

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ФІЗИЧНОГО ВИХОВАННЯ І СПОРТУ  
УКРАЇНИ  
КАФЕДРА МЕДИЧНОЇ БІОЛОГІЇ ТА СПОРТИВНОЇ ДІЄТОЛОГІЇ

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**  
на здобуття освітнього ступеня магістра  
за спеціальністю 091 Біологія та біохімія  
освітньою програмою «Фізіологія рухової активності»

на тему:

**«Вплив гіпоксичного тренування на експресію генів,  
залучених у метаболізм скелетних м'язів»**

здобувач вищої освіти другого  
(магістерського) рівня

**Шень Чжень**

Науковий керівник: Дроздовська  
С.Б., д.б.н., проф.

Рецензент: Поліщук А. О.,  
Phd, постдок Інституту біомедичних  
досліджень (Барселона, Іспанія)

Рекомендовано до захисту на  
засіданні кафедри  
(протокол №5 від 25.11. 2024 р.)  
Завідувач кафедри Вікторія  
**ПАСТУХОВА**  
Д. м.н., проф.

Київ - 2024

## Перелік умовних позначень

СКМ – скелетні м'язи,

МІСТ – тривале тренування середньої інтенсивності,

НІІТ – високоінтенсивне інтервальне тренування,

SIT – супрамаксимальне інтервальне тренування

MAD – максимальна дистанція бігу

LIT – тривале тренування низької інтенсивності

MAS – максимальна аеробна швидкість

RSH – повторювані спринтерські тренування в умовах гіпоксії

ІІТ – інтервальне гіпоксичне тренування

BDNF – мозковий нейротрофічний фактор

UCP2 – мітохондріальний білок-роз'єднувач

PGC1A - альфа-коактиватор -гамма рецептора, що активується проліферацією перексисом

FNDC5- fibronectin type III domain-containing protein 5, попередник іризину

ERRa – естроген зв'язаний альфа-рецептор;

## ЗМІСТ

	Стр.
ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ ДО ГІПОКСИЧНОГО ТРЕНУВАННЯ.....	9
1.1. Гіпоксія як явище та шляхи адаптації до неї.....	9
1.2. Гіпоксичне тренування та його види.....	11
1.3. Гени, що активуються під час гіпоксії.....	14
1.4. Ірізін його значення для м'язової роботи.....	19
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ І ОРГАНІЗАЦІЯ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	23
2.1. Методи дослідження.....	23
2.2. Організація дослідження.....	32
РОЗДІЛ 3. ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ, ЗАЛУЧЕНИХ У МЕТАБОЛІЗМ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ПІД ВПЛИВОМ ТРЕНУВАНЬ РІЗНОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ ТА ГІПОКСІЇ.....	34
3.1. Зміни витривалості мишей під впливом поєднаного застосування фізичних тренувань різної інтенсивності та гіпоксії.....	34
3.2. Рівень активності генів, залучених у метаболізм скелетних м'язів до та після поєднаної дії фізичних тренувань та гіпоксії.....	35
РОЗДІЛ 4. РОЛЬ АКТИВАЦІЇ ГЕНІВ МЕТАБОЛІЗМУ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ У АДАПТАЦІЇ ДО ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ.....	43
ВИСНОВКИ.....	51
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	49

## Вступ

Проблема підвищення працездатності у спорті гостро стоїть поряд із іншими проблемами підготовки спортсменів. Високий рівень спортивних досягнень у сучасному спорті робить вплив факторів, що сприяють працездатності вирішальним. Тому велика увага надається позатренувальним факторам, таким як гіпоксичні впливи. Використання технічних засобів та природніх факторів, до яких належить гіпоксія, дозволяє мобілізувати функціональні резерви організму та досягнути високих спортивних результатів [0] (Платонов В.М., 2021) .

Для збільшення загальної витривалості поряд з тривалими вправами помірної інтенсивності нещодавно почали використовувати супрамаксимальні інтервальні тренування, які також викликають як збільшення максимального споживання кисню та поперечний переріз скелетних м'язів [33]. І в експериментах на тваринах і при обстеженні людей встановлено, що повторювальні високоінтенсивні інтервальні вправи викликають збільшення максимального споживання кисню, товщину перерізу скелетних м'язів.

Фізичні вправи є ефективним засобом досягнення оздоровчих ефектів, у тому числі зміни метаболізму скелетних м'язів. Зростаюча кількість доказів, отриманих із низки різних протоколів тренувань, свідчить про те, що як низька, так і висока інтенсивність вправ призводять до покращення метаболічної адаптації скелетних м'язів (Li J., Li Y., 2020) [33].

З'являється все більше доказів того, що поєднання високоінтенсивних вправ і гіпоксичних стимулів може призвести до додаткової переваги фізичної працездатності порівняно з аналогічними вправами при нормоксії (Faiss R., 2013). Крім того, використовуючи саму помірну гіпоксію, можна запуснути активну регуляцію ряду генів, залучених до енергетичного метаболізму. Існують різні форми гіпоксичного кондиціонування: «гіпоксичне попереднє кондиціонування» може захистити від смертельних пошкоджень різних

органів і клітин, викликаних гіпоксією (Serebrovska ZO, 2022) [48]. Періодична гіпоксична дія була показана як ефективна нефармакологічна терапія при різних розладах, включаючи хронічні та вікові патології, такі як хвороба Альцгеймера, або захворювання, пов'язані зі стресом, такі як тривожні та депресивні розлади.

Незважаючи на те, що основним медіатором клітинної гіпоксії вважається шлях фактора, індукованого гіпоксією (HIF), кілька даних, отриманих із тканини скелетних м'язів, свідчать про те, що експресія білка HIF-1 лише незначно змінюється під час пасивного впливу помірної гіпоксії (Lundby S., 2009). [35] Крім того, твердження про те, що хронічна гіпоксія сама по собі може сприяти ангиогенезу або посиленню регуляції окислювальних ферментів, зараз заперечується; і все більше доказів показують, що гіпоксія може регулювати гени, які беруть участь у метаболізмі глюкози в стані спокою, а також гени, що беруть участь у диференціації міобластів, злитті та скороченні м'язів після фізичних вправ (Gnimassou O., 2018) [23]. Крім того, вплив інтенсивності вправ при гіпоксії здається важливим із потенційною перевагою поєднання високої інтенсивності та важкої гіпоксії для покращення транспорту O<sub>2</sub> та метаболізму скелетних м'язів (Vogt M., 2003) [58]. Ще одним кроком уперед було повідомлення про те, що поєднання максимальної інтенсивності (тобто коротких спринтів) і гіпоксії (тобто повторюваних спринтерських тренувань у гіпоксії, RSH) призвело до певних реакцій (наприклад, більшого покращення здатності до повторного спринту) у порівнянні з тією ж вправою в нормоксії (Brocherie F., 2018) [6]. Окрім деяких периферичних адаптацій на ендотеліальному або м'язовому рівнях, численні дослідження також показали, що різні протоколи RSH також покращують кардіореспіраторну придатність (аеробну здатність) (Millet GP, 2019) [37], тоді як НІТ при гіпоксії зазвичай показується подібним (не кращим) до НІТ при нормоксії.

Загалом, підвищення продуктивності можна пояснити індукованими гіпоксією змінами на клітинному рівні після зниження доступності кисню (O<sub>2</sub>) і збільшенням експресії індукованих гіпоксією факторів і цільових генів.

Основний молекулярний шлях адаптації до високоінтенсивних вправ включає подібні медіатори, як гіпоксична відповідь (PGC-1 $\alpha$ , HIF 1- $\alpha$ , VEGF). RSH посилює регуляцію деяких генів, залучених до метаболізму глюкози та мітохондріального біогенезу залежно від протоколу навчання. Загалом молекулярні механізми, що лежать в основі вправ при гіпоксії, не повністю з'ясовані.

Хоча зростає кількість доказів про те, що поєднання високоінтенсивних фізичних навантажень та гіпоксичних стимулів призводить до додаткових переваг та приростів фізичної працездатності у порівнянні з просто виконанням тренувань, проте які фізичні вправи будуть більш ефективними у поєднанні із гіпоксичними стимулами, все ще не доведено. Дослідження метаболічних шляхів, що активуються при поєднанні тренувань різної інтенсивності та гіпоксичного тренування містять багато розбіжностей. Все вище вказане обумовило мету даного дослідження.

Мета роботи – дослідити активність генів, залучених у метаболізм скелетних м'язів, під впливом поєднаної дії фізичних вправ різної інтенсивності (низької та супрамаксимальної) та помірної гіпоксії. Для її вирішення були поставлені наступні завдання:

1. За аналізом літератури встановити шляхи активації метаболічних мереж під поєднаним впливом тренувань різної інтенсивності та гіпоксії.
2. Порівняти зміни аеробної працездатності у експериментальних мишей лінії C57BL/6 під поєднаним впливом тренувань різної інтенсивності та впливу помірної гіпоксії;

3. Дослідити зміни активності генів різних метаболічних мереж, залучених у адаптацію до м'язової роботи під впливом поєднаної дії тренувань та гіпоксії.
4. Порівняти метаболічну відповідь скелетних м'язів у відповідь на фізичні тренування різної інтенсивності та гіпоксичні стимули.

Об'єкт дослідження – молекулярно-генетичні механізми адаптації до фізичних навантажень різної інтенсивності та гіпоксичних стимулів.

Предмет дослідження – вплив поєднаної дії гіпоксії та фізичних навантажень різної інтенсивності на експресію генів, залучених у метаболізм скелетних м'язів у мишей лінії C57BL/6.

Наукова новизна – вперше досліджено вплив двох видів фізичних навантажень (низької інтенсивності тривалих та супрамаксимальної інтенсивності коротких інтервальних навантажень) в умовах гіпоксії на експресію генів, залучених у мітохондріальний біогенез скелетних м'язів.

Практичне значення – результати роботи дозволили виявити нові молекулярно-генетичні маркери впливу на організм під час адаптації до дії тривалих фізичних навантажень. Встановлені закономірності дозволять модифікувати процес гіпоксичного тренування спортсменів, застосовувати поєднання тренувальних та позатренувальних засобів у багаторічній системі підготовки спортсменів з метою інтенсифікації навантаження на організм, покращення їх фізичної працездатності та успішного процесу виведення спортсменів на пік спортивної форми.

Робота виконується згідно теми № 2.8 плану наукової роботи Національного університету фізичного виховання і спорту України на 2021–2025 р.р. “Вплив екзогенних та ендогенних факторів на перебіг адаптаційних реакцій організму до фізичних навантажень різної інтенсивності” (державний реєстраційний номер 012U108187).

Кваліфікаційна робота виконана на 56 сторінках друкованого тексту, містить 4 розділи, що містять огляд наукової літератури, методи і організацію

досліджень, результати досліджень та їх обговорення, висновки та список використаних джерел.



## РОЗДІЛ 1

### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ ДО ГІПОКСИЧНОГО ТРЕНУВАННЯ

**1.1. Гіпоксія як явище та шляхи адаптації до неї.** Гіпоксія – один із факторів гормезису. У великих дозах здійснює пошкоджуючий вплив на організм, а у малих дозах – корисний ефект. Термін «гіпоксія» походить від грецького *hupo* (недостатність) та *oxus* (кисень). Говорячи науковою мовою - гіпоксія - кисневе голодування тканин, типовий патологічний процес, що виникає в результаті недостатнього постачання тканин киснем або порушення його засвоєння тканинами. Страждання від гіпоксії спостерігаються при підйомі високо в гори. Історія висотної медицини (яка вивчає гіпоксію в горах) є однією з найяскравіших у всіх науках про життя. Перший опис гірської хвороби зробив монах Джозеф де Акоста в 1590 р. Коли в середині дев'ятнадцятого століття в європейських Альпах стало популярним скелелазіння, було описано багато випадків гострої гірської хвороби [59].

Киснева недостатність є одним із лімітуючих факторів прояву високої фізичної працездатності організму людини. Напружена м'язова діяльність під час тренувальних та змагальних навантажень в спорті майже завжди супроводжується гіпоксичними станами. В процесі спортивної діяльності можуть виникати різні гіпоксичні стани: гіпоксія навантаження (в умовах, коли організм виконує граничну роботу субмаксимальної потужності); гіпоксична гіпоксія (коли робота виконується в умовах зниженого барометричного тиску); гіпоксія, яка виникає під час затримки дихання (апноє).

Україні є чим пишатися в області досліджень гіпоксії, незважаючи на те, що російські та українські вчені протягом шести десятиліть були фактично відрізані від світової наукової спільноти [47].

В Україні славетна наукова школа започаткована Сиротиним, яка займалась застосування гіпоксичних стимулів в різних станах, в тому числі і при тренуванні спортсменів. Особливо в сталінську добу надмірна політизація призвела до вульгаризації наукових ідей з офіційним проголошенням псевдонаукових «відкриттів» (О. Лепешинська, Т. Лисенко та ін.; див. Мирський, 1990), адміністративного диктату та відвертого переслідування. Крім того, багато видатних вчених були засуджені до в'язниці чи таборів судьями, які були політичними діячами без будь-якої наукової підготовки. Але, незважаючи на цю жахливу ситуацію, вчені продовжували працювати.

У 1934 році Н. Н. Сиротинін провів перші дослідження в галузі пошуку ефективних методів преакліматизації. Він припустив, що лише кілька днів на висоті підвищить толерантність до наступного впливу гіпоксії. З таких досліджень виникла концепція про те, що періодичне, повторюване перебування на висоті може викликати акліматизацію. Серед закордонних дослідників гіпоксичних впливів добре відоме ім'я українського професора Тетяни Серебровської [52].

**Механізми адаптації до гіпоксії.** У відповідь на гіпоксію в організмі вмикається комплекс реакцій, які в залежності від тривалості дії та сили чинника поділяються на гострі, хронічні та еволюційно обумовлені генетичні адаптації, головний сенс яких – підтримка гомеостазу та забезпечення адекватного рівня кисневого транспорту до життєво важливих органів. Гострі механізми полягають у підвищенні частоти та глибини дихання (опосередковане стимуляцією дихального центру), тахікардії та вазоконстрикції зі сторони серцево-судинної системи [26] для забезпечення кровотоку життєво важливих органів. Механізми, спричинені раптовим зниженням кисню, опосередковуються унікальним внутрішньоклітинним сенсором HIF-1 $\alpha$  (гіпоксіяіндукований фактор), відкритим Г. Семензою у 2012 р. [46]. Цей протеїн виконує функцію транскрипційного фактору і активує експресію генів, залучених до ангіогенезу, гліколізу та еритропоезу

(Beall, 2007) [5], (Tsui et al., 2021) [56]. Генетичні аспекти адаптації обумовлені генетичними модифікаціями у відповідь на потійну дію гіпоксію. Зокрема, у тибетців виявлено мутації в гені EPAS1, що знижує ризик надмірного еритроцитозу та полегшує виживання в умовах низького атмосферного тиску (Simonson et al., 2010) [51].

Таким чином, адаптація до гіпоксії є складним багаторівневим процесом, який включає гострі фізіологічні реакції, хронічні зміни на рівні органів і тканин, а також еволюційно обумовлені генетичні адаптації. Подальше вивчення молекулярно-генетичних механізмів адаптації є важливим не тільки для медицини та розробки терапевтичних стратегій при лікуванні хронічних гіпоксичних станів, але й для створення оптимального планування тренувального процесу та вибору ідеальних опцій застосування позатренувальних факторів підвищення спортивної результативності та фізичної працездатності.

**1.2. Гіпоксичні тренування та їх види.** Одним із нових принципів спортивної підготовки є єдність та зв'язок тренувального процесу і змагальної діяльності з позатренувальними і позазмагальними факторами (платонов). Цей принцип поряд з іншими засобами розглядає можливість застосування середньогірного, високогірного та штучного гіпоксичного тренування. Гіпоксичне тренування – це один із факторів інтенсифікації навантаження в спорті, що поділяються на 2 групи: природне тренування (в гірських умовах) та штучне тренування (відбувається на рівні моря із застосуванням спеціального обладнання).

Традиційно, протягом багатьох років спортсмени вирушали на висоту, щоб поспати та потренуватися. Але за останні 30 років були розроблені інші концепції, які також можна комбінувати одна з одною:

1) Живи високо-тренуйся високо (LH-TH). Традиційні табори LH-TH розроблені спеціально для спортсменів, які займаються витривалістю. Тут спортсмени сплять і тренуються на висоті. Табори зазвичай тривають 2-3 тижні, іноді проводяться два-три рази за сезон. Оптимальна висота для збільшення маси гемоглобіну, ймовірно, 1800–2500 м. Внаслідок гіпоксії знижується працездатність, що зумовлює необхідність зменшення зовнішнього тренувального навантаження;

2) Живи високо-тренуйся на низькій висоті (LH-TL). Фінські та американські вчені створили концепцію LH-TL на початку 1990-х років, щоб обійти зниження зовнішнього тренувального навантаження та потенційну втрату сили. У LH-TL спортсмени живуть і/або сплять на природній або штучній висоті і тренуються в нормоксичних (тобто поблизу рівня моря) умовах. Через матеріально-технічні труднощі реалізації LH-TL у горах (час у дорозі тощо), перевага віддається штучній висоті. Але також повідомляється про протилежний спосіб, тобто жити на природній висоті, а потім тренуватися в наближеній нормоксії, додаючи кисень. Щоб індукувати ефективний еритропоез, вплив гіпоксії має тривати  $\geq 14$  год/день протягом 2-3 тижнів на природній або імітованій висоті  $\geq 2100$  м.

3) Живи низько- тренуйся високо (LL-TH). З live low-train high (LL-TH) спортсмени тренуються в гіпоксії, проводячи час, що залишився, в нормоксії. Ця концепція набула величезної популярності в останні роки. Він використовується в медичних цілях, таких як покращення результатів реабілітаційного втручання (24), а також спортсменами, наприклад, з командних видів спорту, які навряд чи можуть брати участь у тренувальних таборах із практичними причинами, як-от, наприклад, їхній розклад турнірів. Застосовуються принаймні три різні протоколи LL-TH.

1. Безперервне гіпоксичне тренування (СНТ), де спортсмени виконують принаймні 20-хвилинні сесії вправ середньої інтенсивності, щоб покращити показники витривалості низької інтенсивності.

2. Інтервальне тренування в умовах гіпоксії (ІНТ), де спортсмени виконують інтервальні вправи середньої та високої інтенсивності тривалістю 0,5 – 5,0 хв. Пауза подібна до тривалості попереднього робочого інтервалу. Мета полягає в тому, щоб покращити  $\dot{V}O_{2max}$ .

3. Повторювані спринтерські тренування в умовах гіпоксії (RSH), де спортсмени виконують короткі (5-30 с) вправи високої інтенсивності з неповним часом відновлення (20-180 с). Тут спортсмени прагнуть зменшити втому від багаторазового спринту, що може бути особливо актуальним для командних видів спорту, наприклад, футболу.

RSH, з іншого боку, є відносно молодим підходом, який викликав великий науковий і практичний інтерес. Більшість досліджень описують покращену стійкість до втоми під час повторних спринтів (1–5%) без покращення максимальної продуктивності спринту.

Окрім цих концепцій, що базуються на тренуванні на витривалість, тренування з опором в умовах гіпоксії (RTE) або періодичної гіпоксії (IHE) можуть надати переваги для спортсменів у підготовці до перебування, тренувань або змагань на висоті, але нам не відомо про будь-які дані, що підтверджують ергогенність ефекти для продуктивності на рівні моря [53].

### **1.3.Молекулярні механізми адаптації до фізичних вправ різної інтенсивності та гіпоксії.**

Скелетний м'яз (СКМ) - енергетичний орган з високим ступенем пластичності. Різні подразники навколишнього середовища, такі як фізичні вправи або холод, а також відсутність фізичної активності призводять до складних молекулярних регуляцій, які в свою чергу, призводять до метаболічної адаптації СКМ і всього організму. Ключовими факторами пластичності СКМ і енергетичного гомеостазу всього тіла є сімейство  $\gamma$ -коактиваторів-1 (PGC-1), що активується проліфератором пероксисом (PPAR), включаючи три члени, PGC-1 $\alpha$ , PGC-1 $\beta$  і коактиватор, пов'язаний з PGC (PRC). PGC-1 є коактиваторами і, отже, використовують партнерів по зв'язуванню факторів транскрипції (TFBP), щоб регулювати свої цільові гени. Складність контролю транскрипції може бути навіть збільшена епігенетичними змінами, головним чином метилюванням ДНК. PGC-1 $\alpha$  є основним учасником глобального метаболічного контролю шляхом регуляції транскрипційної мережі через численні взаємодії TF та його участі в епігенетичних змінах.

Фізичні вправи є ефективним засобом досягнення оздоровчих ефектів, у тому числі зміни метаболізму скелетних м'язів. Зростаюча кількість доказів, отриманих на основі різноманітних протоколів тренувань, свідчить про те, що як низька, так і висока інтенсивність вправ призводять до покращення метаболічної адаптації скелетних м'язів [33, 21, 19, 25]. Як безперервне тренування середньої інтенсивності (МІСТ), так і обидві форми інтервального тренування (високоінтенсивне інтервальне тренування, НІТ та спринтерське інтервальне тренування, SIT) можуть викликати збільшення аеробної потужності ( $V'O_2max$ ) і вмісту мітохондрій [36]. Інтервальне спринтерське тренування тривалістю < 60 с і супрамаксимальною (тобто > піковою вихідною потужністю) інтенсивністю вправи є ефективною за часом стратегією для покращення гліколітичної здатності, але також може викликати ремоделювання скелетних м'язів у бік більш окисного фенотипу

[38, 17] або для покращення аеробної підготовленості: як приклад, 6-тижневий RSH, що включає вичерпні 6–7 серії 20-секундних циклів із 10-секундними перервами значно збільшили  $VO_{2max}$ , максимальний накопичений дефіцит кисню та площу поперечного перерізу м'язів стегна [48].

З'являється все більше доказів того, що поєднання високоінтенсивних вправ і гіпоксичних стимулів може призвести до додаткової переваги фізичної працездатності порівняно з аналогічними вправами при нормоксії [49]. Крім того, використовуючи саму помірну гіпоксію, можна запустити активну регуляцію ряду генів, залучених до енергетичного метаболізму. Існують різні форми гіпоксичного кондиціонування: «гіпоксичне прекодиціонування» може захистити від смертельних пошкоджень різних органів і клітин, викликаних гіпоксією [10, 35]. Періодична гіпоксична дія була показана як ефективна нефармакологічна терапія при різних розладах, включаючи хронічні та вікові патології, такі як хвороба Альцгеймера, або захворювання, пов'язані зі стресом, такі як тривога та депресивні розлади [10].

Незважаючи на те, що основним медіатором клітинної гіпоксії вважається шлях фактора, індукованого гіпоксією (HIF), кілька даних, отриманих із тканини скелетних м'язів, свідчать про те, що експресія білка HIF-1 лише незначно змінюється під час пасивного впливу помірної гіпоксії [35]. Крім того, твердження про те, що хронічна гіпоксія сама по собі може сприяти ангіогенезу або посиленню регуляції окислювальних ферментів, зараз заперечується; і суперечливі, все більше доказів показують, що гіпоксія може регулювати гени, залучені в метаболізм глюкози в стані спокою, і гени, залучені в диференціацію міобластів, злиття і скорочення м'язів після фізичних вправ [23]. Крім того, вплив інтенсивності вправ при гіпоксії здається важливим із потенційною перевагою поєднання високої інтенсивності та важкої гіпоксії для покращення транспорту  $O_2$  та метаболізму скелетних м'язів [58]. Ще одним кроком уперед було повідомлення про те, що поєднання максимальної інтенсивності (тобто

коротких спринтів) і гіпоксії (тобто повторюваних спринтерських тренувань у гіпоксії, RSH) призвело до певних реакцій (наприклад, більшого покращення здатності до повторного спринту) у порівнянні з тією ж вправою в нормоксії [6, 7]. Окрім деяких периферичних адаптацій на ендотеліальному або м'язовому рівнях, численні дослідження також показали, що різні протоколи RSH також покращують кардіореспіраторну придатність (аеробну здатність) [37], тоді як НІТ при гіпоксії зазвичай виявляється подібним (не кращим) до НІТ при нормоксії (ІНТ). Пізніше припущення, однак, заперечується дослідженнями, які повідомляють про покращену аеробну потужність після ІНТ. ІНТ -втручання (тричі на тиждень, 6 x 5-хвилинних вправ із 5-хвилинним відновленням) значно збільшило максимальне поглинання кисню [62].

Загалом, підвищення продуктивності можна пояснити індукованими гіпоксією змінами на клітинному рівні після зниження доступності кисню (O<sub>2</sub>) і збільшенням експресії індукованих гіпоксією факторів і цільових генів. Переваги RSH у продуктивності зазвичай пов'язують з адаптацією скелетних м'язів [18], яка, ймовірно, опосередковується тимчасовою активацією генів, чутливих до фізичних навантажень та/або гіпоксії (23, 24) [14,39], тоді як обмеження ІНТ виникло внаслідок очевидного нижчого рівня потік кисню при гіпоксії, ніж при нормоксії під час тривалих періодів фізичного навантаження [32].

Успішна адаптація залежить від активації ряду генів, відповідальних за енергетичний обмін. Показано, що високоінтенсивне інтервальне тренування активує 5'-АМФ-активовану протеїнкіназу (АМРК) і р38 мітоген-активовану протеїнкіназу (МАРК), що призводить до фосфорилування та активації PGC-1 $\alpha$  і посилює мітохондріальний біогенез [20]. Періодичні та безперервні тренування високої інтенсивності викликають подібні гострі (збільшення сигнальних каскадів, пов'язаних з мітохондріальним біогенезом, включаючи



фосфорилування білка ACC і p38 MAPK і експресію мРНК PGC-1 $\alpha$ ), але різні хронічні адаптації м'язів.

Основний молекулярний шлях адаптації до високоінтенсивних вправ включає подібні медіатори, як гіпоксична відповідь (PGC-1 $\alpha$ , HIF1- $\alpha$ , VEGF) [33]. 9-денна програма тренувань на витривалість збільшує експресію генів ліпідного обміну в скелетних м'язах людини, збільшує кількість жиру.

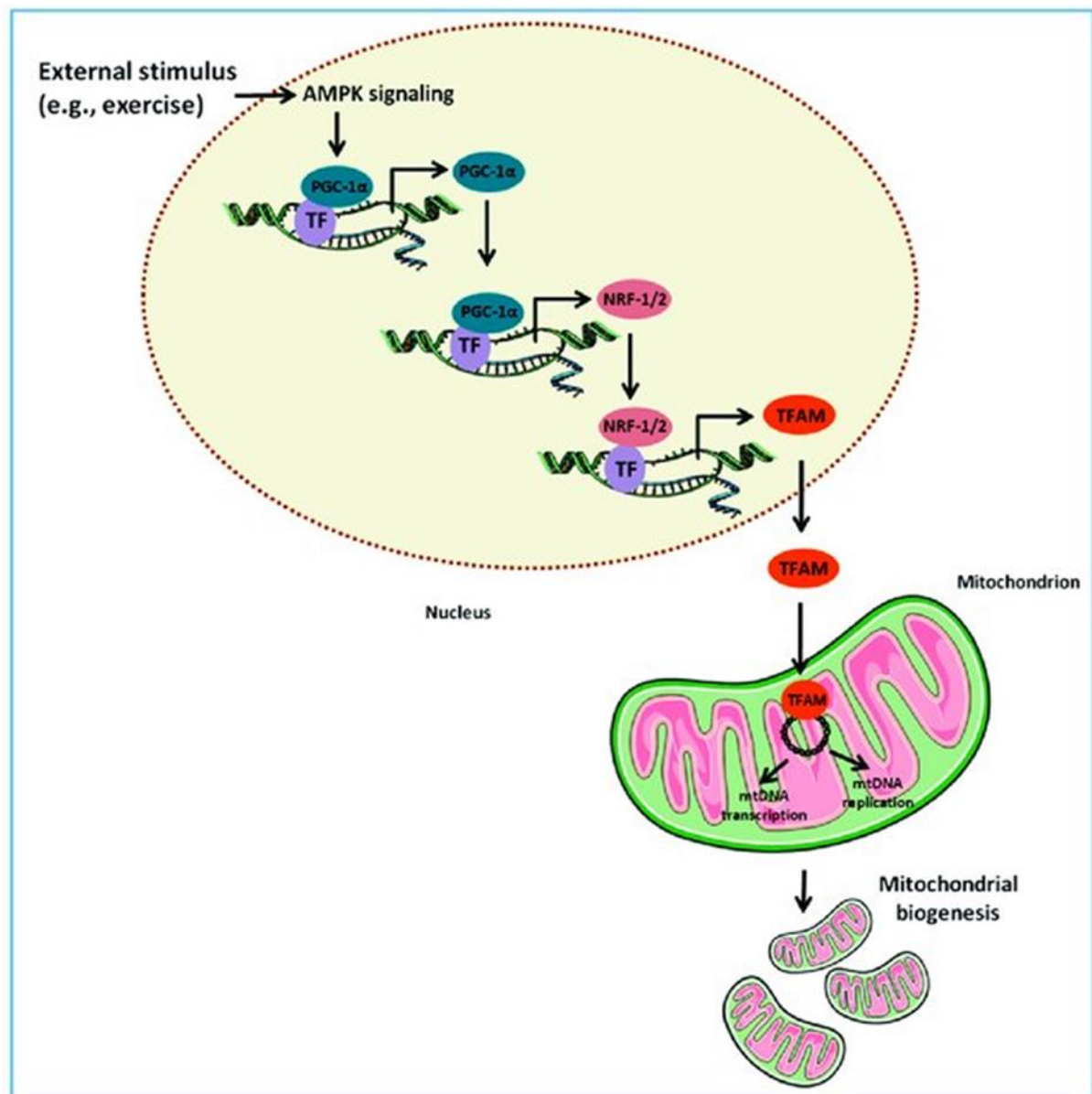
Високоінтенсивне інтервальне/переривчасте тренування (НІТ) у широкому сенсі визначається як повторювані періоди вправ короткої та помірної тривалості, що завершуються високою інтенсивністю, чергуються з періодами вправ низької інтенсивності або відпочинку. Існують різні типи НІТ, які відрізняються інтенсивністю вправ і комбінаціями вправ і періоди відпочинку. Серед них супрамаксимальний НІТ, що складається з шести-семи 20-секундних вправ із інтенсивністю приблизно 170% максимального поглинання кисню ( $\dot{V}O_2$  max) із вкрапленням періодів відпочинку тривалістю 10 с, майже максимально навантажив як анаеробну, так і аеробну системи вивільнення енергії, хоча загальна тривалість цього режиму вправ була менше ніж 4 хв. Крім того, було показано, що виконання супрамаксимального НІТ протягом 6 тижнів значно підвищило потужність як аеробної, так і анаеробної систем вивільнення енергії, і спостережене збільшення аеробної потужності було порівняним із збільшенням, викликаним звичайним тренуванням на витривалість, незважаючи на зменшення загальної кількості вправ обсяг. Ці результати підтверджують висновок про те, що супрамаксимальний НІТ є унікальним методом тренування, який не тільки ефективно покращує аеробну здатність вивільняти енергію, але також підвищує здатність вивільняти анаеробну енергію [37].

Численні дослідження вивчали молекулярні механізми, що лежать в основі індукованої фізичними вправами адаптації скелетних м'язів під час звичайних тренувань на витривалість і опір. Ці дослідження виявили сигнальні шляхи, а також регулятори транскрипції та трансляції, які опосередковують ці адаптації. Наприклад, у тренуванні витривалості,

мітохондріальний біогенез, метаболізм жирних кислот і ангиогенез, серед іншого, було показано бути залученими, тоді як синтез/деградація білка та міогенез, серед іншого, пов'язані з адаптацією м'язів у модулях силового тренування. Було показано, що НІТ індукує адаптацію скелетних м'язів, як спостерігалось, напр. підвищений рівень маркерів вмісту мітохондрій та окисної здатності гліколітична здатність, внутрішньом'язові запаси глікогену та тригліцеридів та щільність капілярів. Що стосується молекулярних механізмів, які лежать в основі адаптації скелетних м'язів до НІТ, попередні дослідження продемонстрували участь активації сигнального шляху, пов'язаного з мітохондріальним біогенезом .

Механізми адаптації м'язів людини до НІТ до кінця не вивчені. Протеомний аналіз скелетних м'язів щурів, які пройшли НІТ, на основі двовимірного диференціального електрофорезу в гелі продемонстрував змінену відносну кількість 13 серед 800 виявлених білків. Однак, враховуючи, що близько 20 000 білків експресується в скелетних м'язах, такий підхід не є комплексним аналізом молекулярних відповідей на НІТ. Профілювання експресії генів є потужним інструментом, що забезпечує нове розуміння молекулярних механізмів адаптації м'язів до фізичних вправ. У попередніх дослідженнях досліджувалися профілі експресії генів адаптації скелетних м'язів до програм тренувань на витривалість і опору. Дослідження показали, що кожув програма викликає помітно різні відповіді в м'язах, що призводить до збільшення аеробної потужності у випадку тренування на витривалість і сили м'язів у випадку тренування з опором. Нещодавно Robinson et al. вивчили комплексні зміни експресії генів, спричинені НІТ; у цьому дослідженні НІТ складався з вправ нижчої інтенсивності та більшої тривалості (чотири періоди 4-хвилинної їзди на велосипеді при >90% пікового споживання кисню з 3-хвилинною обертання педалей без навантаження) порівняно з надмаксимальним НІТ, і було спеціально спрямоване на покращення аеробної ємності, мітохондріального дихання та чутливості до інсуліну, але не для покращення анаеробної здатності.

Основні сигнальні шляхи, що впливають на мітохондріальний біогенез представлені на рис. 1.1



**Рис.1.1.** Сигнальні шляхи мітохондріального біогенезу (за Picca et al, IJMS, 2017) [42].

Аналіз схеми свідчить, що до сигнальних молекул, що впливають на мітохондріальний біогенез входять PGC1A, NRF1, TFAM, які утворюють метаболічний каскад процесів.

**1.4. Іризин як фактор, що обумовлює взаємодію метаболічних мереж під час фізичних навантажень та гіпоксії.** Скелетні м'язи виконують не лише моторні й метаболічні функції, а й діють як ендокринний орган, секретуючи

біологічно активні речовини – міокіни. До міокінів відносять цитокіни, пептиди та інші хімічні посередники, які забезпечують метаболічний гомеостаз, впливають на обмін речовин, імунну функцію, регуляцію апетиту, нейропротекцію та термогенез. Зокрема, іризин, відкритий у 2012 році, здобув значну увагу науковців завдяки його ролі у побурінні білого жиру та покращенні ліпідного обміну. Він утворюється внаслідок протеолітичного розщеплення білка FNDC5, який експресується переважно у скелетних м'язах [40]. Іризин продукується у відповідь на фізичні навантаження через активацію PGC1- $\alpha$  у м'язах. Він стимулює експресію UCP1 (роз'єднувального білка) у бурих адипоцитах, що сприяє збільшенню тепловиділення (термогенезу) і спалюванню ліпідів. Тренування з різним характером навантажень (сила, витривалість) підвищують рівень FNDC5/іризину у м'язах, хоча його концентрація у крові є варіабельною. Відсутність чіткої кореляції між рівнем PGC1- $\alpha$  у м'язах та плазмовим рівнем іризину вказує на складність його регуляції.

Оздоровчий ефект фізичних вправ при ожирінні реалізується за рахунок дії на адипоцити міокіну іризину. Іризин є фрагментом білкового продукту гена *FNDC5* (протеїну 5, що містить домен фібронектину III типу). Іризин утворюється шляхом відщеплення від мембранного білка FNDC5. Ген *FNDC5* розташований на хромосомі 1p35.1, складається із 6 екзонів, 5 інтронів та охоплює 8,47 kb. Поліморфізми цього гена можуть зумовлювати чутливість до інсуліну та схильність до розвитку ожиріння, ефективність зменшення маси тіла під впливом фізичних навантажень [2].

Інтенсивність, тривалість і тип фізичних навантажень, а також методи вимірювання впливають на показники експресії іризину. Дослідження на людях і тваринах демонструють, що довготривалі фізичні навантаження та комбіновані інтервенції (дієта + вправи) є найефективнішими для зниження маси тіла. У людей з ожирінням рівень циркулюючого іризину часто підвищений внаслідок посиленої секреції жировою тканиною. Це може слугувати механізмом захисту м'язів за умов низької фізичної активності.

Проте, фізичні вправи стимулюють його секрецію у м'язах, посилюючи метаболічну адаптацію. Використання іризину як маркера ефективності тренувань та його потенціал у боротьбі з ожирінням, інсулінорезистентністю та навіть онкологічними захворюваннями є перспективними напрямками досліджень [1].

Довготривалі фізичні навантаження у осіб із ожирінням та надлишковою масою тіла викликають підвищення рівня циркулюючого іризину, як у чоловіків, так і жінок. Вірогідні зміни рівня іризину реєструються після 6 місяців занять. У осіб із нормальною масою тіла тренування можуть викликати зниження рівня іризину (іризинова резистентність). Фізичні навантаження, які відрізняються за спрямуванням, інтенсивністю та тривалістю, характеризуються однонаправленістю впливу на експресію іризину, але відрізняються величиною приросту[1].

У більшості досліджень зміни рівня іризину фіксували у скелетних м'язах, а не плазмі крові, що може бути пов'язано із терміном впливу фізичних вправ. Додаткове застосування рекомбінантного іризину призводить до покращення ліпідного профайлу та інсулінової резистентності.

Іризин є ключовим компонентом метаболічної адаптації до фізичних навантажень і виконує важливу роль у процесі зниження маси тіла. Розробка програм оздоровчого фітнесу з урахуванням його впливу сприятиме поліпшенню здоров'я жінок з ожирінням. Подальші дослідження, спрямовані на вивчення молекулярних механізмів дії іризину, допоможуть удосконалити підходи до нормалізації маси тіла та профілактики метаболічних порушень.

Висновки до розділу:

1. Метаболічна адаптація до гіпоксії запускається активацією фактору, що активується гіпоксією (HIF1A) та його мішеней, зокрема, фактору росту судин (VEGF).
2. Молекулярно-генетична адаптація до фізичних навантажень різної інтенсивності опосередковується такими транскрипційними

факторами, залученими у мітохондріальний біогенез, як PGC1A, PGC1B, NRF1, TFAM.

3. У процесі адаптації до фізичних навантажень відбувається активація генів FNDC5, UCP2, CYTC, CYTB, mtND1, mtND6, CS, які входять до складу метаболічних мереж скелетних м'язів.
4. Мережі генів, які активуються під час фізичних навантажень, перекриваються, викликаючи ефекти або синергізму або гальмування процесів адаптації у залежності від модуляції стимулів (сили, інтенсивності, тривалості фізичних навантажень та ступеня гіпоксії).
5. Довготривалі фізичні навантаження у осіб із ожирінням та надлишковою масою тіла викликають підвищення рівня циркулюючого іризину, як у чоловіків, так і жінок. Фізичні навантаження, які відрізняються за спрямуванням, інтенсивністю та тривалістю, характеризуються однонаправленістю впливу на експресію іризину, але відрізняються величиною приросту.

## РОЗДІЛ 2

### МЕТОДИ І ОРГАНІЗАЦІЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1 Методи дослідження.

1. Аналіз наукової літератури.
2. Фізіологічні та ергометричні методи.
3. Молекулярно-генетичні методи. Експресію генів визначали методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (qPCR) у литковому м'язі.
4. Методи математичної статистики.

**2.1.1. Аналіз наукової літератури.** В роботі було проаналізовано 61 джерело, з них - 59 іноземною мовою. У нашій роботі оцінюються основні дослідницькі статті, які демонструють вплив гіпоксії та тренувань на метаболізм скелетних м'язів, на витривалість на загальну працездатність організму як у тваринних та клітинних моделях та у людини.

Пошук літератури здійснювали за допомогою пошукової системи PubMed з грудня 2023 до вересня 2024 р. Аналізували публікації, що видані не пізніше 2000р., хоча деякі більш ранні використовували для висвітлення історичного ракурсу досліджень. Для пошуку використовували комбінації наступних ключових слів: гіпоксія, гіпоксичні тренування, інтервальне гіпоксичне тренування, експресія генів, скелетні м'язи, тренування різної інтенсивності. Зокрема, пошук за комбінацією «exercise, hypoxia, gene expression» видає 167 результатів за останні 10 років та 294 результати за 20 років. До аналізу включались публікації, де розглядався вплив різних видів фізичних навантажень та тренувань поодинокі та у поєднанні із гіпоксичними впливами, які могли бути у вигляді інтервального гіпоксичного тренування, ізобаричної гіпоксії, гіпербаричної гіпоксії або перебування та тренування у горах. До уваги брались ті публікації, де розглядалась експресія

генів, залучених у метаболічні мережі та включені у процес адаптації до фізичних навантажень. Аналізувались тільки повнотекстові статті.

### **2.1.2. Фізіологічні та ергометричні методи.**

Фізичну працездатність тварин та їх витривалість оцінювали за допомогою ергометричних тестів. Кожна миша виконувала поступовозростаючий тест до виснаження в умовах нормоксії, щоб визначити індивідуальну максимальну дистанцію бігу (MAD), як описано раніше [31, 41].

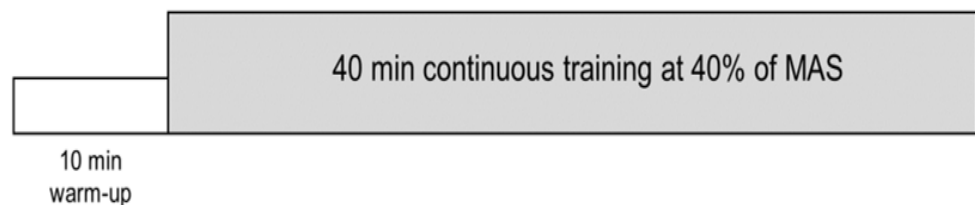
Максимальну дистанцію пробігу та максимальний час бігу оцінювали за допомогою поетапного тесту на примусовий біг на біговій доріжці з двигуном (Columbus Instruments, США) (14). Випробування розпочалося з бігу зі швидкістю 5 м/хв протягом 5 хв (розминка), а потім збільшилася швидкість (2 м/хв кожні 3 хв). Електрична сітка (0,2 мА, 3 Гц) була розміщена позаду бігової доріжки для забезпечення мотивації. Випробування припиняли, коли миші були виснажені, тобто коли вони залишалися в електричній мережі протягом 5 с. Випробування повторювали двічі для кожного моменту часу, а результати усереднювали. Мишам дозволяли звикнути до бігової доріжки протягом 1 тижня перед першим тестом (10-хвилинний біг зі швидкістю 5 м/хв). Потім для кожної тварини розраховували MAD (кілометри) і час (хвилини). Потім миші, віднесені до LIT (2 підгрупи), безперервно бігали протягом 40 хвилин із 40% їх максимальної аеробної швидкості (MAS). Миші SIT (2 підгрупи) виконали 4 серії спринтів  $5 \times 10$  с при 150% MAS, з 20 с пасивного відновлення між кожним спринтом. Між серіями навантажень відпочинок становив 5 хвилин пасивного відновлення. Обидва протоколи тренувань виконувалися 3 рази на тиждень протягом 4 тижнів на біговій доріжці миші (Panlab LE-8710, Bioseb, Франція). Мишей SIT піддавали періоду охолодження в кінці кожного тренування, щоб відповідати загальному робочому навантаженню груп LIT. Бігову доріжку помістили в



саморобну камеру з часткою вдихуваного O<sub>2</sub> (FiO<sub>2</sub>) 0,13 (гіпоксія) або 0,21 (нормоксія).

Максимальну дистанцію пробігу оцінювали за допомогою тесту на поступовий примусовий біг на біговій доріжці з моторним приводом (тест починався з бігу зі швидкістю 5 м/хв протягом 5 хв (розминка), з подальшим збільшенням швидкості (2 м/хв кожні 3 хв). Електрична сітка (0,2 мА, 3 Гц) була розміщена позаду бігової доріжки, щоб забезпечити мотивацію, коли миші були виснажені. тобто, коли вони залишалися на електричній сітці протягом 5 с, тест повторювався двічі для кожного моменту часу, а результати були усереднені до бігової доріжки за 1 тиждень до першого тесту. м/хв) (30).

**A**



**B**

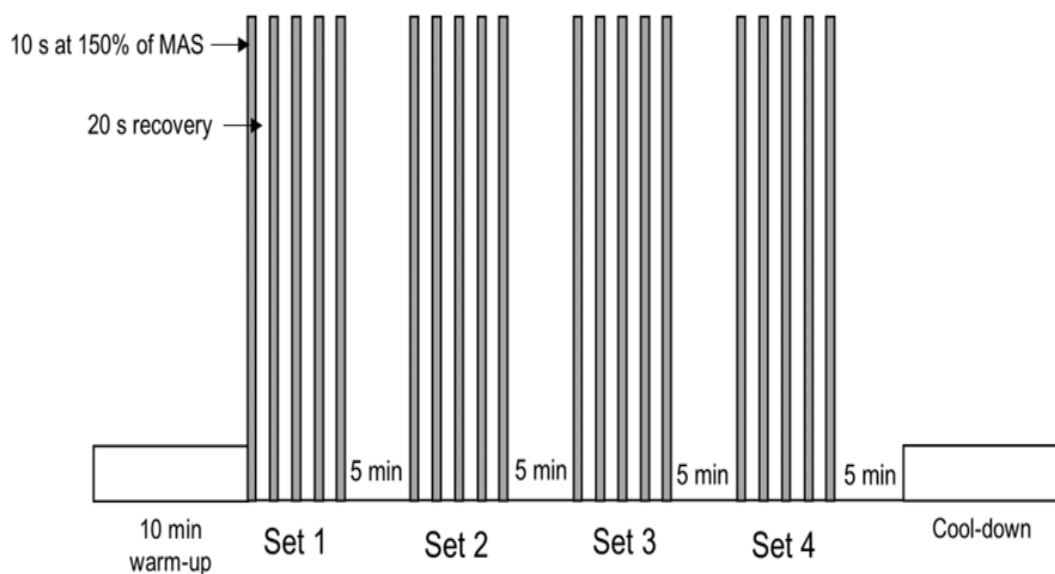


Рис. 2.1. Протокол тренувань, де А – низькоінтенсивні тривалі тренування (LIT), В – супраінтенсивні тренування (SIT)

**2.1.3. Молекулярно-генетичні методи.** Експресію генів визначали методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (qPCR) у литковому м'язі. Зразки литкового м'яза збирали відразу після евтаназії, швидко заморожували в рідкому азоті та зберігали при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Приблизно 30 мг м'язової тканини було розірвано та гомогенізовано в буфері для лізису за допомогою Tissue Lyser LT (Qiagen, Швейцарія). Тотальну РНК виділяли за допомогою загального RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (Qiagen, Швейцарія) і зворотно транскрибували в кДНК за допомогою PrimeScript™ RT Reagent Набір з gDNA ластом (TaKaRa Bio Inc., Японія) згідно з протоколами виробника.

Реакція елімінації геномної ДНК:

1. Приготуйте розчин реакції елімінації геномної ДНК на льоду.
2. Підготуйте основну суміш для компонентів, крім зразка РНК, у достатньому об'ємі для кількості реакцій плюс 2. Дозуйте відповідний об'єм основної суміші (загалом об'єм мінус загальний об'єм РНК) у мікропробірку, а потім додайте зразок РНК.

Об'єм реагенту на реакцію: 5X gDNA Eraser Buffer 2,0 мкл; gDNA Eraser 1,0 мкл; загальна РНК \* 1; Без РНКазиди dH<sub>2</sub>O. Всього 10,0 мкл ↓ 42 °C 2 хв (або кімнатна температура, 5 хв) \* 2. Зберігати при 4 °C \* 1 До 1 мкг загальної РНК для інтеркалятора (TB Green) qPCR аналізу та до 2 мкг загальної РНК для аналізу qPCR із зондом можна використовувати у 20 мкл зворотної транскрипції.

Якщо реакція має відбуватися при кімнатній температурі, залиште реакція тривати близько 30 хв.

## 2. Реакція зворотної транскрипції

Приготуйте розчин реакції зворотної транскрипції на льоду.

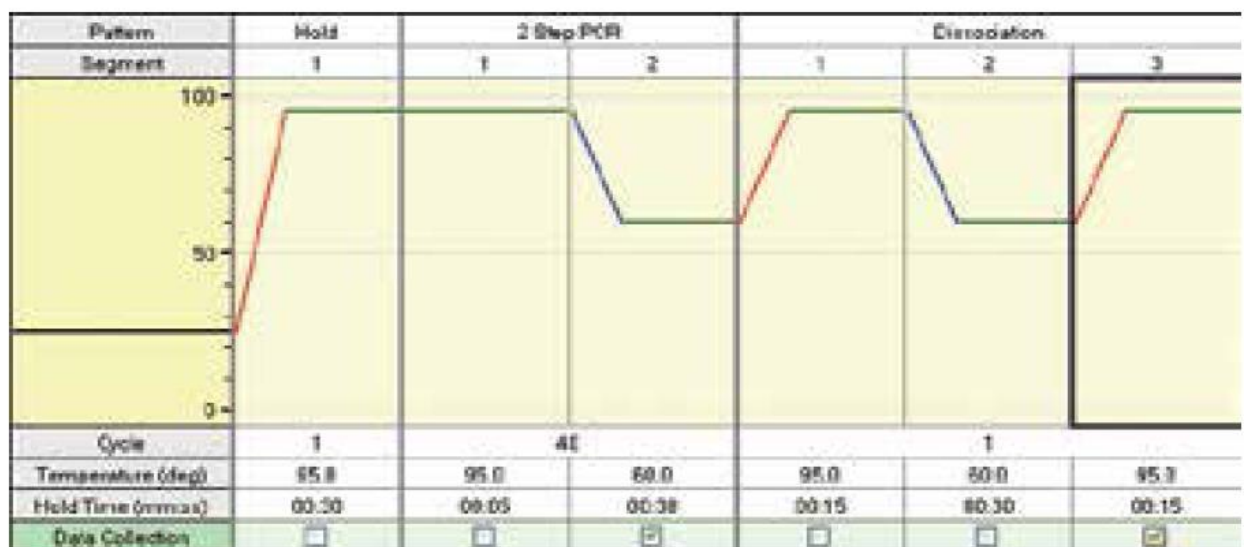
Готують майстер-мікс в достатньому обсязі для кількості реакцій плюс 2. В

майстер-мікс повинен містити всі компоненти, крім реакції елімінації геномної ДНК. Додайте 10 мкл основної суміші до реакційного розчину \* 3 зі стадії 1, а потім перемішайте обережно. негайно приступайте до реакції зворотної транскрипції.

Для аналізу інтеркалятора (TB Green) qPCR об'єм реагенту на 1 реакцію: реакційний розчин зі Стадії 1 10,0 мкл; 5X PrimeScript Buffer 2 (для реального часу) 4,0 мкл; PrimeScript RT Enzyme Mix I 1,0 мкл. Основна суміш:

RT Primer Mix \* 4 1,0 мкл 10 мкл; dH<sub>2</sub>O без RNКази 4,0 мкл; Всього 20,0 мкл  
 ↓ 37°C 15 хв ; 85°C 5 сек; зберігати при 4 °C \* 7

Протокол циклів ПЛР під час елімінації геномної ДНК та стандартної ПЛР представлено на рис. 2.2. та 2.3.



**Рис.2. 2. Протокол 1 циклу ПЛР для елімінації геномної ДНК**

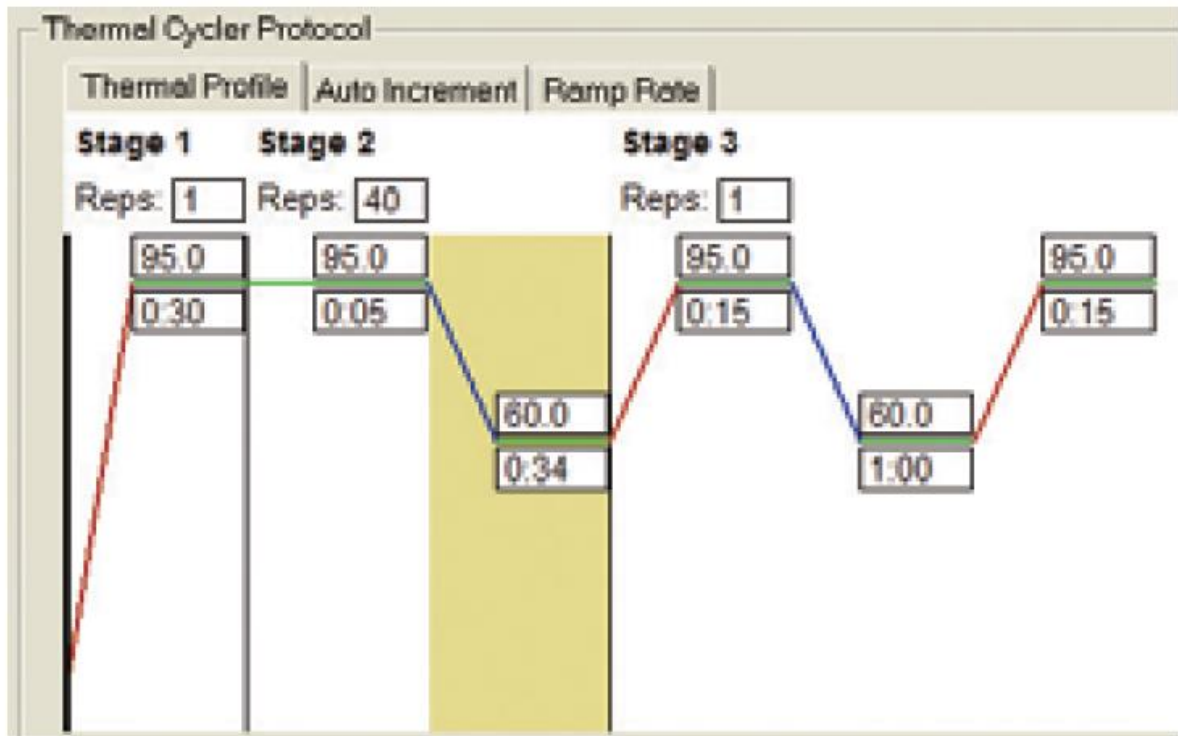
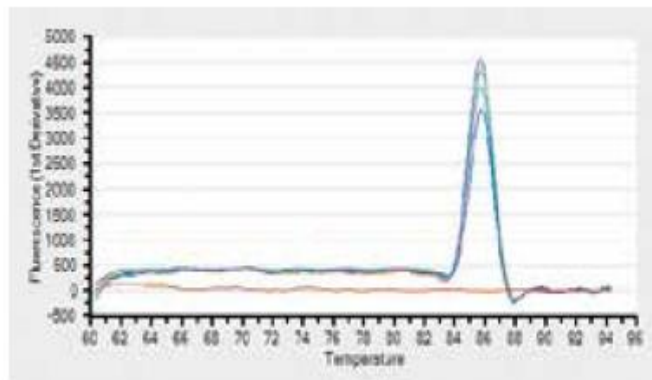
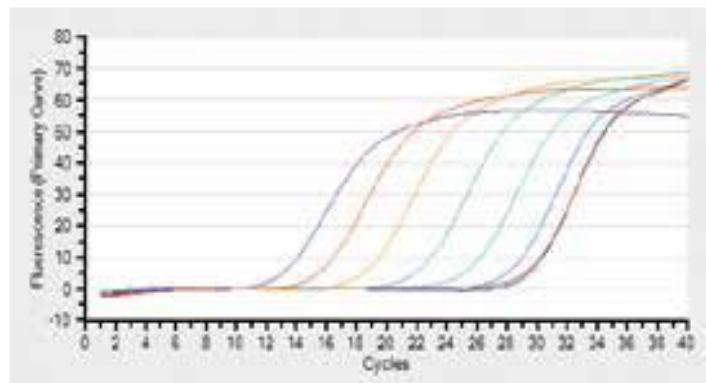


Рис.2.3. Протокол 1 циклу стандартної ПЛР.



А



В

Рис.2.4. Зразки отримання результатів, де:

**A -крива віджигу праймерів; B - ампліфікаційні криві.**

ПЛР у реальному часі починалася при 50°C протягом 1 хвилини, потім при 95°C протягом 1 хвилини, після чого було виконано 40 термічних циклів при 95°C протягом 1 секунди, 60°C протягом 1 хвилини та 95°C протягом 15 секунд, 60 ° протягом 1 хв, 95°C - 15с.

Кількісну ПЛР у реальному часі проводили в трьох примірниках для кожного зразка з використанням системи виявлення ПЛР у реальному часі ViiA7 (Applied Biosystems, Waltham, MA, США). Усі послідовності праймерів наведено в таблиці 2.1.

Для кожного зразка  $C_t$  кожного цільового гена нормалізували до гена господарювання 18S для визначення  $1C_T$ . Для відносної кількісної оцінки експресії генів використовувався метод нормалізованої експресії генів (2–DDCT).

**2.1.4. Методи математичної статистики.** Однофакторний ANOVA з тестом Брауна-Форсайта був виконаний для перевірки групових відмінностей у фізичній працездатності та для аналізу впливу рівня O<sub>2</sub> (нормоксія проти гіпоксії) та втручання (контрольна група (SED), тренування з низькою (LIT) і супрамаксимальною (SIT) інтенсивністю) на експресію генів. Статистичний аналіз проводили за допомогою GraphPad Prism 10 (версія 10.4.1) (GraphPad Software, Inc, Сан-Дієго, Каліфорнія, США). Усі дані представлені як середнє  $\pm$  стандартне відхилення (SD). Значення  $P < 0,05$  вважалося статистично значущим.

**Таблиця 2.1. Гени – мішені, експресія яких досліджувалась та праймери для їх визначення**

<b>N</b>	<b>Ген</b>	<b>Пряма послідовність (5`-3`)</b>	<b>Зворотня послідовність (5`-3`)</b>
1	18S	ACTTTTGGGGCCTTCGTGTC	GCCCAGAGACTCATTTCTTCTTG
2	PGC-1 $\alpha$	ACTATGAATCAAGCCACTACAGAC	TTCATCCCTCTTGAGCCTTTCG
3	PGC-1 $\beta$	GAGGAGTCCCTTCCTTCATC	TCCTCGAAGGTTAAGGCTGA
4	NRF1	GCACCTTTGGAGAATGTGGT	CTGAGCCTGGGTCATTTTGT
5	TFAM	CCAAAAAGACCTCGTTCAGC	CTTCAGCCATCTGCTCTTCC
6	CS	GGACAATTTTCCAACCAATCTGC	TCGGTTCATTCCCCTCTGCATA
7	UCP2	TTCCCTGTTGATGTGGTCAA	CAGTGACCTGCGCTGTGGTA
8	FNDC5	GAGCATCCGCACATCCTTCTTCTG	TGACCGTCCGGCACCTCAAG
9	mt-ND1	GCACCTACCSTATCACTCACA	GTTTGGGCTACGGCTCG
10	mt-ND6	TACCCGCAAACAAGATCACC	ATGTTGGAAGGAGGGATTGGG

11	mt-CYTC	CCAAATCTCCACGTTCTGTT	GTCTGCCCTTTCTCCCTTCT
12	mt-CYTB	ACGCAAACGGAGCCTCAATA	CCTCATGGAAGGACGTAGCC

**2.2. Організація дослідження.** У дослідження було залучено 6 груп мишей лінії C57BL/6J.

Походження лінії: лінія мишей C57BL/6 була розроблена С.С. Мало в 1921 році, після схрещування самки N.57 з самцем N.52 з комерційного центру розведення в Сполучених Штатах (міс Еббі Латроп). Його було введено в лабораторію Джексона в 1948 році, на F22, потім у лабораторії Charles River Laboratories у Франції в 1981 році та у Великобританії в 2004 році. Розведення відбувається відповідно до системи генетичного менеджменту лабораторії Джексона.

C57BL/6J є найбільш широко використовуваним інбредним штамом і першим, геном якого секвенували. Хоча цей штам є рефрактерним до багатьох пухлин, він є сприятливим фоном для максимальної експресії більшості мутацій. Миші C57BL/6J стійкі до аудіогенних судом, мають відносно низьку щільність кісток і розвивають вікову втрату слуху (цей штам є гомозиготним за *Cdh23ahl*). Вони також сприйнятливі до ожиріння, спричиненого дієтою, діабету 2 типу та атеросклерозу. Макрофаги цього штаму стійкі до дії летального токсину сибірської виразки.

Загалом 36 8-тижневих самців мишей дикого типу C57BL/6J були випадковим чином розділені на шість груп однакового розміру: контрольна малорухлива в нормоксії (SED в нормоксії), контрольна малорухлива в гіпоксії (SED в гіпоксії), низькоінтенсивна тренування в нормоксії (LIT в нормоксії), низькоінтенсивне тренування в гіпоксії (LIT в гіпоксії), супрамаксимальне інтенсивність при нормоксії (SIT при нормоксії), супрамаксимальна інтенсивність при гіпоксії (SIT при гіпоксії). Групи тренувались в 2-х видах умов: нормоксія ( $F_iO_2 = 0.21$ ) та гіпоксія ( $F_iO_2 = 0.13$ ). Тренування відбувались на мишачому тредмілі (Panlab LE-8710, Bioseb, Vitrolles, Франція) тричі на тиждень протягом 4 тижнів. Експозиція гіпоксії проводилась у індивідуальній гіпоксичній камері (SONIMIX 7100 2.0, LNI Swisssgas S.A., Швейцарія).





Рис. 2.2. Тредміл у гіпоксичній камері.

## РОЗДІЛ 3

### ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ, ЗАЛУЧЕНИХ У МЕТАБОЛІЗМ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ПІД ВПЛИВОМ ТРЕНУВАНЬ РІЗНОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ ТА ГІПОКСІЇ

#### 3.1. Зміни витривалості мишей під впливом поєднаного застосування фізичних тренувань різної інтенсивності та гіпоксії.

Результати оцінювання фізичної працездатності тварин, а саме загальної витривалості, що вимірюється за допомогою тесту з поступово зростаючою потужністю роботи, до та після інтервенції, представлені на рисунку 3.1.

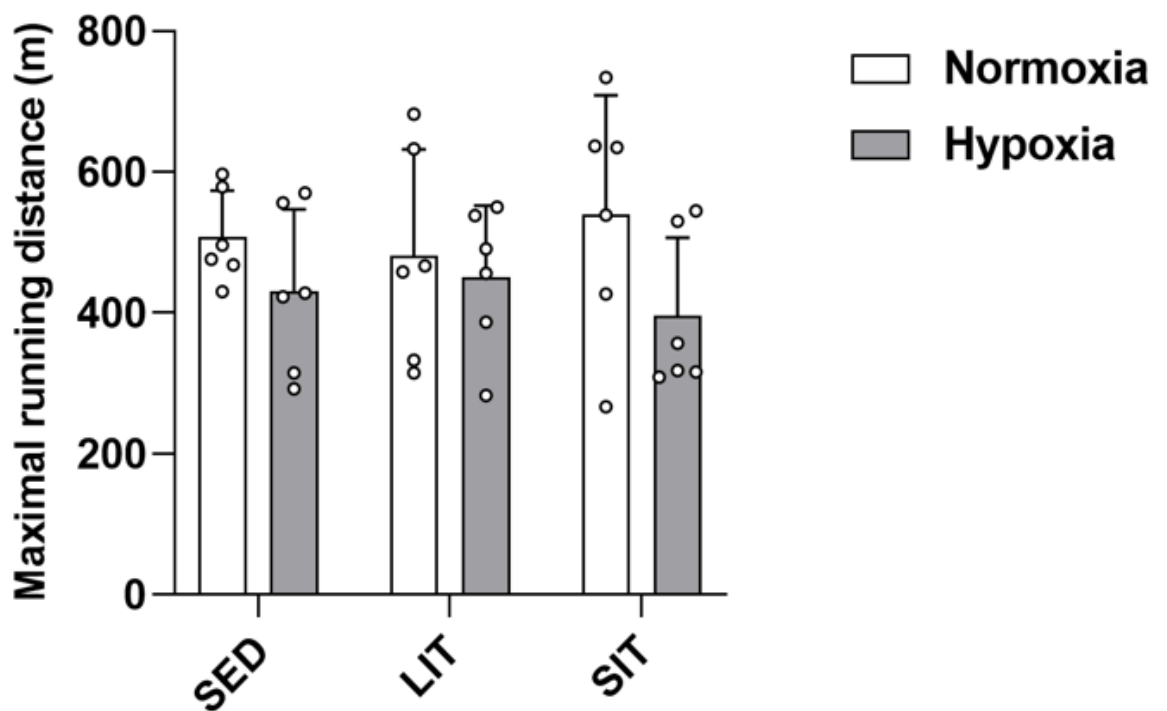
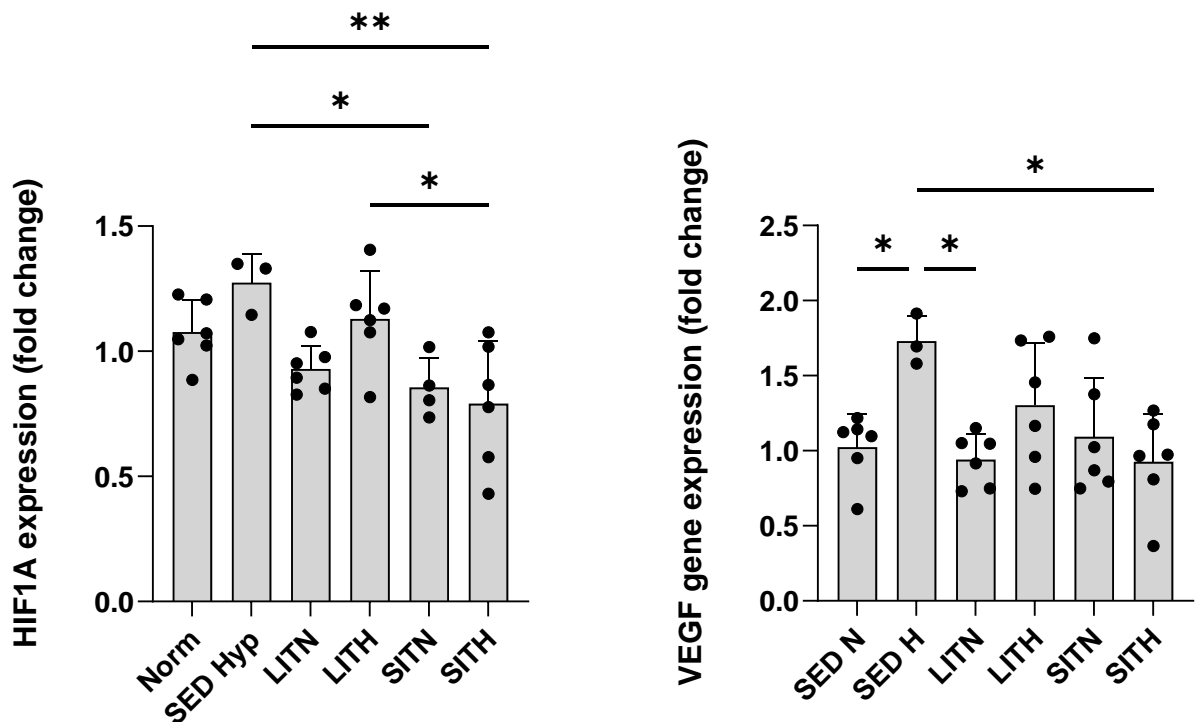


Рис.3.1. Час виконання тесту на витривалість мишей в умовах нормоксії та гіпоксії (SED, LIT and SIT)

В результаті аналізу приросту витривалості у мишей в усіх групах до та після тренувального процесу було встановлено, що застосування гіпоксії призводить до зниження фізичної працездатності при всіх трьох видах активності. Не спостерігалось жодних статистично вірогідних відмінностей у працездатності серед 6 груп. Було встановлено вірогідні відмінності у зменшенні маси тіла під впливом тренувань низької та супрамаксимальної інтенсивності у нормоксичних умовах, тоді як подібних відмінностей у гіпоксичних умовах встановлено не було. Очевидно, незначні відмінності у прирості працездатності пов'язані із невеликою тривалістю тренувань ( 4 тижні).

### 3.2. Рівень активності генів, залучених у метаболізм скелетних м'язів до та після поєднаної дії фізичних тренувань та гіпоксії.

В нашій роботі для переконання, що гіпоксична стимуляція вплинула на метаболізм скелетних м'язів досліджували експресію генів HIF1A та його мішені VEGF. Результати дослідження представлені на рис.3.2.

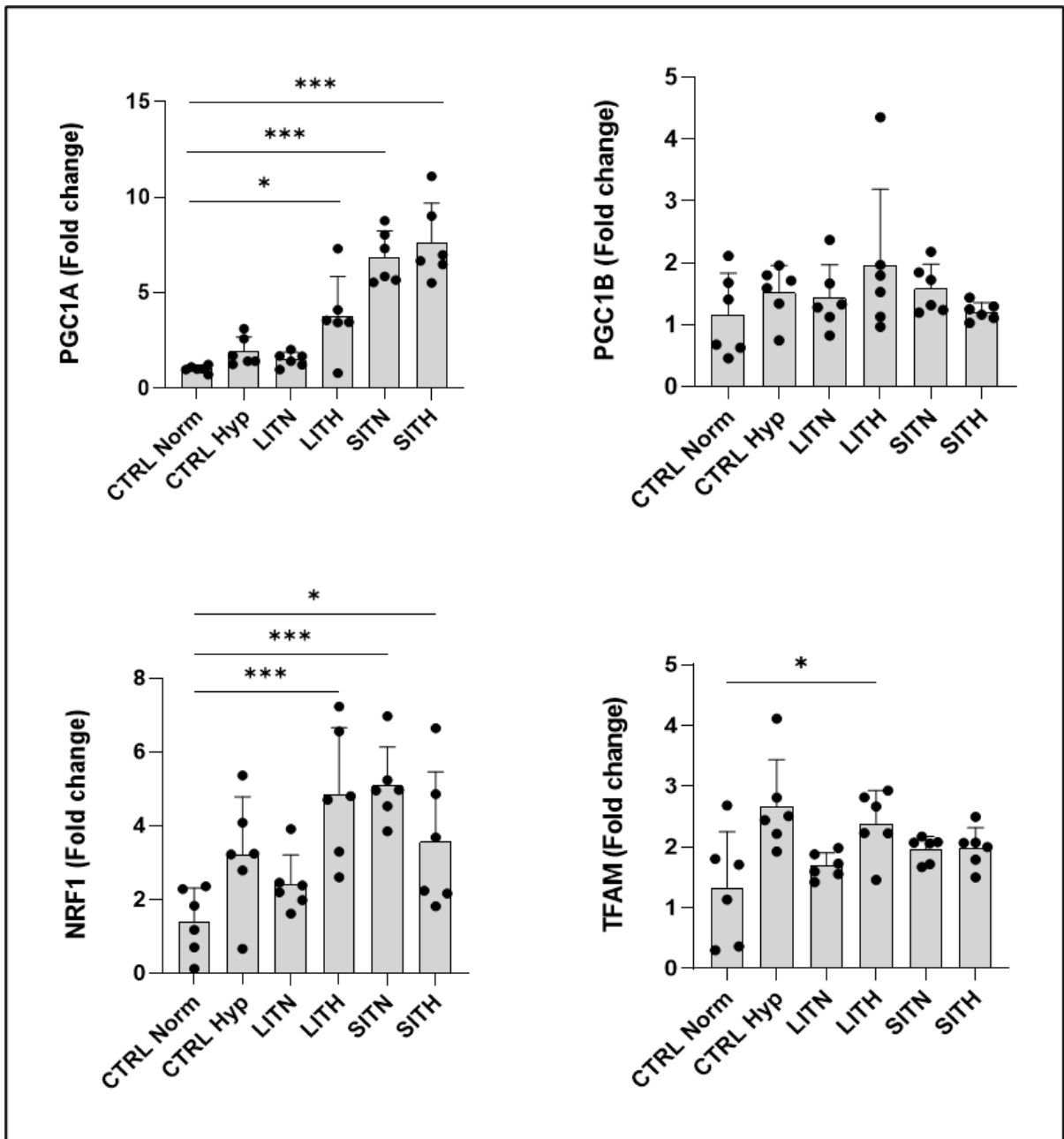


**Рис.3.2. Експресія гену гіпоксіяіндукованого фактору (HIF1A) та його мішені – гену фактору росту судин (VEGF), де:**

SEDN – контрольна група в умовах нормоксії, SEDH – контрольна група в умовах гіпоксії, LITN – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням в умовах нормоксії, LITH – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням в умовах гіпоксії, SITN – група з супраінтенсивним інтервальним тренуванням в умовах нормоксії, SITH – група з супраінтенсивним інтервальним тренуванням в умовах гіпоксії, \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0,05$ .

Аналіз результатів експресії гену гіпоксіяіндукованого фактору (HIF1A) та його мішені – гену фактору росту судин (VEGF), які є маркерами впливу гіпоксії на клітини, вказує, що у групі, яка зазнала дії гіпоксії на тлі малорухомого способу життя, відбулися найбільші зміни експресії генів, тобто поодинокі дії гіпоксії викликала найбільш сильний метаболічний вплив на організм тварин. Зокрема, експресія генів HIF1A та VEGF після поодинокого впливу гіпоксії в контрольній групі зросла більше ніж на 0,5 ( $p < 0,05$ ). Поєднання аеробних тренувань та гіпоксії також викликало підвищення експресії цих генів. В той же час, поєднана дія анаеробних тренувань та гіпоксії викликає пригнічення активності цих генів. Зокрема, експресія гену HIF1A в групі (SITH) вірогідно нижча, ніж в контрольній групі та групі аеробних тренувань, які зазнали дії гіпоксії. Експресія гену VEGF в малорухливій групі під дією гіпоксії вірогідно переважає показники у малорухливій групі (SED) та (LIT) без гіпоксії, та в групі аеробного тренування (SIT) з гіпоксією ( $p < 0,05$ ).

Для дослідження впливу гіпоксії та фізичних навантажень різної інтенсивності на енергетичний метаболізм скелетних м'язів досліджували активність генів, залучених у мітохондріальний біогенез. Результати оцінювання експресії генів PGC1A, PGC1B, NRF1, TFAM представлені на рис. 3.3.

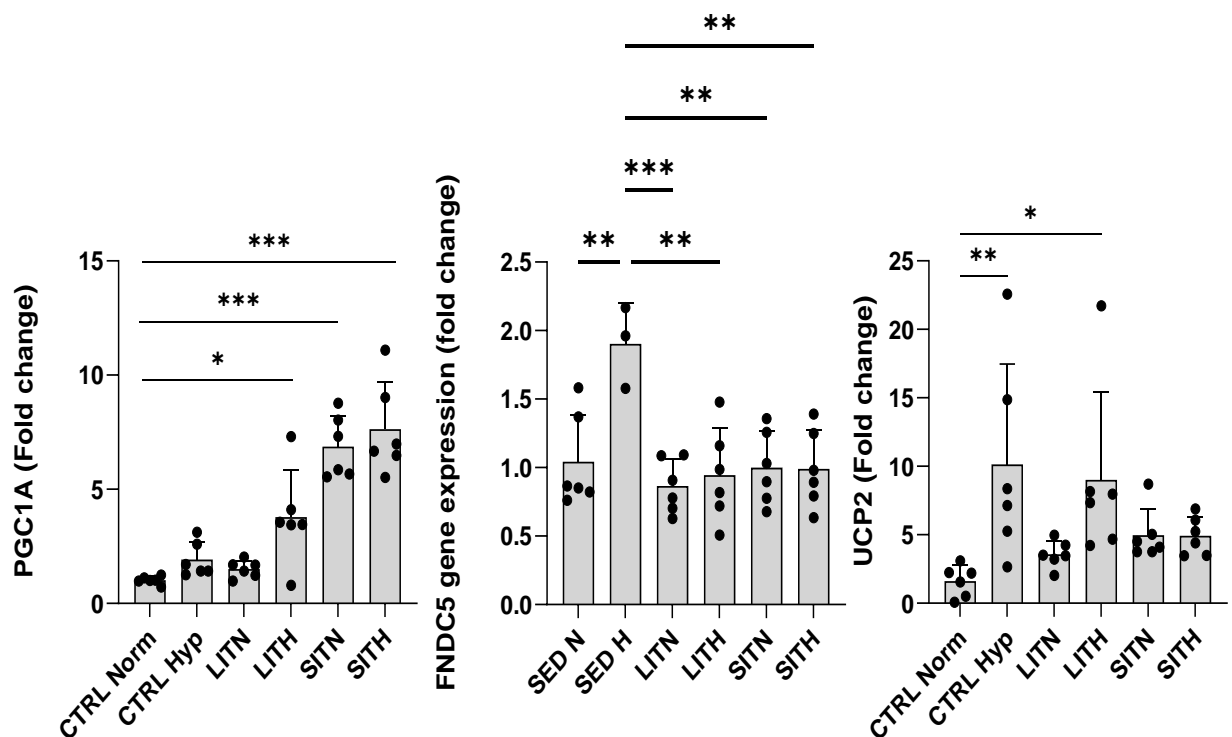


**Рис.3.3. Рівень активності генів, залучених у мітохондріальний біогенез, де:**

SEDN – контрольна група в умовах нормоксії, SEDH – контрольна група в умовах гіпоксії, LITN – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням в умовах нормоксії, LITH – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням в умовах гіпоксії, SITN – група з супраінтенсивним інтервальним тренуванням в умовах нормоксії, SITH – група з супраінтенсивним інтервальним тренуванням в умовах гіпоксії, \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0,05$ .

Аналіз активності генів, залучених у мітохондріальний біогенез свідчить, що ген PGC1A у найбільшій мірі активувався під поєднаним впливом анаеробного тренування в умовах гіпоксії (SITH) ( $p < 0.001$ ). В той же час, ген NRF1 активізувався при дії анаеробного тренування в умовах гіпоксії (SITH), а TFAM в умовах поодинокі дії гіпоксії ( $p < 0,05$ ).

Особлива увага в роботі була присвячена взаємозв'язку трьох генів, залучених у мітохондріальний біогенез, а саме: PGC1A, FNDC5, UCP2 (рис.3.4).

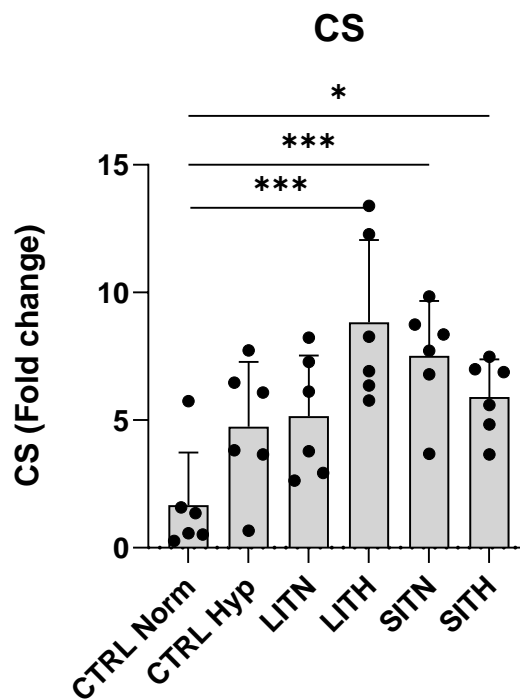


**Рис. 3.4. Порівняльний аналіз експресії трьох метаболічно пов'язаних генів, де:**

SEDN – контрольна група в умовах нормоксії, SEDH – контрольна група в умовах гіпоксії, LITN – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням в умовах нормоксії, LITH – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням в умовах гіпоксії, SITN – група з супраінтенсивним інтервальним тренуванням в умовах нормоксії, SITH – група з супраінтенсивним інтервальним тренуванням в умовах гіпоксії, \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0,05$ .

В нашому експерименті встановлене вірогідне підвищення експресії гена FNDC5 під впливом поодинокі дії гіпоксії. Зокрема, рівень активності цього гену після застосування гіпоксії виріс у 2 рази ( $p < 0,05$ ). Аналогічні зміни відбулись з активністю гена UCP. Його експресія також вірогідно зросла у контрольній групі під впливом гіпоксії ( $p < 0,01$ ), хоча активність цих двох генів не корелює із активністю гена PGC1A.

В роботі ми досліджували також активність гену цитрат синтази (яка є першим із серії з восьми ферментів, залучених у цикл лимонної кислоти). Результати представлені у рис.3.5.

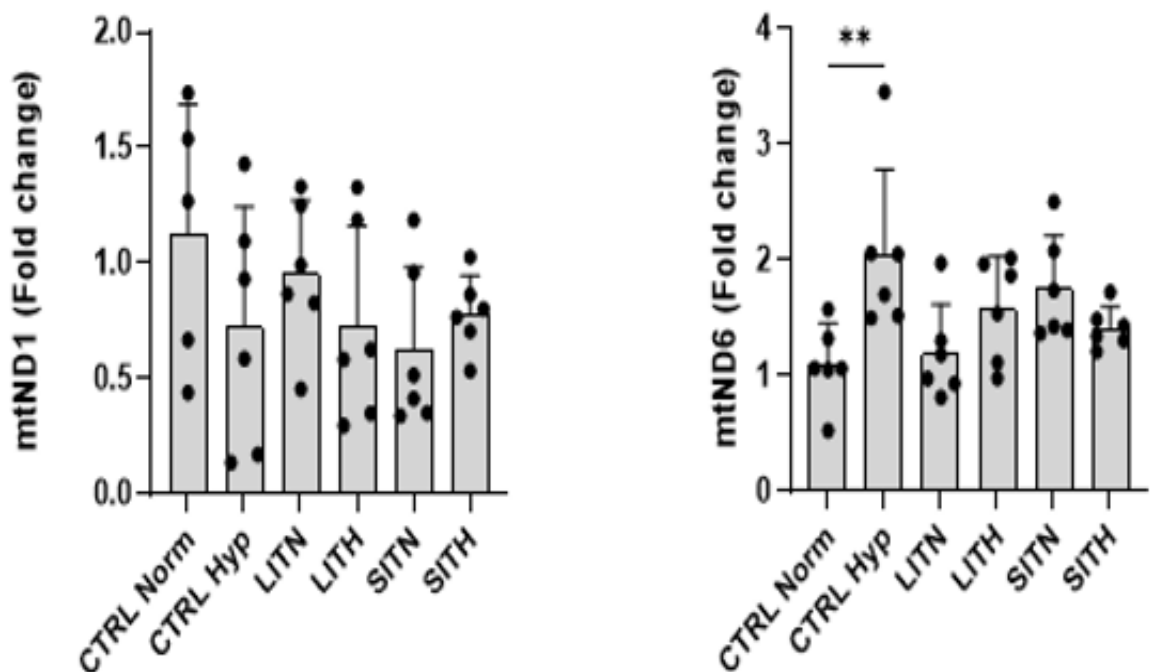


**Рис.3.5. Рівень активності гену цитратсинтази (CS), де:**

SEDN – контрольна група в умовах нормоксії, SEDH – контрольна група в умовах гіпоксії, LITN – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням в умовах нормоксії, LITH – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням в умовах гіпоксії, SITN – група з супраінтенсивним інтервальним тренуванням в умовах нормоксії, SITH – група з супраінтенсивним інтервальним тренуванням в умовах гіпоксії, \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ .

Найбільший рівень активності цього гена спостерігається в групі низькоінтенсивного тривалого тренування в умовах гіпоксії ( $p < 0.001$ ), що свідчить про його участь у аеробних процесах енергозабезпечення. Хоча вірогідне зростання активності гена спостерігалось при супраінтенсивних тренуваннях як в умовах гіпоксії ( $p < 0.05$ ), так і нормоксії ( $p < 0.001$ ).

Активність цитрат синтази повинна впливати на активність генів мітохондріальних NADH дегідрогеназ 1 та 6, але ця залежність у нашому експерименті встановлена не була, що продемонстровано на рис.3.6. Доведено, що експресія гену mt ND6 вірогідно збільшувалась в контрольній групі в умовах гіпоксії ( $p < 0.01$ ). В інших групах вірогідних відмінностей від контролю помічено не було.



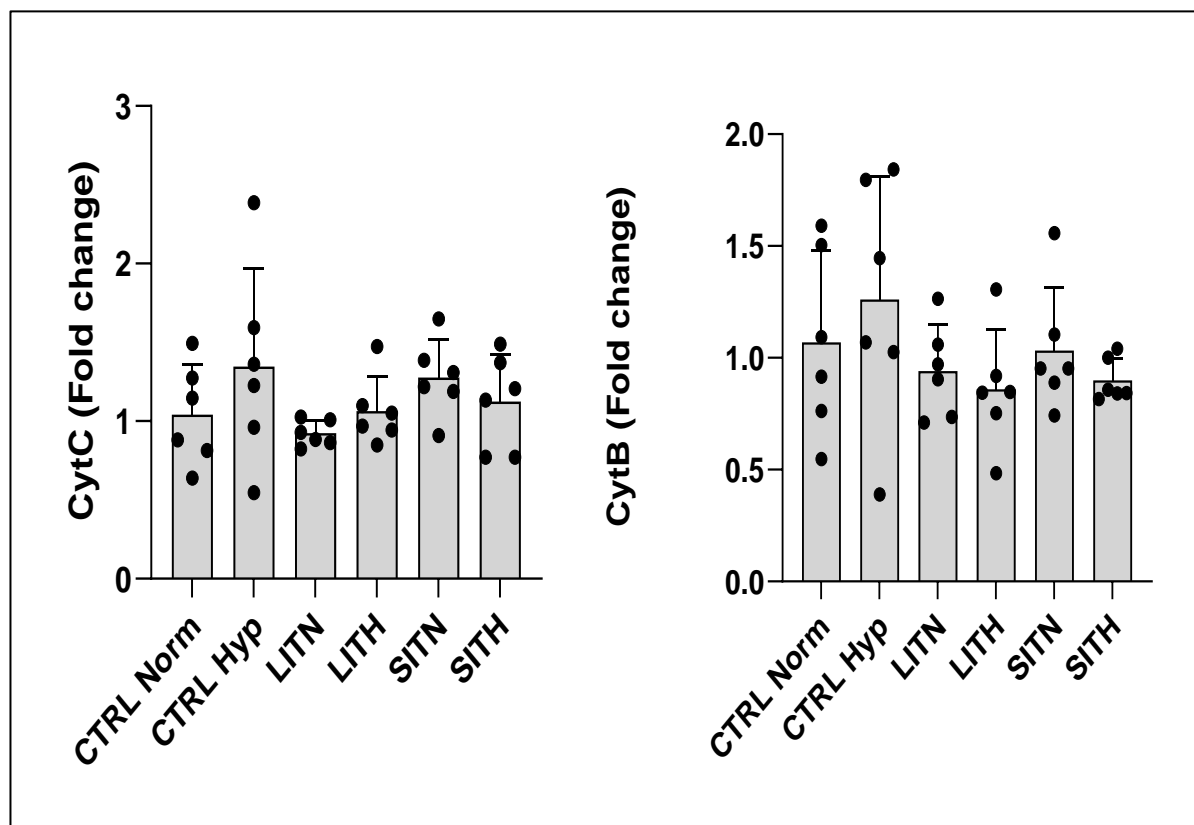
**Рис.3.6. Рівень активності генів mt ND1 та mt ND6 (мітохондріальних NADH дегідрогеназ 1 та 6) де:**

SEDN – контрольна група в умовах нормоксії, SEDH – контрольна група в умовах гіпоксії, LITN – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням в умовах нормоксії, LITH – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням



в умовах гіпоксії, SITN – група з супраінтенсивним інтервальним тренуванням в умовах нормоксії, SITH – група з супраінтенсивним інтервальним тренуванням в умовах гіпоксії, \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ .

Контроль мітохондріальної якості визначали за експресією генів цитохромів. Результати вимірювання рівня експресії генів цитохрома С та В представлені на рис. 3.7. Вірогідних відмінностей зміни експресії цих генів у різних умовах фізичних навантажень та гіпоксії встановлено не було.



**Рис.3.7. Рівень активності генів цитохрому С (CytC) та цитохрому В (CytB) де:**

SEDN – контрольна група в умовах нормоксії, SEDH – контрольна група в умовах гіпоксії, LITN – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням в умовах нормоксії, LITH – група з низькоінтенсивним тривалим тренуванням в умовах гіпоксії, SITN – група з супраінтенсивним інтервальним

тренуванням в умовах нормоксії, SITH – група з супраінтенсивним інтервальним тренуванням в умовах гіпоксії, \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0,05$ .

## РОЗДІЛ 4

### РОЛЬ АКТИВАЦІЇ ГЕНІВ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ У АДАПТАЦІЇ ДО ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ

Сучасні дослідження доводять, що регулярні фізичні вправи покращують не тільки здоров'япов'язані метаболічні показники, але й енергетичний метаболізм у мозку, забезпечуючи антидепресантні антиоксидантні, нейропротективні функції. У цьому сценарії важливу роль відіграє альфа-коактиватор -гамма рецептора, що активується проліферацією перексисом (PGC-1 $\alpha$ ) та мітохондріальний білок-роз'єднувач (UCP). Сприятливий вплив фізичних вправ залежить від взаємодії м'язової та нервової тканини шляхом збільшення виділення м'язами під час вправ іризину [60].

Основні узагальнені фізіологічні ефекти м'язової роботи, опосередкованої PGC1A представлені на рис.4.1.

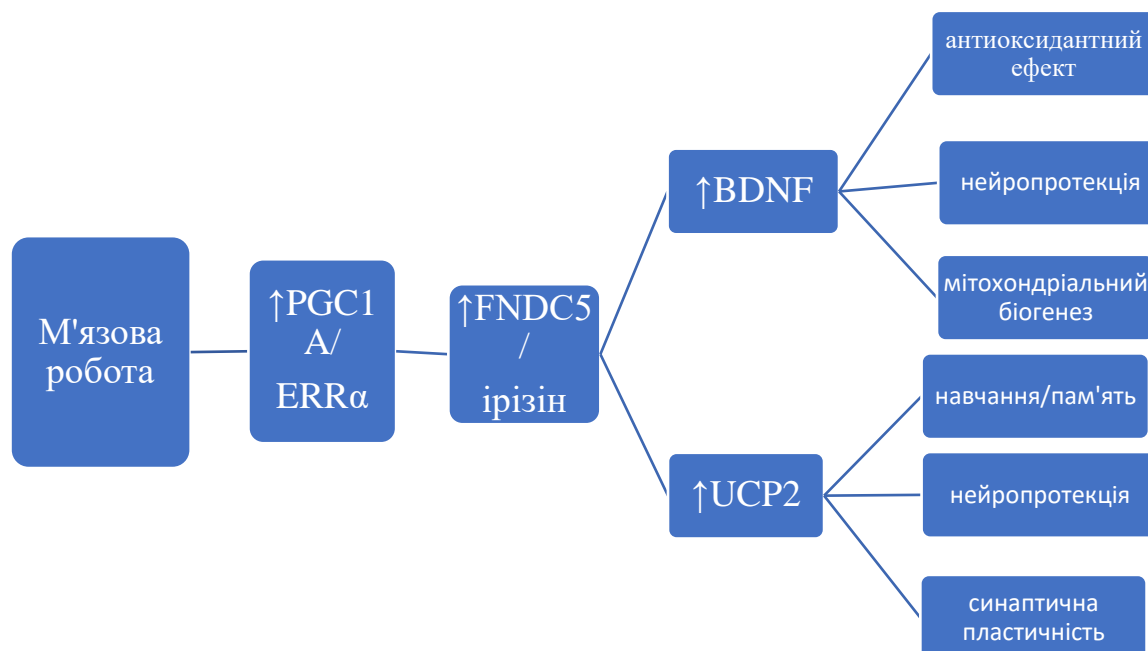


Рис.4.1. Зв'язок між індукованим фізичними вправами білку іризину зі

**структурними та функціональними модифікаціями у мозку та м'язах**, де BDNF – мозковий нейротрофічний фактор; UCP2 – мітохондріальний білок-роз'єднувач; PGC1A - альфа-коактиватор -гамма рецептора, що активується проліферацією перексисом; FNDC5- ген, на якому утворюється іризин; ERRa – естрогензв'язаний альфа-рецептор

Відомо, що до цієї схеми також долучаються ще 3 транскрипційні фактори, такі як ядерний фактор (NRF1) та мітохондріальний транскрипційний фактор А (TFAM). UCP2 пов'язаний ядерний фактор NRF1 та мітохондріальний транскрипційний фактор TFAM, залучений у мітохондріальний біогенез, асоційовані із синаптичною пластичністю і зменшенням нейрональної вразливості до клітинного стресу [50].

Вправи покращують шлях PGC-1a/BDNF (м'язи/мозок) через передачу сигналів циркулюючого іризину, який зміцнює синапси та демонструє нейропротекторну та антидепресивну дію. Ці нейропротекторні ефекти вправ посилюються антиоксидантними ефектами UCP2, які виражаються на підвищених рівнях у нейронах у відповідь на вправи. Дані свідчать про роль іризину/UCP2 у механізмі, що лежить в основі переваг фізичних вправ для ЦНС. Отже, іризин/UCP2 може бути потенційною терапевтичною мішенню для покращення функції мозку та запобігання або лікування неврологічних та нейродегенеративних захворювань.

В нашій роботі показано зростання експресії гені іризину в групі тварин, що зазнавали поодинокого впливу гіпоксії, в той же час, не встановлено змін активності гену FNDC5 під впливом фізичних навантажень різної інтенсивності.

З іншого боку, застосування гострої гіпоксії (у високогір'ї) призводить до атрофії скелетних м'язів. Будучи гормоном, що виділяється скелетними м'язами після фізичних вправ, іризин сприяє регенерації м'язів і полегшенню атрофії скелетних м'язів, але його роль у спричиненій гіпоксією атрофії скелетних м'язів досі не з'ясована. Встановлено що 4 тижні впливу гіпоксії значно зменшують масу тіла та масу литкового м'яза мишей, а також силу

захоплення та тривалість вправ на біговій доріжці. Лікування гіпоксією збільшило експресію HIF-1 $\alpha$  і знизило як рівень циркуляції іризину, так і експресію його білка-попередника FNDC5 у скелетних м'язах. In vitro, індукована CoCl<sub>2</sub> хімічна гіпоксія та гіпоксія навколишнього середовища 1% O<sub>2</sub> зменшують FNDC5 разом зі збільшенням HIF-1 $\alpha$ . Таким чином, FNDC5/іризин негативно регулюється HIF-1 $\alpha$  і може брати участь у регуляції атрофії м'язів, викликаній гіпоксією [34].

В той же час в іншому дослідженні, навпаки реєстрували підвищення рівня іризину у кардіоміоцитах у відповідь на гострі гіпоксичні стимули (1% O<sub>2</sub>, 24 години) [24].

Ми вважаємо, що факт незначної активації гену іризину під впливом фізичних навантажень є наслідком особливостей проведення експерименту та незначної тривалості фізичних навантажень.

Мітохондріальний біогенез є важливою складовою адаптаційної реакції на тренування. Більшість досліджень стосується тренувань низької інтенсивності, які продемонстрували посилену експресію цільових генів PPAR CD36 та коактиватора PPAR-1 (PGC-1) [54].

Кілька досліджень стверджують, що НІТ активує сигнальні шляхи, пов'язані з мітохондріальним біогенезом, пов'язані з PGC1A. PGC-1 $\alpha$  є ключовим регулятором мітохондріального біогенезу та здатний активувати мітохондріальний фактор транскрипції A (TFAM) і ядерні респіраторні фактори (NRF) [45]. Інтервальне тренування високої інтенсивності є потужним тренувальним стимулом, що збільшує вміст мітохондрій, що було подібним до суб'єктів, які виконували 40–60 хвилин безперервного тренування середньої інтенсивності за сеанс [20, 9]. Результати попереднього дослідження показали, що деякі протоколи викликали збільшення сигнальних каскадів, пов'язаних з мітохондріальним біогенезом, включаючи фосфорилування білка ACC і p38MAPK і експресію мРНК PGC-1 $\alpha$  [13, 55].

У наших дослідженнях ми не встановили взаємодію між факторами тренування та гіпоксії та їх вплив на експресію таких факторів транскрипції,

як PGC1A та PGC1B. Беручи до уваги, що рівні мРНК PGC-1 $\alpha$  значно зросли після 6 тижнів НІТ у м'язах людини, але будь-яка зміна рівнів мРНК PGC-1 у скелетних м'язах людини була виявлена після 9 днів тренувань на витривалість [57]. можна вважати, що вирішальним фактором активації генів при такому типі навчання є його тривалість.

Наші результати вказують на значну активацію гена NRF1 після SIT. Добре відомо, що NRF1 є основним координатором шляху мітохондріального біогенезу, і, як повідомляється, він пов'язаний з фізіологічними функціями скелетних м'язів. NRF-1 зв'язує та посилює експресію ядерних генів, що кодують мітохондріальні білки, а також експресію мітохондріального фактора транскрипції А (TFAM), який згодом транспортується в мітохондрії [53].

Існують певні протиріччя в розумінні функціонування цього транскрипційного фактора. Деякі вчені вважають, що мішені NRF1 коактивуються PGC-1 $\alpha$  [50], інші вважають, що він може бути активований незалежно від PGC-1A, а для транскрипції PGC-1 $\alpha$  NRF1 не бере участі [52]. Наші дані збігаються зі спостереженням, що у відповідь на фізичне навантаження NRF1-залежний мітохондріальний біогенез відбувається перед підвищенням рівня PGC-1 $\alpha$  у м'язах щурів [56]

Дані нашого дослідження свідчать про те, що обидва типи фізичних навантажень спричиняли достовірне підвищення експресії гена CS порівняно з контрольною групою. Активність CS є надійним біомаркером вмісту мітохондрій [52] і корелює з аеробною здатністю, вказуючи на потенційний довгостроковий ефект тренувань [52]. Незважаючи на той факт, що попереднє дослідження показало, що 4-тижневе тренування мишей низької інтенсивності, які бігали на тредмілі, було недостатнім для індукції ремоделювання мітохондріальних або пероксисомних окисних шляхів, ми отримали статистично значущий вплив цього типу тренувань на експресію CS. Раніше було доведено, що активність CS значно підвищилася після 6 тижнів НІТ, незважаючи на те, що кілька досліджень показують, що

активність цитратсинтази в м'язах не підвищувалася при різних протоколах фізичних вправ [53].

Також виявлено сприятливий вплив гіпоксії на експресію генів CS і TFAM. TFAM є одним із ключових регуляторів реплікації мітохондріальної ДНК і транскрипції генів, який посилює енергетичний метаболізм скелетних м'язів завдяки збільшенню б-окислювальної здатності мітохондрій у скелетних м'язах [52]. Періодичний вплив нормобаричної гіпоксії посилював експресію Tfam, особливо в поєднанні з аеробними вправами [53].

Загальновідомо, що спринтерське інтервальне тренування збільшує вміст мітохондрій так само, як і МІСТ, але метаболічні сигнали для мітохондріального біогенезу значною мірою залежать від інтенсивності вправ [51, 53]. Встановлено відсутність достовірного впливу гіпоксії та двох типів фізичних навантажень на експресію генів, що беруть участь у комплексі дихального ланцюга мітохондрій. Це можна пояснити короткою тривалістю їх дії та недостатнім часом для вивільнення факторів, що опосередковують індуквані фізичним навантаженням мітохондріальні адаптації. Це може бути пов'язано з відсутністю спричинених навчанням змін у експресії генів транскрипційних факторів мітохондріального біогенезу, таких як PGC1A та PGC1B. Це відповідає деяким попереднім дослідженням. Жодних суттєвих змін мРНК ND1, ND6 у м'язах не було збільшено при різних протоколах фізичних вправ. Експресія мРНК генів ND6, ND1 CYTC, CYTB у м'язах задніх кінцівок ApoE<sup>-/-</sup> мишей не підвищувалася під час 4-тижневого тренування на витривалість [53].

## ВИСНОВКИ

1. До молекулярно-генетичних механізмів адаптації до фізичних навантажень та гіпоксичних стимулів залучені гени HIF1A, VEGF, CS, PGC1A, NRF1, TFAM, FNDC5, UCP2, CYTc, CYTb, mtND1, mtND6. Синергізм активації метаболічних шляхів пов'язаний із модуляціями стимулів: тривалістю, інтенсивністю дії фізичних навантажень та ступенем гіпоксії.
2. 4 тижневі тренування низької та супрамаксимальної інтенсивності в умовах нормоксії та гіпоксії не призводять до вірогідного підвищення аеробної працездатності.
3. Тренування низької інтенсивності в умовах гіпоксії призводять до активації генів, залучених у мітохондріальний біогенез.
4. Застосування гіпоксії викликає підвищення експресії генів, залучених у мітохондріальний біогенез у мишей контрольної групи.
5. 4 тижні вправ низької та високої інтенсивності в умовах гіпоксії викликають гетерогенний ефект. Незважаючи на попередні повідомлення про те, що гіпоксія викликає сильний фізіологічний стимул і підвищує фізичну працездатність, через неоднорідність реакції LIT і SIT при гіпоксії, що спостерігалася в цьому дослідженні, ми показали, що інтенсивність фізичних вправ сама по собі є першорядною та викликає різні адаптації до гіпоксичних вправ.



### Список використаних джерел

1. Панченко Ю. М., Дроздовська С.Б. Участь іризину у механізмах зниження маси тіла при ожирінні «Вісник проблем біології і медицини», 2023 Випуск 3, 170, 71-80 сторінки, код УДК 796.012.12.071:616.127+616-007.61
2. Панченко Ю. М., Дроздовська С. Б. Вплив поліморфізмів гена FNDC5 на схильність до розвитку ожиріння в жінок II періоду зрілого віку Медична та клінічна хімія. 2023. Т. 25. No 3. С. 36-42.
3. Платонов В. М. Сучасна система спортивного тренування: підручник / В. М. Платонов. – К.: Перша друкарня, 2021. – 672 с.
4. Balan E, Schwalm C, Naslain D, Nielens H, Francaux M, Deldicque L. Regular Endurance Exercise Promotes Fission, Mitophagy, and Oxidative Phosphorylation in Human Skeletal Muscle Independently of Age. *Frontiers in physiology*. 2019;10:1088.
5. Beall, C. M. (2007). Two routes to functional adaptation: Tibetan and Andean high-altitude natives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(S1), 8655-8660.
6. Brocherie F, Millet GP, D'Hulst G, Van Thienen R, Deldicque L, Girard O. Repeated maximal-intensity hypoxic exercise superimposed to hypoxic residence boosts skeletal muscle transcriptional responses in elite team-sport athletes. *Acta Physiol (Oxf)*. 2018;222(1).
7. Brocherie F, Girard O, Faiss R, Millet GP. Effects of Repeated-Sprint Training in Hypoxia on Sea-Level Performance: A Meta-Analysis. *Sports Med*. 2017;47(8):1651-60.
8. Buchheit M, Laursen PB. High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle : part I: cardiopulmonary emphasis. *Sports Medicine*. 2013;43(5):313-38.
9. Burgomaster KA, Howarth KR, Phillips SM, Rakobowchuk M, Macdonald MJ, McGee SL, et al. Similar metabolic adaptations during

- exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *J Physiol*. 2008;586(1):151-60.
10. Burtscher J, Niedermeier M, Hufner K, van den Burg E, Kopp M, Stoop R, et al. The interplay of hypoxic and mental stress: Implications for anxiety and depressive disorders. *Neurosci Biobehav Rev*. 2022;138:104718.
  11. Butcher LR, Thomas A, Backx K, Roberts A, Webb R, Morris K. Low-intensity exercise exerts beneficial effects on plasma lipids via PPARgamma. *Med Sci Sports Exerc*. 2008;40(7):1263-70.
  12. Chan MC, Arany Z. The many roles of PGC-1 $\alpha$  in muscle--recent developments. *Metabolism*. 2014;63(4):441-51.
  13. Cochran AJ, Percival ME, Tricarico S, Little JP, Cermak N, Gillen JB, et al. Intermittent and continuous high-intensity exercise training induce similar acute but different chronic muscle adaptations. *Exp Physiol*. 2014;99(5):782-91.
  14. Cochran AJ, Little JP, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. Carbohydrate feeding during recovery alters the skeletal muscle metabolic response to repeated sessions of high-intensity interval exercise in humans. *J Appl Physiol (1985)*. 2010;108(3):628-36.
  15. Delfan M, Vahed A, Bishop DJ, Amadeh Juybari R, Laher I, Saeidi A, et al. Effects of two workload-matched high intensity interval training protocols on regulatory factors associated with mitochondrial biogenesis in the soleus muscle of diabetic rats. *Frontiers in Physiology*. 2022;13.
  16. Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab*. 2013;17(2):162-84.
  17. Faiss R, Girard O, Millet GP. Advancing hypoxic training in team sports: from intermittent hypoxic training to repeated sprint training in hypoxia. *Br J Sports Med*. 2013;47 Suppl 1:i45-i50.

18. Faiss R, Leger B, Vesin JM, Fournier PE, Eggel Y, Deriaz O, et al. Significant molecular and systemic adaptations after repeated sprint training in hypoxia. *PloS one*. 2013;8(2):e56522.
19. Fuller SE, Huang TY, Simon J, Batdorf HM, Essajee NM, Scott MC, et al. Low-intensity exercise induces acute shifts in liver and skeletal muscle substrate metabolism but not chronic adaptations in tissue oxidative capacity. *J Appl Physiol (1985)*. 2019;127(1):143-56.
20. Gibala M. Molecular responses to high-intensity interval exercise. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2009;34(3):428-32.
21. Gibala MJ, Little JP, Macdonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *J Physiol*. 2012;590(5):1077-84.
22. Gibala MJ, MacInnis MJ. Physiological basis of brief, intense interval training to enhance maximal oxygen uptake: a mini-review. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2022;323(5):C1410-c6.
23. Gnimassou O, Fernández-Verdejo R, Brook M, Naslain D, Balan E, Sayda M, et al. Environmental hypoxia favors myoblast differentiation and fast phenotype but blunts activation of protein synthesis after resistance exercise in human skeletal muscle. *Faseb j*. 2018;32(10):5272-84.
24. Grzeszczuk M, Mrozowska M, Kmiecik A, Rusak A, Jabłońska K, Ciesielska U, Dzięgiel P, Nowińska K. The Effect of Hypoxia on Irisin Expression in HL-1 Cardiomyocytes. *In Vivo*. 2024 Sep-Oct;38(5):2126-2133. doi: 10.21873/invivo.13675. PMID: 39187335; PMCID: PMC11363745.
25. Hargreaves M, Spriet LL. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. *Nat Metab*. 2020;2(9):817-28.
26. Hochachka, P. W., Buck, L. T., Doll, C. J., & Land, S. C. (1999). Unifying theory of hypoxia tolerance: molecular/metabolic defense and rescue

- mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(7), 3666-3673.
27. Hock MB, Kralli A. Transcriptional control of mitochondrial biogenesis and function. *Annu Rev Physiol*. 2009;71:177-203.
  28. Jacobs RA, Lundby C. Mitochondria express enhanced quality as well as quantity in association with aerobic fitness across recreationally active individuals up to elite athletes. *J Appl Physiol* (1985). 2013;114(3):344-50.
  29. Koh JH, Johnson ML, Dasari S, LeBrasseur NK, Vuckovic I, Henderson GC, et al. TFAM Enhances Fat Oxidation and Attenuates High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance in Skeletal Muscle. *Diabetes*. 2019;68(8):1552-64
  30. Larsen S, Nielsen J, Hansen CN, Nielsen LB, Wibrand F, Stride N, et al. Biomarkers of mitochondrial content in skeletal muscle of healthy young human subjects. *J Physiol*. 2012;590(14):3349-60.
  31. Lavier J, Beaumann M, Menetrey S, Mazzolai L, Peyter AC, Pellegrin M, et al. Supramaximal Intensity Hypoxic Exercise and Vascular Function Assessment in Mice. *J Vis Exp*. 2019(145).
  32. Levine BD. Intermittent hypoxic training: fact and fancy. *High Alt Med Biol*. 2002;3(2):177-93.
  33. Li J, Li Y, Atakan MM, Kuang J, Hu Y, Bishop DJ, et al. The Molecular Adaptive Responses of Skeletal Muscle to High-Intensity Exercise/Training and Hypoxia. *Antioxidants*. 2020;9(8).
  34. Liu S, Fu P, Ning K, Wang R, Yang B, Chen J, Xu H. HIF-1 $\alpha$  Negatively Regulates Irisin Expression Which Involves in Muscle Atrophy Induced by Hypoxia. *Int J Mol Sci*. 2022 Jan 14;23(2):887. doi: 10.3390/ijms23020887. PMID: 35055073; PMCID: PMC8777935.
  35. Lundby C, Calbet JAL, Robach P. The response of human skeletal muscle tissue to hypoxia. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2009;66(22):3615-23.

36. MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *J Physiol*. 2017;595(9):2915-30.
37. Millet GP, Girard O, Beard A, Brocherie F. Repeated Sprint Training in Hypoxia – An innovative method. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*. 2019;70:115-22.
38. Miyamoto-Mikami E, Tsuji K, Horii N, Hasegawa N, Fujie S, Homma T, et al. Gene expression profile of muscle adaptation to high-intensity intermittent exercise training in young men. *Sci Rep*. 2018;8(1):16811.
39. Nava RC, McKenna Z, Fennel Z, Berkemeier Q, Ducharme J, de Castro Magalhães F, et al. Repeated sprint exercise in hypoxia stimulates HIF-1-dependent gene expression in skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol*. 2022;122(4):1097-107.
40. Pedersen BK. Physical activity and muscle–brain crosstalk. *Nature Reviews Endocrinology*. 2019;15(7):383-92.
41. Pellegrin M, Bouzourene K, Poitry-Yamate C, Mlynarik V, Feihl F, Aubert JF, et al. Experimental peripheral arterial disease: new insights into muscle glucose uptake, macrophage, and T-cell polarization during early and late stages. *Physiological reports*. 2014;2(2):e00234.
42. Picca A, Lezza AMS, Leeuwenburgh C, Pesce V, Calvani R, Landi F, et al. Fueling Inflamm-Aging through Mitochondrial Dysfunction: Mechanisms and Molecular Targets. *Int J Mol Sci*. 2017;18(5).
43. Roels B, Bentley DJ, Coste O, Mercier J, Millet GP, Godfrey R. Effects of Intermittent Hypoxic Training on Altitude and Sea Level Cycling Performance in Well-Trained Athletes: 908: 4: 30 PM-4: 45 PM. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38(5):S77.
44. Rizo-Roca D, Ríos-Kristjánsson JG, Núñez-Espinosa C, Santos-Alves E, Magalhães J, Ascensão A, et al. Modulation of mitochondrial biomarkers by intermittent hypobaric hypoxia and aerobic exercise after eccentric exercise in trained rats. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2017;42(7):683-93.

45. Scarpulla RC. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. *Physiol Rev.* 2008;88(2):611-38.
46. Semenza, G. L. (2012). Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell*, 148(3), 399-408.
47. Serebrovskaya TV. Intermittent hypoxia research in the former soviet union and the commonwealth of independent States: history and review of the concept and selected applications. *High Alt Med Biol.* 2002 Summer;3(2):205-21. doi: 10.1089/15270290260131939. PMID: 12162864.
48. Serebrovska ZO, Xi L, Tumanovska LV, Shysh AM, Goncharov SV, Khetsuriani M, et al. Response of Circulating Inflammatory Markers to Intermittent Hypoxia-Hyperoxia Training in Healthy Elderly People and Patients with Mild Cognitive Impairment. *Life (Basel)*. 2022;12(3).
49. Serebrovska ZO, Chong EY, Serebrovska TV, Tumanovska LV, Xi L. Hypoxia, HIF-1 $\alpha$ , and COVID-19: from pathogenic factors to potential therapeutic targets. *Acta Pharmacol Sin.* 2020;41(12):1539-46.
50. Simon-Areces, J., Dietrich, M. O., Hermes, G., Garcia-Segura, L. M., Arevalo, M. A., and Horvath, T. L. (2012). UCP2 induced by natural birth regulates neuronal differentiation of the hippocampus and related adult behavior. *PLoS One* 7:e42911. doi: 10.1371/journal.pone.0042911
51. Simonson, T. S., Yang, Y., Huff, C. D., et al. (2010). Genetic evidence for high-altitude adaptation in Tibet. *Science*, 329(5987), 72-75.
52. Swenson ER, Mallet RT, Xi L, Manukhina E, Downey F, Burtscher J, Ehrenreich H, Burtscher M. A Celebration of the Extraordinary Life of Late Professor Tatiana V. Serebrovskaya (Kyiv, Ukraine) in Advancing Hypoxia Science and Medicine. *High Alt Med Biol.* 2022 Sep;23(3):284-285. doi: 10.1089/ham.2022.0046. Epub 2022 Aug 2. Erratum in: *High Alt Med Biol.* 2023 Jun;24(2):155. doi: 10.1089/ham.2022.0046.correx. PMID: 35917558; PMCID: PMC10133969.

53. Treff G, Sareban M, Schmidt WFJ. Hypoxic training in natural and artificial altitude. *Dtsch Z Sportmed.* 2022; 73: 112-117. doi:10.5960/dzsm.2022.529
54. Thomas AW, Davies NA, Moir H, Watkeys L, Ruffino JS, Isa SA, et al. Exercise-associated generation of PPAR $\gamma$  ligands activates PPAR $\gamma$  signaling events and upregulates genes related to lipid metabolism. *J Appl Physiol* (1985). 2012;112(5):806-15.
55. Torma F, Gombos Z, Jokai M, Takeda M, Mimura T, Radak Z. High intensity interval training and molecular adaptive response of skeletal muscle. *Sports Medicine and Health Science.* 2019;1(1):24-32.
56. Tsui, J., & Vanhoutte, P. M. (2021). Angiogenesis in chronic hypoxia: mechanisms and therapeutic perspectives. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 78(3), 345-353.
57. Tunstall RJ, Mehan KA, Wadley GD, Collier GR, Bonen A, Hargreaves M, et al. Exercise training increases lipid metabolism gene expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;283(1):E66-72.
58. Vogt M, Billeter R, Hoppeler H. [Effect of hypoxia on muscular performance capacity: "living low--training high"]. *Ther Umsch.* 2003;60(7):419-24.
59. West JB. High-altitude medicine. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012 Dec 15;186(12):1229-37. doi: 10.1164/rccm.201207-1323CI. Epub 2012 Oct 26. PMID: 23103737.
60. Wrann CD, White JP, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, Lin JD, Greenberg ME, Spiegelman BM. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 $\alpha$ /FNDC5 pathway. *Cell Metab.* 2013 Nov 5;18(5):649-59. doi: 10.1016/j.cmet.2013.09.008. Epub 2013 Oct 10. PMID: 24120943; PMCID: PMC3980968.

61. Wright DC, Han DH, Garcia-Roves PM, Geiger PC, Jones TE, Holloszy JO. Exercise-induced mitochondrial biogenesis begins before the increase in muscle PGC-1alpha expression. *J Biol Chem.* 2007;282(1):194-9.
62. Żebrowska A, Jastrzębski D, Sadowska-Krępa E, Sikora M, Di Giulio C. Comparison of the Effectiveness of High-Intensity Interval Training in Hypoxia and Normoxia in Healthy Male Volunteers: A Pilot Study. *Biomed Res Int.* 2019;2019:7315714.