

Testedzés hatása a humán mikrobiomra

Doktori értekezés

Bábszky Gergely Zsolt

Magyar Testnevelési és Sporttudományi Egyetem
Sporttudományok Doktori Iskola



MAGYAR TESTNEVELÉSI
ÉS SPORTTUDOMÁNYI
EGYETEM
BUDAPEST

Témavezető: Dr. Radák Zsolt egyetemi tanár, DSc

Hivatalos bírálók: Dr. Sydó Nóra egyetemi adjunktus, PhD
Dr. Vágó Hajnalka egyetemi tanár, PhD

Budapest
2024

„A világ titkaira túlságosan lassan vet fényt a kutatás; a tudomány sok kérdésre még egyáltalában nem tud választ adni. A tudományos kutatás azonban az egyetlen út, ami bennünket a rajtunk kívül eső világ helyes ismeretéhez elvezet.”

Sigmund Freud

Tartalomjegyzék

Ábrák és táblázatok jegyzéke	5
Ábrajegyzék.....	5
Táblázatjegyzék	6
Rövidítések jegyzéke	7
1. Bevezetés	10
2. Irodalmi áttekintés	12
2.1. COVID-19 betegség	12
2.1.1. Eredete.....	13
2.1.2. Terjedés	14
2.1.3. Osztályozás	16
2.2. Humán mikrobiom	17
2.2.1. A humán bélmikrobiom kialakulása	20
2.2.2. A humán bélmikrobiom összetételét befolyásoló tényezők.....	22
2.2.3. A humán bélmikrobiom szervezetre gyakorolt általános hatásai	23
2.3. Fizikai aktivitás.....	24
3. Célkitűzések és korlátozó tényezők	27
3.1. A vizsgálat célja	27
3.2. Korlátozó tényezők.....	28
4. Anyagok és módszerek.....	30
4.1. A COVID-19 betegségen átesett hosszmetzeti vizsgálat alanyai.....	30

4.1.1.	Széketmintavétel a hosszmetzeti vizsgálat során	33
4.2.	A keresztmetzeti vizsgálatban résztvevő veterán sportolók leírása, a fittségi és az egészségi státusz indikátorok felvétele	34
4.2.1.	Széketmintavétel a keresztmetzeti vizsgálat során	35
4.2.2.	Fittségi mutatók	36
4.2.3.	Egészségi állapot biomarkerek	36
4.3.	Prokarióta fajok könyvtári előkészítése és azonosítása	37
4.4.	Bioinformatikai elemzés	38
4.5.	Statisztika	39
5.	Eredmények	40
5.1.	Hosszmetzeti vizsgálat, a COVID-19 betegségeen átesett csoportok eredményei	40
5.2.	Keresztmetzeti vizsgálat, a fittségi mutatók, egészségi markerek felmérése során született eredmények	49
5.2.1.	A baktériumfajok összetétele a vizsgált mintában	51
5.2.2.	A baktériumösszetétel és a fittségi-, egészségmarkerek összefüggéseinek vizsgálata	53
6.	Megbeszélés	62
6.1.	Hosszmetzeti vizsgálatok	62
6.2.	Keresztmetzeti vizsgálatok	64
7.	Következtetések	66
8.	Összefoglalás	68

9. Summary	69
10. Irodalomjegyzék	70
11. Saját publikációk jegyzéke	82
11.1. Disszertációhoz kapcsolódó közlemények	82
11.2. Független közlemények	82
12. Köszönetnyilvánítás	84

Ábrák és táblázatok jegyzéke

Ábrajegyzék

1. ábra: Transzmissziós elektronmikroszkópos kép a SARS-CoV-2-ről.....	13
2. ábra: A humán mikrobiom testfelületeken és testen való előfordulása.....	18
3. ábra: Élethosszig tartó hatások, amelyek befolyásolják a gasztrointesztinális mikrobiom összetételét.....	21
4. ábra: COVID-19 által érintett szív- és érrendszeri betegségek előfordulását befolyásoló tényezők.....	25
5. ábra: A keresztmetszeti vizsgálatban résztvevő veterán sportolók koreloszlása.....	35
6. ábra: Baktérium eloszlás törzs szintjén.....	41
7. ábra: Baktériumok eloszlása család szintjén.....	42
8. ábra: Bacteroides relatív abundanciája.....	43
9. ábra: Faji szinten Bacteroides Vulgatus.....	44
10. ábra: 1-es tüneti csoport főkomponens analízis ábrája.....	45
11. ábra: 2-es tüneti csoport főkomponens-analízis ábrája.....	46
12. ábra: 4-es tüneti csoport főkomponens-analízis ábrája.....	47
13. ábra: Bélmikrobiom Shannon-diverzitása.....	48
14. ábra: Napi fehérje-, szénhidrát- és zsírbevitel betegség alatt és betegség után.....	49
15. ábra: Veterán sportolók edzésmonitorozása.....	50
16. ábra: A férfiak és a nők baktériumtörzseinek megoszlása, alanyonként (csak a küszöbszint feletti törzseket ábrázolva).....	51

17. ábra: Az átlagos relatív gyakoriságbeli különbségek a férfiak és a nők között, törzsi szinten.....	52
18. ábra: A bélflóra diverzitás, fittségi mutatók és a szervezet egészségi státuszát mutató markerek közötti összefüggések férfi résztvevők esetében.....	54
19. ábra: A bélflóra diverzitás, fittségi mutatók és a szervezet egészségi státuszát indukáló markerek közötti összefüggések női résztvevők esetében.....	55
20. ábra: Korrelációs elemzés a baktériumtörzsek, fiziológiás paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek tekintetében, férfi résztvevőknél	56
21. ábra: Korrelációs elemzés a baktériumtörzsek, fiziológiás paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek tekintetében, női résztvevőknél	57
22. ábra: Korrelációs elemzés a bélmikrobiom faji abundanciájával, férfiak esetében	58
23. ábra: Korrelációs elemzés a bélmikrobiom faji abundanciájával, nők esetében	59
24. ábra: Különböző bakteriális biológiai útvonalak összefüggése a fiziológiás és egészségügyi markerekkel férfi résztvevőknél.....	60
25. ábra: Különböző bakteriális biológiai útvonalak összefüggése a fiziológiás és egészségügyi markerekkel női résztvevőknél.....	61

Táblázatjegyzék

1. táblázat Az edzett és ülő foglalkozást folytató csoport résztvevőinek alapadatai.....	32
---	----

Rövidítések jegyzéke

(-) ssRNA	negatív értelmű egyszálú ribonukleinsav, (negative-sense single-stranded ribonucleic acid)
(+) ssRNA	pozitív értelmű egyszálú ribonukleinsav, (positive-sense single-stranded ribonucleic acid)
2019-nCoV	2019 új típusú koronavírus, (2019 Novel Coronavirus)
ACE-2	angiotenzin-konvertáló enzim 2, (Angiotensin-converting enzyme 2)
AMPK	AMP-aktivált protein kináz, (AMP-activated protein kinase)
ASV	amplikon szekvencia-variáns, (Amplicon sequence variant)
BAP	biológiai antioxidáns potenciál, (biological antioxidant power)
BMI	testtömeg index, (Body Mass Index)
Ch	szénhidrát, (carbohydrate)
Ch	koleszterin, (cholesterol)
CLR	központi logaritmus ráta, (Centralised Log Ratio)
COVID-19	koronavírus-betegség 2019, (Coronavirus disease 2019)
d-ROM	d-reaktív oxigén metabolitok, (d- reactive oxygen metabolites)
dsDNA	kétszálú dezoxiribonukleinsav, (double-stranded deoxyribonucleic acid)
dsDNA-RT	kettős szálú ribonukleinsav vírusok DNS intermediérral, (double-stranded ribonucleic acid viruses with a DNA intermediate)
dsRNA	kétszálú ribonukleinsav, (double-stranded ribonucleic acid)
EDTA	véralvadásgátló, (Ethylenediaminetetraacetic acid)
ELISA	enzimhez kötött immunszorbens vizsgálat, (enzyme-linked immunosorbent assay)

FFQ	táplálkozási szokásokra vonatkozó kérdőív, (Food Frequency Questionnaires)
GI	gyomor-bélrendszeri, (gastrointestinal)
H1N1	hemagglutinin (H) és neuraminidase (N), (Influenza A virus subtype H1N1)
HCoV-229E	humán koronavírus 229E, (Human coronavirus 229E)
HCoV-HKU1	humán koronavírus HKU1, (Human coronavirus HKU1)
HCoV-NL63	humán koronavírus NL63, (Human coronavirus NL63)
HCoV-OC4	humán koronavírus OC43, (Human coronavirus OC43)
HDL	magas sűrűségű lipoprotein, (high-density lipoprotein)
IL1	interleukin-1
IL-1 β	interleukin 1 beta
ISEI	Nemzetközi Testedzési és Immunológiai Társaság, (International Society for Exercise and Immunology)
ISP	iongömb részecskék, (Ion Sphere Particles)
LDL	alacsony sűrűségű lipoprotein, (low-density lipoprotein)
LPS	lipopoliszacharid, (lipopolysaccharide)
MERS-CoV	Közel-keleti légúti szindróma koronavírus, (Middle East respiratory syndrome coronavirus)
mRNS	hírvivő ribonukleinsav, (messenger ribonucleic acid)
NCP	új koronavírus tüdőgyulladás, (Novel coronavirus pneumonia)
NIH	Nemzeti Egészségügyi Intézet, (National Institute of Health)
OR	esélyhányados, (Odds Ratio)
PCA	főkomponens-analízis, (Principal Component Analysis)
PCR	polimeráz láncreakció, (polymerase chain reaction)

PGC1	Peroxiszóma proliferátor által aktivált receptor gamma koaktivátor1, (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator1)
PGM	személyes genom szerkezet, (Personal Genome Machine)
R0	alap szaporodási ráta, (reproduction number)
RaTG13	denevér koronavírus, (Rhinolophus affinis TG13)
RDP	riboszomális adatbázis projekt, (ribosomal database project)
RNS	ribonukleinsav, (ribonucleic acid)
SARS-CoV-2	súlyos akut légzőszervi szindróma-koronavírus, (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2)
SIRT1	szirtuin 1, (silent mating type information regulation 2 homolog)
ssDNA	egyszálú deoxiribonukleinsav, (single-stranded deoxyribonucleic acid)
ssRNA-RT	egyszálú ribonukleinsav vírusok DNS intermediérral, (single-stranded ribonucleic acid viruses with a DNA intermediate)
Tg	triglicerid, (triglyceride)
TLR4	toll-szerű receptor 4, (toll-like receptor 4)
TNF- α	tumor nekrozis faktor alfa, (tumor necrosis factor alpha)
WHO	Egészségügyi Világszervezet, (World Health Organization)

1. Bevezetés

A 2019-ben megjelenő és Magyarországra 2020-ban betörő koronavírus járvány a XXI. század első olyan pandémiája, melyet minden túlzás nélkül világszintű egészségügyi krízishelyzetként lehet elkönyvelni. Az emberi szervezet nap mint nap ki van téve különféle patogének támadásainak és évről évre, de akár hónapról hónapra is törnek ki járványok a Földön. 2009-ben például az influenza H1N1 variánsa kapott kiemelt figyelmet, tekintve, hogy nagyobb pandémiát okozott, illetve ezen altípus különösen virulens törzse volt felelős a hírhedt 1918-as spanyolnátháért, mely becslések szerint több mint 50 millió ember életét követelte (4).

A vírus gyors terjedése, valamint patológiájáról rendelkezésre álló csekély ismeretanyag, továbbá a vakcinák hiánya számos a XX.-XXI. században példátlan intézkedések sokaságát eredményezte. A szociális távolságtartás, a maszkviselési kötelezettség, a gyülekezési és a kijárási korlátozások mellett a házi karantén bevezetése is az új betegek számának mérséklését volt hivatott elősegíteni. Másik szempontból nézve a cél az volt, hogy egy időben minél több egészséges (vagy legalább enyhe tüneteket produkáló) ember legyen a populációban, hiszen a kórházi ellátásra szorulókat számát csökkenteni kellett, ezzel elkerülve az egészségügyi rendszer túlterhelését.

Már a koronavírus pandémia elején jelentek meg olyan hírek, miszerint az idősebb korcsoportokban, illetve a valamilyen más krónikus, például szív és érrendszeri- vagy cukorbetegségben szenvedő fertőzött egyének között magasabb a mortalitás (25). Továbbá feltehetőleg az obez, alacsony fittségi mutatókkal rendelkező emberek túlélési esélyei elmaradnak az átlagos tápláltságú alanyokétól (90). Egy friss tanulmány pedig kimutatta, hogy az alacsony fizikai aktivitású fertőzöttek között majdnem négyszer nagyobb a fatális kimenetelű betegség esélye (OR 3.9) a magas fizikai aktivitású csoporthoz viszonyítva (86). Ezen információk azt sugallják, hogy a többet mozgó, fittebb, nagyobb élettani tartalékokkal rendelkező, egészséges egyének valószínűleg ellenállóbbak a koronavírussal és talán más fertőző megbetegedésekkel szemben is.

A jogosan felmerülő kérdés, hogy milyen változók mentén tudjuk definiálni a fent említett „egészséget” vagy „élettani tartalékot”. A rendszeres testedzés és a fizikai

aktivitás ugyanis sokkal komplexebb adaptációs folyamatokat látszik indukálni, mint azt 15-20 évvel ezelőtt gondoltuk volna. A kardiovaszkuláris rendszer és a vázizom jól ismert adaptációs folyamatain túl az utóbbi időben a tápcsatornában élő mikroorganizmusokról is kimutatták, hogy reagálnak a testedzésre (70). A mikrobiom összetétele pedig kapcsolatba hozható immunfolyamatokkal, melyek kulcsfontosságú szerepet töltenek be a COVID-19 fertőzés folyamán, illetve a betegség kimenetelének súlyossága is sokszor az egyéni immunválaszok modulációjához köthető (citokin vihar) (5). Érdekes kérdés, hogy a mikrobiom faji összetétele miként reagál a COVID-19 fertőzésre, illetve edzett csoportoknál kimutatható-e bármilyen előnyös bélrendszeri mikrobiológiai státusz, például nagyobb faji diverzitás, ami esetleg összefüggésbe hozható a betegség enyhébb lefolyásával. Lehet-e a mikrobiom összetételt az edzettséggel kapcsolatba hozni, illetve milyen fitsségi vagy egészségi mutatók változása mozog együtt a különböző baktériumtaxonokkal?

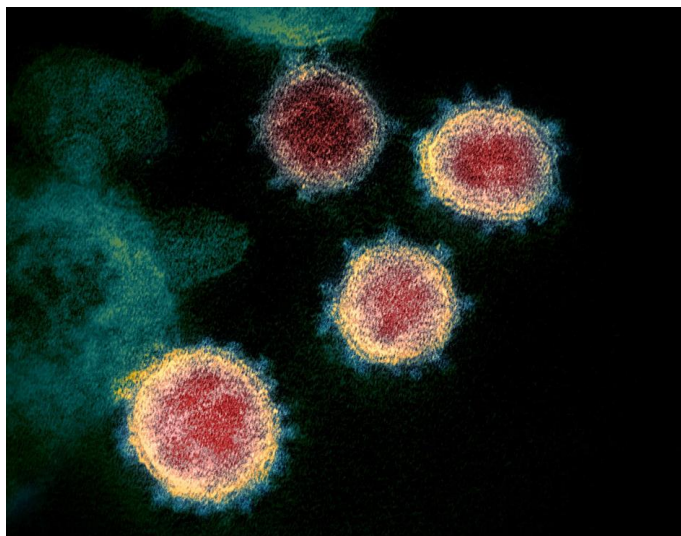
2. Irodalmi áttekintés

2.1. COVID-19 betegség

A COVID-19 légúti, illetve légzőszervi megbetegedés, amelyet a SARS-CoV-2 nevű koronavírus okoz. A kínai kormány kezdetben Novel Coronavirus Pneumonia-nak (NCP), vagyis új koronavírus tüdőgyulladásnak nevezte ezt a megbetegedést, amit ezt követően COVID-19-re keresztelt az Egészségügyi Világszervezet. Eközben a 2019-nCoV-t a vírusok taxonómiájával foglalkozó nemzetközi bizottság SARS-CoV-2 névre változtatott. 2020. február 24-ig világszerte több mint 80 000 megerősített esetet jelentettek, köztük több mint 2700 halálesetet, amelyek több mint 37 országot érintettek. A WHO 2020. január végén globális egészségügyi vészhelyzetnek nyilvánította ezt a helyzetet.

A 2019-es koronavírus-betegség (COVID-19) magas átviteli sebességgel, változatos klinikai megnyilvánulásokkal és hosszú lappangási idővel rendelkezik. A légzőrendszer megfertőzése mellett a COVID-19 káros hatással van a szív- és érrendszerre is. A COVID-19 akut szívizom sérüléseket, valamint krónikus károsodást okoz a szív- és érrendszerben (65).

A koronavírusokról már az 1930-as évekre visszamenőleg vannak ismereteink. Nevüket a nukleinsav fehérje komplexum körüli, körülbelül 120 nanométer átmérőjű, napkoronára hasonlító burokról kapták (**1. ábra**). A vírusrészecskék külső szélén lévő tüskék adják a koronavírusok nevét. A SARS-CoV-2, magyarul súlyos akut légúti szindróma koronavírus 2, új törzs által okozott világjárvány megnövelte az érdeklődést e víruscsalád iránt (86).



1. ábra:

Transzmissziós elektronmikroszkópos kép a SARS-CoV-2-ről

Transzmissziós elektronmikroszkópos kép a SARS-CoV-2-ről, a COVID-19-et okozó vírusról, egy Egyesült Államokbeli betegből izolálva. A képen látható, hogy vírusrészecskék emelkednek ki a laboratóriumban tenyésztett sejtek felszínéről. A vírusrészecskék külső szélén lévő tüskék adják a koronavírusok nevét, mivel koronaszerű rajzolatot adnak (<https://www.nih.gov/news-events/nih-research-matters/novel-coronavirus-structure-reveals-targets-vaccines-treatments>).

2.1.1. Eredete

Az első SARS-CoV-2 megbetegedéseket a kínai Vuhan városában észlelték. A megfertőződött betegek közül nagy számban a vuhani Huanan élelmiszerpiac dolgozói voltak, ezért feltételezik, hogy nagy valószínűséggel a humán patogén törzs itt jöhetett létre, viszont nem zárható ki, hogy a vírus a piacra kívülről került be, és csak itt kezdett gyors terjedésbe. Egy kutatás, amelyet a Hong Kong melletti Sencsen városában végzett a Hongkongi Egyetem klinikusainak és tudósainak egy csoportja, az első konkrét bizonyítékot szolgáltatotta a SARS-CoV-2 emberről emberre történő átvitelére (16).

A 2002–2004-es SARS-járvány után átfogó kutatás indult a hasonló, állatokban élő vírusok után és kimutatták, hogy számos denevérfaj hordoz hasonló koronavírusokat. A

vírus legközelebbi rokonai, genetikai vizsgálatok szerint a denevérekben élnek. A vírus genetikai diverzitása alacsony, vagyis az emberre való továbbterjedés feltehetően 2019-ben következhetett be. Korábban a SARS-CoV-2 két szülői vírusát azonosították. Az első a denevér-koronavírus (RaTG13), amely Yunnan tartományból származik, és 96,2%-ban azonos a SARS-CoV-2-vel (89). Előfordulhat azonban, hogy a RaTG13 nem a SARS-CoV-2 közvetlen őse, mert az előrejelzések szerint nem ugyanazt az ACE2 receptort használja, mint a SARS-CoV-2, a gazdaszervezetbe való bejutáshoz. Az eddig ismert denevérvírusok és a humán kórokozó közötti különbségek miatt azonban azt is feltételezték, hogy esetleg egy köztes gazda lehet a SARS-CoV-2 közvetlen forrása, a bétakoronavírusok egy csoportja, amelyek a kismamák veszélyeztetett fajaiban, mint például a tobzoscákban találhatók (40). Ezeket gyakran fogyasztják húsforrásként Dél-Kínában és a teljes nukleotidszekvenciájuk körülbelül 90%-ban azonos a SARS-CoV-2-vel.

2.1.2. Terjedés

Fontos kérdés, hogy mennyire fertőző és patogén a SARS-CoV-2 az emberek közötti terciér és kvaterner terjedésben. A SARS-CoV-2 folyamatos terjedése arra utal, hogy harmadlagos és negyedleges terjedés történt. Az elsődleges és másodlagos terjedés során a SARS-CoV-2 állatról emberre és emberről emberre terjedt. Vuhanban megerősített esetek retrospektív elemzése nagyon informatívak voltak. Abban az esetben, ha az átvitel gyengült volna, a járvány végül véget érhetett volna, és a SARS-CoV-2 emberből kiirtható lett volna. Azonban a SARS-CoV-2 egy újabb közösség által szerzett emberi koronavírus lett, akárcsak a másik négy humán koronavírus (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-HKU1 és HCoV-NL63), amelyek csak megfázást okoznak. A SARS-CoV-2 alapvető szaporodási számát (R_0) 2,68-ra becsülték, ami körülbelül 6,4 napos járványszerű megkettőződési időt eredményezett (83).

A vírus terjedésének megakadályozása érdekében maszkhasználat, folyamatos kézfertőtlenítés, távolságtartás és számos más intézkedés lett törvénybe hozva világszerte. A köhögés, tüsszentés mellett a közönséges beszéd is tartalmazhat cseppeket, amivel a vírus tovább terjedhet (62). Veszélyt jelent a leülepedett cseppekkel szennyezett

felületek fizikai érintése is. Bizonyos felületeken akár napokig fertőzőképességüket megtartva megmaradhatnak a vírusok (75).

Ezért rendkívül fontos volt rendszeresen tisztítani és fertőtleníteni a közösségi helyiségeket és felületeket. Ezen intézkedések fontosak voltak, azonban mégis rendkívül sok volt a megbetegedés. Az epidemiológiai modellek arra utalnak, hogy a teljesen tünetmentes, illetve korai fázisban lévő betegek az új fertőzések legfőbb forrásai voltak (16).

Az enyhe és nem specifikus tüneteket mutató betegeket nehéz volt azonosítani és karanténba helyezni. Figyelemre méltó, hogy a SARS-CoV-2 kitörésekor a fertőzésben (12,1%) gyakoribb volt a láztalan állapot, mint a SARS-CoV-nál (1%) és a Közel-Kelet légúti szindróma koronavírus, MERS-CoV (2%) fertőzése esetén (1).

A szennyvízkezelési rendszereknek is kiemelt figyelmet kellett fordítani a vírus terjedése szempontjából. A vírusos cseppek és az érintkezés mellett a SARS-CoV széklet-orális átvitele bizonyos körülmények között veszélyesnek bizonyult a járvány terjedése szempontjából. A SARS-CoV-2 fertőzés gasztrointesztinális érintettsége és izolálása a betegek székletmintáiból alátámasztja a vírus széklet-orális útvonalon való terjedését. Bár a hasmenést ritkábban észlelték vizsgálatokban, a SARS-CoV-2 szennyvízen, hulladékon, szennyezett vízen, légkondicionáló rendszeren és aeroszolokon keresztül történő átvitelének veszélyét nem szabad alábecsülni. A Diamond Princess tengerjáró hajó 3700 utasa közül 742-nél igazolták, hogy SARS-CoV-2-vel fertőztek, a korábban említett probléma miatt, ami arra utal, hogy a higiénés szabályok betartása és a megfelelő fertőtlenítés elengedhetetlen a vírus terjedésének megállításához (81).

A vírus RNS-fragmenseinek a gazdaszervezet immunrendszere általi felismerése kulcsszerepet játszik a vírus replikációjának és terjedésének korlátozásában, valamint a fertőzések által kiváltott betegségek kimenetelében. A vírus terjedése gyors volt, különösen a SARS-CoV-2 vírus (B.1.1.7 néven, először Délkelet-Angliában szekvenálták és brit variánsként nevezték) új törzse esetében, amely Európában az uralkodó variánssá vált. A COVID-19 klinikai megnyilvánulásai a tünetmentes, enyhe és közepesen súlyos szisztematikus tünetektől, valamint az immunhiányos és idősebb betegeknél megfigyelt súlyos rendellenességekig terjednek (7, 89).

Bizonyos esetekben előfordulhat, hogy a vírus emberről állatra terjed át, például macskára, kutyára; emiatt egyes intézmények azt javasolták, hogy a betegek lehetőleg ne érintkezzenek állatokkal (63).

A gazdaszervezetbe való belépés után az RNS, az RNS szekvencia által meghatározott módon kötődik a gazdasejt riboszómájához, hogy a virális genom transzkripciója után megindulhasson a transláció. A virális genomok döntő többsége egy nagy preproteinből áll, amelynek hasadása során 16 nem strukturális fehérje keletkezik. A preprotein lehasadása az RNS translációja során történik, ahol az RNS szekvencia alapján specifikus peptidkapcsolatok kialakulása révén válnak önálló fehérjékké. Az átírt RNS molekulák utolsó harmada különböző típusú fehérjéket kódol, mint például tüske fehérjék, burok fehérjék, mátrix fehérjék, nukleokapszid fehérjék és nem strukturális fehérjék. Ezek a virális fehérjék kulcsfontosságúak a vírus életciklusában és fertőzőképességében, és számos vírusos betegség kialakulásához szükségesek (16, 43, 87).

Kutatások bebizonyították, hogy a SARS-CoV-2 emberi szövetekbe való bejutásáért az angiotenzin-konvertáló enzim 2 (ACE-2) a felelős, amely nagymértékben expresszálódik a bélben, különösen egészséges alanyok vastagbeleiben és gyulladással járó bélbetegségben szenvedő betegeknél (33, 58).

2.1.3. Osztályozás

A vírusokat rendszerezni leginkább fenotípusuk alapján szokták, ezen belül a nukleinsavtípusuk, szaporodásuk módja, morfológiájuk, gazdaszervezetük, valamint az általuk okozott betegség szerint. A Baltimore-rendszer, amit a Nobel-díjas biológus, David Baltimore dolgozott ki, 1-7-ig osztályozza csoportokba replikációjuk és genomjuk típusa szerint a vírusokat.

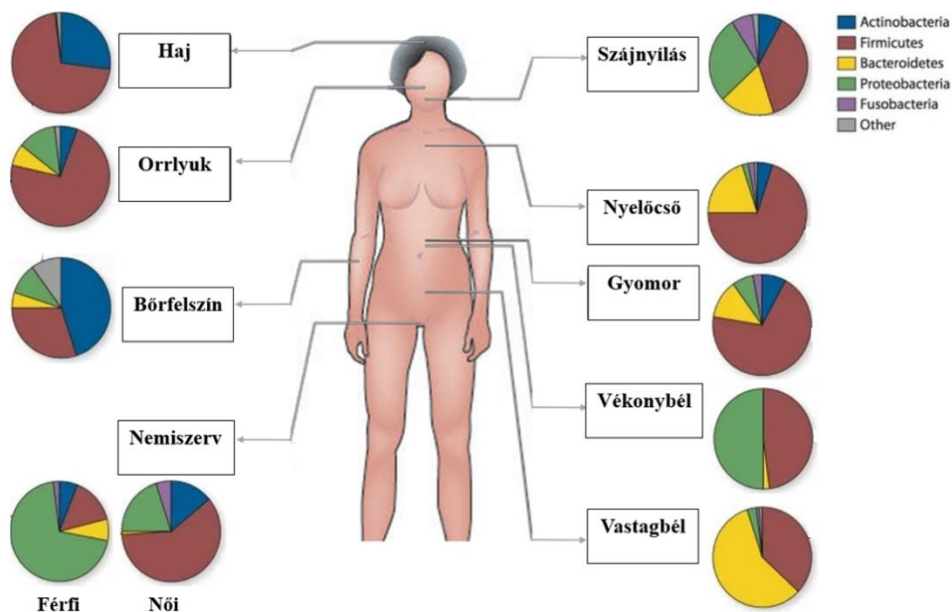
- I. dsDNA: kettős szálú DNS-vírusok
- II. ssDNA: egyszálú DNS-vírusok
- III. dsRNA: kettős szálú RNS-vírusok

- IV. (+) ssRNA: (+) egyszálú RNS-vírusok
- V. (-) ssRNA: (-) egyszálú RNS-vírusok
- VI. ssRNA-RT: egyszálú reverz transzkripció RNS-vírusok
- VII. dsDNA-RT: kettős szálú reverz transzkripció DNS-vírusok (43).

A Baltimore-féle osztályozás szerint a SARS-CoV-2 a 4. csoportba tartozik. A koronavírusok az egyik legnagyobb, 27-34 kilobázis nagyságú, pozitív szálú, nem szegmentált RNS-vírusok. A negyedik Baltimore-csoport olyan vírusokat tartalmaz, amelyek pozitív értelmű egyszálú RNS (+ssRNS) genommal rendelkeznek. A +ssRNS vírusok esetében a genom mRNS-ként működik, így a transzlációhoz nincs szükség transzkripcióra. A +ssRNS vírusok azonban a genom pozitív szálú másolatait is előállítják egy köztes dsRNS genom negatív szálaiból. Ez transzkripció és replikációs folyamatként is működik, mivel a replikált RNS egyben mRNS is. A koronavírusok továbbá a Betacoronavirus nemzetség és a Coronaviridae család tagjai (32).

2.2. Humán mikrobiom

Ma már egyértelmű, hogy a humán mikrobiom jelentős hatással van az emberi szervezetre, és egyre növekvő mennyiségű ismerettel rendelkezünk ezen a területen. A baktériumok nagy számban megtalálhatók a tápcsatornában, a bőr felületén és testnyílásainkban is. A humán mikrobiom testen való eloszlását a **(2. ábra)** mutatja be (17). Az utóbbi években a tápcsatornát lakó baktériumok, főleg a bélflóra hatásainak kutatásába óriási erőforrásokat fektettek. A mikrobiom az emberi testben és testen élő szimbióta, patogén és kommenzalista mikroorganizmusok alkotta ökológiai rendszer, a mikrobák (mikrobioták) összessége (24).



2. ábra:

A humán mikrobiom testfelületeken és testen való előfordulása

A mikrobiom legnagyobb mennyiségben és diverzitásban a gasztrointesztinális rendszerben található, emellett a hajon, a szájnyílás környékén, az orrlyukban és környékén, valamint a bőrfelületen, a nemi szervek környékén is nagy mennyiségben megtalálható. Az ábrán a különböző területeken megtalálható Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Fusobacteria és egyéb baktériumok eloszlása látható (Cho és Blaser 2012 (17)– ábrája alapján, átdolgozva <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3418802/>)

Jelen disszertációm további fejezeteiben a gasztrointesztinális mikrobiom szervezetre gyakorolt hatását részletezem. A humán tápcsatornát benépesítő baktériumok, a humán mikrobiom jelenlétéről már régóta rendelkezünk ismeretekkel. A szájban, a gyomorban és a bélrendszerben egyaránt megtalálhatóak, azonban legnagyobb számban a belekben vannak jelen. Ezen témakör alaposabb vizsgálata a molekuláris technológiák térnyerésével került a tudományos érdeklődés előterébe. 2007-ben a NIH (National Institutes of Health) támogatásával indult el a Humán Mikrobiom Project, hogy többet megtudjunk a humán mikrobiomról és választ kapjunk arra a kérdésre, hogy van-e lehetőség a mikrobiomon keresztül az egészség befolyásolására és a betegségek

kialakulásának megértésére. A becslések szerint az emberben és az emberi testen élő mikroorganizmusok (mikrobiota) száma tízszeresen haladja meg az emberi szomatikus és csírasejtek számát. Ezeknek a mikrobiális szimbiontákknak (együttesen mikrobiomnak nevezzük) genomja együtt olyan tulajdonságokat biztosít, amelyeket az emberekben nem kellett, hogy maguktól kifejlődjenek (42).

A gasztrointesztinális (GI) traktust nézve a mikrobiom jelentős hatást gyakorol a különböző betegségek kialakulására és az emberi egészségre. A GI traktusban található baktériumoknak aktív szerepük van az élelmiszerek emésztésében, vitaminok termelésében, az immunrendszer szabályozásában és a kórokozók elleni védelemben (36).

Az egészséges egyensúly fenntartása érdekében fontos, hogy a baktériumok sokfélesége és összetétele megfelelő legyen. A baktériumok közötti egyensúly felbomlása, amit diszbiózisnak nevezünk, számos betegséghez kapcsolódik, mint például gyulladásos bélbetegségek, irritábilis bél szindróma, elhízás és cukorbetegség. Ezen betegségek kialakulásában a genetikai hajlam mellett a táplálkozás, a gyógyszerek (például antibiotikumok) és egyéb környezeti tényezők is szerepet játszhatnak. A humán mikrobiom és annak hatása a gasztrointesztinális traktusra való részletesebb megértéséhez számos kutatás folyik. A modern molekuláris technológiák, például a metagenomika, a mikrobiom szerkezetének és funkciójának feltárását teszik lehetővé. Ez a kutatási terület új lehetőségeket nyit az egészségfejlesztés és a betegségmegelőzés terén (37).

A gasztrointesztinális mikrobiom egyéb potenciális területei közé tartozik a bakteriális fertőzések kezelése. Például a *Clostridium difficile* fertőzés kezelése során a székletmikrobiom-transzplantációs módszert alkalmazzák, amely során egészséges mikrobiommal rendelkező személyek székletének transzplantációját végzik el a beteg tüneteinek enyhítése érdekében. Ezen módszer hatása meglepően hatékony, és további kutatásokat igényel ahhoz, hogy mélyebb megértést kapjunk azokról a mikrobiom tulajdonságokról, melyek felelősek a gyógyító hatásért (61).

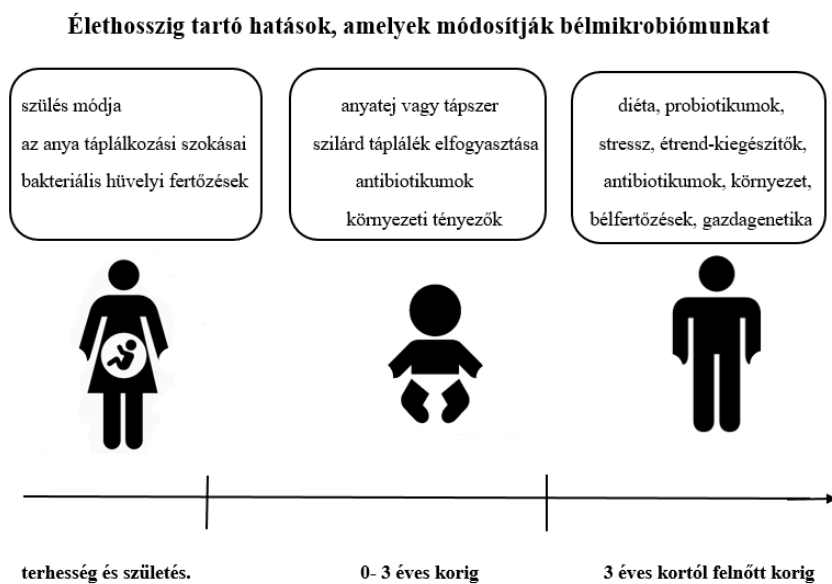
A gasztrointesztinális mikrobiom és az emberi egészség közötti kapcsolat egyre inkább felkerül a kutatási és orvosi elemzések figyelmébe. Az adatok és ismeretek

gyarapodása lehetőséget ad az egészségfejlesztéssel és betegségek elleni küzdelemmel foglalkozó területek számára. A baktériumok és az ember közötti szimbiotikus kapcsolatot kihasználva remélhetőleg új diagnosztikai és terápiás megközelítéseket találhatunk a betegségek kezelésére és megelőzésére. Az emberi mikrobiom további részleteinek feltárása és megértése kulcsfontosságú a jövőbeni egészségügyi gyakorlatban. A gasztrointesztinális mikrobiom kutatása és annak hatásainak megértése segíthet az egészségügyi ellátásban, a betegségek diagnosztizálásában és a hatékonyabb terápiás megoldások kifejlesztésében (44).

2.2.1. A humán bélmikrobiom kialakulása

A bélflóra kialakulása a születéskor kezdődik, ilyenkor a bélnyálkahártya csíraszegény. Születést követően az újszülött emésztőrendszere gyorsan benépesedik mikroorganizmusokkal. Ezeket a mikroorganizmusokat az anyával, levegővel, környezettel stb. történő érintkezés során kapja meg a csecsemő. A szülés típusa is meghatározza, hogy milyen lesz az újszülött mikrobiom diverzitása. Abban az esetben, ha hüvelyi úton jön a világra, akkor az anya hüvelyflórája, ha császármetszés útján születik, akkor pedig az anya hasfalán található mikrobiom határozza meg az összetételét. Az első pár hónapban a környezetnek nagy szerepe van, hiszen a levegővétellel, a környezetben található tárgyak érintésével és szájbavételével, tovább alakul a diverz bélmikrobiom (22, 79). Ezen időszak alatt az újszülött szervezete fokozatosan alakítja ki a saját bélflóráját, amelynek összetétele egyedi és változatos lehet. A bélmikrobiomnak fontos szerepe van az emésztésben, a tápanyagok felszívódásában, valamint az immunrendszer normális működésében. Az anyatejes táplálás további befolyással van az újszülött bélflórájának kialakulására. Az anyatejben található prebiotikumok, probiotikumok és immunanyagok segítik a hasznos baktériumok csíraszámának növekedését, és hozzájárulnak a bélmikrobiom egészséges és kiegyensúlyozott állapotához. Az első pár hónapban a bélflóra diverzitásának növekedése főként az anyával való közvetlen érintkezésen, a bőrrel és a szájjal történő érintkezésen, valamint a környezeti tényezőkön alapul. A megfelelő higiéniai gyakorlatok és a tiszta környezet segítik a kedvező baktériumok elterjedését, és csökkentik a kórokozók bejutásának kockázatát. Az egészséges bélflóra kialakulása és fenntartása számos előnyt nyújt a

betegségek elleni védelemben, az emésztés javításában és a tápanyagok felszívódásának optimalizálásában. Ennek érdekében fontos a megfelelő táplálkozás, a baktériumokat tartalmazó ételek fogyasztása, valamint az egészséges életmód és higiéniai szokások betartása. A bélmikrobiom élethosszig tartó befolyásoló tényezőket a **3. ábra** mutatja be (80).



3. ábra:

Élethosszig tartó hatások, amelyek befolyásolják a gasztrointesztinális mikrobiom összetételét

Az anya terhesség alatti életvitele, hüvelyflóra állapota, valamint a szülés módja nagyban meghatározza az újszülött mikrobiomjának diverzitását. Az első három hónapban az anyatej, illetve a tápszer, táplálék elfogyasztásának módja, a környezeti tényezők, valamint a különböző antibiotikumok megjelenése lesz a meghatározó tényező. Az ezt követő időszakban a legmeghatározóbb a mikrobiom összetettsége szempontjából a diéta, stressz, különböző környezeti tényezők, valamint az egyén genetikája.

2.2.2. A humán bélmikrobiom összetételét befolyásoló tényezők

A gasztrointesztinális traktusunkban élő mikrobák egy dinamikus közösséget alkotnak, amely az egyén élete során változik. A csecsemő- és gyermekkor korai éveit a megfigyelt gyors és drámai ingadozások miatt kaotikusnak minősített mikrobiális állapot jellemzi. Míg a kisgyermek mikrobiotája már nagyon korán kezd hasonlítani a felnőttekére, kevés olyan tanulmány létezik, amely a csecsemőkoron túli gyermekek időbeli mikrobióta-közösség-eltolódásait vizsgálja, így mikrobiótájuk stabilitása nem ismert. A stabil táplálkozási minták kialakulása után a felnőttek mikrobiotája viszonylag változatlan marad; azonban a jelentős súlyváltozások nagyobb mértékű mikrobiális instabilitással járnak. Végül az öregedéssel kapcsolatos tényezők, köztük a fokozott gyógyszerhasználat és az étrend változásai valószínűleg fontos szerepet játszanak az idős emberek mikrobaközösségeinek kialakításában. A fizikai aktivitás és a hormonszint változásai szintén fontos meghatározói lehetnek az idős emberek mikrobiomjának, de ezeket még nem vizsgálták kellő alaposítással. Egyes bizonyítékok arra utalnak, hogy az egészséges idős egyének mikrobiális közösségei hasonlóak a fiatalabb felnőttekéhez, de nem ismert, hogy az egyén egészsége hozzájárul-e a mikrobiális stabilitáshoz vagy fordítva. A jelenlegi adatok azt sugallják, hogy a diéta fontos hajtóerő a bélmikrobiom fejlődésében, és a betegségek megelőzésének terápiás beavatkozásának eszköze lehet. A bélmikrobiom összetételét és funkcióját, valamint a betegségek kialakulását összekapcsoló tanulmányok minden bizonnyal rávilágítanak az időbeli mikrobiom dinamikájának és előrejelzőinek jobb megértésére. Az már ismert, hogy az életkor, a testedzés és a táplálkozás önmagában és együtt is megváltoztathatja a mikrobiomot. Azt is tudjuk, hogy a mikrobiom az anyagcsere-folyamatokon keresztül direkt módon befolyásolja az elhízást is, de az alapvető szabályozási útvonalak még nem ismertek (79).

További vizsgálatok feltártak egy baktériumtörzset, amelyet maratonfutóknál fedeztek fel, és amely kapcsolatban áll a jobb teljesítőképességgel és az immunrendszer optimálisan szabályozott működésével (55).

2.2.3. A humán bélmikrobiom szervezetre gyakorolt általános hatásai

Az immunrendszer indukciója és harmonikus működése kulcsfontosságú szerepet játszik a bélmikrobiom jellemzésében, amelynek létfontosságú szerepe van a 2019-es koronavírus-betegség megértését célzó tanulmányokban. Ha egészséges és fajgazdag mikrobiom található a bélben, az segíthet az immunrendszernek hatékonyabban működni (74).

Testünk bélbaktérium-összetétele nagyon plasztikus, és megváltozása kapcsolatba hozható különféle betegségekkel is. Azok az egyének, akiknek bélflórája kiegyensúlyozatlan vagy hiányos, nagyobb eséllyel szenvednek emésztési problémáktól, immunrendszeri rendellenességektől és akár krónikus betegségektől is. Az egészséges bélflóra felépítése és megőrzése ezért kulcsfontosságú a jó egészség fenntartásában (50).

A mikrobiom friss kutatások szerint kommunikációs kapcsolatban van több szervvel, többek között az aggyal (52) is. Az agy a vegetatív idegrendszeri vezérlés révén befolyásolhatja a bél motilitását, a véráramlást, az immunrendszert, a szabályzó hormonok termelődését, a lelki és fizikai stressz szintet egyaránt (47), a mikrobiom pedig lokális hatások révén (bélmotilitás serkentés) vagy jelátviteli tulajdonságokkal rendelkező molekulák termelésével (butirát) hat a szervezetre.

Az idegrendszeri szabályozó hatások közé tartozik többek között a szorongás szintjének befolyásolása, az alvásminőség javítása vagy rontása és akár a hangulat stabilizálása. Az immunrendszeri hatások körébe a szervezet ellenálló képességének erősítése és a betegségekkel szembeni védekezés javítása tartozik. Az anyagcsere és hormonális működésre gyakorolt hatások közé a testsúly szabályozása, a vérnyomás szabályozása és az anyagcsere folyamatok optimalizálása tartozik (44).

A sokszínű, diverz mikrobiom összefüggésben van a jó szív- és keringési rendszeri fittséggel is, valamint leírták, hogy a magas oxigénfelvétellel rendelkező egyének bélbaktériumai több butirátot termelnek, amelyek rövid szénláncú zsírsavak és az immunrendszer kedvező működésében is szerepet játszanak (6).

A COVID-19-ben szenvedő betegek egy részénél az elhúzódó diszbiózis és az instabil bélmikrobiom 12 napig fennmaradt a SARS-CoV-2 következtében. További tanulmányokra van szükség annak megállapításához, hogy a bélbaktériumok változásai hozzájárulnak-e a SARS-CoV-2 fertőzés súlyosságához vagy ezek a változások a fertőzés következményei (90).

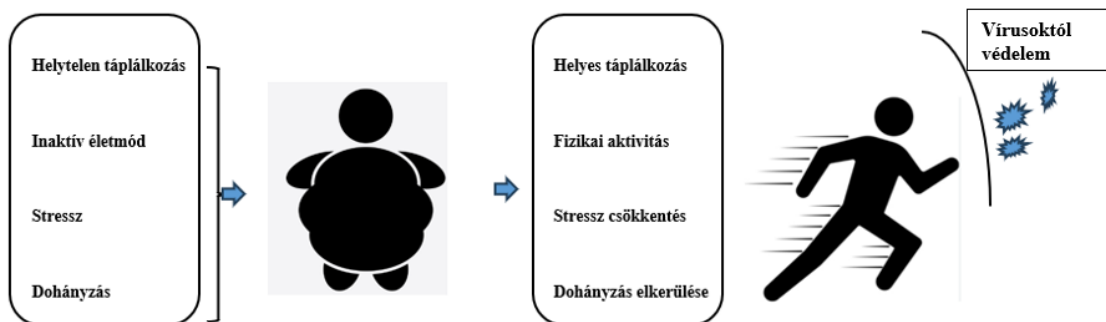
2.3. Fizikai aktivitás

Az általános hipotézis az, hogy a rendszeres testmozgás csökkenti az elhízás esélyét, javítja az inzulinérzékenységet és a stressztűrést, valamint erősíti az immunrendszer képességeit (21, 27). A rendszeres fizikai aktivitás mind akut, mind krónikus formában jelentősen megváltoztatja az immunrendszert (49, 57).

Az egészséges életmód egyik fő összetevője a fizikai aktivitás. A szisztémás gyulladások, az elhízás és a krónikus nem fertőző betegségek megelőzésével kapcsolatos funkciókon túlmenően a testmozgás potenciális előnye a fertőző betegségek, mint például a vírusos fertőzések kialakulásának csökkentése (21). Tanulmányok bebizonyították, hogy a testmozgással kapcsolatos immunválasz modulációja olyan tényezőktől függ, mint a fizikai aktivitás rendszeressége, időtartama, intenzitása és típusa (21, 54). A közepes intenzitású fizikai gyakorlatok serkentik a sejtes immunitást, míg a hosszan tartó vagy nagy intenzitású gyakorlatok megfelelő pihenés nélkül a sejtes immunitás csökkenését válthatják ki, növelve a fertőző betegségekre való hajlamot (49, 57). Az International Society for Exercise and Immunology (ISEI) szerint az immunrendszer diszfunkciója hosszantartó fizikai terhelés után következik be, azaz 90 perces közepes és nagy intenzitású testmozgás után (51). Hasonlóképpen a COVID-19 világjárvány esetében is számos kutatás vizsgálta a testmozgás által befolyásolt immunrendszer válaszát a betegségre. A legsúlyosabb tünetekkel küzdők profiljának ellenőrzésével nyilvánvalóvá válik, hogy az elhízás, a cukorbetegség vagy a fizikai inaktivitás jelentősen rontja a betegek gyógyulási esélyét (48).

A testmozgás mellett az étrend, a mentális stressz szint, az elhízás és a dohányzás negatív hatással van a vírusfertőzött beteg felépülési esélyére (**4. ábra**) (28). Bár a magasabb szintű fizikai erőnlét vagy a rendszeres fizikai aktivitás nem tudja

megakadályozni a Sars-Cov-2 vírussal való megfertőződést, egyes jelentések szerint a rendszeres testmozgás csökkenti a COVID-19-ben szenvedő betegek halálozási arányát, és csökkentheti a betegség lefolyásának súlyosságát (30, 68).



4. ábra:

COVID-19 által érintett szív- és érrendszeri betegségek előfordulását befolyásoló tényezők.

A megfelelő étrend, a rendszeres testmozgás, az alacsony stresszszint és a dohányzás elkerülése növelheti a szervezet különböző vírusokkal és kórokozókkal szembeni ellenállóképességét (Faghy és mtsai 2023 (68),

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36907378/> módosított ábra).

A rendszeres testmozgás összetett szabályozásokon keresztül hat az immunrendszerre, ami magában foglalja a pro- és gyulladásgátló citokin- és neopterintermelés megfelelő szabályozását (54). Azt is kimutatták, hogy az anyagcsere edzés által kiváltott modulálása megváltoztatja a makrofágok gyulladásos reakcióit, és a modulációban az energiaérzékelő 5'-adenozin-monofoszfát-aktivált protein kináz (AMPK) is szerepet játszhat. Az AMPK vagyis az 5' adenzin-monofoszfát által aktivált protein kináz egy olyan enzim, amely a sejtenergia homeosztázisában, nagyrészt a glükóz és zsírsav felhasználásban és oxidációjának aktiválásában játszik kulcsfontosságú szerepet alacsony sejtenergia szint esetén (49).

A Sirtuin 1 (SIRT1), amelynek aktivitása és tartalma könnyen reagál az edzésre (51), több immunsejt típusban elősegíti a gyulladáscsökkentő hatásokat. A metabolitok, amelyek a fehérjék, szénhidrátok és zsírok katabolikus folyamatainak termékei, részt vesznek az immunvédelemben, valamint az akut fázisú válaszokban, és kiegészítik a keringő immunglobulinok által közvetített humorális válaszok aktiválását (85).

A gyomor-bélrendszeri mikrobiom az emberi immunrendszer fontos része, és ezáltal a mikrobiom szerepet játszik a COVID-19-ben szenvedők tüneteinek súlyosságában (10, 46, 78, 85). Mind az akut, mind a rendszeres testmozgás hatással van a gyomor-bélrendszer mikrobiom összetételére (3, 12, 34, 64, 69).

Beszámoltak arról, hogy a gyógyult COVID-19-betegek bélmikrobiom összetétele eltér az általános populációtól, mind a törzs, mind a nemzetség szintjén, amelyet a Firmicutes és Actinobacteriumok alacsonyabb aránya, valamint a Bacteroidetes és Proteobacteriumok magasabb aránya jellemzett (41).

A COVID-19 súlyossága és a testmozgás következtében megváltozott mikrobiom közötti lehetséges kapcsolat azonban nem ismert. Ebből kiindulva széketmintákat gyűjtöttünk versenyző sportolóktól és hasonló életkorú ülő munkát folytató alanyoktól a COVID-19 fertőzés alatt és három héttel azt követően, hogy negatív PCR teszttel rendelkeztek, vagyis gyógyult állapotban voltak. Megvizsgáltuk, hogy a gasztrointesztinális mikrobiom edzés által kiváltott változásai összefüggésben állnak-e a COVID-19 fertőzésre adott eltérő válaszokkal (5).

3. Célkitűzések és korlátozó tényezők

3.1. A vizsgálat célja

A korábban említett kutatásokra hivatkozva és azokon túlmutatva szeretnénk bemutatni a vírusfertőzés és a rendszeres testedzés mikrobiomra gyakorolt hatását. A vírussal fertőzött személyek közül az étrend, a táplálkozás, az életkor, a nem, az egészségi állapot, az életmód és a környezeti tényezők nagy mértékben befolyásolják a koronavírus-fertőzés lefolyását, az enyhe tünetektől egészen a halálig. Az esetleges táplálkozási, életmódbeli és környezeti kockázatok körültekintő vizsgálata és a megfelelő kockázatkezelési stratégiák kialakítása a koronavírus-járvány kezelésének fontos része. Doktori disszertációmban foglalt vizsgálatok célja, hogy választ kapjunk arra a kérdésre, hogy a sportolók és nem sportolók mikrobiomja szerepet játszik-e abban, hogy az edzett szervezet miként esik át a koronavírus fertőzésen, illetve az edzettségi/fittségi, illetve egészségi mutatók statisztikai kapcsolatban állnak-e a mikrobiom összetételével. A mikrobiom vizsgálat eredményei fontosak lehetnek az egyéni immunválasz megértésében, sőt később az immunválasz hatékonyságának javításában, vagy az egyéni terhelhetőség testre szabásában is.

Korábbi kutatásokat alapul véve, feltételezésünk szerint az edzett emberek mikrobiomja el fog térni az edzetlen résztvevők mikrobiomjától, valamint a gyógyult alanyok bélmikrobiom-összetétele el fog térni a betegség kezdetekor vett mikrobiom minta összetételétől. További feltételezésünk szerint a mikrobiom szerepet játszik abban, hogy az edzett szervezet könnyebben esik-e át a COVID-19 betegségen (5).

Egy másik kutatáson belül, mely disszertációm részét képezi és egy keresztmetszeti vizsgálat, arra a kérdésre kerestünk választ, hogy az első kutatásban megfogalmazott nominális „edzett”, illetve „edzetlen” kategóriákat jellemző mikrobiológiai státusz tovább finomítható-e valamely fittségi vagy egészségi marker mentén. A különböző sportolók ugyanis sokszor eltérő fittségi mutatókkal rendelkeznek, így feltételezhető, hogy a mikrobiológiai összetétel is ezen mutatók mentén mutat kapcsolatokat (70).

Jelen vizsgálatot azon hipotézis tesztelésére terveztük, a hosszmetzeti és keresztmetzeti vizsgálat alapján, miszerint:

Hosszmetszeti vizsgálat:

1. Feltételezzük, hogy a hosszmetzeti mintán az edzett emberek bélmikrobiom-összetétele el fog térni az edzetlen résztvevők bélmikrobiom összetételétől (5).
2. Feltételezzük, hogy a hosszmetzeti mintán a gyógyult alanyok bélmikrobiom-összetétele el fog térni a betegség kezdetekor vett mikrobiom összetételétől (5).
3. Feltételezzük, hogy a hosszmetzeti mintán a mikrobiom szerepet játszik abban, hogy az edzett szervezet könnyebben esik-e át a COVID-19 víruson (5).

Kereszmetzeti vizsgálat:

4. Feltételezzük, hogy kereszmetzeti mintán a fittségi és egészségi mutatók szignifikáns kapcsolatban állnak a bélmikrobiom különböző baktériumtaxonjainak abundanciájával (70).

3.2. Korlátozó tényezők

Vizsgálataink során számolnunk kellett néhány limitáló tényezővel, amelyek a vizsgálati lehetőségeinkből adódtak, s amelyek reményeink szerint nem korlátozzák jelentősen az adatokból történő következtetések levonását, de mindenképp óvatosabb becslésekre intenek.

A folyamatos járványügyi szabályozások bevezetése, valamint a szabályozások megváltoztatása miatt sokszor a minták begyűjtése nehézségeket okozott a hosszmetzeti vizsgálat során. Az elsődleges szempont a kutatás során az egészség megőrzése volt. Bizonyos esetekben a betegség súlyosságának drasztikus romlása a mintavétel későbbi időpontra való áthelyezését eredményezte, valamint a táplálkozási szokások megváltozását és ezzel a mikrobiom összetételének esetleges megváltozását vonta maga után.

A világvjárvány kitörését követően korábbi kutatási témámat nem tudtam folytatni. Témavezetőm Dr. Radák Zsolt javaslatára a pandémia ihlette új kutatási téma felé vettük

az irányt. A gyors témaváltoztatás és a járvány körüli bizonytalanság számos kockázati tényezőt hordozott magában, amelyeket bízom benne, hogy sikerült limitálnunk.

4. Anyagok és módszerek

Disszertációm alapját egy hosszmetzeti és egy keresztmetzeti mintagyűjtés és adatrögzítés képezte (5,70):

4.1. A COVID-19 betegségen átesett hosszmetzeti vizsgálat alanyai

A kutatást a helyi etikai bizottság hagyta jóvá (TE-KEB/30/2020), és a Helsinkii Nyilatkozat szerint végeztük. Résztvevők toborzása online meghirdetve történt, valamint több sportági szakszövetséggel egyeztetve. Az alanyok önkéntes módon jelentkeztek a vizsgálatra pozitív COVID-19 PCR-teszt birtokában. Elolvasták és aláírták a vizsgálat tájékoztatóját és beleegyező nyilatkozatát. A hosszmetzeti vizsgálatban húsz aktív, versenyző atlétát vizsgáltunk, akik a hazai nemzeti bajnokság első és második osztályában versenyeztek (16 férfi és 4 nő), $24,15 \pm 4,7$ év volt az életkoruk, valamint 20 ülő életmódot folytató, nem sportoló alanyt (15 férfi és 5 nő), akiknek $27,75 \pm 7,5$ év volt az életkoruk. Mindkét csoport minden tagját COVID-19-re pozitív PCR-teszttel diagnosztizálták. A jelen vizsgálat idején Magyarországon a fertőzés jelentős részét a COVID-19 vírus B.1.1.7 variánsa okozta, amelyet először Délkelet-Angliában szekvenáltak, és α variánsnak neveztek.

A sportoló és ülő munkát folytató kategóriába való besorolás a heti edzésszám alapján, valamint a saját sportág hazai osztályának szintje alapján történt. Éltsportoló csoportba azok kerültek, akik az adott sportág első vagy másodosztályában sportoltak. Nem sportoló csoportba pedig azok, akik nem sportoltak (heti edzésóraszámuk nem haladja meg a 2,5 órát, WHO: Physical Activity and Adults meghatározása alapján). Mindkét csoportba tartozó alanyokat felkértük, hogy adjanak információt testmozgási és táplálkozási szokásaikról, valamint a tapasztalt COVID-19 tüneteik súlyosságáról.

A 4 tüneti csoport a következő volt:

- 1. csoport: Molekuláris biológiai módszerekkel (PCR) igazolt COVID-19 fertőzés, de tünetek (pl.: láz, száraz köhögés, torokfájás, fejfájás, izomfájdalom, szaglász/ízlelés elvesztése, kötőhártya-gyulladás, bőrkiütés, rossz közérzet,

fáradékonyság, hányinger, hányás, hasmenés, légzési nehézség, mellkastáji nyomás/fájdalom) nincsenek;

- 2. csoport: Enyhén súlyos betegség, COVID-19-re jellemző tünetek megjelenése. Légzési nehezítettség, légzési tünetek nem tapasztalhatók, és képalkotó vizsgálattal (pl.: CT vizsgálat) sem mutatható ki eltérés az egészségeshez képest (láz, száraz köhögés, torokfájás, fejfájás, izomfájdalom, szaglás/ízlelés elvesztése, rossz közérzet, fáradékonyság, hányinger, hányás, hasmenés, kötőhártyagyulladás, bőrkiütés);
- 3. csoport: Közepesen súlyos betegség, alsó légúti betegség bizonyítéka a klinikai értékelés során. Jellemzők a légzési tünetek, légzési nehezítettség, mellkastáji nyomás/fájdalom, de az oxigénszaturáció >94% vagy annál magasabb;
- 4. csoport: Súlyos betegség, oxigénszaturáció 94% alatt van, valamint magas láz; kritikus betegség, amely orvosi kezelést igényel a szervek működésének fenntartásához.

A 3-as és 4-es csoportba eleinte senki nem került, viszont a vizsgálat közben 2 fő sportoló kórházi kezelést igényelt. Kétoldali tüdőembóliát diagnosztizáltak náluk, őket a vizsgálat közben áthelyeztük a 4-es csoportba.

Táplálkozási kérdőív kitöltése az első és a második mintavételkor is történt. Első mintavételkor az első mintavételt megelőző 1 hónap táplálkozási szokásaira kérdeztünk rá, a második táplálkozási kérdőívben pedig a 2 mintavétel közötti időszak táplálkozási szokásaira voltunk kíváncsiak, hiszen a mikrobiom összetételét a testmozgás, az életkor és számos tényező mellett a táplálkozás is nagy mértékben befolyásolja. Food Frequency Questionnaires (FFQ) kérdőívet alkalmaztunk, hazánk táplálkozási szokásaihoz igazítva. A kérdőívben diszkrét skálán gyakorisági változókra kérdeztünk rá.

Az átlagos heti edzésidő $14,4 \pm 6,2$ óra volt az edzett csoportban és $1,2 \pm 0,9$ óra az edzetlen csoportban. Valamennyi fertőzött alany otthoni karanténban maradt, és a National Institutes of Health (USA) által javasolt skála alapján értékelte fertőzésének súlyosságát. A vizsgálatból kizártuk azokat az alanyokat, akik a betegség alatt hasmenésben, autoimmun betegségekben, asztmában, szív- és érrendszeri betegségekben, anyagcsere-betegségekben és neurodegeneratív betegségekben szenvedtek. Továbbá

kizáró ok volt a vizsgálat alatt antibiotikus kezelés, illetve a táplálkozási szokások drasztikus megváltozása, amelyek nagy mértékben befolyásolják a mikrobiom összetételét. A kutatás kezdeténél senki nem részesült antibiotikus kezelésben, később 3 fő részesült, akik adatait külön szemléltettük.

1. táblázat

Az edzett és ülő foglalkozást folytató csoport résztvevőinek alapadatai

	Edzett	Edzetlen
Nem, n (férfi / nő)	16 / 4	15 / 5
Kor. évek	24.15 ± 4.7	27.7 ± 7.5
Magasság, cm	183.9 ± 10.3	175.5 ± 10.7
Testsúly, kg	83.9 ± 17.3	72.8 ± 12.7
Fizikai aktivitás/ hét	14.4 ± 6.2	1.2 ± 0.9
Dohányzás, n	3	2
Tüneti csoport, n		
<i>Tünetmentes (1.)</i>	3	7
<i>Enyhén súlyos tünetek (2.)</i>	15	13
<i>Közepesen súlyos tünetek (3.)</i>	0	0
<i>Súlyos tünetek (4.)</i>	2	0
Betegség időtartama, n		
<i>1-5 nap (1)</i>	10	9
<i>5-14 nap (2)</i>	10	10
<i>Több, mint 14 nap (3)</i>	0	1
Antibiotikus kezelés, n	1	2

Edzett csoportban 16 férfi és 4 nő, edzetlen csoportban 15 férfi és 5 nő vett részt a hosszmetzeti kutatásban. Az edzett csoport átlagéletkora 24.1 ± 4.7, az edzetlen csoport átlagéletkora pedig 27.7 ± 7.5 év volt. Az edzett csoport átlag testmagassága 183.9 ± 10.3 cm, testsúlya 83.9 ± 17.3 kg, az ülő munkát végző csoport átlag testmagassága 175.5 ±

10.7 cm, testsúlya 72.8 ± 12.7 kg volt. Fizikai aktivitást tekintve a sportoló csoport heti 14.4 ± 6.2 órát edzett, az ülő munkát végző csoport pedig heti 1.2 ± 0.9 órát. Az első csoportban 3 fő, a második csoportban 2 fő dohányzott. Tüneteket tekintve enyhén súlyos tünetek (2-es tüneti csoport) voltak a legtöbb résztvevőnél észlelhetők, az edzett csoportnál 15 főnél, az edzetlen csoportnál 13 főnél. A betegség 1-5 napig tartott 10 fő edzett és 9 fő edzetlen résztvevőnél, 5-14 napig 10 fő edzett és 10 fő edzetlen alanyánál és 1 főnél tartott több mint 14 napig a betegség, továbbá 3 fő kényszerült antibiotikus kezelésre a kutatás során.

4.1.1. Székletmintavétel a hosszmetzeti vizsgálat során

A bélmikrobiom összetételét székletmintából határoztuk meg 16S rRNS DNS szekvencia analízis segítségével.

A székletmintákat két-három nappal a COVID-19 PCR-teszttel történő diagnosztizálás után, és három héttel a negatív COVID-19 PCR-teszt után gyűjtöttük. Az alanyok maguk végezték otthonukban a székletmintavételt. A gyűjtést követő egy órán belül felvettük a mintát, majd -80 Celsius-fokon tároltuk az elemzésig. A DNS-kivonáshoz 100 mg-os székletmintákat használtunk. A székletminta begyűjtése során gondoskodtunk a megfelelő védőruházatról és a kontaktus elkerüléséről, az adott járványhelyzeti korlátozások betartása mellett.

Telefonos, illetve internetes egyeztetés után a megfelelő védőfelszerelésben eljuttattuk a széklettartályt, valamint a kutatási tájékoztatót és a beleegyező nyilatkozatot a karantén helyszínére. Leraktuk a bejárat elé, és amikor távoztunk, a vizsgálati személy átvette azt. A vizsgálati személyek megfelelő védőfelszerelésben írták alá a dokumentumokat. A folyamatot maszkban, kesztyűben végeztük mi is és minden mintavétel után fertőtlenítettük a tároló dobozt és a kezünket is. A székletmintát minden résztvevő maga rakta a tárolóba, melynek menetét előzetesen telefonon egyeztettük és amely folyamata a következő volt:

1. Mintavételre csak a frissen ürített széklet alkalmas.
2. Mintavétel során a mintát úgy kell venni, hogy a környezettel ne érintkezzen!

3. A fehér tartályt – hogy minden vizsgálatra elég legyen – a kupakon található kanállal legalább félig, de legfeljebb kétharmadig kell megtölteni, majd a kanalas kupakot visszacsavarni.
4. Mintavétel során a székletnek nem szabad érintkeznie vízzel vagy vizelettel.
5. A mintavételt kesztyűben kell végezni.

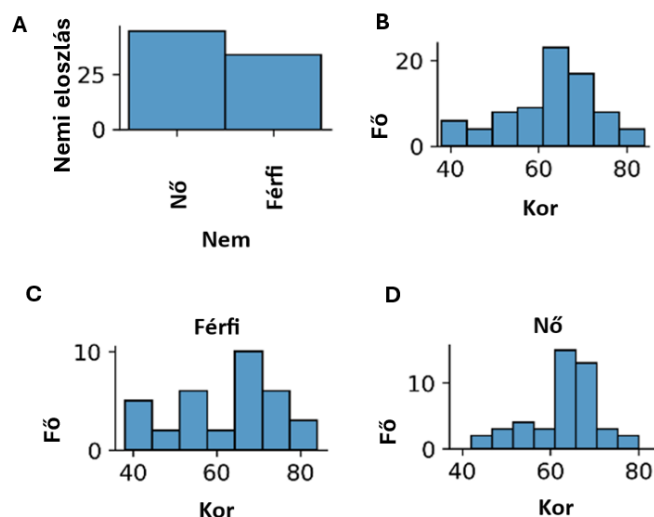
Amint megtörtént a minta tartályba helyezése, felvettük a jelentkezőkkel a kapcsolatot, és a házi karantén ajtaja elé egy szárazjeget tartalmazó dobozt helyeztünk. Távozásunk után a dobozba helyezték a mintát és értesítettek, hogy mehetünk érte. Amint ez megtörtént legfeljebb 24 órán belül a vizsgáló laborba vittük a mintákat, ahol a megfelelő járványügyi intézkedések betartásával elvégeztük az elemzést.

A 2. székletminta vétele a két hét házi karantén elteltétől számított 3 hét után történt a fent említett módon.

4.2. A keresztmetszeti vizsgálatban résztvevő veterán sportolók leírása, a fittségi és az egészségi státusz indikátorok felvétele

A keresztmetszeti vizsgálat alanyai a 2019-es velencei World Rowing Masters Regatta résztvevői közül kerültek ki, és a 25167-6/2019/EÜIG nyilvántartási számú engedély tette lehetővé megvalósulását. A mintagyűjtés folyamata a hosszmetzeti vizsgálattal megegyező módon történt, a járványhelyzeti protokollt leszámítva.

Összesen 80 önkéntes szolgáltatott mintát. A mintaadók kora 38-84 éves kor között mozgott, melyből 33 férfi, valamint 47 nő volt. Átlagéletkoruk $62,9 \pm 9,65$ év volt (férfiak átlagéletkora $63,1 \pm 11,25$, nők átlagéletkora $62,9 \pm 8,48$ év). A vizsgálati alanyok koreloszlását az **5. ábra** mutatja be.



5. ábra:

A keresztmetszeti vizsgálatban résztvevő veterán sportolók koreloszlása

A vizsgálatban 80 fő vett részt, akik közül 47 női alany és 33 férfi alany volt. A nemek arányát az első diagram ábrázolja. A résztvevők átlagéletkora $62,9 \pm 9,65$ év volt, amit az ábra 2. Kor elnevezésű diagramja mutat. A férfiak átlagéletkora $63,1 \pm 11,25$ év, míg a nők átlagéletkora $62,9 \pm 8,48$ év volt. Az A panel a nemi eloszlást, a B panel a kor eloszlást férfiakat és nőket egybevéve, a C panel a férfiak koreloszlását, a D panel pedig a nők koreloszlását mutatja.

Ezen vizsgálatban arra voltunk kíváncsiak, hogy a mikrobiom összetétele kapcsolatban áll-e fitességi mutatókkal, illetve a szervezet egészségi státuszát indikáló markerekkel.

4.2.1. Székletmintavétel a keresztmetszeti vizsgálat során

A keresztmetszeti vizsgálat során a székletmintavétel a hosszmetzeti vizsgálatához hasonló tárolóegységben történt. A fitességi mérésekre érkezve minden résztvevő hozta a mintát, amit az elemzésig anoním módon -80 Celsius-fokon tároltunk.

4.2.2. Fittségi mutatók

A maximális relatív aerob kapacitás (VO_{2max}) becslésére a Chester step tesztet alkalmaztuk (11), mely nagy pontossággal és kiváló teszt-újratesztelési pontossággal rendelkezik (8). A felmérés lényege, hogy a vizsgálati személy szívfrekvenciáját mellkaspántos eszközzel monitorozzuk, miközben egy metronóm által generált frekvenciával egy 15 cm magas dobogóra lépked. A teszt során a metronóm frekvenciája 2 percenként növekszik, és a kétperces intervallumok után a pulzusérték rögzítésre kerül. A vizsgálati személy addig folytatja a tesztet, amíg i) képes tartani a metronóm ritmusát, ii) fáradtsági szintje 10-es skálán nem haladja meg a 8-as értéket vagy iii) a munkapulzusának nem haladja meg a becsült maximális pulzusának 80%-át. Vizsgálatunkban a Tanaka-féle pulzusbecslési eljárást alkalmaztuk, ami során 208-ból kivonjuk az alany életkorának 0,7-es szorzatát (67). A pulzus felfutásának meredekségéből és a becsült maximális pulzusból normogramm segítségével becsültük a VO_{2max} értéket.

A test összerezjét, a jól indikáló kézszorítóerőt marokdinamométerrel mértük (modell: EH101). A vizsgálati személy domináns végtagjával 3-szor próbálkozhatott és az analízisünkbe a legjobb produkált értéket vontuk be.

Az alsó végtag robbanékony erejét maximális térdhajlításos vertikális felugrási tesztel mértük linear encoder segítségével. Az alanyoknak képzett sportszakember demonstrálta a helyes kivitelezési formát, majd a forma kivitelezéstől függően 2-3 gyakorló ugrást hajtottak végre a résztvevők. Ezt követően 3-szor ismételték meg a felugrást, felugrások között 5 másodperc pihenővel. A statisztikai analízisbe az egyéni legjobb eredményt használtuk.

4.2.3. Egészségi állapot biomarkerek

A fittségi teszteket megelőzően az alanyoktól vért vettünk könyökvénából, EDTA véralvadásgátlót tartalmazó csövekbe. Az alanyok vér szérum alacsony denzitású lipoprotein (LDL), magas denzitású lipoprotein (HDL), totál koleszterin és triglicerid

szintjét standard laboratóriumi technikával mértük a Semmelweis Egyetem analitikai laboratóriumában.

Az alanyok irizin szintjének meghatározása ELISA (enzimhez kötött immunszorbens assay) kit segítségével történt (EK-067–29, Irisin Recombinant, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., Burlingame, USA).

A redox-egyensúlyt a biológiai antioxidáns kapacitás (BAP) és a reaktív oxigén metabolitok (d-ROM) származékaihoz egymáshoz viszonyított arányaként határoztuk meg. A BAP-t vas (III)-klorid és tiocianát-származék elegyítésével mértük vérplazma mintákban. Inkubálás után a vas-ionok redukcióját 505 nm-en mértük. A BAP vizsgálatokat FREE rpe Diem analizátorral végeztük. A vérben lévő szerves hidroperoxidok teljes mennyiségét a d-ROM teszttel becsültük meg, korábban leírtak szerint (72).

4.3. Prokarióta fajok könyvtári előkészítése és azonosítása

A székletmintákból származó DNS-t QIAmp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Beverly, MA, USA) segítségével izoláltuk. A fragmenskönnyvtárakat az izolált DNS-ből állítottuk elő a NEBNext Fast DNA Fragmentation & Library Prep Set for Ion Torrent (New England Biolabs) segítségével a gyártó utasításai szerint. A DNS enzimátikus emésztése és a fragmens végek javítása után Ion Xpress Barcode Adaptorok ligációja történt (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA); végül a templátfragmenseket Agincourt AMPure XP mágneses gyöngyök (Beckman Coulter, Pasadena, CA, USA) segítségével méret szerint szelektáltuk. Az adapterrel ligált fragmentumokat ezután PCR-rel amplifikáltuk, AMPure gyöngyökkel megtisztítottuk, a minőséget D1000 ScreenTape segítségével TapeStation eszközön (Agilent, Santa Clara, CA, USA) ellenőriztük, végül az Ion Library TaqMan Quantitation Kit (Life Technologies) segítségével mennyiségileg meghatároztuk.

A templát könyvtárat az Ion OneTouch protokollok és a Life Technologies reagensei segítségével készítettük elő szekvenáláshoz. A könyvtár fragmentumokat emulziós PCR-rel amplifikáltuk Ion Sphere Particles-re (ISP), majd templát-pozitív ISP-kké dúsítottuk.

Részletesebben, a PGM emulziós PCR reakciók az Ion PGM Hi-Q OT2 Kit (Life Technologies) felhasználásával készültek, és a kísérő protokollban leírtak szerint az emulziókat és az amplifikációt az Ion OneTouch System (Life Technologies) segítségével állítottuk elő. A dúsítás az amplifikált könyvtárfragmenseket tartalmazó ISP-k szelektív kötésével (sztreptavidinnel bevont mágneses gyöngyök), az üres ISP-k lemosásával és a könyvtár szekvenciák denaturálásával fejeztük be. Ezeket a lépéseket minden reakció esetében az Ion OneTouch rendszer Life Technologies ES moduljával hajtottuk végre. A templát-pozitív ISP-k az Ion 318 chipre kerültek (Life Technologies); végül a szekvenálást az Ion PGM Hi-Q view OT2 Kittel (Life Technologies) végeztük.

4.4. Bioinformatikai elemzés

A székletminta bakteriális szekvenciáinak taxonómiai osztályozását és a szekvencia-adatok előfeldolgozását, külsős laboratóriumban végezték Rotterdamban, erre képzett szakemberek. A HuGe-F laboratóriumban a röviden leolvasható genomiális szekvencia-adatokat a RAPtor v3.0 pipeline szoftver segítségével azonosították. Ez a szoftver a mintákból származó mikrobiális nukleinsavszekvenciákat azonosítja. A demultiplexifikáció QIIME 1 (15) program használatával végeztük. Ez egy bioinformatikai platform, amelyet mikrobiommarker gének (pl. 16S vagy 18S rRNS gének) amplikon szekvenálási adatainak elemzésére fejlesztettek ki. TagCleaner v.06 programot használtuk (56) a primer trimmésére. Ennek algoritmus automatikusan észleli és eltávolítja a genomikus és metagenomikus szekvenciaadatokból a címkeszekvenciákat. Végezetül a DADA2-t (13) használtuk az olvasatok zajszűrésére. Ez implementál egy új algoritmust, amely modellezi az amplikonok szekvenálása során fellépő hibákat, és ezt a hibamodellt használja a minta valódi összetételének korrigálására.

Átlagosan a hosszmetzeti mintában a küszöb feletti szekvenciaadatok 52754 olvasat/mintánként és 5331 különböző ASV-t (659 taxont lefedő amplikonszekvencia-változat) eredményeztek. Az amplikon szekvencia változatokat a taxonómiához az RDP (Ribosomal Database Project) (82) algoritmussal rendelték hozzá alapértelmezett paraméterekkel.

4.5. Statisztika

A ritka (az összes mintában maximum 10%-ban jelen lévő) és alacsony abundanciájú (kevesebb mint 100 leolvasat) taxonokat, valamint az alacsony lefedettségű mintákat (#olvasás/minta < 30 000) a további elemzésből kizártuk. Ők voltak azok az alanyok, akik antibiotikumos kezelésben részesültek.

A szűrés után a null értékeket Bayes-féle multiplikatív helyettesítéssel kezeltük a Compositions R csomag segítségével. Az arányértékeket központosított log-arány (CLR) transzformációnak vetettük alá a scikit-bio programmal.

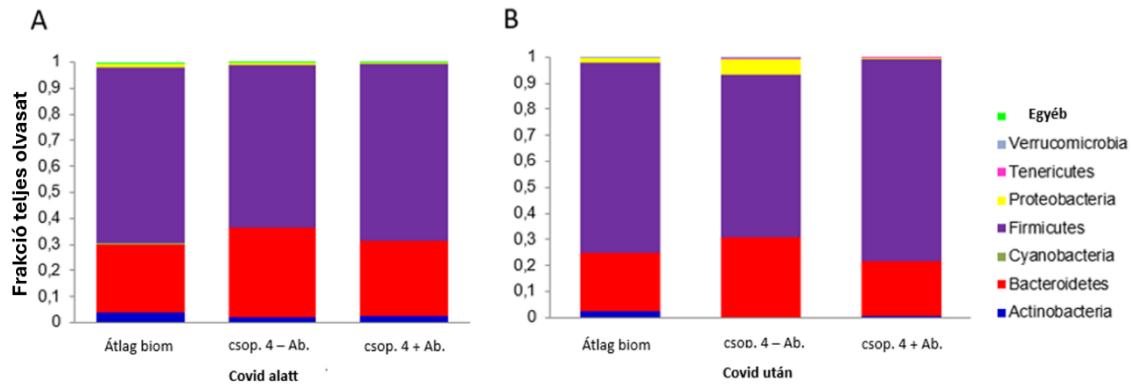
A mikrobiom vizualizációját biplot PCA-val (főkomponens-analízis) végeztük, a CLR értékeket bemeneti mátrixként használva (scikit-learn v0.24) (2). Az α -diverzitásokat Shannon index segítségével számoltuk, amely a taxon arányainak eloszlásának entrópiáját számszerűsíti. A mikrobiom vizualizálását biplot PCA-val (főkomponens-analízis) végeztük, a CLR értékeket használva bemeneti mátrixként (scikit-learn v0.24) (2). Az α -diverzitások számolásához Shannon indexet használtunk, amely számszerűsíti a taxon arányainak eloszlásának entrópiáját. A keresztmetszeti adatok feldolgozását a MetaPhlan3-mal végeztük, a jelátviteli/biológiai útvonalak abundanciáját és más molekuláris funkcióprofilokat (génontológia) pedig a HUMANN3 pipeline segítségével becsültük meg.

A különböző csoportok közötti összetételi hasonlóságokat PERMANOVA-val vizsgáltuk, az esetleges abundancia különbségeket pedig Wilcoxon-féle előjeles rangpróbával (Wilcoxon signed-rank test) értékeltük a COVID-19 betegség előtti és utáni mikrobiom összehasonlításakor. Az összefüggéseket Pearson-korrelációs együtthatóval (r) értékeltük.

5. Eredmények

5.1. Hosszmetszeti vizsgálat, a COVID-19 betegségén átesett csoportok eredményei

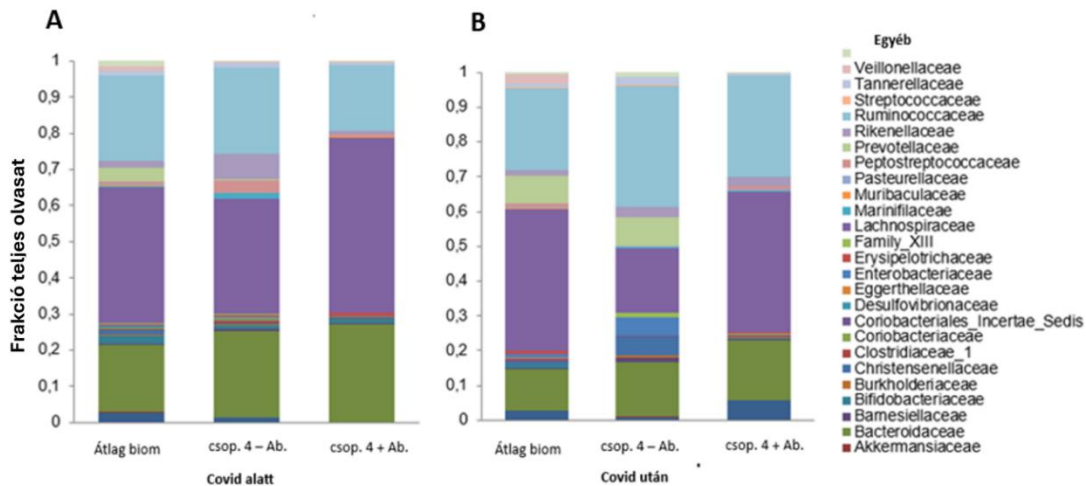
Három alacsony olvasási szinttel rendelkező alanyt kizártunk a vizsgálatból, akik antibiotikumos kezelésben részesültek. A COVID-19 súlyossága 1. és 2. fokozat (tünetmentes, enyhe fertőzés) és 4. fokozat (súlyos betegség) között mozgott (**1. táblázat**). Érdekes módon a két alany, akiknél a COVID-19 súlyos tünetei voltak megfigyelhetők, profi sportolók voltak. A jelen vizsgálat csak az otthoni karanténba elhelyezett COVID-19 betegségben szenvedő alanyokra összpontosított. A **6. ábra** a baktérium eloszlást mutatja a törzs szintjén. Az A panelek a COVID-19 fertőzés alatt begyűjtött minták mikrobiom összetételét mutatják, a B panelek a betegség utáni mikrobiom összetételt ábrázolják. Az A és B panelek első oszlopa a törzs tagjainak átlagos megoszlását mutatja a COVID-19 fertőzés alatt és után (1., 2. tüneti csoport). A második oszlop azon alany törzsének tagjait mutatja, akiknél súlyos betegség tünetei voltak megfigyelhetőek antibiotikus kezelés nélkül, míg a harmadik oszlop a másik, súlyos betegségtünetet mutató, de antibiotikus kezelésben részesülő egyén eredményeit mutatja (4-es tüneti csoport).



6. ábra:
Baktérium eloszlás törzs szintjén

Az A diagram a baktérium eloszlást mutatja törzs szintjén fertőzés alatt, míg a B diagram a fertőzést követően. Az első oszlopok a törzs tagjainak általános megoszlását (1., 2. tüneti csoport), a második oszlopok a súlyos betegség tüneteit produkáló, antibiotikumos kezelést nem kapó alany adatait, a harmadik oszlopok pedig az antibiotikumos kezelést kapó, súlyos betegség tüneteit produkáló egyén baktérium eloszlását mutatják, törzs szintjén. A diagramokon szembeűnő, hogy a Firmicutes baktérium és a Bacteroidetes baktérium relatív eloszlása a legmagasabb törzsi szinten.

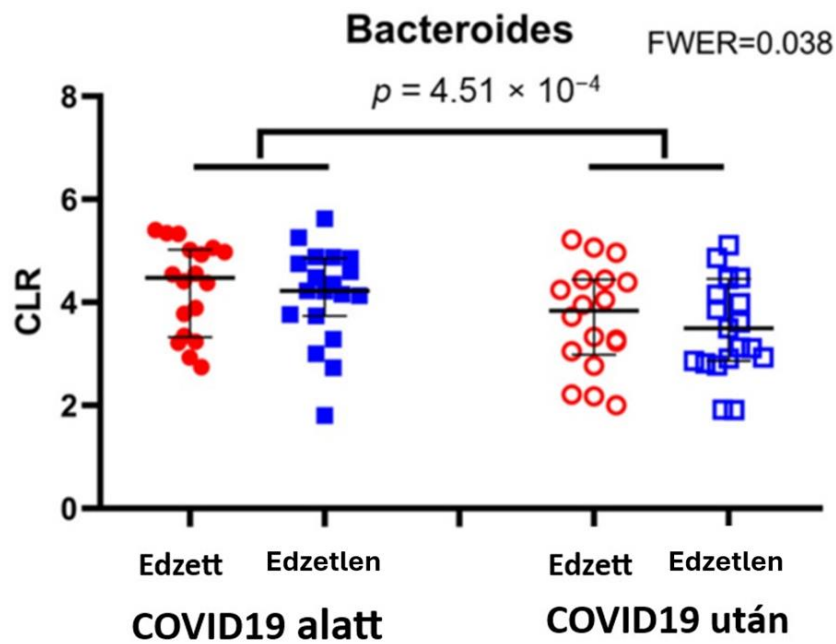
A **7. ábra** A paneljei a baktériumok család szintjét jelenítik meg a betegség alatt, B paneljei pedig a betegség utáni baktériumok család szintjét ábrázolják. A törzsek szintjén végzett mikrobiom analízis kimutatta, hogy bár ugyanazon alanyok baktériumflórája a COVID-19 fertőzés alatt és után meglehetősen hasonló volt, korreláció alapján értékelve még az antibiotikumkezelés sem mutatott szignifikáns elváltozásokat sem törzsi szinten (**6. ábra**), sem pedig család szinten (**7. ábra**).



7. ábra:
Baktériumok eloszlása család szintjén

Az A diagram a baktérium eloszlást mutatja család szintjén fertőzés alatt, míg a B diagram a fertőzést követően. Az első oszlopok a család tagjainak általános megoszlását (1., 2. tüneti csoport), a második oszlopok a súlyos betegség tüneteit produkáló, antibiotikumos kezelést nem kapó alany adatait, a harmadik oszlopok pedig az antibiotikumos kezelést kapó, súlyos betegség tüneteit produkáló egyén baktérium eloszlását mutatják, család szintjén.

A törzs szintjén a Bacteroidetes relatív abundanciája megemelkedett a COVID-19 fertőzés során a negatív PCR-teszt után három héttel mért szintekhez képest ($p < 0,05$), ha mind az atléta, és mind az edzetlen csoportot összevonva elemeztük a fertőzés alatt és után (**8. ábra**).

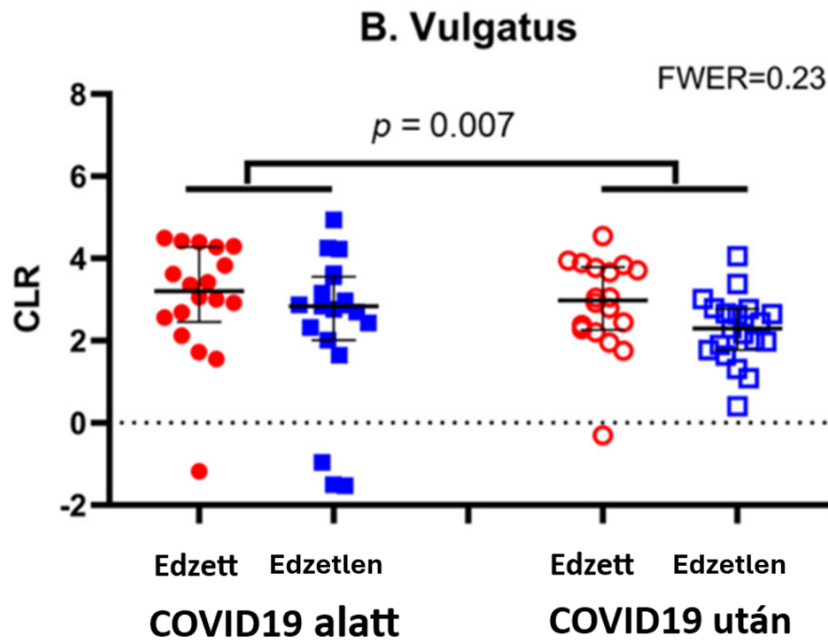


8. ábra:
Bacteroides relatív abundanciája

A 8. ábra a különböző csoportok bélflórájában megtalálható *Bacteroides* relatív arányát mutatja. p = szignifikancia szint. FWER (Family Wise Error Rate) értéke 0,038, ami a többszörös összehasonlításból származó hibák esetleges hányadát százalékosan mutatja.

CLR = központi logaritmus ráta (Centralised Log Ratio)

Faji szinten a *Bacteroides Vulgatus* mennyisége emelkedett meg a fertőzés során, összehasonlítva a betegségből való felépülés után vett mintákkal (9. ábra).

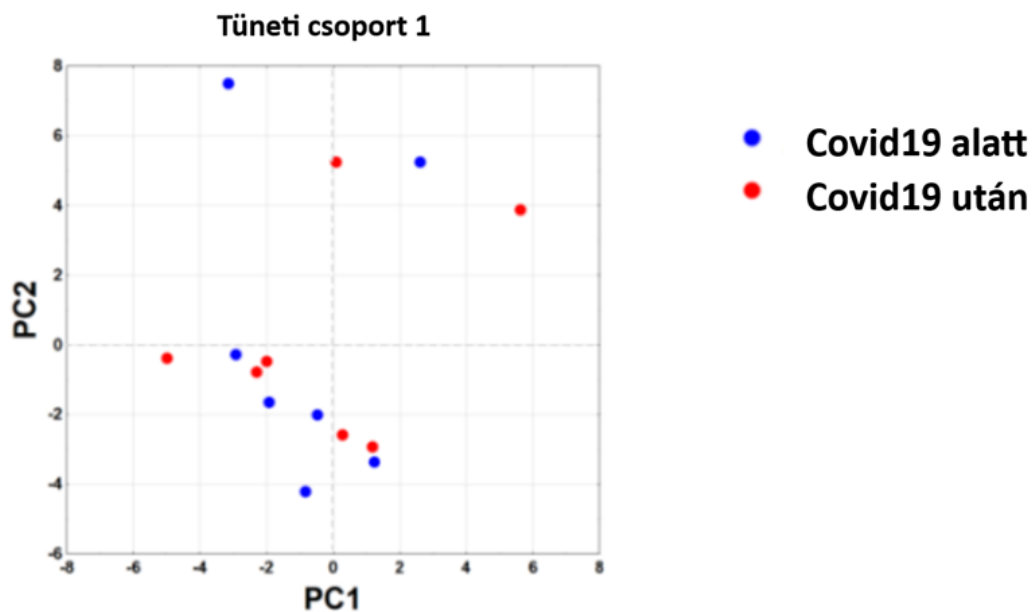


9. ábra:
Faji szinten Bacteroidetes Vulgatus

A 9. ábra a különböző csoportok bélflórájában megtalálható *B. Vulgatus* relatív arányát mutatja. p = szignifikancia szint. FWER (Family Wise Error Rate) értéke 0,23, ami a többszörös összehasonlításból származó hibák esetleges hányadát százalékosan mutatja.

CLR = központi logaritmus ráta (Centralised Log Ratio)

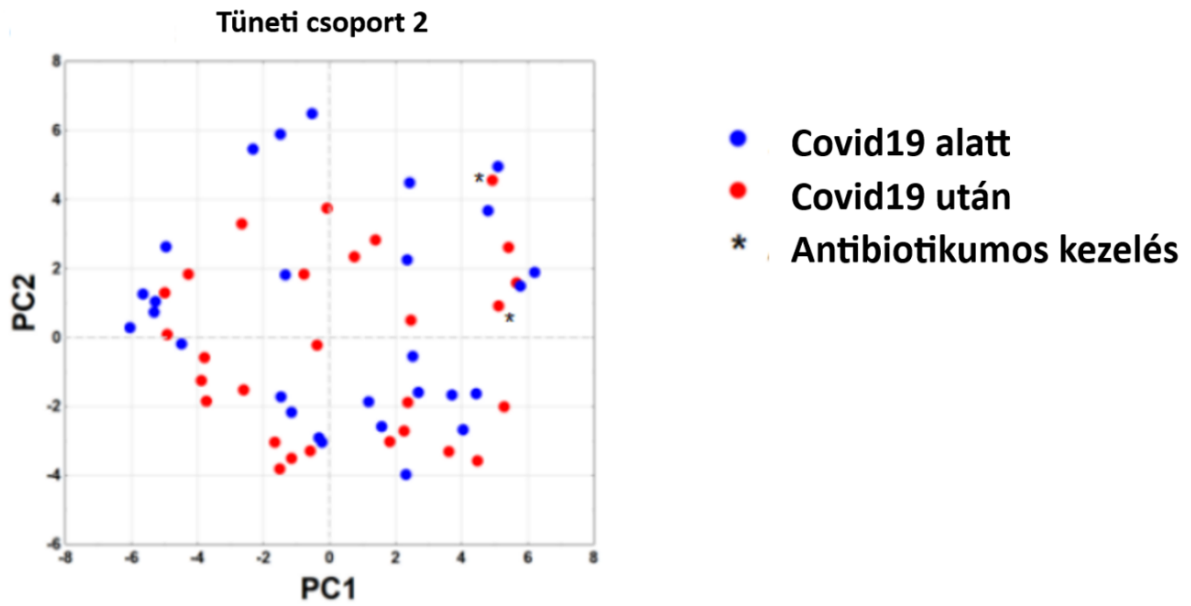
A főkomponens-analízis során arra voltunk kíváncsiak, hogy ha a komplex mikrobiom adatokat a két legnagyobb variancia kitevős főkomponenssel ábrázoljuk, találunk-e egyértelmű csoportosulást a résztvevők között, mely esetleg egybeesik a csoportokkal. Az adatpontok nem mutatják a csoportspecifikus klaszterezés nyilvánvaló mintáját sem az 1-es tüneti csoportnál (**10. ábra**), sem a 2-es tüneti csoportnál (**11. ábra**), valamint a 4-es tüneti csoportnál sem (**12. ábra**).



10. ábra:

1-es tüneti csoport főkomponens analízis ábrája

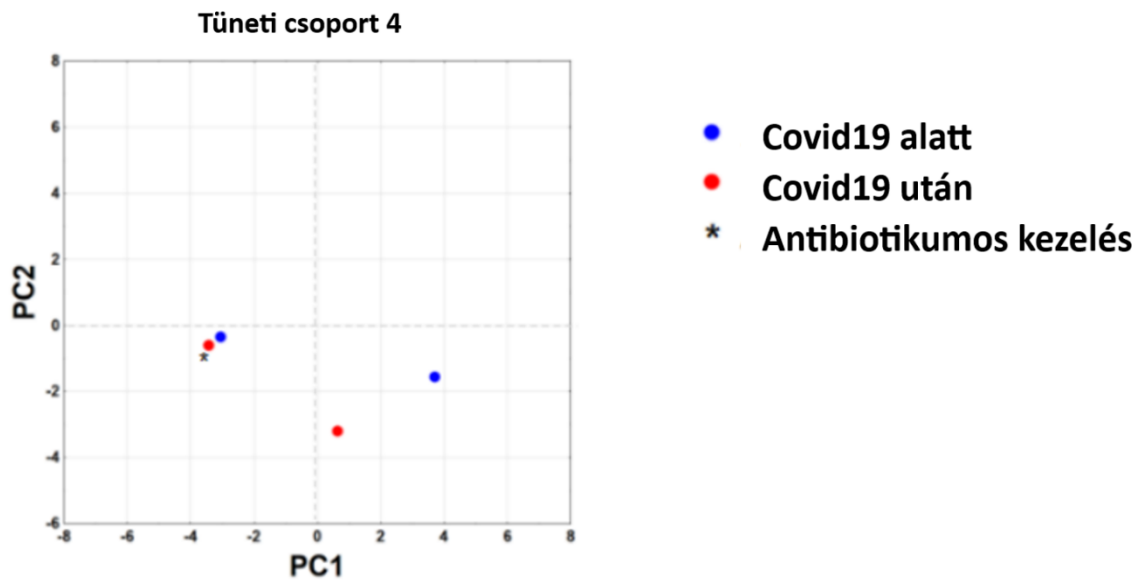
Az 1-es tüneti csoportba tartozó alanyok főkomponens analízis ábráján láthatjuk, hogy nincs egyértelmű csoportosulás a csoportok között. Az 1-es tüneti csoportba a tünetmentes alanyok tartoztak. Az ábrán COVID-19 betegség alatti és utáni állapot látható.



11. ábra:

2-es tüneti csoport főkomponens-analízis ábrája

A 2-es tüneti csoportba tartozó alanyok főkomponens-analízis ábráján láthatjuk, hogy nincs egyértelmű csoportosulás a csoportok között. A 2-es tüneti csoportba az enyhe tüneteket produkáló alanyok tartoztak. Az ábrán COVID-19 betegség alatti és utáni állapot látható. * jelöli az antibiotikusos kezelést kapottakat.

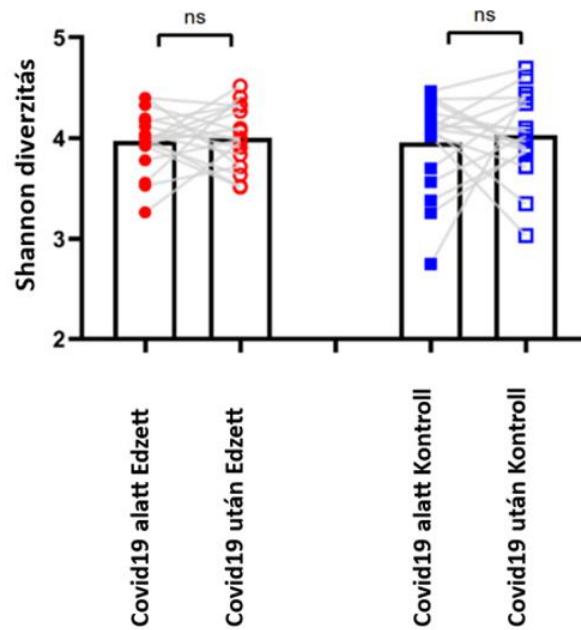


12. ábra

4-es tüneti csoport főkomponens-analízis ábrája

A 4-es tüneti csoportba tartozó alanyok főkomponens-analízis ábráján láthatjuk, hogy nincs egyértelmű csoportosulás a csoportok között. A 4-es tüneti csoportba az enyhe tüneteket produkáló alanyok tartoztak. Az ábrán COVID-19 betegség alatti és utáni állapot látható. * jelöli az antibiotikus kezelést kapottakat.

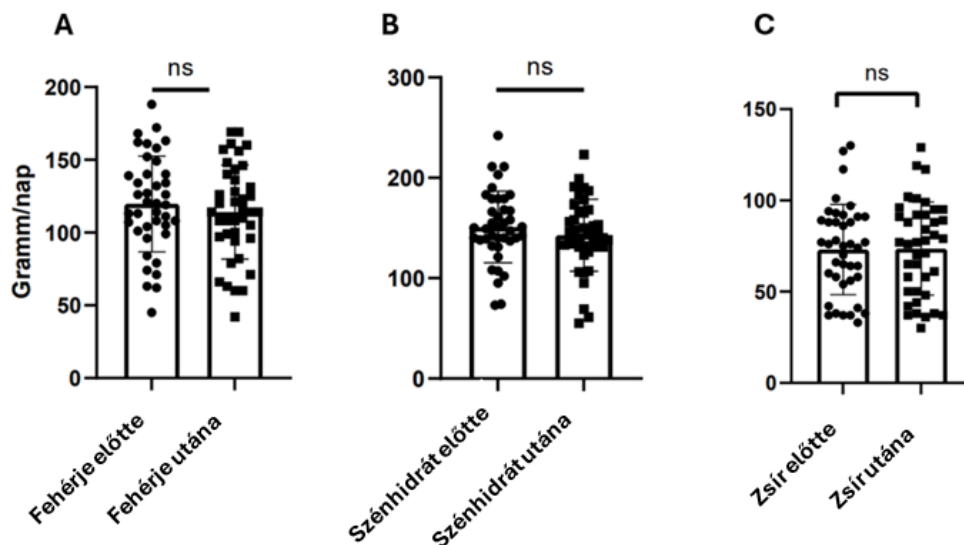
Az edzett és edzetlen csoportok baktériumflórájában nem találtunk szignifikáns különbséget, és nem tudtunk olyan baktériumot azonosítani, amely összefüggésbe hozható a COVID-19 fertőzés súlyosságával. A mikrobiom Shannon-diverzitása független volt az edzettségi állapottól vagy a COVID-19 fertőzéstől (**13. ábra**).



13. ábra:
Bélmikrobiom Shannon-diverzitása

A 13. ábrán látható, hogy magas szintű diverzitásban nem volt kimutatható eltérés a csoportok között tünetek alapján, sem a fertőzés alatt, sem a fertőzés után.

A táplálkozási szokásokra vonatkozó adatok alapján a vizsgált időszakokban, a COVID-19 fertőzés alatt és után nem volt szignifikáns különbség. A résztvevők FFQ kérdőívet töltöttek ki, amelyet a magyarországi táplálkozási szokásokhoz igazítva állítottunk össze, táplálkozási szakértő segítségével. Egy diszkrét skálán gyakorisági változókra kérdeztünk rá, ami alapján meghatároztuk a betegség előtti és betegség utáni napi szénhidrát-, zsír- és fehérjebevitelt. Az összetartozó minták elemzésénél nem paraméteres előjeltesztet alkalmaztunk (páros Wilcoxon-próba). A táplálkozási adatok összehasonlítását a **14. ábra** mutatja be. A COVID-19 fertőzés során a sportolók átlagos napi szénhidrát-, fehérje- és zsírfogyasztása 158,6 g, 74,5 g és 75,6 g, negatív PCR-teszt után 158,7 g, 65,5 g és 75 g volt. A COVID-19 fertőzés során ülő munkát folytató alanyok napi szénhidrát-, fehérje- és zsírfogyasztása 144,2 g, 52,5 g és 56,7 g, fertőzés után 146,2 g, 53,2 g és 56,9 g volt.



14. ábra:

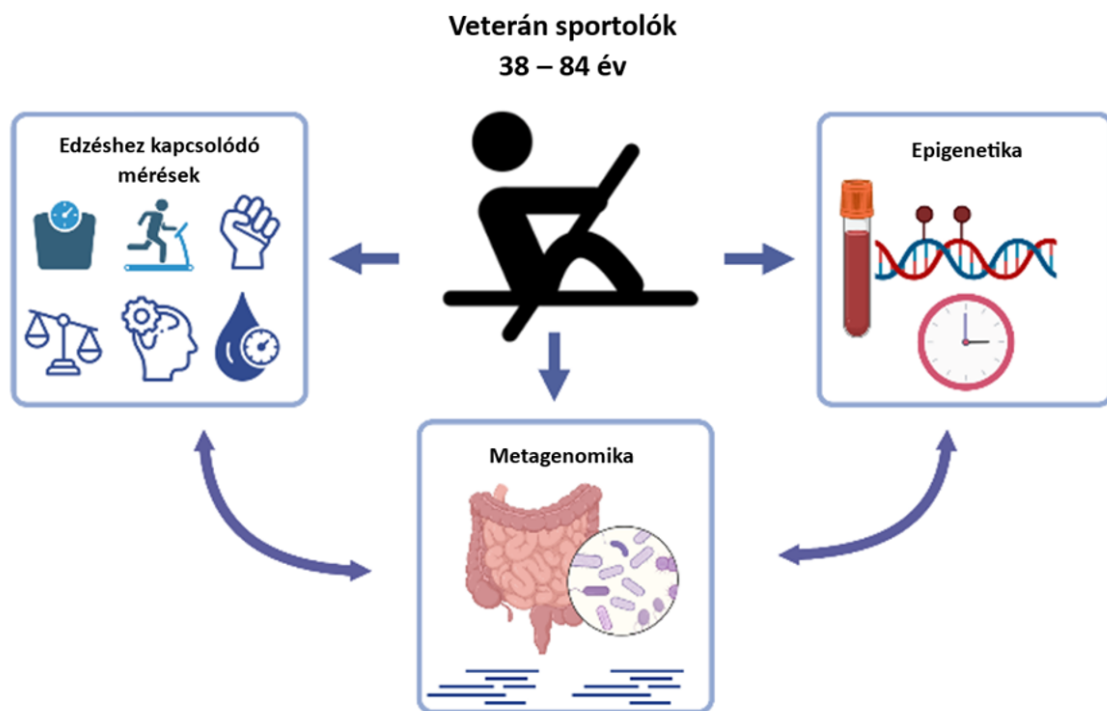
Napi fehérje-, szénhidrát- és zsírbevitel betegség alatt és betegség után

A betegség előtti és a betegség alatti táplálkozási szokásokat összehasonlítva elmondható, hogy nem volt szignifikáns különbség kimutatható a napi szénhidrát -, fehérje - és zsírbevitel szempontjából. Az ábra A panelje a napi fehérje bevitelt, B panelje a napi szénhidrátbevitelt, C panelje a napi zsírbevitelt ábrázolja a betegség előtt és után grammra lebontva. Az y tengelyek mentén láthatók a gramm/nap értékek, x tengelyek mentén pedig az adott makrotápanyagok betegség előtti és utáni értékei (ns = nincs szignifikáns különbség).

5.2. Keresztmetszeti vizsgálat, a fittségi mutatók, egészségi markerek felmérése során született eredmények

A magasabb szintű fizikai edzettség lassabb öregedési folyamattal és hosszabb élettartammal járhat. A mikrobiomváltozások különböző betegségek következtében és az öregedési folyamat során fordulhatnak elő. Ezen ismeretanyag hiányának a pótlására metagenomikus, epigenetikai és edzéssel kapcsolatos adatokat gyűjtöttünk fizikailag alkalmas egyénektől, és megvizsgáltuk a bélflóra és a fizikai fittség közötti összefüggést (**15. ábra**). A vizsgálatba bevont veterán sportolók átlagos edzéssel eltöltött éveinek száma (3 edzés/ hét) 23,8 év volt. A résztvevők becsült átlag VO₂max értéke 38,8

ml/min/kg, átlag maximális szorítóerő értéke 37 kg, átlag maximális felugrás értéke 27 cm, átlag BMI értéke pedig 24,96 kg/ m² volt. Egészségi állapotot indukáló paraméterek tekintetében az átlag irizin szint 12,22 ng/ml, átlag LDL szint 3,64 mmol/l, átlag HDL szint 1,71 mmol/l, átlag összkoleszterin szint 6,07 mmol/l, valamint átlag triglicerid szint 1,47 mmol volt.

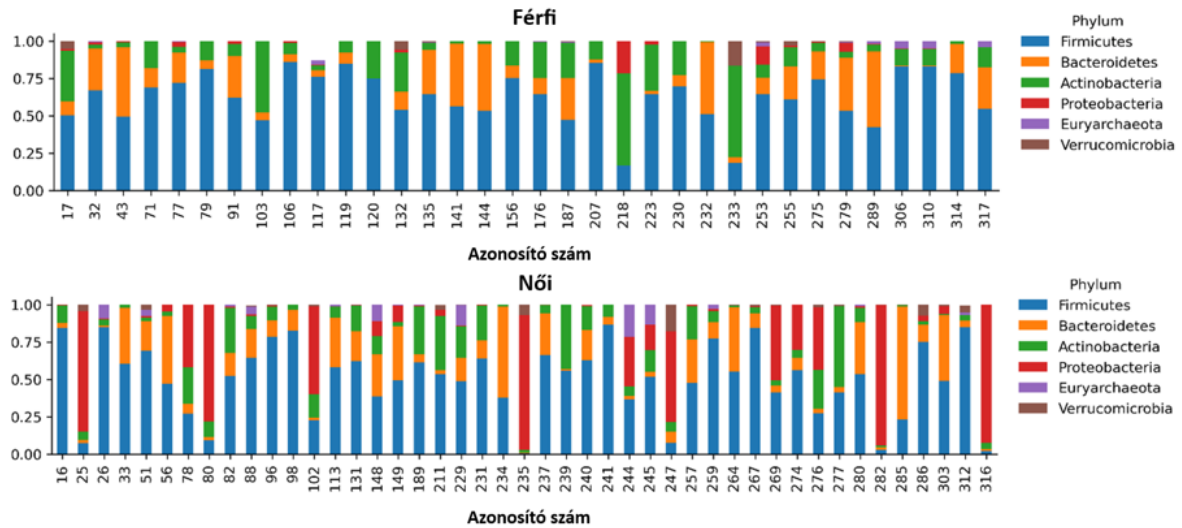


15. ábra:
Veterán sportolók edzésmonitorozása

80 fő, 38 és 84 év közötti fizikailag alkalmas egyén metagenomikai, epigenetikai és edzéssel kapcsolatos adatait gyűjtöttük, és epigenetikai órák segítségével vizsgáltuk az epigenetikai életkoruk gyorsulását, a bélflóra és a fizikai erőnlét kapcsolatát.

5.2.1. A baktériumfajok összetétele a vizsgált mintában

A keresztmetszeti vizsgálatunkban résztvevő férfiak és nők egyéni mikrobiom törzsi eloszlásait a **16. ábra** szemlélteti.

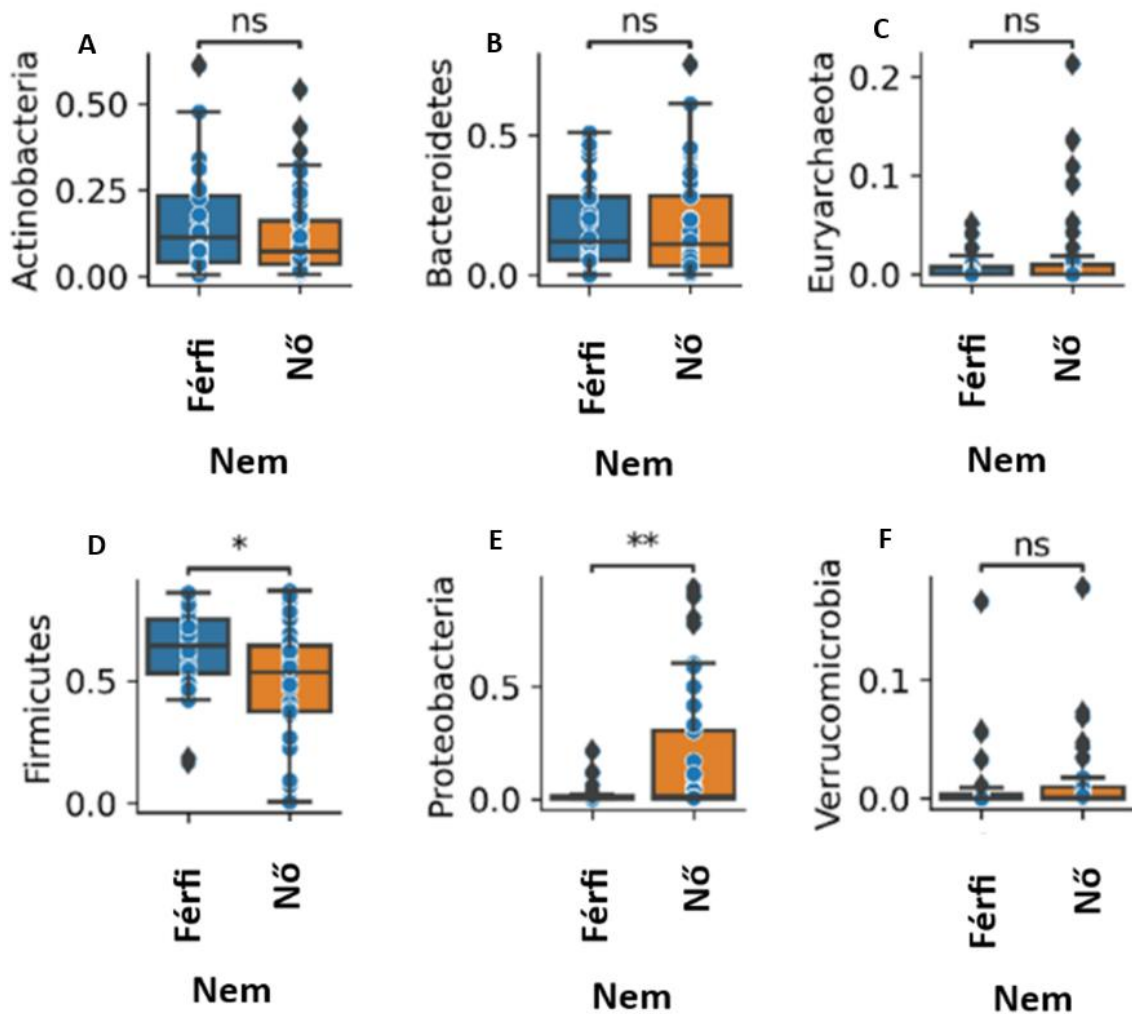


16. ábra:

A férfiak és a nők baktériumtörzseinek megoszlása, alanyonként (csak a küszöbszint feletti törzseket ábrázolva).

A 15. ábrán a baktériumok megoszlásának leíró statisztikája látható nemenként lebontva. Törzsi szinten a Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Euryarchaeota és Verrucomicrobia baktériumok eloszlását láthatjuk.

A törzsi szintű átlagos relatív abundancia eltért a Firmicutes és a Proteobacteria törzsek esetén, míg az Actinobacteria, Bacteroidetes, Euryarchaeota, Verrucomicrobia törzsek esetén szignifikáns különbség a nemek között nem mutatkozott (**17. ábra**).



17. ábra:

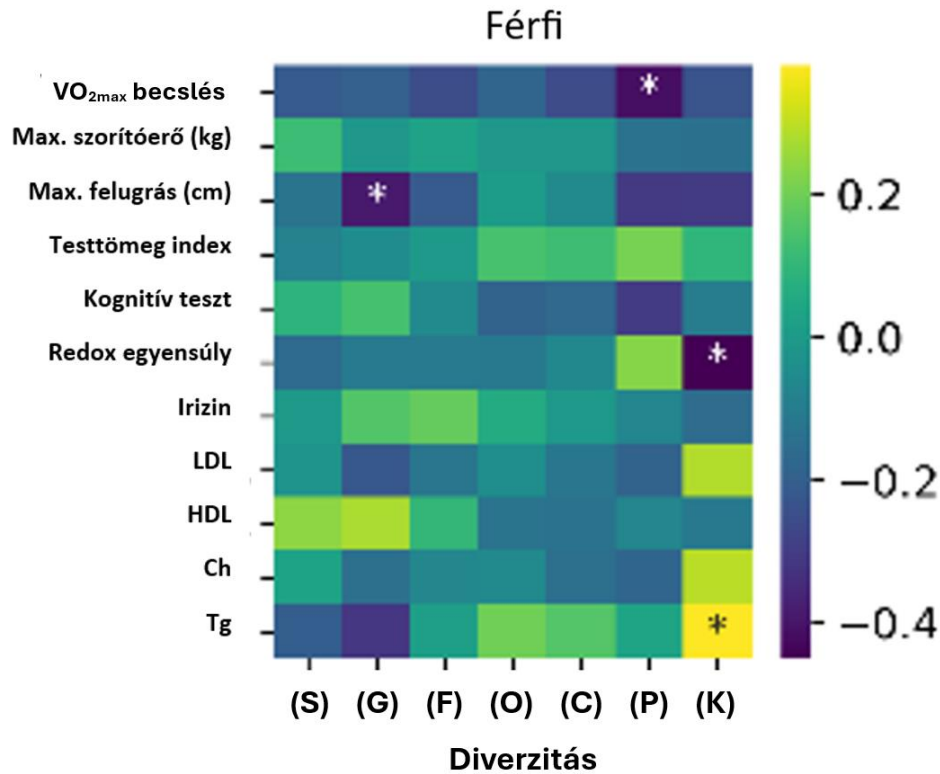
Az átlagos relatív gyakoriságbeli különbségek a férfiak és a nők között, törzsi szinten.

A panel: Actinobacteria, B panel: Bacteroidetes, C panel: Euryarchaeota, D panel: Firmicutes, E panel: Proteobacteria, F panel: Verrucomicrobia. Férfiak és nők mintáit összehasonlítva, a küszöbszint feletti törzseket tekintve elmondható, hogy az Actinobacteria, Bacteroidetes, Euryarchaeota és Verrucomicrobia baktériumok tekintetében nem volt szignifikáns különbség férfiak és nők között (ns). A Firmicutes baktériumtörzs nőknél kisebb mennyiségben volt jelen, míg a Proteobacteria nagyobb mennyiségben volt jelen női résztvevőknél (* $p < 0,05$), (** $p < 0,01$).

5.2.2. A baktériumösszetétel és a fittségi-, egészségmarkerek összefüggéseinek vizsgálata

Az összefüggés vizsgálatainkat nemenként lebontva külön-külön vizsgáltuk, hiszen a fittségi mutatóban a férfiak és a nők biológiai adottságaik miatt jelentősen eltérnek.

Vizsgálatunk alapján férfiakban a faji diverzitási index különböző taxonómiai szinten negatívan korrelált a VO_{2max} -szal, maximális felugrással és a redox-egyensúllyal, illetve szignifikáns pozitív összefüggés volt kimutatható a triglicerid szint között (**18. ábra**).

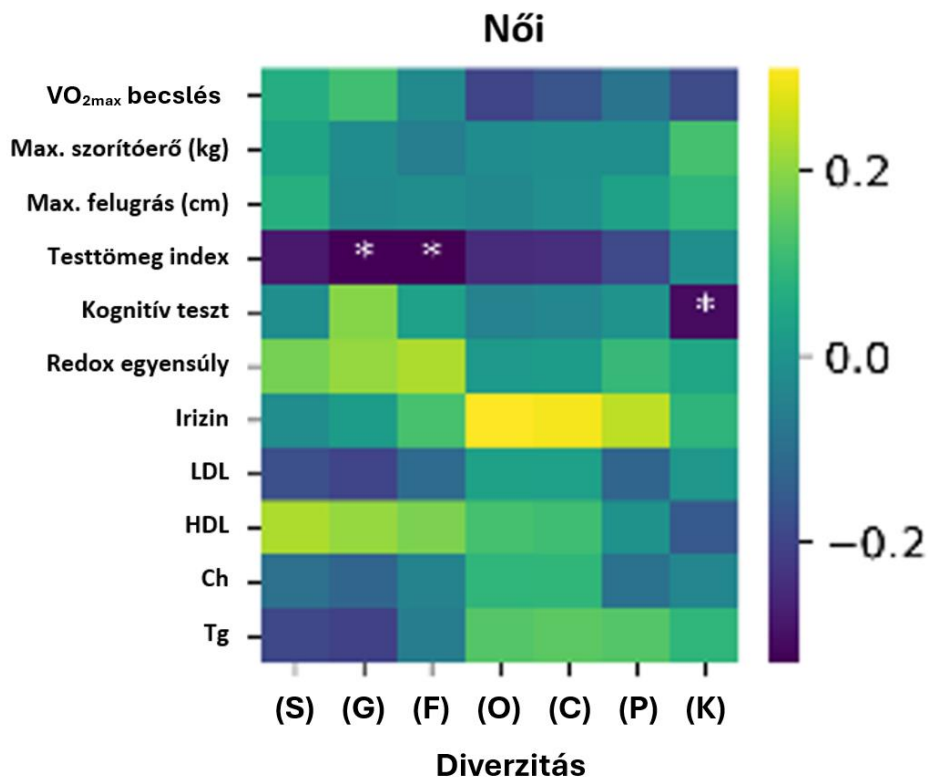


18. ábra:

A bélflóra diverzitás, fitsségi mutatók és a szervezet egészségi státuszát mutató markerek közötti összefüggések férfi résztvevők esetében

A bélmikrobiom diverzitása közötti összefüggések (a relatív abundanciák Shannon-entrópiájával mérve) a fajok (s), nemzetség (g), család (f), rend (o), osztály (c), törzs (p) és királyság (k) szintjén, valamint a kronológiai életkor, életkori gyorsulások, valamint az öregedés üteme között, férfi résztvevők esetében. Az y tengelyen a fiziológias paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek láthatók (LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein, HDL: magas sűrűségű lipoprotein, Tg: triglicerid, Ch: koleszterin), míg az x tengelyen a baktériumok taxonómiai kategóriái. A színskála az összefüggések erősségét és irányát mutatja (* = $p < 0,05$).

Nők esetében pedig negatív összefüggés volt kimutatható a testtömeg index (TTI, BMI) és a diverzitási index között (**19. ábra**).



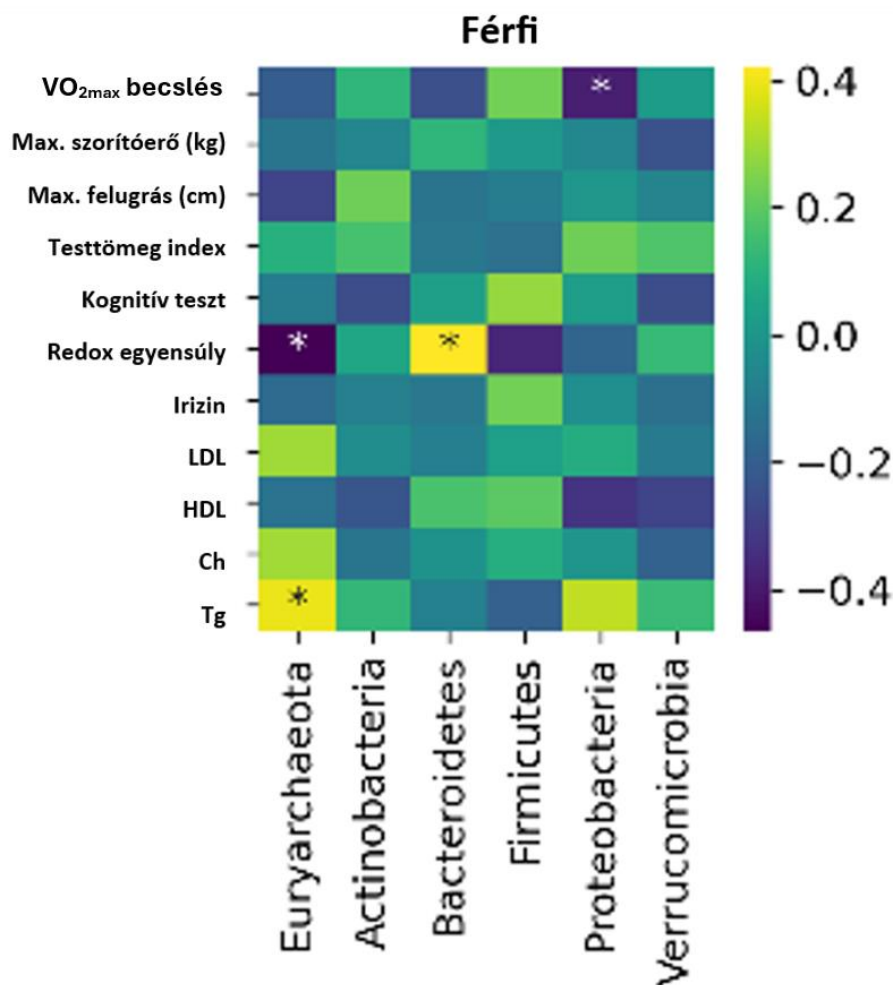
19. ábra:

A bélflóra diverzitás, fitsségi mutatók és a szervezet egészségi státuszát indukáló markerek közötti összefüggések női résztvevők esetében.

A bélmikrobiom diverzitása közötti összefüggések (a relatív abundanciák Shannon-entrópiájával mérve) a fajok (s), nemzetség (g), család (f), rend (o), osztály (c), törzs (p) és királyság (k) szintjén, valamint a kronológiai életkor, életkori gyorsulások, valamint az öregedés üteme között, női résztvevők esetében. Az y tengelyen a fiziológias paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek láthatók (LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein, HDL: magas sűrűségű lipoprotein, Tg: triglicerid, Ch: koleszterin), míg az x tengelyen a baktériumok taxonómiai kategóriái. A színskála az összefüggések erősségét és irányát mutatja (* = $p < 0,05$).

Ezen eredmények összegezve azt sugallják, hogy a mikrobiális entrópia növekedése a béltraktusban negatív kapcsolatba hozható a fitsséggel, illetve az egészségi állapottal.

Férfiak esetében törzsi szinten az Euryarchaeota jelenléte pozitívan korrelált a vér trigliceridszinttel, továbbá hasonló pozitív kapcsolat volt kimutatható a Bacteroidetes és a redox-egyensúly között. Ezzel szemben negatív kapcsolat állt fenn az Euryarchaeota és a redox-egyensúly, illetve a Proteobacteria és a VO_{2max} között (20. ábra).

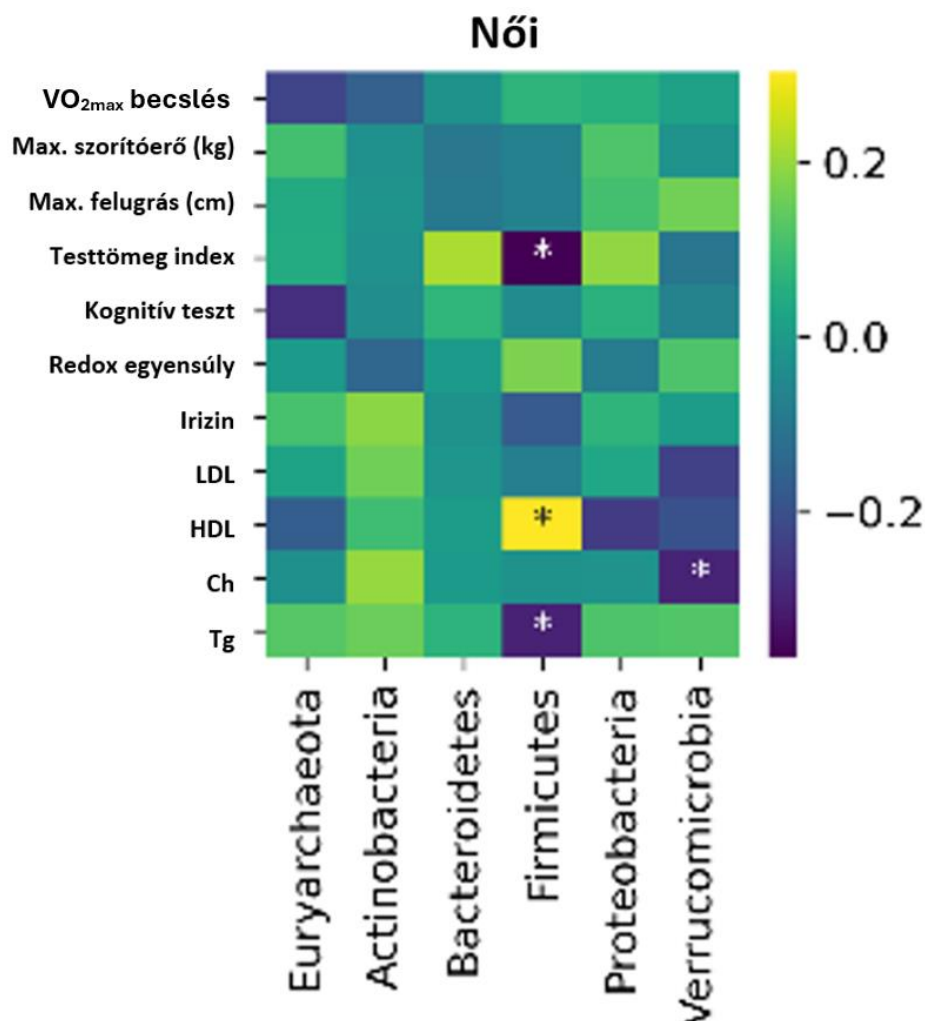


20. ábra:

Korrelációs elemzés a baktériumtörzsek, fiziológiás paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek tekintetében, férfi résztvevőknél

Az y tengelyen a fiziológiás paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek láthatók (LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein, HDL: magas sűrűségű lipoprotein, Tg: triglicerid, Ch: koleszterin), míg az x tengelyen a baktériumtörzsek férfi résztvevők esetében. A színskála az összefüggések erősségét és irányát mutatja (* = $p < 0,05$).

Nőknél a törzsi szinten a Firmicutes relatív abundanciája negatív kapcsolatban állt a BMI-vel és a trigliceridszinttel, illetve pozitívan korrelált a HDL-szinttel (21. ábra).



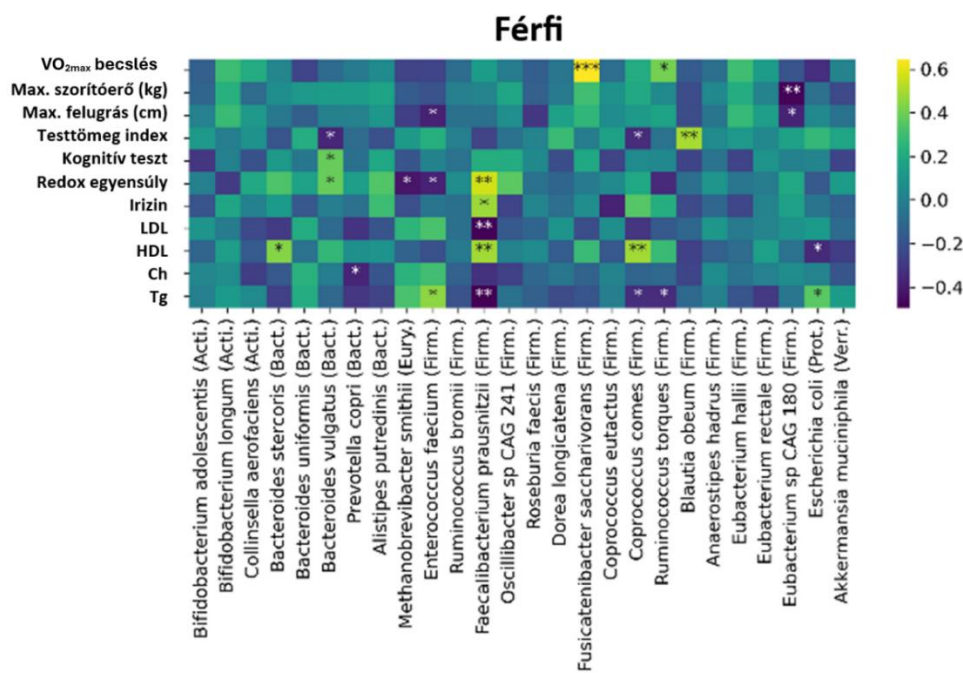
21. ábra:

Korrelációs elemzés a baktériumtörzsek, fiziológias paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek tekintetében, női résztvevőknél

Az y tengelyen a fiziológias paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek láthatók (LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein, HDL: magas sűrűségű lipoprotein, Tg: triglicerid, Ch: koleszterin), míg az x tengelyen a baktériumtörzsek női résztvevők esetében. A színskála az összefüggések erősségét és irányát mutatja (* = p < 0,05).

Ezek után arra voltunk kíváncsiak, hogy ha tovább finomítjuk faji szintre az összefüggésvizsgálatainkat, akkor találunk-e olyan robusztusnak mondható ($p < 0.01$) kapcsolatokat, melyek baktériumfajokat tudnak rendelni egy-egy fittségi vagy egészségi állapot markerhez.

Eredményeink alapján a relatív aerob kapacitás férfiakban kimagasló pozitív korrelációt mutatott a *Fusicatenibacter saccharivorans* abundanciával, továbbá pozitív összefüggés volt kimutatható a *Coprococcus comes* és a vér HDL, valamint a *Blautia obeum* és a testtömegindex között. A redox-egyensúly pozitív, míg a vér LDL és a triglicerid negatív kapcsolatban állt a *Faecalibacterium prausnitzii* előfordulásával (22. ábra).

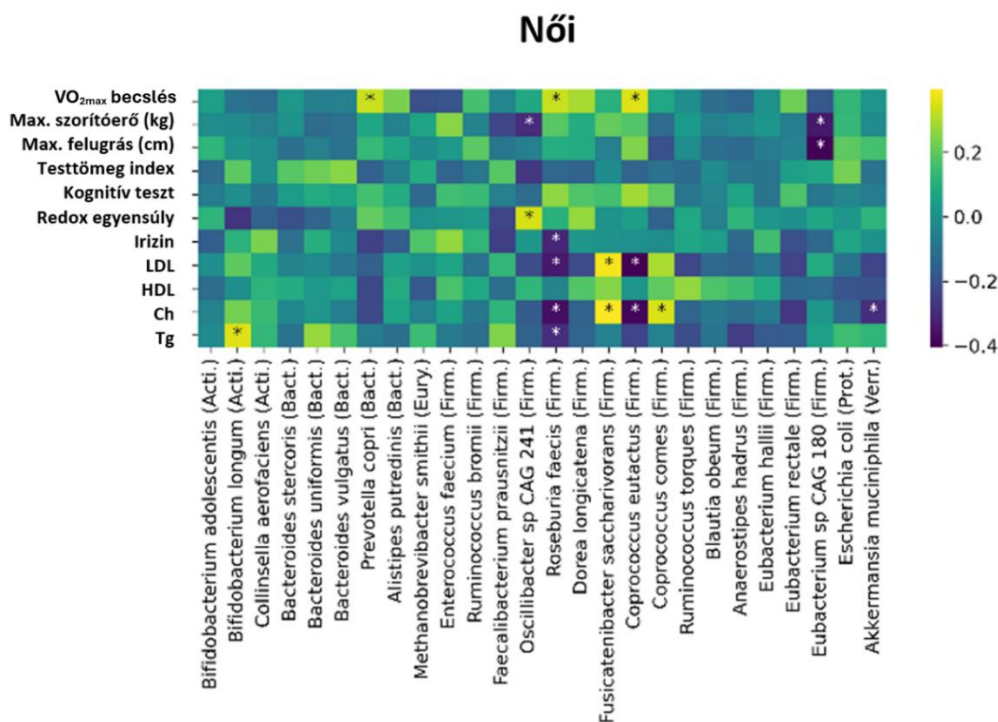


22. ábra:

Korrelációs elemzés a bélmikrobiom faji abundanciájával, férfiak esetében

Az y tengelyen a fiziológiás paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek láthatók (LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein, HDL: magas sűrűségű lipoprotein, Tg: triglicerid, Ch: koleszterin), míg az x tengelyen a baktériumfajok láthatók, férfi résztvevők esetében. A színskála az összefüggések erősségét és irányát mutatja (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,001$).

Nőknél bár robusztus összefüggést nem találtunk a baktériumfajokkal a Roseburia faecis abundancia figyelemreméltóan sok markerrel állt kapcsolatban. Ezek közé tartozott a VO_{2max} pozitív, továbbá a negatív asszociáció a vér irizin, LDL, triglicerid és összkoleszterin értékekkel (23. ábra).



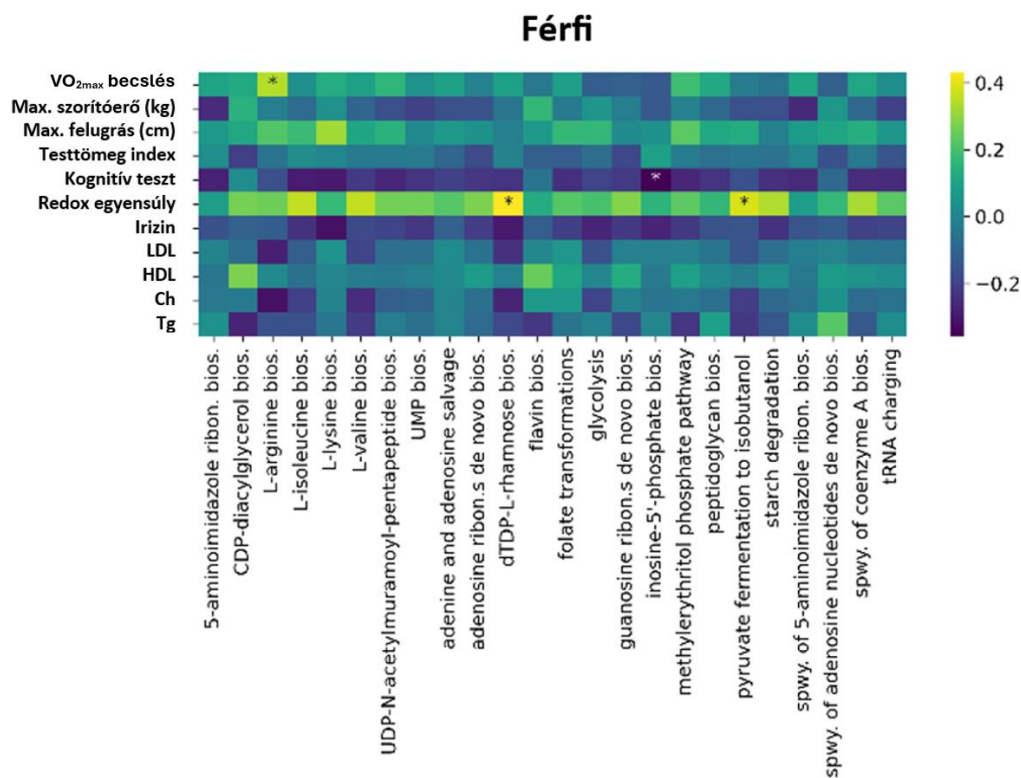
23. ábra:

Korrelációs elemzés a bélmikrobiom faji abundanciájával, nők esetében

Az y tengelyen a fiziológiás paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek láthatók (LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein, HDL: magas sűrűségű lipoprotein, Tg: triglicerid, Ch: koleszterin), míg az x tengelyen a baktériumfajok láthatók, női résztvevők esetében. A színskála az összefüggések erősségét és irányát mutatja (* = p < 0,05).

Végezetül megvizsgáltuk, hogy milyen kapcsolatokat találunk, ha megvizsgáljuk azon molekuláris útvonalakat, amelyekben a bélrendszerben előforduló baktériumok részt vehetnek. Érdekes eredmény, hogy a redox-egyensúly férfiakban pozitív

kapcsolatban állt a dTDP-L-ramnóz bioszintézissel és a piruvát-izobutanollá történő fermentáció folyamatával (24. ábra).

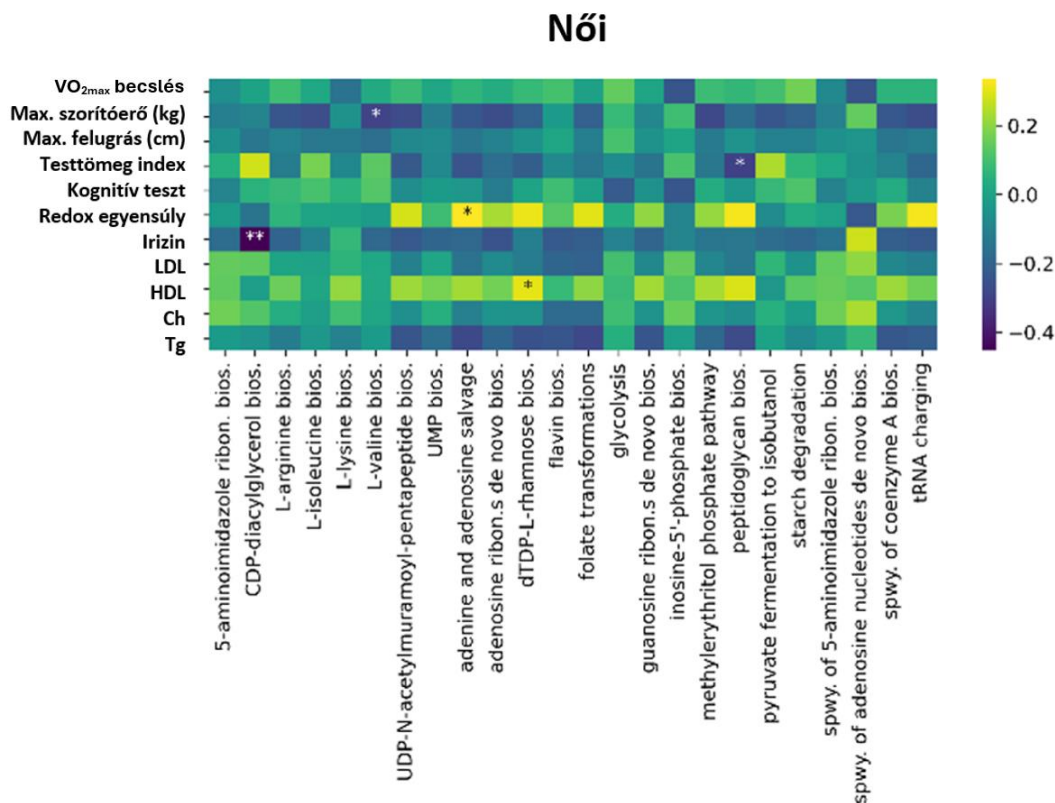


24. ábra:

Különböző bakteriális biológiai útvonalak összefüggése a fiziológiás és egészségügyi markerekkel férfi résztvevőknél

Ahol szignifikáns összefüggés mutatkozott, ott az adott biológiai útvonalban részt vevő baktériumok alul- vagy felülreprezentálása feltételezhető. Az y tengelyen a fiziológiás paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek láthatók (LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein, HDL: magas sűrűségű lipoprotein, Tg: triglicerid, Ch: koleszterin), míg az x tengelyen a különböző bakteriális útvonalak láthatók férfi résztvevők esetében. A színskála az összefüggések erősségét és irányát mutatja (* = $p < 0,05$).

Nők esetében a redox-egyensúly az adenin és adenzin felhasználás folyamatával mutatott pozitív kapcsolatot, illetve az irizin szintje mutatott negatív korrelációt a cdp-diacyl-glicerol útvonallal (25. ábra).



25. ábra:

Különböző bakteriális biológiai útvonalak összefüggése a fiziológiás és egészségügyi markerekkel női résztvevőknél

Ahol szignifikáns összefüggés mutatkozott, ott az adott biológiai útvonalba részt vevő baktériumok alul- vagy felülreprezentálása feltételezhető. Az y tengelyen a fiziológiás paraméterek és a szervezet egészségügyi állapotát indukáló markerek láthatók (LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein, HDL: magas sűrűségű lipoprotein, Tg: triglicerid, Ch: koleszterin), míg az x tengelyen a különböző bakteriális útvonalak láthatók női résztvevők esetében. A színskála az összefüggések erősségét és irányát mutatja (* = p < 0,05).

6. Megbeszélés

6.1. Hosszmetszeti vizsgálatok

Az már ismert, hogy a mikrobiom fontos szerepet játszik az immunrendszerben, és számos kutatás foglalkozik a kérdéssel, hogy a rendszeres testmozgás hogyan képes erősíteni az immunrendszert (23, 30, 49). Vizsgálatunk eredményei nem mutattak ki szignifikáns különbséget a versenyző sportolók és az inaktív életmódot folytató alanyok bélmikrobiom összetétele között a COVID-19 fertőzés alatt és után (5). Mivel a mikrobiomhoz kapcsolódó immunválasz csak egy része az immunrendszernek, ez a megállapítás nem jelenti azt, hogy a rendszeres testmozgással kapcsolatos adaptív immunválaszok ne befolyásolnák az immunrendszer működését. Táplálkozási szokásokat tekintve nem történt drasztikus változás a betegség előtti állapotot vizsgálva, a második mintavételhez képest. Nyilvánvaló, hogy a rendszeres fizikai edzés és a magas edzettségi szint nem véd a COVID-19 fertőzés ellen, és a sport jellegéből adódóan, a rendszeres fizikai kontaktusból adódóan a COVID-19 átvitel aránya viszonylag magas a csapatsportolók/- kontaktusportolók körében (38). Általában úgy tűnik, hogy a fiatal kor és az élsportban való részvétel kombinációja tünetmentes COVID-19 fertőzést eredményez (45). Kutatások azt feltételezik, hogy a magas edzettségi szint jelentősen csökkentheti a tüdőgyulladás jövőbeni kockázatát, illetve csökkentheti a COVID-19 súlyosságát (39). Érdekes módon vizsgálatunkban két alany is súlyos tüneteket produkált, és mindketten élsportoló vízilabdázók voltak. Egyikük antibiotikumos kezelést is kapott a kórházban. Mivel az antibiotikus kezelés könnyen megváltoztathatja a mikrobiomot, ezeket az adatokat külön-külön ábrákon tüntettük fel érdekességként.

Bár a COVID-19 fertőzés alatti és fertőzés utáni állapotában nem tudtunk különbséget kimutatni az edzett és az edzetlen egyének mikrobiom összetételét tekintve, a fertőzés alatti mikrobiom némileg eltért a fertőzés után három héthez képest vett mintához viszonyítva. A törzsek szintjén a Bacteroidetes relatív koncentrációja megemelkedett a COVID-19 fertőzés során (5). Korábbi kutatások szerint a bélmikrobiális közösségek a TLR4 receptorra hatással vannak. A TLR4 receptorok alapvető szerepet játszanak a kórokozó felismerésében és a veleszületett immunitás aktiválásában. Felismerik a kórokozókra jellemző molekuláris mintázatokat és elősegítik az immunválaszt (9).

További kutatások megfigyelték, hogy a *Bacteroides* a lipopoliszacharid (LPS) antagonista formáját képes előállítani, amely befolyásolja az allergiákra és az autoimmunitásra való hajlamot, amelyről kiderült, hogy a veleszületett immunitás potenciális aktivátora (76). A metagenomikus szekvenenciaanalízis segítségével kiderült, hogy egészséges alanyokban a *Bacteroidetes* fajok az LPS bioszintézisének 79%-át teszik ki, ezáltal a teljes mikrobiális közösségre kiterjedő immunmodulációt okoznak. Korábban már arról is beszámoltak, hogy számos *Bacteroidales* faj (*Alistipes putredinis*, *Bacteroides caccae* és *Alistipes finegoldii*) mennyiségének megemelkedése mérsékelt vagy erős korrelációt mutat az IL-6 citokintermelés, valamint a TNF- α és IL-1 β termelés gátlásával, ezzel segítve a citokin vihar csendesítését és az adott betegség tüneteinek súlyosságának enyhítését.

Ezen túlmenően úgy tűnik, hogy az emberi bélmikrobiom által termelt teljes LPS nemcsak önmagában nem immunválaszt kiváltó, hanem gátolja a TLR4-függő citokintermelést is (20). Nem zárható ki, hogy a súlyos COVID-19 fertőzés a veleszületett immunreceptorok, például a TLR-4 aktiválódásával jár. Jól dokumentált, hogy a súlyos COVID-19 fertőzés gyakran citokinviharral járhat (77), amelyet a makrofágok, dendritikus sejtek és monociták túlzott stimulációja jellemez, továbbá gyulladást elősegítő interleukin 1 (IL-1) termelődik (53). Figyelemre méltó, hogy a súlyos COVID-19 fertőzés, amely akut légzési szindrómával jár együtt, nagyon jól megkülönböztethető a COVID-19 enyhe fertőzésétől, a citokin, a C-reaktív fehérje és a ferritin szintjeit tekintve (53). A jelen vizsgálatban, két alany kivételével, enyhe tüneteket észleltünk. Ezért nem zárható ki, hogy a *Bacteroidetes* megnövekedett szintje része lehet az immunvédelmi rendszernek a TLR-4 aktiváció gátlásával. Ez a hipotézis azonban további vizsgálatot igényel. A másik mechanizmus, amellyel a *Bacteroidetes* támogathatja a COVID-19 elleni immunválaszt, az ACE2 receptorok csendesítése, amelyek biztosítják a vírus fő bejutását a sejtekbe, különösen a légzőrendszerbe és a gyomor-bél traktusba (59). Kutatások már kimutatták, hogy a *Bacteroidetes* elnyomja az ACE2-szintet (31).

A világvárvány második hullámában, amikor a COVID-19 vírus eredeti formája volt a domináns Európában, az idősebb életkorú, elhízott vagy diabetes mellitusban szenvedő betegek voltak a legérzékenyebbek a súlyos fertőzésekre, és esetükben a halálozási arány is nagyobb volt (29). Érdekes módon az idős alanyok, vagy krónikus gyulladásban,

diabetes mellitusban és/vagy elhízással küzdő betegek Bacteroidetes szintje alacsonyabb volt az egészséges állapothoz képest (26, 73, 89). Ez ismét alátámasztja azt a hipotézisünket, hogy a Bacteroides megnövekedett szintje a COVID-19 fertőzés enyhe szintje alatt, fiatal edzett és ülő munkát folytató alanyoknál védő, immunrendszert támogató hatást fejthet ki. A Bacteroides vulgatus megnövekedett szintje, amelyet a COVID-19 fertőzés során figyeltünk meg, a negatív PCR-teszt után három héttel vett mintákhoz képest, arra utalhat, hogy a fertőzés akut gyulladással járó sejtreakció későbbi beszűrődését eredményezheti a bélgáton keresztül, és a fertőzés kialakulásához vezethet (18).

6.2. Keresztmetszeti vizsgálatok

Mivel hosszmetzeti vizsgálatunk során az atléta és edzetlen csoport között nem találtunk szignifikáns különbséget, ezért egy keresztmetszeti kutatásban próbáltunk választ találni hipotéziseinkre. Első feltűnő eredményünk a nemek közti eltérés és a mikrobiom összetétele, valamint a vizsgált markerek analízisével született. Az eltérés talán nem meglepő, ha figyelembe vesszük azt a tényt, hogy a szexuális dimorfizmus számos vizsgált mutatóban érvényesül. A fittségi mutatókban a férfiak átlagosan nagyobb számértékeket érnek el, továbbá például a vérzsír-változóknál is eltérnek a két nem referenciaértékei. Ezek mentén feltételezhető, hogy a férfiak és nők bélflórája különböző összefüggéseket fog mutatni (70).

A keresztmetszeti vizsgálatunkban résztvevő férfiak flórájában a Fusicatenibacter saccharivorans pozitív kapcsolatban állt a VO_{2max} -szal. Ezen baktériumfaj abundanciája összefüggésbe hozható gyulladást elimináló folyamatokkal (66), illetve rövid szénláncú zsírsavak szintézisével (84). A gyulladással járó folyamatok mérséklése nemcsak a COVID-19 betegséggel kapcsolatban járhat pozitív hatással, hanem az idős egyének esetén a korhoz kapcsolódó, sokszor megnövekedett krónikus gyulladással járó folyamatok visszaszorításában is előnyös lehet (88). A rövid szénláncú zsírsavak a bélflóra áteresztőképességére vannak pozitív hatással, melynek sérült integritása kutatások alapján hajlamosíthat elhízásra, illetve inzulinrezisztenciára (14). Mindkét fentebb

említett patológiás folyamat megléte csökkenti a COVID-19-ből való sikeres felépülés esélyét.

A *Fusicatenibacter saccharivorans* abundancia összefüggést mutatott a kardiovaszkuláris fittséggel (70). A háttérben húzódó mechanizmus még nem ismert, viszont egy lehetséges magyarázat, hogy a *Fusicatenibacter* butiráttermelő baktérium. A butirát szuplementációja pedig kutatások szerint aktiválja a mitokondriális biogenezis egyik kulcsfontosságú jelátviteli fehérjéjét, a PGC1-alfát egerek vázizmában (19). A mitokondrium denzitása pedig egy fontos faktor a relatív aerob kapacitás növekedésében. Fontos megemlíteni viszont, hogy további kutatást igényel ezen feltételezés, hiszen a fent említett mechanizmus humán viszonylatban még nem tisztázott.

7. Következtetések

A Célkitűzések fejezetben részletezett hipotéziseimre eredményeink alapján a következő megállapításokat tehetjük a testmozgás, bélmikrobiom és a COVID-19 megbetegedéssel kapcsolatban.

1. Első hipotézisünk, miszerint az edzett emberek bélmikrobiom-összetétele el fog térni az edzetlen résztvevők bélmikrobiom-összetételétől. **NEM FOGADJUK EL**
2. A gyógyult alanyok bélmikrobiom-összetétele el fog térni a betegség kezdetekor vett mikrobiom-összetételétől. **ELFOGADJUK**
3. A mikrobiom szerepet játszik abban, hogy az edzett szervezet könnyebben esik-e át a COVID-19 víruson. **NEM FOGADJUK EL**
4. Feltételezzük, hogy keresztmetszeti mintán a fittségi és egészségi mutatók szignifikáns kapcsolatban állnak a bélmikrobiom különböző baktériumtaxonjainak abundanciájával. **ELFOGADJUK**

Továbbá elmondható, hogy a mikrobiom elemzés kimutatta, hogy a baktériumflóra, ugyanazon alanyok esetében, a COVID-19 fertőzés alatt és után meglehetősen hasonló volt. A törzs szintjén a Bacteroidetes relatív koncentrációja emelkedett, amikor az összes alanyt bevonták a statisztikai elemzésbe. Fertőzés alatt, faj szintjén a *B. vulgatus* emelkedett szintet mutatott, összehasonlítva a gyógyulás után nyert mintákkal.

Az atléta és edzetlen csoportok baktériumflórájában nem találtunk jelentős különbségeket, és nem tudtunk azonosítani olyan baktériumokat, amelyek összefüggésbe hozhatók a COVID-19 fertőzés súlyosságával.

Fontos eredményünk viszont, hogy ugyan az atléta csoportok esetében nem találtunk különbséget a kontrollhoz viszonyítva, viszont ha a kardiovaszkuláris fittség (VO_{2max}) kapcsolatát vizsgáltuk a bakteriális összetétellel, abban az esetben szignifikáns összefüggések voltak kimutathatók.

Végezetül eredményeink szerint az edzés élettani változói mellett más egészségügyi változók is szerepet játszanak a megfelelő mikrobiom kialakulásában. Érdeemes figyelembe venni ezen tényezőket és komplex rendszerként kezelni az egyént.

8. Összefoglalás

Összefoglalva, várakozásunkkal ellentétben nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni az edzett és ülő munkát folytató alanyok székletmikrobiom-flórájában, bár meg kell említeni, hogy szinte minden alanyra a COVID-19 enyhe tünetei, illetve tünetmentesség volt jellemző. A jelenlegi tanulmány fő megállapítása, hogy az enyhe COVID-19 fertőzés során a Bacteroidetes szintje megemelkedik, ami a TLR4 és ACE2 receptorok aktiválódásának elnyomásával támogatja az immunrendszert, azonban ez a következtetés további kutatásokat igényel.

Keresztmetszeti vizsgálataink fontos eredménye, hogy a fittségi és az élettani mutatók szignifikáns kapcsolatot mutattak a mikrobiom összetétellel, a mikrobiológiai taxon abundanciák pedig a két nemből eltéréseket mutattak. Ez egyfelől azt jelentheti, hogy a férfiak és a nők edzésadaptációja más mikroorganizmusok elszaporodásának kedvez a bélrendszerben.

A fizikai edzettség, hasonlóan a tápcsatorna mikrobiomjához több tényezős rendszer, mely különböző markerekkel jellemezhető. Talán nem véletlen, hogy olyan kategóriák, amelyek nem mért élettani értékek alapján kategorizálnak edzettségi csoportokat, nem feltétlenül bizonyulnak sikeresnek a mikrobiom összetételt érintő vizsgálatban. A heti edzésszám, valamint sportági osztály szint alapján történő beavogatás eltérő kondicionális képességekkel rendelkező alanyokat sorolhat egy csoportba.

Fontos kiemelni, hogy a mikrobiom összetétel úgy tűnik, érzékenyebb mind nők mind, férfiak esetében a fittségi és egészségi mutatók státuszára, mintsem csupán a rendszeres fizikai aktivitásra. Ez azt jelenti, hogy valószínűleg az említett mutatók edzésadaptációja az, ami mentén a mikrobiom összetétel reagál. A teljesítmény és egészségi állapot markereinek monitorozása és edzéssel történő adaptálása kiemelkedő jelentőségű lehet az optimális mikrobiom összetétel kialakításához, mely talán hozzá tud járulni a szervezet optimális immunműködéséhez.

9. Summary

In summary, contrary to our expectations, we could not detect a significant difference in the fecal microbiome flora of exercised and sedentary subjects. However, it should be mentioned that almost all subjects reported mild symptoms of COVID-19. The main finding of the current study is that levels of Bacteroidetes increase during mild COVID-19 infection, which may support the immune system by suppressing the activation of TLR4 and ACE2 receptors, however, this conclusion requires further research.

The important results of our cross-sectional studies were that fitness and physiological indicators have shown a significant relationship, and the microbiological taxa abundance showed a difference between the two sexes.

Physical fitness, similar to the gastrointestinal microbiome, is a multifactorial system characterized by different markers. It is perhaps no coincidence that categories that classify fitness groups based on unmeasured physiological values may not be successful in microbiome composition studies. Selection based on weekly training numbers and sports class levels can classify subjects with different conditioning abilities into one group.

It is important to note that microbiome composition appears to be more sensitive to the status of fitness and health indicators in both women and men than to regular physical activity. Monitoring and adapting markers of performance and health status through exercise can be of outstanding importance for creating optimal microbiome composition, which may contribute to the optimal immune function of the body. In summary, contrary to our expectations, we could not detect a significant difference in the fecal microbiome flora of exercised and sedentary subjects, although it should be mentioned that almost all subjects reported mild symptoms of COVID-19.

10. Irodalomjegyzék

1. Epidemiology Working Group for NCIP Epidemic Response, Chinese Center for Disease Control and Prevention (2020) The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China. *Zhonghua liu xing bing xue za zhi*, 2:145-151.
2. Abraham A, Pedregosa F, Eickenberg M, Gervais P, Mueller A, Kossaifi J, Gramfort A, Thirion B, Varoquaux G. (2014) Machine learning for neuroimaging with scikit-learn. *Front Neuroinform*:14.
3. Abraham D, Feher J, Scuderi GL, Szabo D, Dobolyi A, Cservenak M, Juhasz J, Ligeti B, Pongor S, Gomez-Cabrera MC, Vina J, Higuchi M, Suzuki K, Boldogh I, Radak Z. (2019) Exercise and probiotics attenuate the development of Alzheimer's disease in transgenic mice: Role of microbiome. *Exp Gerontol*:122-131.
4. Ansart S, Pelat C, Boelle PY, Carrat F, Flahault A, Valleron AJ. (2009) Mortality burden of the 1918-1919 influenza pandemic in Europe. *Influenza Other Respir Viruses*, 3:99-106.
5. Babszky G, Torma F, Aczel D, Bakonyi P, Gombos Z, Feher J, Szabo D, Ligeti B, Pongor S, Balogh L, Posa A, Radak Z. (2021) COVID-19 Infection Alters the Microbiome: Elite Athletes and Sedentary Patients Have Similar Bacterial Flora. *Genes*, 10.
6. Bachmann M, Meissner C, Pfeilschifter J, Muhl H. (2017) Cooperation between the bacterial-derived short-chain fatty acid butyrate and interleukin-22 detected in human Caco2 colon epithelial/carcinoma cells. *BioFactors (Oxford, England)*, 2:283-292.
7. Bai Y, Yao L, Wei T, Tian F, Jin DY, Chen L, Wang M. (2020) Presumed Asymptomatic Carrier Transmission of COVID-19. *Jama*, 14:1406-1407.

8. Bennett H, Parfitt G, Davison K, Eston R. (2016) Validity of Submaximal Step Tests to Estimate Maximal Oxygen Uptake in Healthy Adults. *Sports Med*, 5:737-750.
9. Boulange CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. (2016) Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med*, 1:42.
10. Brooks EF, Bhatt AS. (2021) The gut microbiome: a missing link in understanding the gastrointestinal manifestations of COVID-19? *Cold Spring Harb Mol Case Stud*, 2.
11. Buckley JP, Sim J, Eston RG, Hession R, Fox R. (2004) Reliability and validity of measures taken during the Chester step test to predict aerobic power and to prescribe aerobic exercise. *Br J Sports Med*, 2:197-205.
12. Bycura D, Santos AC, Shiffer A, Kyman S, Winfree K, Sutcliffe J, Pearson T, Sonderegger D, Cope E, Caporaso JG. (2021) Impact of Different Exercise Modalities on the Human Gut Microbiome. *Sports (Basel)*, 2.
13. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJ, Holmes SP. (2016) DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*, 7:581-583.
14. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R. (2008) Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*, 6:1470-1481.
15. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JI, Huttley GA, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone CA, McDonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters WA, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*, 5:335-336.

16. Chan JF, Yuan S, Kok KH, To KK, Chu H, Yang J, Xing F, Liu J, Yip CC, Poon RW, Tsoi HW, Lo SK, Chan KH, Poon VK, Chan WM, Ip JD, Cai JP, Cheng VC, Chen H, Hui CK, Yuen KY. (2020) A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet*, 10223:514-523.
17. Cho I, Blaser MJ. (2012) The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature reviews Genetics*, 4:260-270.
18. Cho J, Kim D, Kang H. (2020) Exercise Preconditioning Attenuates the Response to Experimental Colitis and Modifies Composition of Gut Microbiota in Wild-Type Mice. *Life (Basel)*, 9.
19. Chriett S, Dąbek A, Wojtala M, Vidal H, Balcerczyk A, Pirola L. (2019) Prominent action of butyrate over β -hydroxybutyrate as histone deacetylase inhibitor, transcriptional modulator and anti-inflammatory molecule. *Sci Rep*, 1:742.
20. d'Hennezel E, Abubucker S, Murphy LO, Cullen TW. (2017) Total Lipopolysaccharide from the Human Gut Microbiome Silences Toll-Like Receptor Signaling. *Msystems*, 6.
21. da Silveira MP, da Silva Fagundes KK, Bizuti MR, Starck E, Rossi RC, de Resende ESDT. (2021) Physical exercise as a tool to help the immune system against COVID-19: an integrative review of the current literature. *Clin Exp Med*, 1:15-28.
22. Davenport ER, Sanders JG, Song SJ, Amato KR, Clark AG, Knight R. (2017) The human microbiome in evolution. *BMC biology*, 1:127.
23. de Souto Barreto P, Vellas B, Rolland Y. (2021) Physical activity and exercise in the context of SARS-Cov-2: A perspective from geroscience field. *Ageing Res Rev*:101258.
24. Dominguez-Bello MG, Godoy-Vitorino F, Knight R, Blaser MJ. (2019) Role of the microbiome in human development. *Gut*, 6:1108-1114.

25. Ejaz H, Alsrhani A, Zafar A, Javed H, Junaid K, Abdalla AE, Abosalif KOA, Ahmed Z, Younas S. (2020) COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients. *Journal of infection and public health*, 12:1833-1839.
26. Emoto T, Yamashita T, Sasaki N, Hirota Y, Hayashi T, So A, Kasahara K, Yodoi K, Matsumoto T, Mizoguchi T, Ogawa W, Hirata K. (2016) Analysis of Gut Microbiota in Coronary Artery Disease Patients: a Possible Link between Gut Microbiota and Coronary Artery Disease. *J Atheroscler Thromb*, 8:908-921.
27. Eory A, Bekesi D, Eory A, Rozsa S. (2021) Physical Exercise as a Resilience Factor to Mitigate COVID-Related Allostatic Overload. *Psychother Psychosom*, 3:200-206.
28. Faghy MA, Ashton REM, Gough L, Arena R, Lavie CJ, Ozemek C. (2023) The Impact of COVID-19 on the Social Determinants of Cardiovascular Health. *The Canadian journal of cardiology*, 6:754-760.
29. Fang L, Karakiulakis G, Roth M. (2020) Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection? *Lancet Respir Med*, 4:e21.
30. Filgueira TO, Castoldi A, Santos LER, de Amorim GJ, de Sousa Fernandes MS, Anastácio W, Campos EZ, Santos TM, Souto FO. (2021) The Relevance of a Physical Active Lifestyle and Physical Fitness on Immune Defense: Mitigating Disease Burden, With Focus on COVID-19 Consequences. *Front Immunol*:587146.
31. Geva-Zatorsky N, Sefik E, Kua L, Pasmán L, Tan TG, Ortiz-Lopez A, Yanortsang TB, Yang L, Jupp R, Mathis D, Benoist C, Kasper DL. (2017) Mining the Human Gut Microbiota for Immunomodulatory Organisms. *Cell*, 5:928-943.e911.
32. Gong YN, Lee KM, Shih SR. (2022) Evolution and Epidemiology of SARS-CoV-2 Virus. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*:3-18.
33. Gu J, Gong E, Zhang B, Zheng J, Gao Z, Zhong Y, Zou W, Zhan J, Wang S, Xie Z, Zhuang H, Wu B, Zhong H, Shao H, Fang W, Gao D, Pei F, Li X, He Z, Xu D,

- Shi X, Anderson VM, Leong AS. (2005) Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *J Exp Med*, 3:415-424.
34. Huang J, Liao J, Fang Y, Deng H, Yin H, Shen B, Hu M. (2020) Six-Week Exercise Training With Dietary Restriction Improves Central Hemodynamics Associated With Altered Gut Microbiota in Adolescents With Obesity. *Front Endocrinol (Lausanne)*:569085.
 35. Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszky G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszy M, Teglas T, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Kerepesi C, Boldogh I, Ba X, Davies KJA, Horvath S, Radak Z. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. *GeroScience*, 5:2805-2817.
 36. Krajewska-Włodarczyk M. (2017) The gastrointestinal tract microbiom in connective tissue diseases. *Przegląd lekarski*, 2:84-88.
 37. Krajewska-Włodarczyk M. (2017) The role of the human microbiom in the pathogenesis of rheumatoid arthritis - a literature review. *Wiadomosci lekarskie*, 4:798-803.
 38. Kuitunen I, Uimonen MM, Ponkilainen VT. (2021) Team-to-team transmission of COVID-19 in ice hockey games - a case series of players in Finnish ice hockey leagues. *Infect Dis (Lond)*, 3:201-205.
 39. Kunutsor SK, Laukkanen JA. (2021) High fitness levels, frequent sauna bathing and risk of pneumonia in a cohort study: Are there potential implications for COVID-19? *Eur J Clin Invest*, 3:e13490.
 40. Lam TT, Jia N, Zhang YW, Shum MH, Jiang JF, Zhu HC, Tong YG, Shi YX, Ni XB, Liao YS, Li WJ, Jiang BG, Wei W, Yuan TT, Zheng K, Cui XM, Li J, Pei GQ, Qiang X, Cheung WY, Li LF, Sun FF, Qin S, Huang JC, Leung GM, Holmes EC, Hu YL, Guan Y, Cao WC. (2020) Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*, 7815:282-285.

41. Liu F, Ye S, Zhu X, He X, Wang S, Li Y, Lin J, Wang J, Lin Y, Ren X, Li Y, Deng Z. (2021) Gastrointestinal disturbance and effect of fecal microbiota transplantation in discharged COVID-19 patients. *J Med Case Rep*, 1:60.
42. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. (2016) The healthy human microbiome. *Genome Med*, 1:51.
43. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, Wang W, Song H, Huang B, Zhu N, Bi Y, Ma X, Zhan F, Wang L, Hu T, Zhou H, Hu Z, Zhou W, Zhao L, Chen J, Meng Y, Wang J, Lin Y, Yuan J, Xie Z, Ma J, Liu WJ, Wang D, Xu W, Holmes EC, Gao GF, Wu G, Chen W, Shi W, Tan W. (2020) Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*, 10224:565-574.
44. Lynch SV, Pedersen O. (2016) The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. *The New England journal of medicine*, 24:2369-2379.
45. Mack D, Gartner BC, Rossler A, Kimpel J, Donde K, Harzer O, Krutsch W, von Laer D, Meyer T. (2021) Prevalence of SARS-CoV-2 IgG antibodies in a large prospective cohort study of elite football players in Germany (May-June 2020): implications for a testing protocol in asymptomatic individuals and estimation of the rate of undetected cases. *Clin Microbiol Infect*, 3:473.e471-473.e474.
46. Maslennikov R, Poluektova E, Ivashkin V, Svistunov A. (2021) Diarrhoea in adults with coronavirus disease-beyond incidence and mortality: a systematic review and meta-analysis. *Infect Dis (Lond)*, 5:348-360.
47. Mayer EA. (2000) The neurobiology of stress and gastrointestinal disease. *Gut*, 6:861-869.
48. Misra A, Ghosh A, Gupta R. (2021) Heterogeneity in presentation of hyperglycaemia during COVID-19 pandemic: A proposed classification. *Diabetes Metab Syndr*, 1:403-406.
49. Nieman DC, Pence BD. (2020) Exercise immunology: Future directions. *J Sport Health Sci*, 5:432-445.

50. Pope JL, Tomkovich S, Yang Y, Jobin C. (2017) Microbiota as a mediator of cancer progression and therapy. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*:139-154.
51. Radak Z, Suzuki K, Posa A, Petrovszky Z, Koltai E, Boldogh I. (2020) The systemic role of SIRT1 in exercise mediated adaptation. *Redox Biol*:101467.
52. Rhee SH, Pothoulakis C, Mayer EA. (2009) Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 5:306-314.
53. Root-Bernstein R. (2021) Innate Receptor Activation Patterns Involving TLR and NLR Synergisms in COVID-19, ALI/ARDS and Sepsis Cytokine Storms: A Review and Model Making Novel Predictions and Therapeutic Suggestions. *Int J Mol Sci*, 4.
54. Scheffer DDL, Latini A. (2020) Exercise-induced immune system response: Anti-inflammatory status on peripheral and central organs. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 10:165823.
55. Scheiman J, Luber JM, Chavkin TA, MacDonald T, Tung A, Pham LD, Wibowo MC, Wurth RC, Punthambaker S, Tierney BT, Yang Z, Hattab MW, Avila-Pacheco J, Clish CB, Lessard S, Church GM, Kostic AD. (2019) Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. *Nature medicine*, 7:1104-1109.
56. Schmieder R, Lim YW, Rohwer F, Edwards R. (2010) TagCleaner: Identification and removal of tag sequences from genomic and metagenomic datasets. *BMC Bioinformatics*:341.
57. Scudiero O, Lombardo B, Brancaccio M, Mennitti C, Cesaro A, Fimiani F, Gentile L, Moscarella E, Amodio F, Ranieri A, Gragnano F, Laneri S, Mazzaccara C, Di Micco P, Caiazza M, D'Alicandro G, Limongelli G, Calabrò P, Pero R, Frisso G. (2021) Exercise, Immune System, Nutrition, Respiratory and

- Cardiovascular Diseases during COVID-19: A Complex Combination. *Int J Environ Res Public Health*, 3.
58. Shang J, Du L, Han N, Lv D, Wang J, Yang H, Bai L, Tang H. (2021) Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 for physicians: Molecular characteristics and host immunity (Review). *Mol Med Rep*, 4.
 59. Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihara H, Geng Q, Auerbach A, Li F. (2020) Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*, 7807:221-224.
 60. Skugor K, Gilic B, Karnincic H, Jokai M, Babszky G, Ranisavljev M, Stajer V, Roklicer R, Drid P. (2023) What Determines the Competitive Success of Young Croatian Wrestlers: Anthropometric Indices, Generic or Specific Fitness Performance? *Journal of functional morphology and kinesiology*, 3.
 61. Smits WK, Lyras D, Lacy DB, Wilcox MH, Kuijper EJ. (2016) *Clostridium difficile* infection. *Nature reviews Disease primers*:16020.
 62. Stadnytskyi V, Bax CE, Bax A, Anfinrud P. (2020) The airborne lifetime of small speech droplets and their potential importance in SARS-CoV-2 transmission. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 22:11875-11877.
 63. Stout AE, Andre NM, Jaimes JA, Millet JK, Whittaker GR. (2020) Coronaviruses in cats and other companion animals: Where does SARS-CoV-2/COVID-19 fit? *Veterinary microbiology*:108777.
 64. Tabone M, Bressa C, García-Merino JA, Moreno-Perez D, Van EC, Castelli FA, Fenaille F, Larrosa M. (2021) The effect of acute moderate-intensity exercise on the serum and fecal metabolomes and the gut microbiota of cross-country endurance athletes. *Sci Rep*, 1:3558.
 65. Tajbakhsh A, Gheibi Hayat SM, Taghizadeh H, Akbari A, Inabadi M, Savardashtaki A, Johnston TP, Sahebkar A. (2021) COVID-19 and cardiac injury: clinical manifestations, biomarkers, mechanisms, diagnosis, treatment, and follow up. *Expert review of anti-infective therapy*, 3:345-357.

66. Takeshita K, Mizuno S, Mikami Y, Sujino T, Saigusa K, Matsuoka K, Naganuma M, Sato T, Takada T, Tsuji H, Kushiro A, Nomoto K, Kanai T. (2016) A Single Species of Clostridium Subcluster XIVa Decreased in Ulcerative Colitis Patients. *Inflammatory bowel diseases*, 12:2802-2810.
67. Tanaka H, Monahan KD, Seals DR. (2001) Age-predicted maximal heart rate revisited. *Journal of the American College of Cardiology*, 1:153-156.
68. Tavakol Z, Ghannadi S, Tabesh MR, Halabchi F, Noormohammadpour P, Akbarpour S, Alizadeh Z, Nezhad MH, Reyhan SK. (2023) Relationship between physical activity, healthy lifestyle and COVID-19 disease severity; a cross-sectional study. *Z Gesundh Wiss*, 2:267-275.
69. Teglas T, Abraham D, Jokai M, Kondo S, Mohammadi R, Feher J, Szabo D, Wilhelm M, Radak Z. (2020) Exercise combined with a probiotics treatment alters the microbiome, but moderately affects signalling pathways in the liver of male APP/PS1 transgenic mice. *Biogerontology*, 6:807-815.
70. Torma F, Kerepesi C, Jokai M, Babszky G, Koltai E, Ligeti B, Kalcsevszki R, McGreevy KM, Horvath S, Radak Z. (2024) Alterations of the gut microbiome are associated with epigenetic age acceleration and physical fitness. *Aging cell*, 4:e14101.
71. Torma F, Bakonyi P, Regdon Z, Gombos Z, Jokai M, Babszky G, Fridvalszi M, Virag L, Naito H, Iftikhar Bukhari SR, Radak Z. (2021) Blood flow restriction during the resting periods of high-intensity resistance training does not alter performance but decreases MIR-1 and MIR-133A levels in human skeletal muscle. *Sports Med Health Sci*, 1:40-45.
72. Tsuchiya M, Sato EF, Inoue M, Asada A. (2008) Open abdominal surgery increases intraoperative oxidative stress: can it be prevented? *Anesthesia and analgesia*, 6:1946-1952.

73. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 7122:1027-1031.
74. van der Lelie D, Taghavi S. (2020) COVID-19 and the Gut Microbiome: More than a Gut Feeling. *Msystems*, 4.
75. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, Tamin A, Harcourt JL, Thornburg NJ, Gerber SI, Lloyd-Smith JO, de Wit E, Munster VJ. (2020) Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *The New England journal of medicine*, 16:1564-1567.
76. Vatanen T, Kostic AD, d'Hennezel E, Siljander H, Franzosa EA, Yassour M, Kolde R, Vlamakis H, Arthur TD, Hämäläinen AM, Peet A, Tillmann V, Uibo R, Mokurov S, Dorshakova N, Ilonen J, Virtanen SM, Szabo SJ, Porter JA, Lähdesmäki H, Huttenhower C, Gevers D, Cullen TW, Knip M, Xavier RJ. (2016) Variation in Microbiome LPS Immunogenicity Contributes to Autoimmunity in Humans. *Cell*, 4:842-853.
77. Vignesh R, Swathirajan CR, Tun ZH, Rameshkumar MR, Solomon SS, Balakrishnan P. (2020) Could Perturbation of Gut Microbiota Possibly Exacerbate the Severity of COVID-19 via Cytokine Storm? *Front Immunol*:607734.
78. Vodnar DC, Mitrea L, Teleky BE, Szabo K, Călinoiu LF, Nemeş SA, Martău GA. (2020) Coronavirus Disease (COVID-19) Caused by (SARS-CoV-2) Infections: A Real Challenge for Human Gut Microbiota. *Front Cell Infect Microbiol*:575559.
79. Voreades N, Kozil A, Weir TL. (2014) Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Front Microbiol*:494.
80. Walker AW, Parkhill J. (2013) Microbiology. Fighting obesity with bacteria. *Science*, 6150:1069-1070.

81. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, Wang B, Xiang H, Cheng Z, Xiong Y, Zhao Y, Li Y, Wang X, Peng Z. (2020) Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *Jama*, 11:1061-1069.
82. Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, Cole JR. (2007) Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Appl Environ Microbiol*, 16:5261-5267.
83. Wu JT, Leung K, Leung GM. (2020) Nowcasting and forecasting the potential domestic and international spread of the 2019-nCoV outbreak originating in Wuhan, China: a modelling study. *Lancet*, 10225:689-697.
84. Xie XQ, Geng Y, Guan Q, Ren Y, Guo L, Lv Q, Lu ZM, Shi JS, Xu ZH. (2021) Influence of Short-Term Consumption of *Hericium erinaceus* on Serum Biochemical Markers and the Changes of the Gut Microbiota: A Pilot Study. *Nutrients*, 3.
85. Yoshizaki T, Schenk S, Imamura T, Babendure JL, Sonoda N, Bae EJ, Oh DY, Lu M, Milne JC, Westphal C, Bandyopadhyay G, Olefsky JM. (2010) SIRT1 inhibits inflammatory pathways in macrophages and modulates insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 3:E419-428.
86. Young DR, Sallis JF, Baecker A, Cohen DA, Nau CL, Smith GN, Sallis RE. (2023) Associations of Physical Inactivity and COVID-19 Outcomes Among Subgroups. *American journal of preventive medicine*, 4:492-502.
87. Yuen KS, Ye ZW, Fung SY, Chan CP, Jin DY. (2020) SARS-CoV-2 and COVID-19: The most important research questions. *Cell Biosci*:40.
88. Zhao Y, Simon M, Seluanov A, Gorbunova V. (2023) DNA damage and repair in age-related inflammation. *Nature reviews Immunology*, 2:75-89.
89. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, Si HR, Zhu Y, Li B, Huang CL, Chen HD, Chen J, Luo Y, Guo H, Jiang RD, Liu MQ, Chen Y, Shen XR, Wang X, Zheng XS, Zhao K, Chen QJ, Deng F, Liu LL, Yan B, Zhan FX,

Wang YY, Xiao GF, Shi ZL. (2020) A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 7798:270-273.

90. Zhou Y, Chi J, Lv W, Wang Y. (2021) Obesity and diabetes as high-risk factors for severe coronavirus disease 2019 (Covid-19). *Diabetes/metabolism research and reviews*, 2:e3377.

11. Saját publikációk jegyzéke

11.1. Disszertációhoz kapcsolódó közlemények

- Babszky G, Torma F, Aczel D, Bakonyi P, Gombos Z, Feher J, Szabo D, Ligeti B, Pongor S, Balogh L, Posa A, Radak Z. (2021) COVID-19 Infection Alters the Microbiome: Elite Athletes and Sedentary Patients Have Similar Bacterial Flora. *Genes*, 12: 10. **IF: 3.922** (5)
- Torma F, Kerepesi Cs, Jokai M, Babszky G, Koltai E, Ligeti B, Kalcsevszki R, McGreevy K M, Horvath S, Radak Z. (2024) Alterations of the gut microbiome are associated with epigenetic age acceleration and physical fitness. *Aging Cell*, 23: 4. **IF: 7.601** (70)

11.2. Független közlemények

- Jokai M, Torma F, McGreevy K M, Koltai E, Bori Z, Babszky G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszky M, Teglas T, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K Goto S, Kerepesi Cs, Boldogh I, Ba Xueqing, Davies K J A, Horvath S, Radak Z. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. *Geroscience*, 45: 2805-2817. **IF: 5.732** (35)
- Torma F, Bakonyi P, Regdon Z, Gombos Z, Jokai M., Babszky G., Fridvalszki M, Virág L, Naito H, Iftikhar B S R, Radak Z. (2021) Blood flow restriction during the resting periods of high-intensity resistance training does not alter performance but decreases MIR-1 and MIR-133A levels in human skeletal muscle. *Sports Med Health Sci*, 3: 40-45. **IF: 4.857** (71)
- Škugor K, Gilić B, Karninčić H, Jokai M, Babszky G, Ranisavljev M, Štajer V, Roklicer R, Drid, P. (2023). What Determines the Competitive Success of Young

Croatian Wrestlers: Anthropometric Indices. Generic or Specific Fitness Performance? J Funct Morphol Kinesiol, 8: 3. **IF: 2.670** (60)

12. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Radák Zsoltnak, aki az ösztöndíjas éveim alatt mindvégig hasznos elméleti és gyakorlati tudás átadásával segítette a munkámat és bővítette szakmai ismereteimet, a sokszor kudarcokat hozó időszakokban is. Segített a kutatómunkám mellett elhelyezkedni a nagybetűs Életben is. Büszke vagyok rá, hogy ezen munka megszületése is az ő nevéhez köthető!

Továbbá köszönetet szeretnék mondani a Molekuláris Edzésélettani Kutató Központ valamennyi munkatársának is, akik PhD-s éveim alatt mindenben segítették tanulmányaimat és munkásságomat.