \leq 0.01$), lymphocytes ($p < 0.05$), monocytes ($p \leq 0.01$) and granulocytes ($p < 0.05$).

Conclusion. Increasing the training load through the use of RSA poles resulted in greater changes in carbohydrate and lipid metabolic indices compared to the use of classic NW poles. In turn, the more significant effect on WBC and its specific subpopulations count in the NW, compared to the RSA training programme, may

Submitted 29 April 2022

Accepted 7 June 2022

Published 30 June 2022

Corresponding author

Anna Huta-Osiecka,
osiecka@awf.poznan.pl

Academic editor

João Rafael Valentim-Silva

Additional Information and
Declarations can be found on
page 14

DOI 10.7717/peerj.13643

© Copyright

2022 Huta-Osiecka et al.

Distributed under

Creative Commons CC-BY 4.0

OPEN ACCESS

indicate that specificity of training load is an important factor in modifying the immune system response.

Subjects Kinesiology, Women's Health, Metabolic Sciences, Sports Medicine

Keywords Nordic walking, Physical activity, Insulin sensitivity, Lipid profile, Vitamin D, Postmenopausal women

INTRODUCTION

During the postmenopausal period women often experience a number of hormonal and metabolic changes that can adversely affect their organisms (*Stachowiak, Pertyński & Pertyńska-Marczewska, 2015*). However, research has shown that regular physical activity of adequate intensity is an important factor modifying the functioning of most metabolic pathways and promotes the maintenance of good health (*Khalafi, Malandish & Rosenkranz, 2021; Moreira et al., 2014; Sternfeld & Dugan, 2011*). Furthermore, individualised and regular physical activities have been shown to prevent adverse changes associated with the aging process (*Wang et al., 2020; Woods et al., 2012*).

Nordic walking (NW) is a physical activity that is popular, safe, and easily accessible (*Bullo et al., 2018*). NW is a marching activity with use of poles adapted from cross-country skiing. Using poles enables to engage muscles that are not used during normal walking (*Kocur & Wilk, 2006*). Among the many different forms of physical training, NW is classified as an aerobic activity in which the whole body is engaged, promoting improvements in physiological parameters and muscle strength and fitness (*Pérez-Soriano et al., 2014*). An additional advantage of this form of training is that the exercise is performed outdoors, which may contribute to beneficial metabolic effects by increasing vitamin D concentrations in the body (*Nowak et al., 2020*). Previous studies pointed out the metabolic and anti-inflammatory effects of vitamin D and the relationship between serum 25(OH)D concentrations and subpopulations of WBC has been documented (*Mousa et al., 2020*).

Pérez-Soriano et al. (2014) found that NW differs from conventional walking in its effects on the musculoskeletal system; it is more stable and can be considered an intermediate mode between walking and running; higher locomotor speeds in comparison to walking result in increased physiological loads, without increasing the subjective perception of effort. Results of a systematic review showed positive effects of NW programmes on anthropometric parameters, body composition, cardiovascular parameters, and glucose tolerance in overweight and obese people (*Gobbo et al., 2019*). In a study comparing the effects of NW and conventional walking in middle-aged men and women, *Muollo et al. (2019)* found that NW resulted in more beneficial and faster changes in parameters such as body mass index (BMI), total body fat, android fat, and leg fat, and improved physical performance to a greater extent, compared to walking. Furthermore, in another study, based on a comparison of 6 weeks of NW training with regular walking in postmenopausal women over 55 years old, *Cebula et al. (2020)* found that for the same speed, NW generated higher energy expenditure than regular walking (without poles). Thus, NW may be a primary and

more effective tool than walking for counteracting overweight and obesity in middle-aged adults.

A new form of NW utilises poles with an integrated resistance shock absorber (RSA). In this type of physical activity, the poles used for walking are modified. The premise of the RSA pole design is to increase the load on the upper body by working with resistance (*Marciniak et al., 2020*). *Marciniak et al. (2020)* suggested that participants taking part in training with this type of pole had to perform additional work with their upper limbs, thus increasing the overall intensity of the exercise, in comparison to the classical form of NW.

A number of authors have demonstrated the effectiveness of NW as a systematic physical activity through, among others, analysis of lipid and carbohydrate metabolic indices (*Hagner-Derengowska et al., 2015a; Hagner-Derengowska et al., 2015b; Prusik et al., 2018; Witkowska et al., 2021*). In the review article on physical activity in people with type 2 diabetes, *Pesta et al. (2017)* suggested that current exercise recommendations to improve metabolic processes should point out a synthesis of higher-intensity resistance exercise and lower-intensity resistance training or endurance training. In a study in overweight/obese postmenopausal women, *Johannsen et al. (2012)* observed a reduction in total WBC and neutrophil counts after an aerobic exercise program in a dose-dependent manner. Taking into account the fact that the degree of modification of metabolic and inflammatory processes in the body depends on the type of training load, the main purpose of this study was to evaluate changes in carbohydrate and lipid metabolism indices and white blood cell (WBC) subpopulations in postmenopausal women participating in training with the use of RSA poles, compared with NW training with the use of classic poles. An additional aim was to evaluate the response of these indices to systematic training with regard to body fat content and 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) concentrations.

MATERIAL AND METHODS

Participants and the study protocol

A total of 40 postmenopausal women were enrolled in the study. Women were randomly assigned to two groups according to use the type of poles—classic NW or RSA poles. Randomization was conducted as a simple blind random assignment using a computerized list. This allocation was performed by a person not involved in the conduct of the study. A questionnaire was used to obtain information on lifestyle, diseases, drugs and supplements used, and frequency of fish consumption. Subjects who used hormone replacement therapy or medication modifying lipid metabolism, who declared the presence of diabetes or liver disease, or who had stayed abroad in countries with high levels of sunlight during the two weeks preceding the study were excluded from further stages. Subjects who did not adhere to the study protocol by poor attendance at marching training or declared regular participation in other physical activity were also excluded. Finally, 23 women (NW: $n = 15$, RSA: $n = 8$) aged 66 ± 3.65 years were eligible for the research analysis. Subjects participating in the study declared that they had not previously taken part in organised Nordic walking classes.

Prior to the study, the purpose and method of the study were explained to all subjects, and all participants voluntarily consented to the study in writing. The study was approved

by the Bioethics Committee of Karol Marcinkowski Medical University in Poznan (code no. 1041/18 and 245/19).

The study was conducted between winter and spring (February–April), and the women participated in the training programme during this period. Before (1st term of measurement) and after (2nd term of measurement) the training programme, somatic features, serum concentrations of selected indices of carbohydrate and lipid metabolism and the vitamin D metabolite (25(OH)D), and WBC count and its specific subpopulations were assessed.

Training programme

The training programme lasted 8 weeks, with training sessions held twice a week, for a total of 16 sessions. Women were assigned to two groups based on the type of poles used: classic poles (NW group) and RSA poles with 4 kg resistance strength (RSA group). RSA poles (Slimline BungyPump, Sport Progress International AB, Sweden) have a built-in shock absorber with a total length of 20 cm; marching with the RSA poles therefore leads to different positioning of the upper limbs, in comparison with classic NW poles. On pressing the RSA pole, muscles perform additional work to overcome the resistance of the elastic shock absorber. Pressing the shock absorber changes the length of the pole, which, when shortened by the maximum amount, is the same length as classic NW poles. Releasing the pressure causes the stick to deform to its original length with equal force, potentially causing sensations of altered body balance ([Marciniak et al., 2021](#)).

All women (NW and RSA groups) took part in the training at the same time. The training was always conducted by the same NW instructor (Polish Nordic Walking Federation–qualified).

Each training session began with a warm-up that lasted 10–15 min. After each half of the planned distance (approximately 1.7–2.2 km, at a pace of around 1 km per 10 min), participants performed strength exercises and balance training (15 min). Stretching exercises then took place at the end of the planned distance training (15 min). During the sessions, the walking distance was gradually increased from 3.5 to 4.5 km, and the number of exercises performed was increased from 8 to 12 repetitions. Exercise intensity corresponded to 50% heart rate reserve (HRR) during exercise sessions 1–8, while in sessions 9–16, intensity was increased to 65–70% HRR, measured using a heart rate monitor (Polar Electro Oy, Kernpele, Finland). A minimum required attendance of 13 training sessions (80%) was adopted.

Before the intervention, participants were familiarised with the equipment and trained in the correct marching techniques during a 60-minute tutorial session. The training took place in a city park; the subjects walked along the inner lanes of the park, on varied ground. The length of the route was measured using the Endomondo application ([Marciniak et al., 2020](#)).

Fat mass measurement

Fat mass was measured using dual X-ray absorptiometry (DXA) on the whole body. DXA measurements were acquired using a Lunar Prodigy Advance densitometer (General

Electric, USA). All measurements were performed by the same technician, using the same instrument. Quality control for the DXA scanner was performed according to the manufacturer's recommendations, and analyses of the measurements were performed using the integrated software according to the manufacturer's recommendations.

Height and weight were measured using a certified Radwag (Radom, Poland) device with an accuracy of 0.5 cm. Body mass index (BMI) values were assessed according to the recommendations of the Committee on Diet and Health, taking into account the age of the subjects ([Babiarczyk & Turbiarz, 2012](#)).

Biochemical analysis

Blood was collected from the ulnar vein between 7:30 and 9:30 am (after participants had fasted overnight) and centrifuged to obtain serum for biochemical analysis. Blood serum was stored at -70°C until biochemical analyses were performed. Biochemical analysis were performed as previously described in [Huta-Osiecka et al. \(2021\)](#). Serum 25(OH)D concentration was determined by chemiluminescent immunoassay (CLIA), using the LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Assay (DiaSorin Inc, Saluggia, Italy), with sensitivity 4 ng/ml. The concentrations of glucose and lipid profile (TC, total cholesterol; TG, triglycerides; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol) were determined using an automatic biochemical analyser (ACCENT 220S; Cormay, Warsaw, Poland) and dedicated enzymatic tests supplied by Cormay (Warsaw, Poland). Sensitivity of tests was 0.41 mg/dl, 1.95 mg/dl, 1.4 mg/dl, 1.1 mg/dl, and 3.9 mg/dl, respectively. Insulin concentration was determined by immunoenzymatic ELISA (DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany), with sensitivity 1.76 $\mu\text{IU/ml}$. Spectrophotometric measurements for the ELISA test were made using a multi-mode microplate reader (Synergy 2 SIAFRT, BioTek, Winooski, VT, USA). The insulin resistance index (HOMA- IR, Homeostatic Model Assessment) was calculated using the formula of [Matthews et al. \(1985\)](#):

$$\text{HOMA-IR} = (\text{Insulin [IU/ml]} \times \text{Glucose [mmol/l]}) / 22.5.$$

For determination of WBC and selected subpopulation counts (lymphocytes (LYM), monocytes (MON), and granulocytes (GRA)), blood was collected using S-Monovette tubes (Sarstedt, Germany) containing K2-EDTA (EDTA dipotassium salt) as anticoagulant. Haematological measurements were carried out using the 20-parametric automated haematology analyser Mythic® 18 (Orphée, Geneva, Switzerland).

Statistical methods

Data were collected as previously described in [Wochna et al. \(2019\)](#) and are presented as mean, standard deviation (SD), median and interquartile range. Normality of distribution was verified using the Shapiro–Wilk test. The t -test and Mann–Whitney U test were employed for normally and non-normally distributed variables, respectively, to evaluate the significance of differences between groups. The t -test and Wilcoxon test were used for normally and non-normally distributed variables, respectively, to evaluate the significance of differences over time (between the first and second times that subjects were tested).

A 2×2 (group \times time interaction) repeated-measures ANOVA was used to evaluate the influence of the training programme on the assessed indices (changes across time within each group). Pearson analysis for normally distributed variables and Spearman's rank analysis for non-normally distributed variables were used to calculate correlation coefficients. Statistical significance was set at an alpha of 0.05 for all statistical procedures. Statistical analysis of results was performed using Dell Statistica data analysis software (version 13, software.dell.com; Dell Inc., Round Rock, TX, USA).

RESULTS

Table 1 presents descriptive statistics of somatic features, metabolic indices, and counts of WBC subpopulations in the group of subjects ($n = 23$) measured before and after training (1st and 2nd measurements). Comparative analysis of these parameters before and after training revealed significant changes in body mass ($p = 0.0153$), BMI ($p = 0.0099$), fat mass (%; $p = 0.0169$), fat mass (kg; $p = 0.0371$), insulin ($p = 0.0036$), HOMA-IR ($p = 0.0101$), TG ($p = 0.0455$), TC ($p = 0.0101$), LYM ($p = 0.0055$), MON ($p < 0.0001$), GRA ($p = 0.0152$), and WBC ($p = 0.0001$). No significant changes were noted for other variables.

Table 2 presents comparative analysis of somatic features, metabolic indices and subpopulations of WBCs (mean values and SD) measured before and after training for groups of women divided by the type of poles used during training (RSA, $n = 8$, and NW, $n = 15$). Comparative analysis of these variables between groups (RSA and NW) before and after training did not show any significant differences. In the RSA group, analysis of changes in somatic features and biochemical indices before and after training revealed significant decreases in fat mass content (%; $p = 0.0066$ and kg, $p = 0.0142$), insulin ($p = 0.0326$), HOMA-IR ($p = 0.0267$), TG ($p = 0.0117$), TC ($p = 0.0430$), and MON ($p = 0.0038$). On the other hand, in the NW group, there were significant increases in body mass ($p = 0.0049$) and BMI ($p = 0.0047$), and decreases in WBC ($p = 0.0004$), LYM ($p = 0.0271$), MON ($p < 0.0001$) and GRA ($p = 0.0169$).

Between groups divided with respect to the type of poles (RSA or NW), we identified a tendency for interactions (group \times time) in HDL-C concentrations ($F(1,21) = 4.2689$; $p = 0.0514$) and WBC count ($F(1,21) = 3.7441$; $p = 0.0666$) only.

For the whole group ($n = 23$), correlation analysis was carried out to evaluate relationships between several parameters (body mass, BMI, fat mass (% and kg) and 25(OH)D concentrations) assessed before training and changes (Δ) in metabolic indices (glucose, insulin, HOMA-IR, TC, LDL-C, HDL-C, TG) and WBC count and its specific subpopulations (LYM, MON, GRA) assessed after training. The only significant correlation identified was between body mass and Δ glucose ($p = 0.0482$).

For the whole group, numerous relationships between changes in specific variables (somatic, metabolic and WBC subpopulations) that occurred after training (Δ) were identified. The following positive correlations were observed: Δ body mass with Δ fat mass [%] ($r = 0.51$, $p = 0.013$) and Δ fat mass [kg] ($r = 0.75$, $p < 0.001$); Δ BMI with Δ fat mass [kg] ($r = 0.68$, $p < 0.001$) and Δ fat mass [%] ($r = 0.48$, $p = 0.022$); Δ fat mass [%]

Table 1 Somatic characteristics, biochemical indices and WBC and its specific subpopulations count in two study measurements (before and after training programme) for the entire group of women ($n = 23$).

Parameters	Assessment at baseline (term I)	Assessment at the end (term II)
Body mass (kg)	68.09 ± 9.60	68.70 ± 9.59
	67.2 (62.4–74.8)	66.6 (62.8–76.2)*
BMI (kg/m ²)	26.22 ± 3.38	26.47 ± 3.31
	25.5 (23.3–28.7)	25.8 (23.6–28.9)**
Fat mass (kg)	27.11 ± 6.19	26.59 ± 6.11
	26.1 (22.7–31.0)	25.9 (21.8–30.6)*
Fat mass (%)	40.62 ± 4.63	39.98 ± 4.41
	40.3 (37.0–43.7)	40.8 (36.1–43.2)*
25(OH)D (ng/ml)	27.01 ± 11.27	27.28 ± 10.82
	25.9 (16.1–32.5)	27.3 (17.8–37.0)
Glucose (mmol/l)	5.21 ± 0.55	5.28 ± 0.55
	5.2 (4.8–5.6)	5.2 (4.8–5.7)
Insulin (μIU/ml)	15.28 ± 6.51	12.13 ± 6.30
	16.4 (9.5–21.3)	10.2 (7.7–17.1)**
HOMA-IR	3.56 ± 1.62	2.90 ± 1.63
	3.6 (2.2–5.0)	2.5 (1.5–4.3)*
TC (mg/dl)	209.78 ± 36.51	195.70 ± 41.76
	204 (189–240)	182 (167–223)*
TG (mg/dl)	101.0 ± 59.77	91.26 ± 48.43
	87 (64–121)	81 (59–108)*
HDL-C (mg/dl)	63.71 ± 12.32	62.67 ± 11.39
	64.0 (56.8–71.9)	63.3 (57–70)
LDL-C (mg/dl)	139.27 ± 39.76	138.87 ± 43.98
	128.8 (107.5–165.1)	130.3 (103.9–178.4)
WBC (10 ⁹ /l)	6.35 ± 1.37	5.42 ± 1.26
	6.3 (4.9–7.2)	5.3 (4.6–6.0)**
LYM (10 ⁹ /l)	2.1 ± 0.56	1.87 ± 0.40
	2.0 (1.7–2.4)	1.8 (1.5–2.3)**
MON (10 ⁹ /l)	0.45 ± 0.12	0.27 ± 0.07
	0.4 (0.4–0.5)	0.3 (0.2–0.3)**
GRA (10 ⁹ /l)	3.81 ± 1.12	3.27 ± 0.99
	3.7 (2.8–4.7)	3.1 (2.8–3.5)*

Notes.

Results are expressed as mean (SD); median (interquartile range).

An asterisk (*) indicate $p < 0.054$, two asterisks (**) indicate $p < 0.01$; significant differences between the first and second terms of the study.

BMI, body mass index; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; HOMA-IR, homeostatic model assessment of insulin resistance index; TC, total cholesterol; TG, triglycerides; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; WBC, white blood cells; LYM, lymphocytes; MON, monocytes; GRA, granulocytes.

Table 2 Somatic characteristics, biochemical indices and WBC and its specific subpopulations counts in the two study terms for two groups of women divided by the type of poles (RSA, $n = 8$ and NW, $n = 15$).

Parameters	Groups	Assessment at baseline (term I)	Assessment at the end (term II)
Body mass (kg)	RSA	69.70 ± 8.33	69.83 ± 8.47
	NW	67.23 ± 10.38	68.09 ± 10.37**
BMI (kg/m ²)	RSA	26.88 ± 3.46	26.96 ± 3.38
	NW	25.87 ± 3.41	26.21 ± 3.36**
Fat mass (kg)	RSA	27.31 ± 6.30	26.30 ± 6.07*
	NW	27.00 ± 6.35	26.75 ± 6.34
Fat mass (%)	RSA	39.71 ± 5.08	38.69 ± 5.13**
	NW	41.10 ± 4.47	40.67 ± 4.00
25(OH)D (ng/ml)	RSA	31.69 ± 14.32	32.24 ± 11.62
	NW	24.51 ± 8.83	24.63 ± 9.74
Glucose (mmol/l)	RSA	5.12 ± 0.76	5.11 ± 0.68
	NW	5.25 ± 0.42	5.36 ± 0.46
Insulin (μIU/ml)	RSA	16.07 ± 5.04	11.66 ± 5.67*
	NW	14.86 ± 7.30	12.38 ± 6.79
HOMA-IR	RSA	3.68 ± 1.32	2.75 ± 1.65*
	NW	3.50 ± 1.81	2.97 ± 1.68
TC (mg/dl)	RSA	220.38 ± 35.62	197.38 ± 38.76*
	NW	204.13 ± 36.91	194.80 ± 44.57
TG (mg/dl)	RSA	100.63 ± 33.38	84.25 ± 28.32*
	NW	101.20 ± 71.11	95.00 ± 56.93
HDL-C (mg/dl)	RSA	66.71 ± 15.01	61.86 ± 11.25
	NW	62.11 ± 10.85	63.11 ± 11.83
LDL-C (mg/dl)	RSA	140.26 ± 45.93	141.38 ± 48.60
	NW	138.74 ± 37.81	137.54 ± 43.05
WBC (10 ⁹ /l)	RSA	5.95 ± 1.24	5.50 ± 1.25
	NW	6.57 ± 1.44	5.37 ± 1.31**
LYM (10 ⁹ /l)	RSA	2.17 ± 0.29	1.98 ± 0.40
	NW	2.06 ± 0.67	1.81 ± 0.39*
MON (10 ⁹ /l)	RSA	0.43 ± 0.13	0.25 ± 0.05**
	NW	0.47 ± 0.12	0.29 ± 0.07**
GRA (10 ⁹ /l)	RSA	3.35 ± 1.07	3.25 ± 1.08
	NW	4.06 ± 1.10	3.28 ± 0.98*

Notes.

^{Group RSA}poles with an integrated resistance shock absorber

^{Group NW}classic poles Results are expressed as mean ± SD

An asterisk (*) indicate $p < 0.05$, two asterisks (**) indicate $p < 0.01$; significant differences between the first and second terms of the study.

BMI, body mass index; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; HOMA-IR, homeostatic model assessment of insulin resistance index; TC, total cholesterol; TG, triglycerides; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; WBC, white blood cells; LYM, lymphocytes; MON, monocytes; GRA, granulocytes.

with Δ LYM ($r = 0.52, p = 0.011$); Δ insulin with Δ WBC ($r = 0.54, p = 0.008$), Δ GRA ($r = 0.53, p = 0.009$), Δ TC ($r = 0.45, p = 0.030$) and Δ HDL-C ($r = 0.43, p = 0.043$); Δ HOMA-IR with Δ WBC ($r = 0.056, p = 0.006$), Δ GRA ($r = 0.56, p = 0.005$) and Δ TC ($r = 0.42, p = 0.047$); Δ TC with Δ LDL ($r = 0.68, p < 0.001$). Negative correlations were observed as follows: Δ fat mass [%] with Δ WBC ($r = -0.56, p = 0.005$) and Δ GRA ($r = -0.64, p = 0.001$); Δ fat mass [kg] with Δ WBC ($r = -0.47, p = 0.025$) and Δ GRA ($r = -0.52, p = 0.012$); Δ insulin with Δ LYM ($r = -0.46, p = 0.26$); Δ HOMA-IR with Δ LYM ($r = -0.47, p = 0.024$); Δ TC with Δ TG ($r = -0.44, p = 0.037$); Δ WBC with Δ GRA ($r = 0.90, p < 0.001$).

There were observed numerous relationships between changes (Δ) in variables that occurred after training for groups divided by the type of poles used (RSA or NW). For the RSA group, the following positive correlations were observed: Δ BMI with Δ insulin ($r = 0.80, p = 0.018$), Δ HOMA-IR ($r = 0.77, p = 0.026$) and Δ HDL-C ($r = 0.72, p = 0.042$); Δ fat mass [kg] with Δ body mass ($r = 0.74, p = 0.034$); Δ insulin with Δ WBC ($r = 0.80, p = 0.018$) and Δ HDL-C ($r = 0.84, p = 0.010$); Δ HOMA-IR with Δ WBC ($r = 0.77, p = 0.025$) and Δ HDL-C ($r = 0.83, p = 0.012$); Δ HDL-C with Δ WBC ($r = 0.77, p = 0.025$); Δ LDL-C with Δ LYM ($r = 0.74, p = 0.035$) and Δ TC ($r = 0.95, p < 0.001$). There were negative correlations for Δ TG with Δ LYM ($r = -0.79, p = 0.021$), Δ TC ($r = -0.76, p = 0.028$) and Δ LDL-C ($r = -0.81, p = 0.015$).

For the NW group of women, positive correlations were observed as follows: Δ body mass with Δ total fat [kg] ($r = 0.73, p = 0.002$) and Δ total fat [%] ($r = 0.57, p = 0.026$); Δ BMI with Δ fat mass [kg] ($r = 0.068, p = 0.005$) and Δ fat mass [%] ($r = 0.53, p = 0.040$); Δ insulin with Δ WBC ($r = 0.68, p = 0.005$) and Δ GRA ($r = 0.72, p = 0.003$); Δ glucose with Δ WBC ($r = 0.51, p = 0.050$); Δ HOMA-IR with Δ WBC ($r = 0.67, p = 0.006$) and Δ GRA ($r = 0.70, p = 0.004$). Negative correlations identified were: Δ fat mass [%] with Δ WBC ($r = -0.71, p = 0.003$), Δ GRA ($r = -0.73, p = 0.002$), Δ insulin ($r = -0.58, p = 0.022$), and Δ HOMA-IR ($r = -0.57, p = 0.028$); Δ fat mass [kg] with Δ WBC ($r = -0.61, p = 0.015$), Δ GRA ($r = -0.64, p = 0.010$), Δ insulin ($r = -0.60, p = 0.018$), and Δ HOMA-IR ($r = -0.57, p = 0.027$); Δ LDL-C with Δ body mass ($r = -0.56, p = 0.029$) and Δ BMI ($r = -0.55, p = 0.035$).

DISCUSSION

Many studies have shown that regular exercise promotes the maintenance of good health and is one of the best methods to prevent and treat metabolic diseases. In the present study, after a period of walking training with two types of poles, for the entire group of subjects there was a significant improvement in carbohydrate and lipid metabolism. Reductions in insulin concentrations and HOMA-IR indicates an improvement insulin sensitivity, as well as decreases in lipid metabolic indices (TC and TG) and fat mass [kg and %] were observed. However, comparing the above-mentioned indices in groups divided according to the type of poles used (NW or RSA), despite no significant interaction between RSA and NW, comparative analysis revealed significant differences that occurred after training only in the RSA group. Significant reductions were also observed in WBC and its specific

subpopulations counts (LYM, MON, GRA). However, interestingly, significant changes occurred only in the NW group, the opposite of the metabolic indicators.

It is important to note that improvements in carbohydrate and lipid metabolism occurred even though the duration of the training intervention used in this study was relatively short (8 weeks). In a study in postmenopausal women (average age 60 years) [Akazawaa et al. \(2012\)](#) also showed that an 8-week aerobic training period of walking and cycling (average of 47 min, four times a week, 60–75% maximum heart rate) had beneficial effects on weight changes and also led to reduced TG levels and increased HDL-C blood levels.

Regarding NW training, studies have indicated the effectiveness of this specific type of physical activity on metabolic indicators. A study conducted in women with type 2 diabetes showed that a 12-week NW programme (60–90 min, 3 times a week) resulted in significant improvements in anthropometric and metabolic parameters, including reductions in glycosylated haemoglobin (HbA1c) and TG concentrations and an increase in HDL-C concentration ([Sentinelli et al., 2015](#)); such significant changes were not observed in the control group, who were also physically active (50 min of any activity, 3 times a week). Ten weeks of NW training were also shown to result in statistically and clinically more significant changes in blood carbohydrate and lipid metabolic markers than Pilates and dietary intervention in overweight and obese women ([Hagner-Derengowska et al., 2015a](#); [Hagner-Derengowska et al., 2015b](#)).

NW has been shown to be a more physiologically demanding activity than walking ([Cebula et al., 2020](#)), while [Muollo et al. \(2019\)](#) concluded that this form of training can cause more beneficial changes in somatic parameters and increase physical capacity to a greater extent than conventional walking. On the other hand, in a study conducted in postmenopausal women (>55 years) who participated in walking and NW training for 12 weeks (60 min, three times a week); [Witkowska et al. \(2021\)](#) found comparable effects and improvement in blood lipid profile in both study groups (decrease in LDL-C levels in women who performed NW training and decrease in TC and LDL-C levels in women who performed walking training). The purpose of our study was to evaluate whether applying a higher load in RSA pole walking training would have a greater effect on metabolic outcomes than NW. However, we did not observe significant interactions in the response of most metabolic indices to the training programme when comparing groups of women divided by the type of poles used; a tendency in interaction (group x time) occurred only for changes in HDL-C concentration. Nevertheless, it is worth noting that the applied training programme contributed to significant changes in carbohydrate metabolism only in the group of women using RSA poles (decreases in TG, TC, insulin concentration, and HOMA-IR index), for whom changes in fat content were also observed. The results obtained in this study suggest that training loads applied through the use of RSA poles are more effective than classic NW poles. A previous study comparing different training programmes for groups of obese people with and without diabetes (45–65 years) showed that while supervised NW and gym-based programmes were equally effective for improving several parameters (body weight, body composition, muscular flexibility and VO₂max levels), only NW resulted in

significant improvements in concentrations of HbA1c, total and HDL cholesterol (*Pippi et al., 2020*).

In our study, we measured WBC and its specific subpopulations counts (LYM, MON, GRA). In addition to being immune system cells and non-specific indicators of inflammation, WBC have been reported to be related to carbohydrate metabolism (*Lorenzo, Hanley & Haffner, 2014; Vozarova et al., 2002*). In their study conducted in a population of nondiabetic Pima Indians, *Vozarova et al. (2002)* observed that a high WBC count was associated with reduced insulin sensitivity in this group; the authors therefore suggested that chronic activation of the immune system may play a role in the pathogenesis of type 2 diabetes. Furthermore, the Insulin Resistance Atherosclerosis Study, conducted over a period of 5 years in different nondiabetic ethnic groups (56% women; age range 40–69 years), revealed elevated total WBC, neutrophil (NEU) and LYM counts in individuals who were at increased risk of diabetes; LYM count was associated with insulin sensitivity, NEU and MON counts with subclinical inflammation, and total WBC with both insulin sensitivity and subclinical inflammation (*Lorenzo, Hanley & Haffner, 2014*). In our study, there was a significant decrease in WBC and its specific subpopulation counts (LYM, MON, GRA) after the training period, however, these parameters were reduced within the reference values. The decrease in WBC and GRA counts correlated with the decrease in insulin sensitivity and HOMA-IR observed in the study subjects, confirming the relationship between these indices.

Timmerman et al. (2008) observed that a healthy, physically inactive group of subjects (65- to 80-year-old men and women) had a significantly higher percentage of circulating MON compared with an age-matched physical activity comparison group; they concluded that training by the previously inactive subjects markedly reduced the percentage and count of these proinflammatory cells in the circulatory system. It should be noted, however, that in our study, when women were divided into groups, more significant changes with respect to WBC subpopulation count were noted in the group of women using classic poles (NW), compared with women using RSA poles. Similar changes with respect to WBC were reported in a study on inactive postmenopausal, overweight, and obese women with an average age of 57 years; aerobic training (treadmill walking and semi-recumbent cycle ergometry) for 6 months (50% VO_2 peak intensity) was observed to reduce WBC and NEU counts in the study group, while the decreases were highest in the group with the highest training load (*Johannsen et al., 2012*).

The differences between the groups of women (NW and RSA) in the response of WBC subpopulations to the training programme in our study are difficult to explain, but we can conclude that the specificity of the training load is important in modifying the immune system response; however, this requires further research. The results of other studies also confirmed the significant influence of the nature of the training on these indices. For example, *Horn et al. (2010)* retrospectively analysed the blood test results of elite athletes participating in different endurance sports and showed that more aerobically-oriented sports tended to result in lower WBC and NEU counts, especially when compared to team sports or skill-based sports.

Regarding 25(OH)D concentrations, we did not observe changes in this metabolite during the training period in the study group as a whole ($n = 23$) or when comparing RSA and NW groups. *Pilch et al. (2016)* found that 6 weeks of NW training in late autumn contributed to lower blood 25(OH)D levels in women older than 55 years. The authors suggested that reduced 25(OH)D levels may have been the result of either decreased vitamin D biosynthesis in the skin (due to decreasing UV intensity during the study period) or vitamin D involvement in muscle metabolism. Therefore, the timing of our study was chosen on the assumption that the intensity of UVB radiation would not change significantly. In the latitude (Poland) where our study took place, this period (February–April) is characterised by low UV intensity (*Andersen et al., 2013*). We therefore hypothesised that the timing of the study would avoid seasonal changes in serum 25(OH)D concentrations, allowing us to observe its levels and evaluate possible changes in response to exercise load. A number of studies have suggested that physical activity may modify vitamin D levels. For example, *Fernandes & Barreto Jr (2017)* suggested that physical activity may help to achieve higher vitamin D serum levels in the population, as factors other than sun exposure appeared to be responsible for higher vitamin D levels in more active individuals; however, this phenomenon needs further investigation. In addition, increased vitamin D levels ($p < 0.0001$) were identified in women aged 65–74 years after training outdoors in Nordic walking 3 times a week for 60 min, from April to June; no statistically significant changes were found in the control group (*Podsiadlo et al., 2021*). In light of these results, the authors of this study concluded that physical activity of average intensity, carried out outdoors (with sun exposure), positively affected the level of vitamin D; however, taking other studies into account, they concluded that indoor activity (without direct exposure to sunlight) may also have an positive influence.

In the present study, an additional aim of the analysis was to evaluate the effect of marching training on carbohydrate and lipid metabolic indices in relation to 25(OH)D levels and somatic features (body mass, BMI, fat mass), which were assessed prior to the training programme. A number of previous studies suggested an association between serum 25(OH)D levels and indices of carbohydrate and lipid metabolism (*Grimnes et al., 2011; Jungert, Roth & Neuhäuser-Berthold, 2015*). Receptors for vitamin D have been identified in pancreatic cells (*Christakos et al., 2016*), adipose tissue, and the liver (*Cimini et al., 2019*), indicating that this vitamin is involved in energy metabolism. However, in our previous study, we did not find significant relationships between seasonal changes in 25(OH)D concentration and levels of carbohydrate and lipid metabolic indices in women who did not engage in physical activity during the study period (*Huta-Osiecka et al., 2021*). In the present study, we also found no association between 25(OH)D concentrations and metabolic indices, as well as no correlation between the changes in metabolic indices (comparing levels before and after training) and 25(OH)D levels either for the whole group or for RSA and NW groups. Thus, we assume that the changes in metabolic indices observed in our study were related to physical activity alone and that serum 25(OH)D levels did not modify these changes.

Studies by other authors indicate a relationship between fat mass content and indices of carbohydrate and lipid metabolism; pathological changes in these indices are particularly

observed in overweight and obese individuals (*Jabłowska-Lietz et al., 2017*). Women participating in our study were mostly characterised by normal BMI values, with above-normal BMI only found in five people. *Zegarra-Lizana et al. (2019)* found an association between elevated body fat content (%) and the presence of insulin resistance in a Peruvian population, despite BMI within the normal range. For the whole group of subjects, we did not observe any relationship between body weight, BMI, and fat mass (kg, %) measured prior to the training programme and the magnitude of the changes in metabolic indices due to the training programme. Therefore, we can conclude that the magnitude of changes in these indices was not determined by fat mass content. However, recent studies have revealed a significant relationship between seasonal changes in 25(OH)D concentration and body fat percentage measured at the beginning of the study (autumn period) in postmenopausal women (*Huta-Osiecka et al., 2021*).

In the current study, we observed that for the whole group, fat mass content (kg and %) was significantly decreased at the end of the training programme, while for groups separated by type of pole, changes in these parameters were only observed in the RSA group. There was a positive correlation between the decrease in fat mass (kg and %) and the decrease in LYM count, while inverse correlations between the decrease in fat mass (kg and %) and the decrease in WBC and GRA counts were observed for the group as a whole. However, it is difficult to explain these differential directions of correlations between changes in body fat and WBC subpopulations. Interestingly, in the NW group, although fat mass did not change significantly after the applied training programme, we observed a significant increase in body weight and BMI, which may indicate a possible increase in lean mass; we did not observe such changes in the group using RSA poles. The significant effect of NW on muscle tissue is confirmed by *Micielska et al. (2021)* study comparing the effects of NW training with high intensity interval training (HIIT). These authors found that NW was more effective than HIIT at inducing changes in blood exerkine concentrations in elderly people.

The limitation of this study is that it was carried out on a small sample. However, the small size of the group allowed subjects to train at the same time with a single instructor (the same one each time); similar training loads were thus applied to all subjects, with the exception of differences in intensity resulting from the use of two types of poles. In this study we did not analyse the influence of diet and supplements on the indices being studied (especially insulin and lipid indices concentrations). On the other hand, the strength of this study was that it excluded participants who were taking medication which could have affected the data, therefore limiting potential confounding factors.

CONCLUSION

A short marching training programme contributed to an improved profile of carbohydrate and lipid metabolic indices in postmenopausal women. These effects were not dependent on 25(OH)D levels or body fat content. Increasing the training load through the use of RSA poles resulted in greater changes in the aforementioned indices compared to classic NW poles. However, in the case of WBC subpopulations, significant changes occurred

only in the group of women using NW poles, which may indicate that training load is important in modifying the immune system response; this finding may be the subject of further research.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Ms. Magdalena Lewandowska for her assistance in statistical analysis

ADDITIONAL INFORMATION AND DECLARATIONS

Funding

The authors received no funding for this work.

Competing Interests

The authors declare there are no competing interests.

Author Contributions

- Anna Huta-Osiecka conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Krystian Wochna performed the experiments, analyzed the data, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Rafał Stemplewski performed the experiments, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Katarzyna Marciniak performed the experiments, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Tomasz Podgórski performed the experiments, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Zbigniew Kasprzak performed the experiments, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Piotr Leszczyński analyzed the data, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Alicja Nowak conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the article, supervision, and approved the final draft.

Human Ethics

The following information was supplied relating to ethical approvals (i.e., approving body and any reference numbers):

The study was approved by the Bioethics Committee of Karol Marcinkowski Medical University in Poznan (code no. 1041/18 and 245/19).

Data Availability

The following information was supplied regarding data availability:

The raw measurements are available in the [Supplementary File](#).

Supplemental Information

Supplemental information for this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.13643#supplemental-information>.

REFERENCES

- Akazawaa N, Choia Y, Miyakia A, Sugawara J, Ajisaka R, Maeda S. 2012. Aerobic exercise training increases cerebral blood flow in postmenopausal women. *Artery Research* 6:124–129 DOI 10.1016/j.artres.2012.05.003.
- Andersen R, Brot C, Jakobsen J, Mejborn H, Mølgaard C, Skovgaard LT, Trolle E, Tetens I, Ovesen L. 2013. Seasonal changes in vitamin D status among Danish adolescent girls and elderly women: the influence of sun exposure and vitamin D intake. *European Journal of Clinical Nutrition* 67(3):270–274 DOI 10.1038/ejcn.2013.3.
- Babiarczyk B, Turbiarz A. 2012. Body mass index in elderly people—do the reference ranges matter? *Progress in Health Sciences* 2(1):58–67.
- Bullo V, Gobbo S, Vendramin B, Duregon F, Cugusi L, Di Blasio A, Bocalini DS, Zaccaria M, Bergamin M, Ermolao A. 2018. Nordic walking can be incorporated in the exercise prescription to increase aerobic capacity, strength, and quality of life for elderly: a systematic review and meta-analysis. *Rejuvenation Research* 21(2):141–161 DOI 10.1089/rej.2017.1921.
- Cebula A, Tyka AK, Tyka A, Pałka T, Pilch W, Luty L, Mucha D. 2020. Physiological response and cardiorespiratory adaptation after a 6-week Nordic Walking training targeted at lipid oxidation in a group of post-menopausal women. *PLOS ONE* 15(4):e0230917 DOI 10.1371/journal.pone.0230917.
- Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. 2016. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiological Reviews* 96(1):365–408 DOI 10.1152/physrev.00014.2015.
- Cimini FA, Barchetta I, Carotti S, Morini S, Cavallo MG. 2019. Overview of studies of the vitamin D/vitamin D receptor system in the development of non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology* 10(2):11–16 DOI 10.4291/wjgp.v10.i2.11.
- Fernandes MR, Barreto Jr WDR. 2017. Association between physical activity and vitamin D: a narrative literature review. *Revista da Associação Médica Brasileira* 63(6):550–556 DOI 10.1590/1806-9282.63.06.550.
- Gobbo S, Bullo V, Roma E, Duregon F, Bocalini DS, Rica RL, Di Blasio A, Cugusi L, Vendramin B, Bergamo M, Cruz-Diaz D, Alberton CL, Ermolao A, Bergamin M. 2019. Nordic walking promoted weight loss in overweight and obese people: a systematic review for future exercise prescription. *Journal of Functional Morphology and Kinesiology* 4(2):36 DOI 10.3390/jfmk4020036.

- Grimnes G, Figenschau Y, Almås B, Jorde R. 2011.** Vitamin D, insulin secretion, sensitivity, and lipids: results from a case-control study and a randomized controlled trial using hyperglycemic clamp technique. *Diabetes* **60(11)**:2748–2757 DOI [10.2337/db11-0650](https://doi.org/10.2337/db11-0650).
- Hagner-Derengowska M, Kałużny K, Hagner W, Kochański B, Plaskiewicz A, Borkowska A, Bronisz A, Budzyński J. 2015b.** The influence of a ten-week Nordic walking training-rehabilitation program on the level of lipids in blood in overweight and obese postmenopausal women. *The Journal of Physical Therapy Science* **27(10)**:3039–3044 DOI [10.1589/jpts.27.3039](https://doi.org/10.1589/jpts.27.3039).
- Hagner-Derengowska M, Kałużny K, Kochański B, Hagner W, Borkowska A, Czamara A, Budzyński J. 2015a.** Effects of Nordic Walking and Pilates exercise programs on blood glucose and lipid profile in overweight and obese postmenopausal women in an experimental, nonrandomized, open-label, prospective controlled trial. *Menopause* **22(11)**:1215–1223 DOI [10.1097/GME.0000000000000446](https://doi.org/10.1097/GME.0000000000000446).
- Horn PL, Pyne DB, Hopkins WG, Barnes CJ. 2010.** Lower white blood cell counts in elite athletes training for highly aerobic sports. *European Journal of Applied Physiology* **110(5)**:925–932 DOI [10.1007/s00421-010-1573-9](https://doi.org/10.1007/s00421-010-1573-9).
- Huta-Osiecka A, Wochna K, Kasprzak Z, Nowak A. 2021.** Seasonal variation of 25-Hydroxyvitamin D and indices of carbohydrate and lipid metabolism in postmenopausal women. *PeerJ* **9**:e11341 DOI [10.7717/peerj.11341](https://doi.org/10.7717/peerj.11341).
- Jabłonowska-Lietz B, Wrzosek M, Włodarczyk M, Nowicka G. 2017.** New indexes of body fat distribution, visceral adiposity index, body adiposity index, waist-to-height ratio, and metabolic disturbances in the obese. *Kardiologia Polska* **5(11)**:1185–1191.
- Johannsen NM, Swift DL, Johnson WD, Dixit VD, Earnest CP, Blair SN, Church TS. 2012.** Effect of different doses of aerobic exercise on total white blood cell (WBC) and WBC subfraction number in postmenopausal women: results from DREW. *PLOS ONE* **7(2)**:e31319 DOI [10.1371/journal.pone.0031319](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031319).
- Jungert A, Roth HJ, Neuhäuser-Berthold M. 2015.** Associations of serum 25-hydroxycholecalciferol and parathyroid hormone with serum lipids differ by sex and vitamin D status. *Public Health Nutrition* **18(9)**:1684–1691 DOI [10.1017/S1368980014002286](https://doi.org/10.1017/S1368980014002286).
- Khalafi M, Malandish A, Rosenkranz SK. 2021.** The impact of exercise training on inflammatory markers in postmenopausal women: a systemic review and meta-analysis. *Experimental Gerontology* **150**:111398 DOI [10.1016/j.exger.2021.111398](https://doi.org/10.1016/j.exger.2021.111398).
- Kocur P, Wilk M. 2006.** Nordic Walking—a new form of exercise in rehabilitation. *Medical Rehabilitation* **10(2)**:1–8.
- Lorenzo C, Hanley AJ, Haffner SM. 2014.** Differential white cell count and incident type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetologia* **57**:83–92 DOI [10.1007/s00125-013-3080-0](https://doi.org/10.1007/s00125-013-3080-0).
- Marciniak K, Maciaszek J, Cyma-Wejchenig M, Szeklicki R, Maćkowiak Z, Sadowska D, Stemplewski R. 2020.** The effect of nordic walking training with poles with an integrated resistance shock absorber on the functional fitness of women over the age

- of 60. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(7):2197 DOI 10.3390/ijerph17072197.
- Marciniak K, Maciaszek J, Cyma-Wejchenig M, Szeklicki R, Stemplewski R. 2021.** The effect of Nordic walking training with poles with an integrated resistance shock absorber on the body balance of women over the age of 60. *Healthcare* 3:267–280 DOI 10.3390/healthcare9030267.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. 1985.** Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28(7):412–419 DOI 10.1007/BF00280883.
- Micielska K, Flis M, Kortas JA, Rodziewicz-Flis E, Antosiewicz J, Wochna K, Lombardi G, Ziemann E. 2021.** Nordic walking rather than high intensity interval training reduced myostatin concentration more effectively in elderly subjects and the range of this drop was modified by metabolites of vitamin D. *Nutrients* 13(12):4393 DOI 10.3390/nu13124393.
- Moreira LD, Oliveira ML, Lirani-Galvão AP, Marin-Mio RV, Santos RN, Lazaretti-Castro M. 2014.** Physical exercise and osteoporosis: effects of different types of exercises on bone and physical function of postmenopausal women. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* 58(5):514–522 DOI 10.1590/0004-2730000003374.
- Mousa H, Islam N, Ganji V, Zughair SM. 2020.** Serum 25-hydroxyvitamin D is inversely associated with monocyte percentage to HDL cholesterol ratio among young healthy adults in Qatar. *Nutrients* 13(1):127–138 DOI 10.3390/nu13010127.
- Muollo V, Rossi AP, Milanese C, Masciocchi E, Taylor M, Zamboni M, Rosa R, Schena F, Pellegrini B. 2019.** The effects of exercise and diet program in overweight people—Nordic walking versus walking. *Clinical Interventions in Aging* 14:1555–1565 DOI 10.2147/CIA.S217570.
- Nowak A, Dalz M, Śliwicka E, Elegancyk-Kot H, Kryściak J, Domaszewska K, Laurentowska M, Kocur P, Pospieszna B. 2020.** Vitamin D and indices of bone and carbohydrate metabolism in postmenopausal women subjected to a 12-week aerobic training program—the pilot study. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(3):1074 DOI 10.3390/ijerph17031074.
- Pérez-Soriano P, Encarnación-Martínez A, Aparicio-Aparicio I, Giménez JV, Llana-Belloch S. 2014.** Nordic walking: a systematic review. *European Journal of Human Movement* 33:26–45.
- Pesta DH, Goncalves RLS, Madiraju AK, Strasser B, Sparks LM. 2017.** Resistance training to improve type 2 diabetes: working toward a prescription for the future. *Nutrition & Metabolism* 14:24 DOI 10.1186/s12986-017-0173-7.
- Pilch W, Tyka A, Cebula A, Śliwicka E, Pilaczyńska-Szcześniak Ł, Tyka A. 2016.** Effects of 6-week Nordic walking training on changes in 25(OH)D blood concentration in women after 55 years of age. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 57(1-2):124–129.

- Pippi R, Di Blasio A, Aiello C, Fanelli C, Bullo V, Gobbo S, Cugusi L, Bergamin M. 2020.** Effects of a supervised nordic walking program on obese adults with and without type 2 diabetes: the C.U.R.I.A.Mo. Centre experience. *Journal of Functional Morphology and Kinesiology* 5(3):62 DOI [10.3390/jfmk5030062](https://doi.org/10.3390/jfmk5030062).
- Podsiadło S, Skiba A, Kałuza A, Ptaszek B, Stozek J, Skiba A, Marchewka A. 2021.** Influence of nordic walking training on vitamin D Level in the blood and quality of life among women aged 65–74. *Healthcare* 9(9):1146 DOI [10.3390/healthcare9091146](https://doi.org/10.3390/healthcare9091146).
- Prusik K, Kortas J, Prusik K, Mieszkowski J, Jaworska J, Skrobot W, Lipinski M, Ziemann E, Antosiewicz J. 2018.** Nordic walking training causes a decrease in blood cholesterol in elderly women supplemented with vitamin D. *Frontiers in Endocrinology* 9:42 DOI [10.3389/fendo.2018.00042](https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00042).
- Sentinelli F, La Cava V, Serpe R, Boi A, Incani M, Manconi E, Solinas A, Cossu E, Lenzi A, Baroni MG. 2015.** Positive effects of Nordic walking on anthropometric and metabolic variables in women with type2 diabetes mellitus. *Science & Sports* 30:25–32 DOI [10.1016/j.scispo.2014.10.005](https://doi.org/10.1016/j.scispo.2014.10.005).
- Stachowiak G, Pertyński T, Pertyńska-Marczewska M. 2015.** Metabolic disorders in menopause. The authors claim that the amount of muscle mass and the intensity of the training program might influence changes in metabolic profile. In this sense, there was no attempt to measure the workload between activities. In this regard, is very difficult to attribute the metabolic change to biomechanical or even intensity differences. *Prz Menopauzalny* 14(1):59–64 DOI [10.5114/pm.2015.50000](https://doi.org/10.5114/pm.2015.50000).
- Sternfeld B, Dugan S. 2011.** Physical activity and health during the menopausal transition. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America* 38(3):537–566 DOI [10.1016/j.ogc.2011.05.008](https://doi.org/10.1016/j.ogc.2011.05.008).
- Timmerman KL, Flynn MG, Coen PM, Markofski MM, Pence BD. 2008.** Exercise training-induced lowering of inflammatory (CD14+CD16+) monocytes: a role in the anti-inflammatory influence of exercise? *Journal of Leukocyte Biology* 84(5):1271–1278 DOI [10.1189/jlb.0408244](https://doi.org/10.1189/jlb.0408244).
- Vozarova B, Weyer C, Lindsay RS, Pratley RE, Bogardus C, Tataranni PA. 2002.** High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes* 51(2):455–461 DOI [10.2337/diabetes.51.2.455](https://doi.org/10.2337/diabetes.51.2.455).
- Wang Q, Jiang X, Shen Y, Yao P, Chen J, Zhou Y, Gu Y, Qian Z, Cao X. 2020.** Effectiveness of exercise intervention on fall-related fractures in older adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Geriatrics* 20:322 DOI [10.1186/s12877-020-01721-6](https://doi.org/10.1186/s12877-020-01721-6).
- Witkowska A, Grabara M, Kopeć D, Nowak Z. 2021.** The effects of Nordic walking compared to conventional walking on aerobic capacity and lipid profile in women over 55 years of age. *Journal of Physical Activity and Health* 18(6):669–676 DOI [10.1123/jpah.2020-0182](https://doi.org/10.1123/jpah.2020-0182).
- Wochna K, Nowak A, Huta-Osiecka A, Sobczak K, Kasprzak Z, Leszczyński P. 2019.** Bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women

subjected to an aqua fitness training program. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **16**(14):2505 DOI [10.3390/ijerph16142505](https://doi.org/10.3390/ijerph16142505).

Woods JA, Wilund KR, Martin SA, Kistler BM. 2012. Exercise, inflammation and aging. *Aging and Disease* **3**(1):130–140.

Zegarra-Lizana PA, Ramos-Orosco EJ, Guarnizo-Poma M, Pantoja-Torres B, Paico-Palacios S, Del Carmen Ranilla-Seguin V, Lazaro-Alcantara H, Benites-Zapata VA. 2019. Insulin resistance and metabolic syndrome research group, relationship between body fat percentage and insulin resistance in adults with bmi values below 25 kg/m² in a private clinic. *Diabetology & Metabolic Syndrome* **13**(5):2855–2859 DOI [10.1016/j.dsx.2019.07.038](https://doi.org/10.1016/j.dsx.2019.07.038).