

Національний університет фізичного виховання і спорту України  
Науково-дослідний інститут

**НАУКОВО-МЕТОДОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ  
У ФІЗИЧНІЙ КУЛЬТУРІ І СПОРТІ,  
ФІЗИЧНІЙ ТЕРАПІЇ, ЕРГОТЕРАПІЇ,  
ТУРИЗМІ**

КОЛЕКТИВНА МОНОГРАФІЯ

ТОМ 2

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ  
ОСОБЛИВОСТІ АДАПТАЦІЇ  
СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ ДО  
ІНТЕНСИВНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ**

Київ – 2020

ББК 75.072  
УДК 796.015.6:577.21:611.1  
М75

*Рекомендовано до друку Вченою радою  
Національного університету фізичного  
виховання і спорту України  
(протокол № 3 від 30 листопада 2020 р.)*

### Рецензенти

Філіппов Михайло Михайлович, доктор біологічних наук, професор,  
професор кафедри медико-біологічних дисциплін

Шахліна Лариса Ян-Генріхівна, доктор медичних наук, професор,  
професор кафедри спортивної медицини

Науково-методологічні дослідження у фізичній культурі і спорті, фізичній терапії, ерготерапії, туризмі: колективна монографія за результатами завершених у 2019 році наукових досліджень і розробок: у 4 т. / [за ред. Є. В. Імаса, О. В. Борисової, І. О. Когут] // Молекулярно-генетичні особливості адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень / [С. Б. Дроздовська, А. О. Поліщук, Ю. Д. Вінничук, С. В. Гончаров, В. Є. Досенко]. – Київ: Національний університет фізичного виховання і спорту України, 2020. – Т. 2. – 140 с.

У монографії «Молекулярно-генетичні особливості адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень» досліджено роль таких молекулярно-генетичних факторів, як поліморфізм генів та довгі некодуючі РНК, у механізмах адаптації міокарду до інтенсивних фізичних навантажень у спорті. Розглядається можливість використання алельних варіантів генів та рівня експресії некодуючих РНК у якості маркерів розвитку гіпертрофії міокарду у спортсменів.

## ЗМІСТ

	Стр
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ .....	6
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ФАКТОРИ РОЗВИТКУ ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА ПРИ ІНТЕНСИВНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕННЯХ.....	10
1.1 Механізми розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів.....	11
1.2 Роль поліморфізмів генів у формуванні гіпертрофії міокарда ...	14
1.3 Роль довгих некодуючих РНК у процесах адаптації до м'язової діяльності .....	26
1.3.1 Класифікація некодуючих РНК.....	26
1.3.2 Функціональна роль довгої некодуючої РНК МНРТ.....	34
1.3.3 Участь довгої некодуючої РНК МІАТ у метаболічних процесах міокарда МІАТ .....	35
РОЗДІЛ 2 ОРГАНІЗАЦІЯ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	38
2.1. Організація досліджень.....	38
2.1.1. Етапи дослідження.....	38
2.1.2. Характеристика контингенту.....	39
2.2. Методи дослідження.....	40
2.2.1 Молекулярно-генетичні методи.....	40
2.2.2 Фізіологічні методи дослідження.....	55
2.2.2.1. Ергогенне дослідження.....	55
2.2.2.2. Ехокардіографія.....	55
2.2.2.3. Моделювання впливу фізичного навантаження на тваринах	57
2.2.3 Гематологічні та біохімічні дослідження спортсменів .....	59
2.2.4 Методи математичної статистики.....	62
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ УЧАСТІ ДНК-ПОЛІМОРФІЗМІВ ТА НЕКОДУЮЧИХ РНК (нкРНК) У ПРОЦЕСАХ ФОРМУВАННЯ	

ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА У СПОРТСМЕНІВ ПІД ВПЛИВОМ СИСТЕМАТИЧНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ АЕРОБНОГО ХАРАКТЕРУ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ .....	64
3.1 Статичний аналіз результатів обстеження стану серцево-судинної системи спортсменів різних видів спорту.....	64
3.2 Асоціація поліморфізмів генів із схильністю до розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах з переважним розвитком витривалості.....	68
3.3 Асоціація поліморфізмів генів із показниками ехокардіографічного дослідження серця .....	73
3.3.1. Створення способу прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів із врахуванням поліморфізмів генів .....	73
3.3.2. Асоціація поліморфізму гена <i>ACE</i> з ехокардіографічними показниками спортсменів.....	78
3.3.3. Порівняльний аналіз ехокардіографічних показників у спортсменів з різними генотипом за геном <i>mTOR</i> .....	82
3.3.4. Поєднаний аналіз поліморфізмів генів <i>mTOR</i> і <i>ACE</i> при оцінці схильності до розвитку гіпертрофії міокарда.....	89
3.4 Пошук асоціацій поліморфізмів генів із гематологічними та біохімічними показниками спортсменів, які спеціалізуються у видах з переважним розвитком витривалості .....	90
РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ДОВГИХ НЕКОДУЮЧИХ РНК (днкРНК) У ПРОЦЕСАХ ФОРМУВАННЯ ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА У СПОРТСМЕНІВ ПІД ВПЛИВОМ СИСТЕМАТИЧНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ АЕРОБНОГО ХАРАКТЕРУ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ .....	100
4.1 Порівняльний аналіз участі чотирьох довгих некодуючих РНК ( <i>LIPCAR</i> , <i>NRON</i> , <i>MHRT</i> , <i>MIAT</i> ) у адаптаційних процесах, що відбуваються у відповідь на фізичні навантаження різного характеру.....	100

4.1.1 Зміни експресії чотирьох довгих некодуючих РНК під впливом фізичних навантажень помірної потужності .....	101
4.1.2 Зміни експресії чотирьох довгих некодуючих РНК під впливом фізичних навантажень великої потужності .....	103
4.2 Вплив рівня днкРНК на ехокардіографічні показники серця спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним розвитком витривалості .....	110
4.3 Дослідження зміни експресії довгої некодуючої РНК МІАТ під впливом інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру на у міокарді та скелетних м'язах щурів .....	116
ВИСНОВКИ.....	120
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	124

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

ГМ – гіпертрофія міокарда

ГЛШ – гіпертрофія ЛШ

ГКМП – гіпертрофічна кардіоміопатія

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

днкРНК – довгі некодуючі РНК

ЕКГ – електрокардіографія

ЕхоКГ – ехокардіографія

ІМЛШ – індекс маси міокарда ЛШ

ІРЛШ – індекс роботи ЛШ

ЗСТ – товщина задньої стінки ЛШ

КДО – об'єм ЛШ на кінцево-діастолічному зображенні

КДР – внутрішній діаметр ЛШ в діастолу

КДТ – кінцевий діастолічний тиск

КМП -кардіоміопатія

ММЛШ – маса міокарда ЛШ

нкРНК – некодуючі РНК

РНК – рибонуклеїнова кислота

ФВ% – фракція викиду ЛШ

АСЕ – ангіотензинперетворюючий фермент

CHAST – серцевий гіпертрофія-асоційований транскрипт

*Col12A1* – ген  $\alpha$ -ланцюга колагену 12 типу

eNOS – ендотеліальна NO-синтаза

IGF1 – інсуліноподібний фактор росту

*MCT1* – ген монокарбоксилат транспортеру

МНС – важкий ланцюг міозину

МНРТ – довга некодуюча РНК, асоційована із важким ланцюгом міозина

MIAT – РНК-транскрипт, асоційований із інфарктом міокарда

lncRNA – довгі некодуючі РНК

LIPCAR – мітохондріальна довга некодуюча РНК uc022bqs

NRON – довга некодуюча РНК – репресор ядерного фактора, що активує Т-клітини

*PPARA* – ген  $\alpha$  - рецептора, що активується проліфераторами пероксисом

*PPARD* – ген  $\delta$  - рецептора, що активується проліфераторами пероксисом

*PPARG* – ген  $\gamma$  - рецептора, що активується проліфераторами пероксисом

*PGC1A* – альфа-коактиватор  $\gamma$ -рецепторів, що активуються проліфераторами пероксисом

*UCP2* – ген роз'єднувального білка II типу

## ВСТУП

Дослідження молекулярних механізмів і закономірностей адаптації до фізичних навантажень є базисом підвищення фізичної працездатності та становить актуальну проблему фізіології та спортивної медицини. Адаптація організму – це пристосувальний процес досягнення певного рівня активності і можливостей функціональних систем, органів та тканин, механізмів регуляції, адекватних вимогам подразника. Адаптація серцево-судинної системи (ССС) до інтенсивних фізичних навантажень – одна із неминучих структурно-функціональних перебудов організму спортсмена, що дозволяє спортсмену виконувати фізичні навантаження різного діапазону потужності і тривалості, розвивати більш високі м'язові зусилля порівняно із нетренованими особами. Довготривала адаптація ССС, що пов'язана зі структурною зміною органів, збільшенням їх маси, експлуатує генетично обумовлені та обмежені адаптаційні можливості.

Використання фізичних вправ має широкий спектр позитивних ефектів на організм, у тому числі покращує стан ССС, впливає на показники метаболізму міокарда, які часто у зарубіжній літературі називають кардіометаболічним здоров'ям. Періодична дія метаболічних стресових факторів, одним з яких є інтенсивна фізична робота, є фундаментальним чинником у розвитку адаптації тканин ССС. Гіпертрофія міокарда є однією з невід'ємних фенотипічних рис адаптації серця до м'язової діяльності. З іншого боку, через труднощі визначення допустимих меж, надмірні фізичні навантаження можуть провокувати розвиток патологічних станів цієї системи. До таких станів належать патологічні форми гіпертрофії міокарда. Хронічні перенавантаження викликають серцево-судинні захворювання, що є важливим фактором всіх видів смертності, зокрема, вважаються однією з найпоширеніших причин раптової смерті у спортсменів, до гіпертрофічної кардіоміопатії (ГКМП). ГКМП належить до генетично обумовлених захворювань, що зустрічається у 2 % спортсменів. Дискутуються не тільки



можливі механізми розвитку такого стану, але й сам факт існування патологічної гіпертрофії міокарда у спортсменів викликає значні дебати, хоча відмінності фізіологічного спортивного серця та патологічного серця чітко встановлені. Прибічники існування цієї патології вживають різні назви, з яких найчастіше використовують таку, як стресорна кардіоміопатія [10, 17, 22]. Термінологічні труднощі, відсутність єдиної концепції виникнення та алгоритму діагностики спричиняє перешкоди для її виявлення та створення чітких діагностичних підходів до лікування з одного боку, та гіпердіагностику з іншого.

Встановлення механізмів розвитку гіпертрофії міокарда, залежність її проявів від молекулярно-генетичних спадкових чинників, ймовірність переходу фізіологічної гіпертрофії міокарда в гіпертрофічну кардіоміопатію є важливими задачами, що стоять перед спортивними лікарями. Врахування молекулярно-генетичних маркерів, що передбачають реакції серцево-судинної системи на тривалі фізичні навантаження, взаємозв'язку між особливостями функціонування генів та розвитком патологій ССС, дозволить проводити заходи попередження розвитку патологічних станів у спортсменів, розробляти стратегію педагогічних тренувальних заходів для уникнення розвитку патологій, і тим самим покращити стан здоров'я спортсменів та процес спортивного добору; підвищити ефективність тренувального процесу спортсменів шляхом розробки практичних рекомендацій для його корекції.

У цьому томі монографії описані молекулярно-генетичні фактори, що визначають розвиток гіпертрофії міокарда у спортсменів, до яких належать поліморфізми генів та довгі некодуючі РНК.

Автори висловлюють подяку за допомогу у проведенні експериментальних досліджень завідувачу кафедри кардіології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика, професору, д.м.н. Долженко М. М. та к.м.н., асистенту кафедри Груб'як Л. М.

**РОЗДІЛ 1**  
**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ФАКТОРИ РОЗВИТКУ**  
**ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА ПРИ ІНТЕНСИВНИХ ФІЗИЧНИХ**  
**НАВАНТАЖЕННЯХ**

Гіпертрофія міокарда (ГМ) є однією з невід'ємних фенотипічних рис адаптації серця до м'язової діяльності, що разом з дилатацією порожнин та брадикардією входить до «тріади спортивного серця». За результатами дослідників такий індикатор гіпертрофії як маса міокарда ЛШ (ММЛШ), у спортсменів різних спеціалізацій на 20–40 % перевищує належні величини, а ступінь та локалізація гіпертрофії залежать від інтенсивності та характеру навантажень [7]. Дані щодо частоти зустрічі гіпертрофії міокарда у спортсменів є суперечливим. За одними даними, отриманими за допомогою методу ЕКГ (Л. В. Левіна, 1969), ГМ виявляється у 57 % спортсменів, у 36 % – фізіологічна стадія, у 15% – проміжна і у 6 % – патологічна; за іншими даними від 1,7 % елітних спортсменів до 2,5% характеризуються гіпертрофією міокарда [81]. У велосипедистів гонки Tour de France ГМ була зареєстрована у 8,7 % учасників [25]. У 6 % обстежених російських спортсменів товщина міокарда становила понад 13 мм [9]. Основними проявами гіпертрофії міокарда вважається товщина міокарда понад 13 мм у чоловіків і 11 мм – у жінок; КДРЛШ понад 60 мм, ММ понад 170 г [7, 9]. Крім того, зміни структурних показників ЛШ серця спортсменів поділяють на: помірно збільшені (КДО – 145–174 мл, ММ – 145 – 179 г), виражено збільшені (КДО – 175-204 мл, ММ – 180-214 г), значно виражено збільшені (КДО  $\geq$ 205мл, ММ  $\geq$ 215 г),

Основними відмінностями фізіологічного спортивного серця та патологічного серця є економізація функцій в умовах спокою та помірних навантажень, максимальна працездатність серця під час виконання фізичних навантажень високої потужності, що досягається за рахунок здатності до приросту ударного об'єма серця і його стабілізації на фоні граничних значень

ЧСС [9]. Крім того, основними ознаками здорового серця є зворотність процесу гіпертрофії і відсутність фіброзу.

Більшість фахівців зі спортивної медицини та кардіології збігаються у думці, що психоемоційні та надмірні фізичні навантаження у спортсменів, особливо у видах спорту з розвитком витривалості, призводять до розвитку патологічної гіпертрофії міокарда з подальшою дистрофією [10, 22]. На сьогодні цей стан недостатньо вивчений, офіційно не визнаний і має безліч назв: «стресорна кардіоміопатія», «кардіоміопатія внаслідок хронічного фізичного перенапруження організму спортсменів», «дистрофія міокарда внаслідок фізичного перенапруження». У X перегляді міжнародної класифікації хворіб (ВОЗ, 1995) ця патологія названа «кардіоміопатія зі вторинним залученням міокарда в умовах впливу фізичних стресових перевантажень».

### **1.1. Механізми розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів**

Характер та інтенсивність фізичних навантажень впливають на хід адаптаційних процесів у серці. Статичні вправи індукують концентричний тип гіпертрофії ЛШ, а динамічні – ексцентричний тип, що характеризується збільшенням об'єму ЛШ. Встановлено, що у спортсменок, які спеціалізуються у водному поло, вищі показники індексу кінцево-діастолічного об'єму ЛШ, порівняно із жінками, що займаються бодіблдингом та жінками контрольної групи [46].

Регуляція маси міокарда залежить від взаємодії фізичних навантажень з серцевими факторами росту та індивідуальними генетичними особливостями. Не дивлячись на особливості анатомічного та електричного ремоделювання, що близькі до патологічних, «серце спортсмена» характеризується нормальним або субнормальним рівнем функціонування кардіоміоцитів [120]. Деякі дослідники стверджують, що 60% варіабельності ММ ЛШ залежить від генетичних факторів [148]. Фізіологічна гіпертрофія у

відповідь на фізичні вправи відрізняється від патологічної стимулами, структурою та молекулярним профайлом [98].

І хоча якісні та кількісні показники вираженості гіпертрофії міокарда достатньо вивчені та класифіковані [7, 152], до сих пір не вщухають дискусії про механізми формування гіпертрофії та можливість трансформації фізіологічної гіпертрофії у патологічну під впливом фізичних навантажень. Не зважаючи на те, що рухова активність є одним з найбільш надійних засобів профілактики ряду серцево-судинних захворювань, а високий рівень рухової активності строго асоційований зі зниженням частоти випадків цих захворювань, надмірні фізичні навантаження можуть бути фактором, що провокує їх розвиток. Крім того, у ризик їх розвитку вносять внесок генетичні фактори, що пояснюють гетерогенність впливу фізичних вправ на ризик серцево-судинних захворювань [1, 142].

Нерідко у спортсменів діагностують розвиток гіпертрофічної кардіоміопатії (ГКМП), яка вважається однією з найбільш частих причин раптової смерті спортсменів. За сучасними уявленнями ГКМП є переважно генетично обумовленим захворюванням, причиною якого є понад 1400, описаних до сьогодні поліморфізмів генів, що кодують білки серцевого саркомера і деяких несаркомерних білків. Найбільш поширеною думкою є положення про те, що у спортсменів зустрічається тільки первинна гіпертрофічна кардіоміопатія, пов'язана зі спадковими особливостями. На сьогодні за допомогою широкогеномних досліджень встановлено ряд поліморфізмів, асоційованих з великою кількістю серцево-судинних та метаболічних хворіб [61, 73], але ступінь успадковування реакцій серцево-судинної системи на тривалі фізичні навантаження досі ще мало вивчений. Розуміння ймовірності трансформації фізіологічної гіпертрофії міокарда спортсменів у патологічну, що широко дискутується, потребує додаткових досліджень.

Основним механізмом формування гіпертрофії міокарда вважається розростання структури кардіоміоцитів та розвиток капілярного русла. У

відповідь на фізичні навантаження у клітинах міокарда активуються два сигнальні шляхи [98]. Вважається, що активація сигнального шляху фактору росту нейрегуліну 1 (NRG1)-ErbB4- C/EBP $\beta$ ) є одним з найважливіших молекулярних механізмів, що обумовлюють зміни у кардіоміоцитах під час фізичних навантажень [103]. Підвищена регуляція цього фактору призводить до зменшення експресії транскрипційного фактора C/EBP $\beta$  (ССААТ/енхансер-зв'язуючий білок  $\beta$  і пов'язаного збільшення експресії CITED4 (Cbp/p300-interacting transactivator). Зменшення експресії C/EBP $\beta$  призводить до підвищення регуляції генів гіпертрофії Gata4, Tbx5, Nkx2,5, 2-MHC, TnI, TnT [36]. Іншим важливим механізмом, що індукується фізичними вправами, є (IGF)-1-PI3k-Akt сигнальний шлях, активація якого впливає на розвиток гіпертрофії міокарда [152]. Вплив на будь-яку з ланок цих сигнальних шляхів може спричинити зміни у перебігу адаптаційних процесів міокарда у відповідь на фізичні вправи. Існує думка, що сигнальні шляхи фізіологічної та патофізіологічної гіпертрофії міокарда відрізняються. Якщо у випадку з фізіологічною гіпертрофією фізичні вправи викликають виділення IGF1, що веде до зростання розміру кардіоміоцитів через активацію PI3K(p110 $\alpha$ ) і AKt1, то у випадку формування патологічної гіпертрофії такі сигнальні молекули, як Ang II та ET-1, призводять до збільшення у розмірах серця через GPCRs (G-протеїнзв'язуючий рецептор) [152]. Крім того, сигнальні шляхи концентричного та ексцентричного типів гіпертрофії також відрізняються.

Як виявилось у дослідженнях, найбільший вплив на розвиток гіпертрофії спричиняє змінений рівень не білкового обміну, а жирового та вуглеводного. В умовах нормоксії 95 % енергії міокард отримує за рахунок окисного фосфорилування, а 5 % – гліколізу [53]. 84 % жирних кислот, що потрапляють у міоцити, окиснюються. Такі субстрати, як глюкоза, лактат і піруват є більш ефективними енергетичними ресурсами для серця. У нормальних умовах глюкозний метаболізм забезпечує 2 – 8 % енергії. Лактат

є важливим джерелом енергії для серця, що вносить 15% у виробництво АТФ.

Під час виконання фізичних вправ гормонактивований ліполіз збільшує кількість жирних кислот і посилює їх споживання міокардом. Проте також збільшується і утилізація тригліцеридів, стимулюється здатність до утилізації лактату [82]. Експресія генів, що відповідають за транспорт жирних кислот та їх катаболізм, підвищується [53]

Геномодифіковане пригнічення ліполітичної активності в жировій тканині, що викликається фізичними вправами, зменшує рівень жирних кислот у крові, їх споживання міокардом та знижує рівень розвитку гіпертрофії міокарда. Підвищений рівень палмітолеїнової кислоти сприяє розвитку гіпертрофії міокарда [51].

## **1.2. Роль поліморфізмів генів у формуванні гіпертрофії міокарда**

Нещодавно було встановлено, що наявність певних алелей в генах, що контролюють синтез білків-регуляторів метаболічних мереж, може бути несприятливим фактором для спортсменів. Під впливом цих алелей активізується процес патологічного стресіндукованого ремоделювання міокарда у спортсменів. Перелік поліморфізмів генів та несприятливих алелей зростає щорічно у геометричній прогресії. До них на сьогодні належать гени ренін-ангіотензинової системи, гени структурних білків серцевого м'яза та гени факторів росту (табл. 1.1). Незважаючи на те, що перелік генів, які впливають на розвиток захворювань серцево-судинної системи та їх несприятливих алелей, щорічно зростає у геометричній прогресії. Остаточно окремий внесок поліморфізмів генів на ймовірність виникнення цих патологій у спортсменів не визначено.

Ренін-ангіотензинова система відіграє ключову роль у розвитку гіпертрофії міокарда, оскільки є однією з систем, що активується під впливом фізичних вправ. Високий рівень реніну плазми крові, ангіотензинів I та II було встановлено після виконання фізичних вправ, спрямованих на

розвиток витривалості, але рівень ангіотензинперетворюючого ферменту (*ACE*) у крові здорових осіб не змінився. Була встановлена асоціація між поліморфізмами генів *ACE* (I/D), ангіотензиногена (235 met/tre) з масою ЛШ серця у спортсменів [71].

Таблиця 1.1 – Перелік генів-кандидатів, що кодують білки, які впливають на роботу серцево-судинної системи

Скорочена назва гена	Повна назва гена	Поліморфізм	Функціональне значення поліморфізму
<i>ACE</i>	Ген ангіотензинперетворюючого ферменту	I/D indel	Плейотропна дія: збільшує кількість АПФ, є фактором росту м'язових волокон
<i>mTOR</i>	Ген рецептора рапаміцину у савців	rs11121704 rs 2295080	серин/треонін специфічна протеїнкіназа, що відіграє важливу роль у передачі позаклітинних сигналів через фосфорилування різних ферментів білкового обмін
<i>MYH7</i>	Ген важкого ланцюга міозину $\beta$	Gly354Gly	Структурний білок саркомера
<i>Fstl1</i>	Ген фоллістатинподібного глікопротеїду	rs1259293	Фактор росту м'язових клітин та дифференціації
<i>TNNT2</i> <i>TNNI3</i> <i>TNNC1</i>	Ген серцевого тропоніну T, серцевого тропоніну I, серцевого тропоніну C	rs3729547	Структурний білок саркомера
<i>MYBPC3</i>	Ген серцевого міозинзв'язуючого протеїну C	exon 19, D570fs	Структурний білок саркомера
<i>PPARA</i>	Ген $\alpha$ рецептора, що активується проліфераторами пероксисом	G <sup>2528</sup> C	Ядерний рецептор, транскрипційний фактор генів жирового та вуглеводного обмін

Продовження табл. 1.1

<i>PPARG</i>	Ген $\gamma$ - рецептора, що активується проліфераторами пероксисом	Pro <sub>12</sub> →Ala	Ядерний рецептор, транскрипційний фактор генів жирового та вуглеводного обмінів
<i>PPARGC1A</i>	Ген $\alpha$ коактиватора $\gamma$ -рецепторів, що активуються проліфераторами пероксисом		Коактиватор транскрипційного фактору PPARG

Встановлено, що D/D-генотип та D -алель є маркерами розвитку різних форм кардіоміопатії (ішемічної та дилатаційної) [8]. У дослідженні була отримана вірогідна кореляція I алеля гена *ACE* з кінцево-діастолічним діаметром порожнини ЛШ, що підтверджує дані про можливий вплив даного гена на процеси ремоделювання міокарда, у тому числі й у спортсменів [21].

Досліджуючи фактори росту у крові коронарних синусів професійних футболістів було встановлено, що важливу роль у серцевому ремоделюванні відіграє інсуліноподібний фактор росту 1 (IGF1). Рівень цього фактору корелював з масою ЛШ і кінцево-діастолічним індексом, що дозволяє припускати ключову роль IGF1 у індукції гіпертрофії міокарда у спортсменів [116]. У трансгенних мишей з підвищеною експресією білка рецептора IGF1 спостерігалось зростання розмірів серця на 30–40 % [109].

Важливим фактором у розвитку гіпертрофії серця при адаптації до силових навантажень є фермент mTOR (англ. – *mammalian target of rapamycin*). Цей фермент належить до родини серин/треонін специфічних протеїнкіназ. mTOR грає важливу роль у передачі позаклітинних сигналів через фосфорилування численних субстратів у різних метаболічних реакціях організму людини. mTOR регулює метаболізм у м'язовій тканині шляхом фосфорилування різних ферментів білкового обміну, а також факторів транскрипції і трансляції. Експресія mTOR відбувається у відповідь на зміну метаболічних запитів м'язової клітини і призводить до посилення метаболізму білків. Білок експресується в багатьох тканинах і бере активну



участь у регуляції метаболічних реакцій в скелетних м'язах, пов'язаних з їхньою гіпертрофією і атрофією. Дослідження останніх років свідчать про важливу роль mTOR у регуляції внутрішньоклітинного метаболізму, насамперед на етапах ініціації і трансляції синтезу м'язових білків [11]. Завдяки широкій субстратній специфічності mTOR бере участь у багатьох клітинних процесах, які включають регулювання розмірів клітини, мРНК-трансляцію, біогенез мітохондрій і рибосом, синтез ліпідів, транспорт речовин всередині клітини і аутофагію [78, 89]. Існують білки mTORC1 і mTORC2, які відрізняються чутливістю до інгібіторного ефекту рапаміцина. Регуляція активності mTOR в скелетних м'язах відбувається за участю сигнальних шляхів інсулін/IGF1, RAS/PI3K, ферментів AMPK, ERK, PA10, PLD, фосфатидної кислоти (PA), суміші амінокислот і в першу чергу лейцину, механічного розтягування м'язів і силових фізичних навантажень. Всі ці компоненти можуть розглядатися як потенційні регулятори, здатні активувати mTORC1 і посилювати каталітичну активність ферменту, що призводить до підвищення синтезу білків у скелетних м'язах.

У присутності амінокислот чинники зростання і силові фізичні вправи можуть активувати mTORC1 і збільшувати синтез білків м'язів більш ефективно [44, 130]. Силові фізичні вправи підвищують активність везикулярного транспортного білка Vps34 (фосфатидилінозитол3-кіназа) [104]. Це може поліпшити переміщення mTORC1 до лізосом і сприяти пролонгованій активації ферменту під час виконання фізичних вправ. Передача сигналу амінокислот через RagGTP-азні білки до mTORC1 відбувається за рахунок молекулярного механізму, в якому саме GTP-зв'язуючий центр Rag-гетеродимера змінюється в присутності амінокислот [84, 126]. Однак досі не з'ясовано, як зміни в механічному навантаженні м'яза при виконанні силових вправ можуть генерувати сигнал, що передається на mTORC1. Комплекс mTORC1 інтегрує сигнали від енергетичного стану м'язових клітин і таких стимулів, як ростові і харчові фактори, фізичні вправи і мітохондріальні фактори, що дозволяє

контролювати обмін білків і, отже, зростання розміру м'язових клітин [44]. Анаболізм м'язових білків має місце, коли швидкість синтезу білків більше, ніж швидкість розщеплення, в результаті чого з часом відбувається збільшення кількості білків у м'язах. Гіпертрофія м'язів є повільним процесом, оскільки синтез білків повинен перевищувати їх розпад протягом тривалого періоду (від тижнів до місяців). Систематичні силові тренування викликають адаптацію, що призводить до гіпертрофії м'язів в результаті інтеграції відповіді генів, що регулюють метаболічні процеси, що збільшують розмір м'язових клітин [53]. Наприклад, одне силове тренування викликає швидко (через 2 год) активацію декількох генів, що беруть участь у гіпертрофії м'язів, з піком індукції для більшості генів у період 4 – 6 год після тренування [158].

У експерименті на тваринах показано, що довготривалі вправи помірної інтенсивності аеробного характеру викликали розвиток гіпертрофії міокарда шляхом значної активації сигнального шляху Akt/mTOR/p70<sup>s6k</sup> [97].

Білок mTOR кодується геном *FRAP1* (FKBP12-Rapamycin Complex-Associated Protein), який локалізований в хромосомі 1 (1p36.2). Ген *FRAP1* містить 8189 поліморфізмів, з яких досліджено функціональне значення тільки декількох. Встановлено, що особи з T/T-генотипом T/C поліморфізму гена *FRAP1* (rs11121704) характеризуються вищим рівнем експресії даного гена. T/C поліморфізм гена *FRAP1* (rs11121704) пов'язаний з розвитком онкологічних захворювань, зокрема T/T-генотип [132].

T/G поліморфізму гена *FRAP1* (rs2295080) знаходиться у промоторному регіоні гена і призводить до змін рівня mRNA та зниження люциферазної активності [38]. Раніше нами було встановлено, що G-алель T/G поліморфізму гена *FRAP1* асоційована зі схильністю до виконання вправ силового характеру [47].

Ще один фактор, що впливає на розвиток гіпертрофії-фоллістатинподібний глікопротеїн 1 (Fstl1) – секретується у серці дорослих осіб і бере участь у пошкодженнях серця, що призводять до гіпертрофії та

серцевої недостатності. У мишей з нокаутом гена *Fstl1* спостерігалась міокардіальна гіпертрофія і зменшення продуктивності шлуночків серця [134], тоді як підвищення експресії цього гена призводило до профілактики гіпертрофії міокарда.

Ключовим фактором регуляції м'язового розвитку, гомеостазу та метаболізму є некодуючі РНК (включно мікро- та довгі некодуючі РНК). Не дивлячись на те, що їх біологічну роль почали вивчати не так давно, важливість їх участі у широкому діапазоні біологічних процесів вже є безсумнівною. Таким чином, крім поліморфізмів, важливу роль у адаптаційних реакціях до фізичних навантажень відіграють міРНК, рівень експресії генів яких може бути маркером як аеробних можливостей організму, так і стану ССС [31, 72, 111, 108]. МікроРНК (miRNAs, miRs) – це висококонсервативні, некодуючі РНК, які інгібують експресію генів-мішеней шляхом зв'язування з 3' нетранслючим регіоном (3' UTR) матричних РНК (mRNA) і пригнічують їх трансляцію чи прискорюють деградацію. МіРНК регулюють розвиток серця, гіпертрофію і ангиогенез [96]. МіРНК-1, -133а, -133b добре досліджені у серці і характеризуються зменшеною експресією при гіпертрофії та фізичних навантаженнях, спрямованих на розвиток витривалості [38, 39]. Рівень міРНК-124 зменшується під час навантажень силового характеру, що призводило до зростання розміру міоцитів ЛШ серця [110]. Фізичні вправи викликають підвищену регуляцію міРНК -29а, що призводить до зменшення рівня колагену I та III типу у лівому шлуночка серця [136]. МіРНК-222 є визнаним медіатором росту кардіоміоцитів під впливом фізичних навантажень, обумовленого її участю у захисті від зворотнього ремоделювання та серцевої дисфункції [99].

Нерідко у спортсменів діагностують розвиток гіпертрофічної кардіоміопатії (ГКМП), яка вважається однією з найбільш частих причин раптової смерті спортсменів (за даними різних авторів становить від 13,5 до 36 % загальної кількості випадків) [102]. За сучасними уявленнями ГКМП є переважно генетично обумовленим захворюванням, причиною якого є понад

1400 (описаних на сьогодні) поліморфізмів генів, що кодують білки серцевого саркомера і деяких несаркомерних білків [65, 77]. Найпоширенішою думкою є положення про те, що у спортсменів зустрічається тільки первинна гіпертрофічна кардіоміопатія, пов'язана зі спадковими особливостями. Але ряд дослідників стверджують, що фізичні навантаження можуть відігравати роль у розвитку ГКМП. На думку ряду авторів, в основі розвитку кардіоміопатії внаслідок фізичного перенапруження лежать порушення клітинного зниження синтезу АТФ, порушення функцій мембран кардіоміоцитів, клітинний ацидоз та надмірна пероксидація [1].

Гіпертрофічна кардіоміопатія пов'язана головним чином з поліморфізмами генів, що кодують саркомерні білки. Зокрема це гени важкого ланцюга міозину  $\beta$  та міозинзв'язуючого протеїну С, що обумовлюють 80 % випадків захворювання. Дилітаційна гіпертрофія, крім поліморфізмів саркомерних білків, пов'язана з поліморфізмами генів цитоскелетних та ядерних білків, генами транскрипційних факторів [11, 122]. До генів, чії поліморфізми асоційовані з розвитком первинної ГКМП належать гени білків товстих міофіламентів (важкого ланцюга міозину  $\beta$  (*MYH7- $\beta$* ), важкого ланцюга міозину  $\alpha$  (*MYH6- $\alpha$* ), регуляторного легкого ланцюга міозину (*MYL2*), основного легкого ланцюга міозину (*MYL3*)); гени тонких міофіламентів (серцевого актину (*ACTT*), тропоміозину (*TPM1- $\alpha$* ), серцевого тропоніну Т (*TNNT2*), серцевого тропоніну І (*TNNI3*), серцевого тропоніну С (*TNNC1*)); гени, що кодують збиральні білки (серцевого міозинзв'язуючого протеїну С (*MYBPC3*), тітину (TTN)); гени, що кодують білки Z-лінії (телетоніну (*TCAP*), м'язового LIM протеїну (*GRP3*)); ген вінкуліну та метавінкуліну.

45 % випадків ГКМП обумовлені поліморфізмами у гені *MYH7- $\beta$* . Ген *MYH7- $\beta$*  та гомологічний йому ген мишей *Myh6* кодують домінантну ізоформу  $\beta$  важкого ланцюга міозину у серці дорослих особин. Мутація R403Q (Arg<sup>403</sup>  $\rightarrow$  Gln) призводить до особливо важких форм захворювання,

що характеризується прогресуванням міокардіальної дисфункції з високою частотою раптової смерті. Інгібіція цього гена за допомогою РНК-інтерференції, призводить до зменшення синтезу цього білка на 25 %. У тварин із заглушеним геном не розвиваються ні гіпертрофія, ні міокардіальний фіброз [77].

Оскільки адаптація до фізичних вправ викликає збільшення рівня гліколізу у кардіоміоцитах [55], до нашого переліку також увійшли гени, що впливають на жировий та вуглеводний обмін у міокарді. Гени жирового обміну є маркерами функціонування серця, оскільки основне джерело енергії міокарда – окиснення жирів [65].

Метаболізм ліпідів, що є найбільш енергоємними джерелами АТФ для клітин організму, залежить від експресії мережі генів, що контролюють анаболічні та катаболічні шляхи. Транскрипція цих генів здійснюється, зокрема, за участю групи ядерних рецепторів PPAR (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor) [20]. Це – транскрипційні фактори, агоністами яких є фактори ліпідної природи. Виділяють три ізотипи цих рецепторів: PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$ , PPAR $\gamma$ , що відрізняються за рівнем експресії в різних тканинах та функціональним значенням. Порушення функціонування PPAR-опосередкованих шляхів спостерігається при ожирінні, цукровому діабеті II типу, серцево-судинній та онкологічній патології [1, 5, 86]. Останнім часом з'являються наукові роботи, які пов'язують ці рецептори з процесами адаптації до інтенсивної м'язової роботи. Крім того, транскрипційна активність ядерних рецепторів, що контролюють мережі метаболічних генів, залежить від включення коактиваторів і корепресорів. До них належить такий потужний коактиватор, як PPARGC1B.

**Ген  $\alpha$ -рецептора, що активується проліфераторами пероксисом (PPARA) кодує синтез білка  $\alpha$ -рецептора (PPAR $\alpha$ ), який є транскрипційним фактором, що активує експресію декількох десятків генів, які беруть участь у ліпідному, вуглеводному, енергетичному обмінах, контролюють масу тіла та**

запалення судин. *PPAR $\alpha$*  експресується у серцевому та скелетних м'язах, жировій тканині, печінці [28, 37].

Встановлено, що рівень експресії *PPAR $\alpha$*  є вищим у повільноскоротливих м'язових волокнах, а тренування на витривалість призводять до збільшення окиснювального потенціалу скелетних м'язів шляхом *PPAR $\alpha$*  -регуляції генної експресії [59, 124].

*PPAR $\alpha$*  регулює експресію генів, які кодують важливі м'язові ферменти, залучені до окиснення жирних кислот [135]. Існує ряд даних, які підтверджують важливу роль *PPAR $\alpha$*  у адаптаційних процесах у відповідь на тренування з переважним розвитком витривалості [4].

Ген *PPARA* локалізований на 22 хромосомі (22q13.31), складається з 93,230 баз і містить за даними бази NCBI 2493 SNP (однонуклеотидні поліморфізми).

Найбільш вивченим поліморфізмом цього гена є заміна нуклеотида G на C в 2528-му положенні 7-го інтрону (rs 4253778, G<sup>2528</sup>→C).

Частота мінорного алеля C в європейській популяції за даними NCBI складає від 0,195 до 0,212, тоді як у афроамериканській популяції вона значно вища (від 0,625 до 0,833), а у азіатській – значно менша (0%).

G<sup>2528</sup>→C поліморфізм 7-го інтрону гена *PPARA* пов'язаний з переважанням метаболізму жирних кислот або глюкози. У носіїв G-алеля окиснення жирних кислот у клітинах печінки, міокарда, скелетних м'язах та інших органах відбувається інтенсивніше, ніж у носіїв C-алеля [52]. Недостатність окиснення жирних кислот у останніх компенсується підвищенням утилізації глюкози. Тому алель G належить до алелів витривалості, а C-алель до алелів швидкості-сили. Кореляційний аналіз G<sup>2528</sup>→C поліморфізму гена *PPARA* з даними ехокардіографічного обстеження спортсменів показав асоціацію алеля *PPARA* C з ризиком розвитку гіпертрофії міокарда ЛШ. Встановлена асоціація *PPARA* G-алеля з переважанням повільних м'язових волокон [76].

Встановлено, що не існує вірогідних відмінностей у розподілі генотипів за A/C поліморфізмом I інтрону гена *PPARA* між спортсменами-спринтерами, спортсменами, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість, та контрольною групою [50]. Тому вказаний поліморфізм не може бути маркером спадкової схильності до різних видів спорту.

**Ген  $\delta$ -рецептора, що активується проліфераторами пероксисом (*PPARD*).** +294T/C поліморфізм 4-го екзону гена *PPARD* асоційований з проявами підвищеної експресії гена. Носії С-алеля мають більш високий потенціал окиснення жирних кислот, а отже С-алель відносять до алелей витривалості. Кореляційний аналіз поліморфізмів генів *PPARA*, *PPARD* з даними ехокардіографічного обстеження спортсменів показав асоціацію *PPARA* С і *PPARD* С-алелів з ризиком розвитку гіпертрофії міокарда ЛШ. Встановлена асоціація *PPARA* G-алеля з переважанням повільних м'язових волокон, а *PPARD* T-алелем – з переважанням швидких м'язових волокон у *m. vastus lateralis* [4].

**Ген  $\gamma$ -рецептора, що активується проліфераторами пероксисом (*PPARG*).** Білковий продукт, що кодується цим геном, – рецепторний білок  $\gamma$ -рецептора, що активує проліферацію пероксисом (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 (*PPARG2*)). Це внутрішньоклітинний фактор, що відіграє роль у адипогенезі, глюкозному та жировому гомеостазі. Функції цього транскрипційного фактору полягають у регуляції генів, пов'язаних з акумуляцією жиру, диференціюванням адипоцитів і міобластів, а також з чутливістю до інсуліну [138]. *PPAR $\gamma$*  експресується, головним чином, у жировій тканині, меншою мірою, в інших типах клітин, таких як макрофаги, гладенькі м'язові волокна, ендотеліальні клітини, серцеві міоцити [34]. У результаті аналізу генних мереж регуляції внутрішньоклітинного рівня холестерину у гепатоцитах і ліпідного метаболізму в адипоцитах показано, що фактор *PPAR $\gamma$*  відноситься до ключових регуляторів експресії генів ліпідного метаболізму. До генів, які регулюються фактором *PPAR $\gamma$* , належать: 1) гени білків, що здійснюють транспорт жирних кислот; 2) гени

білків, регуляторів експресії і дозрівання транскрипційного фактору SREBP-1c; 3) ген ферменту PEPCK-C. Велика кількість наукових робіт, що з'явилася недавно, свідчить про інтерес до PPAR $\gamma$  як до регулятора функцій кардіореспіраторної системи [123, 140]. Ген *PPARG*, локалізований у 3 хромосомі (3p25) в результаті альтернативного сплайсингу, може мати 4 транскрипти: PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2, PPAR $\gamma$ 3 и PPAR $\gamma$ 4, які знаходяться більшою мірою в жировій, ніж в м'язовій тканині. Відомо 4 однонуклеотидних поліморфізми у кодуючій області, що призводить до змін функціональних характеристик білка, оскільки поліморфними виявляються важливі позиції на сайті фосфоліювання білку і ліганд-зв'язуючому домені.

Встановлено асоціації поліморфізмів цього гена з різними метаболічними порушеннями. Зокрема, найчастіше проводять аналіз Pro<sub>12</sub>→Ala, C<sup>1431</sup>→T, C<sup>-2821</sup>→T поліморфізмів та недавно виявленого A<sup>-2819</sup>→G поліморфізму [41, 113]. Нещодавно було встановлено асоціацію поліморфізмів даного гена з мінеральною щільністю кісткової тканини, ризиком розвитку остеопорозу та ймовірністю переломів кісток [58]. Найбільш вивченим поліморфізмом гена *PPARG* є Pro<sub>12</sub>→Ala поліморфізм, що представляє собою заміну цитозину на гуанін у 34 положенні екзону 2 (при цьому відбувається заміна проліну на аланін у положенні 12 ізоформи білка PPAR $\gamma$ 2) (rs1801282). Виокремлено такі генотипи: Pro/Pro – гомозиготи за нормальним алелем, Pro/Ala – гетерозиготи, Ala/Ala – гомозиготи за рідкісним алелем. Експериментальні дані свідчать про зниження здатності фактору PPAR $\gamma$ 2 при заміні проліну на аланін зв'язуватися з промоторами генів, які він активує [107]. Знижена активність PPAR $\gamma$ 2, що асоціюється з носійством Ala-алеля, призводить до підвищення чутливості до інсуліну і збільшення утилізації глюкози [94]. На цій підставі Ala-алель прийнято вважати протективною стосовно розвитку цукрового діабету II типу. Заміна Pro > Ala у 12-й позиції помірно знижує функцію рецептора, тому поліморфізм Pro<sub>12</sub>→Ala є показником зниження ризику розвитку цукрового діабету II типу, гіперінсулінемії, інсулінорезистентності й атеросклерозу [94,



129, 144]. Вважають, що чутливість тканин до інсуліну у осіб з Ala-алелем пов'язана з менш активним ліполізмом у жировій тканині і гліколізмом у печінці, що призводить до зниження вільних жирних кислот і активації їх споживання м'язовою тканиною.

Мета-аналіз за даними 30 досліджень із загальною вибіркою 19136 осіб встановив, що носії Ala-алеля мають більший індекс маси тіла, ніж Pro/Pro гомозиготи [106]. На підставі цих даних вважають, що носії *PPARG* Ala-алеля більше схильні до швидкісно-силових видів спорту порівняно з носіями Pro-алеля, оскільки їх м'язи більшою мірою утилізують глюкозу, а також у них підвищена чутливість до інсуліну. Як відомо, інсулін володіє анаболічною дією на скелетні м'язи і покращує силові показники. Кореляція Pro12Ala поліморфізму з площею поперечного перерізу (ППП) м'язових волокон дозволила встановити, що Ala-алель асоціюється зі збільшенням об'єму як повільних, так і швидких м'язових волокон [4]. Клінічні дані, що свідчать про асоціацію *PPARG* Ala-алеля з підвищеною чутливістю до інсуліну, дозволяють говорити про посилення анаболічної дії інсуліну на м'язову тканину, а отже, носійство Ala-алеля може давати перевагу спринтерам і важкоатлетам. Ala-алель асоціюється з більшою ППП як повільноскоротливих (значуще), так і швидкоскоротливих (на рівні тенденції) м'язових волокон. Механізм, що дозволяє розглядати Ala-алель як маркер підвищеної схильності до розвитку і прояву швидкісно-силових якостей, полягає у зменшенні транскрипційної активності Ala-алеля.

Дослідження Кім і співавторів дозволили припустити, що носійство алеля Ala12 асоційовано зі збільшенням підшкірного і вісцерального жиру у корейських жінок з надлишковою масою тіла, але не виявлено значного впливу програми тривалістю один місяць на зниження маси тіла. Не встановлено асоціацій між поліморфізмом Pro<sub>12</sub>→Ala *PPARG2* гена і масою тіла у пацієнтів з ожирінням і діабетом II типу [85]. Обстеження 70 жінок постменопаузального віку, які страждають на ожиріння, показало, що шестимісячна гіпокалорійна дієта викликає однакове зменшення маси як у

носіїв Ala-алеля, так і у осіб що не мають його. Проте повторне збільшення маси тіла було більш значущим у жінок з Ala12-алелем. Це було розцінено, як зниження у цих жінок рівня окиснення жирів у відповідь на гіпокалорійну дієту. У інших дослідженнях, проведених на 108 обстежених протягом чотирьох років, не спостерігалось ніяких значних відмінностей у зниженні маси тіла у носіїв та не носіїв цього алеля. Таким чином, багатьма дослідниками доведено вплив даного поліморфізму на метаболічні процеси, що впливають на властивості м'язової тканини і на фізичні якості, що дозволяє розглядати його як генетичний маркер схильності до видів спорту, в яких змагальні вправи забезпечуються переважно анаеробними механізмами енергозабезпечення.

### **1.3. Роль довгих некодуючих РНК у процесах адаптації до м'язової діяльності**

Ключовим фактором регуляції м'язового розвитку, гомеостазу та метаболізму є некодуючі РНК (включно мікро- та довгі некодуючі РНК). Не дивлячись на те, що їх біологічну роль почали вивчати не так давно, важливість їх участі у широкому діапазоні біологічних процесів вже є безсумнівною. Особливо важливою є їх участь у метаболічних процесах у скелетних м'язах, враховуючи, що вони займають найбільший відсоток маси тіла серед інших тканин [115]. Відхилення експресії некодуючих РНК від норми асоційовані з різноманітними м'язовими захворюваннями, такими, як м'язова дистрофія, кахексія, саркопенія.

#### **1.3.1. Класифікація некодуючих РНК**

Некодуючі РНК традиційно поділяються на основі їх розміру на два великих класи: малі некодуючі РНК (miRNA), та довгі некодуючі РНК (lncRNA).

Нещодавно було встановлено новий клас РНК – довгі некодуючі РНК (lncRNA), пов'язаних з низкою біологічних процесів у відповідь на фізичне

навантаження, які можуть діяти на різних сходинках генної експресії. Відкриття цих молекул – ще один доказ складних відносин між геномом та фізіологічною регуляцією функцій. Як і міРНК, вони не кодуєть протеїни, а регулюють процесінг інших РНК, а отже, як наслідок, впливають на експресію генів.

LncRNA – клас еволюційно консервативних молекул, що впливає на широкий спектр біологічних процесів. Це транскрипти довжиною понад 200 нуклеотидів. У людини ідентифіковано понад 10 тисяч lncRNA ([www.noncode.org](http://www.noncode.org)). За деякими даними більш ніж 100 000 генетичних локусів кодуєть lncRNA. Вони знаходяться в ядрі, в цитозолі і можуть діяти на різних етапах експресії гена завдяки їх здатності формувати комплекси вторинних структур, що зв'язують різні молекули, такі, як DNA, RNA та білки. Більшість lncRNA транскрибуються RNA полімеразою II типу і мають всі риси матричних RNA, такі як: 5`сар ділянку, полі А-фрагмент, сайти сплайсингу. Рівень транскрипції lncRNA є нижчим, ніж mRNA [74].

Нещодавно було ідентифіковано велику кількість lncRNA, що транскрибуються з ехансерних регіонів, зайнятих зазвичай p300/CBP RNA-полімеразою. Ці RNA можуть регулювати структуру хромосоми або механізм транскрипції через cis-trans-опосередкований механізм.

На сьогодні існує декілька класифікацій lncRNA. Залежно від локалізації lncRNA поділяються на декілька типів: 1) міжгенні (lincRNAs); 2) інтронні; 3) перекриваючі змістовні ділянки на екзонах (sense-overlapping); 4) антисенс lncRNA. Залежно від механізму дії вони поділяються на такі: 1) дія на транскрипційному рівні (cis-, trans-); 2) ловушка для білків (ізолюючи білки від сайтів дії); 3) спонж для miRNA; 4) ешафот для молекулярних комплексів і ядерних субдоменів (об'єднуючи субодиниці протеїнів разом) [115].

Дія на транскрипційному рівні реалізується або через котранскрипційну взаємодію між виникаючою lncRNA і транскрипційним комплексом чи завдяки включенню таких комплексів як

хроматинмодифікуючі ензими, транскрипції сайтів, або у *cis*- або *trans*-. *cis*-сприяє здатності діяти на сусідні гени на ту саму алель, з якої вони транскрибуються. Цей тип lncRNA формує зворотню петлю для саморегуляції та регуляції сусідніх генів. *trans*- lncRNA функціонують для таргетних генних локусів віддалених від тих генів, де вони транскрибуються.

Але не все у поглядах на функцію lncRNA однозначна. За результатами деяких дослідників у структурі lncRNA можуть бути заховані мікропептиди [27, 32]. Так, наприклад, у складі lncRNA (LINC00948 – у людини та AK009351 – у мишей) було знайдено ділянку, на якій транскрибується мікропептид міорегулін (MLN), що складається з 46 амінокислот. Він здатний інгібувати SERCA (мембранна помпа, що контролює розслаблення м'язів шляхом регуляції потрапляння  $\text{Ca}^{2+}$  у саркоплазматичний ретикулум). Делеція MLN призводить до покращення кальцієвого обміну в скелетних м'язах та підвищення фізичної працездатності у мишей, що виявляється у збільшенні часу бігу тварин на тредмілі до виснаження [26].

Деякі автори продемонстрували у дослідях важливу роль lncRNA у нормальному розвитку серця та у виникненні серцевих захворювань [26,54]. Встановлено, що у розвитку гіпертрофії міокарда бере участь така довга некодуюча РНК як фактор серцевої гіпертрофії (cardiac hypertrophy related factor, CHRF) [150].

Нещодавно було показано вплив на гіпертрофічне ремоделювання серця та прогресування серцевої недостатності MHRT (кластер антисенс транскриптів з локусу гена *Muh7*. MHRT - це РНК-транскрипти, асоційовані з важким ланцюгом міозину (lncRNA *Myheart*), що безпосередньо приєднується до *Brg1*, інгібуючи його хеліказну функцію [60]. Індукована експресія MHRT інгібує патологічне перетворення  $\alpha$ -МНС на  $\beta$ -МНС, та захищає організм від серцевої недостатності. Щоб підтвердити роль MHRT в апоптозі серцевих клітин, викликаному  $\text{H}_2\text{O}_2$ , заглушили ген MHRT за допомогою siRNA. Встановили, що нокдаун MHRT призвів до появи значно більшого числа апоптозних клітин. Це вказує на захисну функцію для

кардіоміоцитів, тому концентрація MHRT у плазмі може служити біомаркером для діагностики інфаркту міокарда [159].

Останньою було встановлено асоціацію з гіпертрофічним ремоделюванням кардіоміоцитів серцевого гіпертрофія-асоційованого транскрипту (CHAST) [149].

NRON і MHRT як біомаркери можуть надати ряд переваг. Можуть бути легко виявлені у зразках крові (цільна кров, плазма та сироватка), або ж у кількісному відношенні високочутливими методами, такими, як ПЛР у реальному часі. Зміни кількості NRON і MHRT в крові можуть відобразити зміни серцевої функції та структури під час розвитку патологічних станів захворювань серця [78, 87]. NRON бере участь у генезисі та розвитку серцевої недостатності [60].

За результатами останніх досліджень узагальнено та схематизовано вплив днкРНК на кардіоміоцити (рис.1.1).

Фізичні тренування, спрямовані на розвиток витривалості, регулюють рівень у м'язах *PINK1* antisense RNA і таким чином, впливають на процеси спрайсингу *PINK1*, метаболічного гена, пов'язаного із захворюванням Паркінсона [128].

Встановлено, що ген *LncMyoD* здатний контролювати проліферацію міобластів та впливати на регенерацію м'язів після пошкоджень [69]. Нокдаун *LncMyoD* перешкоджає міогенезу, пригнічуючи експресію генів у зрілих м'язових клітинах. Понад 1000 міжгенних lncRNA у м'язових клітинах лінії C<sub>2</sub>C<sub>12</sub> беруть участь у формуванні м'язових волокон на рівні міотубів.

У енхансерному регіоні гена *MyoD* ідентифіковано дві lncRNA: <sup>DRR</sup>RNA (дистальний регуляторний регіон), <sup>CE</sup>RNA (core enhancer, головний енхансер). Вважається, що <sup>CE</sup>RNA (cis-)полегшує доступність хроматину та стимулює експресію гена, а <sup>DRR</sup>RNA функціонує в trans- і призводить до підвищення експресії міогеніну, ключового міогенного транскрипційного фактору [112].

За допомогою простого аналізу крові на основі LIPCAR в

популяційному дослідженні пацієнтів з добре контрольованим діабетом II типу визначено, що LIPCAR може служити корисним раннім діагностичним інструментом для оцінки діастолічної функції лівого шлуночка (ЛШ) та ремоделювання [70].

У своїх дослідженнях Кумарсвами зі співавторами показали, що пізній циркулюючий рівень lncRNA uc022bqs.1, який вони називали LIPCAR, пов'язаний з несприятливими наслідками після інфаркту міокарда або при хронічній серцевій недостатності (серцево-судинна смертність) [87].

Враховуючи асоціацію між параметрами діастолічної функції ЛШ та рівнями експресії LIPCAR, було висунуто гіпотезу, що циркулюючі рівні цих lncRNAs можуть бути потенційними біомаркерами діастолічного порушення функції ЛШ у пацієнтів з діабетом II типу, які показали більш високий рівень LIPCAR порівняно з пацієнтами з нормальною діастолічною функцією [43, 70].

Схильність до розвитку гіпертрофії міокарда під впливом інтенсивних фізичних навантажень є генетично детермінованою та залежить від поліморфізмів низки генів та рівня їх експресії. До переліку таких генів належать гени білків-регуляторів метаболічних мереж, ренін-ангіотензинової системи, структурних білків серцевого м'язу, факторів росту та гени некодуючих РНК (як мікро-, так і довгих РНК). Дослідження поліморфізмів цих генів та рівня експресії їх у відповідь на фізичні навантаження дозволяють розкрити нові аспекти механізму регуляції адаптаційної відповіді серцево-судинної системи. Експресія генів некодуючих РНК є потенційним інформаційним маркером перебігу адаптаційних процесів до фізичних навантажень.

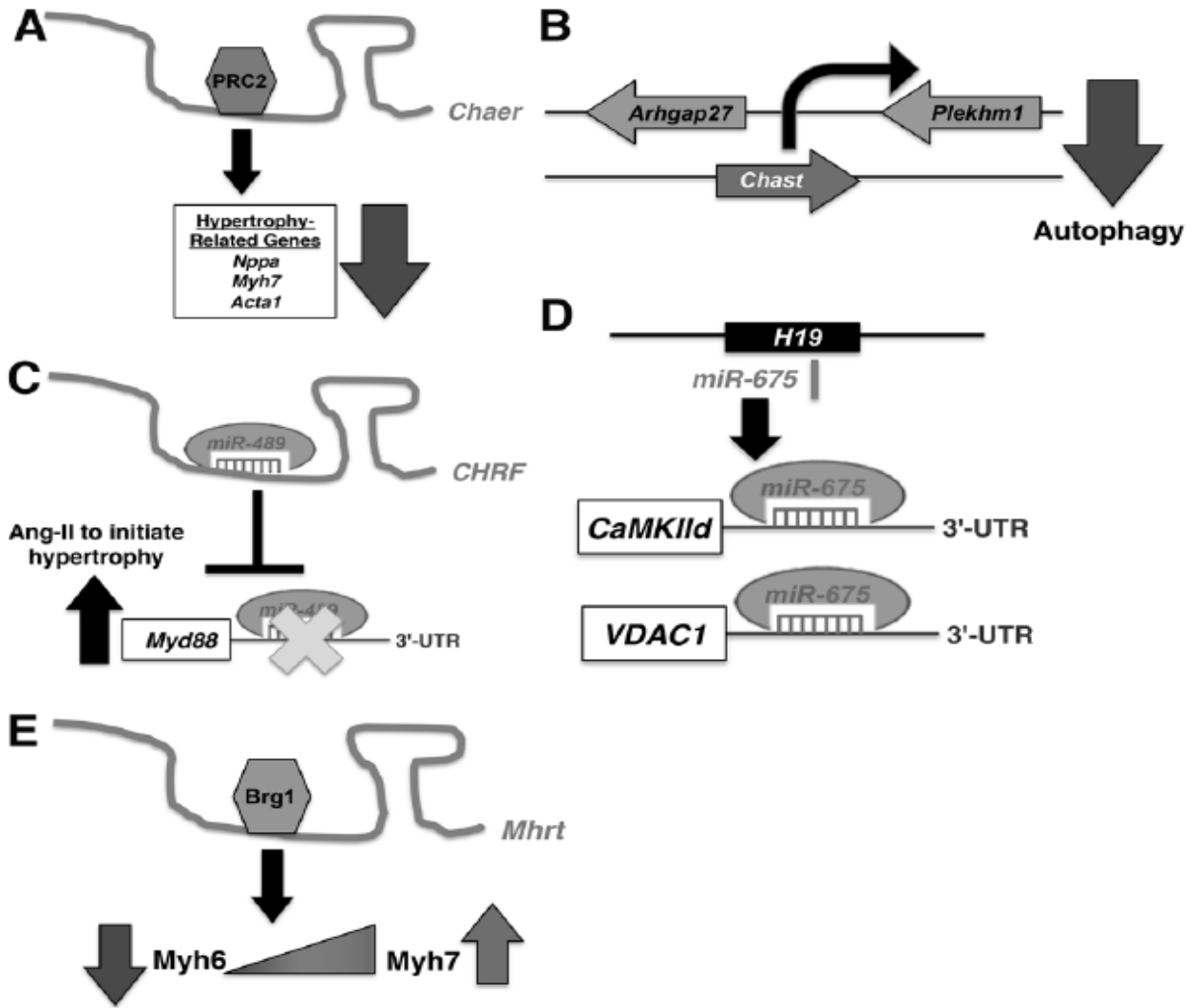


Рисунок 1.1. – Механізми дії довгих некодуючих РНК:

A – серцевий епігенетичний фактор, асоційований із гіпертрофією (*Chaer*); B – серцевий транскрипт, асоційований із гіпертрофією (*Chast*); C – серцевий фактор, пов'язаний із гіпертрофією (*CHRF*); D – H19; E – РНК-транскрипт, асоційований із важкими ланцюгом міозину (*Mhrt*)

Таблиця 1.2 – Перелік довгих некодуючих РНК-кандидатів у молекулярно-генетичні маркери перебігу адаптаційних процесів до фізичних навантажень у міокарді

Назва	Повна назва	Механізм дії	Чи впливає на гени, що пов'язані з серцевою діяльністю	Чи було досліджено у людини	Чи впливає на гіпертрофію міокарда	Чи встановлено в плазмі крові	Чи досліджено при м'язовій діяльності	Джерело
CHRF	Фактор серцевої гіпертрофії	Діє як ендогенна губка на miR-489	+	–	+ Підвищує рівень гіпертрофії міокарда	–	–	Wang K. 214 [148]
MHRT	Транскрипт РНК, асоційований з важким ланцюгом міозину	Регулює хроматинове ремоделювання і серцеву гіпертрофію міжгенна, за механізмом-пастка	+	+	+	-	–	Han 2016 [60]
Chast	Транскрипт, асоційований зі серцевою гіпертрофією	Остеокласти, cis-regulation	+	+	+	-	–	Viereck 2016 [149]
LPCAR	Довга, некодуюча, асоційована з серцем РНК	-	+	+	-	+	–	de Gonzalo-Calvo D, 2016 [70]
MIAT	Міокардіальний інфаркт асоційований транскрипт	Спонж для miR	+	+	+	+	–	Yan 2015, Zhu, 2016 [155, 160]



## Продовження табл. 1.2

Chaer	Серцевий гіпертрофія асоційований епігенетичний регулятор			-	+		-	Wang, 2016
ROR		Спонж для miR	+	+	+		-	Jiang 2016
Malat1	Транскрипт, асоційований з метастазами аденокарціноми легень	Malat1 регулює міогенну диференціацію і м'язову регенерацію шляхом модуляції MyoD транскрипційної активності.	+	+	-	+	-	Michalk 2014, Vausort 2014, Tripathi, 2010 [145]
PINK1 antisense RNA						+	Змінюється під час тренування на витривалість	Nie M., 2015 [115]
H19		Негативний регулятор гіпертрофії	+	+	+	+		Tao 2016, Liu L., 2016
NRON	Білок некодуюча РНК		+	+		+		Xuan L., 2017 [155]

**1.3.2. Функціональна роль довгої некодуючої РНК *Mhrt*** (Myosin heavy-chain-associated RNA transcripts (*Myheart*, or *Mhrt*), from the *Myh7* loci).

Відомо, що у випадку із патологічною гіпертрофією міокарда та серцевою недостатністю спостерігаються порушення співвідношення експресії генів *Myh6* та *Myh7*. *Myh6* пригнічується, а *Myh7* активується (рис. 1.2) [43].

Хроматинремодулюючий комплекс, що складається із Брахма-регульованого гена (Brahma Related Gene 1 (Brg1)), гістондеацетилази (histone deacetylase (Hdac)) та полі (poly (ADP ribose) полімерази (Parp) регулює зміни у співвідношенні *Myh6* до *Myh7* під час серцевого стресу [45].

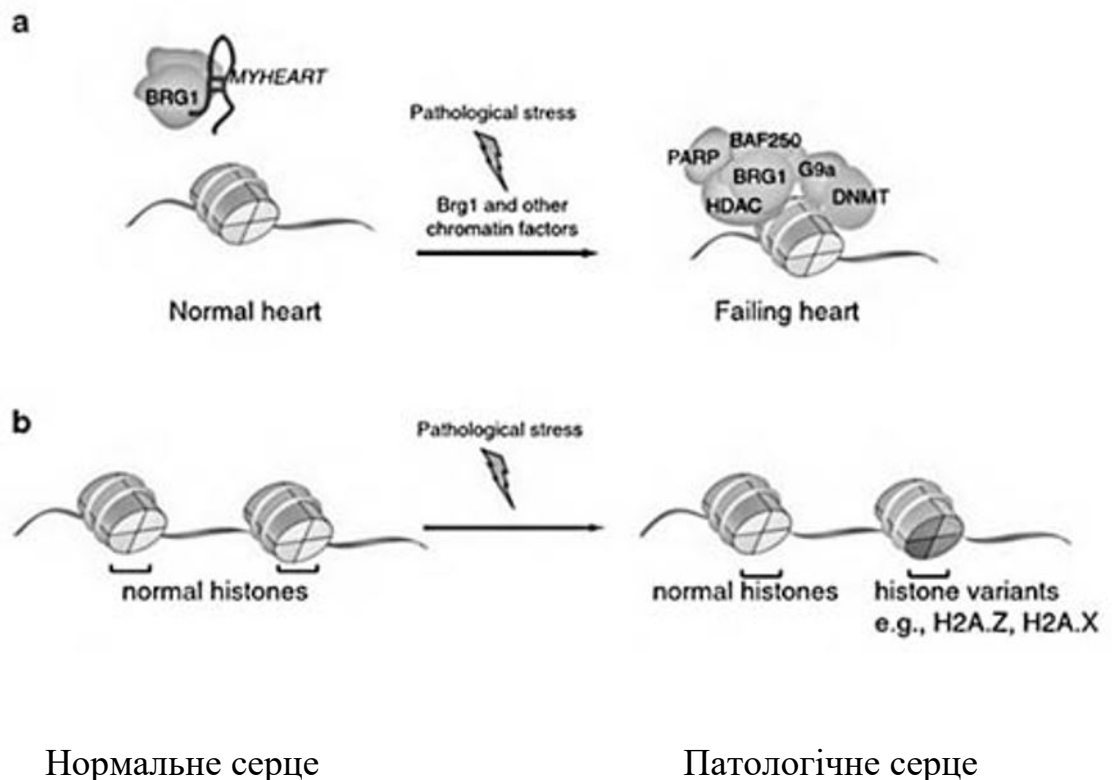


Рисунок 1.2 – Вплив МНРТ на розвиток гіпертрофії міокарда

Комплекс Brg1-Hdac-Parp активується під час серцевого стресу і пригнічує експресію *Myh6* та індукує *Myh7*. Цей комплекс може зв'язувати промотор *Mhrt*. Ці lncRNAs специфічно експресуються тільки у міокарді, але

їх немає у ендо- та епікарді. Рівень експресії *Mhrt* зростає при дозріванні серця; з віком співвідношення *Myh6/Myh7* зростає. Після застосування трансаортальної констрикції рівень *Mhrt* зменшився від 48 до 68 % в серцях оперованих мишей порівняно із псевдооперованими. Ці зменшення спостерігалися через два дні після ТАС (трансаортального звуження) і тривало 42 дні після операції. Зменшення рівня контролювало ТАС індукованим зменшенням рівня *Myh6/Myh7*, що свідчило про те, що *Mhrt* відіграє роль у переключенні *Myh6/Myh7* протягом серцевого стресу [154].

У шлуночках дорослих тварин переважає *Mhrt779*. При надмірній експресії *Mhrt779* (миші Tg779) ТАС не викликає зменшення *Mhrt779*. У Tg779 мишей спостерігається зменшення гіпертрофічної відповіді (зменшення співвідношення шлуночки/тіло, зменшення розмірів кардіоміоцитів). Таким чином, *Mhrt* має протективну дію, протидіє розвитку гіпертрофії.

У попередніх роботах було показано, що МНРТ підвищується у крові після інфаркту міокарда. Нокдаун гена цієї днРНК призводить до розвитку апоптозних клітин, демонструючи, що МНРТ є захисним фактором для кардіоміоцитів, а її рівень може слугувати біомаркером для діагностики стану міокарда [159].

### **1.3.3. Участь довгої некодуючої РНК МІАТ у метаболічних процесах міокарда МІАТ**

МІАТ– транскрипт, асоційований із інфарктом міокарда (lncRNA myocardial infarction-associated transcript). Раніше було встановлено, що цей транскрипт, впливає на розвиток патологічних процесів при гіпертрофії міокарда, що розвивається під впливом ангіотензину II типу. Тим не менше, механізми, що лежать в основі розвитку гіпертрофії, ще не встановлені. МІАТ транскрибується, головним чином, у тканинах серця та мозку плода [119, 155]. Надмірна експресія МІАТ пов'язана із клітинною проліферацією, апоптозом, міграцією при різних захворюваннях, включаючи інфаркт

міокарда [80, 145 ]. Рівень MIAT значно підвищується при гіпертрофії міокарда, викликаній впливом ангіотензину II типу [160].

У кардіоміоцитах, що піддавалися впливу ангіотензину II, визначали рівень експресії MIAT та miR-93 та рівень білків toll-like рецептора 4 (TLR4), атріального натрійуретичного фактору (ANF), важкого ланцюга  $\beta$ -міозину ( $\beta$ -MHC), фосфоінозитид-3 кінази (PI3K), протеїнкінази B (Akt), фосфорильованої протеїнкінази B (p-Akt), рецептора до рапоміцину (mTOR), фосфорильованого рецептора до рапоміцину (p-mTOR). Гіпертрофічна відповідь оцінювалась за площею поверхні клітин та експресією атріального натрійуретичного фактору та  $\beta$ -важкого ланцюга міозину. Результати свідчать, що рівень MIAT підвищується, а miR-93 знижується у кардіоміоцитах під впливом ангіотензину II. MIAT працює як спонж для miR-93 в кардіоміоцитах. Білок TLR4 є мішенню для miR-93, а MIAT стимулює експресію TLR4, зв'язуючи miR-93. Пригнічення MIAT зменшує площу поверхні клітин і рівень експресії ANF та  $\beta$ -MHC в кардіоміоцитах, що піддавалися впливу ангіотензину II, шляхом модуляції miR-93. Більше того, стимуляція експресії частково повертає захисний ефект надмірної експресії TLR4 на гіпертрофію міокарда, викликану впливом ангіотензину II. Пригнічення MIAT чи надмірна експресія miR-93 інактивують PI3K/Akt/mTOR шлях через TLR4 у випадку гіпертрофії міокарда, викликаній дією ангіотензину II (рис. 1.3.). Ці дані вказують на те, що придушення MIAT зменшує серцеву гіпертрофію через регуляцію miR-93/TLR4, що вказує на можливі шляхи таргетної терапії серцевої гіпертрофії [92].

Таким чином, зростання рівня MIAT, зменшує рівень miR-93, що призводить до підвищення експресії TLR4 і, як наслідок, посилення гіпертрофії міокарда.

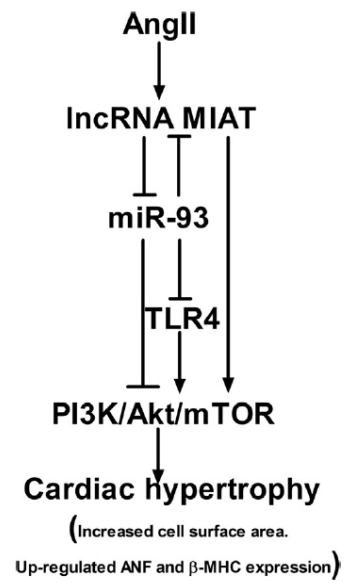


Рисунок 1.3 – Механізм участі МІАТ у формуванні гіпертрофії міокарда під впливом ангіотензину II типу

## РОЗДІЛ 2

### ОРГАНІЗАЦІЯ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Організація досліджень

##### 2.1.1. Етапи дослідження

Дослідження відбувалося з 1 січня 2017 до 31 грудня 2019 р. у декілька етапів.

1. Аналіз наукової літератури та пошук молекулярно-генетичних маркерів гіпертрофії міокарда.

2. Дослідження, обробка та статистичний аналіз результатів ехокардіографічного обстеження спортсменів.

3. Пошук асоціації між ДНК-поліморфізмами та показниками гіпертрофії міокарда у спортсменів.

4. Визначення експресії довгих некодуючих РНК у спортсменів після фізичних навантажень різного характеру та тривалості.

5. Пошук асоціації поліморфізмів генів з біохімічними маркерами, що відображають стан серця у спортсменів після фізичних навантажень.

У роботі використано декілька підходів, а саме: дослідження «генотип – фенотип», «випадок – контроль», «генотип – фенотип у динаміці». Комплексність підходу полягає у якісному (однонуклеотидні поліморфізми) та кількісному (рівень експресії генів) дослідженні геному спортсменів, співставленні фізіологічних та молекулярно-генетичних показників.

Ергометричне тестування спортсменів, забір біологічних матеріалів (кров, букальний епітелій), дослідження біохімічних показників крові спортсменів відбувалися на базі лабораторії стимуляції працездатності та адаптаційних реакцій у спорті вищих досягнень НДІ НУФВСУ.

Обстеження стану серця методами УЗД та ЕКГ у спортсменів, що спеціалізуються у видах спорту з розвитку витривалості і є членами національних збірних команд України та спортсменів, які спеціалізуються у швидко-силових видах легкої атлетики, академічному веслуванні та

плаванні було проведено у Національному науковому центрі «Інститут кардіології ім. академіка М. Д. Стражеска». У всіх обстежених забраний біологічний матеріал (венозна кров та букальний епітелій), проведено анкетування та отримано письмо згоду на участь у дослідженні та обробку даних.

Молекулярно-генетичні дослідження виконували на базі лабораторії відділу загальної та молекулярної патофізіології інституту фізіології ім. О. О. Богомольця Національної академії наук України.

Проби крові шляхом центрифугування при різній кількості обертів були поділені на декілька фракцій (плазма, цільна кров, мононуклеари) для дослідження рівня експресії некодуючих РНК у різних фракціях. ДНК виділяли з букального епітелію та методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) визначили поліморфізми генів.

Дослідження реакцій кардіореспіраторної системи організму на фізичні навантаження переважно аеробного характеру енергозабезпечення у кваліфікованих спортсменів проводилося у стандартизованих лабораторних умовах з використання методів ергометрії, спірометрії та газоаналізу. Тестування проводилося після дня відпочинку при стандартизованому режимі харчування та питному режимі. Спортсмени були обізнані про зміст тестів і дали згоду на їх проведення. При обстеженні спортсменів дотримувались законодавства України про охорону здоров'я і Гельсинської декларації 2000 р., директиви Європейського товариства 86/609 стосовно участі людей у медико-біологічних дослідженнях.

### **2.1.2. Характеристика контингенту**

У дослідженні брали участь 153 особи, з яких 111 – професійні спортсмени (82 – веслування, 29 – легка атлетика), 12 – непрофесійні спортсмени та 30 нетренованих осіб, що становили контрольну групу. Відповідно група спортсменів була поділена на дві підгрупи: спортсмени, які спеціалізуються у веслуванні академічному (веслувальники) та спортсмени,

які займаються бігом на довгі дистанції (марафонці). Перша група виконувала у якості тестуючого навантаження ергометричний тест до моменту вимушеної відмови від роботи. У цьому випадку навантаження характеризувалось як робота великої потужності. Друга група тестувалася до, через 1 год після та через 24 години після марафонського забігу. Контрольна група отримувала систематичні навантаження (заняття фітнесом) впродовж 3 міс.

Усі дослідни проводили у відповідності до Конвенції Ради Європи «Про захист прав людини і людської гідності в зв'язку з застосуванням досягнень біології та медицини: Конвенція про права людини та біомедицину (ETS № 164)» від 04.04.1997 р., і Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (2008 р.). Усі учасники дослідження давали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

## **2.2. Методи дослідження:**

- 1) Аналіз наукової літератури;
- 2) молекулярно-генетичні (ПЛР, виділення ДНК);
- 3) фізіологічні (ЕКГ, УЗД);
- 4) біохімічні;
- 4) педагогічні;
- 5) методи математичної статистики.

### **2.2.1. Молекулярно-генетичні методи**

Молекулярно-генетичні методи включали: забір біологічного матеріалу; виділення ДНК; виділення РНК; детекція поліморфізмів методом ПЛР у реальному часі (PCR-real time); зворотня транскрипція; оцінка рівня lncRNA методом PCR-real time.

Для молекулярно-генетичного аналізу в нашій роботі використовували зразки ДНК, отримані шляхом забору епітеліальних клітин ротової порожнини за допомогою універсального зонда «ЗГУ-ЦМ». Ротову



порожнину попередньо перед забором матеріалу промивали 0,9 % розчином NaCl.

Венозну кров набирали в стерильних умовах у вакутайнери (BD Vacutainer®) об'ємом 8 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти в якості антикоагулянту ("Becton Dickinson", USA). Поділ венозної крові на фракції відбувався в три етапи: центрифугування (100 g) цільної крові протягом 5 хв (супернатант містив тромбоцити і моноцити); центрифугування (400 g) протягом 2 хв (моноцити осідають на дно пробірки, а тромбоцити залишаються у верхньому шарі); центрифугування (900 g) протягом 6 хв для отримання тромбоцитів.

**Метод виділення ДНК з клітин букального епітелію.** ДНК виділяли з букального епітелію за допомогою набору реактивів Diatom™ DNA Prep (Віоком) («Центр Молекулярной Генетики», Росія). Використаний метод базується на дії лізуючого реагенту із гуанідинтіоціанатом, який призначений для лізису клітин, солюбілізації клітинного дебрису, а також для денатурації клітинних нуклеаз. У присутності лізуючого реагенту ДНК активно сорбується на *NucleoS*™ – сорбенті, потім відмивається від білків та солей спиртовим розчином. Пізніше ДНК екстрагують із сорбенту та переносять у стерильні, вільні від ДНК та РНК мікропробірки. Отримана ДНК може безпосередньо використовуватися для проведення полімеразної ланцюгової реакції. Набір реактивів дозволяє виділяти із свіжого біологічного матеріалу високомолекулярну ДНК (40 – 50 тис. пар нуклеотидів високої чистоти ( $OD_{260/280nm}$  1,6–2,0)). У процесі виділення ДНК ми дотримувалися рекомендацій, наведених у комерційному наборі, та проводили маніпуляції згідно з протоколом.

**Протокол виділення ДНК з біологічного матеріалу.** Приготування робочого розчину сольового буфера. Вміст флакона з 10-кратним сольовим буфером (5 мл), перенести у мірний циліндр, довести бідистильованою водою до позначки 50 мл і 96 %-м етиловим спиртом до позначки 150 мл і

перемішати. Готовий робочий розчин сольового буфера зберігати в герметично закритому посуді при температурі 4 °С.

1. У пробірку об'ємом 1,5 мл внести 100 мкл досліджуваної проби та додати 400 мкл лізуючого розчину. Перемішати вміст пробірок обертанням 10 разів.

2. Термостатувати суміш 5 хв при температурі 65°С.

3. Центрифугувати пробірки із розчином протягом 10 с при 5000 об/хв та додавати ретельно збовтану на вортексі 20 мкл суспензію сорбенту *NucleoS<sup>TM</sup>*.

4. Перемішувати проби протягом 10 хв.

5. Центрифугувати пробірки протягом 10 с при 5000 об/хв та видалити супернатант за допомогою помпи, не торкаючись до осаду сорбенту.

6. Додати 200 мкл лізуючого розчину, ретельно перемішуючи на вортексі до гомогенного стану.

7. Додати 1 мл сольового розчину та перемішувати вміст пробірок 10 разів.

8. Центрифугувати пробірки протягом 10 с при 5000 об/хв та видалити супернатант за допомогою помпи, не торкаючись до осаду сорбенту із ДНК.

9. Додати 1 мл сольового розчину та перемішувати вміст пробірок на вортексі до гомогенного стану.

10. Центрифугувати пробірки протягом 10 с при 5 000 об/хв та видалити супернатант за допомогою помпи, не торкаючись до осаду сорбенту із ДНК.

11. Повторити виконання пунктів 9 та 10 протоколу.

12. Висушити осад при температурі 65°С протягом 5 хв.

13. Додати в пробірки 50 мкл ЕкстраГена<sup>TM</sup> при постійному перемішуванні останнього розчину.

14. Суспензувати вміст пробірок на вортексі до отримання гомогенної суспензії та термостатувати за температури 65 °С протягом 5 хв.

15. Суспензувати вміст пробірок та центрифугувати протягом 1 хв при 10 000 об/хв.

16 Перенести супернатант до мікропробірок та зберігати за температури - 20 °С.

**Детекція поліморфізмів генів. Визначення T<sup>-786</sup>→C поліморфізму промотору гена *eNOS*.** T<sup>-786</sup>→C поліморфізм промотору гена *eNOS* визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (PCR) з подальшою обробкою рестриктазою і наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP) за Ghilardi G. et al. [1]. Для цього ампліфікували ділянку промотору гена *eNOS* за допомогою пари специфічних праймерів: прямий – 5`– CAC CTG CAT TCT GGG AAC TGTA-3` і зворотний – 5`– GCC GCA GTA GCA GAG AGAC – 3 («Metabion», Німеччина). Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містить 5 мкл PCR-буфера («Амплісенс», Росія), 2,5 мкл dNTP (суміш чотирьох нуклеотидтрифосфатів), по 35 пмоль/л кожного з праймерів і 0,1 ОД Tag-полімерази («Амплісенс», Росія), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили у термоциклері «Applied Biosystems 2700» (США). Ампліфікація фрагмента промотору складалася з 35 циклів: денатурація – 94 °С (1 хв), гібридизація праймерів – 63 °С (50 сек) та елонгація – 74°С (1 хв). У подальшому 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°С протягом 18 год з 5 од. рестриктази PdiI в буфері Y<sup>+</sup>/Tango («Ферментас», Литва). За наявності у 786-му положенні промотору тимідину рестрикція не відбувається, а при заміні на цитозин PdiI розщеплює ампліфіковану ділянку промотору (розмір 125 пар основ) на два фрагменти – 95 та 30 пар основ.

Для визначення T<sup>-786</sup>→C поліморфізму промотору гена *eNOS* методом Real-time PCR використовували TaqMan® Fast Universal Master Mix (2x) (Applied Biosystem, США) – 10 мкл; Assay SNP NOS3 – 0,32 мкл; dH<sub>2</sub>O – 13,98 мкл та 50– 100 нг ДНК. Assay SNP NOS3 містила прямий (CCA CCA GGG CAT CAA GCT) та зворотній (GCA GGT CAG CAG AGA GAC TAG) праймери; зонди для мінорного VIC (TTC CCT GGC TGG CTG A) та мажорного FAM

(CCT GGC CGG CTG A) алелей. ПЛР у реальному часі проводили за допомогою приладу «7500 Fast Real-time PCR» (Applied Biosystems, США).

**Метод визначення алельного поліморфізму Pro12Ala (C→G) у 34-му положенні 2-го екзона гена *PPARG*.** Pro12Ala [CCG(Pro)→GCG(Ala)] поліморфізм гена *PPARG* (rs1801282) визначали за допомогою ампліфікації з наступною рестрикцією. Ампліфікацію проводили з прямим – 5'- GCC AAT TCA AGC CCA GTC-3' та зворотнім – 5'- GAT ATG TTT GCA GAC AGT GTA TCA GTG AAG GAA TCG CTT TCC G-3' праймерами, с синтезованими фірмою («Metabion», Німеччина). Для ампліфікації брали 50– 100 нг ДНК і додавали до суміші, що містить 5 мкл PCR-буфера («Амплісенс», Росія), 2,5 мкл dNTP, по 25 пмоль/л кожного з праймерів і 0,1 ОД Таг-полімерази («Амплісенс», Росія), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили в термоциклері «Applied Biosystems 2700» (США). Для ампліфікації гена необхідні такі умови ПЛР: попередня денатурація – 94 °С (5 хв); 38 циклів ампліфікації: денатурація – 94°С (30 с), віджиг праймерів – 64 °С (30 с), синтез ДНК – 72 °С (60 с); заключний синтез – 72 °С (10 хв). Продуктами ампліфікації даної ПЛР є фрагменти ДНК довжиною 270 п.о. Наявність заміни нуклеотиду С на G у 34-му положенні екзону В гена *PPARG* створює сайт рестрикції (CG↓CG) для ендонуклеази *Bsh1236I*. До складу рестрикційної суміші входили: деіонізована вода, 10x буфер R («Fermentas») *Bsh1236I* («Fermentas», Литва).

Інкубацію рестрикційної суміші (8 мкл) з продуктами ампліфікації (6 мкл) проводили в окремій пробірці у термостаті при 37 °С (на 24 год). Продукти реакції розділяли методом горизонтального електрофорезу у 1,5 %-му агарозному гелі (160 В протягом 45 хв) і ідентифікували в ультрафіолетовому світлі після зафарбовування бромистим етидієм за допомогою трансільюмінатора («Біоком», Росія). Наявність сайту рестрикції обумовлює розподіл ампліконів на два фрагменти довжиною 227 і 43 п.о. Таким чином, генотипу Pro/Pro відповідали нерестриковані фрагменти

довжиною 270 п.о., генотипу Pro/Ala – три фрагменти довжиною 270, 227 і 43 п.о., а генотипу Ala/Ala – два фрагменти довжиною 227 і 43 п.о.

**Визначення G<sup>894</sup>→T поліморфізму 7-го інтрона гена *PPARA*.** G<sup>894</sup>→T поліморфізм 7-го інтрона гена *PPARA* (rs4253778) визначали у відповідності до методики, запропонованої Flavell et al. у 2002, ампліфікуючи ділянку гена за участю прямого – 5'-ACAATCACTCCTTAAATATGGTGG-3', та зворотнього – 5'-AAGTAGGGACAGACAGGACCAGTA-3' праймерів (праймери синтезовані фірмою «Metabion», Німеччина). До складу реакційної суміші входили: 5 мкл PCR-буфера («Амплісенс», Росія), 2,5 мкл dNTP, по 30 пмоль/л кожного з праймерів і 0,1 ОД Tag-полімерази («Амплісенс», Росія), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. До реакційної суміші додавали 1 мкл ДНК і використовували такий температурний режим ПЦР на термоциклері «Applied Biosystems 2700» (США): попередня денатурація – 94°C (5 хв); 35 циклів ампліфікації: денатурація – 94 °C (1 хв), віджиг праймерів – 60,5 °C (50 с), синтез ДНК – 72 °C (1 хв); заключний синтез – 72 °C (7 хв).

Продуктами ампліфікації даної ПЛР є фрагменти ДНК довжиною 266 п.о. Присутність заміни нуклеотида G на C у 2528-му положенні 7-го інтрона гена *PPARA* створює для ендонуклеази *Taq I* сайт рестрикції (T↓CGA). Наявність сайту рестрикції обумовлює розподіл ампліконів на два фрагменти довжиною 216 і 50 п.о. Генотипу GG відповідали нерестрифіковні фрагменти довжиною 266 п.о., генотипу GC – три фрагменти довжиною 266, 216 і 50 п.о., а генотипу CC – два фрагменти довжиною 216 і 50 п.о.

Для виявлення однонуклеотидної заміни амплікони інкубували разом з *Taq I* ендонуклеазою рестрикції (*Taq I* refSNP ID: rs4253778) («Fermentas», Литва). Склад рестрикційної суміші: деіонізована вода – 0,8 мкл; буфер – 0,8 мкл, *Taq I* рестриктаза – 0,4 мкл. Інкубацію рестрикційної суміші (2 мкл) с продуктами ампліфікації (6 мкл) проводили в окремій пробірці у термостаті при 65 °C (на ніч).

Ампліфікати після рестрикції розділяли у 2,5 %-му агарозному гелі, який містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Візуалізація ДНК після горизонтального електрофорезу (160 V протягом 40 хв) проводилася за допомогою транслюмінатора («Біоком», Росія) і відеосистеми ViTran (Росія). Вірогідність відмінностей у розподілі вибірок визначали за критерієм  $\chi^2$ . Значення  $P < 0,05$  вважали вірогідним.

**Визначення G/A поліморфізму гена *PGC1A*.** G/A поліморфізм гена *PGC1A* (rs8192678) визначали методом ПЛР з допомогою двохпраймерної системи (праймери синтезовані фірмою «Metabion», Німеччина) з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів. Прямий праймер – 5'-GTGGGGCTTTGTCAGTGAAT-3'; зворотній праймер – 5'-ACCCCGATCCTGCAGGCAGCACTG-3'.

Реакційна суміш містила: 5 мкл PCR-буфера («Амплісенс», Росія), 2,5 мкл dNTP, по 20 пмоль/л кожного з праймерів і 0,05 ОД Таг-полімерази («АмпліСенс», Росія), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Для ампліфікації специфічних фрагментів гена *PPARGC1B* у реакційну суміш додавали  $\approx 50$  нг (0,5) мкл ДНК і використовували такий температурний режим ПЛР на приладі «Applied Biosystems 2700» (США): попередня денатурація – 94 °C (5 хв); 37 циклів ампліфікації: денатурація – 94 °C (1 хв), віджиг праймерів – 65 °C (20 с), синтез ДНК – 72 °C (30 с); заключний синтез – 72 °C (7 хв).

Продуктами ампліфікації даної ПЛР виявились фрагменти ДНК довжиною 384 п.о. Наявність заміни нуклеотида С на G (Pro  $\rightarrow$  Ala) у гені *PPARGC1B* створює для нуклеази *PspN4I* (refSNP ID: rs7732671) сайт рестрикції (GGN↓NCC).

Інкубацію рестрикції суміші з продуктами ампліфікації проводили у окремій пробірці в термостаті при 37°C (на ніч). Склад рестрикційної суміші: 0,4 мкл ендонуклеази *PspN4I* («Fermentas», Литва), 0,8 мкл буфера, 0,8 мкл деіонізованої води.

### **Визначення R577X (C/T) поліморфізму гена $\alpha$ -актиніну-3 (*ACTN3*).**

Для ампліфікації гена *ACTN3* були використані наступні олігонуклеотиди: прямий – 5'-CTG TTG CCT GTG GTA AGT GGG-3' і зворотній – 5'-TGG TCA CAG TAT GCA GGA GGG-3. Реакційна суміш складалась з 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 2,5 мкл дезоксинуклеотидтрифосфату (dNTP), по 25 рМ кожного з праймерів і 0,15 ОД ДіаТак– полімерази. До суміші додавали 50–100 нг (1 мкл) ДНК. Об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Ампліфікація фрагмента складалась з 36 циклів: денатурація – 94 °С (1 хв), гібридизація праймерів – 62 °С (1 хв) і елонгація – 74 °С (7 хв). Довжина ампліфікованого фрагменту становить 290 н.п. Продукти ПЛР розщеплювались ендонуклеазою рестрикції HDdeI (Hpy F31). Один сайт рестрикції в ампліфікованому фрагменті ДНК існує завжди і довжина фрагментів при обробці їх рестриктазою становить 205 та 85 п.н. Через формування нового сайту рестрикції у випадку нонсенс-мутації фрагмент ДНК 205 н.п. розрізається рестриктазами на фрагменти 108 і 97 н.п. Таким чином, гомозиготному генотипу XX відповідали фрагменти довжиною 85, 97 та 108 н.п., RR – 85 і 205 н.п.; RX – чотири фрагменти (85, 97, 108, 205 н.п.).

**Визначення алельного поліморфізму ангіотензинперетворюючого ферменту (I/D поліморфізм).** Для визначення інерційно-делеційного поліморфізму 16-го інтрону гена ангіотензин-перетворюючого ферменту використовували пару специфічних праймерів: прямий (sense) – 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3' та зворотний (antisense) – 5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGAT-3'. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містить 5 мкл PCR-буфера («Амплісенс», Росія), 2,5 мкл dNTP (суміш чотирьох нуклеотидтрифосфатів), 80 пмоль/л Pr<sub>up</sub>, 48 пмоль/л Pr<sub>dw</sub> і 0,1 ОД Tag-полімерази («Амплісенс», Росія), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили в термоциклері «Applied Biosystems 2700» (США).

Програма ампліфікації була такою: денатурація – 94 °С (1 хв), гібридизація праймерів – 58 °С (1 хв) та елонгація – 74 °С (1 хв), разом

30 циклів. Отримані ампліфікати розділяли в 1,5 %-му агарозному гелі (175 V протягом 15 хв) у присутності бромистого етидію (рис. 2.1).

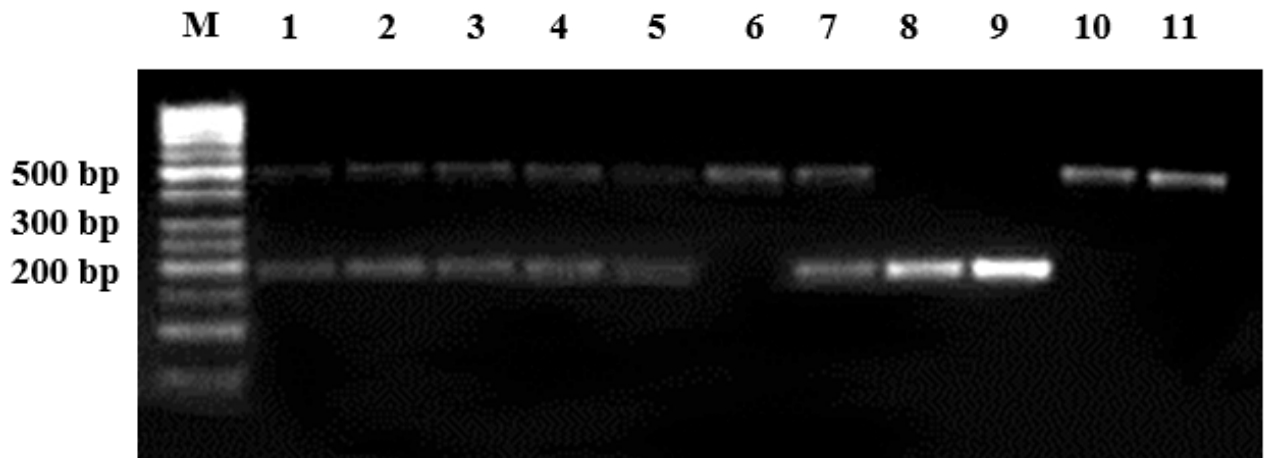


Рисунок 2.1 – Результати електрофорезу фрагменту гена *ACE*: *M* – маркер молекулярної маси (*bp* – пари нуклеїнових основ), доріжки 1 – 5 та 7 відповідають *I/D*-генотипу, доріжки 6, 10, 11 – *I/I*-генотипу, 8, 9 – *D/D*-генотипу

За наявності 287 пар основ в 16-му інтроні вказаного гена утворюється ампліфікат більшої молекулярної маси, що повільніше рухається в електричному полі, а при делеції зазначеної кількості пар нуклеїнових основ утворюється продукт полімеразної ланцюгової реакції меншої молекулярної маси. Якщо в геномі є обидва алеля (*I* та *D*), візуалізується дві смужки, що відповідають ампліфікатам фрагментів інтрону гена *ACE* у гетерозиготному стані.

**Визначення Т/С поліморфізму гена mTOR (rs11121704).** Т/С поліморфізм гена mTOR визначали методом ПЛР у реальному часі за допомогою приладу «7500 Fast Real-time PCR» (Applied Biosystems, США) з використанням TaqMan®Master Mix (2x) (Applied Biosystem, США) (assay C\_31720978\_30).

**Визначення Т/Г поліморфізму гена mTOR (rs2295080).** Т/Г поліморфізм гена mTOR визначали методом ПЛР у реальному часі за допомогою приладу «7500 Fast Real-time PCR» (Applied Biosystems, США) з



використанням TaqMan®Master Mix (2x) (Applied Biosystem, США) (assay C\_16189146\_10). До пробірки, що містить реакційну суміш, яка складалась з 2 мкл 10-кратного Taq-буфера (+ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - $\text{MgCl}_2$ , 0,4 мкл дезоксинуклеотидтрифосфату (2 mM dNTP Mix), 2 мкл  $\text{MgCl}_2$ , 0,3 мкл assay, 0,1 мкл Dream Taq-полімерази, 0,04 мкл ROX (референсного носія флуоресценції), 13,16 мкл  $\text{dH}_2\text{O}$ , додавали 2 мкл ДНК. Програма ампліфікації становила 50 циклів.

Таблиця 2.1 – Характеристика наборів фірми Thermo Scientific для визначення поліморфізмів генів

Ген	поліморфізм	Номер набору
<i>ACTN3</i>	rs1815739	assay ID C__590093_1
<i>PGC1A</i>	rs8192678	assay ID C__1643192_20
<i>PPARA</i>	rs4253778	assay ID C__2985251_10
<i>PPARG</i>	rs1801282	assay ID C__1129864
<i>COL12A</i>	rs970547	assay ID C__7580617_10
<i>MCT1</i>	rs1049434	assay ID C__2017662_30
<i>UCP2</i>	rs660339	assay ID C__903746_1
T/C mTOR	rs11121704	assay C_31720978_30
T/G mTOR	rs2295080	assay C_16189146_10

**Метод виділення тромбоцитів.** Венозну кров забирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 мМ) в якості антикоагулянту ("Sarstedt", Німеччина). Виділення тромбоцитів відбувалося в три етапи: центрифугування (100 g) цільної крові протягом 5 хв (супернатант містив тромбоцити і моноцити); центрифугування (400 g) протягом 2 хв (моноцити осідають на дно пробірки, а тромбоцити залишаються у верхньому шарі); центрифугування (900 g) протягом 6 хв з наступним ресуспензування тромбоцитів у буфері Тіроде наступного складу (137 мМоль NaCl, 12 мМоль NaHCO<sub>3</sub>, 2 мМоль KCl, 0.34 мМоль Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 мМоль MgCl<sub>2</sub>, 5.5 мМоль глюкози, 5 мМоль HEPES (N-2- гідроксиетилпіперазин- N`-2-етансульфонова кислота), рН 7,3), що містив 0,35 % сироваткового альбуміну бика. Підрахунок кількості тромбоцитів проводили в камері Горяєва.

**Метод отримання РНК із крові.** Виділення РНК із тромбоцитів, та моноцитів та плазми проводили із використанням набору Trizol RNA– prep (Isogen, Росія) для виділення тотальної РНК. Метод базується на використанні реагенту *Trizol*, що містить гуанідинізоціонат, який призначений для лізису клітин, солюбілізації клітинного дебрису, денатурації клітинних рибонуклеаз, а також білків. Після цього РНК екстрагується в розчин фенол-хлороформу при центрифугуванні, відмивається від білків та переноситься у стерильні вільні від ДНК та РНК мікропробірки. Отримана РНК може безпосередньо використовуватися для проведення зворотної транскрипції. Набір реагентів дозволяє виділяти із свіжого біологічного матеріалу високомолекулярну нативну РНК високої чистоти (OD<sub>260/280 нм</sub> 2,0). Вихід чистої РНК з 1 000 000 клітин становить 8 – 15 мкг. У процесі виділення РНК ми дотримувалися рекомендацій, наведених у комерційному наборі, та проводили маніпуляції згідно з наступним протоколом.

### **Протокол виділення РНК.**

1. У пробірки об'ємом 1.5 мл внести 100 мкл суспензії щойно виділених клітин та додати 1 мл реагенту *Trizol*. Інтенсивно перемішати вміст пробірок до гомогенного стану.
2. Термостатувати суміш 5 хв при температурі 4 °С.
3. Додати у пробірки 200 мкл суміші хлороформу та ізоамілового спирту у співвідношенні 49 : 1 та інтенсивно перемішувати вміст пробірок.
4. Термостатувати суміш 5 хв при температурі 4 °С.
5. Центрифугувати пробірки протягом 6 хв при 13 400 об/хв.
6. Перенести прозору верхню фазу до чистих пробірок того ж об'єму.
7. Додати до проб рівний об'єм ізопропанолу (500 мкл).
8. Інтенсивно перемішувати вміст пробірок та розмістити їх у морозильній камері при -20°С на 30 хв.
9. Центрифугувати пробірки протягом 16 хв при 13 400 об/хв.
10. Видалити супернатант декантуванням.
11. Додавати 1 мл холодного (4 °С) 75 % розчину етилового спирту, перемішувати вміст пробірок 5 разів та центрифугувати пробірки протягом 6 хв при 13 400 об/хв.
12. Видалити супернатант декантуванням.
13. Висушити осад при температурі 65 °С протягом 5 хв.
13. Додати у пробірки 50 мкл ЕкстраГена™ при постійному перемішуванні останнього розчину.
14. Суспензувати вміст пробірок на вортексі до отримання гомогенної суспензії та термостатувати при температурі 65°С протягом 5 хв.
15. Суспензувати вміст пробірок на вортексі та негайно застосувати для проведення зворотної транскрипції.

**Визначення експресії lncRNA за допомогою методу ПЛР у реальному часі.** Забір венозної крові у спортсменів проводили за допомогою вакуумної системи BD Vacutainer® у пробірки BDHemogard™ (6 мл,

13x100 мм) з  $K_2EDTA$ , нанесеним розпилюванням на внутрішню поверхню пробірки. У стерильну пробірку додавали 2 мл цільної крові та 2 мл 0,9 %-го  $NaCl$ . Центрифугували 15 хв при 3000 об/хв.

Відбирали плазму у епендорфи об'ємом 1,5 мл, яку використовували для подальшого виділення РНК екстракційним методом з додаванням miR-39 з концентрацією 1 fM/1 мкл (miRNeasy Serum/Plasma Spike-In Control, Syn- cel-miR-39 miRNA, Lot No. 227926630, США).

LIPCAR, NRON, MHRT та MIAT – досліджувані довгі некодуючі РНК (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Order Number: 969614 03). До кожної довгої некодуючої РНК є два праймери (див. табл.2.2).

Таблиця 2.2 – Виробничі характеристики праймерів для визначення довгих некодуючих РНК

днкРНК	LIPCAR	NRON	MHRT	MIAT
Праймер №1	R2876G01	R2876G05	R2876G03	R2876F11
Праймер №2	R2876G02	R2876G06	R2876G04	R2876F12

Для визначення довгих некодуючих РНК проводили зворотну транскрипцію, преампліфікацію та ампліфікацію.

**Зворотна транскрипція та полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі.** Зворотна транскрипція полягає у використанні специфічних петльових праймерів, до яких добудовується комплементарна до довгих некодуючих РНК послідовність. Зворотну транскрипцію проводили із RevertAid Reverse Transcriptase ThermoFisher Scientific, застосовуючи 600 нг загальної РНК та олігомерний  $(dT)_{18}$  праймер (рандомний гексамер).

Суміш складалася з 1 мкл олігомерного  $(dT)_{18}$  праймера, 5 мкл  $dH_2O$ , 6 мкл RNA. Після ретельного вортексу суміш інкубували при 70 °С протягом 5 хв. Ампліфікаційна суміш містила 4 мкл 5-кратного M– MuLV RT-буфера,

2 мкл 10 mM dNTP, 0,5 мкл інгібітора РНКаз Ribo – Lock (40u/μl), 0,9 мкл M–MuLV реверсної транскриптази. У контроль додавали 4 мкл буфера, 2 мкл dNTP. Зворотню транскрипцію проводили на термоциклері «Applied Biosystems 2700» (США) Програма містила чотири стадії: 1) 10 хв – температура 25 °С; 2) 60 хв – 42 °С; 3) 10 хв – 70 °С; 4) температура – 4 °С.

Зворотня транскрипція проводиться у два етапи.

Перший етап.

1. У пробірку об'ємом 1,5 мл додали 5 мкл H<sub>2</sub>O (деіонізована вода, очищена від нуклеаз) та 1 мкл Random Hexamer primer на один зразок.
2. У пробірку об'ємом 200 мкл внести по 6 мкл реакційної суміші та додати 6 мкл тотальної РНК, обережно перемішувати.
3. Зразки інкубуват и впродовж 5 хв при 70°С (Gene Amp<sup>®</sup> PCR System 2700, Applied Biosystems, США).

Другий етап

1. У пробірки (на одну пробу): 4 мкл Buffer RT, 2 мкл dNTP (<sup>x</sup>10), 0,9 мкл Revert Aid RT, 0,5 мкл Ribo Lock RNase inhibitor. Обережно перемішати.
2. Додати по 7,4 мкл суміші до зразків після першого етапу по 7,4 мкл.
3. Здійснити інкубацію суміші 1 год при 42 °С, прогріти при 70 °С впродовж 10 хв. Після цього пробірки зі зразками перенести на лід.

Отриману одноланцюгову ДНК використовували для полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі із застосування набору Maxima SYBR Green/ROXqPCR Master Mix (TermoFisher Scientific) для визначення експресії lncRNA. Реакційна суміш містила 5 мкл Maxima SYBR Green 2x, 0, 02 мкл ROX (10 %), 0,15 мкл Pr up, 0,15 мкл Pr dw, 8мкл dH<sub>2</sub>O та 2 мкл ss DNA, синтезованої раніше. Для контролю за якістю виділення РНК та порівняння інтенсивності експресії lncRNA паралельно ампліфікували фрагмент гена miR-39.

Для збільшення кількості копій потрібних фрагментів кДНК ми проводили преампліфікацію із використанням специфічних праймерів для кожної довгої некодуючої РНК.

1. У стерильній пробірці змішують розчин, до складу якого входить (на одну пробу): 3,7 мкл H<sub>2</sub>O, 5 мкл Sybr Green max, 0,05 мкл праймера № 1, 0,05 мкл праймера № 2 та 0,2 мкл Rox.

2. Дану суміш (9 мкл) розносять у чисті мікропробірки, куди згодом додають 3 мкл кДНК.

3. Програма преампліфікації складається із 17 циклів, для якої використовують ампліфікатор (Gene Amp<sup>®</sup> PCR System 2700, Applied Biosystems, США).

**Ампліфікація:** ПЛР у реальному часі проводили за допомогою приладу 7500 FastReal-time PCR (Applied Biosystems, США).

У спеціальному стерильному 96-лунковому планшеті для ПЛР у реальному часі, до 3 мкл кДНК додають 3,5 мкл H<sub>2</sub>O, 5 мкл SybrGreenmax, 0,15 мкл праймера № 1, 0,15 мкл праймера № 2 та 0,2 мкл Rox.

Програма ампліфікації складалася з 50 циклів: денатурація – 95 °С, 15 с, приєднання праймерів та елонгація – 60 °С, 1 хв.

Для ампліфікації використовують такі праймери (табл. 2.3):

Таблиця 2.3 – Праймери для визначення довгих некодуєчих РНК

lncRNA	Прямий	Зворотній	Джерело
MIAT	5'- TGTCTCCATTTGCTCAGTGC- 3'	5'- TCAGGATGGTGCACCTCTCAG -3'	[93]
LIPCAR	5'- AAAGGATGCGTAGGGATGG- 3'	5'- TTCATGATCACGCCCTCAT A-3'	[42]
MHRT	5'- ACACGGCGTTCTTGAGTTT-3'	5'- AGTATGAGGAGTCGCAGTC G-3'	[159]
NRON	5'- GACCAATGCAACTCCAACCT -3'	5'- CATCTTCCAGTGGCAGCTT T-3'	[155]

Для сайлесингу гена днРНК MIAT було синтезовано праймери з відповідних олігонуклеотидів Metabion (Німеччина). Довжина: 21 Sense: 5'-GGA AGC AGG UGG AGG GAC AUU -3' та Antisense: 5'-UGU CCC UCC

ACC UGC UUC CUU- 3' [161]. Для генного сайленсингу *in vivo* ці siRNA були введені у хвостову вену щурам у дозі 80 мкг двічі протягом 7-ми денного інтервалу.

### **2.2.2. Фізіологічні методи дослідження.**

#### **2.2.2.1. Ергогенне дослідження**

У якості ергогенного тесту використали одноразове фізичне навантаження зі ступінчастозростаючою потужністю до моменту вимушеної відмови від роботи. Тест проводили за допомогою веслувального ергометра Concept-II (США) та на тредмілі «Laufband» (Німеччина). Після 3-хвилинної розминки без навантаження виконували стандартну тестуючу роботу з ступенезростаючою потужністю навантаження до моменту «довільної відмови від роботи». Приріст навантаження відбувався кожні 2 хв, без інтервалів відпочинку між сходами, початкова потужність становила 1,5 Вт на кг маси тіла. Характер навантаження дозволяє визначати максимальну аеробну потужність ( $\dot{V}O_2 \max$ ), аеробну ефективність («анаеробний поріг»), рівень загальної фізичної працездатності спортсмена ( $W_{кр}$ , Вт,  $Вт \cdot кг^{-1}$ ).

#### **2.2.2.2. Ехокардіографія**

Адаптацію серця спортсменів до систематичних фізичних навантажень досліджували шляхом ехокардіографії за допомогою приладу IMAGIC Agil, Konrton medical SAS, France на базі кафедри кардіології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика та ННЦ «Інституту кардіології ім. академіка Н. Д. Стражеско» АМН України. Усі дані були отримані з середнього арифметичного результатів вимірів трьох послідовних кардіальних циклів. Досліджувались такі показники: індекс маси ЛШ (ІМЛШ), товщина міжшлуночкової перегородки (МШП, см), кінцево-діастолічний розмір ЛШ (КДР, см), кінцево-систолічний розмір правого шлуночка (КСР, см), об'єм ЛШ на кінцево-діастолічному зображенні (КДО, мл), об'єм ЛШ на кінцево-систолічному зображенні (КСО, мл), товщина

задньої стінки ЛШ (ЗСТ, см). З парастернальної позиції по довгій вісі (PLAX) ЛШ визначали товщину міжшлуночкової перегородки (МШП) та задньої стінки ЛШ (ЗСЛШ), а також кінцево-діастолічний (КДР) і кінцево-сistolічний (КСР) розміри ЛШ з розрахунком маси міокарда (ММ) та індексу маси міокарда (iММ) ЛШ, а також поперечні діаметри виносного тракту ЛШ (ВТЛШ), кореня аорти (Ао) та лівого передсердя (ЛП) (у систолу). Відносну товщину стінок ЛШ розраховували за формулою:  $ВТС\ ЛШ = 2\ ЗСЛШ / КДР\ ЛШ$ .

Глобальну скоротливість ЛШ оцінювали за розрахунком фракції викиду (ФВ) ЛШ після визначення кінцево-діастолічного (КДО) та кінцево-сistolічного (КСО) об'ємів ЛШ за Симпсоном з апікальних 4-камерної (А4С) та 2-камерної (А2С) позицій за формулою  $(КДО - КСО) / КДО$ . Базальний діастолічний розмір правого шлуночка (ПШ) та систолічний поперечний розмір правого передсердя (ПП) отримували з А4С позиції.

Для проведення ЕКГ використовувалось кардіологічне обладнання: діагностичний комплекс "КардіоПлюс" (Метекол, Україна).

Для більш точної діагностики стану серця використовували такі електрокардіографічні показники, як: амплітуда і тривалість комплексу QRS, зміщення електричної вісі серця, R+S у будь-яких відведеннях, SV1+RV5/V6, RaVL+SV3, RaVL+SV3xQRS. Оскільки вольтажні критерії є високоспецифічними, але низькочутливими, тому для діагностики ГЛШ використовували комплексний показник індекс Ромхілт-Істес [16]. Вірогідність ГЛШ оцінювали при значенні індексу Ромхілт-Істес  $\geq 5$ .

Наявність стресорної КМП у спортсменів визначали за такими ознаками: 1) порушення процесів реполяризації (інверсія зубця Т у двох чи більше відведеннях); 2) клінічно значущі порушення провідності (СПСУ, АВ-блокада II і більшого ступеня); 3) ознаки зниження скоротливої здатності міокарда (зниження УО, СІ); 4) виражена гіпертрофія міокарда (товщина міокарда ЛШ понад 12 мм), або ІМЛШ понад  $91\ г/м^2$ . КДР понад 64 мм за даними ЕхоКГ.



### 2.2.2.3. Моделювання впливу фізичного навантаження на тваринах

Експеримент проводився на дорослих самцях щурів Fisher (масою від 200 до 220 г) з дотриманням положень Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (від 21.02.2006 №3447-IV) та Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), згідно з «Науково-практичними рекомендаціями з утримання лабораторних тварин та роботи з ними» Міністерства охорони здоров'я України (Київ, 2002).

Тварин утримували по чотири особини в одній клітці з циклом освітлення 12/12 при температурі повітря 22 °C і забезпечували їжею та водою у довільній кількості. Вплив введення siRNA на фізичний стан щурів оцінювали у трьох групах: перша група – контрольна (КГ); друга група – щури, які виконували фізичні навантаження (плавання протягом п'яти тижнів, тривалістю 30 хв на день) (ЕГ1), третя група – щури, які виконували фізичні навантаження на фоні введення siRNA (ін'єкція у хвостову вену на четвертому та п'ятому тижні тренування) (ЕГ2). Кожна експериментальна група складалась із семи щурів. Щури плавали по три особини у резервуарі (77 x 38 x 39 см), заповненому водою висотою 31 см, температура якої становила  $32 \pm 1$  °C з навантаженням  $7,0 \pm 1,3$  % маси тіла, що відповідає  $70\text{--}75$  %  $V\text{O}_2\text{max}$ , тривалістю 30 хв кожного дня протягом 35 днів. Попередніми дослідженнями було доведено, що тренування за такою методикою викликає так звану «гіпоксію навантаження» (Радзиевский П. А. , 2005). Тест на визначення фізичної витривалості, яку оцінювали за максимальним часом плавання з вантажем  $14,0 \pm 1,2$  % маси їх тіла до стану виснаження проводили перед початком тренування, перед першою та другою ін'єкціями, а також через три дні після них. Стан виснаження визначали за моментом, коли щури знаходились під водою понад 10 с. Час до настання виснаження вимірювали у хвилинах. На четвертому та п'ятому тижнях курсу плавання з вантажем тварини отримували ін'єкції siRNA у хвостову вену у дозі 80 мкг. Щури контрольної групи отримували ін'єкцію 0,9 % розчину

NaCl. Через тиждень було виконано повторну ін'єкцію у тій самій кількості. Ефективність RNA-інтерференції було оцінено за допомогою методу Real-time PCR у м'язах з переважанням швидкоскоротливих (*m. gastrocnemius*) та повільноскоротливих м'язових волокон (*m. soleus*).

Щурів віком 6 місяців масою 330-350 г анестезували уретаном з розрахунку 150 мг/кг ваги. Здійснювали трахеотомію і за допомогою тefлонового катетера під'єднували щура до апарата штучної вентиляції легень для дрібних тварин. Параметри системної кардіогемодинаміки реєстрували за допомогою мікрокатетера з ультрадатчиком тиску на його кінці (Millar Instruments), який через праву сонну артерію вводили в лівий шлуночок. Цифровий сигнал залежності тиску в лівому шлуночка від у вигляді епюри записували за допомогою програмного забезпечення PVan-400. Лігування низхідної гілки лівої коронарної артерії здійснювали шовковою ниткою з атравматичною голкою (3/8, 6/0, 10 мм, Medicor-Budapest) на рівні 3-4 мм від верхівки лівого вушка. Реперфузію здійснювали через 40 хв оклюзії, шляхом зрізання вузла нитки, і далі показники кардіогемодинаміки відстежували протягом 1 год 45 хв. У групі вдавано оперованих тварини здійснювали всі операції, включно з підведенням голки під коронарну артерію, крім накладання лігатури.

У третій групі здійснювали введення препарату "Корвітин" з розрахунку 50мг/кг маси тіла, який розчиняли у воді для ін'єкцій і за допомогою інсулінового шприца вводили в хвостову вену за 10 хв до реперфузії. Наприкінці реперфузійного періоду здійснювали забір верхівки серця з метою виділення РНК і оцінки експресії генів за допомогою ПЛР.

Визначення параметрів кардіогемодинаміки проводилося за допомогою чутливих до змін тиску й об'єму мікрокатетерів (SPR-838; Millar Instruments, Houston, TX). Щурів наркотизували уретаном (1,5 г/кг), після чого через праву сонну артерію ретроградно вводили мікрокатетер в порожнину ЛШ серця. Дані реєстрували й аналізували за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення (ADInstruments, Millar Instruments, Houston, TX).

Відносні величини об'єму конвертували в абсолютні згідно з рекомендаціями виробника.

### 2.2.3. Гематологічні та біохімічні дослідження спортсменів

Забір крові для дослідження здійснювали вранці, натщесерце, у кількості 5 мл з периферичної (ліктьової) вени спортсменів-веслувальників у стані спокою, без попереднього фізичного навантаження. У спортсменів-марафонців забір крові відбувався за добу до марафону, протягом 1–2 годин після фінішу та після доби відновлення. Спортсмени на момент обстежень не пред'являли скарг, не мали проявів гострих захворювань та травм.

Гематологічний аналіз включав визначення в цільній крові кількості лейкоцитів, еритроцитів, вмісту гемоглобіну, внутрішньоеритроцитарного гемоглобіну (mean corpuscular hemoglobin – *MCH*, mean corpuscular hemoglobin concentration – *MCHC*), середнього об'єму еритроцитів (mean corpuscular volume – *MCV*), тромбоцитів та ступеня анізоцитозу. Вимірювання вищезазначених показників проводили на автоматичному гемоаналізаторі "ERMA-210 (Японія) з внутрішньолабораторним контролем якості шляхом застосування при кожному вимірюванні контрольної крові виробництва "ERMA Ltd" (Японія). Результати дослідження співставляли із референтними значеннями (табл. 2.4.).

Таблиця 2.4 – Референтні значення у спортсменів та умовні позначення гематологічних показників

Показники	Загальноприйнята транслітерація (англ.)	Референтні значення
Лейкоцити, $\times 10^9 \cdot \text{л}^{-1}$	WBC	4,0–6,6
Гранулоцити, %	GRA	49,2–60,3
Гранулоцити, $\times 10^9 \cdot \text{л}^{-1}$		2,9–5,8

Продовження табл. 2.4

Лімфоцити, %	LY	26,73–44,73
Лімфоцити, $\times 10^9 \cdot \text{л}^{-1}$ )		1,4–3,0
Моноцити, %	MO	2,04–8,73
Моноцити, $\times 10^9 \cdot \text{л}^{-1}$		0,1–0,7
Еритроцити, $\times 10^{12} \cdot \text{л}^{-1}$	RBC	3,86–5,03
Гемоглобін, $\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$	Hb / HGB	124,8–160,0
Гематокрит, %	HCT / Ht	38–50
Середній об'єм еритроцитів, фл	MCV	79–88
Абсолютний вміст гемоглобіну	MCH	27–32
Середня концентрація гемоглобіну	MCHC	30–38
Анізоцитоз, %	RDW	до 14,5
Тромбоцити, $\times 10^9 \cdot \text{л}^{-1}$	PLT	180–360

Для біохімічних досліджень використовували сироватку крові, яку отримували шляхом центрифугування на центрифугі ОПН-8 (Росія) протягом 30 хв при  $1,5 \text{ об} \cdot \text{хв}^{-1}$ .

У сироватці крові визначали показники активності регуляторів метаболізму (загальна креатинкіназа, аспартатамінотрансфераза, аланінамінотрансфераза, гамма-глутамілтрансфераза, альфа-амілаза, лужна фосфатаза), показники білкового обміну (загальний білок, сечовина, креатинін), показники вуглеводного обміну (глюкоза), показники ліпідного обміну (загальний холестерол, триацилгліцероли), показники мінерального обміну (магній сироватки, фосфор неорганічний) за допомогою напіваавтоматичного біохімічного аналізатора «HUMALYZER 3000» (Human Ltd, Німеччина) з використанням аутентичних стандартних діагностичних і контрольних матеріалів. Індекс пошкодження м'язової тканини

розраховували як співвідношення значень активності КФК і аспартатамінотрансферази. Панель показників, які характеризують параметри біохімічного гомеостазу, наведені у табл. 2.5.

Дослідження оптичної щільності здійснювали у зразках плазми крові спортсменів, отриманої до та через 1–2 години після марафону за допомогою СФ-46 у 10- міліметрових кварцевих кюветах та чутливості 1. Для цього плазму розводили в дистилаті (10 мкл зразка+2990 мкл H<sub>2</sub>O) і здійснювали вимірювання в ультрафіолетовій ділянці спектра ( $\lambda=230-260$  нм). Про вивільнення мітохондріального фактору як маркера відкриття мітохондріальних пор говорили при появі піка поглинання при 245–250 нм. Результати зображали у вигляді графіків залежності екстинції від довжини хвилі.

Таблиця 2.5 – Референтні значення у спортсменів та умовні позначення біохімічних показників

Показник	Загально прийняті скорочення	Референтні значення
Загальний білок, г·л <sup>-1</sup>	–	65–80
Білірубін загальний, мкмоль·л <sup>-1</sup>	–	8,0–20,5
Сечовина, ммоль·л <sup>-1</sup>	HST	2,0–8,3
Креатинін, мкмоль·л <sup>-1</sup>	–	жін. 44–92, чол. 53–110
Глюкоза, ммоль·л <sup>-1</sup>	GLU	4,2–6,4
Магній, ммоль·л <sup>-1</sup>	–	0,75–1,0
Фосфор неорганічний, ммоль·л <sup>-1</sup>	–	1,0–2,0
Аланінамінотрансфераза, U·l <sup>-1</sup>	АлТ, GPT	до 42,0
Аспартатамінотрансфераза, U·l <sup>-1</sup>	АсТ, GOT	до 37,0
Креатинкіназа загальна, U·l <sup>-1</sup>	КФК, СК-NAK	жінки 24–190, чоловіки 24–170
Індекс пошкодження м'язової тканини КФК/АсАТ	–	до 10
$\alpha$ -амілаза, U·l <sup>-1</sup>	–	до 220

Продовження табл. 2.5

Лужна фосфатаза, U·l <sup>-1</sup>	ЛФ, АР	жінки 80–306, чоловіки 64–306
γ-глутамілтрансфераза, U·l <sup>-1</sup>	γГТ, GGT	жінки 9–39, чоловіки 11–61
Холестерин загальний, ммоль·л <sup>-1</sup>	СНО	3,0–6,2
Тригліцероли, ммоль·л <sup>-1</sup>	TAG	0,4–1,86

#### 2.2.4. Методи математичної статистики.

Вибір методів статистичної обробки результатів базувався на таких критеріях: можливість застосування методу при відносно невеликій вибірці та значній кількості предикторів (це явище відоме як «прокляття розмірності» або задача « $p > n$ », де  $p$  – кількість факторів ризику, а  $n$  – розмір масиву даних); можливість проведення нелінійної класифікації, яка характеризує переважну кількість генетичних баз даних; можливість провести ранжування предикторів у залежності від вагомості їх впливу на ризик виникнення мультифакторного захворювання; наявність в методах зручного способу інтерпретації отриманих результатів аналізу; достатньо широке застосування методів у високорейтингових публікаціях відповідного профілю; доступність даних методів у готових програмних продуктах.

Отримані результати популяційного аналізу вибірок були оброблені статистично з використанням програм Excel 2000. Вірогідність різниці середніх величин визначали за критерієм Ст'юдента. Вірогідність відмінностей у розподілі вибірок визначали за критерієм  $\chi^2$  (Пірсона). Значення  $P < 0,05$  вважали достовірним.

Для оцінки залежності фактору гіпертрофії міокарда від поліморфізмів генів був застосований метод бінарної логістичної регресії. Для створення математичної моделі за допомогою методу бінарної логістичної регресії ми використовували один із провідних статистичних пакетів SPSS ver. 20.0.

Для визначення асоціацій поліморфізмів із показниками стану серцево-судинної системи був використаний однофакторний дисперсійний аналіз.

Показники ехокардіографії були перевірені на нормальність за допомогою тесту Шапіро-Вілк. Гомогенність дисперсій була проаналізована за допомогою тесту Лівайна з наступним проведенням дисперсійного аналізу (ANOVA). У випадку гетерогенності дисперсій було проведено модифікації дисперсійного аналізу (тести Брауна-Форсайта і Уельча).

Мінімальний об'єм вибірки розраховували за формулою:

$$n_{\min} = (t_{\text{ay}}^2 \sigma^2 N) / (N \Delta^2 + t_{\text{ay}}^2 \sigma^2), \quad (2.1)$$

де  $t=2$  ( $p=0.95$ ),  $\sigma^2=0,25$ ,  $N$  – генеральна сукупність;

$\Delta=0,1$  (10 % помилки) [1].

## РОЗДІЛ 3

# ДОСЛІДЖЕННЯ УЧАСТІ ДНК-ПОЛІМОРФІЗМІВ ТА НЕКОДУЮЧИХ РНК (нкРНК) У ПРОЦЕСАХ ФОРМУВАННЯ ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА У СПОРТСМЕНІВ ПІД ВПЛИВОМ СИСТЕМАТИЧНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ АЕРОБНОГО ХАРАКТЕРУ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ

### 3.1. Статичний аналіз результатів обстеження стану серцево-судинної системи спортсменів різних видів спорту

Моніторинг у сфері спортивної медицини свідчить, що незважаючи на важливість питання забезпечення підтримки та контролю рівня здоров'я спортсменів на належному рівні для підтримання ними високої функціональної здатності та досягнення високих спортивних результатів, статистичні результати стану здоров'я та захворюваності спортсменів обліковуються тільки локально, на рівні окремих закладів, а в цілому узагальнена статистична інформація даних у легальному доступі в галузі відсутня. У звітах до засідань Експертної ради з питань підготовки та участі спортсменів України в Олімпійських іграх міститься інформація про те, що медичне забезпечення членів збірних команд України здійснюється рядом установ, а саме: державною установою «Український медичний центр спортивної медицини МОЗ України», обласними (міськими) лікарсько-фізкультурними диспансерами; центрами спортивної медицини; відділеннями і кабінетами спортивної медицини закладів охорони здоров'я та Медичною службою збірних команд України Мінмолодьспорту (загалом – 41 заклад). Протягом року ці установи обстежують близько 11 тис. спортсменів збірних команд України та їх резерву. Відхилення серцево-судинної системи при медичному обстеженні олімпійців становлять 24 %. Якщо за 2014 р. у державній установі «Український медичний центр спортивної медицини МОЗ України» медичне обстеження пройшло 7087 спортсменів, у 2015 р. – 7742, у 2016 р. – 6856 спортсменів, то обстежень



ЕКГ було у декілька разів більше: 2014 р. – 21 210; 2015 р. – 22 980; 2016 р. – 20 212.

За даними обстежень у державній установі «Український медичний центр спортивної медицини МОЗ України» серед результатів ЕКГ зустрічаються такі патології та відхилення серцево-судинної системи: синусова брадикардія, виражена синусова аритмія, інверсія зубця Т в двох і більше відведеннях, неповна блокада правої ніжки пучка Гіса, слабкість синусового вузла, екстрасистолії (суправентрикулярні), прискорений серцевий ритм, міграція водія ритму, подовження інтервалу Q-T, повна блокада правої ніжки пучка Гіса, AV-блокада I ступеня, WPW-синдром (синдром Вольфа-Паркінсона-Уайта), CLC-синдром (вкорочений інтервал P-Q) (табл.3.1).

Отже, середня частота випадків реєстрації ЕКГ-відхилень у спортсменів за 2014–2016 рр. у державній установі «Український медичний центр спортивної медицини МОЗ України» становила 23,1 %. Але відомо, що електрокардіографічні показники, як правило, є неспецифічними як для спортсменів [22], так і для осіб з патофізіологічними відхиленнями [16]. Електрокардіологічні зміни у спортсменів із метаболічною КМП фізичного перенапруження і пограничних станів є факультативними і дозволяють проводити тільки первинний скринінг для визначення осіб з підозрою на патологію міокарда із загальної кількості обстежуваних. Як правило, для уточнення діагнозу необхідні додаткові функціональні проби та дослідження, зокрема ЕхоКГ. Під час аналізу результатів ехокардіографічного обстеження спортсменів за 2014–2016 рр. встановлено частоту звернень спортсменів та відсоток випадків спортсменів з вираженою гіпертрофією міокарда (табл. 3.2).

Таблиця 3.1 – Частота зустрічі відхилень від норми у спортсменів, членів збірних команд України при ЕКГ-обстеженні

Зміни ЕКГ	Абсолютна та відносна (%) кількість випадків від загальної кількості обстежених за рік		
	2014	2015	2016
Синусова брадикардія	37(0,5)	49(0,6)	58 (0,8)
Виражена синусова аритмія	10 (0,1)	6(0,1)	-
Інверсія зубця Т в двох і більше відведеннях	340 (4,8)	305 (3,9)	528 (7,7)
Неповна блокада правої ніжки пучка Гіса	79 (1,1)	115 (1,5)	110 (1,6)
Слабкість синусового вузла	5 (0,1)	6 (0,1)	2 (<0,1)
Екстрасистолії	149 (2,1)	166 (2,1)	276 (4,0)
Прискорений серцевий ритм	84 (1,2)	119 (1,5)	236 (3,4)
Міграція водія ритму	530 (7,5)	662 (8,6)	960 (14)
Повна блокада правої ніжки пучка Гіса	15 (0,2)	8 (0,1)	8 (0,1)
AV-блокада I ступеня	13 (0,2)	21(0,3)	20 (0,3)
WPW-синдром	8 (0,1)	5 (0,1)	10 (0,1)
CLC-синдром	6 (0,1)	2(<0,1)	4 (0,1)
Загальна кількість відхилень ЕКГ	18	18,9	32
Загальна кількість обстежених	7087	7742	6856

Таблиця 3.2 – Частота зустрічі спортсменів з гіпертрофією міокарда за результатами ехокардіографії

Вид спорту	Кількість обстежених	Кількість випадків гіпертрофії міокарда	% кількості обстежених
Футбол	315	34	11
Бокс	39	10	25
Академічне веслування	24	8	33
Важка атлетика	3	2	66
Інші види	778	-	-
Загальна кількість обстежених	1534	54	18

Отже, встановлено, що у різних видах спорту різна частота зустрічі ознак гіпертрофії міокарда. В середньому частота зустрічі становила 18 %. Вищою частотою характеризувалось веслування академічне. Це співвідноситься з результатами літературних джерел, які свідчать, що найбільшою масою міокарда відрізняються спортсмени у веслуванні академічному [7].

Результати ехокардіографічного обстеження спортсменів різних видів спорту, виконаного на базі інститут кардіології ім. Стражеска, представлено у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3 – Відмінності показників ехокардіографічного дослідження у спортсменів різних видів спорту

Вид спорту	ММ	МШП	КДР	КСР	КДО	КСО
Веслування академічне (n=25)	170±4,6	13,1±2,1	5,1 ±1,0	8,3±2,2	133,7±8,8	60,6±19,5
Легка атлетика (види на витривалість, n=10)	165±3,9	9,6±0,4	5,0±2,6	6,13±2,7	130±3,5	55±3,2
Легка атлетика (стрибкові види, n=16)	162±5,3	0,96±0,1	5,2±0,27	3,19±0,27	117,7±16,1	52±5,6

Найбільш виразливими показниками гіпертрофії міокарда характеризувалися спортсмени, які спеціалізуються у веслуванні академічному.

Таким чином, частота зустрічі відхилень серцево-судинної системи у спортсменів, членів збірних команд України встановлена у 24 % випадків звернень до медичних установ України, що становить майже ¼ частину звернень. Середня частота випадків реєстрації ЕКГ-відхилень у спортсменів за 2014–2016 рр. у державній установі «Український медичний центр спортивної медицини МОЗ України» становила 23,1 %. Найбільш значно за

частотою та за морфологічними змінами міокарда відрізнялися спортсмени, які спеціалізуються у веслуванні академічному.

### **3.2. Асоціація поліморфізмів генів із схильністю до розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах з переважним розвитком витривалості.**

На першому етапі наукової роботи, шляхом аналізу наукової літератури, було встановлено перелік генів-кандидатів, чиї білкові продукти беруть участь у процесах адаптації до фізичних навантажень, а поліморфізми можуть призводити до змін фізико-хімічних властивостей цих білків, їх функціональної активності, і, як наслідок, до змін морфо-функціональних показників організму. Маркери вибирали з огляду на їх доведену функціональну значущість та можливість їх детекції. До переліку цих поліморфізмів, які можуть слугувати молекулярно-генетичними маркерами перебігу адаптаційних процесів у організмі, належали: 1) поліморфізми генів, що кодують білки, які беруть участь у процесах адаптації до фізичних навантажень у серці; 2) некодуючі РНК, серед яких як мікро-, так і довгі некодуючі РНК, що регулюють процеси пластичності міокарда.

До першої групи було віднесено ті гени, як кодують білки, що є структурними білками міофібрил, транскрипційними факторами генних мереж, впливають на роботу серцево-судинної системи і мають плейотропний ефект дії. Оскільки відомо, що адаптація до фізичних вправ викликає збільшення рівня гліколізу у кардіоміоцитах [65], до нашого переліку також увійшли гени, що впливають на жировий та вуглеводний обмін у міокарді. Гени жирового обміну є маркерами функціонування серця, оскільки основне джерело енергії міокарда – окиснення жирів [53].

На другому етапі роботи було проведено вивчення наявності асоціацій поліморфізмів генів-кандидатів з показниками ехокардіографічного дослідження серця у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на

витривалість. У нашій роботі досліджувались поліморфізми, представлені у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4 – Характеристика досліджених поліморфізмів

Ген	Поліморфізм		Тип	Хромосома	Локалізація	SNP ID
	Нуклеотид на форма запису	Амінокислотна форма запису				
<i>PPARA</i>	G <sup>2528</sup> C	–	–	22q13.3 1	7-й інтрон	rs4253778
<i>ACTN</i>	C→T	R577X	non	11q13– q14	16-й екзон	rs1615739
<i>PPARG</i>	C <sup>34</sup> →G	Pro <sub>12</sub> →Ala	mis неконсерв.	3p25	екзон	rs1801282
<i>eNOS</i>	T <sup>-786</sup> →C	–	–	7q35– 36	промотор	rs2070744
<i>UCP2</i>	C/T					rs660339
<i>PGC1A</i>	G/A	Ala/Val				rs8192678
<i>MCT1</i>	A1470T	Glu490Asp				rs1049434
<i>GALNT1</i> 3	A/G					rs10196189
<i>COL12A</i> 1	G/A					rs970547

У дослідженнях взяли участь 50 спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважними вимогами до розвитку витривалості (біг на довгі дистанції, веслування академічне). Оскільки у 25 спортсменів під час ехокардіографічного дослідження були встановлені ознаки вираженої гіпертрофії, всіх спортсменів було поділено на дві групи: спортсмени без ознак гіпертрофії міокарда або з слабо вираженою гіпертрофією міокарда (група N); спортсмени з ознаками вираженої гіпертрофії – група G (n=25). Поділ на групи відбувався згідно з показниками ММ, ІММ, ФВ ЛШ %. До групи із гіпертрофією відносили спортсменів, з ММ понад 170 г [7], КДО лш понад 145мл.

Частота зустрічі генотипів та алелей у досліджуваній вибірці представлена у таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 – Частота зустрічі генотипів і алелей в групах спортсменів з ознаками гіпертрофії міокарда та без (n=50), %

Ген		<i>PPARG</i>	<i>PPARA</i>	<i>UCP2</i>	<i>PGC1A</i>	<i>ACTN3</i>	<i>eNOS</i>	<i>MCT1</i>
Група	Генотип							
N (n=25)	A/A	62,5	65,4	37,5	64	45,8	41,7	55,9
	A/a	33,3	23,1	50	24	33,3	29,2	41,2
	a/a	4,2	11,5	12,5	12	20,8	29,2	2
	Частота алеля А	79,2	76,9	62,5	76	62,5	56,3	76,5
	Частота алеля а	20,8	23,1	37,5	24	37,5	43,8	23,5
G (n=25)	A/A	80	80,0	15	45	25	35	45
	A/a	12	16,0	55	15	55	25	45
	a/a	8	4	30	40	20	40	10
	Частота алеля А	86	88	42,9	52,5	52,5	47,5	67,5
	Частота алеля а	14	12	57,5	47,5	47,5	52,5	32,5
	P <sub>1</sub>	0,19	0,44	0,16	0,09	0,37	0,5	0,48
	P <sub>2</sub>	0,37	0,14	0,045*	0,02*	0,34	0,41	0,31

Примітки: A/A – гомозиготи за мажорним алелем; A/a – гетерозиготи; a/a – гомозиготи за мінорним алелем; P<sub>1</sub> – статистична вірогідність відмінностей за розподілом генотипів між групами; P<sub>2</sub> – статистична вірогідність відмінностей за розподілом алелей між групами; \* – Вірогідні відмінності за  $\chi^2$ -критерієм.

**Аналіз розподілу генотипів та алелей за Pro<sub>12</sub>→Ala поліморфізмом гена *PPARG*.** Розподіл частот генотипів за поліморфізмом гена *PPARG* у контрольній групі відповідає розподілу Харді-Вайнберга (p=0,96); тоді як у групі з гіпертрофією розподіл відрізняється (p= 0,01), що може свідчити про можливий вплив даного фактора на фенотип, який поки що не підтверджується статистично через невелику вибірку. Серед спортсменів з ознаками гіпертрофії міокарда спостерігається висока частота осіб з генотипом Ala/Ala (8%). У наших попередніх дослідженнях у групі спортсменів, які спеціалізуються у видах на витривалість, частота Pro/Pro-генотипу була вищою за аналогічну у контрольній групі на 12,5 % (p<0,05)

[13]. Попередні результати свідчать, що Pro-алель може сприяти розвитку високої фізичної працездатності у видах спорту з переважним проявом витривалості.

**Аналіз розподілу генотипів та алелей за G<sup>2528</sup>C поліморфізмом гена *PPARA*** дозволяє стверджувати, що в групі спортсменів із гіпертрофією більша частота зустрічі алеля G (на 11 % ніж у осіб без гіпертрофії). У попередніх дослідженнях нами було показано, що спостерігається тенденція до зростання частоти G-алеля зі зростанням спортивної майстерності у видах спорту з переважним проявом витривалості: КМС (0,58)→ МС (0,59)→МСМК (0,68) [15]. Все вище вказане підтверджує теорію про те, що G<sup>2528</sup>→C поліморфізм 7-го інтрону гена *PPARA* може виступати маркером витривалості, а G-алель асоційований із розвитком витривалості [14]. Відомо, що у носіїв G-алеля окиснення жирних кислот у клітинах печінки, міокарда, скелетних м'язів та інших органах відбувається інтенсивніше, ніж у носіїв С-алеля, очевидно, тому алель G відноситься до алелей, що сприяють високій спортивній працездатності. Цей сприятливий алель дозволяє спортсменам виконувати більшу кількість роботи, що призводить до розвитку гіпертрофії міокарда.

**Розподіл за Ala/Val поліморфізмом гена *UCP2*.** У групі спортсменів із гіпертрофією зустрічається низька частота алеля Ala (на 20 %) і низька частота алеля Val ( $p=0,045$ ). Відомо, що гени *UCP2* та *UCP3* (11q13) відповідають за транспорт жирних кислот, здійснюють роз'єднання окисного фосфорилування. Підвищена експресія цих генів, що супроводжує старіння та викликається тотальною ішемією серця, обумовлює дисфункцію мітохондрій. Зміни рівнів експресії цих генів виявляють при ожирінні та цукровому діабеті II типу. С/Т поліморфізм гена *UCP2* rs660339 обумовлює заміну Ala на Val у 55-му положенні білка *UCP2*, що призводить до збільшення метаболічної ефективності м'язової діяльності та схильності до ожиріння при низькій руховій активності [12, 117]. Очевидно, що підвищена частота зустрічі алеля Val є результатом спортивного відбору.

**Розподіл за G/A поліморфізмом гена *PGC1A*.** У спортсменів з гіпертрофією міокарда частота генотипа G/G на 19 % вища, ніж у групі без гіпертрофії, а частота алеля A – на 23,5 % більша ( $p=0,02$ ).

Ключова функція PGC1A-1 $\alpha$  – зістиковування всіх транскрипційних факторів з ядерними рецепторами. У результаті опосередкованої дії PGC-1 $\alpha$  може відбуватися зміна композиційного складу м'язів (білі швидкоскоротливі волокна можуть перетворюватися на повільноскоротливі червоні), підвищується секреція інсуліну, знижується жирова маса тіла. А-алель асоційований з проявами метаболічного синдрому. Частота поширення

A-алеля у світовій популяції знаходиться в межах 30–40 % і асоціюється зі зниженням рівня експресії цього гена. У спортсменів A-алель зустрічається набагато рідше ніж у загальній популяції, а G-алель асоціюється з підвищеною аеробною працездатністю спортсменів. Поліморфізм Gly482Ser вважають предиктором витривалості [100]. Очевидно, спортсмени – носії A/A генотипу схильні до фізичних навантажень анаеробного характеру і ця робота викликає у них неадекватну адаптацію у вигляді надмірної гіпертрофії міокарда, а G-алель сприяє адекватній адаптації до вправ, спрямованих на витривалість, а A-алель призводить до неадекватної адаптації, до переходу кардіоміоцитів на вуглеводний метаболізм.

**Розподіл за R577X поліморфізмом гена  $\alpha$ -актиніну-3 (*ACTN3*)** вірогідно не відрізнявся у групах, хоча у спортсменів із гіпертрофією спостерігалась менша частота генотипу R/R. Дослідження впливу R577X поліморфізму на ступінь пошкодження скелетних м'язів у спортсменів, які займаються ультрамарафонами, виявило, що у осіб з 577X/X-генотипом після змагань у плазмі крові були значно вищі показники руйнування міоцитів. Ультразвукове дослідження м'язів також підтвердило великі показники пошкодження м'язів у спортсменів з 577X/X-генотипом, що свідчить про те, що ультрамарафонці з таким генотипом більш схильні до рабдоміолізу [33].



Можливо, у нашому випадку недостатність механічної пружності при скороченні кардіоміоцити компенсували гіпертрофією.

**Розподіл частоти генотипів і алелей за A1470T поліморфізмом гена *MCT1* (MCT1 – монокарбоксилат транспортер).** У групі спортсменів з ознаками гіпертрофії спостерігалось збільшена кількість зустрічі частоти алеля T (на 9 %). MCT1 (монокарбоксилат транспортер) – це сарколемальний білок-транспортер, що забезпечує транспорт лактату у повільноскоротливі м'язові волокна для окиснення. Поліморфізм T/A призводить до змін амінокислотної послідовності (глутамін на аспарат) на 60 % знижується рівень транспорту лактату. У осіб з A/A-генотипом спостерігається низький рівень лактата у крові. T- алель – високий рівень лактату у крові [127].

Відомо, що T-алель сприяє зниженню швидкості лактатного переносника, що призводить до збільшення лактату у крові після фізичних навантажень. Кардіоміоцити здатні використовувати лактат як джерело енергії в умовах фізичних навантажень. Як відомо, при фізичних навантаженнях метаболізм серця переходить з шляху окиснення ліпідів на гліколіз. Прискорення швидкості гліколізу призводить до гіпертрофії міокарда [65]. Таким чином, T-алель може сприяти розвитку гіпертрофії міокарда.

**Розподіл частоти генотипів і алелей за T/C поліморфізмом гена *eNOS*** виявив в групі спортсменів з гіпертрофією підвищену частоту алеля C (на 10 %), який сприяє, за даними літератури, ішемічним станам та розвитку серцево-судинних захворювань.

### **3.3. Асоціація поліморфізмів генів із показниками ехокардіографічного дослідження серця**

#### **3.3.1. Створення способу прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів із врахуванням поліморфізмів генів**

Застосування однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) дозволило встановити взаємозв'язок між поліморфізмами та показниками

ехокардіографічного дослідження серця. Серед найбільш інформативних показників серця розглядали: ММЛШ, іММЛШ, КДО, ФВ%, КДО/ММЛШ. Було встановлено, що G/A поліморфізм гена *COL12A1* асоційований із показником фракції викиду ЛШ ( $p=0,001$ ) (рис.3.1.). У спортсменів із G/G-генотипом він становив  $60,33 \pm 1,09$  %; у спортсменів з G/A-генотипом –  $69,00 \pm 1,38$  %, а з A/A-генотипом –  $59,00 \pm 1,00$  %. За інформацією, що міститься у базі даних NCBI даний ген експресується у серцевій тканині. Очевидно, що поліморфізм цього гена впливає на розтяжимість міокарда. Сполучна тканина формує каркас органів і тканин. Дисбаланс окремих видів колагену, в тому числі і 12-го типу призводить до зниження міцності тканини [9]. Цей самий поліморфізм здійснює вплив на показник товщини міжшлуночкової перегородки серця ( $p=0,0001$ ) (рис.3.2). У спортсменів із G/G-генотипом вона становила  $1,04 \pm 0,02$  см; у спортсменів з G/A-генотипом –  $1,001 \pm 0,055$ , а з A/A-генотипом –  $0,46 \pm 0,34$  см. Тобто, генотип A/A супроводжується найменшими показниками товщини міжшлуночкової перегородки та величини фракції викиду.

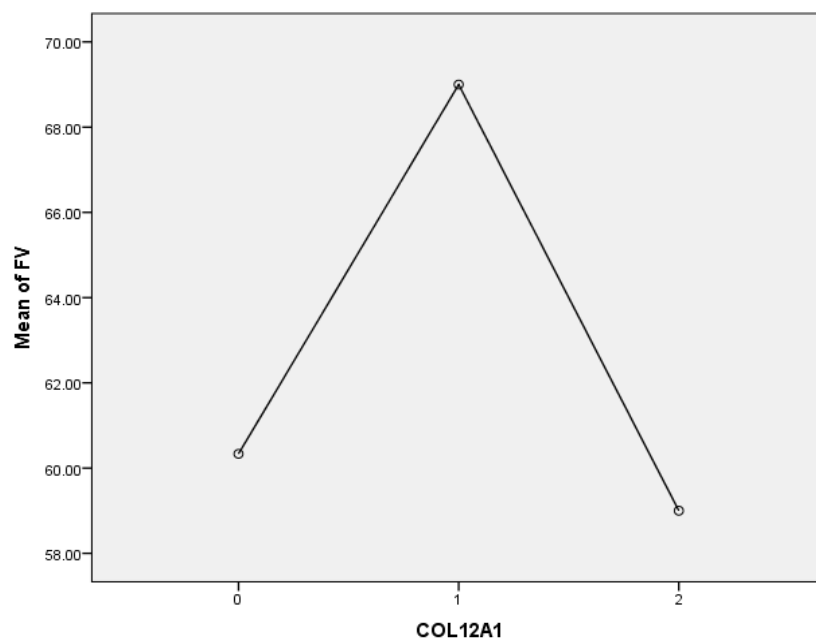


Рисунок 3.1 – Показники фракції викиду ЛШ у спортсменів з різними генотипами (%): 0 – G/G-генотип; 1 – G/A-генотип; 2 – A/A-генотип

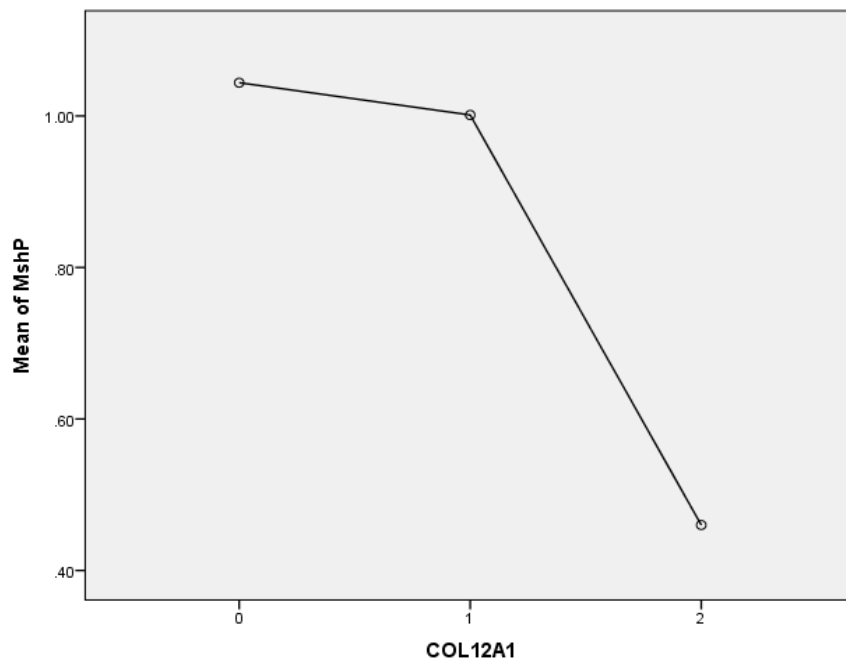


Рисунок 3.2 – Показники товщини міжшлуночкової перегородки серця у спортсменів з різними генотипами (см): 0 – G/G-генотип; 1 – G/A-генотип; 2 – A/A-генотип

Встановлена асоціація G/C поліморфізму гена *PPARA* з товщиною міжшлуночкової перегородки ( $p=0,042$ ) (рис. 3.3.). Спостерігається тенденція до зменшення товщини перегородки зі зменшенням частоти алеля C, що співпадає із закономірністю, встановленою при аналізі частоти генотипів у групах із гіпертрофією міокарда і без неї. У спортсменів з G/G-генотипом МШЛ становила  $1,03 \pm 0,02$  см, у спортсменів з G/C-генотипом –  $0,98 \pm 0,06$  см, у спортсменів з C/C-генотипом –  $0,72 \pm 0,30$  см. Таким чином, можна стверджувати, що G-алель G/C поліморфізму гена *PPARA* сприяє збільшенню товщини міжшлуночкової перегородки. Отриманий факт може пояснюватися роллю білка, що кодується вказаним геном у активації мережі генів, що відповідають за вуглеводний обмін, а отже і за енергозабезпечення міокарда під час м'язової роботи.

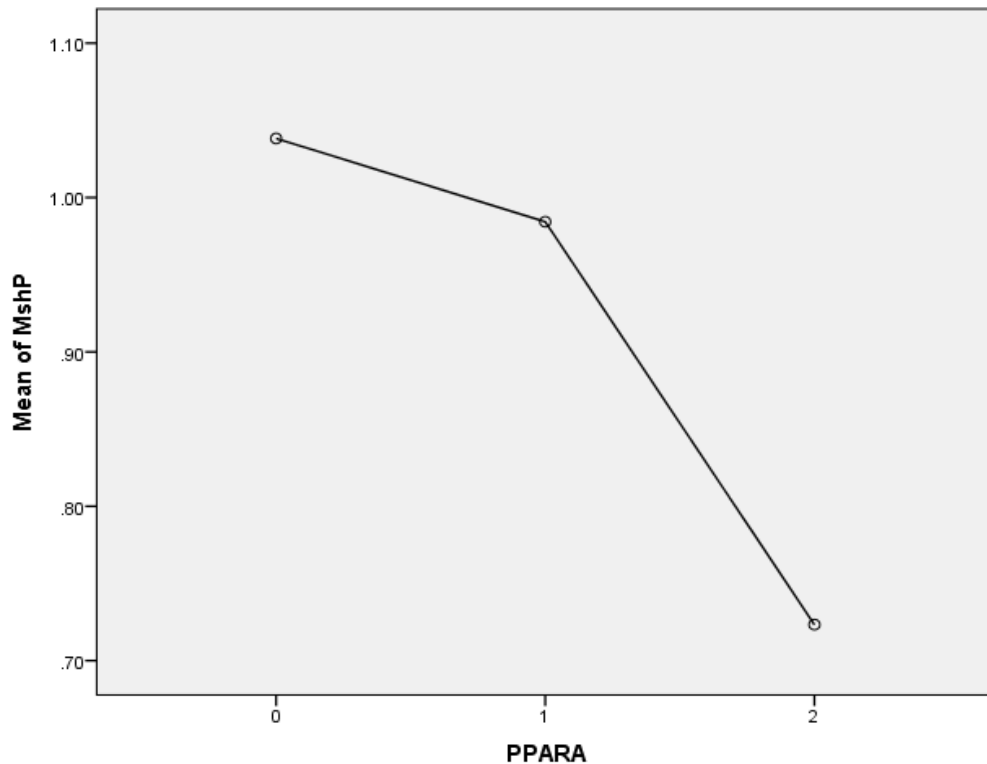


Рисунок 3.3 – Показники товщини міжшлуночкової перегородки серця у спортсменів з різними генотипами гена *PPARA* (см): 0 – G/G-генотип; 1- G/C-генотип; 2-C/C-генотип

Встановлена асоціація Pro /Ala поліморфізму гена *PPARG* з показниками об'єму ЛШ на кінцево-діастолічному зображенні (КДО) ( $p=0,005$ ). У носіїв Pro/Pro-генотипу величина КДО складала  $126,04 \pm 5,65$  мл, а у носіїв Pro /Ala-генотипу –  $96,70 \pm 6,64$  мл. Цікаво, що у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість, висока КДО – показник адекватної адаптації. А отже, зниження КДО у спортсменів – носіїв Ala-алеля є ознакою несприятливості цього алеля для даного виду спорту.

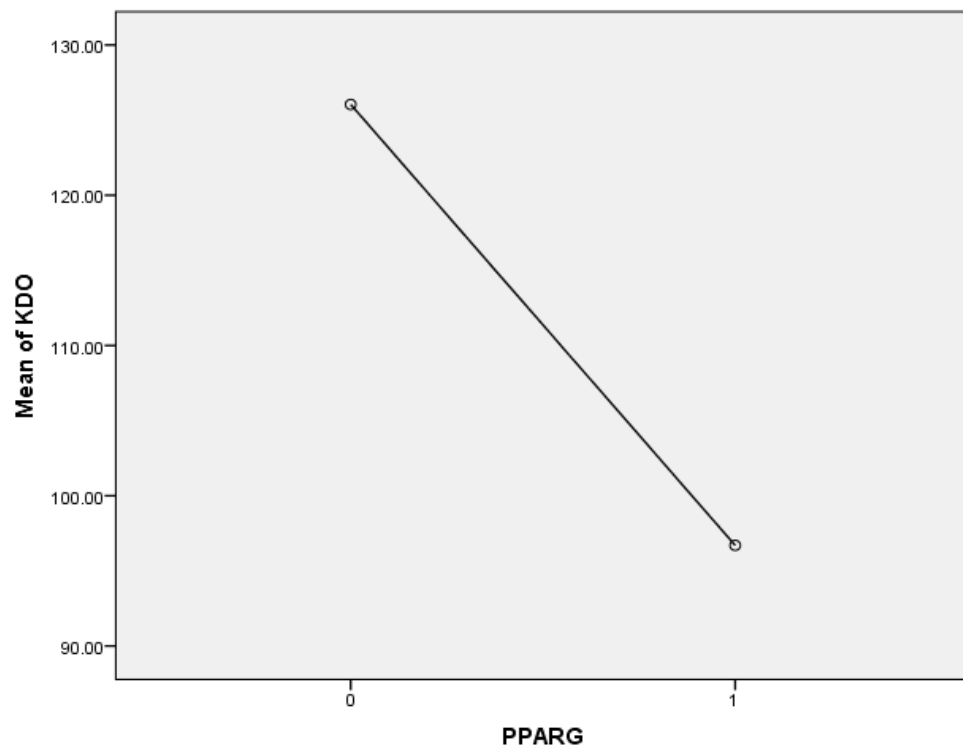


Рисунок 3.4 – Показники об'єму ЛШ на кінцево-діастолічному зображенні (КДО) у спортсменів з різними генотипами гена *PPARG* (мл): 0 – Pro/Pro-генотип; 1 – Pro /Ala-генотип

Застосування методу бінарної логістичної регресії дозволило побудувати модель сукупного впливу поліморфізмів на показники гіпертрофії міокарда у спортсменів. Бінарна логістична регресія застосовується у випадку, коли змінна відповіді має дихотомічну природу (тобто може набувати лише двох значень – гіпертрофія/ відсутність гіпертрофії), а незалежні змінні можуть бути як кількісними, так і категоріальними. Цей метод дуже широко застосовується у медицині, оскільки дизайн більшості медичних досліджень часто підходить під можливість застосування бінарної логістичної регресії, його результати доволі просто інтерпретувати, а сам метод є реалізованим у більшості статистичних програм. Отримана модель володіє високою класифікаційною здатністю - 68,2 %. До моделі входять два поліморфізми: *PPARG* та *UCP2*.

Таблиця 3.6 – Характеристики бінарної логістичної регресії, що відображає взаємозв'язок поліморфізмів і ймовірності розвитку вираженої гіпертрофії міокарда

Observed		Predicted		
		Group		Percentage Correct
		0	1	
Step 1	Group	0	1	
		16	9	64,0
		5	14	73,7
	Overall Percentage			68,2

a. The cut value is .500

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 <sup>a</sup>	PPARG			2,823	2	,244	
	PPARG(1)	-1,528	,921	2,751	1	,040	,217
	PPARG(2)	-,696	1,507	,213	1	,644	,499
	UCP2			5,771	2	,056	
	UCP2(1)	1,903	,913	4,339	1	,037	6,704
	UCP2(2)	2,443	1,087	5,047	1	,025	11,507
	Constant	-1,477	,783	3,563	1	,059	,228

a. Variable(s) entered on step 1: PPARG, UCP2.

Згідно з цією моделлю та показниками OR (Exp(B)) генотипи Pro/Ala та Ala/Ala Pro/Ala поліморфізму гена *PPARG* збільшують ризик розвитку виразливої гіпертрофії міокарда, а Ala/Val та Val/Val-генотипи Ala/Val поліморфізму гена *UCP2* зменшують цей ризик.

### 3.3.2. Асоціація поліморфізму гена *ACE* з ехокардіографічними показниками спортсменів

Вплив фізичних вправ на серцево-судинну систему вже більше ста років є об'єктом вивчення спортивних медиків і фізіологів. Більшість основних закономірностей адаптації ССС, що були встановлені у минулому столітті, завдяки використанню новітнього наукового обладнання переосмислюються та уточнюються. Зокрема, постулат про те, що систематичні фізичні навантаження викликають обов'язкову гіпертрофію міокарда, а її тип залежить від характеру та специфіки фізичних навантажень, зазнав критики через отримання нових результатів [114, 143], і питання вирішальних факторів, що сприяють розвитку гіпертрофії міокарда, залишається відкритим.

Серед генетичних детермінант, які безпосередньо впливають на морфофункціональні характеристики серцево-судинної системи і, можливо, відіграють роль у розвитку неефективної гіпертрофії спортивного серця, найбільший інтерес представляють гени ренін-ангіотензинової системи (РАС).

Під дією одного з ключових компонентів РАС – ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) відбувається утворення ангіотензину II – найбільш активного судинозвужувального пептиду і деградація брадикинина – важливого судинорозширювального чинника. За наявності в гені *ACE* вставки (I-алель) спостерігається знижена активність ферменту в крові і тканинах людини і, навпаки, при її відсутності (D-алель) активність ферменту підвищена [121]. Підвищення концентрації ангіотензину II призводить до неадекватного зростання периферичного опору судин у відповідь на фізичне навантаження, наслідком чого є різке збільшення маси міокарда ЛШ. Зв'язок I/D поліморфізму *ACE* з розвитком гіпертрофії ЛШ переконливо показана в дослідженні групи Монтгомері.

З метою вивчення впливу фізичних навантажень на властивості міокарда у спортсменів, які спеціалізуються в швидко-силових видах, з різними генотипами за I/D поліморфізмом гена *ACE* були проведені ехокардіографічні дослідження. Результати представлені у табл. 3.7. У ході дослідження було встановлено, що найбільшими показниками індексу маси ЛШ і товщиною міжшлуночкової перегородки характеризуються спортсмени з I/I-генотипом. Дані наукової літератури свідчать, що викликане вправами збільшення міокарда ЛШ у молодих чоловіків тісно пов'язане з I/D поліморфізмом гена *ACE* [141]. Присутність D-алеля асоційована з тенденцією до зниження початкової маси ЛШ і до її значного збільшення після тривалих тренувань.

Таблиця 3.7 – Ехокардіографічні показники серця у спортсменів-легкоатлетів з різним генотипом (n=16)

Показник	I/I	I/D	D/D	Норма
Індекс маси ЛШ (ІМЛШ)	88,8±13,4	75,2±9,3	64±7,5	–
Товщина міжшлуночкової перегородки (МШП), см	0,96±0,1	0,89±0,07	0,9±0,04	0,6–1,1
Кінцево-дістолічний розмір ЛШ (КДР), см	5,2±0,27	4,7±0,3	4,6±0,2	3,5–5,7
Кінцево-систолічний розмір правого шлуночка (КСР), см	3,27±0,4	3,19±0,27	3,1±0,3	2,3–3,8
Об'єм ЛШ на кінцево-діастолічному зображенні (КДО), мл	148,4±11,7	117,7±17,7	136 ±9,1	51–160
Об'єм лівого шлуночка на кінцево-систолічному зображенні (КСО), мл	53,6±7,9	43,8±9,8	47±5,2	18–62
Товщина задньої стінки ЛШ (ЗСТ), см	0,96±0,11	0,52±0,1*	0,9±0,12	0,6–1,1

\* Вірогідність стосовно варіанта I/I.

Аналогічні зміни залежно від генотипу відбулися і з товщиною задньої стінки шлуночка і товщиною перегородки. Товщина задньої стінки ЛШ у осіб з I/I-генотипом переважає показник у осіб з I/D-генотипом на 46 % ( $p<0,05$ ).

Отримані показники розмірів і об'ємів порожнин серця відповідають верхній межі норми. Помірна гіпертрофія волокон спостерігається в області задньої стінки ЛШ і міжшлуночкової перегородки. За даними літератури, у спортсменів швидко-силових видів спорту спостерігають виникнення д-гіпертрофії стінок шлуночків, а об'ємні функції порожнини ЛШ не змінюються [7]. У спортсменів з генотипом D/D очікувана гіпертрофія не



спостерігається. Це підтверджує припущення, що спортсмени з генотипом D/D схильні до адекватної адаптації м'язової тканини, до роботи швидко-силового характеру.

Показник КДО обстежених спортсменів відрізняється від показників осіб, які не займаються спортом. У не спортсменів, за даними В. Л. Капрман [18], цей показник становить  $103,0 \pm 15,0$  мл. Але отримані нами показники менші за показники спортсменів, тренування яких спрямовані переважно на розвиток загальної витривалості. Так, за даними З. Б. Белоцерковського, у веслувальників КДО становить  $180 \pm 5,4$  мл [7]. У спортсменів всіх трьох груп помірно підвищений КДО, що є характерним для спортсменів всіх видів спорту, оскільки це оптимізує роботу шлуночків при навантаженні, запобігає залученню додаткових механізмів збільшення серцевого викиду. У спортсменів з генотипом I/I спостерігається збільшення КДО на 30,4 % порівняно з належною величиною і на 20,9% порівняно зі спортсменами з генотипом I/D. За наявності дилатації ЛШ серця (КДО понад 160 мл) воно працює без включення механізму Франка-Старлінга більш економічно. Якщо КДО лише помірно збільшений, то для викиду великого УОК необхідне включення механізму Франка-Старлінга, тому під час наповнення серця розвивається значне «перенавантаження», лівий шлуночок додатково розтягується, його ємність збільшується. Розвивається d-гіпертрофія, коли серцевий викид досягається менш економічним шляхом. КДО як показник дилатації серця, залежить від виду спорту, від особливостей виду тренувань [147]. Так, за даними літератури, дилатація порожнини ЛШ зустрічається у 72 % спортсменів [143].

Відомо, що поліморфізм гена *ACE* відчутно впливає на різні показники роботи серцево-судинної системи. Результати, отримані японськими дослідниками під час проведення ЕКГ у стані спокою до та після програми тренувань у осіб з різними генотипами за геном *ACE*, свідчать, що у осіб з D/D-генотипом QTc був коротшим, а у осіб з I/I-генотипом – довшим, тоді як

ЧСС не змінювалася під впливом тренувань. Зниження QTc після тренувань було більшим у осіб з D/D-генотипом [141].

Хоча, за даними літератури, у спортсменів-носіїв D-алеля I/D поліморфізму гена *ACE* спостерігається тенденція до значного збільшення маси ЛШ, товщини задньої стінки шлуночка і товщини перегородки після тривалих тренувань. У наших дослідженнях методом УЗД серця при дослідженні стану серця спортсменів, які спеціалізуються в легкоатлетичних стрибках, встановлено, що найбільшими показниками індексу маси ЛШ і товщиною міжшлуночкової перегородки характеризуються особи з I/I-генотипом. У спортсменів з D/D-генотипом показники серця в нормі. Зазначений факт може свідчити, що у спортсменів з I/I-генотипом адаптація до роботи швидко-силового характеру, на відміну від осіб з D/D-генотипом, відбувається неадекватно, а гіпертрофія може бути додатковою пристосувальною реакцією, що компенсує знижену силу серцевих скорочень. Тобто, D/D-генотип сприяє адекватній адаптації до роботи швидко-силового характеру.

### **3.3.3. Порівняльний аналіз ехокардіографічних показників у спортсменів з різними генотипом за геном *mTOR***

Важливим фактором у розвитку гіпертрофії серця при адаптації до силових навантажень є фермент mTOR (англ. – *mammalian target of rapamycin*). Цей фермент належить до родини серин/треонін специфічних протеїнкіназ. Він відіграє важливу роль у передачі позаклітинних сигналів через фосфорилування численних субстратів у різних метаболічних реакціях організму людини. mTOR регулює метаболізм у м'язовій тканині шляхом фосфорилування різних ферментів білкового обміну, а також факторів транскрипції і трансляції. Експресія mTOR відбувається у відповідь на зміну метаболічних запитів м'язової клітини і призводить до посилення метаболізму білків [67]. Білок експресується в багатьох тканинах і бере активну участь у регуляції метаболічних реакцій в скелетних м'язах,

пов'язаних з їхньою гіпертрофією і атрофією. Дослідження останніх років свідчать про важливу роль mTOR у регуляції внутрішньоклітинного метаболізму, насамперед на етапах ініціації і трансляції синтезу м'язових білків. Завдяки широкій субстратної специфічності mTOR бере участь у багатьох клітинних процесах, які включають регулювання розмірів клітини, мРНК-трансляцію, біогенез мітохондрій і рибосом, синтез ліпідів, транспорт речовин всередині клітини і аутофагію [78, 89]. Існують ферменти mTORC1 і mTORC2, які відрізняються чутливістю до інгібіторного ефекту рапаміцина. Регуляція активності mTOR в скелетних м'язах відбувається за участю сигнальних шляхів інсулін/IGF1, RAS/PI3K, ферментів AMPK, ERK, PA10, PLD, фосфатидної кислоти (PA), суміші амінокислот і в передусім лейцину, механічного розтягування м'язів і силових фізичних навантажень. Вони можуть розглядатися як потенційні регулятори, здатні активувати mTORC1 і посилювати каталітичну активність ферменту, що призводить до підвищення синтезу білків у скелетних м'язах.

У присутності амінокислот чинники зростання і силові фізичні вправи можуть активувати mTORC1 і збільшувати синтез білків м'язів більш ефективно. Силові фізичні вправи підвищують активність везикулярного транспортного білка Vps34 (фосфатидилінозитол3-кіназа). Це може поліпшити переміщення mTORC1 до лізосом і сприяти пролонгованій активації ферменту під час виконання наступних фізичних вправ. Передача сигналу амінокислот через RagGTP-азні білки до mTORC1 відбувається за рахунок молекулярного механізму, в якому саме GTP-зв'язуючий центр Rag-гетеродимера змінюється в присутності амінокислот. Однак досі не з'ясовано, як зміни в механічному навантаженні м'яза при виконанні силових вправ можуть генерувати сигнал, що передається на mTORC1. Комплекс mTORC1 інтегрує сигнали від енергетичного стану м'язових клітин і таких стимулів: ростові і харчові фактори, фізичні вправи і мітохондріальні фактори, що дозволяє контролювати обмін білків і, отже, зростання розміру м'язових клітин. Анаболізм м'язових білків має місце, коли швидкість

синтезу білків більше, ніж швидкість розщеплення, в результаті чого з часом відбувається збільшення кількості білків у м'язах. Гіпертрофія м'язів є повільним процесом, оскільки синтез білків повинен перевищувати їх розпад протягом тривалого періоду (від тижнів до місяців). Систематичні силові тренування викликають адаптацію, що призводить до гіпертрофії м'язів в результаті інтеграції відповіді генів, що регулюють метаболічні процеси, що збільшують розмір м'язових клітин. Наприклад, одне силове тренування викликає швидко (через 2 год) активацію декількох генів, що беруть участь у гіпертрофії м'язів, з піком індукції для більшості генів у період 4-6 год після тренування. У експерименті на тваринах показано, що довготривалі вправи помірної інтенсивності аеробного характеру викликали розвиток гіпертрофії міокарда шляхом значної активації сигнального шляху Akt/mTOR/p70<sup>s6k</sup>.

Білок mTOR кодується геном *FRAP1* (FKBP12-Rapamycin Complex-Associated Protein), який локалізований у хромосомі 1 (1p36.2). Ген *FRAP1* містить 8189 поліморфізмів, з яких досліджено функціональне значення тільки декількох. Встановлено, що особи з T/T-генотипом T/C поліморфізму гена *FRAP1* (rs11121704) характеризуються вищим рівнем експресії даного гена. T/C поліморфізм гена *FRAP1* (rs11121704) пов'язаний з розвитком онкологічних захворювань, зокрема T/T-генотип [132]. T/G поліморфізму гена *FRAP1* (rs2295080) знаходиться у промоторному регіоні гена і призводить до змін рівня mRNA та зниження люциферазної активності. Раніше нами було встановлено, що G-алель T/G поліморфізму гена *FRAP1* асоційована зі схильністю до виконання вправ силового характеру.

Аналіз розподілу частот алельних варіантів T/G (rs2295080) поліморфізму гена mTOR, результати якого представлені у таблиці 3.8, свідчить, що частоти генотипів у загальній групі спортсменів становили T/T – 5,7 %, T/G – 94,3 %, тоді як у контрольній групі: T/T – 7,5 %, T/G – 92,5 % (p=0,89). Частота алелей T в групі спортсменів становила 0,528, що на 1 % нижче, ніж у контрольній групі, G – 0,472 у спортсменів, при 0,462 у контрольній групі. Вказані величини значно відрізняються від результатів,

отриманих в інших популяціях. Зокрема, за даними бази NCBI середня частота мінорного алеля (MAF) становить 0,462, але в різних популяціях вона коливається. Наприклад, у європейській популяції MAF становила 0,3, у японській – 0,209, тоді, як у африканській – 0,9. У китайській популяції частота G-алеля становила 0,2 [61].

Таблиця 3.8 – Розподіл генотипів та алелей T/G поліморфізму гена mTOR у спортсменів, які спеціалізуються у різних видах спорту, та в контрольній групі (n=234)

Генотип	Швидкісно-силові види спорту		Види спорту з розвитком витривалості		Змішані види спорту		Контрольна група	
	n	%	n	%	n	%	n	%
T/T	6	5,5	4	7,4	1	3,3	3	7,5
T/G	104	94,5	50	92,6	29	96,7	37	92,5
G/G	–	–	–	–	–	–	–	–
T-алель	0,527		0,537		0,517		0,538	
G-алель	0,472		0,463		0,483		0,463	
n	110		54		30		40	
P1 gen	0,9		1		0,76		–	
P1 al	0,88		0,99		0,81		–	
P2 gen	0,89		–		–		–	
P2 al	0,87		–		–		–	

Примітка: P1al – статистична вірогідність відмінностей за розподілом алелей порівняно з контрольною групою; P1gen – статистична вірогідність відмінностей за розподілом генотипів порівняно з контрольною групою; рHWE – статистична вірогідність відмінностей за розподілом генотипів порівняно з розподілом Харді-Вайнберга; P2 al – статистична вірогідність відмінностей за розподілом алелей порівняно зі спортсменами на витривалість; P2 gen – статистична вірогідність відмінностей за розподілом

генотипів порівняно зі спортсменами на витривалість; \*– вірогідні відмінності у за  $\chi^2$ -критерієм,  $p < 0,05$

Рівень значущості  $p_{HWE}$  менше 0,05 свідчить про відхилення розподілу у контрольній групі та групі спортсменів від закону Харді-Вайнберга, що може бути викликано різними причинами: 1) випадковістю, 2) помилками генотипування, 3) гетерогенністю вибірки, яка може складатися з представників різних популяцій, що мають різні частоти алелей.

Група спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з розвитком витривалості, не відрізнялась від контрольної групи за розподілом генотипів та алелей.

Найбільше відрізнявся від розподілу контрольної групи розподіл частоти алелей і генотипів у групі спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з вимогами до поєданого розвитку сили і витривалості. До них у наших дослідженнях належали спортсмени, які спеціалізувалися у вільній боротьбі та вітрильному спорті. У цій групі спостерігалась найнижча частота Т/Т-генотипу та Т-алеля. Частота Т-алеля перевищує частоту у контрольній групі на 2,1 % (рис. 3.5).

Значущі поліморфізми у будь-яких генах включені у процеси адаптації організму до фізичних навантажень і, безумовно, можуть вплинути на потенціал індивідуума. Можна припустити, що чим більше сигнальних шляхів і, відповідно, систем полігенів залучено у певну м'язову діяльність або деяку ознаку, що є важливою для спорту (наприклад, довжина тіла у баскетболі), тим більше поліморфізмів генів визначають індивідуальні відмінності у ступені розвитку фенотипу. У зв'язку з цим стає очевидним, що чим більше успадковується якась ознака, тим менше генів (і поліморфізмів) її визначають. Відповідно, такі фенотипи з високим ступенем успадкування, як вибухова сила, склад м'язових волокон, повздожні розміри тіла, гнучкість та інше детерміновані обмеженою кількістю генів та їх поліморфізмів, і навпаки, маса тіла, аеробна витривалість, спритність та інші

фенотипи, що легко змінюються під впливом зовнішніх стимулів (з найменшим ступенем успадкування і високим ступенем тренуваності), обумовлені взаємодією великої кількості генів та їх варіацій. Різний прогрес у виявленні алелів витривалості (більша кількість) і алелів швидкості/сили (обмежена кількість) деякою мірою відображає цей феномен [3]. Крім того, чим більше генів контролюють процес адаптації, тим менша інформаційна цінність маркерів.

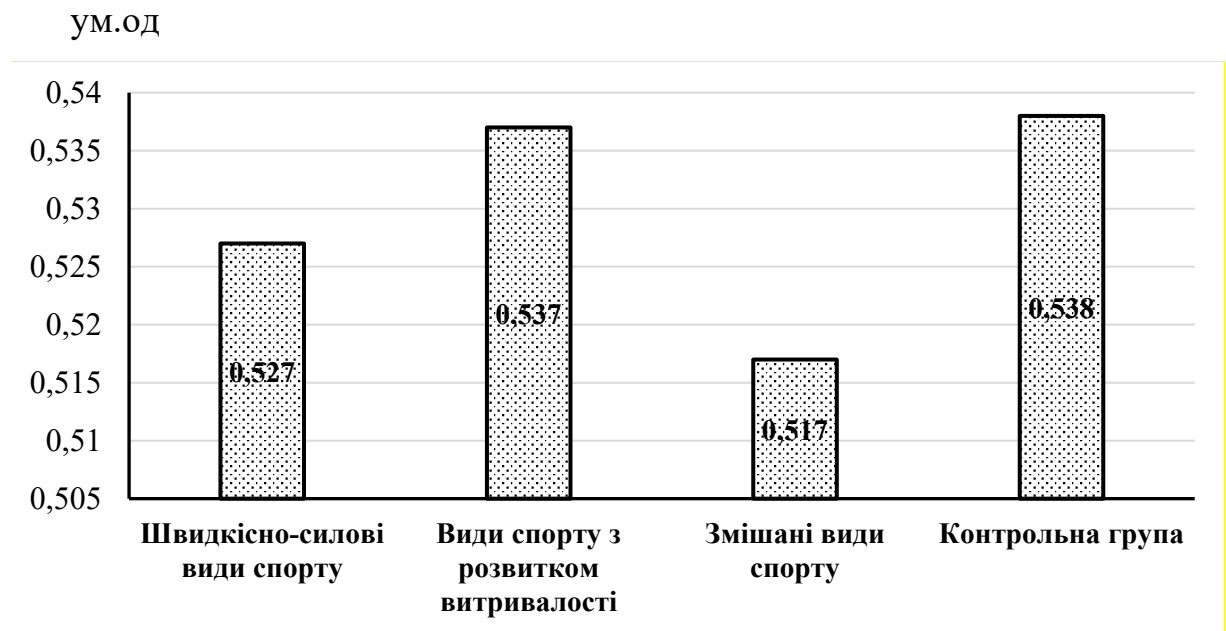


Рисунок 3.5 – Частота Т-алеля Т/С поліморфізму гена *mTOR* в групах спортсменів різних видів спорту

З метою вивчення впливу фізичних навантажень на властивості міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним розвитком витривалості, з різними генотипами за Т/С поліморфізмом гена *mTOR* були проведені ехокардіографічні дослідження (табл. 3.9.). У ході дослідження було встановлено, що найбільшими показниками індексу маси ЛШ і товщиною міжшлуночкової перегородки характеризуються спортсмени з С/С-генотипом. Викликане вправами збільшення товщини міокарда ЛШ у молодих чоловіків може бути тісно пов'язане з Т/С поліморфізмом гена *mTOR*. Присутність Т-алеля асоційована з тенденцією до зниження маси ЛШ.

Аналогічні зміни залежно від генотипу відбулися і з товщиною задньої стінки шлуночка і товщиною перегородки. Товщина задньої стінки ЛШ у осіб з С/С-генотипом переважає показник осіб з Т/Т-генотипом на 46 %.

Таблиця 3.9 – Ехокардіографічні показники серця спортсменів, які спеціалізуються у веслуванні академічному з різним генотипом за геном *mTOR* (n=25)

Показник	Т/Т	С/С+Т/С	Норма
Індекс маси ЛШ (ІМЛШ)	89,4±13,4	64±7,5	–
Товщина міжшлуночкової перегородки (МШП), см	1,02±0,04	1,25±0,1	0,6–1,1
Кінцево-дістолічний розмір ЛШ (КДР), см	5,4±0,27	5,6±0,2	3,5–5,7
Кінцево-систолічний розмір правого шлуночка (КСР), см	3,9±0,4	3,5±0,3	2,3–3,8
Об'єм ЛШ на кінцево-діастолічному зображенні (КДО), мл	150,4±11,7	141 ±9,1	51–160
Об'єм лівого шлуночка на кінцево-систолічному зображенні (КСО), мл	68,6±7,9	50±5,2	18–62
Товщина задньої стінки ЛШ (ЗСТ), см	1,17±0,11	1,3±0,12	0,6–1,1

Отримані показники розмірів і об'ємів порожнин серця відповідають верхній межі норми. Помірна гіпертрофія волокон спостерігається в області задньої стінки ЛШ і міжшлуночкової перегородки. Це підтверджує припущення, що спортсмени з генотипом С/С більш схильні до адекватної адаптації м'язової тканини, до роботи швидкісно-силового характеру.

Відомо, що поліморфізм гена *mTOR* відчутно впливає на різні показники роботи серцево-судинної системи. Встановлено, що *mTOR* сигнальний шлях активується тривалими вправами помірного характеру, а інтенсивні вправи не активують його. Тому вважаємо, що активація *mTOR* відіграє ключову роль у розвитку гіпертрофії міокарда після тривалих вправ аеробного характеру.



Отже, С/С-генотип та С-алель поліморфізму гена mTOR асоційовані зі статусом та зі схильністю до розвитку гіпертрофії міокарда ЛШ спортсменів, які спеціалізуються у швидко-силових видах спорту. Т/С поліморфізм гена mTOR може бути кандидатом у маркери, що визначають схильність до розвитку гіпертрофії міокарда.

### 3.3.4. Поєднаний аналіз поліморфізмів генів *mTOR* і *ACE* при оцінці схильності до розвитку гіпертрофії міокарда

Хоча вплив поодиноких поліморфізмів на розвиток серця статистично доведено, але більшість фенотипічних ознак, в тому числі і ступінь гіпертрофії міокарда контролюється полігенно, тому все більшу важливість отримують роботи комплексної оцінки поліморфізмів генів. Вперше оцінено поєднаний ефект поліморфізмів цих двох генів, що впливають на розвиток гіпертрофії м'язової тканини, на показники серця у спортсменів (табл. 3.10). Це дослідження розширює спектр маркерів для оцінки спадкової схильності спортсменів до виконання фізичної роботи різного характеру.

Таблиця 3.10 – Поєднаний вплив поліморфізмів генів *mTOR* і *ACE* на показник маси міокарда ЛШ спортсменів (n=51)

Генотип	ТТ II	ТТ ID	ТТ DD	ТС II	ТС ID	ТС DD	СС II	СС ID	СС DD
Веслування академічне (n=25)	160± 6,6	164± 5,4	170± 2,6	168± 3,3	167± 7,2	171± 5,8	170± 3,7	171± 4,2	173± 2,1
Легка атлетика стрибки (n=16)	149± 4,9	148± 3,2*	157± 4,5	155± 6,5	159± 3,7	164± 3,2	166± 2,8	165± 7,9	168± 2,6
Легка атлетика витривалість (n=10)	150± 3,9*	155± 2,3	168± 3,4	164± 5,5	167± 3,8	167± 2,1	166± 12,1	169± 2,6	170± 3,7

\* Вірогідно по відношенню до осіб даного виду спорту з генотипом СС/DD,  $p \leq 0,05$

Найбільшими показниками маси ЛШ міокарда характеризувалися спортсмени з генотипом CC/DD, які спеціалізуються у веслуванні академічному, найменшим – спортсмени з генотипом TT/DD, які спеціалізуються у легкоатлетичних стрибках. Вказані показники перевищують нормальні величини, встановлені для здорових нетренованих осіб на 35–40%, що співпадає з раніше отриманими результатами інших дослідників [7]. Спостерігається тенденція до збільшення ММ у спортсменів різних видів спорту зі збільшенням кількості алелей С та D. Аналіз результатів свідчить про те, що поєднаний вплив двох поліморфізмів генів, що кодують білки, які опосередковано беруть участь у процесах біосинтезу у міокарді, призводить до збільшення ступеня гіпертрофії міокарда.

Таким чином, встановлена тенденція до збільшення ММ у спортсменів різних видів спорту зі збільшенням кількості алелей С (*mTOR*) та D (*ACE*). Збільшення кількості алелей С (*mTOR*) та D (*ACE*) призводить до збільшення ступеня гіпертрофії міокарда у відповідь на систематичні фізичні навантаження.

Поєднане визначення двох поліморфізмів генів *mTOR* і *ACE* дозволяє підвищити прогностичне значення використання цих маркерів для оцінки спадкової схильності до розвитку патологічної стадії гіпертрофії міокарда. Розробка дозволяє створити практичні рекомендації для використання даного методу у практиці роботи спортивних лікарів, підвищити ефективність контролю за станом здоров'я спортсменів, ефективність процесу спортивного відбору.

### **3.4. Пошук асоціацій поліморфізмів генів із гематологічними та біохімічними показниками спортсменів, які спеціалізуються у видах з переважним розвитком витривалості**

Вивчення можливого зв'язку поліморфізму зазначених генів з біохімічними маркерами сироватки крові спортсменів показало наступне. Не

було виявлено будь-яких залежностей між різними варіантами поліморфізму і показниками білкового та вуглеводного обміну спортсменів.

Не було виявлено також взаємозв'язку між поліморфізмом досліджених генів та параметрами ліпідного та мінерального обміну спортсменів, які брали участь у дослідженні.

Була виявлена асоціація генетичних маркерів з показниками регуляторів метаболізму, а саме активністю деяких ферментів. Так, спортсмени ( $n=2$ ), що були носіями алеля Ala/Ala гена *PPARG*, мали найбільш високу активність ферменту загальної креатинкінази, який стимулює перетворення креатиніну на креатинфосфат (ресинтез АТФ в реакції трансфосфорилування АДФ і креатинфосфату) і забезпечує енергією м'язове скорочення. Відомо, що КФК, міститься переважно в скелетній мускулатурі, серцевому м'язі, в меншій мірі – у мозку, щитовидній залозі, матці, легенях. Підвищення її активності відбувається при виході ферменту з клітини в результаті її пошкодження [19]. При лабораторному контролі стану спортсмена активність КФК розглядається як показник втоми (якщо на ранок після попереднього тренування активність перевищує  $500 \text{ U}\cdot\text{l}^{-1}$ ), а по співвідношенню КФК/АсАТ можна судити про ймовірність пошкодження скелетної мускулатури [23], що також відмічено у зазначених спортсменів. У атлетів, що мали поліморфізм Ala/Ala, також був відмічений C/C і C/G поліморфізм гена *PPARG*.

Також у спортсменів ( $n=5$ ), в яких визначались алелі А/Т гена *MCT1*, спостерігалась найбільша, в порівнянні з іншими спортсменами, активність альфа-амілази, причому у двох веслувальників з перевищенням референтних значень. Амілаза – фермент, що розщеплює полісахариди їжі (крахмал) і глікоген в процесі травлення та відображає інтенсивність вуглеводного обміну, а також секреторну функцію підшлункової залози [19]. Ген *MCT1* кодує білок-транспортер монокарбонних кислот 1 типу (МКТ1), який забезпечує транспорт лактату з кровотоку в повільні м'язові волокна, де він може бути використаний як енергетичний субстрат [49].

При дослідженні параметрів гематологічного гомеостазу було відмічено тенденцію до збільшення кількості лейкоцитів у спортсменів з поліморфізмом Ala/Ala гена *PPARG*. Будь яких асоціацій поліморфізмів генів з показниками «червоної крові» не було виявлено (табл. 3.11).

Таким чином, у спортсменів, які спеціалізуються в греблі на байдарках і каное, та мають алель Ala/Ala гена *PPARG*, відмічається висока активність ферменту загальної креатинкінази і пошкодження м'язової тканини в стані спокою.

Таблиця 3.11 - Поліморфізм генів та показники гематологічного гомеостазу спортсменів-веслувальників ( $\bar{X} \pm S$ )

Показники	Генотип					
	<i>PPARG</i>		<i>MCT1</i>		<i>PGC1A</i>	
	Pro/Pro (n=9)	Ala/Ala (n=2)	A/A (n=3)	A/T (n=5)	G/G (n=8)	A/A (n=2)
WBC, $\times 10^9 \cdot \text{л}^{-1}$	6,3 $\pm$ 1,3	7,3 $\pm$ 0,1	7,2 $\pm$ 0,3	6,6 $\pm$ 1,7	6,3 $\pm$ 0,7	6,7 $\pm$ 1,4
RBC, $\times 10^{12} \cdot \text{л}^{-1}$	5,2 $\pm$ 0,5	5,1 $\pm$ 0,1	4,9 $\pm$ 0,3	5,1 $\pm$ 0,5	5,4 $\pm$ 0,3	5,1 $\pm$ 1,4
Hgb, $\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$	141,2 $\pm$ 0,5	138,0 $\pm$ 4,2	138,3 $\pm$ 5,5	137 $\pm$ 8,7	146,5 $\pm$ 6,4	137,9 $\pm$ 7,2
HCT, %	41,0 $\pm$ 8,7	39,4 $\pm$ 1,2	40,2 $\pm$ 0,2	40,0 $\pm$ 2,3	42,5 $\pm$ 2,9	40,1 $\pm$ 1,7
MCV, фл	78,9 $\pm$ 4,8	77,2 $\pm$ 0,9	81,0 $\pm$ 4,9	78,5 $\pm$ 4,8	79,1 $\pm$ 0,9	78,9 $\pm$ 4,9
MCH, пг	27,1 $\pm$ 0,9	27,1 $\pm$ 0,4	27,8 $\pm$ 0,6	26,9 $\pm$ 0,9	27,3 $\pm$ 0,4	27,1 $\pm$ 1,0
MCHC, $\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$	34,4 $\pm$ 1,3	35,0 $\pm$ 0,1	34,3 $\pm$ 1,2	34,3 $\pm$ 1,3	34,5 $\pm$ 0,9	34,3 $\pm$ 1,2
RDW, %	14,8 $\pm$ 0,5	14,7 $\pm$ 0,2	15,0 $\pm$ 0,5	14,5 $\pm$ 0,4	14,9 $\pm$ 0,5	14,7 $\pm$ 0,5
PLT, $\times 10^9 \cdot \text{л}^{-1}$	223 (183:335)	223 (193:294)	223,7 (204:241)	222,4 (183:335)	205,0 (183:335)	223,3 (226:284)

Вивчення показників біохімічного гомеостазу спортсменів показало значні індивідуальні коливання, особливо при порівнянні вихідних даних та даних, отриманих через добу після марафону (табл. 3.12).

Таблиця 3.12 – Біохімічні показники плазми крові спортсменів-любителів, учасників марафону ( $\bar{X} \pm S$ )

Показники	Вихідні дані	Після навантаження	Доба після навантаження	Референтні значення
Загальний білок, г·л <sup>-1</sup>	69,4±1,95	71,98±4,41	66,9±1,69	65–80
Сечовина, ммоль·л <sup>-1</sup>	11,03±1,42	12,87±2,06	11,3±2,85	2,0–8,3
Креатинін, мкмоль·л <sup>-1</sup>	105,5 (94,4 : 116,8)	141,7 (114,3 : 187,2)	109,9 (99,1 : 129,6)	53–110
Білірубін загальний, мкмоль·л <sup>-1</sup>	16,6±2,68	17,3±5,13	20,9±4,66	8,0–20,5
Глюкоза, ммоль·л <sup>-1</sup>	5,55±0,58	5,48±0,61	5,8±0,44	4,2–6,4
α-амілаза, U·л <sup>-1</sup>	158,5 (106,2 : 210,4)	150,7 (93,2 : 258,5)	143,3 (66,3 : 260,6)	до 220
АЛАТ, U·л <sup>-1</sup>	20,5±5,28	23,48±5,57	28,4±7,76	до 42
АсАТ, U·л <sup>-1</sup>	29,4 (26,0 : 36,9)	53,6* (31,9 : 67,2)	69,2# (45,4 : 93,5)	до 37
КФК, U·л <sup>-1</sup>	132,1 (91,1 : 219,3)	689,7 (232,0 : 1778,0)	1543,2# (751,4 : 2810,0)	60–180
КФК/АсАТ	4,5±1,8	12,3±8,4*	21,7±4,9#	до 10
γ-ГГТ, U·л <sup>-1</sup>	21,4±8,61	21,5±7,22	22,9±11,41	11–39
Лужна фосфатаза, U·л <sup>-1</sup>	177,1 (117,6 : 225,1)	193,9 (136,7 : 263,0)	167,8 (119,1 : 229,9)	64–306
Холестерин загальний, ммоль·л <sup>-1</sup>	5,1±0,96	5,3±0,75	4,3±0,72	3,0–6,2
Тригліцериди, ммоль·л <sup>-1</sup>	1,1±0,38	1,4±0,36	0,8±0,26	0,4–1,86
Магній, ммоль·л <sup>-1</sup>	1,09±0,03	1,13±0,15	1,10±0,08	0,75–1,0-
Фосфор неорганічний, ммоль·л <sup>-1</sup>	0,90±0,20	0,73±0,22	0,70±0,12	1,0–2,0

\* Вірогідна різниця порівняно з вихідними даними (p<0,05);

# Вірогідна різниця порівняно з даними відразу після навантаження (p<0,05).

У всіх спортсменів, які приймали участь в дослідженні, спостерігались односпрямовані зміни відносно зростання активності саркоплазматичних ферментів АсАТ та КФК, що свідчить про погіршення процесів метаболізму як в серцевому м'язі, так і скелетній мускулатурі (рис. 3.6, 3.7).

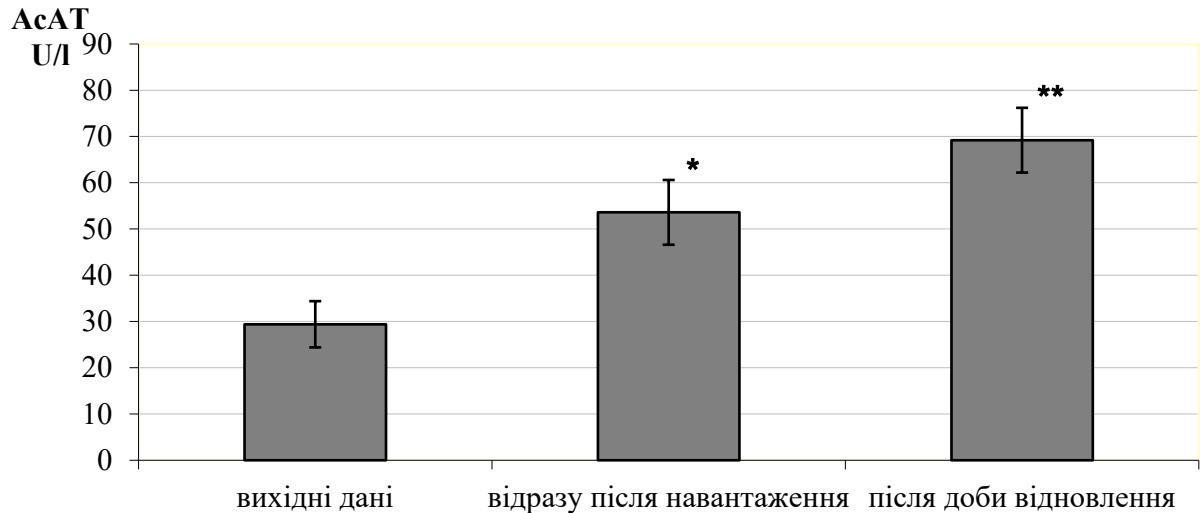


Рисунок 3.6 – Динаміка змін активності АсАТ в спортсменів-марафонців

\* Вірогідна різниця порівняно з вихідними даними статистично достовірна ( $p < 0,05$ );

\*\* Вірогідна різниця порівняно з даними відразу після навантаження статистично достовірна ( $p < 0,05$ ).

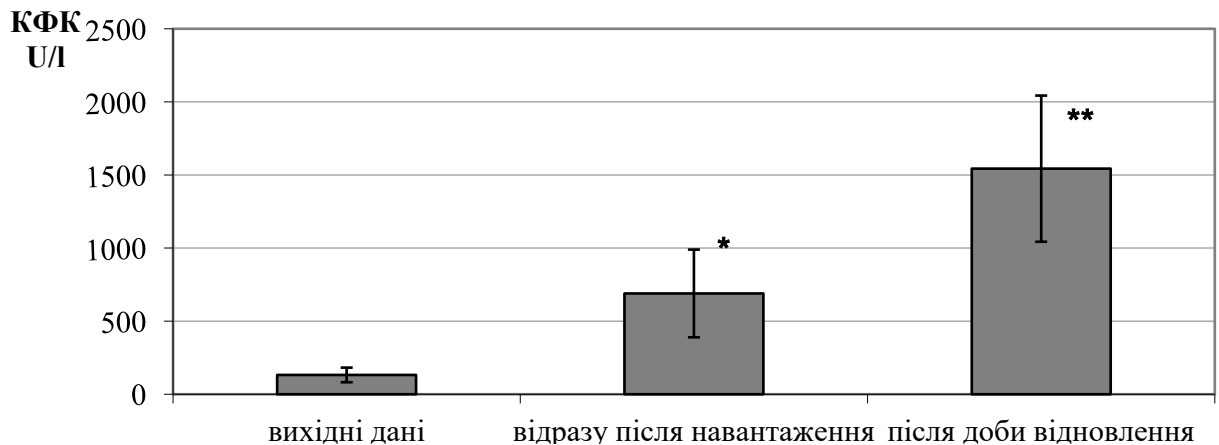


Рисунок 3.7 – Динаміка змін активності загальної КФК в спортсменів-марафонців

\* Вірогідна різниця порівняно з вихідними даними статистично достовірна ( $p < 0,05$ );

\*\* Вірогідна різниця порівняно з даними відразу після навантаження статистично достовірна ( $p < 0,05$ ).

Активність КФК розглядається також як показник локальної втоми нервово-м'язового апарату, якщо на ранок після попереднього тренування її значення перевищує  $500 \text{ U}\cdot\text{l}^{-1}$ , а по співвідношенню КФК/АсАТ можна судити про імовірність пошкодження скелетної мускулатури. Поступове достовірне збільшення зазначеного індексу в нашому дослідженні вказує на наростання пошкоджень м'язової тканини марафонців, оскільки співвідношення КФК/АсАТ понад 10,0 свідчить про пошкодження скелетної мускулатури (рис. 3.8). В дослідженнях інших авторів показано збільшення активності КФК під впливом фізичних навантажень різної інтенсивності та у представників різних видів спорту [56, 68, 153], в тому числі і в марафонських дисциплінах. Відомо, що тривалий біг викликає пошкодження м'язів, проте механізми, які лежать в основі такого ефекту, до кінця не зрозумілі. Припускають, що при довгих дистанціях ексцентричні дії порушують м'язові волокна, що викликає втрату силових якостей та розвиток запального процесу; метаболічний стрес також може сприяти виникненню симптомів пошкодження м'язової тканини [101]. Найвищі значення активності КФК, вивчені в динаміці, відмічені у тенісистів та футболістів після 24–48 год по закінченні матчу, що корелює з отриманими нами даними [56, 68].

Під час вивчення активності інших ферментів, у переважній більшості випадків (83,3 %) відмічалось зниження активності альфа-амілази, причому порівняно як з негайними змінами після навантаження, так і з відставленими змінами; проте показник знаходився в межах норми. Отже функціональний стан підшлункової залози залишався задовільним. У такій самій кількості випадків спостерігалось збільшення активності АЛАТ у період відновлення, показник протягом дослідження залишався в межах норми, що свідчить про задовільний стан метаболічної функції печінки. У дослідженнях інших авторів також показано відсутність пошкодження печінки та відновлення відповідних лабораторних маркерів через 48 год після 12–48-годинного марафону в спортсменів-любителів [82].

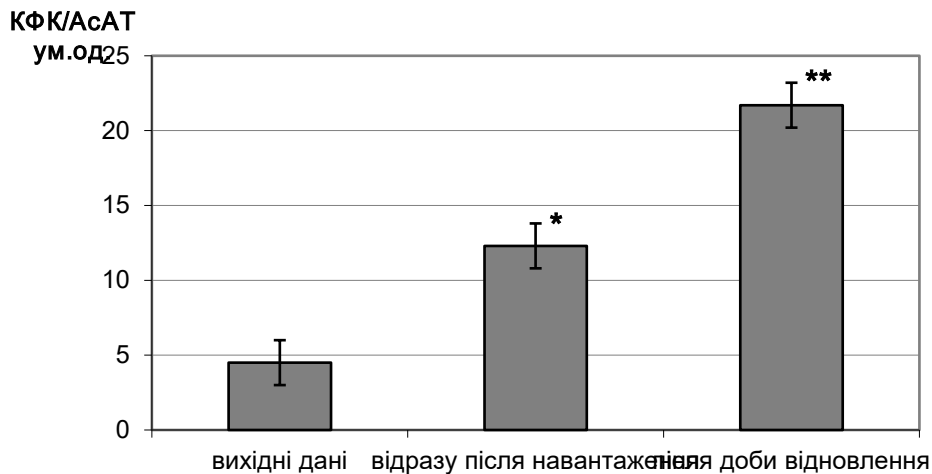


Рисунок 3.8 –Динаміка змін індексу пошкодження м'язової тканини (КФК/АсАТ) в спортсменів-марафонців

\* Статистично достовірна різниця порівняно з вихідними даними ( $p < 0,05$ );

\*\* Статистично достовірна різниця порівняно з даними відразу після навантаження ( $p < 0,05$ ).

Відомо, що для забезпечення м'язової діяльності необхідна енергія, а гліюконеогенез заснований на інтенсивному використанні гліюкогенних амінокислот і вимагає активації трансаміназних (АсАТ, АлАТ) шляхів білкового обміну. За участю трансаміназ також посилюється протеоліз з подальшим знешкодженням потенційно токсичних амінокислот. Вміст АлАТ відображає інтенсивність гліюкозоаланінового шунта, який забезпечує інтеграцію вуглеводного і білкового обмінів, регулює початкові метаболічні шляхи через піровиноградну кислоту і аланін. АсАТ – ключовий фермент інтеграції циклу трикарбонових кислот, вуглеводного, ліпідного та білкового обмінів, маркер транспорту протонів у мітохондрії і їх функціонального стану. Активність АлАТ зростає при фізичних навантаженнях анаеробно-аеробного характеру, АсАТ – при фізичних навантаженнях будь-якої інтенсивності, що має місце і в наших дослідженнях.

Практично у всіх спортсменів (83,3 %) наприкінці дослідження підвищився рівень загального білірубину, порівняно з початковими



значеннями (приріст показника склав 35,9 %), та перевищував референтні межі, що може бути пов'язано з недостатньою ефективністю ендогенної антиоксидантної системи. Інші автори, в дослідженнях яких також відмічено збільшення активності АсАТ, лужної фосфатази та концентрації загального білірубину відразу після фінішу у атлетів після напівмарафону (21,1 км), пояснюють це деяким сповільненням печінкового кровотоку [95].

Концентрація фосфору неорганічного в сироватці крові спортсменів знаходилась на нижній межі референтного значення в стані спокою та знижувалась в динаміці досліджень (показник знизився через добу після марафону на 30,0 % порівняно з вихідними значеннями у 8 з 12 спортсменів), що вказує на зниження енергетичного потенціалу м'язових клітин, оскільки фосфорні сполуки є складовою частиною аденілової системи – АМФ, АДФ, АТФ та креатинфосфату, забезпечуючи енергетичний обмін в процесі м'язової діяльності. Низькі значення зазначеного показника можуть вказувати також на недостатню мінеральну насиченість організму, оскільки при заняттях спортом зростає потреба організму в макро- і мікроелементах, які інтенсивно втрачаються з потом, при мікротравматизації м'язів, а також йде їх посилене виведення через кишківник.

У ході дослідження показників білкового обміну відмічено відсутність суттєвих змін середньогрупових значень креатиніну (утворюється в м'язах при метаболізмі креатинфосфату і забезпечує енергією м'язове скорочення) у переважної більшості спортсменів (66,7 %), хоча вказаний показник перевищував референтні межі відразу після навантаження у всіх спортсменів. Встановлення значень креатиніну, що відповідають нормі, через добу після марафону свідчить про відновлення рівноваги між швидкістю його утворення в м'язах і швидкістю ниркової екскреції.

Рівень сечовини, яка є кінцевим продуктом обміну білка, характеризує функцію печінки, нирок та використовується як критерій швидкості відновних реакцій, протягом всього періоду досліджень перевищував межі норми у всіх спортсменів, що свідчить про перевагу катаболічних процесів та

сповільнення відновних процесів в організмі. При збалансованому вмісті в крові білкових джерел енергії концентрація сечовини на ранок після навантаження повинна становити  $5,5 \pm 1,0$  ммоль·л<sup>-1</sup>.

Також у 66,7 % випадків спостерігалось деяке зниження (на 33,6 %) концентрації триацилгліцеролів після доби відновлення, порівняно з вихідними даними, проте середньогрупові показники вкладались у межі  $1,1 \pm 0,5$  ммоль·л<sup>-1</sup>, що говорить про збалансовані процеси поповнення та утилізації жирових джерел енергії у даних спортсменів. На відсутність змін у ліпідному обміні вказували також незначні коливання концентрації загального холестерину (зниження показника на 21,1 % наприкінці дослідження порівняно з вихідними значеннями) у 66,7 % спортсменів. Концентрації зазначених показників відразу після фінішу свідчать про типові зміни, зумовлені мобілізацією вільних жирних кислот та холестерину протягом тривалого фізичного навантаження.

Різностямовані індивідуальні зміни, під час порівняння вихідних даних та даних, отриманих після доби відновлення, стосувались рівнів загального білка, глюкози, лужної фосфатази,  $\gamma$ -ГТ.

Концентрація загального білка, одного з найважливіших пластичних субстратів, у сироватці крові знизилась на 11,0 % за добу відновлення у шести спортсменів, порівняно з вихідними даними, проте знаходилась у межах норми. У інших спортсменів зазначений показник після підвищення відразу після навантаження, практично не відрізнявся від початкових значень.

Дослідження концентрації глюкози в сироватці спортсменів показало її різностямовані зміни в динаміці досліджень (у 33,3 % спортсменів спостерігалось підвищення показника на 22,3 %, а у 16,1 % спортсменів – зниження на 12,6 %), проте невідповідності референтним нормам не було відмічено, що свідчить про задовільний загальний енергетичний баланс організму спортсменів до, відразу після фізичного навантаження та за добу відновлення.

Активність ферментів  $\gamma$ -ГТ (показник ураження печінки та жовчовивідних шляхів) та лужної фосфатази (відображає функцію жовчовивідних шляхів і активність фосфорно-кальцієвого обміну), також мали індивідуальні коливання, проте відповідали референтним нормам на всіх етапах дослідження, що свідчить про відсутність порушень функцій цих ланок гепатобіліарної системи. Так, активність  $\gamma$ -ГТ після доби відпочинку зросла порівняно з початковим рівнем на 38,7 % у п'яти спортсменів і зменшилась на 48,5 % у 2 спортсменів; активність лужної фосфатази – зросла на 5,8 % у 2 спортсменів і зменшилась на 15,8 % у чотирьох спортсменів. У інших атлетів активність зазначених ферментів практично не змінювалась протягом всього періоду спостережень.

Не було встановлено асоціацій біохімічних маркерів залежно від спортивного стажу або віку марафонців.

Отже, визначення показників біохімічного гомеостазу дозволяє оцінити функціональний стан організму, допоможе правильно підібрати тренувальні навантаження, засоби відновлення та фармакологічної корекції конкретного спортсмена.

Під час дослідження плазми крові спортсменів-марафонців на наявність мітохондріального фактора було виявлено, що при довжині хвиль 245-250 нм оптична щільність зразків не зростала, тобто ми не спостерігали піка оптичного поглинання як у класичних дослідах з ішемією-реперфузією [125]. Це свідчить про відсутність мітохондріального фактору у крові після довготривалого фізичного навантаження. Однак варто звернути увагу на характер кривих і зазначити, що оптична щільність змінювалась однаково у всіх тестованих осіб, збільшуючись у зразках крові, взятих одразу після марафону, і ці зміни були достовірні на всіх довжинах хвиль ( $P < 0,05$ ). Даний факт потребує подальшого вивчення, проте це може бути пов'язано із переходом клітин у більш економний режим використання АТФ, метаболіти, якого менше вивільняються з клітин у кров.

## РОЗДІЛ 4

### ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ДОВГИХ НЕКОДУЮЧИХ РНК (днкРНК) У ПРОЦЕСАХ ФОРМУВАННЯ ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА У СПОРТСМЕНІВ ПІД ВПЛИВОМ СИСТЕМАТИЧНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ АЕРОБНОГО ХАРАКТЕРУ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ

#### 4.1. Порівняльний аналіз участі чотирьох довгих некодуючих РНК (LIPCAR, NRON, MHRT, MIAT) у адаптаційних процесах, що відбуваються у відповідь на фізичні навантаження різного характеру

У дослідженні взяли участь 153 особи, з яких 111 осіб – спортсмени, які спеціалізуються у видах спорту із переважним розвитком витривалості (82 – веслування, 29 – легка атлетика), 12 – непрофесійних спортсменів та 30 нетренованих осіб (контрольна група). Відповідно група спортсменів була поділена на дві підгрупи: спортсмени, які спеціалізуються у веслуванні академічному (веслувальники) та спортсмени, які займаються бігом на довгі дистанції (марафонці). Перша група виконувала у якості тестуючого навантаження ергометричний тест до моменту вимушеної відмови від роботи. В цьому випадку навантаження характеризувалось як робота великої потужності. Друга група тестувалася до, через 1 год після та через 24 год після марафонського забігу. Контрольна група отримувала хронічні навантаження (заняття фітнесом) впродовж 3 місяців. Досліджувалися зміни експресії чотирьох довгих некодуючих РНК (lncRNA) LIPCAR, NRON, MHRT, MIAT. Показники рівня експресії визначались у двох станах: до та після навантаження. Групи спортсменів за показниками ехокардіографії при аналізі результатів вимірювання рівня днкРНК були поділені на підгрупу з ознаками гіпертрофії міокарда та на підгрупу без ознак гіпертрофії.

#### **4.1.1. Зміни експресії чотирьох довгих некодуючих РНК під впливом фізичних навантажень помірної потужності**

Рівень експресії довгих некодуючих РНК у стані спокою у всіх трьох групах був різний та реагував на фізичні навантаження різної потужності, тобто lncRNA беруть різну участь у процесах адаптації організму до фізичних навантажень. Після систематичних фізичних навантажень низької інтенсивності рівень експресії lncRNA NRON у контрольній групі вірогідно зменшується – у 1,91 рази або ж на 47,7 % ( $p=0,04$ ). А експресія LIPCAR, MHRT, MIAT достовірно зростає. Рівень lncRNA LIPCAR у нетренованих осіб зростає у 1,47 рази (або на 47,24 %) ( $p=0,0004$ ), а результати експресії MHRT показують, що її рівень зростає у 1,54 рази або ж на 53,54 % ( $p=0,005$ ). Після фізичного навантаження експресія MIAT значно збільшується у 1,02 рази ( $p=0,017$ ). Таким чином, систематичні навантаження у нетренованих осіб призводять до вірогідного пониження експресії NRON і підвищення LIPCAR, MHRT, MIAT (рис. 4.1).

Відносний рівень днкРНК/miR-39

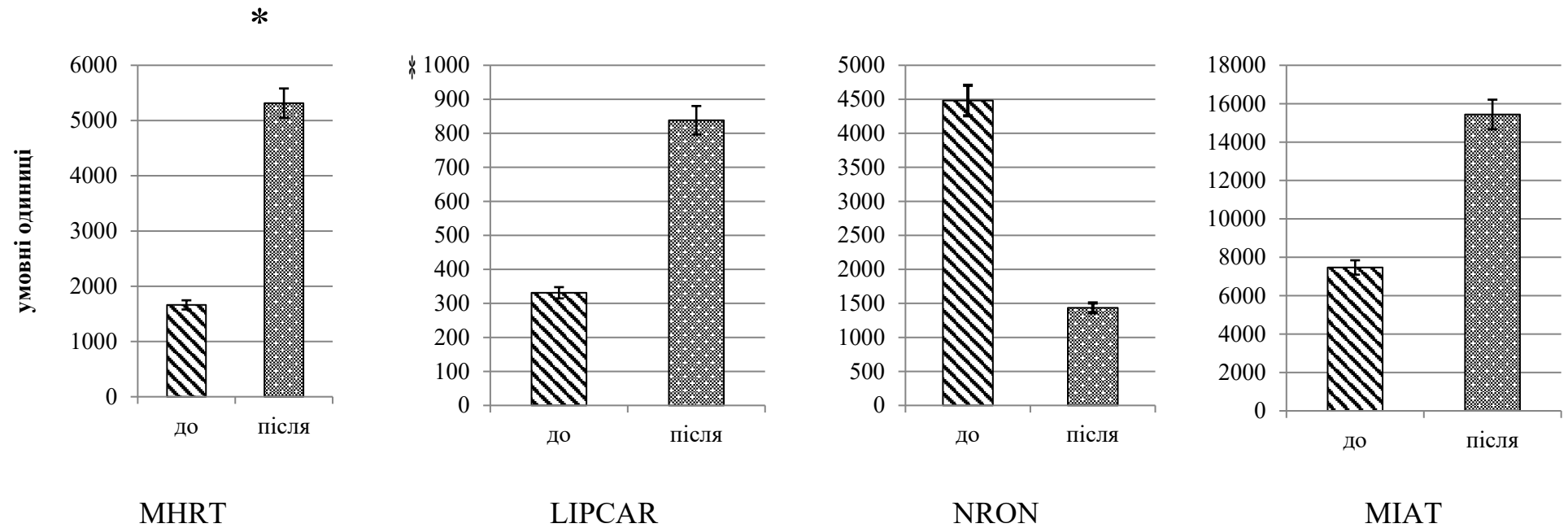


Рисунок 4.1 – Рівень довгих некодуючих РНК до та після систематичних фізичних навантажень низької інтенсивності (12 тижнів) у осіб, які не займаються спортом (n=30)

\* Вірогідність відмінностей порівняно з показником стану спокою ( $p < 0,05$ )

#### **4.1.2. Зміни експресії чотирьох довгих некодуючих РНК під впливом фізичних навантажень великої потужності**

Аналіз рівнів експресії lncRNA у групі професійних спортсменів без гіпертрофії виявив, що після фізичного навантаження великої потужності експресія днкРНК (LIPCAR, NRON, MHRT) достовірно змінилась – LIPCAR у 1,06 рази або на 5,88 % ( $p=0,0029$ ), NRON – у 10,7 рази або на 90,71 % ( $p=0,0428$ ), а експресія днкРНК MHRT зростає у 308,8 рази або на 99,68 % ( $p=0,0086$ ). Після навантаження великої потужності рівень днкРНК MIAT зберігає тенденцію до збільшення, яка не була статистично підтверджена – у 0,55 рази ( $p=0,499$ ).

Оцінюючи рівні експресії у групі професійних спортсменів з гіпертрофією міокарда було встановлено, що оскільки і у групі без гіпертрофії, днкРНК LIPCAR, NRON та MHRT змінюються, проте статистично достовірними були результати лише по LIPCAR – у 1,13 рази або на 12,02 % ( $p=0,0028$ ). NRON – знижується у 137 рази або на 99,27 % ( $p=0,115$ ), а експресія днкРНК MHRT збільшується у 167,8 рази або на 99,43% ( $p=0,236$ ). Після фізичних навантажень рівень днкРНК MIAT незначно збільшується: у 0,63 рази або на 58,85 ( $p=0,382$ ).

Аналізуючи рівні експресії у загальній групі спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту із переважним розвитком витривалості, виявлено, що після фізичного навантаження великої потужності експресія lncRNA LIPCAR достовірно знизилась – у 1,68 рази або на 40,46 % ( $p=0,001$ ), а експресія lncRNA MHRT зросла у 4,74 рази ( $p=0,00003$ ). Рівні lncRNA NRON та MIAT збільшуються після навантаження великої потужності – у 9,25 рази ( $p=0,012$ ) та у 7,42 рази ( $p=0,019$ ) відповідно (рис. 4.2).

Відносний рівень днкРНК/miR-39

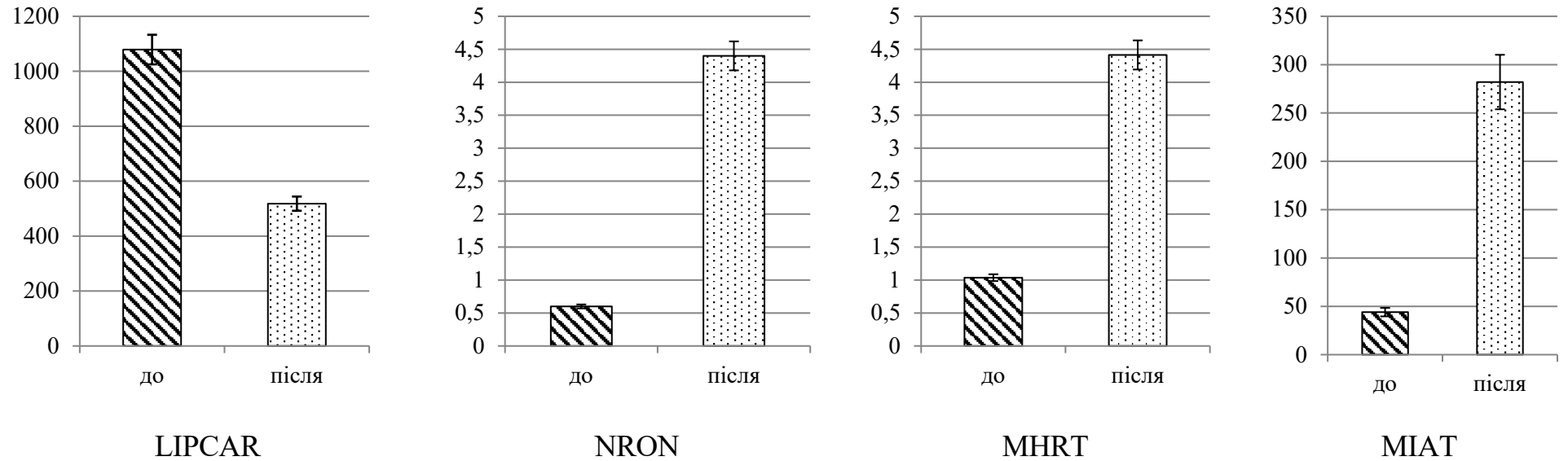


Рисунок 4.2 – Зміни рівня чотирьох довгих некодуючих РНК під впливом фізичного навантаження великої потужності до та після навантаження у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним розвитком витривалості (n= 111)

\* Вірогідність відмінностей порівняно з показником стану спокою (p <0,05).



У ході аналізу результатів зміни рівня експресії днРН під впливом фізичних навантажень помірної потужності, у ситуації із непрофесійними спортсменами, не було отримано вірогідних результатів, хоча рівні експресії lncRNA змінюються. Одразу після фізичного навантаження помірної потужності експресія lncRNA LIPCAR знизилась у 1,02 рази ( $p=0,61$ ), а через одну добу зросла в 1,28 рази ( $p=0,43$ ) вище стану спокою. Експресія lncRNA NRON подібно до LIPCAR – спочатку зменшується в 1,04 рази ( $p=0,56$ ), а через добу відновлюється – від першої точки зростає у 1,02 рази ( $p=0,88$ ). Рівень lncRNA MHRT зростає в обох випадках – у 1,25 рази ( $p=0,67$ ) відразу після марафонського забігу, та у 1,34 рази ( $p=0,32$ ) через 24 год. Експресія MIAT незначно змінюється – знижується у 1,28 рази ( $p=0,35$ ), дещо збільшуючись через добу – у 1,15 рази ( $p=0,47$ ). Після фізичного навантаження помірної інтенсивності експресія більшості lncRNA (LIPCAR, NRON, MIAT) незначно знижується, проте дещо відновлюється через 24 год, що може свідчити про наявність явища суперкомпенсації, тоді як рівень MHRT зростає в обох випадках (рис. 3.3.).

Таким чином, LIPCAR, NRON, MIAT та MHRT – lncRNAs відіграють важливу роль, як у нормальному розвитку серця, так і при виникненні серцевих захворювань, зокрема гіпертрофії міокарда [5]. Вивчені довгі некодуючі РНК беруть різну участь у процесах адаптації до фізичних навантажень, по-різному реагують на навантаження різної тривалості та інтенсивності.

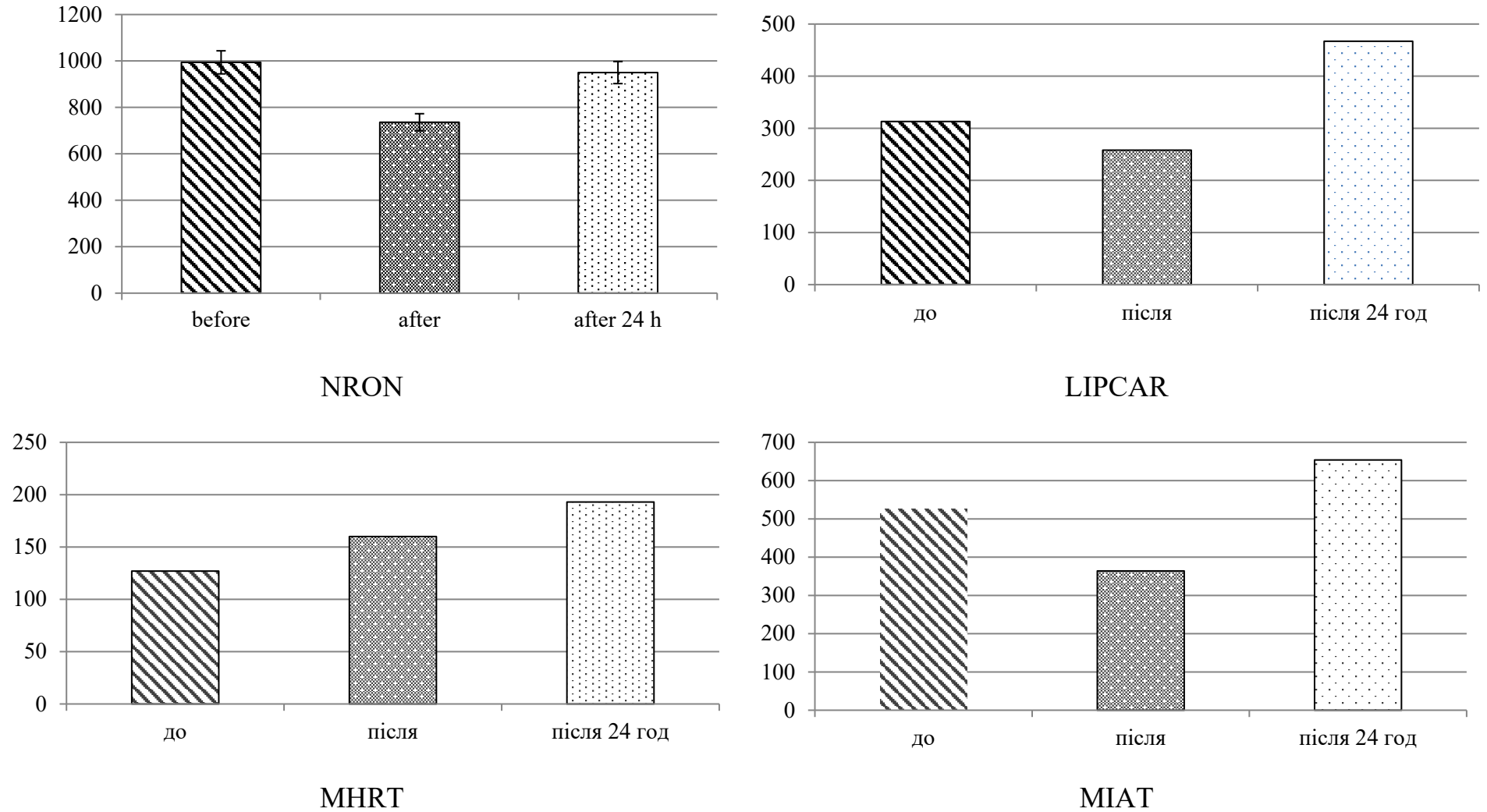


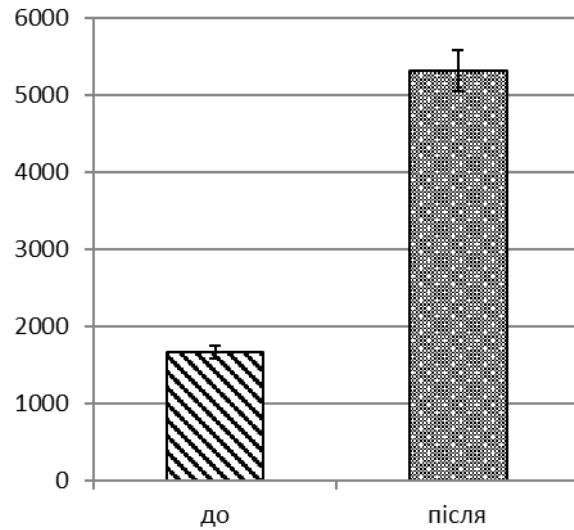
Рисунок 4.3 –Зміни рівня довгих некодуючих РНК до та після фізичних навантажень помірної потужності (відносний рівень днкРНК/miR-39, n=12)

Аналіз результатів дослідження впливу фізичних навантажень різної потужності на організм та різні тенденції зміни при цьому рівня довгих некодуєчих РНК дозволяє стверджувати, що одна з цих довгих некодуєчих РНК, а саме МНРТ бере участь у адаптаційних процесах до всіх трьох видах навантажень (рис. 3.4.). Аналіз рівня МНРТ у плазмі крові в стані спокою у осіб з різним рівнем рухової активності, свідчить, що чим вищий рівень рухової активності, тим менший рівень цієї днРНК у плазмі, що ймовірно є результатом довготривалої адаптації до фізичних навантажень. Її рівень підвищується як при адаптації до одноразових високоінтенсивних фізичних навантажень, так і при систематичних низькоінтенсивних навантаженнях. Очевидно, це може бути пояснено її функціональною роллю, оскільки відомо, що МНРТ – це РНК-транскрипт, асоційований із важким ланцюгом міозину. За даними літератури цей транскрипт впливає на ремоделювання серця та на розвиток гіпертрофії, оскільки здатний пригнічувати патологічну трансформацію  $\alpha$ - важкого ланцюга міозину у  $\beta$ -важкий ланцюг міозину, що запобігає розвитку серцевої недостатності [151].

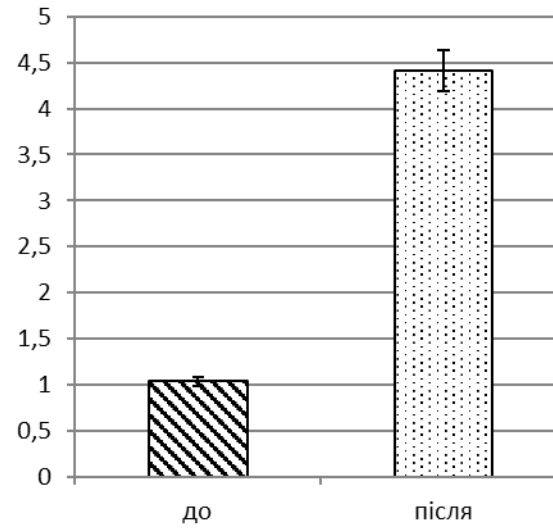
Раніше доведено, що стимуляція експресії МНРТ зменшує патологічну трансформацію  $\alpha$ -МНС у  $\beta$ -МНС. Крім того, 45 % випадків гіпертрофічної кардіоміопатії відбуваються у носіїв поліморфізму гена  $\beta$ - важкого ланцюга міозину. Інгібіція цього гена призводить до зменшення синтезу цього білка на 25 % та попередження розвитку гіпертрофії міокарда та міокардіального фіброзу [154]. Таким чином, активізацію експресії гена МНРТ під впливом фізичних навантажень різної потужності можна вважати захисним механізмом, що протидіє розвитку гіпертрофії міокарда та фіброзу. Крім того, наші припущення підтверджуються тим, що у спортсменів без ознак гіпертрофії зміни рівня експресії МНРТ після фізичних навантажень великої потужності є значно виразнішими. Чим вищий рівень експресії цього гена, тим менша ймовірність розвитку патологічних форм гіпертрофії міокарда. Також, у попередніх роботах було показано, що МНРТ підвищується у крові після інфаркту міокарда. Нокдаун гена цієї днРНК призводить до розвитку

апоптозних клітин, демонструючи, що МНРТ є захисним фактором для кардіоміоцитів, а її рівень може слугувати біомаркером для діагностики стану міокарда [159].

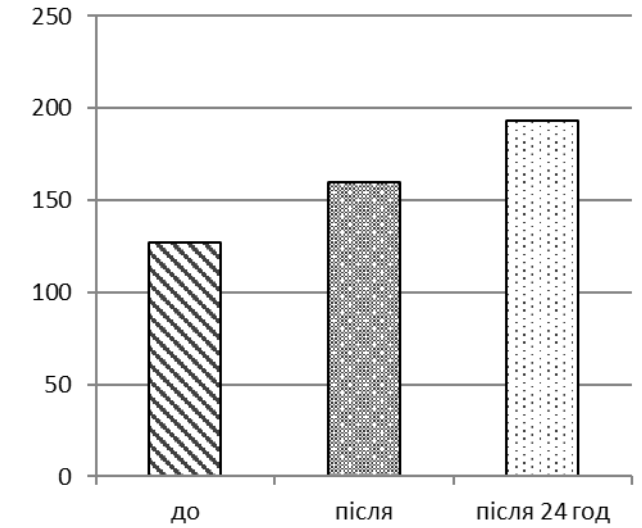
Відносний рівень днкРНК/miR-39



Фізичні навантаження низької потужності



Фізичні навантаження високої потужності



Фізичні навантаження помірної потужності

Рис. 4.4. Рівень МНРТ у плазмі крові до та після фізичних навантажень різної потужності

#### **4.2. Вплив рівня днРНК на ехокардіографічні показники серця спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним розвитком витривалості**

Для перевірки ролі нашої гіпотези про роль довгих некодуючих РНК у формування ступеня гіпертрофії міокарда та їх можливе використання як маркера ступеня гіпертрофії, ми провели аналіз факторної структури фізичного стану спортсменів, та визначили кореляційні взаємозв'язки між величиною рівня днРНК та показниками ехокардіографії.

Під час аналізу отриманих даних, спортсменів було поділено на дві підгрупи: спортсмени із виразливою гіпертрофією міокарда та спортсмени без гіпертрофії міокарда (табл. 4.1).

Факторний аналіз показників гіпертрофії міокарда у групі спортсменів без гіпертрофії міокарда проводився для оцінки відсоткового вкладу кожного фактора. Було визначено три фактори: I, II, III .

Таблиця 4.1 – Факторна структура гіпертрофії міокарда у спортсменів (n=17)

<b>Фактори, що визначають гіпертрофію міокарда</b>	<b>Внесок окремого фактора, %</b>
Фактор I	44,8
Фактор II – Об'єм ЛШ в стані спокою	32,2
Фактор III	13,7
<b>Загальний внесок визначених факторів, %</b>	<b>90,7</b>
<b>Внесок інших факторів, %</b>	<b>9,3</b>

Аналіз факторної структури підтвердив, що Фактор I займає провідне місце серед факторів, що визначають гіпертрофію міокарда. Фактор I, який робить найбільший внесок у загальну дисперсію (44,8 %), ототожнений нами з гіпертрофією міокарда, має таке факторне навантаження показників: ФВ

( $r = -0,862$ ;  $p < 0,01$ ); ЗСТлш ( $r = -0,868$  при  $p < 0,01$ ), МНРТ ( $r = -0,858$ ;  $p < 0,01$ ), МІАТ ( $r = -0,828$ ;  $p < 0,01$ ), LIPCAR ( $r = -0,778$ ;  $p < 0,01$ ).

Фактор II також займає провідне місце серед факторів, що визначають гіпертрофію міокарда, оскільки має внесок 32,2 % у загальній дисперсії. Фактор II має факторне навантаження таких показників: КДО ( $r = -0,891$ ;  $p < 0,01$ ); NRON ( $r = -0,853$ ;  $p < 0,01$ ).

Фактор III має внесок 13,7 % у загальну дисперсію за рахунок факторного показника МШП ( $r = 0,875$ ;  $p < 0,01$ ). Фактор I та фактор II вказують на те, що функціональні показники ехокардіографії та рівні експресії днкРНК мають зворотну дію: чим більші показники ЕХО, тим нижчий рівень днкРНК та навпаки. Фактор III має прямий вплив на розвиток гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість.

Для оцінки відсоткового вкладу кожного фактора у групі спортсменів з вираженою гіпертрофією міокарда проводився факторний аналіз показників ехокардіографії та днкРНК (табл. 4.2). Було визначено два фактори: I, II.

Таблиця 4.2 – Факторна структура гіпертрофії міокарда у спортсменів (n=12)

<b>Фактори, що визначають гіпертрофію міокарда</b>	<b>Внесок окремого фактора %</b>
Фактор I	63,1
Фактор II	36,8
<b>Загальний внесок визначених факторів, %</b>	<b>99,9</b>
<b>Внесок інших факторів, %</b>	<b>0,1</b>

Фактор I із внеском у 63,1 % у загальній дисперсії, має ключове місце у розвитку гіпертрофії у спортсменів, які професійно займаються спортом. Він ототожнений з гіпертрофією міокарда та має факторне навантаження показників: МШП ( $r = -0,998$ ;  $p < 0,01$ ); КДО ( $r = 0,971$ ;  $p < 0,01$ ); КДО/ММлш

( $r=0,826$ ;  $p<0,01$ ), NRON ( $r= -0,703$ ;  $p<0,01$ ), MHRT ( $r= -0,998$ ;  $p<0,01$ ), MIAT ( $r= -0,995$ ;  $p<0,01$ ).

Фактор II даної групи має внесок 36,8 % у загальну дисперсію за рахунок показників з факторним навантаженням: ММлш ( $r= -0,964$  при  $p<0,01$ ); ФВ ( $r=0,835$  при  $p<0,01$ ); ЗСТлш ( $r=0,759$  при  $p<0,01$ ), NRON ( $r= 0,711$  при  $p<0,01$ ), LIPCAR ( $r= -0,766$  при  $p<0,01$ ).

Аналізуючи показники фактора I, ми бачимо, що МШП, NRON, MHRT та MIAT прямо впливають на розвиток гіпертрофії, а КДО та КДО/ММлш мають зворотню дію.

Показники ехокардіографії широко використовуються при виявленні патологій міокарда, тому також є інформативними у спорті та медицині. Проведено кореляційний зв'язок між функціональними показниками міокарда спортсменів та їхньою генетичною схильністю до цієї патології(табл. 4.3).



Таблиця 4.3 – Кореляційні зв'язки між показниками ехокардіографічного дослідження та рівнем днРНК у крові спортсменів

Таблиц	Means	Std.Dev.	ММЛШ	ФВлш (%)	ЗСТлш	МШП, см	КДО	КДО/ММЛШ	NRON	МНРТ	МІАТ	LIPCAR
ММЛШ	166,3103	39,7250	1,000000	-0,112525	0,712621	0,476152	0,635894	-0,387142	0,019961	0,080563	-0,016024	0,123586
ФВлш, %	61,5414	5,5997	-0,112525	1,000000	0,129787	0,009556	-0,330355	-0,269473	0,006852	0,285896	0,285504	0,299434
ЗСТлш	0,8748	0,1337	0,712621	0,129787	1,000000	0,465325	0,297143	-0,458745	0,032802	0,102754	0,095977	0,040885
МШП, см	1,0266	0,2057	0,476152	0,009556	0,465325	1,000000	0,133461	-0,401135	-0,515649	-0,126212	-0,072401	-0,110491
КДО	118,7931	28,8077	0,635894	-0,330355	0,297143	0,133461	1,000000	0,450891	0,232543	0,166116	0,010978	0,212178
КДО/ММЛШ	0,7283	0,1589	-0,387142	-0,269473	-0,458745	-0,401135	0,450891	1,000000	0,236506	0,047782	-0,020755	0,058661
NRON	0,5607	1,0216	0,019961	0,006852	0,032802	<b>-0,515649</b>	0,232543	0,236506	1,000000	0,549177	0,359551	0,525473
МНРТ	0,7611	2,1119	0,080563	0,285896	0,102754	-0,126212	0,166116	0,047782	<b>0,549177</b>	1,000000	<b>0,880267</b>	<b>0,878582</b>
МІАТ	67,3714	202,7893	-0,016024	0,285504	0,095977	-0,072401	0,010978	-0,020755	0,359551	0,880267	1,000000	<b>0,635737</b>
LIPCAR	210,1372	479,6796	0,123586	0,299434	0,040885	-0,110491	0,212178	0,058661	0,525473	0,878582	0,635737	1,000000

Між показниками, що відображають розвиток гіпертрофії у спортсменів є велика кількість достовірних кореляційних взаємозв'язків. аналіз яких підтверджує існуюче в літературі твердження, що визначальними показниками гіпертрофії міокарда слід вважати передусім функціональні показники стану серця та генетичну схильність до здатності розвитку даного захворювання.

Таблиця 4.4 – Коефіцієнт кореляції між показниками ехокардіографії та експресією днРНК у групі спортсменів без гіпертрофії міокарда

	ММл ш	ФВ лш %	ЗСТл ш	МШП, см	КДО	КДО/М Млш	NRO N	MHR T	MIAT	LIPC AR
ММлш	1									
ФВлш, %	- 0,0720 16	1								
ЗСТлш	0,7182 78*	0,072 578	1							
МШП, см	0,3095 77	0,025 283	0,281 904	1						
КДО	0,6549 15*	- 0,259 146	0,380 687	0,0363 95	1					
КДО/М Млш	- 0,1484 08	- 0,271 297	- 0,237 315	- 0,2740 13	0,6391 79*	1				
NRON	0,2586 87	- 0,028 853	0,095 359	- <b>0,5885</b> <b>21*</b>	0,4579 21	0,280605	1			
MHRT	0,3642 77	0,388 223	0,361 484	- 0,0505 05	0,2967 36	- 0,037196	0,5984 33*	1		
MIAT	0,2567 30	0,384 564	0,411 650	0,0428 24	0,1084 81	- 0,157360	0,3502 49	0,8773 42*	1	
LIPCA R	<b>0,5248</b> <b>82*</b>	0,379 746	0,361 388	0,0122 73	0,3763 05	- 0,071550	0,5473 84*	0,8799 29*	0,6087 67*	1

Кореляційний аналіз показав, що показники ЗСТлш, КДО та рівень експресії днРНК LIPCAR мають вірогідну кореляцію прямої дії на

збільшення функціонального показника ММлш:  $r = 0,4$  ( $p < 0,01$ ). Коефіцієнт кореляції ММлш та рівня днкРНК LIPCAR становить  $0,52$  ( $p < 0,01$ ).

На товщину МШП впливає днкРНК NRON:  $r = -0,588$  ( $p < 0,01$ ), тобто чим вищий рівень днкРНК NRON, тим менший розмір МШП. Також, між собою корелюють днкРНК: LIPCAR з NRON, МНРТ та МІАТ.

Таблиця 4.5 – Коефіцієнт кореляції між показниками ехокардіографії та експресією днкРНК у групі спортсменів з гіпертрофією міокарда

	ММлш	ФВлш %	ЗСТлш	МШП, см	КДО	КДО/Млш	NRON	МНРТ	МІАТ	LIPCAR
ММлш	1									
ФВлш %	0,488506	1								
ЗСТлш	0,031700	0,226766	1							
МШП, см	0,173270	0,269300	0,288758	1						
КДО	0,595340*	0,585793*	0,345706	0,088835	1					
КДО/Млш	0,173060	0,283700	0,366551	0,251697	0,686211*	1				
NRON	0,017573	0,150207	0,542946	0,190432	0,204600	0,240535	1			
МНРТ	0,000658	0,205124	0,412820	0,498934	0,326224	0,367553	0,075983	1		
МІАТ	0,042365	0,084125	0,487231	0,402036	0,307470	0,395216	<b>0,872839*</b>	0,243090	1	
LIPCAR	0,062349	0,561384	0,070125	0,158419	0,207392	0,201815	0,451962	0,327524	0,273724	1

У кореляційному аналізі групи спортсменів із вираженою гіпертрофією є чотири достовірні кореляційні взаємозв'язки. Функціональний показник

КДО має пряму дію на ММлш ( $r= 0,595$ ;  $p<0,01$ ) та зворотну на ФВлш ( $r= -0,585$ ;  $p<0,01$ ). На відміну від, даних у групі без гіпертрофії, у спортсменів з гіпертрофією є достовірний кореляційний зв'язок між днРНК – NRON та МІАТ:  $r= 0,872$ ;  $p<0,01$ .

Розвиток гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість, залежить від спадкової схильності до розвитку даного стану. Так, коефіцієнти кореляції між функціональними показниками ехокардіографії і рівнями експресії днРНК варіюють в межах високої достовірності (табл. 4.4, 4.5), тому при використанні їх в системі оцінки можливості розвитку гіпертрофії міокарда потрібно враховувати дані показники. Таким чином, отримані результати демонструють вплив довгих некодуючих РНК на ступінь розвитку гіпертрофії міокарда, але рівень кореляції є невисоким, а зв'язок – нетісним (коефіцієнт кореляції між LIPCAR та масою міокарда; NRON та товщиною міжшлуночкової перегородки досягає приблизно 0,5. Очікувану кореляцію рівня МІАТ з показниками гіпертрофії встановлено не було.

### **4.3. Дослідження зміни експресії довгої некодуючої РНК МІАТ під впливом інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру у міокарді та скелетних м'язах щурів**

Для дослідження впливу інтенсивних фізичних вправ на зміни рівня довгих некодуючих РНК проводився експеримент на дорослих самцях щурів лінії Fisher. Щури плавали по три особини у резервуарі, заповненому водою, з навантаженням  $7,0 \pm 1,3$  % від маси тіла, що відповідає  $70-75$  %  $V'O_2$  max, тривалістю 30 хв кожного дня протягом 35 днів. Тест на визначення фізичної витривалості, яку оцінювали за максимальним часом плавання з вантажем  $14,0 \pm 1,2$  % від маси їх тіла до стану виснаження проводили перед початком тренування та після нього. Стан виснаження визначали за моментом, коли щури знаходились під водою понад 10 с. Час до настання виснаження вимірювали у хвиликах.

Зміни рівня довгої некодууючої РНК МІАТ визначали шляхом застосування методу полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі та вимірювання рівня експресії цього гена у швидкоскоротливих (литковий м'яз, *muscle gastroneuius*), повільноскоротливих (камбалоподібний м'яз, *muscle soleus*) м'язових волокнах та у тканинах серця. Рівень МІАТ у міокарді щурів зріс після фізичного навантаження у 4,6 рази, у камбалоподібному м'язі у 2,8 рази. У литковому м'язі рівень збільшився у 5,7 рази, але ці зміни мають характер тенденції через недостатність вірогідності даних (рис. 4.5). Таким чином, після систематичних інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру рівень МІАТ зростає як у міокарді, так і у скелетних м'язах. Для порівняння ми використали рівень цих днРНК у клітинах міокарда щурів з модельованим інфарктом міокарда. Нами було встановлено, що рівень МІАТ у тканині серця у щурів із інфарктом міокарда (МІ) був вищим у 1,3 раза (4.6.a), а після лікування цих тварин кварцетином (МІ+Q), рівень МІАТ знизився у 3,3 раза (рис. 4.6.c).

Як було встановлено раніше, МІАТ функціонує як молекулярний спонж (губка) для мікроРНК (miR-93) в кардіоміоцитах. Більше того, рівень МІАТ зростає, а рівень miR-93 зменшується у кардіоміоцитах під впливом ангіотензину II типу. Це свідчить про негативний ефект МІАТ на розвиток гіпертрофії міокарда. Зростання рівня МІАТ зменшує рівень miR-93, що призводить до підвищення експресії TLR4 і, як наслідок, посилення гіпертрофії міокарда [92].

Таким чином, встановлений у попередньому розділі факт збільшення рівня днкРНК МІАТ у крові спортсменів після фізичних вправ різної потужності може бути пояснений посиленням їх утворення у міокарді та скелетних м'язах під впливом фізичних навантажень.

Рівень МІАТ під впливом систематичних інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру зростає як у міокарді, так і у скелетних м'язах.

Відносний рівень днкРНК/miR-39

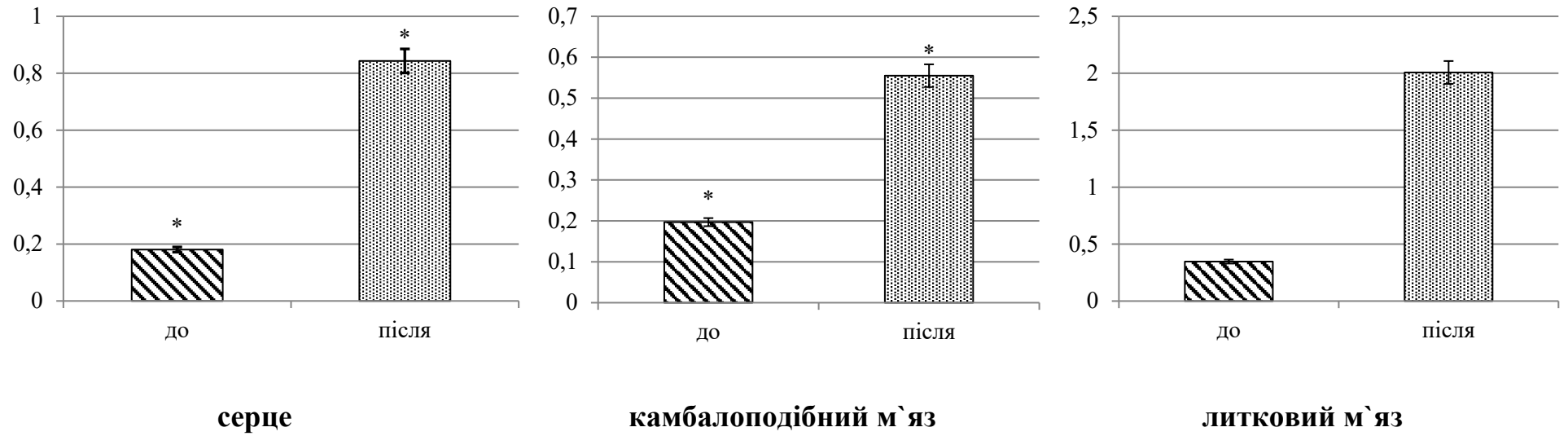


Рисунок. 4.5 – Зміни рівня експресії гена довгої некодуючої РНК MIAT у різних видах м'язової тканини щурів під впливом фізичних тренувань аеробного характеру, n=7

Відносний рівень днкРНК/miR-39

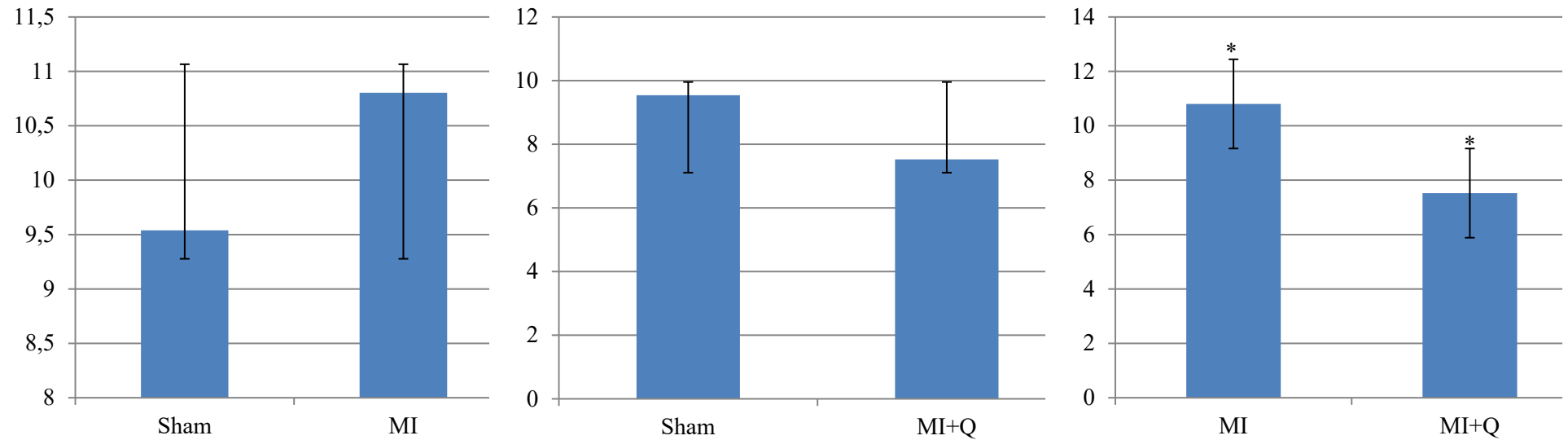


Рисунок 4.6 – Зміни рівня експресії гена довгої некодуючої РНК MIAT у серці тканини щурів з ІМ та після лікування кверцетином (n=16)

Де: sham – контрольна група; MI – тварини з інфарктом міокарда; MI+Q - тварини з інфарктом міокарда після лікування кверцетином

## ВИСНОВКИ

1. Розвиток гіпертрофії міокарда у спортсменів у відповідь на систематичні фізичні навантаження – це мультифакторіальне явище, яке залежить від характеру, інтенсивності навантаження, обсягу виконаної роботи та від спадкових чинників. Основним проявом довготривалої адаптації серця до тренувань на витривалість є тоногенна дилатація ЛШ, яка супроводжується незначною гіпертрофією міокарда. Не дивлячись на гостру актуальність і важливість питань контролю стану серцево-судинної системи у спортсменів, відсутність єдиної концепції виникнення та алгоритму діагностики патологічних форм гіпертрофії міокарда у спортсменів не дозволяє на сьогодні чітко встановити молекулярно-генетичні механізми їх розвитку. Схильність до розвитку гіпертрофії міокарда під впливом інтенсивних фізичних навантажень є генетично детермінованою. Частота зустрічі гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість, досліджувана методом ехокардіографії, є меншою, ніж частота, що визначається методом електрокардіографії.

2. Спадкова схильність до розвитку вираженої гіпертрофії міокарда у спортсменів видів спорту, спрямованих на витривалість, як наслідок адаптації до систематичних інтенсивних фізичних навантажень переважно аеробного енергозабезпечення є полігенетичною, обумовленою сукупністю поліморфізмів генів та рівня експресії їх генів. До переліку таких генів належать гени білків-регуляторів метаболічних мереж, ренін-ангіотензинової системи, структурних білків серцевого м'яза, факторів росту та гени некодуючих РНК (як мікро-, так і довгих РНК).

3. Встановлено, що частота зустрічі відхилень серцево-судинної системи у спортсменів, членів збірних команд України зустрічається у 24 % випадків звернень до медичних установ України, що становить майже  $\frac{1}{4}$  частину звернень. Середня частота випадків реєстрації ЕКГ-відхилень у спортсменів



за 2014–2016 рр. у державній установі «Український медичний центр спортивної медицини МОЗ України» становила 23,1 %. Найбільше за частотою та за морфологічними змінами міокарда відрізнялися спортсмени, які спеціалізуються у веслуванні академічному.

4. Група спортсменів з ознаками вираженої гіпертрофії міокарда вірогідно відрізняється від групи без цих ознак частотою зустрічі G/A поліморфізма гена *PGC1A*. У спортсменів із гіпертрофією міокарда частота генотипу G/G на 19 % менша, ніж у групі без гіпертрофії, а частота алеля А на 23,5% більша ( $p=0,02$ ), що може свідчити про здатність алелі А впливати на енергетичний метаболізм кардіоміоцитів та сприяти розвитку виразливої гіпертрофії.

5. Шляхом однофакторного дисперсійного аналізу встановлено асоціацію поліморфізмів генів з показниками ехокардіографічного дослідження серця:

- асоціація G/A поліморфізму гена *COL12A1* із показником фракції викиду ЛШ ( $p=0,001$ ) та з товщиною міжшлуночкової перегородки ( $p=0,0001$ ). Генотип A/A супроводжується найменшими показниками товщини міжшлуночкової перегородки та величини фракції викиду.

- асоціація G/C поліморфізму гена *PPARA* з товщиною міжшлуночкової перегородки ( $p=0,042$ ). Алель G сприяє зростанню товщини міжшлуночкової перегородки;

- асоціація Pro /Ala поліморфізму гена *PPARG* з показниками об'єму ЛШ на кінцево-діастолічному зображенні (КДО) ( $p=0,005$ ).

4. Методом бінарної логістичної регресії створена модель з класифікаційною здатністю - 68,2 %, до якої входять два поліморфізми: *PPARG* та *UCP2*. Згідно з цією моделлю Pro/Ala- та Ala/Ala-генотипи Pro/Ala поліморфізму гена *PPARG* збільшують ризик розвитку виразливої гіпертрофії міокарда, а Ala/Val- та Val/Val -генотипи Ala/Val поліморфізму гена *UCP2* зменшують цей ризик.

5. Дослідження асоціації між ДНК-поліморфізмами та показниками ехокардіографічного дослідження спортсменів виявило, що збільшення кількості алелей С (*mTOR*) та D (*ACE*) призводить до збільшення ступеня гіпертрофії міокарда у відповідь на систематичні фізичні навантаження. Поєднане визначення двох поліморфізмів генів *mTOR* і *ACE* дозволяє підвищити прогностичне значення використання цих маркерів для оцінки спадкової схильності до розвитку патологічної стадії гіпертрофії міокарда.

6. Поліморфізм Ala/Ala гена *PPARG* у спортсменів, які спеціалізуються в греблі на байдарках і каное, асоціюється з високою активністю ферменту загальної креатинкінази, що відображає рівень пошкодження м'язової тканини.

7. Створено спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда, який містить діагностику порушень функції міокарда на підставі аналізу зразків ДНК, що відрізняється від аналогів тим, що виконується для спортсменів і базується на аналізі чотирьох поліморфізмів генів: *COL12A1*, *PPARA*, *PPARG* та *UCP2*.

8. Адаптація до фізичних навантажень різної інтенсивності призводить до зміни рівня довгих некодуючих РНК у плазмі крові. Після фізичного навантаження великої потужності експресія більшості lncRNA – NRON, MHRT та MIAT достовірно збільшується, тоді як рівень експресії LIPCAR зменшується ( $p=0,001$ ). Після фізичного навантаження нетренованих осіб експресія lncRNA NRON ( $p=0,04$ ) вірогідно знижується, тоді як, LIPCAR, MHRT, MIAT вірогідно зростає у декілька разів. При фізичному навантаженні помірної потужності, були відмічені зміни рівнів експресії lncRNAs, проте вони були не вірогідними.

9. Підвищення рівня MHRT при аеробних навантаженнях різної потужності є захисним механізмом, що протидіє розвитку патологічних форм гіпертрофії міокарда. Рівень MIAT під впливом систематичних інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру зростає як у міокарді, так і у

скелетних м'язях. Довга некодуюча РНК МІАТ є негативним фактором, що сприяє розвитку крайніх форм гіпертрофії міокарда.

10. Довгі некодуючі РНК здійснюють вплив на рівень розвитку гіпертрофії міокарда, але рівень кореляції є невисоким, а зв'язок нетісним. Коефіцієнт кореляції ММлш та рівня днкРНК LIPCAR становить 0,52 ( $p < 0,01$ ) ; коефіцієнт кореляції між рівнем днкРНК NRON та товщиною міжшлуночкової перегородки досягає  $r = -0,588$  ( $p < 0,01$ ). Чим вищий рівень днкРНК NRON, тим менший розмір МШП. Очікувану кореляцію рівня МІАТ з показниками гіпертрофії встановлено не було.

11. Дослідження поліморфізмів генів, які можуть впливати на їх активність, дозволить розпізнавати високу схильність до розвитку гіпертрофії міокарда, проводити ранню неінвазивну діагностику патологічних та передпатологічних станів міокарда. Застосування засобів зміни активності генів певних довгих некодуючих РНК шляхом використання дозволених фармакологічних препаратів та нутрієнтів дозволить змінити процес гіпертрофії міокарда та може призводити до зменшення ступеня гіпертрофії, попередити розвиток патології міокарда, сприятиме розвитку терапії багатьох захворювань серцево-судинної системи, зокрема таких, як гіпертрофічна кардіоміопатія.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Алёшин СЕ. Взаимосвязь между ядерными рецепторами PPAR  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и её роль в регуляции воспалительного ответа [диссертация]. Москва: Моск. гос. ун-т им. М.В.Ломоносова; 2009. 143 с.
2. Антомонов МЮ. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. Київ; 2006. 558 с.
3. Ахметов ИИ. Молекулярная генетика спорта: монографія. М.: Советский спорт; 2009. 268 с.
4. Ахметов ИИ. Молекулярно-генетические маркеры физических качеств человека: [диссертация]. Москва; 2010. 45 с.
5. Бабак О, Клименко Н. Роль рецепторов PPAR в регуляции основных звеньев патогенеза метаболического синдрома. Сучасні медичні технології. 2010;2:70–80.
6. Безугла ВВ. Кардіоміопатія внаслідок фізичного перевантаження. Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. 2016;4(2):226-236.
7. Белоцерковский З, Любина Б. Сердечная деятельность и функциональная подготовленность у спортсменов (норма и атипичные изменения в нормальных и измененных условиях адаптации к физическим нагрузкам). М.: Советский спорт, 2012. 548 с.
8. Берг АР. Ассоциация риска развития кардиомиопатий с полиморфными вариантами генов ангиотензин-превращающего фермента, глутатион-S-трансферазы, интерлейкинов. Клиническая лабораторная диагностика. 2014;3:24-27.
9. Гаврилова ЕА. Спортивное сердце. Стрессорная кардиомиопатия: монографія. М.: Советский спорт, 2007. 200 с.
10. Гаврилова ЕА. Стрессорная кардиомиопатия у спортсменов. European researcher. 2012;22(6-2):961-963.

11. Гольберг Н, Дружевская А, Рогозкин В, Ахметов И. Роль mTOR в регуляции метаболизма скелетных мышц. Физиология человека. 2014;40(5):123-132.
12. Гошовська Ю, Лісовий О, Шиманська Т, Сагач В. Зміни експресії генів *UCP2* та *UCP3*, функціонального стану і кисневої вартості роботи міокарда в умовах старіння та ішемії –реперфузії. Фізіологічний журнал. 2009;55(3):27-36.
13. Дроздовская С, Боровик О, Досенко В, Ильин В. Полиморфизм гена  $\gamma$  – рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом как маркер предрасположенности к занятиям спортом. Педагогіка, психологія та медико-біологічні проблеми фізичного виховання і спорту: зб. наук. пр. (за ред. С.С. Єрмакова). Харків. 2012;4:52-57.
14. Дроздовська С. Б. Асоціація G/C поліморфізму 7-го інтрону гену  $\alpha$  - рецептора, що активує проліферацію пероксисом (*PPARA*) з фізичною діяльністю у спорті. Вісн. «Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології». 2013;3(117):12–21.
15. Дроздовська С, Досенко В, Ільїн В. Алельний поліморфізм генів рецепторів, що активуються проліфераторами пероксисом (*PPAR*) та їх коактиватора (*PPARGC1B*) у спортсменів різних видів спорту. Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. 2013;11(2):207–218.
16. Жарінов ОЙ. Гіпертрофія лівого шлуночка і ефективність лікування артеріальної гіпертензії. Здоров'я України. 2009;18(223):20-21.
17. Земцовский Э, Гаврилова Е, Бондарев С. Аритмический вариант клинического течения стрессорной кардиомиопатии. Вестник аритмологии. 2002;29:19-27.
18. Карпман В, Белоцерковский З, Арслан С. Двухосевая эхокардиография в диагностике гипертрофии миокарда и дилатации полости левого желудочка у спортсменов. Клинико-физиологические характеристики сердечно-сосудистой системы у спортсменов (сб., посвящ.

- двадцатипятилетию каф. спорт. медицины им. проф. В.Л. Карпмана). РГАФК. М., 1994:146–153.
19. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. ГЭОТАР-Медиа. 2007. 779 с.
  20. Колчанов Н, Воевода М, Кузнецова Т, Мордвинов В, Игнатьева Е. Генные сети липидного метаболизма. Бюллетень СО РАМН. 2006;2(120):29–42.
  21. Линде Е, Ахметов И, Орджоникидзе З. Клинико-генетические аспекты формирования «патологического спортивного сердца» у высококвалифицированных спортсменов. Вестник спортивной науки. 2009;2:1-6.
  22. Михайлюк Е, Сыволап В. Современные взгляды на диагностику метаболической кардиомиопатии вследствие хронического физического перенапряжения организма спортсменов. Спортивная медицина. 2014;1:3-12.
  23. Никулин Б, Родионова И. Биохимический контроль в спорте: науч.-метод. пособие. М.: Советский спорт. 2011. 232 с.
  24. Рябенко Д.В. Дилатационная кардиомиопатия: генетические и молекулярные аспекты развития заболевания. Український кардіологічний журнал. 2010;3:96-106.
  25. Abergel E, Chatellier G, Hagege A, Oblak A, Linhart A, Ducardonnet A, et al. Serial left ventricular adaptations in world-class professional cyclists: implications for disease screening and follow-up. J Am Coll Cardiol. 2004;44(1):144–149.
  26. Anderson D, Anderson K, Chang C, et al. A micropeptide encoded by a putative long noncoding RNA regulates muscle performance. Cell. 2015;160(4): 595–606.
  27. Andrews S, Rothnagel J. Emerging evidence for functional peptides encoded by short open reading frames. Nat Rev Genet. 2014;15:193–204.

28. Aoyama T, Peters J, Iritani N, Nakajima T, Furihata K, Hashimoto T, et al. Altered constitutive expression of fatty acid– metabolizing enzymes in mice lacking the peroxisome proliferator– activated receptor alpha (*PPAR $\alpha$* ). *J Biol Chem*. 1998;273:5678– 5684.
29. Aragonés J, Schneider M, VanGeyte K, Fraisl P, Dresselaers T, Mazzone M, et al. Deficiency or inhibition of oxygen sensor Phd1 induces hypoxia tolerance by reprogramming basal metabolism. *Nature Genetics*. 2008;40:170 – 180.
30. Arany Z, Lebrasseur N, Morris C, et al. The Transcriptional Coactivator PGC–1 $\beta$  Drives the Formation of Oxidative Type IIX Fibers in Skeletal Muscle. *Cell Metab*. 2007;5(1):35– 46.
31. Baggish A, et al. Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training. *J. Physiol*. 2011:589.
32. Bazzini A, Johnstone T, Christiano R, Mackowiak S, Obermayer B, Fleming E, et al. Identification of small ORFs in vertebrates using ribosome footprinting and evolutionary conservation. *EMBO J*. 2014.
33. Belli T, Crisp A, Verlengia R. Greater muscle damage in athletes with ACTN3 R577X (rs1815739) gene polymorphism after a ultra-endurance race: a pilot study. *Biol Sport*. 2017;34(2):105–110.
34. Benson S, Wu J, Padmanabhan S, Kurtz T, Pershadsingh H. Peroxisome proliferator-activated receptor (*PPAR*)–gamma expression in human vascular smooth muscle cells: Inhibition of growth, migration, and c–fos expression by the peroxisome proliferator-activated receptor (*PPAR*)–gamma activator troglitazone. *Am J Hypertens*. 2000;13:74– 82.
35. Bohdanov'ska N, Kotsiuruba A, Malikov M. Nitric oxide synthesis during different stages of competition period in well-trained athletes. *Fiziol. Zh*. 2011;57(4):82-89.

36. Bostrom P, Mann N, Wu J, Quintero P, Plovie E, Panakova D, et al. C/EBP beta controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling. *Cell*. 2010;143:1072–1083.
37. Braissant O, Fougère F, Scotto C, Dauca M, Wahli W. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (*PPARs*): tissue distribution of *PPAR- $\alpha$* , *- $\beta$*  and *- $\gamma$*  in the adult rat. *Endocrinology*. 1996;137:354–366.
38. Cao Q, Ju X, Li P, Meng X, Shao P, et al. Functional Variant in the mTOR Promoter Modulates Its Expression and Is Associated with Renal Cell Cancer Risk. *PLoS ONE*. 2012;7(11): 3983-3994.
39. Chen J, Mandel E, Thomson J, Wu Q, Callis T, Hammond S, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet*. 2005;38:228–233.
40. Care A, Catalucci D, Felicetti F, Bonci D, Addario A, Gallo P, et al. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy. *Nat Med*. 2007;13:613–618.
41. Costa V, Casamassimi A, Esposito K, Villani A, Capone M, Iannella R. Characterization of a novel polymorphism in *PPARG* regulatory region associated with type 2 diabetes and diabetic retinopathy in Italy. *Journal of biomedicine and biotechnology*. 2009:126917.
42. De Gonzalo-Calvo D, Kenneweg F, Bang C, et al. Circulating long-non coding RNAs as biomarkers of left ventricular diastolic function and remodelling in patients with well-controlled type 2 diabetes. *Scientific Reports*. 2016;6:37354.
43. Devereux R B. et al. Impact of diabetes on cardiac structure and function: the strong heart study. *Circulation*. 2000;101:2271–2276.
44. Deldieque L, Atherton P, Patel R, et al. Decrease in Akt/PKB signaling in human skeletal muscle by resistance exercise. *Eur. J. Appl. Physiol*. 2008;104(1):57-65.
45. Dirkx E., Costa Martins da P, Windt L. De Regulation of fetal gene expression in heart failure. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 2013;12(1832):2414–2424.



46. Doronina A, Ferenc Édes I, Ujvári A, Kántor Z, Károly B, et al. The Female Athlete's Heart: Comparison of Cardiac Changes Induced by Different Types of Exercise Training Using 3D Echocardiography. *BioMed Research International* Volume. 2018; 2018: 3561962.
47. Drozdovska S., Oleshko V. Association of frap1 T/G (rs 2295080) gene polymorphisms with power-oriented athlete status *Sporto mokslas*. 2016; 3(85): 59-65.
48. Drozdovska S, Dosenko V, Ahmetov I, Ilyin V. The association of gene polymorphisms with athlete status in Ukrainians. *Biology of sport*. 2013;30(3):163–167.
49. Dubouchaud H, Butterfield G, Wolfel E, Bergman B, Brooks G. Endurance training, expression and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 2000;278(4):571-579.
50. Eynon N, Alves A, Amin C, Meckel Y. PPARA intron 1 A/C polymorphism and elite athlete status. *European Journal of Sport Science*. 2011;11(3):177–181.
51. Foryst-Ludwig A, Kreissl M, Benz V, et al. Adipose Tissue Lipolysis Promotes Exercise-induced Cardiac Hypertrophy Involving the Lipokine C16:1n7-Palmitoleate. *J Biol Chem*. 2015;290(39):23603-15.
52. Foucher C, Rattier S, Flavell D, Talmud P, Humphries S, et al. Response to micronized fenofibrate treatment is associated with the peroxisome–proliferator–activated receptors alpha G/C intron7 polymorphism in subjects with type 2 diabetes. *Pharmacogenetics*. 2004;14(12):823–9.
53. Fluck M, Hoppeler H. Molecular basis of skeletal muscle plasticity—from gene to form and function. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol*. 2003;146:159.00127
54. Frank S, Aguirre A, Hescheler J, Kurian L. A lncRNA Perspective into (Re)Building the Heart. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2016;4:128. doi:10.3389/fcell.2016.00128.

55. Fulghum K, Hill B. Metabolic Mechanisms of Exercise-Induced Cardiac Remodeling. *Front Cardiovasc Med.* 2018;5:127. doi:10.3389/fcvm.2018
56. Hagstrom A, Shorter K. Creatine kinase, neuromuscular fatigue, and the contact codes of football: A systematic review and meta-analysis of pre- and post-match differences. *Eur. J. Sport Sci.* 2018;18 (9):1234-1244. doi: 10.1080/17461391.2018.1480661.
57. Hakimi P, Yang J, Casadesus G, et al. Overexpression of the Cytosolic Form of Phosphoenolpyruvate Carboxykinase (GTP) in Skeletal Muscle Repatterns Energy Metabolism in the Mouse. *J. Biol. Chem.* 2007;282(45):32844–32855.
58. Harsløf T, Tofteng C, Husted L, Nyegaard M, Børglum A, Carstens M, et al. Polymorphisms of the peroxisome proliferator– activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) gene are associated with osteoporosis . *Osteoporos Int.* 2011;22(10):2655–66.
59. Horowitz J, Leone T, Feng W, Kelly D, Klein S. Effect of endurance training on lipid metabolism in women: a potential role for PPARalpha in the metabolic response to training. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism.* 2000;279:348–355.
60. Hun P, Li W, Lin C-H, Yang J, Shang C, et al. A long noncoding RNA protects the heart from pathological hypertrophy. *Nature.* 2014;514:102-106.
61. Huang L, Huang J, Wu P, Li Q, Rong L, Xue Y, et al. Association of genetic variations in *mTOR* with risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in a Chinese population. *Leukemia and Lymphoma.* 2012;53(5):947–951.
62. Huang Y, Wang Ch, Yao Y. Molecular Basis of Gene-Gene Interaction: Cyclic Cross-Regulation of Gene Expression and Post-GWAS Gene-Gene Interaction Involved in Atrial Fibrillation. *PLoS Genet.* 2015;11(8):e1005393.
63. Hang C, et al. *Development and Disease* 2011;7302 (466):62–67.
64. Ghilardi G. Independent risk factor for moderate to severe internal carotid artery stenosis: T786C mutation of endothelial nitric oxide synthase gene/ G. Ghilardi, M.L. Biondi, M. DeMonti et al. // *Clin. Chem.*– 2002.– V.48, № 7.–

- P. 989– 993.
65. Gibb A, Epstein P, Uchida S, Zheng Y, McNally L, Obal D, et al. Exercise-Induced Changes in Glucose Metabolism Promote Physiological Cardiac Growth. *Circulation*. 2017;136(22):2144–2157.
  66. Glotov A, Kazakov S, Zhukova E, Alexandrov A, Glotov O. Targeted next-generation sequencing (NGS) of nine candidate genes with custom AmpliSeq in patients and a cardiomyopathy risk group. *Clinica Chimica Acta*. 2015;446:132-140.
  67. Golberg N, Druzhevskaya A, Rogozkin V, and Ahmetov I. Role of mTOR in the Regulation of Skeletal Muscle Metabolism. *Human Physiology*. 2014;40(5):580–588.
  68. Gomes R, Santos R, Nosaka K, et al. Muscle damage after a tennis match in young players. *Biol. Sport*. 2014;31 (1):27-32. doi: 10.5604/20831862.1083276.
  69. Gong C, Li Z, Ramanujan K, et al. A long non-coding RNA, LncMyoD, regulates skeletal muscle differentiation by blocking IMP2-mediated mRNA translation. *Dev Cell*. 2015;34(2):181–91.
  70. de Gonzalo-Calvo D, Kenneweg F, Bang C, Toro R, van der Meer RW, Rijzewijk L, et al. Circulating long-non coding RNAs as biomarkers of left ventricular diastolic function and remodelling in patients with well-controlled type 2 diabetes. *SciRep*. 2016;6:37354. doi:10.1038/srep37354
  71. Graf Ch, Diet F, Palma-Hohmann I, Mahnke N, Bohm M, Rost R, et al. Correlations of the renin-angiotensin-system (RAS) gene polymorphisms with cardiac growth factors endothelin-1 and angiotensin II in high performance athletes. *European Journal of Sport Science*. 2001;1(5):1-7.
  72. Guller I, Russel A. MicroRNAs in skeletal muscle: the irroleand regulation in development, desease and function. *J. Physiol*. 2010;588(21):4175-4087.
  73. Gupta R, Musunuru K. Mapping novel pathway in cardiovascular disease using eQTL data. *Frontiers in Genetics*. 2013;3:232-236.

74. Guttman M, Rinn J. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs. *Nature*. 2012;482(7385):339–346.
75. Jang M, Park J, Jung A, Park S, Myung P, Lee D, et al. Binding and regulation of hypoxia-inducible factor – 1 by the inhibitory PAS proteins. *Biochemical and biophysical research communications*. 2005;337:209– 215.
76. Jamshidi Y, Montgomery H, Hense H, Myerson S, Torra I, Staels B, et al. Peroxisome proliferator- activated receptor  $\alpha$  gene regulates left ventricular growth in response to exercise and hypertension. *Circulation*. 2002;105:950– 955.
77. Jianming J. Allele-specific silencing of mutant Myh6 transcript in mice suppresses hypertrophic cardiomyopathy. *Science*. 2013;342:111-115.
78. Jing Z, Shi C, Zhu L, et al. Chronic cerebral hypoperfusion induces vascular plasticity and hemodynamics but also neuronal degeneration and cognitive impairment. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2015;35:1249–59.
79. Johnson S, Rabinovitch P, Kaeberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature*. 2013;493(7432):338.
80. Ishii N, Ozaki K, Sato H, Mizuno H, Saito S, Takahashi A, et al. Identification of a novel non-coding RNA, MIAT, that confers risk of myocardial infarction. *J Hum Genet*. 2006;51:1087–99.
81. Kasikcioglu E, Oflaz H, Akhan H, Kayserilioglu A, Mercanoglu F, Berrin U, et al. Left ventricular remodeling and aortic distensibility in elite power athletes. *Heart Vessels*. 2004;19(4):183–188.
82. Klapcinska B, Waskiewicz Z, Sadowska-Krepa et al E. Metabolic responses to a 48-h ultra-marathon run in middle-aged male amateur runners. *Eur. J. Appl. Physiol*. 2019;113(11):2781-2793.
83. Kolwicz S. C. An "Exercise" in Cardiac Metabolism. *Front Cardiovasc Med*. 2018;5:66. doi:10.3389/fcvm.2018.00066.
84. Kim E, Goraksha-Hicks P, Neufeld T, et al. Regulation of TORC1 by Rag GTPases in nutrient response. *Nat. Cell Biol*. 2008;10(8): 935.

85. Kim O, Lee Y, Ryu H, Park H, Jang Y, Lee J. Effect of Trp64Arg mutation in the beta3-adrenoceptor gene on body fat distribution, glycemic control and lipids in response to hypocaloric diets in men with coronary artery disease. *Nutrition Research*. 2003;23:1013– 1025.
86. Kumar R, O'Malley B. NC coregulators and human diseases. *World Scientific*. 2008:602.
87. Kumarswamy R, Thum T. Non-coding RNAs in cardiac remodeling and heart failure. *Circ Res*. 2013;113:676–89.
88. Kumarswamy R, et al. Circulating long noncoding RNA, LIPCAR, predicts survival in patients with heart failure. *Circ Res*. 2014;114:1569–1575.
89. Laplante M, Sabatini D. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*. 2012;149(2): 274.
90. Lee Ch, Huc Sh, Gong H, Chen M, Lu J, Wua J. Suppression of myostatin with vector-based RNA interference causes a double-muscle effect in transgenic zebrafish. *Biochemical and biophysical research communication*. 2009;387:766– 771.
91. Li D, Chen G, Yang J, Fan X, Gong Y, Xu G, et al. Transcriptome analysis reveals distinct patterns of long non-coding RNAs in heart and plasma of mice with heart failure. *PLoS One*. 2013;8(10):e77938.
92. Li Y, Wang J, Sun L, Zhu S. LncRNA myocardial infarction-associated transcript (MIAT) contributed to cardiac hypertrophy by regulating TLR4 via miR-93. *Eur J Pharmacol*. 2018;818:508-517. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.11.031.
93. Lin M, Pedrosa E, Shah A, et al. RNA-Seq of Human Neurons Derived from iPS Cells Reveals Candidate Long Non-Coding RNAs Involved in Neurogenesis and Neuropsychiatric Disorders. *PLoS ONE*. 2011;6(9):e23356. doi:10.1371/journal.pone.0023356.
94. Lindi V, Uusitupa M, Lindström J, Louheranta A, G. Eriksson J, Valle T, et al. Association of the Pro12Ala polymorphism in the PPAR-gamma2 gene

- with 3– year incidence of type 2 diabetes and body weight change in the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes*. 2002;51(8):2581– 2586.
95. Lippi G, Salvagno G, Daneseatal E. The base line serum value of  $\alpha$ -amylase is a sign if I cant predictor of distance running performance. *Clin. Chem. Lab.Med*. 2014:1-8.
  96. Liu N, Olson E. MicroRNA regulatory networks in cardiovascular development. *Dev Cell*. 2010;18:510–525.
  97. Liao J, Li Y, Zeng F, Wu Y. Regulation of mTOR Pathway in Exercise-induced Cardiac Hypertrophy. *Int J Sports Med*. 2015;36:343–350.
  98. Lichyan T, Yihua B, Haifeng Z, Junjie X, Xinli L. Exercise for the heart: signaling pathways. *Oncotarget*. 2015;6(25):20773-20784.
  99. Liu X, Xiao J, Zhu H, Wei X, Platt C, Damilano F, et al. Mir-222 is necessary for exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling. *Cell Metab*. 2015;21:584–595.
  100. Lucia A, Go´mez-Gallego F, Barroso I, Rabada´n M, Bandre´s F, San Juan A, et al. *PPARGCIA* genotype (Gly482Ser) predicts exceptional endurance capacity in European men. *J Appl Physiol*. 2005;99:344–348.
  101. Lynn A, Garner S, Nelsonetal N. Effect of bilberry juiceon in dices of muscle damage and in flammation in runners complet in gahalf-marathon: arandomised, placebo-controlledtrial. *J. Int. Soc. Sports Nutr*. 2018;15:22. doi: 10.1186/s12970-018-0227-x.
  102. Maron B, Doerer J, Haas T, Tierney D, Mueller F. Sudden death in young competitive athletes. Analysis of 1866 deaths in the United States, 1980–2006. *Circulation*. 2009;119:1085–92.
  103. Marini M, Lapalombella R, Margonato V, Ronchi R, Samaja M, Scapin C, et al. Mild exercise training, cardioprotection and stress genes profile. *Eur J Appl Physiol*. 2007;99:503–510.
  104. MakKenzie M, Hamilton D, Murray J, et al. mVps34 is activated following high-resistance contractions. *J. Physiol*. 2009;587(1): 253.

105. Mason S, Howlett R, Kim M, Olfert I, Hogan M, Nulty W, et al. Loss of Skeletal Muscle HIF-1 $\alpha$  results in Altered Exercise Endurance. *Plos Biology*. 2004;10(2):1540– 1547.
106. Masud S, Ye S. Effect of the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  gene Pro12Ala variant on body mass index: a meta-analysis. *Medical Gen*. 2003;40:773– 780.
107. Masugi J, Tamori Y, Mori H, et al. Inhibitory effect of a proline- to- alanine substitution at codon 12 of peroxisome proliferator activated receptor-gamma 2 on thiazolidinedione- induced adipogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;268:178–182.
108. McManus D, Freedman J. MicroRNAs in platelet function and cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2015;12:711-717.
109. Mc Mullen J, Shioi T, Huang W, Zhang L, Tarnavski O, et al. The insulin-like growth factor 1 receptor induces physiological heart growth via the phosphoinositide 3-kinase (p110alpha) pathway. *J.Biol Chem*. 2004;279:4782-4793.
110. Melo S, Barauna V, Junior M, Bozi L, Drummond L, Natali A, et al. Resistance training regulates cardiac function through modulation of miRNA-214. *Int J Mol Sci*. 2015;16:6855–6867.
111. Mooren F, Viereck J. Circulating microRNAs as a potential biomarkers of aerobic exercise capacity. *Am. J. Heart Circ. Physiol*. 2014;306:577-565.
112. Mousavi K, Zare H, Dell’Orso S, et al. eRNAs promote transcription by establishing chromatin accessibility at defined mgenomic loci. *Molecular Cell*. 2013;51(5):606–617.
113. Muller YL, Bogardus C, Pedersen O, Baier LA. Gly482Ser missense mutation in the peroxisome proliferator- activated receptor gamma coactivator- 1 is associated with altered lipid oxidation and early insulin secretion in Pima Indians. *Diabetes*. 2003;52(3):895– 8.

114. Haykowsky MJ, Tomczak CR. LV hypertrophy in resistance or endurance trained athletes: the Morganroth hypothesis is obsolete, most of the time. *Heart*. 2014;100(16):1225– 1226.
115. Nie M, Deng Z-L, Liu J, Wang D-Z. Noncoding RNAs, emerging regulators of skeletal muscle development and diseases. *BioMed Research International*. 2015;17. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/676575>.
116. NeriSerneri GG, Boddi M, Modesti PA, Cecioni I, Coppo M, Padeletti L, et al. Increased cardiac sympathetic activity and insulin-like growth factor-1 formation are associated with physiological hypertrophy in athletes. *Circ Res*. 2001;89:977-982.
117. Nedergaard J, Cannon B. The “novel” “uncoupling” protein UCP2 and UCP3: what do they really do? Pros and cons for suggested functions. *J. Exp. Physiol*. 2003;88(1):65-84.
118. Ottaviani L, Martins C. Non-coding RNA in cardiac hypertrophy. *J. Physiol*. 2017;595:4037-4050.
119. Papait R, Kunderfranco P, Stirparo GG, Latronico MV, Condorelli GJ. Long noncoding RNA: a new player of heart failure? *Cardiovasc. Transl. Res*. 2013;6:876–883.
120. Paterick T, Gordon T, Spiegel D. Echocardiography: Profiling of the Athlete’s Hear. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2014;27(9):940-948.
121. Puthuchery Z, Skipworth J, Rawal J, Loosemore M, Someren KV, Montgomery HE. The ACE gene and human performance 12 years on. *Sports medicine*. 2011;41(6):433– 448.
122. Richard P, Villard E, Charron Ph, Isnard R. The genetic bases of cardiomyopathies. *Journal of Amer. College of Cardiology*. 2006;48(9):79-89.
123. Rico– Sanz J, Rankinen T, Joannis DR, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, et al. Associations between cardiorespiratory responses to exercise and the



- C34T AMPD1 gene polymorphism in the HERITAGE Family study. *Physiol Genomics*. 2003;14(2):161-6.
124. Russell AP, Feilchenfeldt J, Schreiber S, Praz M, Crettenand A. Endurance training in humans leads to fiber type– specific increases in levels of peroxisome proliferator-activated receptor–gamma coactivator–1 and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in skeletal muscle. *Diabetes*. 2003;52:2874–81.
  125. SagachVF, Dmitrieva AV, Bubnova JA, Maksimenko VB, Knyshev GV. Early diagnostics of ischemic damages of the myocardium by means of the marker of opening the mitochondrial pore. *Fiziol. Zh*. 2009;55(1):12-18.
  126. SancakY, Bar-Peled L, Zoncu R, et al. Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell*. 2010;141(2):290.
  127. Sawczuk M, Banting LK, Cieszczyk P, Maciejewska A, Zarebska A, Leonska-Duniec A, et al. MCT1 A1470 T: a novel polymorphism for sprint performance? *J Sci Med Sport*. 2015;18(1):114-8.
  128. Scheele C, Petrovic N, Faghihi MA, et al. The human PINK1 locus is regulated in vivo by a non-coding natural antisense RNA during modulation of mitochondrial function. *BMC Genomics*. 2007;8:74.
  129. Semple RK, Chatterjee VK, O'Rahilly S. PPARgamma and human metabolic disease. *J Clin Invest*. 2006;116(3):581– 9.
  130. Sengupta S, Peterson TR, Sabatini DM. Regulation of the mTOR complex 1 pathway by nutrients, growth factors, and stress. *Mol. Cell*. 2010;40(2): 57.
  131. Seth A, Steel JH, Nichol D, Pocock V, Kumaran MR, Fritah A, et al. The transcriptional corepressor RIP 140 Regulates Oxidative Metabolism in Skeletal Muscle. *Cell Metab*. 2007;6(3):236– 245.
  132. Shao J, Li Y, Zhao P, Yue X, Jiang J, et al. Association of mTOR Polymorphisms with Cancer Risk and Clinical Outcomes: A Meta-Analysis. *PLoS ONE*. 2014;9(5):e97085. doi:10.1371/journal.pone.0097085.

133. Shen Sh, Jiang H, Bei Y, Xiao J, Li X. Long non-coding RNAs in cardiac remodeling. *Cellular physiology and biochemistry*. 2017;41:1830-1837.
134. Shimano M, Ouchia N, Nakamura K, van Wijk B, Ohashia K, Asaunia Y, et al. Cardiac myocyte follistatin-like 1 functions to attenuate hypertrophy following pressure overload. *PNAS*. 2011;108(43):899-906.
135. Schmitt B, Fluck M, Decombaz J. Transcriptional adaptations of lipid metabolism in tibialis anterior muscle of endurance– trained athletes. *Physiol. Genomics*. 2003;15:148– 157.
136. Soci UPR, Fernandes T, Hashimoto NY, Mota GF, AmadeuMA, Rosa KT, et al. MicroRNAs 29 are involved in the improvement of ventricular compliance promoted by aerobic exercise training in rats. *Physiol Genomics*. 2011;43:665–673.
137. Stefanski A, Majkowska L, Ciechanowcz A, Frankow M, Safranow K, Parczewski M, et al. Lack of association between the Pro12Ala polymorphism in PPAR–gamma2 gene and body weight changes, insulin resistance 33 and chronic diabetic complications in obese patients with type 2 diabetes. *Archives of Medical Research*. 2006;37:736– 743.
138. Stumvoll M, Häring H. The peroxisome proliferator– activated receptor– gamma2 Pro12Ala polymorphism. *Diabetes*. 2002;51(8):2341– 2347.
139. Tanisawa K, Tanaka M, Higuchi M. Gene-exercise interactions in the development of cardio metabolic diseases. *J Phys Fitness Sports Med*. 2016;5(1): 25-36.
140. Temelkova–Kurktschiev T, Hanefeld M, Chinetti G, Zawadzki C, Haulon S, Kubaszek A, et al. Ala12Ala genotype of the peroxisome proliferator– activated receptor gamma 2 protects against atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(9):4238– 4242.
141. Tobina T, Kiyonaga A, Akagi Yu, Mori Yu, Ishii K, Chiba H, et al. Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism and exercise trainability in elderly women: an electrocardiological approach. *Journal of Sports Science and Medicine*. 2007;6:220 – 226.

142. Paterick TE, Gordon T, Spiegel D. Echocardiography: Profiling of the Athlete's Heart. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2014;27(9):941-958.
143. Utomi V, Oxborough D, Whyte GP, et al. Systematic review and meta-analysis of training mode, imaging modality and body size influences on the morphology and function of the male athlete's heart. *Heart*. 2013;99:1727–33.
144. Vaccaro O, Lapice E, Monticelli A, Giacchetti M, Castaldo I, Alasso R, Pinelli M, et al. Pro12Ala polymorphism of the PPARgamma2 locus modulates the relationship between energy intake and body weight in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2007;30(5):1156– 1161.
145. Vausort M, Wagner DR, Devaux Y. Long noncoding RNAs in patients with acute myocardial infarction. *Circ. Res*. 2014;115:668–677.
146. Vega RB, Konhilas JP, Kelly DP, Leinwang LA. Molecular mechanisms underlying cardiac adaptation to exercise. *Cell metabolism*. 2017;.25(5):1012-1026.
147. Venckunas T, Lionikas A, Marcinkeviciene JE, Raugaliene R, Alekrinskis A, Stasiulis A. Echocardiographic parameters in athletes of different sports. *Journal of Sports Science and Medicine*. 2008;7:151– 156.
148. Verhaaren HA, Schieken RM, Mosteller M, et al. Bivariate genetic analysis of left ventricular mass and weight in pubertal twins (the Medical College of Virginia twin study). *Am J Cardio*. 1991;68:661-68.
149. Viereck J, Kumarswamy R, Foinquinos A, Xiao K, et al. Long noncoding RNA Chast promotes cardiac remodeling. *Sci Transl Med*. 2016;8:326.
150. Wang K, Liu F, Zhou L-Y, Long B, Yuan S-M, Wang Y, LiuTeng Sun C-Y, et al. The Long Noncoding RNA CHRF Regulates Cardiac Hypertrophy by Targeting miR-489. *Circ Res*. 2014;114:1377-1388.
151. Wang Z, Wang Y. Dawn of The Epi-LncRNAs: New Path from Myheart. 2016;2(116):235–236.
152. Weeks KL, McMullen JR. The athlete's heart vs. The failing heart: Can signaling explain the two distinct outcomes? *Physiology*. 2011;26:97–105.

153. Wedin JO, Henriksson AE. Post game elevation of cardiac markers among elite floorball players. *Scand. J. Med. Sci. Sports.* 2015;25(4):495-500. doi: 10.1111/sms.12304.
154. Wu C, Arora P. Long noncoding MHRT RNA: Molecular crowbar unravels insights into heart failure treatment. *Circulation: Cardiovascular Genetics.* 2015;1(8):213–215.
155. Xuan L, Sun L, Zhang Y, Huang Y, Hou Y, Li Q, et al. Circulating long non-coding RNAs *NRON* and *MHRT* as novel predictive biomarkers of heart failure. *J. Cell. Mol. Med.* 2017;21:1803–1814.
156. Yan B, Yao J, Liu JY, Li XM, Wang XQ, Li YJ, et al. LncRNA-MIAT regulates microvascular dysfunction by functioning as a competing endogenous RNA. *Circ. Res.* 2015;116:1143–1156.
157. Yang KC, Yamada KA, Patel AY, Topkara VK, George I, Cheema FH, et al. Deep RNA sequencing reveals dynamic regulation of myocardial noncoding RNAs in failing human heart and remodeling with mechanical circulatory support. *Circulation.* 2014;129(9):1009–21.
158. Yang Y, Creer A, Jemiolo B, et al. Time course of myogenic and metabolic gene expression in response to acute exercise in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 2005;98(5):1745.
159. Zhang J, Gao C, Meng M, Tang H. Long Noncoding RNA MHRT Protects Cardiomyocytes against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Induced Apoptosis. *Biomolecules & Therapeutics.* 2016;24(1):19-24. doi:10.4062/biomolther.2015.066.
160. Zhu XH, Yuan YX, Rao SL, Wang P. LncRNA MIAT enhances cardiac hypertrophy partly through sponging mir-150. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2016;20:3653–3660.
161. <https://horizondiscovery.com/en/products/tools/siDESIGN-Center>