

# The influence of moderate physical activity on the concentration of particular fractions of brain-derived neurotrophic factor in the blood serum of patients with Alzheimer's disease

## Wpływ umiarkowanego wysiłku fizycznego na stężenie poszczególnych frakcji czynnika neurotrofowego pochodzenia mózgowego w surowicy krwi osób z chorobą Alzheimera

Marcin Górniak<sup>1</sup> , Maria Skibińska<sup>2</sup> , Filip Rybakowski<sup>1</sup> , Jan Jaracz<sup>1</sup> ,  
Monika Dmitrzak-Węglarz<sup>2</sup> , Janusz Rybakowski<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Department of Adult Psychiatry, Poznan University of Medical Sciences, Poland;  
Klinika Psychiatrii Dorosłych, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

<sup>2</sup> Department of Psychiatric Genetics, Poznan University of Medical Sciences, Poland;  
Zakład Genetyki w Psychiatrii, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

### ABSTRACT

**Objectives.** To determine the influence of moderate physical activity (PA) on the changes in the BDNF (brain-derived neurotrophic factor) and mBDNF (mature BDNF) concentrations in the plasma of patients with Alzheimer's disease (AD).

**Material and methods.** The study included 32 people diagnosed with AD of mild or moderate severity, previously not physically active, 16 of whom started training Nordic walking. The BDNF and mBDNF levels were determined before and after the 3-month study. Psychometric measurements were also carried out using the MoCA (Montreal Cognitive Assessment) and ADL (Activities of Daily Living) scales.

**Results.** During the observation period in the entire study group (32 people) and in the group with MMSE (Mini-Mental State Examination) with scores of 19–23 points (15 people), a significant increase in the serum BDNF concentration was found. In the group of people with the late-onset disease ( $N = 27$ ), a significant increase in the serum BDNF concentration was found, regardless of PA and a significant increase in the mBDNF concentration only in the active group. There were no significant correlations between changes in the BDNF and mBDNF levels and the general functioning and cognitive performance measured on the MoCA and ADL scales.

**Conclusions.** The obtained results indicate the possibility of an increase in the BDNF concentration in the serum of patients with Alzheimer's disease, which is not always related to physical activity and does not correlate with



Received: 4.01.2022  
Accepted: 7.02.2022

### KEYWORDS

- physical activity
- Alzheimer's disease
- BDNF
- mBDNF

### SŁOWA KLUCZOWE

- aktywność fizyczna
- choroba Alzheimera
- BDNF
- mBDNF

### CORRESPONDENCE ADDRESS / ADRES DO KORESPONDENCJI

dr n. med. Marcin Górniak  
Department of Adult Psychiatry  
Poznan University of Medical Sciences  
27/33 Szpitalna Str., 60-572 Poznan  
email: [marcin\\_gorniak@o2.pl](mailto:marcin_gorniak@o2.pl)

general functioning and cognitive performance. On the other hand, mBDNF may be a more sensitive indicator of the influence of AF on changes in the concentration of neurotrophins than BDNF.

#### STRESZCZENIE

**Cel badań.** Określenie wpływu umiarkowanej aktywności fizycznej (AF) na zmiany stężeń BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) i mBDNF (*mature BDNF*) w osoczu pacjentów z chorobą Alzheimera (ChA).

**Metoda.** Badaniem objęto 32 osoby z rozpoznaniem ChA o nasileniu łagodnym lub umiarkowanym, wcześniej mało aktywne fizycznie, z których 16 podjęło się prowadzenia treningu w postaci nordic walkingu. Poziom BDNF i mBDNF oznaczono przed rozpoczęciem i po zakończeniu trwającego 3 miesiące badania. Przeprowadzono również pomiary psychometryczne z użyciem skal MoCA (Montreal Cognitive Assessment) i ADL (Activities of Daily Living).

**Wyniki.** W okresie obserwacji w całej grupie badanej (32 osoby) oraz w grupie o wynikach w skali MMSE (Mini-Mental State Examination) 19–23 pkt (15 osób) stwierdzono istotny wzrost stężenia BDNF w surowicy. W grupie osób z późnym początkiem choroby ( $N = 27$ ) stwierdzono istotny wzrost stężenia BDNF w surowicy niezależnie od AF, natomiast istotny wzrost stężenia mBDNF tylko w grupie aktywnej. Nie stwierdzono istotnych korelacji między zmianami poziomów BDNF i mBDNF a funkcjonowaniem ogólnym i sprawnością poznawczą, mierzonych w skalach MoCA i ADL.

**Wnioski.** Uzyskane wyniki wskazują na możliwość wzrostu stężenia BDNF w surowicy pacjentów z chorobą Alzheimera, który nie zawsze jest związany z aktywnością fizyczną i nie wykazuje korelacji z funkcjonowaniem ogólnym i sprawnością poznawczą. Natomiast mBDNF może być czulszym niż BDNF wskaźnikiem wpływu AF na zmiany stężeń neurotrofin.

## 1. Introduction

Experimental and clinical studies performed in recent decades have shown that physical exercise increases the levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). An induction of the BDNF (and NGF, nerve growth factor) production in the hippocampus following physical activity was shown in experimental studies by Neeper *et al.* (1995), whereas an increase in the BDNF production and enhanced neurogenesis following physical activity (PA) was found by Henriette van Praag *et al.* (1999).

In a randomised trial (RCT) involving 120 older adults, aerobic exercise was shown to increase the size of the anterior hippocampus and improve spatial memory (Erickson *et al.*, 2011). Cardio workout increased the volume of the hippocampus by 2%, and thus led to a one to a two-year slowing of its age-related atrophy. It was shown that increased hippocampal volume was associated with higher BDNF levels. Hippocampal volume, verbal memory, and learning performance were determined in a six-month study, involving 86 women aged 70–80 years who developed mild cognitive impairment (MCI). The training conducted twice a week affected hippocampal enlargement (ten Brinke *et al.*, 2015). A one-year study of 90 individuals with an average age of 66 years found that improvements in executive function associated with ongoing training correlated with the degree of increase of the BDNF (Leckie *et al.*, 2014). Håkansson *et al.* (2017) demonstrated an association between changes in the serum BDNF concentration and intensive exercise and working memory performance.

Different areas of the hippocampus are responsible for different cognitive tasks, and pathological changes in

Alzheimer's disease (AD) affect them unevenly. In a study by Varma *et al.* (2016), using objective and survey measures of daily activity (walking), it was shown that such a PA was correlated with a larger area of the subiculum structure of the hippocampus in women. The findings suggest that even a low-intensity PA can affect the hippocampal structure. Broadhouse *et al.* (2020) showed that areas of the hippocampus particularly prone to volume loss in AD (subiculum, CA1 subfield, and dentate gyrus) are protected by high-intensity resistance exercise. Six months of such training not only improved the cognitive function of people with MCI but also protected areas of the hippocampus sensitive to changes in the course of AD from degeneration for at least another 12 months after the intervention, indicating the significant therapeutic potential of resistance exercise.

Reduction of BDNF and mBDNF (the mature, active form of BDNF, which is part of the total BDNF pool) in the brain occurs early in AD. Peng *et al.* (2005) found that the amount of mBDNF in the parietal cortex is reduced by 34% and 62%, respectively, in patients with MCI and mild to moderate dementia in the course of AD compared to healthy subjects. Zheng *et al.* (2010) showed that amyloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) inhibits the conversion of proBDNF to mBDNF. Lower levels of BDNF in plasma were strongly associated with extensive cerebral amyloidosis (Hwang *et al.*, 2015). Gerenu *et al.* (2017) highlighted impaired conversion of proBDNF to mBDNF as an important pathological mechanism in AD. Coelho *et al.* (2014) showed that aerobic exercise significantly increases levels of BDNF in plasma in patients with AD and healthy individuals. Gasquoin (2018), after a meta-analysis of 26 randomised trials of the effects

of PA on the BDNF levels, the rate of atrophy of CNS structures, and the rate of progression of cognitive deficits, concluded that the protective effect of PA in AD is likely conditioned by changes outside the CNS. An RCT by Enette *et al.* (2020) compared the effects of 9 weeks of aerobic training on, among others, the BDNF levels in individuals with AD. There were 18 sessions of 30-minute cycling, twice a week for 9 weeks (so it was very similar in intensity to the study presented here). The levels of BDNF in plasma were measured at the beginning, after 9 weeks, and one month after the end of the trial. There was no significant change in the BDNF concentrations and cognitive performance after the interventions in all groups compared with baseline values.

The present study aimed to investigate whether there was an association between undertaking regular moderate PA for three months and levels of BDNF and mBDNF in serum in patients with Alzheimer's disease. It was hypothesised that undertaking regular AF would increase both the BDNF and mBDNF levels in the serum of patients. The effect of the training undertaken on general functioning and the level of cognitive deficits is the subject of a separate paper (Górniak *et al.*, 2021).

## 2. Study procedure

Patients receiving outpatient treatment at the mental health clinic were invited to participate in the study. Inclusion criteria for the study included a diagnosis of probable AD according to ICD-10 (International Statistical Classification of Diseases, version 10) with mild (19–23 points on the Mini-Mental State Examination (MMSE) scale) or moderate (11–18 points) severity, treatment with a fixed dose of medication for at least three months, passive lifestyle before the study, presence of a caregiver able to monitor the study, and absence of depressive symptoms. Thirty-two subjects participated in the study, and 16 subjects (3 of whom were men) were enrolled in the active group.

The study conducted was a quasi-experiment. Allocation of participants to the active or control group was based on the declaration of patients and their caregivers. The patient and caregiver, after learning about the study and deciding to participate, gave written informed consent. The study participants and their caregivers were informed in detail about exercise recommendations. The study participants were informed that they should not change their lifestyles until their blood was drawn (determination of the BDNF level). The recommended form of activity was Nordic walking accompanied by the patient's caregiver, whose task was to supervise the duration, intensity and regularity of training. The criterion for final eligibility of the participant into the active group was a threshold of PA in the second and third months of the study of 30 minutes 3 times a week assessed by an

activity diary kept by the caregiver. There was no modification of the primary treatment of AD during the study.

The serum levels of proBDNF and BDNF were measured at baseline and after three months of the study. Determination of the BDNF concentration was performed by the Department of Genetics of the Psychiatry Clinic of the K. Marcinkowski Medical University in Poznań. For the BDNF determination, 10 ml of venous blood was drawn between 8 and 9 am. After 1 hour, the serum was separated by centrifugation and stored at -70 °C until the analysis. The serum BDNF and proBDNF concentrations were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), using DuoSet human BDNF (cat. no. DY248) and proBDNF (cat. no. DY3175) kits from R&D Systems. All proBDNF and BDNF concentration measurements were performed simultaneously, under the same conditions, using the same reagents. The mBDNF concentration was calculated as the difference of the BDNF and proBDNF concentrations. The concentrations of all BDNF fractions were given in pg/mL.

The study was granted approval of the Bioethics Committee of the Karol Marcinkowski University of Medical Sciences in Poznań no: 45/15 of 8 January 2015.

## 3. Methodology of statistical calculations

The Shapiro-Wilk test was used to determine if the data could be approximated by a normal distribution as well as the Bartlett's test – for homoscedasticity of variance (homogeneity of variances between groups). Since only a small number of characteristics had normal distribution, it was decided to use non-parametric methods of statistical reasoning. The analysed groups were compiled in the relevant tables, where the data were summarised by median and interquartile range. The paired samples Wilcoxon test was used to compare data at the beginning and end of the study within the active and passive groups, while the comparison between the active and passive groups was performed using the Mann-Whitney test. In addition, for each value of statistical significance, the power of the test (the probability of rejecting the null hypothesis when it is false), calculated using GPower software (version 3.1), is given in parentheses. Feature correlation analysis was performed using Spearman's correlation method, while, for the test of significance of the correlation coefficient, a correction for multiple testing was applied. All statistical tests used in the study adopted a significance level of  $\alpha < 0.05$ .

## 4. Results

Demographics of study participants are presented in Table 1.

**Table 1.** Demographics of patients participating in the study

	<b>Total</b>	<b>Passive</b>	<b>Active</b>
Group size	<i>N</i> = 32	<i>N</i> = 16	<i>N</i> = 16
Average age	M: 77.4 SD: 7.2 Me: 78	M: 79.0 SD: 7.0 Me: 78.5	M: 75.7 SD: 7.2 Me: 78
Mean age of onset	M: 70.6 SD: 5.9 Me: 70.5	M: 71.7 SD: 5.85 Me: 72	M: 69.5 SD: 6 Me: 70
Duration of the disease	M: 6.7 SD: 2.2 Me: 6	M: 7.2 SD: 2.2 Me: 7.5	M: 6.2 SD: 2 Me: 6
MMSE	Me: 18 (16–21)	Me: 18 (15–20)	Me: 18 (17–21)
MMSE 19–23	15	8	7
MMSE 11–18	17	8	9
Onset before 65 years of age	5	2	3
Onset after 65 years of age	27	14	13
Number of women	26	13	13
Number of men	6	3	3
Treated with donepezil	22	9	13
Treated with rivastigmine	10	7	3
Treated with memantine	20	11	9
Comorbidities:			
hypertension	10	3	7
coronary disease	5	3	2
type 2 diabetes	6	3	3
depression (in remission)	7	3	4
Marital status:			
widow/widower	22	11	11
married	8	4	4
unmarried	2	1	1
Educational background:			
primary	12	8	4
vocational	6	3	3
secondary	10	5	5
higher	4	0	4

M – arithmetic mean, Me – median, SD – standard deviation, *N* – group size, MMSE – MMSE score before inclusion in the study, interquartile range (in parentheses)

Apart from the level of education and the slightly higher age of those in the group who do not exercise, the active and exercising groups show no differences. The majority of study participants were females. Patients with late onset outnumbered cases with early onset. All study participants received treatment with one of the cholinesterase inhibitors, and most of them also took memantine.

Table 2 shows the results on the effect of physical activity on the BDNF and mBDNF levels depending on the initial MMSE score.

By dividing the study groups based on initial MMSE scores, statistically significant differences (increase in concentrations) between BDNF1 and BDNF2 were observed in the whole study group with MMSE 19–23 points and in the passive group with MMSE 19–23 points. There were no significant differences in the group with MMSE 11–18 points. By dividing the study groups based on initial MMSE scores, statistically significant differences (increase in concentrations) between mBDNF1 and mBDNF2 were observed in the whole study group with MMSE

19–23 points and in the passive group. There were no significant differences between proBDNF1 and proBDNF2, mBDNF1 and mBDNF2, or in the mBDNF1/proBDNF1 and mBDNF2/proBDNF2 ratios dependent on the division by initial MMSE score and activity.

Table 3 presents the results on the effect of physical activity on the BDNF and mBDNF levels in the whole study group and by considering sex subgroups.

There was a statistically significant difference between the initial and final BDNF levels (increase at follow-up) in the whole group of study patients and the passive group. No such a difference was found in the active group. No statistically significant differences were found after additional separations were made for both sex and PA. There were no significant differences between the proBDNF1 and proBDNF2, mBDNF1 and mBDNF2 levels, or in the ratio of mBDNF1 to proBDNF1 and mBDNF2 to proBDNF2 dependent on the division by sex and activity.

Table 4 presents the results of the effect of physical activity on the BDNF and mBDNF levels in the subgroup

**Table 2.** Effect of physical activity on the BDNF and mBDNF levels – group division depending on the initial MMSE score

Study group	Initial measurement	Control measurement	<i>p</i>
	BDNF 1	BDNF 2	
<b>MMSE 19–23</b>			
total	21.2 (30.7–42.9) <i>N</i> = 14	36.7 (30.7–42.9) <i>N</i> = 14	0.006 * (91%)
active	30.4 (24.7–45.2) <i>N</i> = 7	42.7 (34.7–47.6) <i>N</i> = 7	0.060 (37%)
passive	16.3 (14.0–20.6) <i>N</i> = 7	32.6 (30.6–37.1) <i>N</i> = 7	0.046 * (74%)
<b>MMSE 11–18</b>			
total	21.3 (17.1–32.8) <i>N</i> = 17	22.1 (13.1–39.8) <i>N</i> = 17	0.710 (5%)
active	17.6 (16.5–23.9) <i>N</i> = 9	17.9 (0.02–22.1) <i>N</i> = 9	0.910 (7%)
passive	31.7 (19.1–39.7) <i>N</i> = 8	38.5 (23.1–45.9) <i>N</i> = 8	0.540 (11%)
<b>mBDNF 1</b>			
<b>mBDNF 2</b>			
<b>MMSE 19–23</b>			
total	20.4 (15.2–40.8) <i>N</i> = 12	35.8 (30.4–43.1) <i>N</i> = 12	0.004 * (91%)
active	41.6 (27.5–42.2) <i>N</i> = 5	44.7 (38.4–46.4) <i>N</i> = 5	0.060 (62%)
passive	15.4 (13.7–20.3) <i>N</i> = 7	31.4 (30.1–36.2) <i>N</i> = 7	0.046 * (74%)
<b>MMSE 11–18</b>			
total	22.3 (16.5–32.3) <i>N</i> = 14	19.7 (10.9–38.4) <i>N</i> = 14	0.620 (8%)
active	19.1 (16.9–25.7) <i>N</i> = 8	17.1 (10.6–22.1) <i>N</i> = 8	0.740 (10%)
passive	34.5 (18.4–43.1) <i>N</i> = 6	40.5 (17.6–45.6) <i>N</i> = 6	0.680 (5%)

\* Statistically significant difference. Data are presented as median and interquartile range (in parentheses). *N* – group size; *p* – statistical probability; % power of test; MMSE – Mini Mental State Examination; BDNF 1 – brain-derived neurotrophic factor (all fractions), initial measurement, concentration in ng/ml; BDNF 2 – brain-derived neurotrophic factor (all fractions), concentration in ng/ml, control measurement; mBDNF 1 – brain-derived neurotrophic factor, mature fraction, initial measurement, concentration in ng/ml; mBDNF 2 – brain-derived neurotrophic factor, mature fraction, concentration in ng/ml, control measurement.

**Table 3.** Effect of physical activity on the BDNF and mBDNF concentrations – all subjects; groups divided by sex

Study group	Initial measurement	Control measurement	<i>p</i>
	BDNF 1	BDNF 2	
Total	21.3 (16.4–33.6) <i>N</i> = 31	31.4 (20.1–41.3) <i>N</i> = 31	0.018 * (67%)
women	21.3 (16.3–34.5) <i>N</i> = 25	30.4 (17.9–42.7) <i>N</i> = 25	0.053 (43%)
men	24.1 (17.4–29.9) <i>N</i> = 6	33.4 (30.9–37.8) <i>N</i> = 6	0.219 (30%)
Active	22.6 (17.2–33.2) <i>N</i> = 16	26.7 (17.6–40.5) <i>N</i> = 16	0.222 (15%)
women	21.3 (17.5–34.5) <i>N</i> = 13	23.1 (16.8–42.7) <i>N</i> = 13	0.456 (9%)
men	28.1 (22.2–29.3) <i>N</i> = 3	30.4 (26.2–34.7) <i>N</i> = 3	0.500 (17%)
Passive	20.103 (15.492–35.021) <i>N</i> = 15	34.294 (28.270–41.355) <i>N</i> = 15	0.030 * (71%)
women	20.4 (15.9–33.7) <i>N</i> = 12	34.3 (26.8–41.3) <i>N</i> = 12	0.063 (55%)
men	20.1 (14.4–30.8) <i>N</i> = 3	34.3 (33.4–38.6) <i>N</i> = 3	0.500 (11%)
<b>mBDNF 1</b>			
<b>mBDNF 2</b>			
Total	21.0 (15.7–35.9) <i>N</i> = 26	31.0 (18.7–41.7) <i>N</i> = 26	0.084 (42%)
women	21.1 (15.4–37.0) <i>N</i> = 21	29.5 (16.6–44.6) <i>N</i> = 21	0.250 (17%)
men	19.7 (16.3–27.5) <i>N</i> = 5	33.3 (31.4–38.4) <i>N</i> = 5	0.188 (30%)
Active	23.6 (17.2–32.6) <i>N</i> = 13	24.5 (16.6–39.0) <i>N</i> = 13	0.450 (5%)
women	23.6 (18.6–37.1) <i>N</i> = 11	22.5 (13.7–41.9) <i>N</i> = 11	0.760 (6%)
men	21.9 (19.1–24.7) <i>N</i> = 2	30.2 (26.0–34.3) <i>N</i> = 2	0.500 (44%)
Passive	19.7 (13.9–37.0) <i>N</i> = 13	33.3 (29.5–42.6) <i>N</i> = 13	0.100 (54%)
women	18.2 (14.1–35.7) <i>N</i> = 10	33.6 (27.3–43.2) <i>N</i> = 10	0.230 (35%)
men	19.7 (13.5–30.1) <i>N</i> = 3	33.3 (32.3–38.0) <i>N</i> = 3	0.500 (11%)

\* Statistically significant difference. Data are presented as median and interquartile range (in parentheses). *N* – group size; *p* – statistical probability; % power of test; BDNF 1 – brain-derived neurotrophic factor (all fractions), initial measurement, concentration in ng/ml; BDNF 2 – brain-derived neurotrophic factor (all fractions), concentration in ng/ml, control measurement; mBDNF 1 – brain-derived neurotrophic factor, mature fraction, initial measurement, concentration in ng/ml; mBDNF 2 – brain-derived neurotrophic factor, mature fraction, concentration in ng/ml, control measurement.

**Table 4.** Effect of physical activity on the BDNF and mBDNF levels – late onset subjects; groups divided by sex

Study group	Initial measurement	Control measurement	<i>p</i>
	BDNF 1	BDNF 2	
Total	21.0 (16.4–32.5) <i>N</i> = 27	31.4 (22.6–39.8) <i>N</i> = 27	0.002 * (94%)
women	21.0 (16.3–32.8) <i>N</i> = 21	30.4 (18.1–39.8) <i>N</i> = 21	0.005 * (86%)
men	24.1 (17.1–29.9) <i>N</i> = 6	33.4 (30.9–37.8) <i>N</i> = 6	0.219 (30%)
Active	21.3 (17.5–32.8) <i>N</i> = 13	30.4 (18.1–39.8) <i>N</i> = 13	0.030 * (67%)
women	21.3 (17.5–41.6) <i>N</i> = 10	26.8 (17.9–44.4) <i>N</i> = 10	0.097 (41%)
men	28.1 (22.3–29.3) <i>N</i> = 3	30.4 (26.2–34.7) <i>N</i> = 3	0.500 (17%)
Passive	19.9 (15.1–32.0) <i>N</i> = 14	33.4 (27.6–39.8) <i>N</i> = 14	0.017 * (93%)
women	19.8 (15.5–31.7) <i>N</i> = 11	31.4 (26.6–39.8) <i>N</i> = 11	0.032 * (67%)
men	20.1 (14.4–30.8) <i>N</i> = 3	34.3 (33.4–38.6) <i>N</i> = 3	0.500 (12%)
	mBDNF 1	mBDNF 2	
Total	20.0 (15.0–34.5) <i>N</i> = 23	31.4 (22.2–40.9) <i>N</i> = 23	0.006 * (85%)
women	20.4 (14.8–35.7) <i>N</i> = 18	30.1 (18.8–43.3) <i>N</i> = 18	0.020 * (67%)
men	19.7 (16.3–27.5) <i>N</i> = 5	33.3 (31.4–38.4) <i>N</i> = 5	0.180 (30%)
Active	21.1 (17.1–36.8) <i>N</i> = 11	29.2 (19.7–41.9) <i>N</i> = 11	0.032 * (55%)
women	21.1 (17.2–41.6) <i>N</i> = 9	29.2 (17.6–44.7) <i>N</i> = 9	0.097 (29%)
men	21.9 (19.1–24.7) <i>N</i> = 2	30.2 (26.0–34.3) <i>N</i> = 2	0.500 (44%)
Passive	17.6 (13.7–33.2) <i>N</i> = 12	32.3 (28.8–40.0) <i>N</i> = 12	0.063 (63%)
women	15.4 (13.9–32.0) <i>N</i> = 9	30.7 (26.6–39.2) <i>N</i> = 9	0.120 (45%)
men	19.7 (13.5–30.1) <i>N</i> = 3	33.3 (32.3–38.0) <i>N</i> = 3	0.500 (11%)

\* Statistically significant difference. Data are presented as median and interquartile range (in parentheses). *N* – group size; *p* – statistical probability; % power of test; BDNF 1 – brain-derived neurotrophic factor (all fractions), initial measurement, concentration in ng/ml; BDNF 2 – brain-derived neurotrophic factor (all fractions), concentration in ng/ml, control measurement; mBDNF 1 – brain-derived neurotrophic factor, mature fraction, initial measurement, concentration in ng/ml; mBDNF 2 – brain-derived neurotrophic factor, mature fraction, concentration in ng/ml, control measurement.

of patients with late onset disease with an additional division by sex.

There was a statistically significant increase in the BDNF levels at follow-up in the entire subgroup of patients with late onset disease, in the active group of patients with late onset disease, and in the passive group of patients with late onset disease. After additional subdivisions, including both sex and PA, a statistically significant increase in the BDNF levels was found at follow-up in the female group and the inactive group. There was a statistically significant increase in the mBDNF levels in the subgroup of patients with late onset disease in the whole group and subgroups, i.e. women and the subgroup of all active individuals. In the subgroup of patients with late onset disease, there were no significant differences in the mBDNF1 to proBDNF1 and mBDNF2 to proBDNF2 ratios dependent on division by sex and activity.

## 5. Overview of the results

The study found a statistically significant increase in the BDNF levels in the overall study population and the control group. It is difficult to find a reasonable explanation for the increase in the BDNF in the control group. Perhaps under the influence of information about the beneficial

effects of exercise on cognitive function, the control subjects – despite their initial refusal to participate in the study as active person – increased their activity, but did not inform the researchers. However, the lack of change in the BDNF levels (and changes in the cognitive performance) in patients with mild to moderate AD under the influence of 9 weeks of aerobic training of similar intensity was reported in one recent study (Enette *et al.*, 2020).

New light is also shed on the association of PA with the BDNF levels by the results of a study by Spartano *et al.* (2021) published in November 2021. It found that in middle-aged adults, BDNF is not chronically elevated in a group of individuals who undertake regular PA and may even be reduced in a subgroup of more people exercising more intensively (and smokers). These results are not inconsistent with previous studies showing that circulating BDNF increases dramatically after a single PA. Similar results were obtained in a study by Shuhana *et al.* (2015), which showed a varied effect of PA depending on the regularity or episodic nature of PA and the gender of the subjects. In women, who made up the vast majority of participants in the study presented here, this increase was expected to be significantly weaker than in men. There is certainly an upper limit to recommended exercise intensity, as evidenced by the study by Roeh *et al.* showing a decrease in the BDNF

levels in plasma three days after such an extreme type of exercise as marathon running.

Similar results were obtained when the disease progression was used as a criterion to divide the groups, i.e. all study participants with mild dementia showed a significant increase in the BDNF levels; a significant increase was also found in the passive group of participants with mild dementia. The active group with mild dementia showed an increase in the BDNF levels at the limit of statistical significance. However, it should be noted that the subjects in the active group had the highest initial and control BDNF results in this subgroup of subjects with mild dementia. This supports the hypothesis that some individuals in the active group undertook physical activity before the first determination of the BDNF levels. It is important to note that the BDNF concentrations increase rapidly even after a single, short workout and persist for many hours (Håkansson *et al.*, 2017).

Slightly different results were obtained when individuals with late onset disease were separated from the entire study population. This was the vast majority of patients participating in the study – 27 out of 32. In this case, a statistically significant increase in the BDNF levels was found in three groups, i.e. the whole study group, the active group, and the passive group. In this subgroup of patients, statistically significant increases were also observed in the female group and the passive female group. The different results obtained by late-onset subjects may have been influenced by different interactions between different APOE subtypes and BDNF. Sen *et al.* (2017) in their study demonstrate that the BDNF secretion in individuals with the APOE- $\epsilon$ 4 genotype is significantly impaired compared to the other genotypes ( $\epsilon$ 2 and  $\epsilon$ 3), which may, however, be altered by exercise as an epigenetic factor. APOE- $\epsilon$ 4 is a risk factor for late-onset AD and, as mentioned earlier, passive individuals carrying APOE- $\epsilon$ 4 have a higher risk of disease than active individuals with the same genotype.

In terms of the mBDNF levels measured, there were no statistically significant differences in the study population between the beginning and end of the study. No such differences were found after dividing into active and passive groups, including after additional divisions that were made to account for participants' sex. An additional subdivision criterion related to disease progression allowed us to find statistically significant increases in mBDNF in the entire subgroup with mild dementia and the subgroup of passive subjects with mild dementia. Similar to BDNF, the highest mBDNF concentrations were observed in the subgroup of active participants with mild dementia. The difference between the measurements was at the limit of statistical significance. Again, the start of training prior to drawing blood for the BDNF determination seems the most reasonable explanation for the results obtained.

In the subgroup of late onset subjects, statistically significant increases in mBDNF were observed in the

entire study group and the active group, but no such an increase was observed in the passive group. When the subjects were divided by sex, a significant increase was found in the female group. Thus, the mBDNF results obtained in the late-onset patient population would be consistent with the indications (strong positive correlation between BDNF and mBDNF; increases in the BDNF concentrations induced by PA) from other studies; however, it is important to emphasise the lack of studies of the effect of PA on the mBDNF concentrations in a population with dementia. The results obtained could also suggest that mBDNF is a more sensitive indicator than BDNF for PA-induced changes in patients with AD. This would be consistent with the findings of Sartori *et al.* (2011) that PA specifically affects the increase in the mBDNF availability.

In terms of the proBDNF concentrations and the ratio of the mBDNF to proBDNF concentrations, no significant differences were found regardless of the divisions made of the entire study population. There were no statistically significant differences between any BDNF fractions in the analyses between the active and passive groups, either at the beginning or end of the study.

The increase in the mBDNF levels found only in the active group (with late onset disease) may support the greater use of determination of this neurotrophin fraction for determining the possible beneficial effects of PA. The study did not show that captured changes in the BDNF concentrations were associated with improvements in patients' clinical status as controlled by the ADL and MoCA scales.

The usefulness of single (or even, as in the present study, double) BDNF determinations should be considered as a limitation of the study and an issue that requires a separate discussion. Given the number of factors influencing changes in the BDNF levels (Walsh *et al.*, 2020), perhaps one should consider whether it is of similar value to a single glucose assay for controlling diabetes management and whether, analogously, measuring changes in hippocampal volume (or changes in functional tests) dependent on the mean BDNF values over weeks would not be equivalent to glycosylated haemoglobin (HbA1C) assay and better reflect the potential beneficial effects of PA on neurogenesis. For example, the study did not collect information on how participants got to the blood collection facility (getting to the collection facility by car/taxi vs. using public transportation and walking several hundred meters from the bus stop to the lab). It seems that the inclusion of this additional variable could affect the interpretation of the results. Besides, in light of the results of one recent study (Spartano *et al.*, 2021), the effect of PA on the BDNF metabolism is probably much more complex and subtle than pioneering studies of this phenomenon would suggest. Perhaps, as in other cases, it is not only the absolute amount of BDNF (mBDNF) that is important, but the efficiency of the entire cascade of phenomena activated by this neurotrophin, ranging from features, such as the sensitivity of TrkB (tropomyosin

receptor kinase B) through the possible process of their downregulation to long-term gene effects. The inconclusive results regarding the effects of different types of PA (intensive vs regular) on the BDNF levels do not undermine the findings supporting the beneficial effects of exercise on key CNS structures for memory.

## 6. Conclusions

During the follow-up period, the levels of BDNF in the serum were significantly increased in the entire study

## 1. Wstęp

W badaniach eksperymentalnych i klinicznych wykonanych w ostatnich dekadach wykazano, że pod wpływem wysiłku fizycznego wzrasta stężenie czynnika neurotrofowego pochodzenia mózgowego (BDNF, *brain-derived neurotrophic factor*). Indukcję produkcji BDNF (oraz NGF, *nerve growth factor*) w hipokampie pod wpływem wysiłku wykazali w badaniach eksperymentalnych Neeper i wsp. (1995), natomiast wzrost produkcji BDNF i nasilenie neurogenezy pod wpływem aktywności fizycznej (AF) stwierdziła Henriette van Praag i wsp. (1999).

W randomizowanym badaniu (RCT) z udziałem 120 starszych osób wykazano, że ćwiczenia aerobowe zwiększają rozmiar przedniego hipokampu i wpływają na poprawę pamięci przestrzennej (Erickson i wsp., 2011). Trening wysiłkowy zwiększył objętość hipokampu o 2%, i tym samym prowadził do spowolnienia o rok-2 lata procesu jego atrofii związanej z wiekiem. Wykazano, że zwiększona objętość hipokampu była związana z wyższym poziomem BDNF. W trwającym pół roku badaniu z udziałem 86 kobiet w wieku 70–80 lat, u których pojawiły się łagodne zaburzenia poznawcze (MCI, *mild cognitive impairment*), określano objętość hipokampu, pamięć werbalną i sprawność uczenia się. Prowadzony dwa razy w tygodniu trening wpłynął na powiększenie hipokampu (ten Brinke i wsp., 2015). Roczne badanie 90 osób w wieku średnio 66 lat dowiodło, że poprawa funkcji wykonawczych związana z prowadzonym treningiem jest skorelowana ze stopniem wzrostu BDNF (Leckie i wsp., 2014). Håkansson i wsp. (2017) wykazali związek między zmianą stężenia BDNF w surowicy a ostrym wysiłkiem fizycznym oraz sprawnością pamięci operacyjnej.

Poszczególne obszary hipokampu odpowiadają za różne zadania poznawcze, a zmiany patologiczne w przebiegu choroby Alzheimera (ChA) dotyczą je nierównomiernie. W badaniu, które przeprowadzili Varma i wsp. (2016), z wykorzystaniem obiektywnych i ankietowych pomiarów codziennej aktywności (chodu) wykazano,

group (32 subjects) and in the group with 19–23 points in MMSE (15 subjects). In the late onset group ( $N = 27$ ), there was a significant increase in the serum BDNF levels regardless of PA, whereas there was a significant increase in the mBDNF levels only in the active group. These results may indicate that in patients with AD, mBDNF is a more sensitive indicator of the effect of PA on changes in neurotrophin levels. No significant correlations were found between changes in the BDNF and mBDNF levels and general functioning and cognitive performance, which were assumed to exist in the research hypotheses. ■

że taka AF była skorelowana z większą powierzchnią struktury podkładki (subiculum) hipokampu u kobiet. Wyniki badania sugerują, że nawet niskiej intensywności AF może wpływać na strukturę hipokampu. Broadhouse i wsp. (2020) wykazali, że obszary hipokampu szczególnie podatne na utratę objętości w ChA (subiculum, pole CA1 i zakręt zębaty) są chronione przez ćwiczenia oporowe o wysokiej intensywności. Sześć miesięcy takiego treningu nie tylko poprawiło funkcje poznawcze osób z MCI, ale także chroniło obszary hipokampu wrażliwe na zmiany zachodzące w przebiegu ChA przed zwyrodnieniem co najmniej przez kolejne 12 miesięcy od zakończeniu interwencji, co wskazuje na znaczny terapeutyczny potencjał ćwiczeń oporowych.

Redukcja BDNF i mBDNF (dojrzałej, *mature*, aktywnej formy BDNF, stanowiącej część całkowitej puli BDNF) w mózgu następuje już we wczesnym okresie ChA. Peng i wsp. (2005) stwierdzili, że ilość mBDNF w korze ciemieniowej zmniejsza się o – odpowiednio – 34% i 62% u pacjentów z MCI i łagodnym lub umiarkowanym otępieniem w przebiegu ChA w stosunku do osób zdrowych. Zheng i wsp. (2010) wykazali, że amyloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) hamuje konwersję proBDNF do mBDNF. Niższy poziom BDNF w osoczu był istotnie związany z rozległą amyloidozą mózgu (Hwang i wsp., 2015). Gerenu i wsp. (2017) zwrócili uwagę na zaburzenia konwersji proBDNF do mBDNF jako ważny mechanizm patologiczny w ChA. Coelho i wsp. (2014) wykazali, że ćwiczenia aerobowe znacząco zwiększają poziom BDNF w osoczu pacjentów z ChA oraz u zdrowych osób. Gasquoin (2018) po dokonaniu metaanalizy 26 randomizowanych badań wpływu AF na poziom BDNF, tempo zaniku struktur OUN oraz tempo nasilania się deficytów poznawczych stwierdził, że ochronny efekt AF w ChA jest prawdopodobnie warunkowany zmianami poza OUN. Badanie RCT Enette'a i wsp. (2020) porównywało wpływ 9-tygodniowego treningu aerobowego m.in. na poziom BDNF u osób z ChA. Przeprowadzono 18 sesji 30-minutowej jazdy na rowerze, dwa razy w tygodniu przez 9 tygodni (a więc pod względem



intensywności było bardzo podobne do prezentowanego tu badania). Poziom BDNF w osoczu został oznaczony na początku, po 9 tygodniach oraz miesiąc po zakończeniu badania. Nie stwierdzono istotnej zmiany stężeń BDNF i sprawności poznawczej po interwencjach we wszystkich grupach w porównaniu z wartościami wyjściowymi.

Celem niniejszej pracy było sprawdzenie, czy istnieje związek między podjęciem regularnej, trwającej trzy miesiące, umiarkowanej AF a stężeniem BDNF i mBDNF w surowicy krwi pacjentów z chorobą Alzheimera. Założono, że podjęcie regularnej AF spowoduje wzrost stężenia BDNF i mBDNF w surowicy krwi chorych. Wpływ podjętego treningu na funkcjonowanie ogólne i poziom deficytów poznawczych jest przedmiotem odrębnego artykułu (Górniak i wsp., 2021).

## 2. Procedura badania

Do udziału w badaniu zostali zaproszeni pacjenci leczenia ambulatoryjnie w poradni zdrowia psychicznego. Kryteria włączenia do badania obejmowały rozpoznanie prawdopodobnej ChA według ICD-10 (International Statistical Classification of Diseases, wersja 10) o nasileniu łagodnym (19–23 punkty w skali MMSE [Mini-Mental State Examination]) lub umiarkowanym (11–18 punktów), leczenie stałą dawką leków od co najmniej trzech miesięcy, bierny tryb życia przed badaniem, obecność opiekuna zdolnego do monitorowania badania i brak objawów depresji. W badaniu wzięły udział 32 osoby, a do grupy czynnej zostało zakwalifikowanych 16 osób (w tym 3 mężczyźni).

Przeprowadzone badanie miało charakter quasi-eksperymentu. Przydział uczestników do grupy aktywnej lub kontrolnej oparty był na deklaracji chorych oraz ich opiekunów. Pacjent i opiekun, po zapoznaniu się z przebiegiem badania i podjęciu decyzji o udziale w nim, wyrażali na nie pisemną zgodę. Uczestnicy badania i ich opiekunowie byli szczegółowo informowani o zaleceniach dotyczących prowadzenia ćwiczeń. Uczestników badania informowano, że do czasu pobrania krwi (oznaczenie poziomu BDNF) nie powinni zmieniać swojego trybu życia. Zalecaną formą aktywności był nordic walking w towarzystwie opiekuna chorego, którego zadaniem było czuwanie nad czasem trwania, intensywnością i regularnością treningów. Jako kryterium ostatecznego zakwalifikowania uczestnika do grupy czynnej przyjęto próg AF w drugim i trzecim miesiącu badania na poziomie 30 minut 3 razy w tygodniu ocenianej na podstawie dziennika aktywności prowadzonego przez opiekuna. W trakcie badania leczenie podstawowe ChA nie było modyfikowane.

Oznaczenia poziomu proBDNF i BDNF w surowicy dokonano na początku i po trzech miesiącach badania. Oznaczenie stężenia BDNF przeprowadził Zakład Genetyki Kliniki Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego im.

K. Marcinkowskiego w Poznaniu. Do oznaczenia BDNF pobierano 10 ml krwi żyłnej między godziną 8 a 9 rano. Po godzinie surowicę oddzielano przez wirowanie i przechowywano do czasu wykonania oznaczenia w temperaturze  $-70^{\circ}\text{C}$ . Stężenie BDNF oraz proBDNF w surowicy krwi oznaczone zostało metodą immunoenzymatyczną (*enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) przy użyciu zestawów DuoSet human BDNF (nr kat. DY248) oraz proBDNF (nr kat. DY3175) firmy R&D Systems. Wszystkie pomiary stężenia proBDNF i BDNF wykonywano jednocześnie, w tych samych warunkach, z użyciem tych samych odczynników. Stężenie mBDNF obliczano jako różnicę stężeń BDNF i proBDNF. Stężenia wszystkich frakcji BDNF podano w pg/ml.

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego im Karola Marcinkowskiego w Poznaniu nr: 45/15 z dnia 8 stycznia 2015 r.

## 3. Metodyka obliczeń statystycznych

Wykorzystano test Shapiro-Wilka, pozwalający stwierdzić, czy dane można przybliżyć rozkładem normalnym, oraz test Bartletta dla stwierdzenia homoskedastyczności wariancji (równości wariancji między grupami). Ze względu na to, że tylko niewielka liczba cech wykazywała rozkład normalny zdecydowano się na zastosowanie nieparametrycznych metod wnioskowania statystycznego. Analizowane grupy zebrano w odpowiednich tabelach, w których dane podsumowano za pomocą mediany oraz rozstępu międzykwartylowego. W celu porównania danych na początku i na końcu badania w obrębie grupy aktywnej oraz biernej wykorzystano test Wilcoxon dla danych sparowanych, natomiast porównanie grupy aktywnej oraz biernej przeprowadzono z wykorzystaniem testu Manna-Whitneya. Dodatkowo przy każdej wartości istotności statystycznej podano w nawiasie moc testu (prawdopodobieństwo odrzucenia hipotezy zerowej wtedy, gdy jest ona fałszywa) wyliczoną za pomocą oprogramowania GPower (wersja 3.1). Analizę korelacji cech przeprowadzono metodą korelacji Spearmana, natomiast w przypadku testu istotności współczynnika korelacji zastosowano poprawkę na wielokrotne testowanie. We wszystkich testach statystycznych wykorzystanych w badaniu przyjęto poziom istotności  $\alpha < 0,05$ .

## 4. Wyniki

Dane demograficzne uczestników badania prezentuje tabela 1.

Poza poziomem wykształcenia oraz nieznacznie wyższym wiekiem osób w grupie niećwiczących grupa czynna i aktywna nie wykazują różnic. Większość uczestników badania stanowiły kobiety. Pacjenci z późnym początkiem przeważali nad przypadkami z wczesnym

**Tabela 1.** Dane demograficzne pacjentów uczestniczących w badaniu

	Ogółem	Bierna	Aktywna
Liczebność grup	<i>N</i> = 32	<i>N</i> = 16	<i>N</i> = 16
Średni wiek	M: 77,4 SD: 7,2 Me: 78	M: 79,0 SD: 7,0 Me: 78,5	M: 75,7 SD: 7,2 Me: 78
Średni wiek zachorowania	M: 70,6 SD: 5,9 Me: 70,5	M: 71,7 SD: 5,85 Me: 72	M: 69,5 SD: 6 Me: 70
Czas trwania choroby	M: 6,7 SD: 2,2 Me: 6	M: 7,2 SD: 2,2 Me: 7,5	M: 6,2 SD: 2 Me: 6
MMSE	Me: 18 (16–21)	Me: 18 (15–20)	Me: 18 (17–21)
MMSE 19–23	15	8	7
MMSE 11–18	17	8	9
Zachorowania przed 65 r.ż.	5	2	3
Zachorowania po 65 r.ż.	27	14	13
Liczba kobiet	26	13	13
Liczba mężczyzn	6	3	3
Leczeni donepezilem	22	9	13
Leczeni rywastygminą	10	7	3
Leczeni memantyną	20	11	9
Choroby współistniejące:			
nadciśnienie	10	3	7
choroba wieńcowa	5	3	2
cukrzyca t. II	6	3	3
depresja (w remisji)	7	3	4
Stan cywilny:			
wdowa / wdowiec	22	11	11
mężatka / żonaty	8	4	4
panna / kawaler	2	1	1
Wykształcenie:			
podstawowe	12	8	4
zawodowe	6	3	3
średnie	10	5	5
wyższe	4	0	4

M – średnia arytmetyczna, Me – mediana, SD – odchylenie standardowe, *N* – liczebność grup, MMSE – punktacja w skali MMSE przed włączeniem do badania, rozstęp międzykwartyłowy (w nawiasie)

początkiem choroby. Wszyscy uczestnicy badania otrzymywali leczenie jednym z inhibitorów cholinoesterazy, a większość przyjmowała również memantynę.

W tabeli 2 przedstawiono wyniki dotyczące wpływu aktywności fizycznej na stężenie BDNF i mBDNF zależnie od początkowego wyniku w skali MMSE.

Podział badanych grup uwzględniający początkową punktację w skali MMSE pozwolił zaobserwować istotne statystycznie różnice (wzrost stężeń) pomiędzy BDNF1 a BDNF2 w całej grupie badanej z MMSE 19–23 pkt oraz w grupie biernej z MMSE 19–23 pkt. Nie stwierdzono istotnych różnic w grupie z MMSE 11–18 pkt. Podział badanych grup uwzględniający początkową punktację w skali MMSE pozwolił zaobserwować istotne statystycznie różnice (wzrost stężeń) pomiędzy mBDNF1 a mBDNF2 w całej grupie z MMSE 19–23 pkt oraz w grupie biernej. Nie stwierdzono istotnych różnic między wynikami proBDNF1 i proBDNF2, mBDNF1 i mBDNF2 oraz w relacji

mBDNF1/proBDNF1 i mBDNF2/proBDNF2 zależnych od podziału na początkowy wynik MMSE i aktywność.

W tabeli 3 zaprezentowano wyniki dotyczące wpływu aktywności fizycznej na stężenie BDNF i mBDNF w całej badanej grupie oraz z uwzględnieniem podziału na podgrupy ze względu na płeć.

Stwierdzono istotną statystycznie różnicę między początkowym i końcowym stężeniem BDNF (wzrost w badaniu kontrolnym) w całej grupie badanych pacjentów oraz w grupie biernej. Nie stwierdzono takiej różnicy w grupie aktywnej. Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie po dokonaniu dodatkowych podziałów z uwzględnieniem zarówno płci, jak i AF. Nie stwierdzono istotnych różnic między stężeniami proBDNF1 a proBDNF2, mBDNF1 i mBDNF2 oraz w relacji mBDNF1 do proBDNF1 i mBDNF2 do proBDNF2 zależnych od podziału na płeć i aktywność.

W tabeli 4 zaprezentowano wyniki wpływu aktywności fizycznej na stężenie BDNF i mBDNF w podgrupie

**Tabela 2.** Wpływ aktywności fizycznej na stężenie BDNF i mBDNF – podział grup zależny od początkowego wyniku w skali MMSE

Grupa badana	Pomiar początkowy	Pomiar kontrolny	p
	BDNF 1	BDNF 2	
<b>MMSE 19–23</b>			
ogółem	21,2 (30,7–42,9) N = 14	36,7 (30,7–42,9) N = 14	0,006 * (91%)
aktywni	30,4 (24,7–45,2) N = 7	42,7 (34,7–47,6) N = 7	0,060 (37%)
bierni	16,3 (14,0–20,6) N = 7	32,6 (30,6–37,1) N = 7	0,046 * (74%)
<b>MMSE 11–18</b>			
ogółem	21,3 (17,1–32,8) N = 17	22,1 (13,1–39,8) N = 17	0,710 (5%)
aktywni	17,6 (16,5–23,9) N = 9	17,9 (0,02–22,1) N = 9	0,910 (7%)
bierni	31,7 (19,1–39,7) N = 8	38,5 (23,1–45,9) N = 8	0,540 (11%)
<b>mBDNF 1</b>			
<b>mBDNF 2</b>			
<b>MMSE 19–23</b>			
ogółem	20,4 (15,2–40,8) N = 12	35,8 (30,4–43,1) N = 12	0,004 * (91%)
aktywni	41,6 (27,5–42,2) N = 5	44,7 (38,4–46,4) N = 5	0,060 (62%)
bierni	15,4 (13,7–20,3) N = 7	31,4 (30,1–36,2) N = 7	0,046 * (74%)
<b>MMSE 11–18</b>			
ogółem	22,3 (16,5–32,3) N = 14	19,7 (10,9–38,4) N = 14	0,620 (8%)
aktywni	19,1 (16,9–25,7) N = 8	17,1 (10,6–22,1) N = 8	0,740 (10%)
bierni	34,5 (18,4–43,1) N = 6	40,5 (17,6–45,6) N = 6	0,680 (5%)

\* Różnica istotna statystycznie. Dane przedstawiono w postaci mediany i rozstępu międzykwartylowego (w nawiasie). N – liczebność grup; p – prawdopodobieństwo statystyczne; % moc testu; MMSE – krótka skala oceny stanu psychicznego; BDNF 1 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego (wszystkie frakcje), pomiar początkowy, stężenie w ng/ml; BDNF 2 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego (wszystkie frakcje), stężenie w ng/ml, pomiar kontrolny; mBDNF 1 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego, frakcja mature, pomiar początkowy, stężenie w ng/ml; mBDNF 2 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego, frakcja mature, stężenie w ng/ml, pomiar kontrolny.

**Tabela 3.** Wpływ aktywności fizycznej na stężenie BDNF i mBDNF – wszyscy badani; podział grup ze względu na płeć

Grupa badana	Pomiar początkowy	Pomiar kontrolny	p
	BDNF 1	BDNF 2	
Ogółem	21,3 (16,4–33,6) N = 31	31,4 (20,1–41,3) N = 31	0,018 * (67%)
kobiety	21,3 (16,3–34,5) N = 25	30,4 (17,9–42,7) N = 25	0,053 (43%)
mężczyźni	24,1 (17,4–29,9) N = 6	33,4 (30,9–37,8) N = 6	0,219 (30%)
Aktywni	22,6 (17,2–33,2) N = 16	26,7 (17,6–40,5) N = 16	0,222 (15%)
kobiety	21,3 (17,5–34,5) N = 13	23,1 (16,8–42,7) N = 13	0,456 (9%)
mężczyźni	28,1 (22,2–29,3) N = 3	30,4 (26,2–34,7) N = 3	0,500 (17%)
Bierni	20103 (15492–35021) N = 15	34294 (28270–41355) N = 15	0,030* (71%)
kobiety	20,4 (15,9–33,7) N = 12	34,3 (26,8–41,3) N = 12	0,063 (55%)
mężczyźni	20,1 (14,4–30,8) N = 3	34,3 (33,4–38,6) N = 3	0,500 (11%)
<b>mBDNF 1</b>			
<b>mBDNF 2</b>			
Ogółem	21,0 (15,7–35,9) N = 26	31,0 (18,7–41,7) N = 26	0,084 (42%)
kobiety	21,1 (15,4–37,0) N = 21	29,5 (16,6–44,6) N = 21	0,250 (17%)
mężczyźni	19,7 (16,3–27,5) N = 5	33,3 (31,4–38,4) N = 5	0,188 (30%)
Aktywni	23,6 (17,2–32,6) N = 13	24,5 (16,6–39,0) N = 13	0,450 (5%)
kobiety	23,6 (18,6–37,1) N = 11	22,5 (13,7–41,9) N = 11	0,760 (6%)
mężczyźni	21,9 (19,1–24,7) N = 2	30,2 (26,0–34,3) N = 2	0,500 (44%)
Bierni	19,7 (13,9–37,0) N = 13	33,3 (29,5–42,6) N = 13	0,100 (54%)
kobiety	18,2 (14,1–35,7) N = 10	33,6 (27,3–43,2) N = 10	0,230 (35%)
mężczyźni	19,7 (13,5–30,1) N = 3	33,3 (32,3–38,0) N = 3	0,500 (11%)

\* Różnica istotna statystycznie. Dane przedstawiono w postaci mediany i rozstępu międzykwartylowego (w nawiasie). N – liczebność grup; p – prawdopodobieństwo statystyczne; % moc testu; BDNF 1 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego (wszystkie frakcje), pomiar początkowy, stężenie w ng/ml; BDNF 2 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego (wszystkie frakcje), stężenie w ng/ml, pomiar kontrolny; mBDNF 1 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego, frakcja mature, pomiar początkowy, stężenie w ng/ml; mBDNF 2 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego, frakcja mature, stężenie w ng/ml, pomiar kontrolny.

**Tabela 4.** Wpływ aktywności fizycznej na stężenie BDNF i mBDNF – badani o późnym początku choroby; podział grup ze względu na płeć

Grupa badana	Pomiar początkowy	Pomiar kontrolny	p
	BDNF 1	BDNF 2	
Ogółem	21,0 (16,4–32,5) N = 27	31,4 (22,6–39,8) N = 27	0,002 * (94%)
kobiety	21,0 (16,3–32,8) N = 21	30,4 (18,1–39,8) N = 21	0,005 * (86%)
mężczyźni	24,1 (17,1–29,9) N = 6	33,4 (30,9–37,8) N = 6	0,219 (30%)
Aktywni	21,3 (17,5–32,8) N = 13	30,4 (18,1–39,8) N = 13	0,030 * (67%)
kobiety	21,3 (17,5–41,6) N = 10	26,8 (17,9–44,4) N = 10	0,097 (41%)
mężczyźni	28,1 (22,3–29,3) N = 3	30,4 (26,2–34,7) N = 3	0,500 (17%)
Bierni	19,9 (15,1–32,0) N = 14	33,4 (27,6–39,8) N = 14	0,017 * (93%)
kobiety	19,8 (15,5–31,7) N = 11	31,4 (26,6–39,8) N = 11	0,032 * (67%)
mężczyźni	20,1 (14,4–30,8) N = 3	34,3 (33,4–38,6) N = 3	0,500 (12%)
	mBDNF 1	mBDNF 2	
Ogółem	20,0 (15,0–34,5) N = 23	31,4 (22,2–40,9) N = 23	0,006 * (85%)
kobiety	20,4 (14,8–35,7) N = 18	30,1 (18,8–43,3) N = 18	0,020 * (67%)
mężczyźni	19,7 (16,3–27,5) N = 5	33,3 (31,4–38,4) N = 5	0,180 (30%)
Aktywni	21,1 (17,1–36,8) N = 11	29,2 (19,7–41,9) N = 11	0,032 * (55%)
kobiety	21,1 (17,2–41,6) N = 9	29,2 (17,6–44,7) N = 9	0,097 (29%)
mężczyźni	21,9 (19,1–24,7) N = 2	30,2 (26,0–34,3) N = 2	0,500 (44%)
Bierni	17,6 (13,7–33,2) N = 12	32,3 (28,8–40,0) N = 12	0,063 (63%)
kobiety	15,4 (13,9–32,0) N = 9	30,7 (26,6–39,2) N = 9	0,120 (45%)
mężczyźni	19,7 (13,5–30,1) N = 3	33,3 (32,3–38,0) N = 3	0,500 (11%)

\* Różnica istotna statystycznie. Dane przedstawiono w postaci mediany i rozstępu międzykwartylowego (w nawiasie). N – liczebność grup; p – prawdopodobieństwo statystyczne; % moc testu; BDNF 1 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego (wszystkie frakcje), pomiar początkowy, stężenie w ng/ml; BDNF 2 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego (wszystkie frakcje), stężenie w ng/ml, pomiar kontrolny; mBDNF 1 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego, frakcja mature, pomiar początkowy, stężenie w ng/ml; mBDNF 2 – czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego, frakcja mature, stężenie w ng/ml, pomiar kontrolny.

badanych o późnym początku choroby z uwzględnieniem dodatkowego podziału ze względu na płeć.

Stwierdzono istotny statystycznie wzrost stężenia BDNF w badaniu kontrolnym w całej podgrupie pacjentów z późnym początkiem choroby, w grupie aktywnej pacjentów z późnym początkiem choroby i w grupie biernej pacjentów z późnym początkiem choroby. Po dokonaniu dodatkowych podziałów z uwzględnieniem zarówno płci, jak i AF stwierdzono istotny statystycznie wzrost stężenia BDNF w badaniu kontrolnym w grupie wszystkich kobiet oraz grupie nieaktywnych kobiet. W podgrupie pacjentów z późnym początkiem choroby stwierdzono istotny statystycznie wzrost stężenia mBDNF w całej grupie oraz podgrupach: wszystkich kobiet oraz podgrupie wszystkich aktywnych osób. W podgrupie pacjentów z późnym początkiem choroby nie stwierdzono istotnych różnic w relacji mBDNF1 do proBDNF1 i mBDNF2 do proBDNF2 zależnych od podziału na płeć i aktywność.

## 5. Omówienie wyników

W badaniu stwierdzono istotny statystycznie wzrost stężenia BDNF w całej populacji badanych osób oraz w grupie kontrolnej. Trudno jest znaleźć racjonalne

wytłumaczenie wzrostu BDNF w grupie kontrolnej. Być może pod wpływem informacji o korzystnym wpływie wysiłku na funkcje poznawcze osoby z grupy kontrolnej – mimo początkowej odmowy udziału w badaniu w roli osoby aktywnej – zwiększały jednak swoją aktywność, ale nie informowały o tym badaczy. Brak zmian w stężeniu BDNF (i zmian w zakresie sprawności poznawczej) u chorych z łagodną i umiarkowaną ChA pod wpływem trwającego 9 tygodni treningu aerobowego o podobnym nasileniu odnotowano jednak w jednym z niedawno prowadzonych badań (Enette i wsp., 2020).

Nowe światło na związek AF z poziomem BDNF rzucają również wyniki opublikowanego w listopadzie 2021 badania Spartano i wsp. (2021). Stwierdzono w nim, że u dorosłych w średnim wieku BDNF nie jest przewlekle podwyższony w grupie osób przejawiających regularną AF, a nawet może być obniżony w podgrupie intensywniej ćwiczących (oraz u palaczy papierosów). Wyniki te nie są sprzeczne z wcześniejszymi badaniami wykazującymi, że krążący BDNF gwałtownie wzrasta po jednorazowej AF. Podobne rezultaty dało badanie Szuhany i wsp. (2015), w którym wykazano zróżnicowany wpływ AF na stężenia BDNF, zależny od regularności bądź epizodycznego charakteru AF oraz płci badanych. U kobiet – które w prezentowanym badaniu stanowiły zdecydowaną większość uczestników – wzrost ten miał być istotnie

słabszy niż u mężczyzn. Z pewnością istnieje górna granica zalecanej intensywności wysiłku, czego dowodzą badania Roeh i wsp. wykazujące spadek stężenia BDNF w osoczu 3 dni po tak ekstremalnym rodzaju wysiłku jak bieg maratoński.

Podobne rezultaty uzyskano, gdy przyjęto jako kryterium podziału grup zaawansowanie choroby: u wszystkich uczestników badania z łagodnie nasilonym otępieniem stwierdzono istotny wzrost stężenia BDNF; istotny wzrost stwierdzono również w grupie biernych uczestników z łagodnym otępieniem. W grupie aktywnej z łagodnym otępieniem stwierdzono wzrost stężenia BDNF na granicy istotności statystycznej. Należy jednak zauważyć, że najwyższym wynikiem początkowym i kontrolnym BDNF w tej podgrupie osób z łagodnym otępieniem cechowali się uczestnicy grupy aktywnej. Wspiera to hipotezę, że niektóre osoby z grupy aktywnej podjęły aktywność fizyczną przed pierwszym oznaczeniem stężenia BDNF. Należy pamiętać, że stężenie BDNF rośnie gwałtownie nawet po podjęciu jednorazowego, krótkiego wysiłku fizycznego i utrzymuje się przez wiele godzin (Håkansson i wsp., 2017).

Nieco inne wyniki otrzymano, gdy z całej badanej populacji wyodrębniono osoby o późnym początku choroby. Była to zdecydowana większość, bo 27 z 32 włączonych do badania chorych. W tym wypadku istotny statystycznie wzrost stężenia BDNF stwierdzono zarówno w całej grupie badanej, jak i w grupie aktywnej oraz w grupie biernej. W tej podgrupie chorych zaobserwowano również istotne statystycznie wzrosty w grupie wszystkich kobiet i grupie biernych kobiet. Na odmiennosc wyników uzyskanych przez osoby z późną postacią choroby wpływ mogły mieć odmienne interakcje między różnymi podtypami APOE a BDNF. Sen i wsp. (2017) w swym badaniu dowodzą, że wydzielanie BDNF u osób z genotypem APOE- $\epsilon$ 4 jest istotnie upośledzone w porównaniu z pozostałymi genotypami ( $\epsilon$ 2 i  $\epsilon$ 3), co może się jednak zmieniać pod wpływem wysiłku fizycznego jako czynnika epigenetycznego. APOE- $\epsilon$ 4 jest czynnikiem ryzyka późnej postaci ChA i, jak wspomniano wcześniej, osoby bierne obciążone nosicielstwem APOE- $\epsilon$ 4 są obarczone większym ryzykiem choroby niż osoby aktywne o tym samym genotypie.

W zakresie pomiarów mBDNF nie stwierdzono w badanej populacji istotnych statystycznie różnic między początkiem a końcem badania. Nie stwierdzono takich różnic po dokonaniu podziału na grupę aktywną i bierną, także po dokonaniu dodatkowych podziałów uwzględniających płeć uczestników. Dodatkowe kryterium podziału związane z zaawansowaniem choroby pozwoliło na stwierdzenie istotnych statystycznie wzrostów mBDNF w całej podgrupie z łagodnym otępieniem i podgrupie osób biernych z łagodnym otępieniem. Podobnie jak w przypadku BDNF, najwyższe stężenia mBDNF obserwowano w podgrupie aktywnych uczestników z łagodnym otępieniem. Różnica między pomiarami była

na granicy istotności statystycznej. Także i w tym przypadku rozpoczęcie treningów przed pobraniem krwi na oznaczenie BDNF wydaje się najbardziej racjonalnym wytłumaczeniem otrzymanych wyników.

W podgrupie osób z późnym początkiem choroby istotne statystycznie wzrosty mBDNF obserwowano w całej grupie badanej oraz w grupie aktywnych uczestników, nie stwierdzono natomiast takiego wzrostu w grupie biernej. Po podziale badanych ze względu na płeć stwierdzono istotny wzrost w grupie wszystkich kobiet. Wyniki mBDNF otrzymane w populacji pacjentów z późną postacią choroby byłyby więc zgodne z przesłankami (silna korelacja dodatnia między BDNF a mBDNF; wzrosty stężeń BDNF wywołane AF) wynikającymi z innych badań, należy jednak podkreślić brak badań wpływu AF na stężenia mBDNF w populacji z otępieniem. Otrzymane rezultaty mogłyby też sugerować, że mBDNF jest czulszym niż BDNF wskaźnikiem zmian zachodzących pod wpływem AF u pacjentów z ChA. Byłoby to zgodne z wnioskami z badania Sartori i wsp. (2011), według którego AF wpływa szczególnie na wzrost dostępności mBDNF.

W zakresie stężeń proBDNF i relacji stężeń mBDNF do proBDNF nie stwierdzono istotnych różnic niezależnie od dokonywanych podziałów całej badanej populacji. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między jakimikolwiek frakcjami BDNF w analizach między grupami aktywną i bierną, ani na początku, ani na końcu badania.

Wzrost stężenia mBDNF stwierdzony jedynie w grupie aktywnej (z późnym początkiem choroby) może przemawiać za większą przydatnością oznaczania tej frakcji neurotrofiny dla określenia ewentualnego korzystnego wpływu AF. W badaniu nie wykazano, aby wychwycone zmiany stężeń BDNF wiązały się z poprawą stanu klinicznego chorych kontrolowanego przy użyciu skal ADL i MoCA.

Jako ograniczenie badania i kwestię wymagającą oddzielnej dyskusji należy potraktować przydatność jednorazowych (czy choćby, jak w niniejszym badaniu, dwukrotnych) oznaczeń BDNF. Wziąwszy pod uwagę liczbę czynników wpływających na zmiany stężenia BDNF (Walsh i wsp., 2020), może należy zastanowić się, czy nie ma ono podobnej wartości jak jednorazowe oznaczenie stężenia glukozy dla kontroli leczenia cukrzycy i czy – analogicznie – pomiar zmian objętości hipokampu (lub zmian w badaniach czynnościowych) zależny od średnich wartości BDNF na przestrzeni tygodni nie byłby odpowiednikiem oznaczenia glikozylowanej hemoglobiny (HbA1C) i nie lepiej odzwierciedlał potencjalny korzystny wpływ AF na neurogenezę. W badaniu nie zbierano na przykład informacji na temat sposobu dotarcia uczestników do punktu pobrania krwi (dojazd pod punkt pobrań samochodem/taksówką vs skorzystanie z komunikacji miejskiej i kilkusetmetrowy spacer z przystanku do laboratorium). Wydaje się, że uwzględnienie tej dodatkowej zmiennej mogłoby wpłynąć na interpretację uzyskanych wyników. Poza tym w świetle

wyników jednego z ostatnich badań (Spartano i wsp., 2021) wpływ AF na metabolizm BDNF jest prawdopodobnie o wiele bardziej skomplikowany i subtelny, niż wynikałoby to z pionierskich badań tego zjawiska. Być może, jak w innych przypadkach, istotna jest nie tylko bezwzględna ilość BDNF (mBDNF), ale sprawność całej kaskady aktywowanych przez tę neurotrofinę zjawisk, poczynając od cech takich jak wrażliwość receptorów TrkB (*tropomyosin receptor kinase B*) przez ewentualny proces ich downregulacji aż po długotrwałe efekty genowe. Niejednoznaczne wyniki dotyczące wpływu różnych rodzajów AF (ostry vs regularny) na stężenie BDNF nie podważają odkryć potwierdzających korzystny wpływ treningu na kluczowe dla pamięci struktury OUN.

Conflict of interest and financial support non declared. / Nie zgłoszono konfliktu interesów oraz dofinansowania.

The work described in this article has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, and Uniform Requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. / Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

## References / Piśmiennictwo

- ten Brinke LF, Bolandzadeh N, Nagamatsu LS, Hsu CL, Davis JC, Miran-Khan K *et al.* Aerobic exercise increases hippocampal volume in older women with probable mild cognitive impairment: a 6-month randomised controlled trial. *Br J Sports Med.* 2015; 49: 248–54.
- Broadhouse KM, Singh MF, Suo C, Gates N, Wen W, Brodaty H *et al.* Hippocampal plasticity underpins long-term cognitive gains from resistance exercise in MCI. *Neuroimage Clin.* 2020; 25: 102182.
- Coelho FG, Vital TM, Stein AM, Arantes FJ, Rueda AV, Camarini R *et al.* Acute aerobic exercise increases brain-derived neurotrophic factor levels in elderly with Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2014; 39: 401–8.
- Enette L, Vogel T, Merle S, Valard-Guiguet AG, Ozier-Lafontaine N, Neviere R *et al.* Effect of 9 weeks continuous vs. interval aerobic training on plasma BDNF levels, aerobic fitness, cognitive capacity and quality of life among seniors with mild to moderate Alzheimer's disease: a randomized controlled trial. *Eur Rev Aging Phys Act* 2020; 17: 2.
- Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L *et al.* Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States* 2011; 7: 3017–3022.
- Gasquoine PG. Effects of physical activity on delayed memory measures in randomized controlled trials with nonclinical older, mild cognitive impairment, and dementia participants. *J Clin Exp Neuropsychol* 2018; 40: 874–886.
- Gerenu G, Martisova E, Ferrero H, Carracedo M, Rantamäki T, Ramirez MJ *et al.* Modulation of BDNF cleavage by plasminogen-activator inhibitor-1 contributes to Alzheimer's neuropathology and cognitive deficits. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017; 1863: 991–1001.
- Górniak M, Rybakowski F, Jaracz J, Rybakowski J. The influence of Nordic walking on the general functioning and cognitive performance of patients with Alzheimer's disease. *Adv Psychiatry Neurol* 2021; 30 (3): 154–161.
- Håkansson K, Ledreux A, Daffner K, Terjestam Y, Bergman P, Carlson R *et al.* BDNF responses in healthy older persons to 35 minutes of physical exercise, cognitive training, and mindfulness: associations with working memory function. *Journal of Alzheimer's Disease* 2017; 55: 645–657
- Hwang KS, Lazaris AS, Eastman JA, Teng E, Thompson PM, Gyls KH *et al.* Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Plasma BDNF levels associate with Pittsburgh compound B binding in the brain. *Alzheimers Dement (Amst)* 2015; 1: 187–193.
- Leckie RL, Oberlin LE, Voss MW, Prakash RS, Szabo-Reed A, Chaddock-Heyman L *et al.* BDNF mediates improvements in executive function following a 1-year exercise intervention. *Front Hum Neurosci* 2014; 8: 985.
- Neeper SA, Gómez-Pinilla F, Choi J, Cotman C. Exercise and brain neurotrophins. *Nature* 1995; 373: 109.
- Peng S, Wu J, Mufson EJ, Fahnstock M. Precursor form of brain-derived neurotrophic factor and mature brain-derived neurotrophic factor are decreased in the pre-clinical stages of Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2005; 93: 1412–21.
- van Praag H, Brian R, Christie A, Terrence J, Sejnowski A, Fred H *et al.* Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States Of America.* 1999; 96: 13427–31.
- Roeh A, Holdenrieder S, Schoenfeld J, Haeckert J, Halle M, Falkai P *et al.* Decreased Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor Concentrations 72 Hours Following Marathon Running. *Front Physiol* 2021; 12: 668454.
- Sartori CR, Vieira AS, Ferrari EM, Langone F, Tongiorgi E, Parada CA. The antidepressive effect of the physical exercise correlates with increased levels of mature BDNF, and

## 6. Wnioski

W okresie obserwacji w całej grupie badanej (32 osoby) oraz w grupie MMSE 19–23 pkt (15 osób) stwierdzono istotny wzrost stężenia BDNF w surowicy. W grupie osób z późnym początkiem choroby ( $N = 27$ ) stwierdzono istotny wzrost stężenia BDNF w surowicy niezależnie od AF, natomiast istotny wzrost stężenia mBDNF tylko w grupie aktywnej. Uzyskane wyniki mogą wskazywać na to, że u osób z ChA mBDNF jest czulszym wskaźnikiem wpływu AF na zmiany stężenia neurotrofin. Nie stwierdzono istotnych korelacji między zmianami poziomów BDNF i mBDNF a funkcjonowaniem ogólnym i sprawnością poznawczą, których istnienie zakładano w hipotezach badawczych. ■

- proBDNF proteolytic cleavage-related genes, p11 and tPA. *Neuroscience* 2011; 180: 9-18.
17. Sen A, Nelson TJ, Alkon DL. ApoE isoforms differentially regulates cleavage and secretion of BDNF. *Mol Brain* 2017; 10: 19.
  18. Spartano NL, Himali JJ, Trinquart L, Yang Q, Weinstein G, Satizabal CL *et al.* Accelerometer-Measured, Habitual Physical Activity and Circulating Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Cross-Sectional Study. *J Alzheimers Dis* 2021 Nov 29. doi: 10.3233/JAD-215109.
  19. Szuhany KL, Bugatti M, Otto MW. A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *J Psychiatr Res* 2015; 60: 56-64.
  20. Varma VR, Tang X, Carlson MC. Hippocampal sub-regional shape and physical activity in older adults. *Hippocampus*. 2016; 26: 1051-60.
  21. Walsh EI, Smith L, Northey J, Rattray B, Cherbuin N. Towards an understanding of the physical activity-BDNF-cognition triumvirate: A review of associations and dosage. *Ageing Res Rev* 2020; 60: 101044.
  22. Zheng Z, Sabirzhanov B, Keifer J. Oligomeric amyloid  $\beta$  inhibits the proteolytic conversion of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), AMPA receptor trafficking, and classical conditioning. *J Biol Chem* 2010; 285: 34708-17.

