

Національний університет фізичного виховання і спорту України
Міністерство освіти і науки України
Національний університет фізичного виховання і спорту України
Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ПОЛІЩУК АННА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК: 796.012.12.071:616.127+616-007.61

ДИСЕРТАЦІЯ
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА У
СПОРТСМЕНІВ, ЯКІ СПЕЦІАЛІЗУЮТЬСЯ У ВИДАХ СПОРТУ З
ПРОЯВОМ ВИТРИВАЛОСТІ

091 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ А. О. Поліщук

Наукові керівники:

Дроздовська Світлана Богданівна, доктор біологічних наук, професор;

Досенко Віктор Євгенович, доктор медичних наук, професор

Київ-2021

АНОТАЦІЯ

Поліщук А. О. Молекулярно-генетичні маркери гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з проявом витривалості. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія (галузь знань 09 Біологія). – Національний університет фізичного виховання і спорту України, Київ, 2021.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню ролі поліморфізмів генів та довгих некодуючих РНК у молекулярно-генетичних механізмах адаптації міокарда до тривалих інтенсивних фізичних навантажень, встановлення пошуку молекулярно-генетичних маркерів схильності до розвитку гіпертрофії міокарда.

Фізичні вправи мають широкий спектр ефектів, які позитивно впливають на організм (покращують стан серцево-судинної системи, впливають на показники метаболізму міокарда та ін). Помірні інтенсивні фізичні навантаження є фундаментальним чинником у розвитку адаптації серцево-судинної системи. У той же час, систематичні надмірні навантаження виступають як стресовий фактор та можуть провокувати розвиток патологічних станів серцево-судинної системи. Такий патогенетичний процес відбувається у ході трансформації фізіологічної гіпертрофії міокарда в патологічну гіпертрофію, у деяких випадках у гіпертрофічну кардіоміопатію.

Адаптація серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень дозволяє спортсмену виконувати фізичні навантаження різної тривалості та потужності, проте довготривала адаптація, пов'язана зі структурною зміною органів, зокрема збільшенням їх маси та порушенням роботи. Дослідження закономірностей та молекулярних механізмів адаптації до інтенсивних фізичних навантажень є базисом підвищення фізичної працездатності, підґрунтям попередження розвитку передпатологічних та

патологічних станів та становить актуальну проблему фізіології та спортивної медицини.

Ще з часів Клода Бернара та Рудольфа Вірхова відсутня узгодженість у поглядах фізіологів та патофізіологів щодо концепції розвитку гіпертрофії міокарда, йде дискусія щодо механізмів розвитку патології міокарда та продовжується в наш час. Зокрема, згідно з фізіологічної концепції, гіпертрофія міокарда, що виникає під впливом систематичних інтенсивних навантажень, є результатом пристосування і сприяє функціонуванню серцево-судинної системи в змінних умовах і розвивається за механізмами нормального фізіологічного процесу. Основними рисами фізіологічної гіпертрофії міокарда є зворотність цього процесу, збільшення функціональних показників роботи серця, відсутність фіброзу.

Патологічна гіпертрофія міокарда – це гіпертрофія, в результаті якої чинники надмірної сили спричинюють порушення у структурі серцевої тканини та функцій. Прибічники патофізіологічної концепції вважають, що є тільки один тип гіпертрофії – патологічний.

Отже, на теперішній момент розбіжність думок вчених всього світу, а також відсутність єдиного алгоритму діагностики гіпертрофії міокарда у спортсменів, не дають змоги чітко встановити молекулярно-генетичні механізми розвитку гіпертрофії міокарда.

Авторами було встановлено, що наявність певних алелей у генах, що контролюють синтез білків-регуляторів метаболічних мереж, може бути несприятливим чинником для функціонування систем організму та органів у спортсменів. Для вивчення різних напрямків впливу генетичних факторів, було встановлено перелік генів-кандидатів, які беруть участь у процесах адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень: гени, які беруть участь у вуглеводневому, ліпідному та енергетичному обмінах; гени, алельні варіанти яких асоційовані із м'язовою композицією, з переважанням швидкоскоротливих або повільноскоротливих м'язів.

У роботі вперше охарактеризовано участь поліморфізмів генів родини *PPAR* (*PPARA*, *PPARG*, *PGC1A*), *UCP2*, *ACTN3* і *COL12A1* в адаптаційному процесі серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень.

Методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі було проведено генотипування ДНК кваліфікованих спортсменів та встановлено частоту зустрічі алельних варіантів генів-кандидатів у вказаній вибірці.

За результатами літературних джерел було встановлено, що у різних видах спорту різна частота зустрічі ознак гіпертрофії міокарда. У футболі – 11%, у боксі – 25%, а у веслуванні академічному частота зустрічі спортсменів з гіпертрофією міокарда за результатами ехокардіографічного обстеження становила 33%.

Шляхом однофакторного дисперсійного аналізу було встановлено асоціацію поліморфізмів генів з показниками ехокардіографічного дослідження серця спортсменів, що відображають їхній функціональний стан.

Показано, що G/A поліморфізм гена *COL12A1* асоційований із показником фракції викиду ЛШ (ФВЛШЛ, %) ($P=0,001$) та з товщиною міжшлуночкової перегородки (МШП, см) ($P=0,0001$). Генотип A/A гена *COL12A1* супроводжується найнижчими показниками товщини міжшлуночкової перегородки та величини фракції викиду.

При аналізі даних, встановлено асоціацію G/C поліморфізму гена *PPARA* з товщиною МШП ($P=0,042$) та сприятливий вплив G-алеля G/C поліморфізму гена *PPARA* на збільшення товщини МШП.

Проаналізувавши Pro/Ala поліморфізм гена *PPARG*, була встановлена асоціація даного поліморфізму з показником кінцево-діастолічного об'єму ЛШ (КДОЛШЛ) ($P=0,005$). У спортсменів, у видах спорту на витривалість – високий рівень КДО – це показник адекватної адаптації, а отже, зниження КДО у спортсменів-носіїв Ala-алеля є ознакою несприятливості цього алеля для даного виду спорту.

За допомогою методу бінарної логістичної регресії була створена модель, до якої входять два поліморфізми: *PPARG* та *UCP2*, з класифікаційною

здатністю – 68,2 %. Згідно з цією моделлю Pro/Ala та Ala/Ala генотипи Pro/Ala поліморфізму гена *PPARG* збільшують ризик розвитку гіпертрофії міокарда, а Ala/Val та Val/Val генотипи Ala/Val поліморфізму гена *UCP2* зменшують цей ризик.

Результати дозволили вперше розробити спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів залежить від поліморфізмів генів (*COL12A1*, *PPARA*, *PPARG* та *UCP2*) та отримано патент № 141030 «Спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів в залежності від поліморфізмів генів». Це дає можливість проводити ранню неінвазивну діагностику патологічних станів серця у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з проявом витривалості.

У роботі досліджено участь довгих некодуючих РНК, таких як LIPCAR – мітохондріальна довга некодуюча РНК, NRON – довга некодуюча РНК-репресор ядерного фактора, що активує Т-клітини, MHRT – довга некодуюча РНК, асоційована із важким ланцюгом міозина та MIAT – РНК-транскрипт, асоційований із інфарктом міокарда у процесі розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з проявом витривалості.

Показано участь довгих некодуючих РНК у механізмах адаптації серцево-судинної системи до фізичних навантажень різної інтенсивності. Зокрема, експресія lncRNA MHRT інгібує патологічне перетворення α -МНС у β -МНС, та захищає міокард від патогенезу, а lncRNA MIAT навпаки, є негативним чинником, що сприяє розвитку крайніх форм гіпертрофії міокарда. Рівень lncRNA LIPCAR може вказувати на порушення діастолічної функції лівого шлуночка серця. Збільшена експресія lncRNA NRON відображає структурні та функціональні зміни серця.

Вперше встановлено, що зміни рівня довгих некодуючих РНК під впливом фізичних навантажень, можна розглядати як індикатори перебігу процесу адаптації організму спортсменів.

Адаптаційний процес до інтенсивних фізичних навантажень різного характеру призводить до зміни рівня довгих некодуючих РНК у плазмі крові

спортсменів. Встановлено, що після фізичного навантаження максимальної інтенсивності експресія більшості lncRNAs – NRON, MHRT та MIAT збільшується статистично значуще, тоді як рівень експресії LIPCAR зменшується ($P=0,001$). Після фізичного навантаження помірної інтенсивності осіб, які склали контрольну групу експресія lncRNA NRON вірогідно знижується ($P=0,04$), тоді як lncRNAs LIPCAR, MHRT, MIAT достовірно зростає у декілька разів.

Виявлено, що підвищення рівня MHRT при аеробних навантаженнях різної потужності є захисним механізмом, що протидіє розвитку патологічних форм гіпертрофії міокарда.

Показано, що коефіцієнт кореляції ММЛШЛ та рівня lncRNA LIPCAR становить 0,52 ($P<0,01$); коефіцієнт кореляції між рівнем lncRNA NRON та товщиною міжшлуночкової перегородки дорівнює -0,588 ($P<0,01$). Тобто, чим вищий рівень lncRNA NRON, тим менший розмір МШП серця.

Для підтвердження нашої гіпотези про участь довгих некодуючих РНК у механізмі формування гіпертрофії міокарда у спортсменів, ми моделювали вплив фізичного навантаження на щурів. Самці щурів лінії Fisher плавали по три особини у заповненому водою резервуарі з навантаженням $7,0 \pm 1,3\%$ від маси тіла, що відповідає 70–75 % $V\text{O}_2\text{max}$. Стан виснаження визначали за моментом максимального часу плавання з вантажем $14,0 \pm 1,2\%$ від маси їх тіла.

Завдяки цій моделі, ми змогли визначити, що рівень lncRNA MIAT під впливом систематичних інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру зростає як у міокарді ($P<0,05$), так і у скелетних м'язах: у камбалоподібному м'язі ($P<0,05$) та у литковому м'язі, що може пояснювати зміни рівня експресії lncRNAs у плазмі крові спортсменів після виконання фізичних навантажень.

Ключові слова: гіпертрофія міокарда, довгі некодуючі РНК, поліморфізми генів, адаптація до фізичних навантажень, тренування на витривалість.

SUMMARY

Polishchuk A. O. Molecular genetic markers of myocardial hypertrophy in athletes specializing in endurance sports. - Qualifying scientific work as a manuscript.

Thesis for the Doctor of Philosophy degree in specialty 091 Biology. – National University of Ukraine on Physical Education and Sport, Kyiv, 2021.

The thesis is devoted to the study of the role of gene polymorphisms and long non-coding RNA in molecular genetic mechanisms of myocardial adaptation to long intensive physical exercise, to establish molecular genetic markers of predisposition to the development of myocardial hypertrophy.

Physical exercises have a wide range of influence that have a positive effect on the body (improve the cardiovascular system condition, affect myocardial metabolism, etc.). Moderate intense physical exercise is a fundamental factor of the development of the cardiovascular system adaptation. At the same time, systematic overload acts as a stress factor and can provoke the development of pathological cardiovascular system conditions. This pathogenetic process can occur during the transformation of physiological myocardial hypertrophy into pathological hypertrophy, in some cases into hypertrophic cardiomyopathy.

The cardiovascular system adaptation to intense physical activity allows the athlete to perform physical exercise of various duration and intensity, but a long-term adaptation is associated with structural changes in the organs, including an increase in their mass and dysfunction. The study of patterns and molecular mechanisms of adaptation to intense physical exercise is the basis for improving physical performance, the basis for preventing the development of pre-pathological and pathological conditions and establishes an urgent problem of physiology and sports medicine.

Since Claude Bernard and Rudolf Virchow's time, there is no consensus in physiologists and pathophysiological views on the concept of myocardial hypertrophy, a discussion about the mechanisms of myocardial pathology continues even today. In

particular, according to the physiological concept, myocardial hypertrophy, that occurs under the influence of systematic intense loads, is the result of adaptation and contributes to the cardiovascular system functioning in variable conditions and develops by the normal physiological process mechanisms. The main features of physiological myocardial hypertrophy are the reversibility of this process, the increase in functional indicators of the heart, the absence of fibrosis.

Pathological myocardial hypertrophy is a hypertrophy, as a result of which factors of excessive force cause disturbances in the structure of cardiac tissue and functions. Proponents of the pathophysiological concept believe that there is only one type of hypertrophy - pathological.

Thus, at present, the differences of scientists' opinion around the world, as well as the lack of a single algorithm for diagnosing myocardial hypertrophy in athletes, does not allow to clearly establish the molecular genetic mechanisms of myocardial hypertrophy.

The authors found out that the presence of certain alleles in the genes that control the proteins synthesis that regulate metabolic networks can be an unfavorable factor for the athletes' body systems and organs functioning. A list of candidate genes involved in the processes of the cardiovascular system adaptation to intense physical activity was established: genes involved in carbohydrates, lipid and energy metabolism; genes whose allelic variants are associated with a muscles fibrosis composition, with a predominance of fast- twitch or slow-twitch muscles.

For the first time, the participation of the genes polymorphisms *PPAR* family (*PPARA*, *PPARG*, *PGC1A*), *UCP2*, *ACTN3* and *COL12A1* in the adaptation process of the cardiovascular system to intense physical exercise is characterized.

The DNA genotyping of highly qualified athletes was performed by real-time polymerase chain reaction and the frequency of allelic variants of candidate genes occurrence in the specified sample was determined.

According to the results of the literature, it was found that in different sports different frequency of signs of myocardial hypertrophy. According to the results of

echocardiographic examination, the frequency of meeting athletes with myocardial hypertrophy was 11% in football, 25% in boxing, and 33% in academic rowing.

By one-way analysis of variance, the association of gene polymorphisms with the echocardiographic examination indicators of athletes heart, reflecting their functional state, was established.

It is shown that the G/A polymorphism of the *COL12A1* gene is associated with the LV ejection fraction (EF, %) ($P=0,001$) and with the interventricular septum thickness (IVS, cm) ($P=0,0001$). The A/A genotype of the *COL12A1* gene is accompanied by the lowest rates of interventricular septal thickness and ejection fraction.

In data analysis, the association of G/C polymorphism of the *PPARA* gene with IVS thickness ($P=0,042$) and the favorable effect of G-allele G/C polymorphism of the *PPARA* gene on the increase in IVS thickness were researched.

After the Pro/Ala polymorphism of the *PPARG* gene analyzing, the association of this polymorphism with the index of end-diastolic volume of the left ventricle (EDV, ml) ($P=0,005$) was established. In athletes, in endurance sports – a high level of EDV– is an adequate adaptation indicator, and therefore, a decrease in EDV in athletes carrying the Ala-allele is a sign of this allele disadvantage for that sport.

Using the binary logistic regression method, a model was created, it includes two polymorphisms: *PPARG* and *UCP2*, with a classification capacity of 68,2%. According to this model, the Pro/Ala and Ala/Ala genotypes of the *PPARG* gene polymorphisms increase the risk of myocardial hypertrophy, and the Ala/Val and Val/Val Ala/Val genotypes of the *UCP2* gene polymorphism reduce this risk.

The results allowed for the first time to develop a method for predicting athletes myocardial hypertrophy development, depending on gene polymorphisms (*COL12A1*, *PPARA*, *PPARG* and *UCP2*) and obtained patent № 141030 "Method for predicting the athletes myocardial hypertrophy development depending on gene polymorphisms". This makes it possible to conduct early non-invasive diagnosis of pathological conditions of the athletes heart specializing in endurance sports.

The participation of long non-coding RNAs, such as LIPCAR – mitochondrial long non-coding RNA, NRON – long non-coding RNA repressor of T-cell-activating nuclear factor, MHRT – long non-coding RNA associated with myosin-heavy chain strand and MIAT, associated with myocardial infarction in the development of myocardial hypertrophy in athletes specializing in endurance sports was established.

The participation of long non-coding RNAs in the mechanisms of the cardiovascular system adaptation to physical exercise of different intensity is shown. In particular, the expression of lncRNA MHRT inhibits the pathological conversion of α -MHC to β -MHC, and protects the myocardium from pathogenesis, and lncRNA MIAT, on the contrary, is a negative factor that contributes to the development of myocardial hypertrophy extreme forms. LIPCAR lncRNA levels may indicate left ventricular diastolic dysfunction. Increased NRON lncRNA expression reflects structural and functional heart changes.

For the first time it was examined that the level changes of long non-coding RNA under the influence of physical activity can be considered as the process indicators of athletes adaptation.

The process of adaptation to intense physical activity of various kinds leads to a change in the level of long non-coding RNA in the athletes blood plasma. It was found that after physical activity of maximum intensity, the expression of most lncRNAs - NRON, MHRT and MIAT significantly increases, while the level of LIPCAR expression decreases ($P=0,001$). After exercise of moderate intensity in individuals who made up the control group, the expression of lncRNA NRON probably decreases ($P=0,04$), whereas, LIPCAR, MHRT, MIAT significantly increases several times.

It was found that increasing the level of MHRT during aerobic exercise of different power is a protective mechanism that counteracts the development of myocardial hypertrophy pathological forms.

It was shown that the correlation coefficient of LVMM and lncRNA LIPCAR level is 0,52 ($P<0,01$); the correlation coefficient between the level of lncRNA NRON and the thickness of the interventricular septum is equal to -0,588 ($P<0,01$). That is, the higher the level of lncRNA NRON, the smaller the size of the IVS of the heart.

To confirm our hypothesis about the participation of long non-coding RNAs in the mechanism of myocardial hypertrophy athletes formation, we modeled the exercise effect on rats. Male Fisher rats swam three individuals in a water-filled tank with a load of $7,0 \pm 1,3\%$ of body weight, which corresponds to $70-75\% \dot{V}O_2\text{max}$. The state of exhaustion was determined by the moment of maximum sailing time with a load of $14,0 \pm 1,2\%$ of their body weight.

Due to this model, we were able to determine that the level of lncRNA MIAT under the influence of systematic intense aerobic exercise of increases both in the myocardium ($P < 0,05$) and in skeletal muscle: in the soleus muscle ($P < 0,05$) and in the calf muscle, which may explain the changes in the expression level of lncRNA's in the athletes blood plasma after exercise.

Key words: myocardial hypertrophy, long non-coding RNA, gene polymorphisms, adaptation to exercise, endurance training.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Дроздовська СБ, **Поліщук АО**. Участь некодуєчих РНК (ncRNA) у формуванні гіпертрофії міокарду при м'язовій діяльності. Вісник проблем біології і медицини. 2017;38-43. Фахове видання України, яке включено до міжнародної наукометричної бази Index Copernicus. *Здобувачем проведено аналіз літературних даних.*
2. Vinnichuk YD, **Polischchuk AO**, Goshovska YV, Sokolova OS, Drozdovska SB. Changes in biochemical parameters and mitochondrial factor in blood of amateur athletes under influence of marathon running. Фізіологічний журнал. 2019;5(65):20-7. Фахове видання України, яке включено до міжнародної наукометричної бази Scopus. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*
3. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ, Гончаров СВ, Досенко ВС. Рівень експресії довгих некодуєчих РНК при тривалій та довготривалій адаптації у відповідь на фізичне навантаження. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020;5(1):354-9. DOI: 10.26693/jmbs05.01.354. Фахове видання України, яке включено до міжнародної наукометричної бази Index Copernicus. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалу до публікації.*
4. **Polishchuk AO**, Drozdovska SB, Hrubyak LM, Dolzhenko MM, Dosenko VE. Association of polymorphisms of the PPAR family genes and UCP2 gene with echocardiography indices in athletes. World of medicine and biology. 2021;2(76):122-6. DOI:10.26724/2079-8334-2021-2-76-122-126. Фахове видання України, яке включено до міжнародної наукометричної бази Web of science. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалу до публікації.*

5. Mazur I, Drozdovska S, Andrieieva O, Vinnichuk Y, **Polishchuk A**, Andreev I, Dosenko V, Pickering C, Ahmetov I. *PPARGC1A* gene polymorphism is associated with exercise-induced fat loss. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 2020;47(2):7451-7. Наукове періодичне видання Італії, яке включено до міжнародної наукометричної бази Scopus. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*

6. Drozdovska S, Palladina O, **Polischuk A**, Yuriev S. The combined effect of dietary supplement 'Leptin Manager' and power fitness exercises on weight loss in women with different *LEPR* (rs1137101) genotypes. *Sporto mokslas*. 2018;2:48-54. Наукове періодичне видання Литви, яке включено до міжнародної наукометричної бази Index Copernicus. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*

7. Дроздовська СБ, **Поліщук АО**, Вінничук ЮД, Гончаров СВ, Досенко ВС. Молекулярно-генетичні особливості адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень: монографія. Київ: НУФВСУ; 2020. ТОМ 2. – 140 с. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*

8. Мазур ЮЮ, Дроздовська СБ, Андреева ОВ, Вінничук ЮД, **Поліщук АО**, Андреев ІО, Досенко ВС, Пікерінг К, Ахметов ІІ. Вплив генетичних поліморфізмів генів *PPARG* та *PPARGC1* на ефективність зниження жирової маси при заняттях фітнесом. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2020;27:196-201. Фахове видання України. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ, Груб'як ЛМ. Асоціація Pro/Ala поліморфізму гену *PPARG* із показниками гіпертрофії лівого шлуночка міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість. В: Молодь та олімпійський рух: зб. тез доп. 11-ї Міжнар. конф. молодих вчених [Інтернет]; 2018 Квіт 10-12; Київ. Київ: НУФВСУ; 2018. 246-7 с. Доступно: https://uni-sport.edu.ua/sites/default/files/rozklad/zbirnyk_tez_2018.pdf.
2. Дроздовська СБ, Палладіна ОЛ, Юрьєв СД, **Поліщук АО**. Поєднаний вплив дієтичної добавки Лептин Менеджер та занять силовим фітнесом на зниження маси тіла у жінок з різними генотипами: зб. тез доповідей 2-ї Міжнародної науково-практичної конференції. «Фізична активність і якість життя людини», Луцьк–Світязь, 2018.
3. Drozdovska S, Dosenko V, Goncharov S, **Polischuk A**. The role of long non-coding RNAs (lncRNAs) in cardiac hypertrophy formation during physical exercise. Riga, Latvia, 2018, p. 34.
4. **Полищук АА**, Дроздовская СБ, Гончаров СВ, Досенко ВЕ. Асоціація Pro/Ala поліморфізма гену *PPARG* Т/С поліморфізма гену *eNOS* показателями гіпертрофії лівого шлуночка міокарда у спортсменів, спеціалізуються в видах спорту на виносливість. 22 International scientific congress “Olympic sport and sport for all”, Tbilisi, 2018; p. 340-343.
5. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ, Гончаров СВ, Досенко ВЕ. Зміни довгих некодуючих РНК при терміновій та довготривалій адаптації у відповідь на фізичне навантаження. Матеріали 4-го Всеукраїнського з'їзду фахівців із спортивної медицини та лікувальної фізкультури «Сучасні досягнення спортивної медицини, фізичної та реабілітаційної медицини – 2019», Дніпро, 2019, с.138.
6. Мазур ЮЮ, Дроздовська СБ, **Поліщук АО**, Вінничук ЮД, Досенко ВЕ, Пікерінг К, Ахметов П. Поліморфізм генів *PPARG* і *PPARA* як фактори метаболічних розладів та відповіді організму на фізичні навантаження.

Матеріали 4-го Всеукраїнського з'їзду фахівців із спортивної медицини та лікувальної фізкультури «Сучасні досягнення спортивної медицини, фізичної та реабілітаційної медицини – 2019», Дніпро, 2019, с. 121.

7. Дроздовська СБ, **Поліщук АО**, Груб'як ЛМ, Долженко ММ, Досенко ВЄ. Вплив циклічних вправ різної інтенсивності на експресію довгих некодуєчих РНК. Матеріали 20-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П. Г. Костюка. Фізіологічний журнал. 2019;65(3):145 с. (Додаток).

8. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ, Груб'як ЛМ, Долженко ММ, Гончаров СВ, Досенко ВЄ. Асоціація поліморфізмів генів із показниками ехокардіографічних досліджень серця спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним розвитком витривалості. Матеріали 20-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П. Г. Костюка. Фізіологічний журнал. 2019;65(3):145-146 с. (Додаток).

9. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ, Гончаров СВ, Досенко ВЄ. Залежність ехокардіографічних показників та поліморфізмів генів серця спортсменів, які спеціалізуються у видах з переважним розвитком витривалості. В: Молодь та олімпійський рух: зб. тез доп. 12-ї Міжнар. конф. молодих вчених [Інтернет]; 2019 Трав 17; Київ. Київ: НУФВСУ; 2019. 260 с. Доступно: https://uni-sport.edu.ua/sites/default/files/vseDocumenti/zbirnyk_tez_0.pdf.

10. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ. Рівень експресії довгих некодуєчих рнк при фізичній роботі, спрямованій на розвиток витривалості. В: Молодь та олімпійський рух: зб. тез доп. 13-ї Міжнар. конф. молодих вчених [Інтернет]; 2020 Трав 16; Київ. Київ: НУФВСУ; 2020. 165 с. Доступно: <http://www.unisport.edu.ua/content/naukovi-konferenciyi-ta-seminary>.

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати

дисертації:

1. Дроздовська СБ, Палладіна ОЛ, Юрьєв СД, **Поліщук АО**, Гончаров СВ, Досенко ВЄ. Ефективність впливу дієтичної добавки Лептин Менеджер на

зниження маси тіла у жінок з різними генотипами за геном рецептора до лептину, що займаються силовим фітнесом. Спортивна медицина і фізична реабілітація та ерготерапія. 2018;1:73-81. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*

2. Дроздовська СБ, **Поліщук АО**, Досенко ВЄ. Дроздовська С. Б., патентовласник. Спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів в залежності від поліморфізмів генів. Патент України № 141030. 2020 бер. 25. *Здобувачем проведено аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*

ЗМІСТ

	Ст
АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	22
ВСТУП	24
РОЗДІЛ 1. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ФАКТОРИ РОЗВИТКУ ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА ПРИ ІНТЕНСИВНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕННЯХ	32
1.1. Значення гіпертрофії міокарда у спортсменів різних видів спорту	32
1.2. Механізм виникнення та розвиток гіпертрофії міокарда	34
1.3. Функціональне значення поліморфізмів генів <i>PPARG</i> , <i>PPARA</i> , <i>PGC1A</i> , <i>UCP2</i> , <i>ACTN3</i> та <i>COL12A1</i> у розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів	39
1.3.1. Рецептори, що активують проліферацію пероксисом (<i>PPAR</i>)	40
1.3.2. Гени родини <i>UCP</i> та їхня роль при розвитку гіпертрофії міокарда	41
1.3.3. Гени, що беруть участь у синтезі колагена (<i>COL12A1</i>)	41
1.3.4. Поліморфізм родини генів α -актиніну (<i>ACTN3</i>)	42
1.4. Довгі некодуючі РНК у процесах адаптації до м'язової діяльності	43
1.4.1. Функціональна роль довгої некодуючої РНК <i>MHRT</i>	46
1.4.2. Участь довгої некодуючої РНК <i>MIAT</i> у метаболічних процесах міокарда	48

1.4.3. Роль довгої некодуєчої РНК LIPCAR у процесах розвитку гіпертрофії	49
1.4.4. Роль довгої некодуєчої РНК NRON при адаптивних процесах організму спортсменів	50
Висновки до розділу 1	50
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ТА ОРГАНІЗАЦІЯ ДОСЛІДЖЕНЬ	52
2.1. Методи досліджень	52
2.1.1. Аналіз та узагальнення даних науково-методичної літератури	53
2.1.2. Метод виділення ДНК з клітин букального епітелію	54
2.1.3. Метод визначення алельних поліморфізмів генів <i>PPARG</i> , <i>PPARA</i> , <i>PGC1A</i> , <i>UCP2</i> , <i>ACTN3</i> та <i>COL12A1</i>	55
2.1.4. Протокол виділення РНК	56
2.1.5. Визначення експресії lncRNA за допомогою методу ПЛР у реальному часі	56
2.1.5.1. Зворотна транскрипція	57
2.1.5.2. Полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі	58
2.1.6. Фізіологічні методи дослідження	59
2.1.6.1. Ергогенне дослідження	59
2.1.6.2. Ехокардіографія	60
2.1.6.3. Моделювання впливу фізичного навантаження на тваринах	61
2.1.7. Методи математичної статистики	62
2.2. Організація досліджень	64
2.2.1. Етапи дослідження	64
2.2.2. Характеристика контингенту	66

РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ УЧАСТІ ДНК-ПОЛІМОРФІЗМІВ У ПРОЦЕСАХ ФОРМУВАННЯ ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА У СПОРТСМЕНІВ ПІД ВПЛИВОМ СИСТЕМАТИЧНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ АЕРОБНОГО ХАРАКТЕРУ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ	68
3.1. Статистичний аналіз результатів обстеження стану серцево–судинної системи спортсменів різних видів спорту	68
3.2. Порівняльний аналіз ехокардіографічних показників контрольної групи та спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість	72
3.3. Асоціація поліморфізмів генів-кандидатів із схильністю до розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах з переважним проявом витривалості	74
3.3.1. Аналіз розподілу генотипів та алелей за Pro ₁₂ →Ala поліморфізмом гена <i>PPARG</i>	79
3.3.2. Аналіз частоти зустрічей генотипів та алелей за G ²⁵²⁸ →C поліморфізмом гена <i>PPARA</i>	79
3.3.3. Розподіл генотипів та алелей за G/A поліморфізмом гена <i>PPARGC1A</i>	80
3.3.4. Розподіл алельних варіантів за Ala ₅₅ →Val поліморфізмом гена <i>UCP2</i>	80
3.3.5. Аналіз алельних варіантів R ₅₇₇ →X поліморфізму гена <i>ACTN3</i>	81
3.3.6. Розподіл генотипів та алелей за G/A поліморфізмом гена <i>COL12A1</i>	82
3.4. Асоціація поліморфізмів генів-кандидатів із показниками ехокардіографічного дослідження серця	82

3.4.1. Створення способу прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів із врахуванням поліморфізмів генів	88
Висновки до розділу 3	90
РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ДОВГИХ НЕКОДУЮЧИХ РНК (LNCRNA) У ПРОЦЕСАХ ФОРМУВАННЯ ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА У СПОРТСМЕНІВ ПІД ВПЛИВОМ СИСТЕМАТИЧНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ АЕРОБНОГО ХАРАКТЕРУ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ	93
4.1. Порівняльний аналіз участі 4–х некодуючих РНК (LIPCAR, NRON, MHRT, MIAT) у адаптаційних процесах, що відбуваються у відповідь на фізичні навантаження різного характеру	93
4.1.1. Зміни експресії 4–х довгих некодуючих РНК під впливом фізичних навантажень помірної інтенсивності	93
4.1.2. Зміни експресії 4–х довгих некодуючих РНК під впливом фізичних навантажень максимальної інтенсивності	95
4.1.3. Зміни експресії 4–х довгих некодуючих РНК під впливом фізичних навантажень середньої інтенсивності	97
4.2. Вплив рівня lncRNAs на ехокардіографічні показники серця спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним проявом витривалості	101
4.3. Дослідження зміни експресії довгої некодуючої РНК MIAT під впливом інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру у міокарді та скелетних м'язах щурів	110
Висновки до розділу 4	111
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	114

ВИСНОВКИ	131
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	134
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	136
ДОДАТКИ	153

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ГМ	– гіпертрофія міокарда
ГЛШл	– гіпертрофія лівого шлуночка
ГКМП	– гіпертрофічна кардіоміопатія
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
ЕХО	– ехокардіографія
ЕКГ	– електрокардіографія
ЗСТ	– товщина задньої стінки лівого шлуночка
ІММЛШл	– індекс маси міокарда лівого шлуночка
КДО	– кінцево-діастолічний об'єм лівого шлуночка
КДР	– кінцево-діастолічний розмір лівого шлуночка
КДТ	– кінцевий діастолічний тиск
ММЛШл	– маса міокарда лівого шлуночка
МШП	– міжшлуночкова перегородка серця
РНК	– рибонуклеїнова кислота
ФВ%	– фракція викиду лівого шлуночка
<i>ACTN3</i>	– α -актиніни – родина актинзв'язуючих білків
<i>COL12A1</i>	– ген α -ланцюга колагену 12 типу
<i>LIPCAR</i>	– мітохондріальна довга некодуюча РНК
lncRNA	– довгі некодуючі РНК
МНС	– важкий ланцюг міозину
<i>MHRT</i>	– довга некодуюча РНК, асоційована із важким ланцюгом міозина
<i>MIAT</i>	– РНК–транскрипт, асоційований із інфарктом міокарда
<i>NRON</i>	– довга некодуюча РНК – репресор ядерного фактора, що активує Т–клітини

- PCR-
realtime
- полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі
- PGC1A*
- α -коактиватор γ -рецепторів, що активує проліферацію пероксисом
- PPARA*
- ген α – рецептора, що активує проліферацію пероксисом
- PPARD*
- ген δ – рецептора, що активує проліферацію пероксисом
- PPARG*
- ген γ – рецептора, що активує проліферацію пероксисом
- UCP2*
- ген роз'єднувального білка II типу

ВСТУП

Актуальність теми. Незважаючи на значний прогрес медицини впродовж останніх 3 десятиліть, серцево-судинні захворювання залишаються одними із основних причин смертності у світі з показниками 42% серед чоловіків і 52% серед жінок. [1, 2]. Фізичні вправи є основним чинником у боротьбі проти серцево-судинних захворювань, мають широкий спектр позитивних ефектів на організм, в тому числі покращують стан серцево-судинної системи загалом, впливають на показники метаболізму міокарда, проте інтенсивні фізичні навантаження ставлять високі вимоги перед міокардом. При довготривалій інтенсивній м'язовій діяльності виникає гіпертрофія міокарда, яка є однією із невід'ємних фенотипічних рис адаптації серця, що разом з дилатацією порожнин серця та брадикардією входить до «тріади спортивного серця». Надмірні та хронічні фізичні навантаження, через труднощі визначення допустимих меж, можуть провокувати розвиток патологічних станів серцево-судинної системи [3, 4, 5]. Дані щодо частоти зустрічі гіпертрофії міокарда у спортсменів є суперечливим. За даними, отриманими за допомогою методу електрокардіографії, гіпертрофія міокарда виявляється у 57 % спортсменів, у 36 % – фізіологічна стадія, у 15% – проміжна і у 6 % – патологічна; за іншими від 1,7% елітних спортсменів до 2,5% характеризуються гіпертрофією міокарда [6, 7]. Існуючі термінологічні труднощі, відсутність єдиної концепції виникнення та алгоритму виникнення гіпертрофії міокарда, необхідність створення чітких діагностичних підходів до діагностики та лікування зумовили потребу дослідження цього компенсаторного механізму та актуальність даного дослідження. Крім того зміни структурних показників лівого шлуночка серця спортсменів поділяють на: помірно виражені (КДОЛШл 145-174 мл, ММЛШл 145-179 г), виражено збільшені (КДОЛШл 175-204 мл, ММЛШл 180-214 г), значно виражене збільшення (КДОЛШл \geq 205мл, ММЛШл \geq 215 г) [8, 9]. За

результатами дослідників такий індикатор гіпертрофії як маса міокарда лівого шлуночку (ММЛШл) у спортсменів різних спеціалізацій на 20-40 % перевищує належні величини, а ступінь та локалізація гіпертрофії залежать від інтенсивності та характеру навантажень [8].

Врахування молекулярно-генетичних маркерів, що передбачають реакції серцево-судинної системи на тривалі фізичні навантаження, взаємозв'язку між особливостями функціонування генів та розвитком патологій серцево-судинної системи, 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 роботі досліджено молекулярно-генетичні фактори, що визначають розвиток гіпертрофії міокарда у спортсменів, до яких належать поліморфізми генів та довгі некодуючі РНК.

Зв'язок роботи з науковими планами, темами. Робота виконувалась згідно теми фундаментального дослідження Міністерства освіти і науки «Молекулярно-генетичні особливості адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень» на 2017-2019 рр. (номер державної реєстрації 0117U002383) та теми 2.8 «Особливості соматичних, вісцеральних та сенсорних систем у кваліфікованих спортсменів на різних етапах підготовки» згідно плану НДР НУФВСУ на 2016-2020 роки; план НДР Національного університету фізичного виховання і спорту України на 2021–2025 рр. За темою 2.8 «Вплив екзогенних та ендогенних факторів на перебіг адаптаційних реакцій організму до фізичних навантажень різної інтенсивності» номер державної реєстрації 012U108187. Дисертантка була виконавцем у поданих темах, проводила експериментальні дослідження, їх аналіз, а також брала активну участь у підготовці матеріалів до публікацій.

Мета дослідження – встановити роль поліморфізмів генів та довгих некодуючих РНК в молекулярно-генетичних механізмах адаптації міокарда до тривалих інтенсивних фізичних навантажень, для створення неінвазивного методу оцінки схильності до розвитку гіпертрофії міокарда.

Завдання дослідження.

1. Шляхом аналізу наукової літератури встановити найбільш важливі молекулярно-генетичні фактори розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість.

2. Визначити роль поліморфізмів генів-кандидатів у розвитку гіпертрофії міокарда.

3. Дослідити наявність взаємозв'язку між поліморфізмами генів та ступенем гіпертрофії міокарда у спортсменів за показниками ехокардіографічного обстеження серця.

4. Встановити роль довгих некодуючих РНК у механізмах адаптації при фізичних навантаженнях різної інтенсивності.

5. Розробити спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів за даними дослідження поліморфізмів генів-кандидатів і довгих некодуючих РНК.

Об'єкт дослідження – молекулярно-генетичні механізми розвитку гіпертрофії міокарда при тривалих інтенсивних фізичних навантаженнях у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним проявом витривалості.

Предмет дослідження – взаємозв'язок показників функціонального стану міокарда в умовах фізичних навантажень різної інтенсивності з молекулярно-генетичними маркерами.

Методи дослідження:

1) теоретичний аналіз та узагальнення даних науково-методичної літератури (визначення генів-кандидатів для дисертаційного дослідження);

2) молекулярно-генетичні:

- забір біологічного матеріалу (букальний епітелій для виділення ДНК та венозна кров для виділення РНК);
- виділення ДНК та РНК (проводили за допомогою екстракційного методу набором Neogen та *Trizol*-реагентом відповідно);
- зворотна транскрипція (для отримання комплементарної ДНК);
- полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі (для визначення поліморфізмів генів *PPARG*, *PPARA*, *PGC1A*, *UCP2*, *ACTN3* та *COL12A1* та довгих некодуючих РНК *LIPCAR*, *NRON*, *MHRT* та *MIAT*);

3) фізіологічні:

- ергогенне дослідження (ступінчасто-зростаючий тест до моменту вимушеної відмови від роботи);
- електрокардіографія (для оцінки електричної провідності серця);
- ехокардіографія (для дослідження морфологічних і функціональних змін серця);
- моделювання впливу фізичного навантаження на тваринах;

4) біохімічні методи;

5) методи математичної статистики:

- розподіл Пірсона, розподіл Стюдента, методи для порівняння вибірок (тести Мана-Уїтні, Шапіро-Вілка, Левена, Уельча та Брауна-Форсайта), однофакторний дисперсійний аналіз, метод бінарної логістичної регресії;
 - факторний аналіз, кореляційний метод.

Наукова новизна отриманих результатів. В роботі встановлено важливі молекулярно-генетичні фактори розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним проявом витривалості.

Підтверджено роль поліморфізмів генів-кандидатів у розвитку гіпертрофії міокарда та вперше показано асоціацію з показниками ехокардіографії – ФВЛШЛ%, КДОЛШЛ, МШП та ЗСТЛШЛ.

Виявлено асоціацію поліморфізму гена *COL12A1* із показником ФВЛШЛ та з товщиною МШП, асоціацію поліморфізму гена *PPARA* з МШП та поліморфізм гена *PPARG* з показниками КДО.

Створено спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда для спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним проявом витривалості, який містить діагностику порушень функції міокарда на підставі аналізу зразків ДНК і базується на аналізі чотирьох поліморфізмів генів: *COL12A1*, *PPARA*, *PPARG* та *UCP2*.

Вперше охарактеризовано зміни рівня довгих некодуючих РНК у крові спортсменів та встановлено їхню участь у механізмах адаптації серцево-судинної системи при фізичних навантаженнях різної інтенсивності.

Визначено, що довга некодуюча РНК *MHRT*, яка пов'язана із важким ланцюгом міозину, зростає при фізичних навантаженнях різної інтенсивності. Доведено протективну функцію цієї *lncRNA*, яка полягає у тому, що чим вищий рівень експресії цього гену, тим менша ймовірність розвитку патологічних форм гіпертрофії міокарда.

Практичне значення отриманих результатів. Практичне значення отриманих результатів полягає у попередженні трансформації фізіологічної гіпертрофії міокарда у патологічну. Визначення рівнів експресії довгих некодуючих РНК дозволяє впливати на такий процес та сприяє розвитку терапії багатьох захворювань серцево-судинної системи, зокрема таких як гіпертрофія міокарда. Показана можливість використання довгих некодуючих РНК, як інформативних біомаркерів розвитку гіпертрофії міокарда при фізичних навантаженнях різної інтенсивності.

Встановлення асоціацій поліморфізмів генів-кандидатів із ехокардіографічними показниками сприяла створенню способу визначення схильності до розвитку гіпертрофії у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з проявом витривалості, що підтверджено відповідним патентом на корисну модель №141030. Впровадження такого способу молекулярно-

генетичної діагностики схильності до захворювань серцево-судинної системи, дозволить зменшити ризик розвитку патологій серцево-судинної системи, подовжити тривалість спортивної кар'єри спортсменів та спортсменок, підвищити загальний рівень здоров'я, ефективно використовувати матеріальні засоби для їх підготовки, покращити систему спортивного відбору та результативність виступів спортсменів та ефективність їх підготовки.

Розробки даної роботи були застосовані у практику науково-методичного забезпечення підготовки спортсменів «Федерації легкої атлетики», що підтверджено відповідним актом впровадження (2018 р.). Результати дисертаційної роботи були впроваджені в курси викладання кафедри медико-біологічних дисциплін Національного університету фізичного виховання і спорту України: «Молекулярна фізіологія» для здобувачів ступеня PhD за спеціальністю «Біологія», «Молекулярна біологія та генетика м'язової діяльності» для здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня за спеціальністю 091 Біологія та «Спортивна генетика» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за спеціальністю 017 Фізична культура і спорт.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є особистим науковим надбанням здобувачки. Автором самостійно здійснено відбір учасників дослідження, особисто проведено всі етапи експериментальної роботи та аналіз отриманих результатів досліджень. Ряд експериментів проведено спільно зі співробітниками відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, які є співавторами опублікованих робіт. Адаптаційний процес серця спортсменів до систематичних фізичних навантажень досліджували шляхом ехокардіографії на базі кафедри кардіології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика та ННЦ «Інституту кардіології ім. академіка Н.Д. Стражеско» АМН України. Дисертанткою проведено узагальнення експериментальних даних,

представлення результатів на наукових конференціях та з'їздах, а також написання статей.

Разом із співавторами опубліковано 20 наукових робіт, серед яких здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалів до публікацій. Дисертантка брала участь у розробці способу визначення схильності до розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з проявом витривалості.

Апробація матеріалів дисертації. Матеріали роботи і результати дослідження були представлені на XI Міжнародній конференції «Молодь та олімпійський рух» (Київ, 2018); II Міжнародній науково-практичній конференції «Фізична активність і якість життя людини» (Луцьк–Світязь, 2018); XXII International scientific congress “Olympic sport and sport for all” (Tbilisi, 2018); XII Міжнародній конференції «Молодь та олімпійський рух» (Київ, 2019); IV всеукраїнському з'їзді фахівців із спортивної медицини та лікувальної фізкультури «Сучасні досягнення спортивної медицини, фізичної та реабілітаційної медицини – 2019» (Дніпро, 2019); XX з'їзд Українського фізіологічного товариства ім. П. Г. Костюка (Київ, 2019); Науковій конференції товариства молодих вчених кафедри медико-біологічних дисциплін НУФВСУ (Київ, 2020); Науковій конференції товариства молодих вчених кафедри медико-біологічних дисциплін НУФВСУ (Київ, 2021) (додаток Б).

Публікації. За матеріалами дисертації опублікована 20 наукових робіт, в тому числі 7 статей у фахових наукових журналах (1 включена у періодичні фахові видання України, 3 з яких включені до міжнародної наукометричної бази Index Copernicus, 2 статі включені до міжнародної наукометричної бази Scopus, 1 стаття включена до міжнародної наукометричної бази Web of science) 1 стаття, яка засвідчує апробацію матеріалів, 1 монографія, отримано 1 патент, а також 10 тез доповідей (додаток А).

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація складається з анотації, вступу, п'яти розділів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Загальний обсяг роботи становить 166 сторінок. Дисертація містить 17 таблиць та 16 рисунків. Список використаних джерел налічує 155 найменувань, серед них – 131 іноземне джерело.

РОЗДІЛ 1

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ФАКТОРИ РОЗВИТКУ ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА ПРИ ІНТЕНСИВНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕННЯХ

1.1. Значення гіпертрофії міокарда у спортсменів різних видів спорту

Гіпертрофія міокарда – це реакція серця на різні зовнішні і внутрішні подразники, які спричиняють підвищений біомеханічний стрес. Гіпертрофія, в більшості випадків, не є компенсаційною реакцією на фізичне навантаження, а адаптивним процесом, проте вона пов'язана з несприятливими наслідками і провокує розвиток серцево-судинних захворювань [10].

Основними відмінностями фізіологічного спортивного серця та патологічного серця є економізація функцій в умовах спокою та помірних навантажень, максимальна працездатність серця при виконанні фізичних навантажень різної інтенсивності, що досягається за рахунок здатності до приросту ударного об'єму серця і його стабілізації на фоні граничних значень ЧСС [9]. Крім, того основними ознаками здорового серця є зворотність процесу гіпертрофії і відсутність фіброзу.

Характер та інтенсивність фізичних навантажень впливає на хід адаптаційних процесів у серці. Статичні вправи індукують концентричний тип гіпертрофії лівого шлуночка, а динамічні – ексцентричний тип, що характеризується збільшенням об'єму лівого шлуночка [11].

Регуляція маси міокарду залежить від взаємодії фізичних навантажень, 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 [12]. Деякі дослідники стверджують, що 60% варіабельності ММЛШЛ залежить від генетичних факторів [13]. Фізіологічна гіпертрофія у відповідь на фізичні вправи

відрізняється від патологічної стимулами, структурою та молекулярним профайлом [14].

І хоча якісні та кількісні показники вираженості гіпертрофії міокарда достатньо вивчені та класифіковані [8, 15], до сих пір не вщухають дискусії про механізми формування гіпертрофії та про процес адаптації міокарда до фізичних навантажень, що супроводжується неминучими структурно-функціональними перебудовами серця. Не зважаючи на те, що фізична активність є одним з найбільш надійних засобів профілактики низки серцево-судинних захворювань, а високий рівень фізичної активності строго асоційований зі зниженням частоти випадків цих захворювань, надмірні фізичні навантаження можуть бути чинником, 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 [16, 17, 18].

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 зумовленим захворюванням, причиною якого є понад 1400, описаних до сьогоднішнього часу, поліморфізмів генів, що кодують білки серцевого саркомера і деяких несаркомерних білків. Найбільш поширеною думкою є положення про те, що у спортсменів трапляється тільки первинна гіпертрофічна кардіоміопатія, пов'язана зі спадковими особливостями. На теперішній час за допомогою повногеномних досліджень встановлено ряд поліморфізмів, асоційованих з великою кількістю серцево-судинних та метаболічних хвороб [19, 20], але ступінь успадковування реакцій серцево-судинної системи на тривалі фізичні навантаження до сих пір ще мало вивчений. Розуміння ймовірності трансформації фізіологічної гіпертрофії міокарда спортсменів у патологічну, що широко дискутується до цього часу, потребує додаткових досліджень.

1.2. Механізми виникнення та розвиток гіпертрофії міокарда

Основним проявом формування гіпертрофії міокарда вважається розростання структури кардіоміоцитів та розвиток капілярного русла. У відповідь на фізичні навантаження у клітинах міокарда активуються два сигнальні шляхи [14]. Вважається, що активація сигнального шляху фактору росту нейрегуліну 1 (NRG1) - ErbB4 - C/EBP β) є одним з найважливіших молекулярних механізмів, що зумовлюють зміни у кардіоміоцитах при фізичних навантаженнях [21]. Підвищена експресія цього фактору призводить до зменшення експресії транскрипційного фактора C/EBP β (ССААТ/енхансер-зв'язуючий білок β і пов'язаного збільшення експресії CITED4 (Cbp/p300-interacting trans-activator). Зменшення експресії C/EBP β призводить до підвищення регуляції генів гіпертрофії Gata4, Tbx5, Nkx2, 5, 2-МНС, TnI, TnT [22]. Іншим важливим механізмом, що індукується фізичними вправами є (IGF)-1-PI3k-Akt сигнальний шлях, активація якого впливає на розвиток гіпертрофії міокарда [15]. Вплив на будь-яку з ланок цих сигнальних шляхів може зчиняти зміни у перебігу адаптаційних процесів міокарда у відповідь на фізичні вправи. Сигнальні шляхи фізіологічної та патофізіологічної гіпертрофії міокарда відрізняються. Якщо у випадку з фізіологічною гіпертрофією фізичні вправи викликають виділення IGF1, що веде до росту кардіоміоцитів через активацію PI3K (p110 α) і Akt1, то у випадку формування патологічної гіпертрофії такі сигнальні молекули, як AngII та ET-1 викликають ріст серця через GPCRs (G-протеїнзв'язуючий рецептор) [15, 22]. Крім того, сигнальні шляхи концентричної та ексцентричної типів гіпертрофії також відрізняються між собою.

Як виявилось, найбільший вплив на розвиток гіпертрофії зчиняє змінений рівень не білкового обміну, а жирового та вуглеводного. В умовах нормоксії 95% енергії міокард дістає від окисного фосфорилування, а 5% від гліколізу [23]. 84% жирних кислот, що потрапляють у міоцити окислюються. Такі субстрати як глюкоза, лактат і піруват є більш ефективними енергетичними

ресурсами для серця. За нормальних умов катаболізм глюкози забезпечує 2-8% енергії, а лактат –15%.

Впродовж фізичних вправ гормонактивований ліполіз збільшує кількість жирних кислот, та посилює їх споживання міокардом, збільшується утилізація тригліцеридів, стимулюється здатність до утилізації лактату [24]. Експресія генів, що відповідають за транспорт жирних кислот та їх катаболізм підвищується [23].

Генномодифіковане придушення ліполітичної активності у жировій тканині, що викликається фізичними вправами, зменшує рівень жирних кислот у крові, їх споживання міокардом та зменшення рівня розвитку гіпертрофії міокарда. Підвищений рівень пальмітолеїнової кислоти сприяє розвитку гіпертрофії міокарда [25].

Нещодавно було встановлено, що наявність певних алелей у генах, що контролюють синтез білків-регуляторів метаболічних мереж, може бути несприятливим фактором для спортсменів, під впливом яких активується процес патологічного стрес-індукованого ремоделювання міокарда. Перелік поліморфізмів генів різних родин та їх несприятливих алелей щорічно зростає у геометричній прогресії, проте окремий внесок алельних варіантів у геномі спортсменів досі не визначено. До них на сьогоднішній день належать гени ренін-ангіотензинової системи, гени структурних білків серцевого м'язу та гени факторів росту (див. дод.В).

Ренін-ангіотензинова система відіграє ключову роль у розвитку гіпертрофії міокарда, оскільки є однією з систем, що активується під впливом фізичних вправ. Високий рівень реніну в плазмі крові, ангіотензинів I та II були встановлені після фізичних вправ, спрямованих на прояв витривалості, але рівень ангіотензинперетворюючого ферменту (ACE) у крові здорових людей не змінився. Була встановлена асоціація між поліморфізмами генів *ACE* (I/D), ангіотензиногену (235 Met/Tre) з масою лівого шлуночка серця у спортсменів [26].

Встановлено, що D/D-генотип та D алель є маркерами розвитку різних форм кардіоміопатії (ішемічної та дилатаційної) [27]. У дослідженні була отримана вірогідна кореляція I алеля гена *ACE* з кінцево-діастолічним діаметром порожнини лівого шлуночка, що підтверджує дані про можливий вплив даного гена на процеси ремоделювання міокарда, у тому числі і у спортсменів [28].

При дослідженні факторів росту у крові коронарних синусів професійних футболістів було встановлено, що важливу роль у серцевому ремоделюванні приймає участь інсуліноподібний фактор росту 1 (IGF1), корелюючи з масою лівого шлуночка і кінцево-діастолічним індексом [29]. При дослідженні на тваринах (трансгенних мишах) з підвищеною експресією білка рецептора IGF1 спостерігалось зростання розмірів серця на 30-40 % [30].

Ще одним важливим чинником у розвитку гіпертрофії серця при адаптації до силових навантажень є mTOR. Фермент mTOR належить до родини серин/треонін специфічних протеїнкіназ. mTOR грає важливу роль у передачі позаклітинних сигналів через фосфорилювання численних субстратів у різних метаболічних реакціях організму людини. mTOR регулює метаболізм у м'язовій тканині шляхом фосфорилювання 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. mTOR 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 [31]. Завдяки 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 [32, 33]. Існують mTORC1 і mTORC2, які відрізняються чутливістю до інгібіторного ефекту рапаміцина. Регуляція активності mTOR у скелетних м'язах відбувається з 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 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 [34, 35]. Силові фізичні вправи підвищують активність везикулярного транспортного білка Vps34 (фосфатидилінозитол 3-кіназа) [36]. Це може поліпшити переміщення mTORC1 до лізосом і сприяти пролонгованій активації ферменту при виконанні наступних фізичних вправ. Передача сигналу амінокислот через RagGTP-азні білки до mTORC1 використовують молекулярний механізм, в якому саме GTP-зв'язуючий центр Rag-гетеродимера змінюється в присутності амінокислот [37, 38]. Однак досі не відомо, як зміни в механічному навантаженні м'язів при виконанні силових вправ можуть генерувати сигнал, що передається на mTORC1. Комплекс mTORC1 інтегрує сигнали від енергетичного стану м'язових клітин і таких стимулів: ростових і харчових чинників, фізичних вправ і мітохондріальних факторів, що дозволяє контролювати обмін білків і, отже, зростання клітин [34]. Анаболізм м'язових білків має місце, коли швидкість синтезу білків більше, ніж швидкість розщеплення, у результаті чого з часом походить збільшення кількості білків у м'язах. Гіпертрофія м'язів є повільним процесом, оскільки синтез білків повинен перевищувати розпад білків впродовж тривалого періоду (від тижнів до місяців). Систематичні силові тренування викликають адаптацію, що приводить до гіпертрофії м'язів у результаті інтеграції відповіді генів, що регулюють метаболічні процеси, що збільшують розмір м'язових клітин [23]. 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 [39].

У експерименті на тваринах показано, що довготривалі вправи аеробного характеру викликали розвиток гіпертрофії міокарда шляхом значної активації сигнального шляху Akt/mTOR/p70^{s6k} [40].

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 Т/Т-генотипом Т/С поліморфізму гена *FRAP1* (rs11121704) характеризуються вищим рівнем експресії даного гена. Т/С поліморфізм гена *FRAP1* (rs11121704) пов'язаний з розвитком онкологічних захворювань, зокрема Т/Т-генотип асоційований зі зростанням ризику розвитку онкологічних захворювань [41].

Т/Г поліморфізму гена *FRAP1* (rs2295080) знаходиться у промоторному регіоні гена і призводить до змін рівня mRNA та зниження люциферазної активності [42]. Раніше було встановлено, що G-алель Т/Г поліморфізму гену *FRAP1* асоційована зі схильністю до виконання вправ силового характеру [11].

Ще один чинник, що впливає на розвиток гіпертрофії-фоллістатинподібний глікопротеїн 1 (*Fstl1*) – секретується у серці дорослих осіб і приймає участь у пошкодженнях серця, що призводять до гіпертрофії міокарда та серцевої недостатності. У мишей з нокаутом гену *Fstl1* спостерігалась міокардіальна гіпертрофія і зменшення продуктивності шлуночків серця [43], 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 мікроРНК, рівень експресії генів яких може бути маркером як аеробних можливостей організму, так і стану серцево-судинної системи [44, 45, 46, 47]. МікроРНК (miRNAs, miRs) – це високо консервативні,

некодуючі РНК, які інгібують експресію генів-мішеней шляхом зв'язування з 3' нетрансляційним регіоном (3'UTR) матричних РНК (mRNA) і зменшують їх трансляцію чи прискорюють деградацію. МікроРНК регулюють розвиток, гіпертрофію і ангиогенез серця [48]. МіРНК-1, -133a, -133b добре досліджені у серці і характеризуються зменшеною експресією при гіпертрофії та фізичних навантаженнях, спрямованих на прояв витривалості [42, 49]. Рівень мікроРНК-124 зменшується при навантаженнях силового характеру, що призводить до збільшення розміру кардіоміоцитів лівого шлуночка [50]. Фізичні вправи викликають підвищену регуляцію мікроРНК-29a, що призводить до зменшення рівня колагену I та III типу у лівому шлуночку серця [51]. МікроРНК-222 є медіатором росту кардіоміоцитів під впливом фізичних навантажень, що зумовлено її участю у захисті від незворотного ремоделювання та серцевої дисфункції [52].

1.3. Функціональне значення поліморфізмів генів *PPARG*, *PPARA*, *PGC1A*, *UCP2*, *ACTN3* та *COL12A1* у розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів

Гени жирового і вуглеводного обміну, є маркерами функціонування серця, оскільки основне джерело енергії міокарда – окислення жирів [53], а адаптація до фізичних вправ викликає збільшення рівня гліколізу у кардіоміоцитах [54].

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) [55]. Це – транскрипційні фактори, агоністами яких є фактори ліпідної природи. Виділяють 3 ізотипи цих рецепторів: PPAR α , PPAR β/δ , PPAR γ , 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 [16, 56, 57]. 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.

1.3.1. Рецептори, що активують проліферацію пероксисом (PPAR). За даними бази NCBI ген *PPARA* локалізований на 22 хромосомі (22q13.31) і містить 2493 одонуклеотидні поліморфізми.

PPARA (rs 4253778) – ген α -рецептора (знаходиться в 7-ому інтроні, G²⁵²⁸→C), що активується проліфераторами пероксисом, кодує синтез білка α -рецептора (PPAR α), який є транскрипційним фактором. *PPAR α* експресується у печінці, але також присутній у серцевому та скелетних м'язах, жировій тканині. PPAR α активує експресію десятків генів, які беруть участь у вуглеводневому, ліпідному та енергетичному обмінах. Даний ген α -рецептора впливає на контроль маси тіла [58, 59].

Встановлено, що PPAR α регулює експресію генів, які кодують важливі м'язові ферменти, залучені до окислення жирних кислот [60], тому рівень експресії PPAR α є вищим у повільноскоротливих м'язових волокнах. Існує ряд даних, які підтверджують важливу роль PPAR α у адаптаційних процесах у відповідь на тренування з переважним проявом витривалості, що призводить до збільшення окислювального потенціалу скелетних м'язів шляхом PPAR α регуляції генної експресії [61, 62, 63].

Алель G відноситься до алелів витривалості [64], тоді як С алель до алелів швидкості-сили.

PPAR δ – ген δ -рецептора, що активується проліфераторами пероксисом. PPAR δ –294 T/C поліморфізм 4-го екзону гена *PPARD* асоційований з проявами підвищеної експресії гена. С-алель T/C поліморфізму відносять до алелей витривалості, оскільки носії С-алеля мають більш високий потенціал окислення

жирних кислот, на відміну від носіїв T-алеля. 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* [61].

PPAR γ – білковий продукт, що кодується геном *PPARG*. Це внутрішньоклітинний фактор, який відіграє важливу роль у вуглеводному та жировому гомеостазі, адипогенезі [65]. Ген *PPARG*, локалізований у 3 хромосомі (3p25) в результаті альтернативного сплайсингу, може мати 4 транскрипти: *PPAR γ 1*, *PPAR γ 2*, *PPAR γ 3* и *PPAR γ 4*, які експресуються більшою мірою в жировій тканині, ніж в інших типах клітин, таких як кардіоміоцити, гладенькі м'язові волокна, ендотеліальні клітини [66]. Нещодавно з'явилася велика кількість наукових робіт, що свідчать про важливий внесок *PPAR γ* , як регулятора функцій кардіореспіраторної системи [67, 68].

1.3.2. Гени родини *UCP* та їхня роль при розвитку гіпертрофії міокарда. *UCP2* відповідає за транспорт жирних кислот, його експресія збільшується при старінні та тотальній ішемії серця, а наявність певних алелей поліморфізму гена *UCP2* впливає на розвиток гіпертрофії міокарда. Однак основні причини, а також можливі наслідки цих змін під час переходу від гіпертрофії до серцевої недостатності досі незрозумілі [69]. Існують дослідження взаємодії *PPAR α* та *UCP2*. Було проведено пряме порівняння між серцевими та скелетними м'язами. Показано, що експресія *UCP2* та *PPAR α* зменшувалась, коли серцеве навантаження збільшувалось [70].

1.3.3. Гени, що беруть участь у синтезі колагена (*COL12A1*). *COL12A1* кодує α -ланцюг колагену XII типу, який є членом сімейства колагенів генів *FACIT* (фібрил-асоційовані колагени з перерваними потрійними спіралями). Колаген XII типу – це гомотример, який виявляється у поєднанні з колагеном I типу. Ген знаходиться у 6 хромосомі, у положенні 6q13-q14.1, та містить 67 екзонів. Вивчення поліморфізму *COL12A1*, що також пов'язаний зі

спортивними травмами, та рання його діагностика може значно покращити прогнозування та лікування різних захворювань.

Сухожилля відповідають за передачу механічної сили від м'яза до кістки, що забезпечує рухливість та стабільність суглобів. Сухожилля мають вирівняний колагеновий позаклітинний матрикс. Цей матрикс складається з ієрархічно організованих компонентів: молекули колагену збираються у фібрили, фібрили - у волокна, а волокна разом із сухожилковими фібробластами (теноцитами) організовані у пучки. Така унікальна ієрархічна структура має вирішальне значення для полегшення передачі сили та безпосередньо впливає на загальну механічну функцію тканини опорно-рухового апарату. Зміни колагену XII можуть призвести до зміни функцій фактора росту із наслідком зміни поведінки теноцитів, що впливатиме на функцію сполучної тканини [71].

Поліморфізм гена *COL12A1* являє собою заміну аденіну на гуанін (A/G) [72].

1.3.4. Поліморфізм родини генів α -актиніну (*ACTN3*). Впродовж останніх кількох десятиліть дослідження зосереджувались на спробах зрозуміти генетичний вплив на спортивні показники, що і призвело до виявлення ряду генів-кандидатів, які можуть допомогти у підборі виду спорту, тренуванні та у виявленні стану зоров'я спортсменів. Одним з найбільш перспективних генів у цьому відношенні є *ACTN3*, який зазвичай називають "геном швидкості" [73]. Ген *ACTN3* знаходиться на довгому плечі 11-ї хромосоми (11q13– q14) та містить 16935 баз та кодує білок, що забезпечує швидке скорочення м'язових волокон (<http://www.genecards.org/>).

Поширений нуклеотидний поліморфізм у гені *ACTN3* може призвести до повного дефіциту α -актиніну-3 (тобто XX генотипу). Раніше авторами було показано, що особи з XX генотипом *ACTN3* мають зниження м'язової працездатності. Це дослідження мало на меті визначити вплив, якщо такий є, генотипів *ACTN3* на рівень травматизму марафонців впродовж року, що передував участі у змагальних марафонських гонках. Використовуючи

експериментальну конструкцію в поперечному перерізі, тип та умови спортивних травм були задокументовані впродовж року у групі із 139 марафонців. Травми були зафіксовані після консенсусної заяви про травми в легкій атлетиці. Було проведено генотипування спортсменів-марафонців та легкоатлетів на наявність поліморфізму гена *ACTN3*. Цікаво, що ймовірність отримати будь-яку травму, пов'язану з бігом на витривалість, була приблизно в 2 рази вищою при RR-алелях у порівнянні із будь-яким з генотипів, що несуть алель X (тобто RX і XX) [74]. Це може бути зумовлено зменшенням обсягу рухів у декількох суглобах та підвищеною пасивною жорсткістю підколінного сухожилля, виявленою у осіб з RR-алелем, на відміну від XX-алеля [75]. У всіх спортсменів з поліморфізмом XX виявлено вищу гнучкість м'язів та вищі показники тильного згинання щиколотки, ніж з поліморфізмом RX та RR [76]. Дослідження поліморфізму гена *ACTN3* може свідчити про більшу ймовірність легкого перенесення будь-яких видів травм у спортсменів аеробних видів спорту, які є носіями R-алелів, особливо у спортсменів з RR-алелем. Можна сказати, що ген *ACTN3* – це більше, ніж просто ген швидкості, з потенційно широкомасштабним впливом на функцію м'язів, знання яких може допомогти в майбутній персоналізації програм тренувальних вправ [73].

1.4. Довгі некодуєчі РНК у процесах адаптації до м'язової діяльності

LncRNA – клас еволюційно консервативних молекул, що впливає на широкий спектр біологічних процесів. Це транскрипти довжиною більше 200 нуклеотидів. У людини ідентифіковано більше 10 тисяч lncRNA (www.noncode.org). За деякими даними більш ніж 100 000 генетичних локусів кодують lncRNA, які знаходяться у ядрі, у цитозолі і можуть діяти на різних етапах експресії гена завдяки їх здатності формувати комплекси вторинних структур, що зв'язують різні молекули, такі як ДНК, РНК та білки [77]. Нещодавно було ідентифіковано велику кількість lncRNAs, що транскрибуються з ехансерних регіонів, які зазвичай займаються p300/CBP

RNA-полімеразою. Ці РНК можуть регулювати структуру хромосоми або механізм транскрипції через *cis-trans* – опосередкований механізм.

Більшість lncRNAs транскрибуються РНК-полімеразою II типу і мають всі риси матричних РНК, такі як: 5`сар ділянку, полі А-фрагмент, сайти сплайсингу. Рівень транскрипції lncRNAs є нижчим, ніж у мРНК [78].

На теперішній час існує декілька класифікацій lncRNAs. Перша – це локалізація lncRNAs, поділяється на декілька типів: 1) міжгенні (lincRNAs); 2) інтронні; 3) перекриваючі змістовні ділянки на екзонах (*sense-overlapping*); 4) анти сенс lncRNAs. Друга – механізм дії, який дозволяє виокремити такі пункти: 1) дія на транскрипційному рівні (*cis- ,trans-*); 2) пастка для білків (ізолюючі білки від сайтів дії); 3) спонж для miRNA; 4) ешафот для молекулярних комплексів і ядерних субдоменів (об'єднуючи субодиниці протеїнів разом) [79].

Дія на транскрипційному рівні реалізується або через котранскрипційну взаємодію між виникаючою lncRNAs і транскрипційним комплексом чи завдяки включенню таких комплексів як хроматин модифікуючі ензими, транскрипції сайтів, або у *cis-* або *trans-*. *cis-* сприяє здатності діяти на сусідні гени на ту ж алель, з якої вони транскрибуються. Цей тип lncRNAs формує зворотну 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 lncRNAs однозначно. За результатами деяких дослідників у структурі lncRNAs можуть заходитись мікропептиди [80,81]. Наприклад, у складі lncRNAs (LINC00948 у людини та AK009351 у мишей) було знайдено ділянку, на якій транскрибується мікропептид, що складається з 46 амінокислот – міорегулін (MLN). Він здатний інгібувати SERCA (мембранна помпа, що контролює розслаблення м'язів шляхом регуляції потраплення 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 [82].

За результатами останніх досліджень узагальнено та схематизовано вплив lncRNAs на кардіоміоцити.

Продемонстровано важливу роль lncRNAs у нормальному розвитку серця та при виникненні серцевих захворювань [82,83]. Встановлено, що у розвитку гіпертрофії міокарду приймає участь багато довгих некодуючих РНК, зокрема, CHRIF – фактор серцевої гіпертрофії (cardiac hypertrophy related factor) [84].

Нещодавно було показано вплив на гіпертрофічне ремоделювання серця та прогресування серцевої недостатності такої lncRNAs, як MHRT (кластер антисенс транскриптів локусу гену *Myh7*. MHRT – це РНК транскрипти, асоційовані з важким ланцюгом міозину («Myheart»), що безпосередньо приєднуються до *Brg1*, інгібуючи його хеліказну функцію [85]. Індукована експресія MHRT інгібує патологічне перетворення α -МНС у β -МНС, та захищає серце від недостатності. Щоб підтвердити роль MHRT в апоптозі серцевих клітин, який викликали за допомогою H_2O_2 , провели заглушення гену MHRT за допомогою siRNA (малі інтерферуючі РНК). Було встановлено, що такий нокдаун MHRT призвів до значно більшого числа апоптозних клітин, а це вказує на захисну функцію для кардіоміоцитів. Тому концентрація MHRT у плазмі може служити біомаркером для діагностики інфаркту міокарда у людей за перебігу гострого інфаркту міокарда [86].

Ще одна lncRNA CHAST, вивчена однією з останніх. Її асоціюють із гіпертрофічним ремоделюванням кардіоміоцитів серцевого гіпертрофія-асоційованого транскрипту [87].

Фізичні тренування, спрямовані на прояв витривалості, регулюють рівень у м'язах *PINK1* антисенс RNA і таким чином, впливають на процеси сплайсингу *PINK1*, метаболічного гена, пов'язаного із захворюванням Паркінсона [88].

Встановлено, що ген *LncMyoD* здатний контролювати проліферацію міобластів та впливати на регенерацію м'язів після пошкоджень [89]. Нокдаун *LncMyoD* перешкоджає міогенезу, придушуючи експресію генів у зрілих м'язових клітинах. Більше 1000 міжгенних lncRNA у м'язових клітинах лінії C2C12 приймають участь у формуванні м'язових волокон на рівні міотубів.

У енхансерному регіоні гена *MyoD* ідентифіковано дві lncRNA: ^{DRR}RNA (дистальний регуляторний регіон), ^{CE}RNA (core enhancer, головний енхансер). Вважається, що ^{CE}RNA (cis-) полегшує доступність хроматину та стимулює експресію гену, а ^{DRR}RNA функціонує в trans- і призводить до підвищення експресії міогеніну, ключового міогенного транскрипційного фактора [90].

1.4.1. Функціональна роль довгої некодуючої РНК MHRT. Myosin heavy-chain-associated RNA transcripts (*My heart*, or *MHRT*), from the *Myh7* loci. Відомо, що у випадку із патологічною гіпертрофією міокарду та серцевою недостатністю спостерігаються порушення співвідношення експресії генів *Myh6* та *Myh7*. *Myh6* пригнічується, а *Myh7* активується (рис.1.1) [91].

Хроматин ремодулюючий комплекс, що складається із Брама регульованого гена (Brahma Related Gene 1 (Brg1)), гістондеацетилази (histone deacetylase (Hdac)) та полі (poly (ADPribose) полімерази (Parp) регулює зміни у співвідношенні *Myh6* до *Myh7* під час серцевого стресу [92].

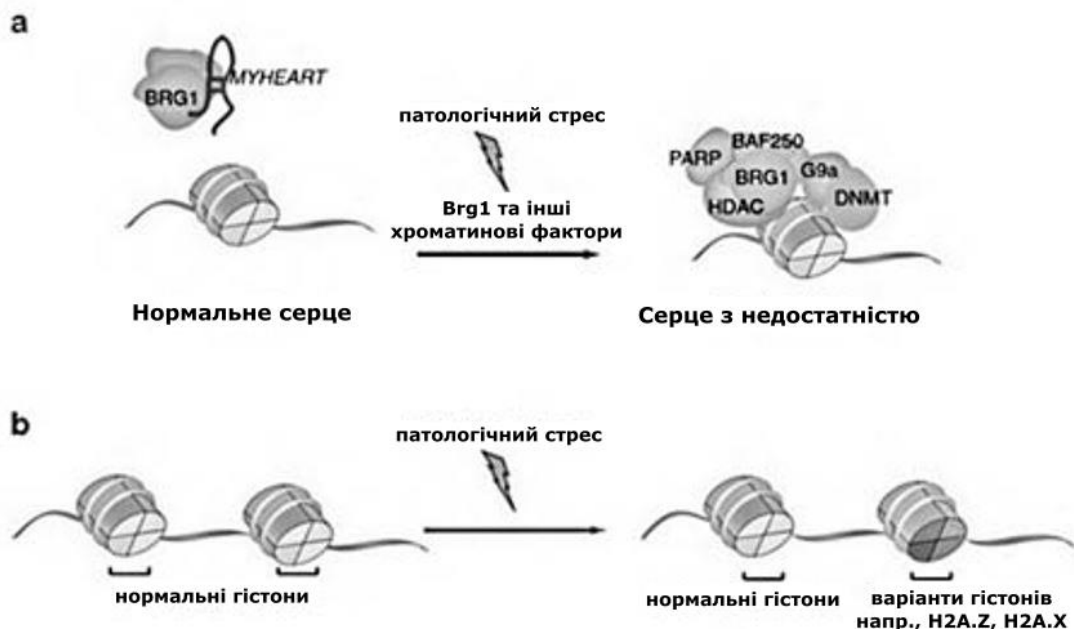


Рис. 1.1. Участь MHRT у розвитку гіпертрофії міокарда

Комплекс Brg1-Hdac-Parp активується під час серцевого стресу придушує експресію *Myh6* та індукує *Myh7*. Цей комплекс може зв'язувати промотор *Mhrt*. Ці lncRNAs специфічно експресуються тільки у міокарді, але їх немає у ендокардита епікарді. Рівень експресії *Mhrt* зростає при дозріванні серця і з віком співвідношення *Myh6/Myh7* зростає. Після застосування трансаортальної конструкції рівень *Mhrt* зменшився від 48 до 68% в серцях оперованих мишей у порівнянні із псевдооперованими. Ці зменшення спостерігалися через 2 дні після ТАС 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* впродовж серцевого стресу (рис1.2) [93].

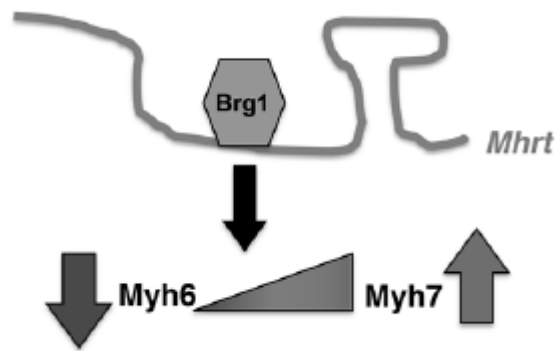


Рис.1.2. Механізми дії довгих некодуючих РНК: РНК транскрипт, асоційований із важкими ланцюгом міозину (MHRT)

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 MHRT підвищується у крові після інфаркту міокарда. Нокдаун гена цієї lncRNA призводить до розвитку апоптозу, демонструючи, що MHRT є захисним фактором для кардіоміоцитів, а її рівень може слугувати біомаркером для діагностики стану міокарда [86].

1.4.2. Участь довгої некодуючої РНК MIAT у метаболічних процесах міокарда. MIAT – транскрипт, асоційований із інфарктом міокарда (lncRNA myocardial infarction-associated transcript). MIAT вперше був ідентифікований як lncRNA десять років тому, досліджували епігенетику та патологічні ефекти MIAT [94].

Раніше було встановлено, що транскрипт, асоційований із інфарктом міокарда 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. LncRNA MIAT транскрибується, головним чином, у тканинах серця та мозку плода [95, 96]. Надмірна експресія MIAT пов'язана із клітинною проліферацією, апоптозом, міграцією при різних захворюваннях, включаючи інфаркт міокарда [97, 98]. Рівень MIAT значно підвищується при гіпертрофії міокарда, викликаний впливом ангіотензину II типу [99].

У кардіоміоцитах, що піддавалися впливу ангіотензину II, визначали рівень експресії lncRNA MIAT та miR-93 та рівень білків toll-like рецептора 4 (TLR4), атріального натрійуретичного фактору (ANF), важкого ланцюгу β -міозину (β -МНС), 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 β -важкого ланцюгу міозину. Результати свідчать, що рівень MIAT підвищується, а miR-93 знижується у кардіоміоцитах під впливом ангіотензину II. LncRNA MIAT працює як епонж для miR-93 в кардіоміоцитах. Білок TLR4 є мішенню для miR-93, а lncRNA MIAT стимулює експресію TLR4, зв'язуючи miR-93. Придушення MIAT зменшує площу поверхні клітин і рівень експресії ANF та β -МНС 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. Придушення lncRNA 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 lncRNA MIAT зменшує серцеву гіпертрофію через регуляцію miR-93/TLR4, що вказує на можливі шляхи таргетної терапії серцевої гіпертрофії [100].

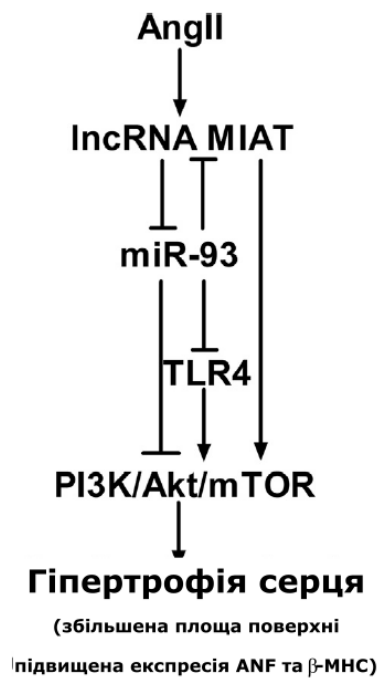


Рис.1.3. Механізм участі lncRNA MIAT у механізмах формування гіпертрофії міокарду під впливом ангіотензину II типу

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

1.4.3. Роль довгої некодуючої РНК LIPCAR у процесах розвитку гіпертрофії. За допомогою простого аналізу крові на основі lncRNA LIPCAR в популяційному дослідженні пацієнтів з добре контрольованим діабетом 2 типу, визначено, що lncRNA LIPCAR може служити корисним раннім діагностичним інструментом для оцінки діастолічної функції лівого шлуночка та ремоделювання [101].

Кумарсвами та його колеги показують, що пізній циркулюючий рівень lncRNA uc022bqs.1, який вони називали lncRNA LIPCAR, пов'язаний з несприятливими наслідками після інфаркту міокарда (розширення шлуночків) або при хронічній серцевій недостатності (серцево-судинна смертність) [102].

Враховуючи спостережувану асоціацію між параметрами діастолічної функції ЛШЛ та рівнями експресії lncRNA LIPCAR, було висунуто гіпотезу, що циркулюючі рівні цих lncRNAs можуть бути потенційними біомаркерами діастолічного порушення функції лівого шлуночка у пацієнтів з діабетом 2 типу, які показали більш високий рівень LIPCAR у порівнянні з пацієнтами з нормальною діастолічною функцією [91, 101].

1.4.4. Роль довгої некодуючої РНК NRON при адаптивних процесах організму спортсменів. LncRNA NRON (некодуючий РНК-репресор NFAT) разом із lncRNA MHRT, можуть запропонувати низку переваг як біомаркери. Ці lncRNAs можуть бути легко виявлені у зразках крові (цільній крові, плазми або сироватки), або ж у кількісному відношенні високочутливими методами, такими як полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі. Зміни кількості lncRNAs NRON і MHRT в крові можуть відображати зміни серцевої функції та структури під час розвитку патологічних станів захворювань серця [102, 103]. LncRNA NRON бере участь у генезисі та розвитку серцевої недостатності [85].

Висновки до розділу 1

Розвиток гіпертрофії міокарда у спортсменів у відповідь на систематичні фізичні навантаження – це мультифакторне 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 з проявом витривалості, досліджувалась методом ехокардіографії, є меншою, ніж частота, що визначається методом електрокардіографії. До переліку досліджуваних генів-кандидатів належать гени білків-регуляторів метаболічних мереж, структурних білків серцевого м'язу, факторів росту та гени некодуючих РНК (як мікро-, так і довгих РНК).

Основні положення розділу висвітлено у таких публікаціях автора, як:

- Дроздовська СБ, **Поліщук АО**. Участь некодуючих РНК (ncRNA) у формуванні гіпертрофії міокарду при м'язовій діяльності. Вісник проблем біології і медицини. 2017:38-43 [104].
- Vinnichuk YD, **Polischchuk AO**, Goshovska YV, Sokolova OS, Drozdovska SB. Changes in biochemical parameters and mitochondrial factor in blood of amateur athletes under influence of marathon running. Фізіологічний журнал. 2019;5(65):20-7 [105].
- Дроздовська СБ, **Поліщук АО**, Вінничук ЮД, Гончаров СВ, Досенко ВС. Молекулярно-генетичні особливості адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень: монографія. Київ: НУФВСУ; 2020. ТОМ 2. – 140 с. [106].

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ ТА ОРГАНІЗАЦІЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Методи досліджень

Для досягнення поставлених завдань, були використані методи, які широко використовуються в наукових дослідженнях біології, медицини та є широко описані в науковій літературі, а саме:

- 1) теоретичний аналіз та узагальнення даних науково-методичної літератури (визначення генів-кандидатів для дисертаційного дослідження);
- 2) молекулярно-генетичні:
 - забір біологічного матеріалу (букальний епітелій для виділення ДНК та венозна кров для виділення РНК);
 - виділення ДНК та РНК (проводили за допомогою екстракційного методу набором Neogen та *Trizol*-реагентом відповідно);
 - зворотна транскрипція (для отримання комплементарної ДНК);
 - полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі (для визначення поліморфізмів генів *PPARG*, *PPARA*, *PGC1A*, *UCP2*, *ACTN3* і *COL12A1* та довгих некодуючих РНК *LIPCAR*, *NRON*, *MHRT* та *MIAT*);
- 3) фізіологічні:
 - ергогенне дослідження (ступінчасто-зростаючий тест до моменту вимушеної відмови від роботи);
 - електрокардіографія (для оцінки електричної провідності серця);
 - ехокардіографія (для дослідження морфологічних і функціональних змін серця);
 - моделювання впливу фізичного навантаження на тваринах;
- 4) біохімічні методи;
- 5) методи математичної статистики;

- розподіл Пірсона, розподіл Стюдента, методи для порівняння вибірок (тести Мана-Уїтні, Шапіро-Вілка, Левена, Уельча та Брауна-Форсойта);
- однофакторний дисперсійний аналіз;
- метод бінарної логістичної регресії;
- факторний аналіз, кореляційний метод.

Молекулярно-генетичні методи включали: забір біологічного матеріалу; виділення ДНК; виділення РНК; детекція поліморфізмів методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (PCR-real time); зворотна транскрипція; преампліфікація та оцінка рівнів lncRNAs методом PCR-real time.

Для молекулярно-генетичного аналізу у нашій роботі ми використовували зразки ДНК, отримані шляхом забору букального епітелію – епітеліальних клітин ротової порожнини за допомогою універсального зонду «ЗГУ-ЦМ». Ротову порожнину попередньо перед забором матеріалу промивали 0,9% р-ном NaCl.

Венозну кров набирали в стерильних умовах у вакутайнери (BDVacutainer®) об'ємом 8 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти в якості антикоагулянту (“BectonDickinson”, USA).

2.1.1. Аналіз та узагальнення даних науково-методичної літератури.

Вивчення та аналіз наукової літератури був проведений для визначення теми дисертаційного дослідження, обґрунтування мети та формулювання завдань дослідження. За допомогою ознайомлення з науковим досвідом попередніх дослідників було встановлено актуальність проблеми, розроблено експериментальну модель і протоколи досліджень.

Дані, отримані в процесі теоретичного аналізу, допомогли сформулювати висновки та практичні рекомендації. Опрацьовано 155 джерел наукової літератури.

2.1.2. Метод виділення ДНК з клітин букального епітелію. ДНК виділяли з букального епітелію за допомогою набору реактивів Diatom™DNAprep (BioKom) («Центр Молекулярної Генетики», Росія). Використаний метод базується на дії лізуючого реагенту із гуанідин-тіоціанатом, 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 легко відмивається від білків та солей спиртовим розчином. Пізніше ДНК екстрагують із сорбента та переносять у стерильні вільні від ДНК та РНК мікропробірки. Отримана ДНК може безпосередньо використовуватися для проведення полімеразної ланцюгової реакції. Набір дозволяє виділяти із свіжого біологічного матеріалу високомолекулярну ДНК (40-50 тисяч 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 наступним протоколом.

Протокол виділення ДНК з біологічного матеріалу. Готували робочий 10-кратний розчин сольового буфера, 5 мл переносили у мірний циліндр, доводили бідистильованою водою до позначки 50 мл і 96% етиловим спиртом до мітки 150 мл і перемішували. Готовий робочий розчин сольового буфера зберігали в герметично закритому посуді при температурі 4°C. У пробірку об'ємом 1,5 мл вносили 100 мкл досліджуваної проби, додавали 400 мкл лізуючого розчину та перемішували. Термостатували суміш 5 хв при температурі 65°C. Далі центрифугували пробірки впродовж 10 сек при 5000 об/хв та додавали 20 мкл суспензії сорбенту *NucleoS™*. Перемішували проби 10 хвилин, після чого центрифугували пробірки 10 сек при 5000 об/хв та видаляли супернатант за допомогою помпи, не торкаючись до осаду сорбенту. Додавали 200 мкл лізуючого розчину, ретельно перемішували на вортексі до гомогенного стану. Далі проводили промивку проб: додавали 1 мл сольового розчину, центрифугували пробірки 10 сек при 5000 об/хв та видалення супернатанту за допомогою помпи, не торкаючись до осаду сорбенту із ДНК (повторювали 4

рази). Висушували осад при температурі 65°C впродовж 5 хв, додавали в пробірки 50 мкл Екстра Гена™ при постійному перемішуванні останнього розчину та темостатування 5 хв при температурі 65°C. Проводили центрифугування впродовж 1 хв при 10 000 об/хв, після чого переносили супернатант до мікропробірок та зберігали при температурі – 20°C для подальшої роботи.

2.1.3. Метод визначення алельних поліморфізмів генів *PPARG*, *PPARA*, *PGC1A*, *UCP2*, *ACTN3* та *COL12A1*. Для дослідження поліморфізмів генів-кандидатів за допомогою методу ПЛР у реальному часі, готували суміш: брали 3 мкл ДНК і додавали до розчину, що містить 5 мкл PCR-буферу, 1 мкл MgCl₂, 0,04 мкл dNTP (*10), по 0,2 мкл кожного з праймерів (табл. 2.1) та 0,05 мкл DreamTag-полімерази, обсяг доводили до 9 мкл деіонізованою водою. Дану суміш розносили у стерильні плашки для ПЛР. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили в термоциклері «Applied Biosystems 2700» (США). Для проведення генотипування необхідні наступні умови ПЛР: 50 циклів ампліфікації: 60°C (60 сек) → 95°C (10 хв 15 сек).

Таблиця 2.1

Характеристика наборів фірми Thermo Scientific для визначення поліморфізмів генів

№	Ген	поліморфізм	№ набору
1	<i>ACTN3</i>	rs1815739	assay ID C__590093_1
2	<i>PGC1A</i>	rs8192678	assay ID C__1643192_20
3	<i>PPARA</i>	rs4253778	assay ID C__2985251_10
4	<i>PPARG</i>	rs1801282	assay ID C__1129864
5	<i>UCP2</i>	rs660339	assay ID C__903746_1
6	<i>COL12A1</i>	rs970547	assay ID C__7580617_10

2.1.4. Протокол виділення РНК. У пробірку об'ємом 1,5 мл вносили 400 мкл плазми та додавали 1 мл *Trizol* реагенту. Інтенсивно перемішували вміст пробірок до гомогенного стану. Термостатували суміш 5 хв при температурі 4°C. Додавали у пробірку 200 мкл суміші хлороформу та ізоамілового спирту у співвідношенні 49:1. Знову термостатували суміш 5 хв при температурі 4°C. Далі центрифугували пробірки впродовж 6 хв при 13 000 об/хв. Переносили супернатант до чистої пробірки того ж об'єму. Додавали до проб 500 мкл ізопропанолу і розміщували пробірки із суспензією у морозильній камері при -20°C на 30 хв. Згодом центрифугували пробірки впродовж 16 хв при 13 000 об/хв. Видаляли супернатант та проводили промивку осаду: додавали 1 мл холодного (4°C) 75% розчину етилового спирту та центрифугували пробірки впродовж 6 хв при 13 000 об/хв. Видаляли супернатант та висушували осад пробірок 5 хв при температурі 65°C. Для подальшої роботи та зберігання біологічного матеріалу додавали 50 мкл ЕкстраГена™. Суспензували вміст пробірок на вортексі до отримання гомогенної суспензії та термостатували при температурі 65°C впродовж 5 хв.

2.1.5. Визначення експресії lncRNA за допомогою методу ПЛР у реальному часі. Проводили забір венозної крові у спортсменів за допомогою вакуумної системи BD Vacutainer®, у пробірки BD Hemogard™ (6 мл, 13x100мм) з K₂ЕДТА, нанесеним розпилюванням на внутрішню поверхню пробірки. У стерильну пробірку додавали 2 мл цільної крові та 2 мл 0,9 % NaCl. Центрифугували 15 хв при 3000 оборотів.

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

LIPCAR, NRON, MHRT та MIAT – досліджувані довгі некодуєчі РНК (In vitro gen by Thermo Fisher Scientific, Order Number: 96961403) (табл. 2.2). До кожної довгої некодуєчої РНКє 2 праймери:

Виробничі характеристики праймерів для визначення довгих некодуючих РНК

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

Для визначення довгих некодуючих РНК проводили наступні етапи:

- зворотну транскрипцію;
- преампліфікацію;
- ампліфікацію.

2.1.5.1. Зворотна транскрипція. Зворотна транскрипція проводилась у два етапи:

Етап I: у пробірці об'ємом 1,5 мл робили суміш розчинів з 5 мкл H₂O (деіонізована вода, очищена від нуклеаз) та 1 мкл Random Hexamer primer на один зразок. У пробірки об'ємом 200 мкл вносили по 6 мкл реакційної суміші та додавали 6 мкл тотальної РНК, обережно перемішували. Зразки інкубували впродовж 5 хв при 70°C (GeneAmp[®] PCRSystem 2700, Applied Biosystems, США).

Етап II: Готували суміш з розчинів (на одну пробу): 4 мкл Buffer RT, 2 мкл dNTP (×10), 0,9 мкл Revert Aid RT, 0,5 мкл Ribo-Lock RNase inhibitor. Обережно перемішували. Додавали суміш до зразків після першого етапу по 7,4 мкл. Здійснювали інкубацію суміші 1 год при 42°C, далі проводили реакцію прогрівання при 70°C впродовж 10 хв. Після цього пробірки із зразками переносили на лід.

Отриману кДНК використовували для полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі із застосуванням набору Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master

Mix (Thermo Fisher Scientific) для визначення експресії lncRNA. Реакційна суміш містила 5 мкл Maxima SYBR Green 2x, 0,02 мкл ROX (10%), 0,15 мкл Prup 0,15 мкл Prdw, 8 мкл dH₂O. Для контролю за якістю виділення РНК та порівняння інтенсивності експресії lncRNA паралельно ампліфікували фрагмент гена sel-miR-39.

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

У стерильній пробірці змішували розчин, до складу якого входило (на одну пробу): 3,7 мкл H₂O, 5 мкл SYBR Green max, 0,05 мкл праймера №1, 0,05 мкл праймера №2 та 0,2 мкл Rox. Дану суміш (9 мкл) розносили у чисті мікропробірки, куди згодом додавали 3 мкл кДНК. Програма преампліфікації складалась із 17 циклів на приладі (Gene Amp[®] PCR System 2700, Applied Biosystems, США).

2.1.5.2. Полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі. ПЛР у реальному часі проводили за допомогою приладу 7500 Fast Real-time PCR (Applied Biosystems, США).

У спеціальному стерильному 96-лунковому планшеті для ПЛР у реальному часі, до 3 мкл кДНК додавали 3,5 мкл H₂O, 5 мкл SYBR Green max, 0,15 мкл праймера №1, 0,15 мкл праймера №2 (табл. 2.3). та 0,2 мкл Rox.

Програма ампліфікації складалась з 50 циклів: денатурація – 96°C, 10 с, приєднання праймерів та елонгація – 60°C, 1 хв.

Таблиця 2.3

Праймери для визначення довгих некодуєчих РНК

lncRNA	Прямий	Зворотній	Джерело
MIAT	5'-TGTCTCCATTTGCTCAGTGC-3'	5'-TCAGGATGGTGCACCTCTCAG-3'	107
LIPCAR	5'-AAAGGATGCGTAGGGATGG-3'	5'-TTCATGATCACGCCCTCATA-3'	108
MHRT	5'-ACACGGCGTTCTTGAGTTT-3'	5'-AGTATGAGGAGTCGCAGTCG-3'	86
NRON	5'-GACCAATGCAACTCCAACCT-3'	5'-CATCTTCCAGTGGCAGCTTT-3'	39

2.1.6. Фізіологічні методи дослідження

2.1.6.1. Ергогенне дослідження. Оскільки наше дослідження біологічного характеру, та присвячене вивченню адаптаційних перебудов в організмі, що залежать від використаних фізичних навантажень, ми використовували термін «фізичні навантаження», а не «фізична робота». Навантаження класифікуються за характером, величиною та спрямованістю. За спрямованістю у роботі використовували навантаження, що розвивають витривалість. По характеру – тренувальні навантаження. За величиною, навантаження характеризуються із «зовнішньої» та «внутрішньої» сторони. Зовнішня – представлена показниками сумарної роботи, обсягу у часі, показниками інтенсивності. Внутрішня оцінюється реакцією організму на виконану роботу. Ми розглядали інтенсивність навантаження як ступінь напруженості діяльності функціональних систем організму, що забезпечують ефективне виконання вправ. В роботі було використано 3 види фізичних навантажень:

1. при ступінчасто-зростаючому тесті досягається VO_{2max} (максимальна інтенсивність);
2. при марафонському забігу спортсмени-аматори – 60-70 % від VO_{2max} (середня інтенсивність);

3. при заняттях танцювальним фітнесом 50-60% від $V'O_2\max$ (помірна інтенсивність).

ЧСС робоче для цього розраховували за формулою Карвонена (форм. 2.1):

Формула 2.1

$$[(220 - \text{вік}) - \text{ЧСС спокою}] \times 0,6 + \text{ЧСС спокою}$$

У якості ергогенного тесту використали одноразове фізичне навантаження зі ступінчасто-зростаючою потужністю до моменту вимушеної відмови від роботи. Тест проводили за допомогою веслувального ергометра Concept-II (USA) та на тредмілі «Laufband» (Germany). Після 3-хвилинної розминки без навантаження виконували стандартну тестуючу роботу з ступенево зростаючою 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 ($V'O_2\max$), аеробну ефективність («анаеробний поріг»), рівень загальної фізичної працездатності спортсмена ($W_{кр.Вт}$, $Вт \cdot кг^{-1}$).

2.1.6.2. Ехокардіографія. Адаптацію серця спортсменів до систематичних фізичних навантажень досліджували шляхом ехокардіографії за допомогою приладу IMAGIC Agil, Konrtonmedical 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 результату вимірів трьох послідовних кардіальних циклів. Досліджувались наступні показники: індекс маси лівого шлуночка (ІММЛШл), товщина міжшлуночкової перегородки (МШП, см), кінцево-діастолічний розмір лівого шлуночка (КДР, см), кінцево-систолічний розмір лівого шлуночка (КСР, см), об'єм лівого шлуночка на

кінцево-діастолічному зображенні (КДО, мл), об'єм лівого шлуночка на кінцево-сistolічному зображенні (КСО, мл), товщина задньої стінки лівого шлуночка (ЗСТ, см). З парастернальної позиції по довгій вісі (PLAX) ЛШл визначали товщину міжшлуночкової перегородки (МШП) та задньої стінки ЛШл (ЗСЛШл), а також кінцево-діастолічний (КДР) і кінцево-сistolічний (КСР), розміри ЛШл з розрахунком маси міокарда (ММ) та індексу маси міокарда (іММЛШл) ЛШл, а також поперечні діаметри виносного тракту ЛШл (ВТЛШл), кореня аорти (АО) та лівого передсердя (ЛП) (у систолу).

Ехокардіографічними критеріями норми показників серця у спортсменів чоловічої статі вважають збільшення товщини стінок лівого шлуночка не більше 13 мм, а КДОЛШл не більше, ніж 65 мм.

Всі обстежувані спортсмени були поділені на дві групи: 1. з ознаками гіпертрофії, 2. без ознак гіпертрофії міокарда.

Значення ММ більше, ніж 170 г оцінювали як прояв гіпертрофії міокарда: від 170 г до 195 г – помірна гіпертрофія, вище 195 г – виражена. Співвідношення КДО/ММЛШл менше $1,0 \pm 0,2$ та показник індексу маси міокарда (іММЛШл) більше 111 г/м^2 вважали ознакою гіпертрофії міокарда [109].

Відносну товщину стінок ЛШл розраховували за формулою (форм. 2.2):

Формула 2.2

$$\text{ВТСЛШл} = 2 \times \text{ЗСЛШл} / \text{КДРЛШл}$$

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

2.1.6.3. Моделювання впливу фізичного навантаження на тваринах.

Дослід проводився на дорослих самцях щурів Fisher (масою від 200 до 220 г) з дотриманням положень Закону України «Про захист тварин від жорстокого 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 4 особини в одній клітці при температурі повітря 22°C з підтримкою 12/12 циклом освітлення. Їх забезпечували їжею та водою у довільній кількості. Щурів поділили на дві групи: перша група – контрольна (КГ); друга група – щури, які виконували фізичні навантаження (плавання впродовж п'яти тижнів, тривалістю 30 хв на день) (ЕГ). Кожна група складалась із семи щурів. Самці щурів плавали по три особини у резервуарі (77 x 38 x 39 см), заповненому водою (32±1°C) висотою 31 см, з навантаженням 7,0 ± 1,3% від маси тіла, що відповідає 70–75 % $\dot{V}O_2$ max. Тренування відбувались 30 хв кожного дня впродовж 35 днів. Тест на визначення фізичної витривалості, яку оцінювали за максимальним часом плавання з вантажем 14,0±1,2 % від маси їх тіла до стану виснаження проводили перед початком тренування. Стан виснаження визначали за моментом, коли щури знаходились під водою більше 10 с. Час до настання виснаження вимірювали у хвиликах.

2.1.7. Методи математичної статистики

Статистичну обробку даних проводили за методами прийнятими для медико-біологічних досліджень. Вибір методів статистичної обробки результатів базувався на наступних 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 маси даних);
- можливість проведення нелінійної класифікації, яка характеризує переважну кількість генетичних баз даних;
- можливість провести ранжування предикторів в залежності від вагомості їх впливу на ризик виникнення мультифакторного захворювання;
- достатньо широке застосування методів у високорейтингових публікаціях відповідного профілю;

- доступність даних методів у готових програмних продуктах та наявність в методах зручного способу інтерпретації отриманих результатів аналізу.

Отримані результати популяційного аналізу вибірок були статистично оброблені за допомогою програм Excel 2010 та Statistica for Windows 12.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA) та Status (<http://status-please.herokuapp.com/>). Статистичну значущість різниці середніх величин визначали за критерієм Ст'юдента, а відмінностей у розподілі вибірок визначали за критерієм χ^2 (Пірсона). Значення $P < 0,05$ вважали достовірним.

Для невеликої вибірки, в експериментах з тваринами був застосований непараметричний тест Мана-Уїтні.

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 SPSSver. 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-Вілка. Гомогенність дисперсій була проаналізована за допомогою тесту Левана з наступним проведенням дисперсійного аналізу (ANOVA). У випадку гетерогенності дисперсій було проведено модифікації дисперсійного аналізу (тести Брауна-Форсайта і Уельча).

Мінімальний обсяг вибірки розраховували за формулою [16] (форм 2.3):

Формула 2.3

$$nmn = \frac{t^2 \alpha \sigma^2 N}{N \Delta^2 + t^2 \alpha \sigma^2}$$

Примітки: $t=2$ ($p=0.95$), $\sigma^2=0,25$, N – генеральна сукупність, $\Delta=0,1$ (10 % помилки)

Для підтвердження ролі довгих некодуючих РНК у формуванні ступеня гіпертрофії міокарда був проведений аналіз факторної структури фізичного стану спортсменів, та визначено кореляційні взаємозв'язки між величиною рівня lncRNAs та показниками ехокардіографії.

Факторний аналіз – аналіз, при якому встановлюється роль окремих факторів або їх взаємодія, виявляється комплексне і системне вивчення і вимірювання впливу факторів на величину результативних показників. Це означає, що дані факторного аналізу, як і кореляційного аналізу виявляють взаємозв'язок між змінними вибірки. Факторний аналіз проводиться для виділення найбільш інформативного показника. Кореляційний метод застосовували для встановлення залежності різних змінних одна від одної, у даному випадку це були показники ехокардіографії серця спортсменів та рівні експресії довгих некодуючих РНК.

2.2. Організація досліджень

2.2.1. Етапи дослідження

Перший етап дослідження (2017-2018 рр.) був присвячений аналізу наукової літератури та пошуку молекулярно-генетичних маркерів гіпертрофії міокарда, що дозволило визначити мету і завдання роботи, а також розробити експериментальну модель та підібрати протоколи досліджень. Після аналізу літератури, було проведено відбір спортсменів, які дали свою згоду на участь у дослідженні. Усі спортсмени проходили електрокардіографічне та ехокардіографічне обстеження на базі кафедри кардіології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика та ННЦ «Інституту кардіології ім. академіка М. Д. Стражеско» АМН України. Усі дані проходили обробку та статистичний аналіз.

Другий етап (2018-2019 рр.) дослідження включав у себе пошук асоціації між ДНК поліморфізмами та показниками гіпертрофії міокарда у спортсменів. У результаті чого був створений спосіб визначення схильності до розвитку

гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним проявом витривалості.

Третім етапом роботи (2018-2020 рр.), було визначення експресії довгих некодуєчих РНК у спортсменів після фізичних навантажень різної інтенсивності та тривалості.

Проводили моделювання впливу фізичного навантаження на розвиток гіпертрофії міокарда на тваринах за допомогою ергометричного навантаження. Визначали експресію двох некодуєчих РНК у повільно- і швидкоскоротливих скелетних м'язах та міокарді.

Використано декілька підходів дослідження, а саме: «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) відбувалися на базі лабораторії стимуляції працездатності та адаптаційних реакцій у спорті вищих досягнень Науково-дослідного Інституту Національного університету фізичного виховання і спорту України.

Моделювання впливу фізичного навантаження на тваринах та усі 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) для дослідження рівня експресії некодуєчих РНК. ДНК виділяли з букального епітелію за допомогою екстракційного методу набором NeoGen, методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі визначали поліморфізми генів.

2.2.2 Характеристика контингенту

Обстеження стану серця методами ЕХО та ЕКГ у спортсменів, що спеціалізуються у видах спорту з проявом витривалості і є членами національних збірних команд України з легкої атлетики та веслування академічного, було проведено на базі кафедри кардіології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика та ННЦ «Інституту кардіології ім. академіка Н.Д. Стражеско» АМН України. У всіх обстежуваних проведено анкетування та отримано письмо згоду на участь у дослідженні та обробку даних, забраний біологічний матеріал (венозна кров та букальний епітелій).

У нашому дослідженні брали участь чоловіки середнього віку (табл. 2.4), 173 особи, з яких 111 осіб – кваліфіковані спортсмени, які спеціалізуються у видах спорту з проявом витривалості, 12 – спортсмени-аматори та 50 осіб, які не мали попереднього досвіду занять спортом, що власне склали контрольну групу (30 – жіночої статі та 20 чоловічої).

Таблиця 2.4

№ п/п	Суб'єкти	Кількість
1	Кваліфіковані спортсмени	111
2	Спортсмени-аматори	12
3	Контрольна група	50

Дослідження змін рівнів довгих некодуєчих РНК на навантаження середньої інтенсивності проводили шляхом обстеження спортсменів-аматорів до марафонського забігу (стан спокою), через 1 годину після (негайні зміни) та через 24 години (відставлені зміни).

Контрольна група виконувала фізичне навантаження помірної інтенсивності, що полягало у систематичних фізичних навантаженнях (заняття фітнесом) впродовж 3 місяців. Група тестувалась до початку фізичних

навантажень та після.

Дослідження змін рівня довгих некодуючих РНК у відповідь на фізичні навантаження переважно аеробного характеру енергозабезпечення у кваліфікованих спортсменів проводилося у стандартизованих лабораторних умовах з використанням методу ергометрії.

Спортсмени виконували у якості тестуючого навантаження ступінчасто-зростаючий тест до моменту вимушеної відмови від роботи. В цьому випадку фізичне навантаження характеризувалось як робота максимальної інтенсивності.

Тестування проводилося після дня відпочинку при стандартизованому режимі харчування та питному режимі. Спортсмени були обізнані про зміст тестів і дали згоду на їх проведення. Усі дослідження 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.

Дослідження отримали погодження з Комітетом з біомедичної етики Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України для досліджень з тваринами, що підтверджено витягом з протоколу №4/19 засідання Комітету від 02.07.2019 року.

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ УЧАСТІ ДНК-ПОЛІМОРФІЗМІВ У ПРОЦЕСАХ ФОРМУВАННЯ ГІПЕРТРОФІЇ МІОКАРДА У СПОРТСМЕНІВ ПІД ВПЛИВОМ СИСТЕМАТИЧНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ АЕРОБНОГО ХАРАКТЕРУ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ

3.1. Статистичний 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 (на загал -41 заклад). Протягом року ці установи обстежують близько 11 тисяч 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» пройшло обстеження 7087, у 2015 р. – 7742, у 2016 р. – 6856 спортсменів, то обстежень ЕКГ було у декілька разів більше: 2014 р. – 21210; 2015 р. – 22980; 2016 р. – 20212.

За даними обстежень спортсменів у державній установі «Український медичний центр спортивної медицини МОЗ України» серед результатів ЕКГ зустрічаються наступні 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).

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)	-(0)
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)

Продовження таблиці 3.1

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

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 [5], так і для осіб з патофізіологічними відхиленнями [110]. Електрокардіологічні зміни у спортсменів з метаболічною КМП фізичного перенапруження і пограничних станів є факультативними і дозволяють проводити тільки первинний скринінг для визначення осіб з підозрою на патологію міокарда з загальної кількості обстежуваних. Як правило, для уточнення діагнозу необхідні додаткові функціональні проби та дослідження, як то ЕхоКГ. При аналізі результатів ехокардіографічного обстеження спортсменів за 2014-2016 р. встановлено частоту звернень спортсменів та % випадків спортсменів з ознаками гіпертрофією міокарда (табл.3.2).

Таблиця 3.2

**Частота зустрічі спортсменів з гіпертрофією міокарда за результатами
ехокардіографії**

№	Вид спорту	N обстежених	N випадків гіпертрофії міокарда	% від кількості обстежених
1	Футбол	315	34	11
2	Бокс	39	10	25
3	Веслування академічне	24	8	33
4	Важка атлетика	3	2	66
5	Інші види	778	109	14
	Загальна кількість обстежених	1159	163	14,06

Отже, встановлено, що у різних видах спорту різна частота зустрічі ознак гіпертрофії міокарда, що у середньому становила 14,06 %. Вищою частотою характеризувалось веслування академічне. Це співпадає з результатами літературних джерел, які свідчать, що найбільшою масою міокарда відрізняються спортсмени у веслуванні академічному [8].

Таким чином, частота зустрічі відхилень серцево-судинної системи у спортсменів, членів збірних команд України зустрічається у 24% випадків звернень до медичних установ України, що складає 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. Порівняльний аналіз ехокардіографічних показників контрольної групи та спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість

Результати ехокардіографічного обстеження спортсменів, виконаного на базі кафедри кардіології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика, показали, що в загальному ММЛШЛ (г) наших спортсменів становила $167,5 \pm 4,25$, товщина МШП (см) була $1,14 \pm 1,25$, КДО (мл) складав $131,85 \pm 5,9$, а КДР (мм) була рівна $5,05 \pm 1,8$.

Аналіз результатів ехокардіографічного обстеження спортсменів різних видів спорту представлено у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Відмінності показників ехокардіографічного дослідження у спортсменів різних видів спорту, $m \pm \sigma$

Вид спорту	ММЛШЛ, г	МШП, См	КДР, мм	КСР, мм	КДО, мл	КСО, мл
Веслування академічне (n=37)	$170 \pm 4,6$	$1,31 \pm 2,1$	$5,1 \pm 1,0$	$8,3 \pm 2,2$	$133,7 \pm 8,8$	$60,6 \pm 19,5$
Легка атлетика (види на витривалість) (n=13)	$165 \pm 3,9$	$0,96 \pm 0,4$	$5,0 \pm 2,6$	$6,13 \pm 2,7$	$130 \pm 3,5$	$55 \pm 3,2$
P	0,064	0,37	0,13	0,015*	0,007*	0,068

Примітки: * – статистично значущі відмінності за тестом Манна-Уїтні ($P \leq 0,05$)

Такі показники ехокардіографії серця спортсменів цих видів спорту як КСР і КДО відрізнялись у 1,36 рази ($P=0,015$) та у 1,02 рази ($P=0,007$) відповідно.

З отриманих даних, видно що найбільш виразними показниками гіпертрофії міокарда характеризувалися спортсмени, які спеціалізуються у веслуванні академічному.

Проведено порівняльний аналіз ехокардіографічних показників контрольної групи і спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним проявом витривалості (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Показники ехокардіографічного дослідження у контрольній групі та у групі кваліфікованих спортсменів, $M \pm \sigma$

Вид спорту	ММЛШЛ, Г	МШП, см	КДР, мм	КСР, мм	КДО, мл	КСО, мл
Контрольна група, n=20	118,4±34, 8	0,92± 0,16	4,8± 0,46	3,25± 0,4	113,8± 21,9	43,7±1 0,1
Кваліфіковані спортсмени, n=50	167,5± 4,25	1,14± 1,25	5,05± 1,8	7,22± 2,45	131,85± 5,9	57,8±1 1,35
P	0,0001*	0,0001*	0,76	0,92	0,16	0,9

Примітки: * – статистично значущі відмінності за тестом Манна-Уїтні ($P \leq 0,05$)

У роботі встановлено, що всі показники ехокардіографічного обстеження були вищі у кваліфікованих спортсменів, ніж контрольній групі, хоча лише у 25 спортсменів були виявлені ознаки гіпертрофії міокарда. ММЛШл збільшена у 1,42 рази ($P \leq 0,05$), а показники МШП (см) у 1,24 рази ($P \leq 0,05$). Кінцево-діастолічний розмір був вищий у 1,05 рази, а кінцево-систолічний розмір збільшений аж у 2,22 рази. Аналізуючи дані об'ємів серця, було визначено, що кінцево-діастолічний об'єм збільшений у 1,16 рази, а кінцево-систолічний у 1,33 рази.

Відомо, що у осіб, які не займаються спортом, КДО/ММЛШл показник знаходиться у межах 0,9–1,1, а при адаптаційному процесі серця до фізичних навантажень, цей показник збільшується до 1,2. При переважному розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів показник КДО/ММЛШл знижується до 0,8 та нижче [109]. За даними інших авторів зниження співвідношення КДО/ММЛШл нижче 1,0 свідчить про переважання гіпертрофії міокарда над його дилатацією [9]. У наших дослідженнях КДО/ММЛШл у контрольній групі нашого дослідження становив $1 \pm 0,22$ г/мл, а у групі спортсменів – $0,73 \pm 0,15$ г/мл (табл. 3.4), що може свідчити, що провідним механізмом адаптації є активація синтезу білка, що призводить до переважної гіпертрофії міокарда.

Отримані дані підтверджують, що адаптаційний процес до систематичних інтенсивних фізичних навантажень у спортсменів, спрямовані на виконання підвищеної функціональної працездатності серця, супроводжуються збільшенням морфо-функціональних показників міокарда, але без істотного збільшення на одиницю м'язової маси серця, тому власне патологічних змін – не виявлено. Така адаптаційна перебудова серцево-судинної системи, одним із проявів якої є фізіологічна гіпертрофія, дає змогу спортсменам виконувати більший об'єм роботи.

3.3. Асоціація поліморфізмів генів-кандидатів із схильністю до розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах з переважним проявом витривалості

При аналізі наукової літератури, було встановлено перелік генів-кандидатів, білкові продукти яких приймають участь у процесах адаптації до фізичних навантажень, а їх поліморфізми можуть призводити до змін фізико-хімічних властивостей цих білків, їх функціональної активності, або ж до змін морфо-функціональних показників організму. Потенційні біомаркери були вибрані з огляду на їх доведену функціональну значущість та можливість їх детекції. До переліку цих поліморфізмів, які можуть слугувати молекулярно-генетичними маркерами перебігу адаптаційних процесів серцево-судинної системи в організмі людини, належали:

- 1) поліморфізми генів, що кодують білки, які беруть участь у процесах адаптації до фізичних навантажень в 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, які кодують білки, що є структурними білками міофібрил, є транскрипційними факторами генних мереж, впливають на роботу серцево-судинної системи і мають плейотропний ефект дії.

Адаптація до фізичних вправ викликає збільшення рівня процесу гліколізу у кардіоміоцитах [53], до переліку також увійшли гени, що впливають на вуглеводний та жировий обмін у міокарді. А оскільки основне джерело енергії міокарда – окислення жирів, то до досліджуваних маркерів, також увійшли гени жирового обміну, що є маркерами функціонування серця [23].

Було проведено вивчення наявності асоціацій поліморфізмів генів-кандидатів з показниками ехокардіографічного дослідження серця у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з проявом витривалості (табл. 3.5).

Характеристика досліджуваних поліморфізмів

№	Ген	Поліморфізм		Тип	Хромо-сома	Локаліза-ція	SNP ID
		Нуклео-тидна форма запису	Амінокис-лотна форма запису				
1	<i>PPARA</i>	G ²⁵²⁸ →C	–	–	22q13.3 1	7 інтрон	rs4253778
2	<i>ACTN3</i>	C ⁵⁷⁷ →T	R ₅₇₇ →X	non	11q13– q14	16 екзон	rs1615739
3	<i>PPARG</i>	C ³⁴ →G	Pro ₁₂ →Ala	mis неконсерв	3p25	екзон	rs1801282
4	<i>UCP2</i>	C/T	Ala ₅₅ →Val	інсерція / делеція	11q13	8 екзон	rs660339
5	<i>PGC1A</i>	G ¹⁴⁴⁴ →A	Gly ₄₈₂ →Ser	одно- нуклео- тидна заміна	37p13	8 екзон	rs8192678
6	<i>COL12A1</i>	G/A	–	одно- нуклео- тидна заміна	6q12– q13	6 екзон	rs970547

У дослідженні взяли участь 50 спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з проявом витривалості (біг на довгі дистанції, веслування академічне).

Частота зустрічі генотипу Pro/Pro гена *PPARG* в українській популяції становила 64,2 %, що 1,11 рази нижча по відношенню до наших результатів та Ala/Ala (1,9 %) у 4,8 рази, а частота зустрічі генотипу Pro/Ala (34,0 %) у 1,5 рази вища. Генотип G/G гена *PPARA* в українській популяції частіше зустрічається у 1,02 рази, генотип G/C у 1,27 рази, проте генотип C/C у 7 разів рідше. Генотип R/R гена *ACTN3* зустрічається з частотою 36,9 %, генотип R/X 48,8%, а у групі досліджуваних спортсменів 35,4 % та 44,15%, що у 1,04 та 1,11 рази вища

відповідно. Частота зустрічі гентипу X/X гена *ACTN3* (14,3 %) в українській популяції була нижча, ніж у групі спортсменів у 1,43 рази [111] (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Частота зустрічі генотипів і алелей у групіспортсменів (n=50), %

Ген		<i>PPARG</i>	<i>PPARA</i>	<i>UCP2</i>	<i>PGC1A</i>	<i>ACTN3</i>	<i>COL12A1</i>
Група	Генотип						
N (n=50)	A/A	71,25	72,7	26,25	54,5	35,4	65,5
	A/a	22,65	19,55	52,5	31,5	44,15	30,5
	a/a	9,1	7,75	21,25	26	20,4	4
	Частота алеля А	82,6	82,45	52,7	64,25	57,5	80,8
	Частота алеля а	17,4	17,55	47,5	35,75	42,5	19,2

Примітки: A/A–гомозиготи за мажорним алелем; A/a–гетерозиготи; a/a – гомозиготи за мінорним алелем

Всіх спортсменів було поділено на дві групи, оскільки у 25 спортсменів при ехокардіографічному дослідженні були підтвержені ознаки гіпертрофії міокарда: спортсмени без ознак гіпертрофії міокарда (група N); спортсмени з ознаками гіпертрофії – група G (n=25). Поділ на групи відбувався згідно показників ММЛШл, МШП, КДОЛШл та ІММЛШл. До групи без ознак гіпертрофії міокарда відносили спортсменів із показниками ММЛШл нижче 170 г, МШП до 1,1 см, КДОЛШл був менший, ніж 145 мл, а показник ІММ не перевищував 111 г/м². У групу із гіпертрофією міокарду були об'єднані спортсмени із ознаками помірної та вираженої гіпертрофії: ММЛШл 170 г і вище, МШП та КДОЛШл були вищі, ніж 1,2 см та 145 мл відповідно. До групи із гіпертрофією відносили спортсменів, у яких ІММ становив 112 г/м² і вище.

Частота зустрічі генотипів та алелей у досліджуваній вибірці представлена у таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

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>COL12A1</i>
Група	Генотип						
N – група без ознак гіпертрофії міокарда (n=25)	A/A	62,5	65,4	37,5	64	45,8	56
	A/a	33,3	23,1	50	24	33,3	36
	a/a	4,2	11,5	12,5	12	20,8	8
	Частота алеля А	79,2	76,9	62,5	76	62,5	74
	Частота алеля а	20,8	23,1	37,5	24	37,5	26
G – група з ознаками гіпертрофії міокарда (n=25)	A/A	80	80,0	15	45	25	75
	A/a	12	16,0	55	15	55	25
	a/a	8	4	30	40	20	–
	Частота алеля А	86	88	42,9	52,5	52,5	87,5
	Частота алеля а	14	12	57,5	47,5	47,5	12,25
	P ₁	0,19	0,44	0,16	0,09	0,37	0,96
	P ₂	0,37	0,14	0,045*	0,02*	0,34	1

Примітки: A/A – гомозиготи за мажорним алелем; A/a – гетерозиготи; a/a – гомозиготи за мінорним алелем; P₁ – статистична вірогідність відмінностей за розподілом генотипів між групами; P₂ – статистична вірогідність відмінностей за розподілом алелей порівняно між групами; * – статистично значущі відмінності за χ^2 – критерієм

Статистично значущі дані щодо частоти зустрічей алельних варіантів були отримані у двох генах – *UCP2* та *PGC1A*. Відомо, що ген *UCP2* впливає на дисфункцію мітохондрій, а ген *PGC1A* транскрипційний фактор, що впливає на вуглеводний метаболізм, а отже, гени мають вплив на енергетичний метаболізм кардіоміоцитів.

3.3.1. Аналіз розподілу генотипів та алелей за Pro₁₂→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 міокарда розподіл відрізняється ($P=0,01$), що може свідчити про можливий вплив даного фактору на фенотип, який поки що не підтверджується статистично через невелику вибірку. Спостерігається висока частота зустрічі генотипу Ala/Ala (8%) серед спортсменів з ознаками гіпертрофії міокарда. У наших дослідженнях в групі спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість, частота Pro/Pro-генотипу була вищою за аналогічну у популяції українських спортсменів на 12,5 % ($P<0,05$) [112]. Такі результати свідчать, що Pro-алель може сприяти розвитку високої фізичної працездатності у видах спорту з переважним проявом витривалості.

3.3.2. Аналіз частоти зустрічей генотипів та алелей за G²⁵²⁸→C поліморфізмом гена *PPARA*. Аналіз дозволяє стверджувати, що у групі спортсменів із гіпертрофією більша частота зустрічі алеля G (на 11% більше ніж у осіб без гіпертрофії). Також 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) [113]. Все вище вказане підтверджує теорію про те, що G²⁵²⁸→C поліморфізм 7-го інтрону гена *PPARA* може виступати маркером і витривалості, а G-алель є асоційованим із проявом витривалості [114]. Відомо, що у носіїв G-алеля окислення жирних кислот у клітинах печінки, міокарда, скелетних м'язів та інших органах відбувається інтенсивніше, ніж у носіїв C-алеля, очевидно,

тому алель G відноситься до алелей, що сприяють високій спортивній працездатності. Очевидно сприятливий алель дозволяє спортсменам виконувати більшу кількість роботи, що призводить до розвитку гіпертрофії міокарда.

3.3.3. Розподіл генотипів та алелей за G/A поліморфізмом гена *PPARGC1A*. У спортсменів із гіпертрофією міокарда частота генотипа G/G на 19% відсотків вища, ніж в групі без гіпертрофії, а частота алеля A на 23,5% більша ($P=0,02$).

Ключова функція *PPARGC1A-1 α* – зіштикювання всіх транскрипційних факторів з ядерними рецепторами. У результаті опосередкованої дії фактора може відбуватися зміна композиційного складу м'язів, наприклад: білі швидкоскоротливі волокна можуть перетворюватися на повільноскоротливі червоні, підвищується секреція інсуліну, знижується жирова маса тіла. A-алель асоційований з проявами метаболічного синдрому, частота його поширення 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 Gly₄₈₂→Ser вважають предиктором витривалості [115]. Очевидно спортсмени – носії A/A генотипу схильні до фізичних навантажень анаеробного характеру, які можуть викликати у них неадекватну адаптацію у вигляді надмірної гіпертрофії міокарда.

Тобто, G-алель сприяє адекватній адаптації до вправ спрямованих на витривалість, тоді як A-алель призводить до неадекватної адаптації, до переходу кардіоміоцитів на вуглеводний метаболізм.

3.3.4. Розподіл алельних варіантів за Ala₅₅→Val поліморфізмом гена *UCP2*. В групі спортсменів із гіпертрофією зустрічається низька частота алеля Ala (на 20%) і низька частота алеля Val ($P=0,045$). Відомо, що ген *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 при цукровому діабеті 2-го типу. С/Т поліморфізм гена *UCP2* (rs660339) викликає заміну Ala на Val у 55 положенні білку *UCP2*, що призводить до збільшення метаболічної ефективності м'язової діяльності, схильність до ожиріння при низькій фізичній активності [116, 117]. Очевидно, що підвищена частота зустрічі алеля Val є результатом спортивного відбору.

3.3.5. Аналіз алельних варіантів R₅₇₇→X поліморфізму гена *ACTN3*. У нашому дослідженні частота зустрічі мінорного алеля X у групі обстежених спортсменів становила 47,5%. У попередніх дослідженнях було встановлено, що частота цього алеля в українській популяції становить 38,7%, а в групі спортсменів різних видів спорту 31,8% [111]. Частота X алеля, пов'язаного із недостатністю α-актиніна-3 у скелетних м'язах, у нашій вибірці на 15,7% перевищувала частоту у групі спортсменів різних видів спорту, що, можливо, пояснюється тим, що у нашій вибірці – тільки спортсмени, що спеціалізуються у видах спорту із проявом витривалості, а X-алель надає переваги у цих видах спорту, збільшуючи аеробну працездатність. У групі спортсменів із ознаками гіпертрофії спостерігалась більша частота алеля R (52,5%), частота зустрічі генотипу R/R становила 25%, а в групі без гіпертрофії – 45,8%. Частота зустрічі генотипу X/X у групі без ознак гіпертрофії міокарда на 10% менша, ніж у групі спортсменів з гіпертрофією. Але не було встановлено вірогідних відмінностей між групами.

Відомо, що однонуклеотидна заміна в гені *ACTN3*, призводить до зупинки синтезу білка α-актиніну-3, внаслідок чого, знижуються показники роботоздатності спортсмена. Очевидно, що R-алель, може сприяє розвитку гіпертрофії скелетних м'язів та міокарда, проте невеликий обсяг вибірки не дозволив нам підтвердити цю тенденцію статистично значущими результатами.

3.3.6. Розподіл генотипів та алелей за G/A поліморфізмом гена COL12A1. У нашій роботі у групі спортсменів із ознаками гіпертрофії міокарда, розподіл генотипу G/G за поліморфізмом G/A гена COL12A1 був на 19% вищий, ніж у групі спортсменів без ознак гіпертрофії. Частота зустрічі мінорного A-алеля у групі спортсменів з гіпертрофією була нижчою на 13,75%, що означає меншу здатність спортсменів даної групи отримати травму та дає змогу покращувати швидкісні показники роботи спортсмена.

3.4. Асоціація поліморфізмів генів-кандидатів із показниками ехокардіографічного дослідження серця

Застосування однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) дозволило встановити взаємозв'язок між поліморфізмами та показниками ехокардіографічного дослідження серця. Серед найбільш інформативних показників серця розглядали: ММЛШл, КДОЛШл, ФВ%, КДО/ММЛШл, МШП.

Було встановлено, що G/A поліморфізм гена COL12A1 асоційований із показником фракції викиду лівого шлуночка ($P=0,001$) (рис.3.1). У спортсменів із генотипом G/G він становив $60,33 \pm 1,09\%$; у спортсменів з G/A-генотипом – $69,00 \pm 1,38\%$. За інформацією, що міститься у базі даних NCBI даний ген експресується у серцевій тканині. Очевидно, що поліморфізм цього гену впливає на розтяг міокарда. Сполучна тканина формує каркас органів і тканин. Дисбаланс окремих видів колагена, у тому числі і 12 типу призводить до зниження міцності тканини [9].

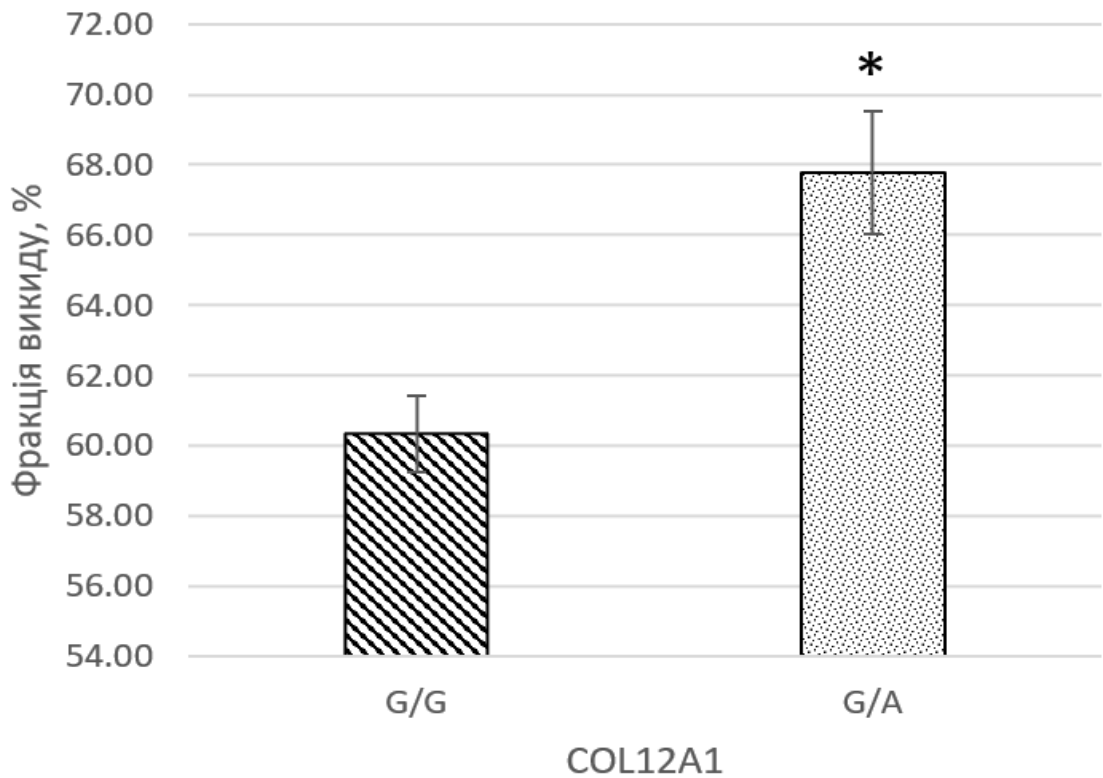


Рис. 3.1. Показники фракції викиду лівого шлуночка, % у спортсменів з різними генотипами: G/G-генотип, G/A-генотип; *—статистично значущі дані у порівнянні з показником G/G-генотипу ($P < 0,05$)

Поліморфізм гена *COL12A1* також здійснює вплив на показник товщини міжшлуночкової перегородки серця – МШП ($P = 0,0001$) (рис.3.2). У спортсменів із генотипом G/G вона становила $1,04 \pm 0,02$ см; у спортсменів з G/A-генотипом – $1,001 \pm 0,055$, а A/A – генотипом – $0,46 \pm 0,34$ см. Це означає, що генотип A/A супроводжується найменшими показниками товщини міжшлуночкової перегородки та величини фракції викиду.

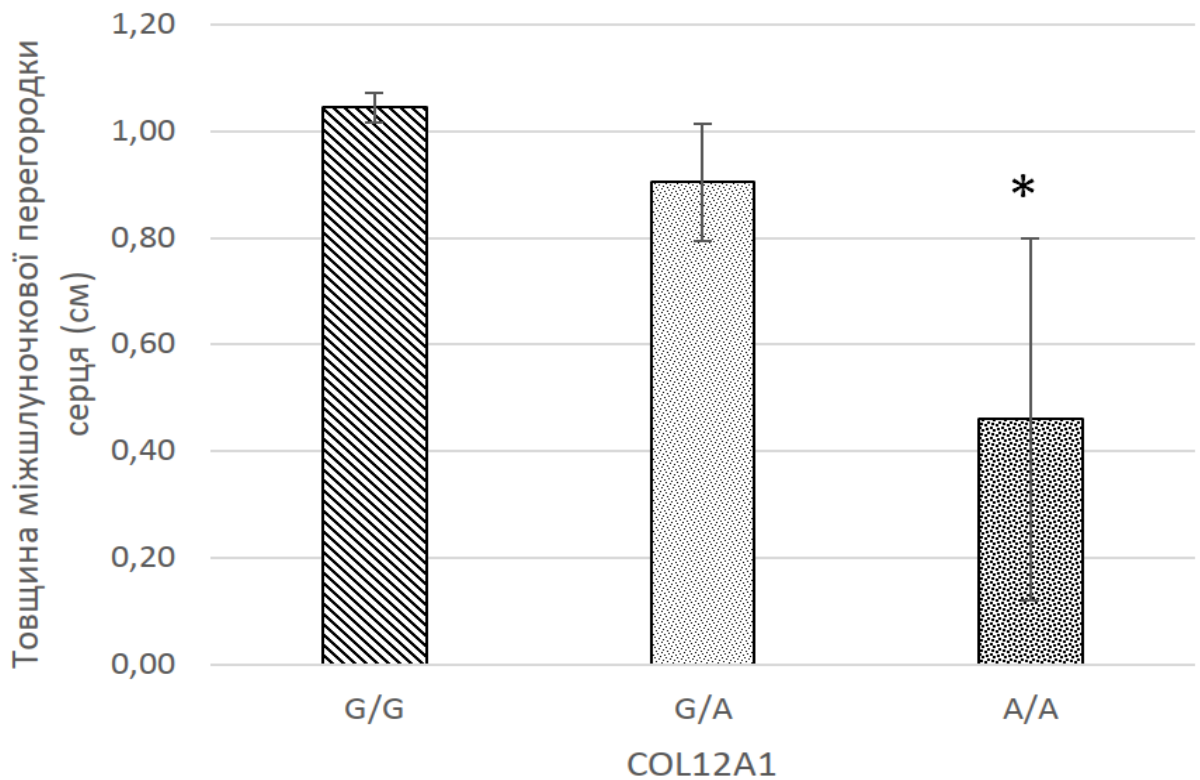


Рис. 3.2. Показники товщини міжшлуночкової перегородки серця у спортсменів (см) спортсменів з різними генотипами: G/G-генотип, G/A-генотип; *—статистично значущі дані у порівнянні з показником G/G-генотипу ($P < 0,05$)

Встановлена асоціація G/C поліморфізму гена *PPARA* з товщиною МШП ($P = 0,042$) (рис.3.3). Власне, спостерігається тенденція до зменшення товщини перегородки паралельно із зменшенням частоти алеля С, що співпадає із тенденцією, встановленою при аналізі частоти генотипів в групах із гіпертрофією міокарда та без неї. У спортсменів з G/G – генотипом МШП 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 – $0,72 \pm 0,30$. 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 й за енергозабезпечення міокарда під час м'язової роботи.

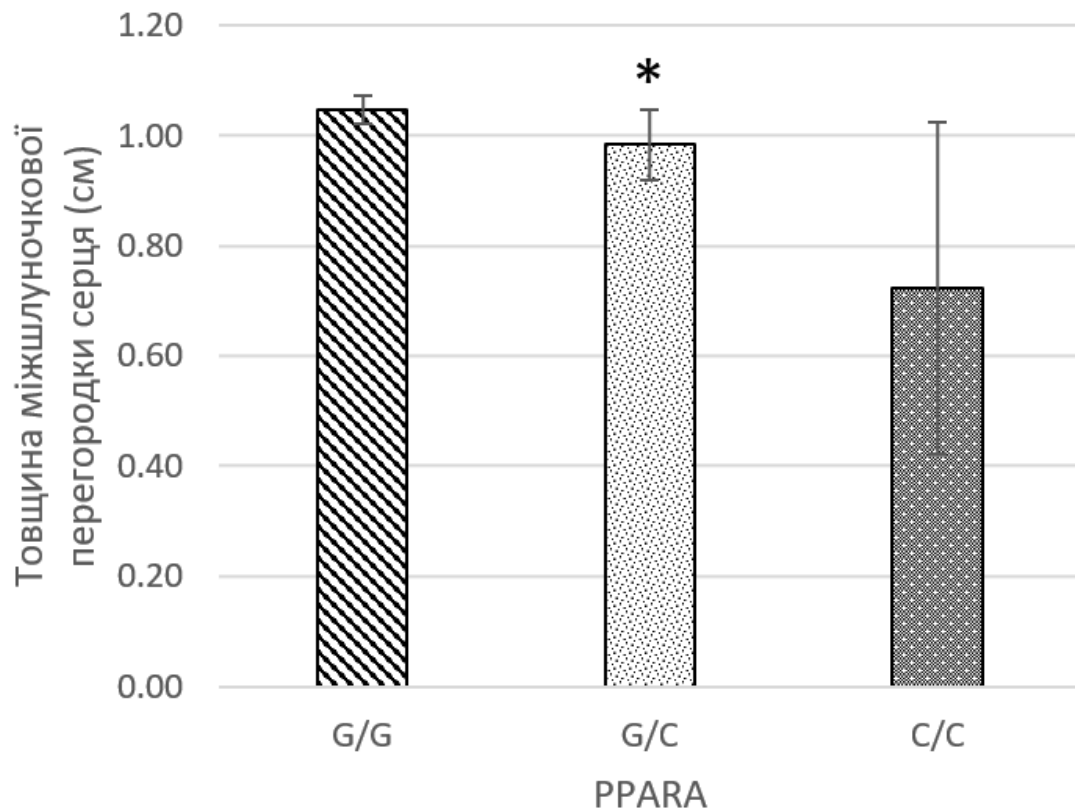


Рис. 3.3. Показники товщини міжшлуночкової перегородки серця у спортсменів (см) з різними генотипами гена *PPARA*: G/G-генотип, G/C-генотип, C/C-генотипи; * – статистично значущі дані у порівнянні з C/C-генотипу ($P < 0,05$)

Показано асоціацію Pro/Ala поліморфізму гена *PPARG* з показниками ЕХО, кінцево-діастолічним об'ємом лівого шлуночка (КДО) ($P = 0,005$). У носіїв Pro/Pro-генотипу величина КДО складала $126,04 \pm 5,65$ мм, а у носіїв Pro/Ala-генотипу – $96,70 \pm 6,64$ мм (рис. 3.4). Цікаво, що у спортсменів, у видах спорту на витривалість – високий КДО – це показник адекватної адаптації. А отже, зниження КДО у спортсменів-носіїв Ala-алеля є ознакою несприятливості цього алеля для даного виду спорту.

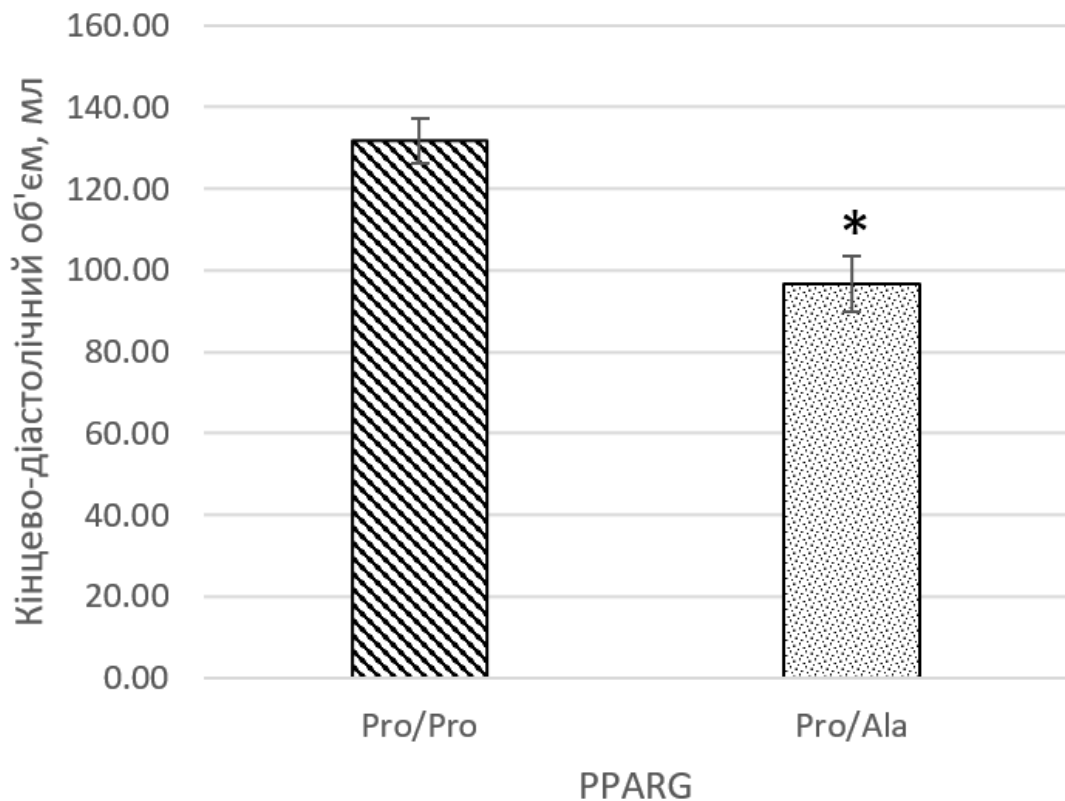


Рис. 3.4. Показники кінцево-діастолічного об'єму лівого шлуночка (КДО) у спортсменів з різними генотипами гена *PPARG*: Pro/Pro-генотип; Pro/Ala-генотип; *—статистично значущі дані у порівнянні з показником Pro/Pro-генотипу ($P < 0,05$)

Аналіз R/X поліморфізм гена *ACTN3* показав зв'язок із показниками ехокардіографічного обстеження: з товщиною міжшлуночкової перегородки та товщиною задньої стінки серця, проте не асоціював. При аналізі даних, спостерігається тенденція зменшення товщини МШП та ЗСТ із зменшенням частоти мінорного алеля X.

У носіїв R/R-генотипу R/X поліморфізму гена *ACTN3* величина МШП становила $1,02 \pm 0,14$ см, R/X-генотипу дорівнювала $1 \pm 0,15$ см, а у спортсменів із X/X-генотипом була $0,93 \pm 0,46$ см (рис. 3.5). Даний білок локалізується у скелетній м'язовій тканині, тобто не має важливого значення для розвитку гіпертрофії міокарда, а крім того статистична значущість результатів не була відмічена.

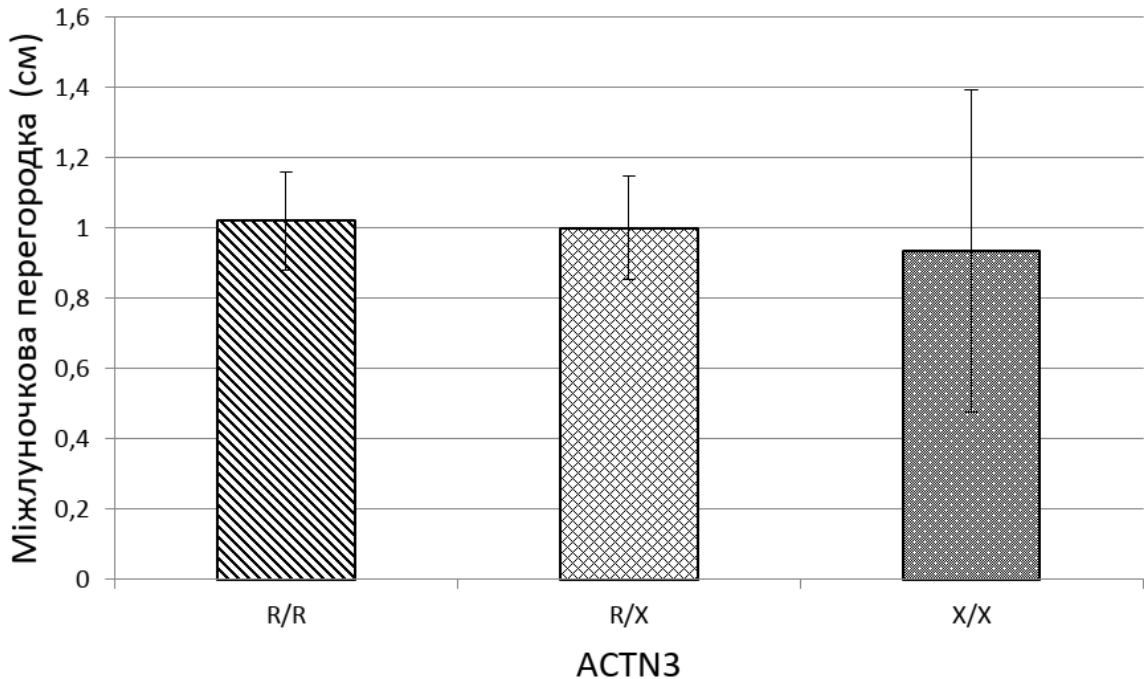


Рис. 3.5. Показники товщини міжшлуночкової перегородки серця у спортсменів (см) з різними генотипами гена *ACTN3*: R/R-генотип, R/X-генотип, X/X-генотип

Величина ЗСТЛШл у носіїв R/R-генотипу R/X поліморфізму гена *ACTN3* була $0,89 \pm 0,14$ см, у осіб з гетерозиготним генотипом дорівнювала $0,85 \pm 0,16$ см, а у спортсменів із X/X-генотипом становила $0,84 \pm 0,1$ см (рис. 3.6).

Отримані результати щодо гена *ACTN3*, свідчать про те, що наші дані не співпадають із даними з літературних джерел, а також про те, що поліморфізм R/X гена *ACTN3* не асоційований із показниками міокарда, що також підтверджує відсутність його впливу на розвиток гіпертрофії міокарда.

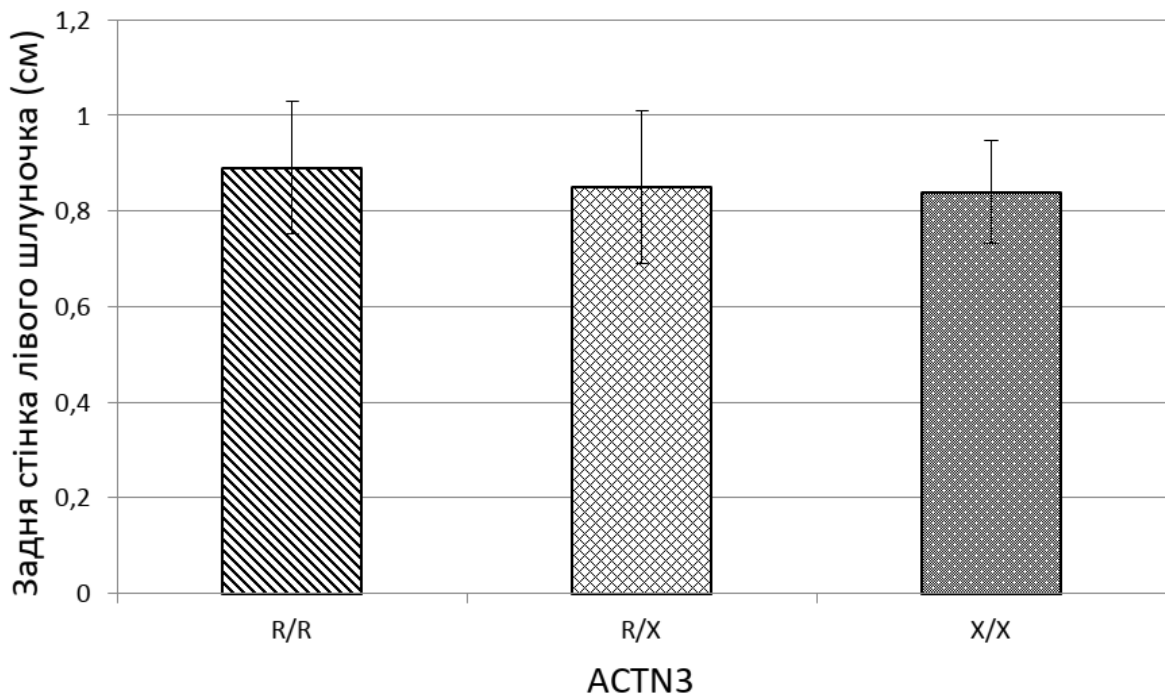


Рис. 3.6. Показники товщини задньої стінки серця у спортсменів (см) з різними генотипами гена *ACTN3*: R/R-генотип, R/X-генотип, X/X-генотип

3.4.1. Створення способу прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів із врахуванням поліморфізмів генів. За допомогою методу бінарної логістичної регресії було побудовано модель сукупного впливу поліморфізмів на показники гіпертрофії міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість (табл. 3.8). Бінарна логістична регресія застосовується у випадку, коли зміна відгуку має дихотомічну природу (тобто може приймати лише два значення – є 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 2 поліморфізми: *PPARG* та *UCP2*.

Характеристики бінарної логістичної регресії, що відображає взаємозв'язок поліморфізмів та ймовірності розвитку гіпертрофії міокарда

Класифікаційна таблиця							
Дані			Отримані результати				
			Групи		Відсотки		
			0	1			
Крок 1	Групи	0	16	9	64		
		1	5	14	73,7		
	Загальний відсоток					68,2	
Розрахунки							
		B	S.E.	Wald	df	Sig.	OR (Exp(B))
Крок 1 ^a	<i>PPARG</i>			2,823	2	0,244	
	<i>PPARG(1)</i>	-1,528	0,921	2,751	1	0,040	0,217
	<i>PPARG(2)</i>	-0,696	1,507	0,213	1	0,644	0,499
	<i>UCP2</i>			5,771	2	0,056	
	<i>UCP2(1)</i>	1,903	0,913	4,339	1	0,037	6,704
	<i>UCP2(2)</i>	2,443	1,087	5,047	1	0,025	11,507
	Constant	-1,477	0,783	3,563	1	0,059	0,228

Примітка: Крок 1^a – Змінні, застосовані при кроці 1: *PPARG*, *UCP2*; OR(Exp(B)) – відношення шансів, величина, що показує у скільки разів один стан переважає на іншим

Для розрахунку логістичної регресії використовували формулу 3.1:

Формула 3.1.

$$\text{Logistic regression} = \frac{1}{1 + \exp^{-z}}$$

$$z = \text{constant} + \beta_1 * x_1 + \beta_2 * x_2 + \beta_n * x_n$$

Згідно цієї моделі та показників OR (Exp(B)) мінорний генотип *UCP2(2)* у 11,5 разів асоціюється більше з ризиком розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів, ніж найбільш розповсюджений генотип – мажорний генотип (*UCP2*). А по відношенню гетерозиготи до мажорного генотипу – асоціація більша у 6,7 разів.

Мажорний генотип завжди позначаємо за «1». Тому при аналізі гена *PPARG*, було встановлено, що мінорний генотип *PPARG (2)* менше асоціює у 2 рази, тому має протективний ефект.

За допомогою даного методу бінарної логістичної регресії було побудовано модель сукупного впливу поліморфізмів на показники гіпертрофії міокарда. Отримана модель володіє високою класифікаційною здатністю – 68,2%. До моделі входять 2 поліморфізми: *PPARG* та *UCP2*. Тобто, згідно цієї моделі генотипи Pro/Ala та Ala/Ala Pro/Ala поліморфізму гена *PPARG* та Ala/Ala Ala/Val поліморфізму гена *UCP2* збільшують ризик розвитку гіпертрофії міокарда, а Pro/Pro Pro/Ala поліморфізму гена *PPARG* разом із генотипами Ala/Val та Val/Val Ala/Val поліморфізму гена *UCP2* зменшують цей ризик [118].

Висновки до розділу 3

Частотою зустрічі G/A поліморфізма гена *PGC1A* вірогідно відрізняється у спортсменів з ознаками гіпертрофії міокарда від спортсменів без цих ознак: частота генотипу G/G на 19 % менша, а частота алеля A на 23,5% більша ($P=0,02$), що може свідчити про здатність алеля A впливати на енергетичний метаболізм кардіоміоцитів та сприяти розвитку гіпертрофії.

Шляхом однофакторного дисперсійного аналізу встановлено асоціацію поліморфізмів генів-кандидатів з показниками ехокардіографічного дослідження серця. Асоціація G/A поліморфізму гена *COL12A1* із показником ФВЛШл% та з товщиною міжшлуночкової перегородки. Генотип A/A супроводжується найменшими показниками товщини МШЛ та величини ФВ%. Асоціація G/C поліморфізму гена *PPARA* з товщиною МШП, алель G сприяє зростанню товщини. Показано асоціацію Pro /Ala поліморфізму гена *PPARG* з показниками

кінцево-діастолічним об'ємом ЛШ. R/X поліморфізм гена *ACTN3* не проасоціював із показниками ЕХО, що виявляє його дію на скелетну мускулатуру, але не на міокард, що в свою чергу показує відсутність впливу гена *ACTN3* на розвиток гіпертрофії міокарда у спортсменів.

Методом бінарної логістичної регресії створена модель з класифікаційною здатністю – 68,2 %, до якої входять два поліморфізми: *PPARG* та *UCP2*.

Дослідження поліморфізмів цих генів та рівня експресії їх у відповідь на фізичні навантаження дозволяють розкрити нові аспекти механізму регуляції адаптаційної відповіді серцево-судинної системи на фізичні навантаження.

Основні положення розділу висвітлено у таких публікаціях автора, як:

- **Polishchuk AO**, Drozdovska SB, Hrubyak LM, Dolzhenko MM, Dosenko VE. Association of polymorphisms of the *PPAR* family genes and *UCP2* gene with echocardiography indices in athletes. *World of medicine and biology*. 2021;2(76):122-6. DOI:10.26724/2079-8334-2021-2-76-122-126 [119].

- Mazur I, Drozdovska S, Andrieieva O, Vinnichuk Y, **Polishchuk A**, Andreev I, Dosenko V, Pickering C, Ahmetov I. *PPARGC1A* gene polymorphism is associated with exercise-induced fat loss. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 2020;47(2):7451-7 [120].

- Дроздовська СБ, **Поліщук АО**, Досенко ВС. Дроздовська С. Б., патентовласник. Спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів в залежності від поліморфізмів генів. Патент України № 141030. 2020 бер. 25 [121].

- Drozdovska S, Palladina O, **Polischuk A**, Yuriev S. The combined effect of dietary supplement ‘Leptin Manager’ and power fitness exercises on weight loss in women with different *LEPR* (rs1137101) genotypes. *Sporto mokslas*. 2018;2:48-54. [122].

- Мазур ЮЮ, Дроздовська СБ, Андрєєва ОВ, Винничук ЮД, **Поліщук АО**, Андрєєв ІО, Досенко ВС, Пікерінг К, Ахметов ІІ. Вплив генетичних поліморфізмів генів *PPARG* та *PPARGC1* на ефективність зниження

жирової маси при заняттях фітнесом. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2020;27:196-201 [123].

- **Полищук АА, Дроздовская СБ, Гончаров СВ, Досенко ВЕ.** Асоціація Pro/Ala поліморфізма гена *PPARG* T/C поліморфізма гена *eNOS* с показателями гіпертрофії левого желудочка миокарда у спортсменів, спеціалізуються в видах спорту на виносливість. 22 International scientific congress “Olympic sport and sport for all”, Tbilisi, 2018; p. 340-343 [124].

РОЗДІЛ 4

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

4.1 Порівняльний аналіз участі 4-х некодуючих РНК (LIPCAR, NRON, MHRT, MIAT) у адаптаційних процесах, що відбуваються у відповідь на фізичні навантаження різного характеру

4.1.1. Зміни експресії 4-х довгих некодуючих РНК під впливом фізичних навантажень помірної інтенсивності. Рівень експресії довгих некодуючих РНК у стані спокою у всіх трьох досліджуваних групах був у різній кількості та реагував на фізичні навантаження різної інтенсивності, тобто lncRNA приймають різну участь у процесах адаптації організму до фізичних навантажень. Після систематичних фізичних навантажень помірної інтенсивності рівень експресії lncRNA NRON у контрольній групі вірогідно зменшується – у 1,91 рази або ж на 47,7% ($P=0,04$). А експресія lncRNAs 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 статистично значущого пониження експресії lncRNA NRON і підвищення lncRNAs LIPCAR, MHRT, MIAT (рис. 4.1).

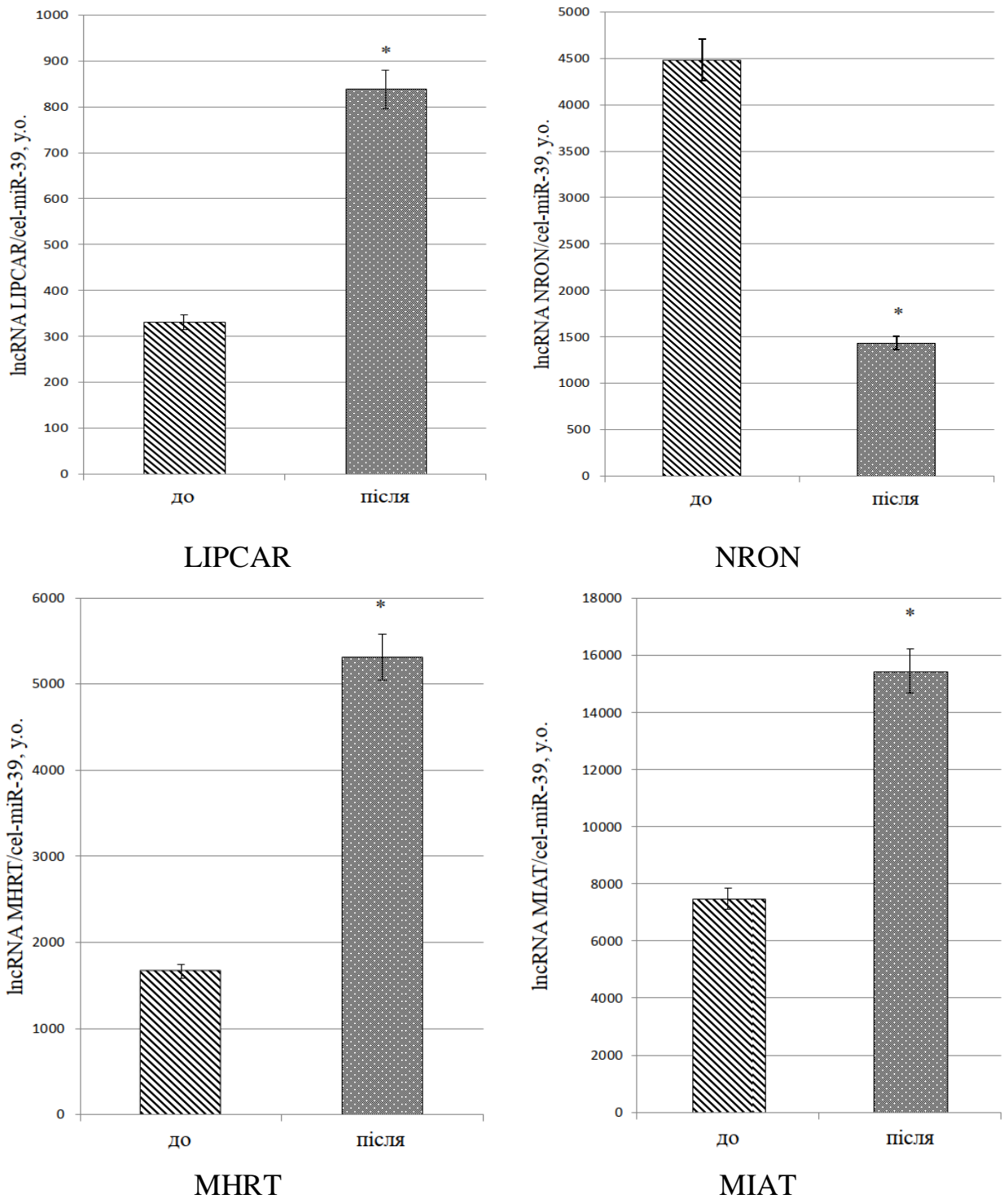


Рис. 4.1. Рівень довгих некодуючих РНК до та після систематичних фізичних навантажень помірної інтенсивності (12 тижнів) у осіб, які не займалися спортом (n=30); *–статистично значущі дані порівняно з показником стану спокою (P<0,05)

4.1.2. Зміни експресії 4-х довгих некодуєчих РНК під впливом фізичних навантажень максимальної інтенсивності. Аналіз рівнів експресії lncRNA у групі кваліфікованих спортсменів без гіпертрофії виявив, що після фізичного навантаження максимальної інтенсивності експресія lncRNAs (LIPCAR, NRON, MHRT) достовірно змінилась. Експресія lncRNAs LIPCAR зменшилась у 1,06 разів або на 5,88 % ($P=0,0029$), NRON – у 10,7 рази або на 90,71% ($P=0,0428$), в той час як експресія lncRNA MHRT зростає у 308,8 рази або на 99,68% ($P=0,0086$). Після навантаження максимальної інтенсивності рівень lncRNA MIAT зберігає тенденцію до збільшення, хоча і не була статистично підтверджена: у 0,55 рази ($P=0,499$).

Оцінюючи рівні експресії у групі професійних спортсменів з гіпертрофією міокарда було встановлено, що так як і у групі «без гіпертрофії», lncRNAs LIPCAR, NRON та MHRT мають властивість змінюватись, проте статистично достовірними були результати лише lncRNA LIPCAR – у 1,13 разів або на 12,02 % ($P=0,0028$). LncRNA NRON – знижується у 137 рази або на 99,27% ($P=0,115$), а от експресія lncRNA MHRT збільшується у 167,8 рази або на 99,43% ($P=0,236$). Після фізичних навантажень рівень lncRNA 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 проявом витривалості, виявлено, що після фізичного навантаження максимальної інтенсивності експресія lncRNA LIPCAR достовірно знизилась – у 1,68 рази або на 40,46 % ($P=0,001$), а експресія lncRNA MHRT зростає у 4,74 рази ($P=0,00003$). Також збільшуються рівні lncRNAs NRON та MIAT після навантаження максимальної інтенсивності: у 9,25 рази ($P=0,012$) та у 7,42 рази ($P=0,019$) відповідно (рис. 4.2).

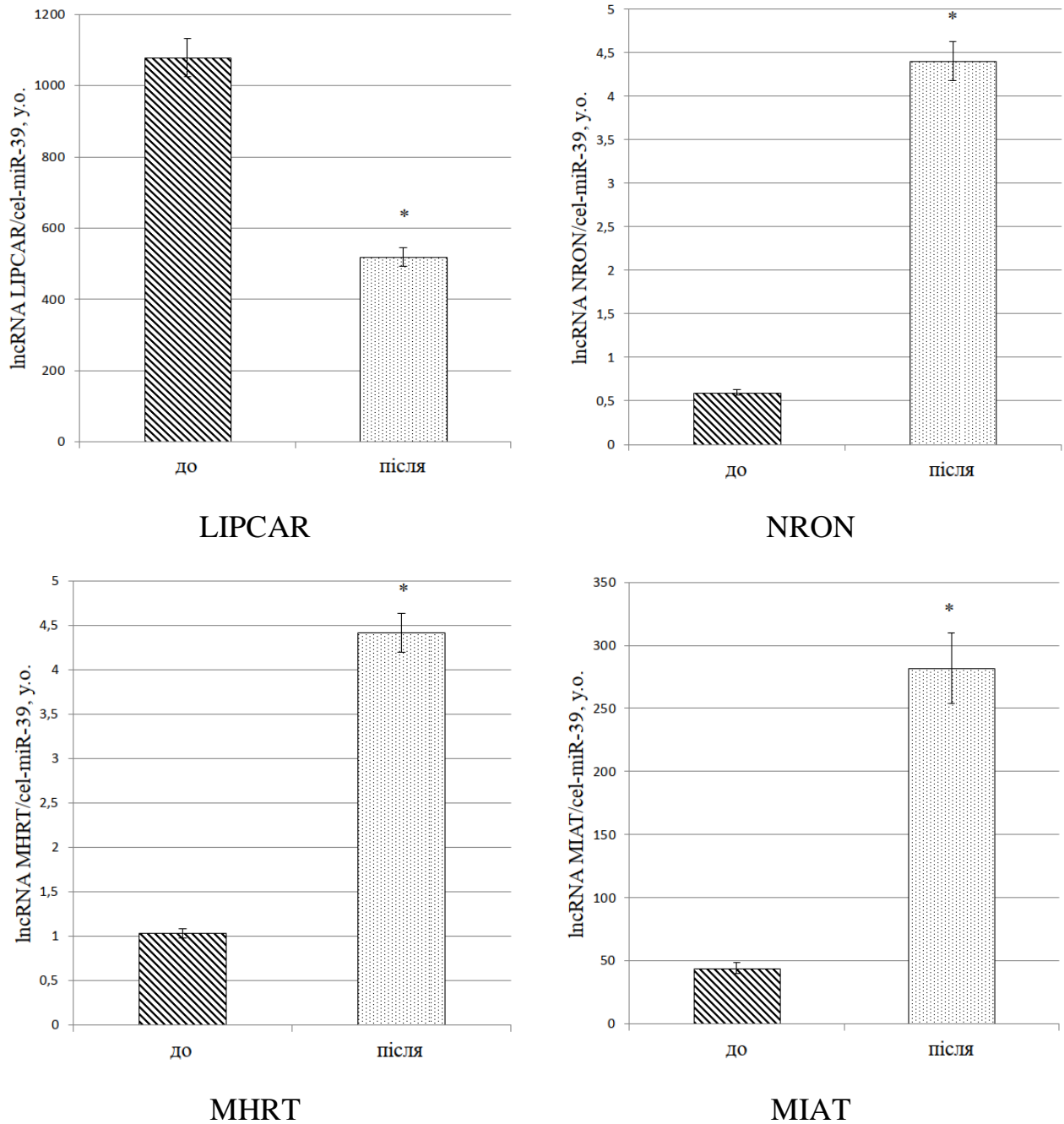


Рис. 4.2. Зміни рівня 4-х lncRNAs під впливом фізичного навантаження максимальної інтенсивності до та після навантаження у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним проявом витривалості (n= 111); *—статистично значущі дані порівняно з показником стану спокою (P<0,05)

4.1.3. Зміни експресії 4–х довгих некодуючих РНК під впливом фізичних навантажень середньої інтенсивності. При аналізі результатів зміни рівня експресії lncRNAs під впливом фізичних навантажень середньої інтенсивності, у ситуації із спортсменами-аматорами, не було отримано статистично значущих результатів, хоча рівні експресії lncRNAs змінюються. Одразу після фізичного навантаження експресія lncRNA LIPCAR знизилась у 1,02 рази ($P=0,61$), а через 1 добу, навпаки, 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 – зростає у 1,02 рази ($P=0,88$) від першої точки. Дані lncRNA MHRT відрізняються від інших досліджуваних lncRNA – рівень експресії 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 години. Експресія lncRNA MIAT незначно змінюється – знижується у 1,28 рази ($P=0,35$) та дещо збільшуючись через добу – у 1,15 рази ($P=0,47$).

Після фізичного навантаження середньої інтенсивності експресія більшості lncRNAs (LIPCAR, NRON, MIAT) незначно знижується, проте дещо відновлюється через 24 години, що може свідчити про наявність явища суперкомпенсації, тоді як рівень MHRT зростає в обох випадках (рис.4.3).

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

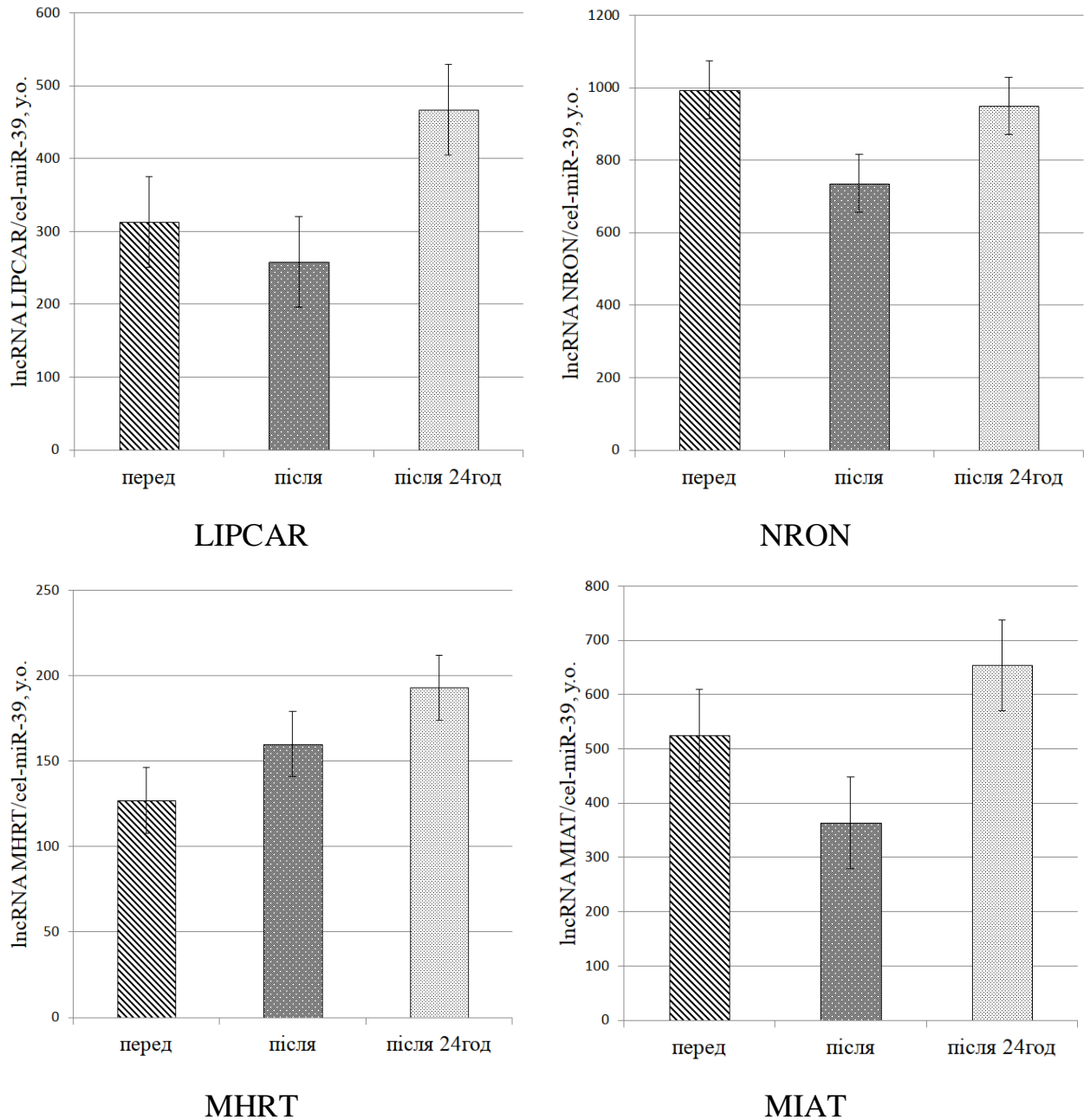


Рис. 4.3. Зміни рівня lncRNAs до та після фізичних навантажень середньої інтенсивності (n=12)

Отримавши результати дослідження впливу фізичних навантажень різної інтенсивності на організм та різні тенденції зміни при цьому рівня довгих некодуючих РНК, можна стверджувати, що одна з цих lncRNAs, а саме MHRT приймає найбільшу участь у адаптаційних процесах до всіх

трьох видів навантажень (рис.4.4). Аналіз рівня експресії lncRNA MHRT у плазмі крові у стані спокою, у осіб з різним рівнем рухової активності, свідчить, що чим вищий рівень рухової активності, тим менший рівень цієї lncRNA, що ймовірно є результатом довготривалої адаптації до фізичних навантажень. Її рівень підвищується як при адаптації до одноразових високоінтенсивних фізичних навантажень, так і при систематичних фізичних навантажень з нижчою інтенсивністю. Очевидно, це через її функціональну роль, оскільки відомо, що MHRT – 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 α -важкого ланцюга міозину у β -важкий ланцюг, що попереджує розвиток серцевої недостатності [126].

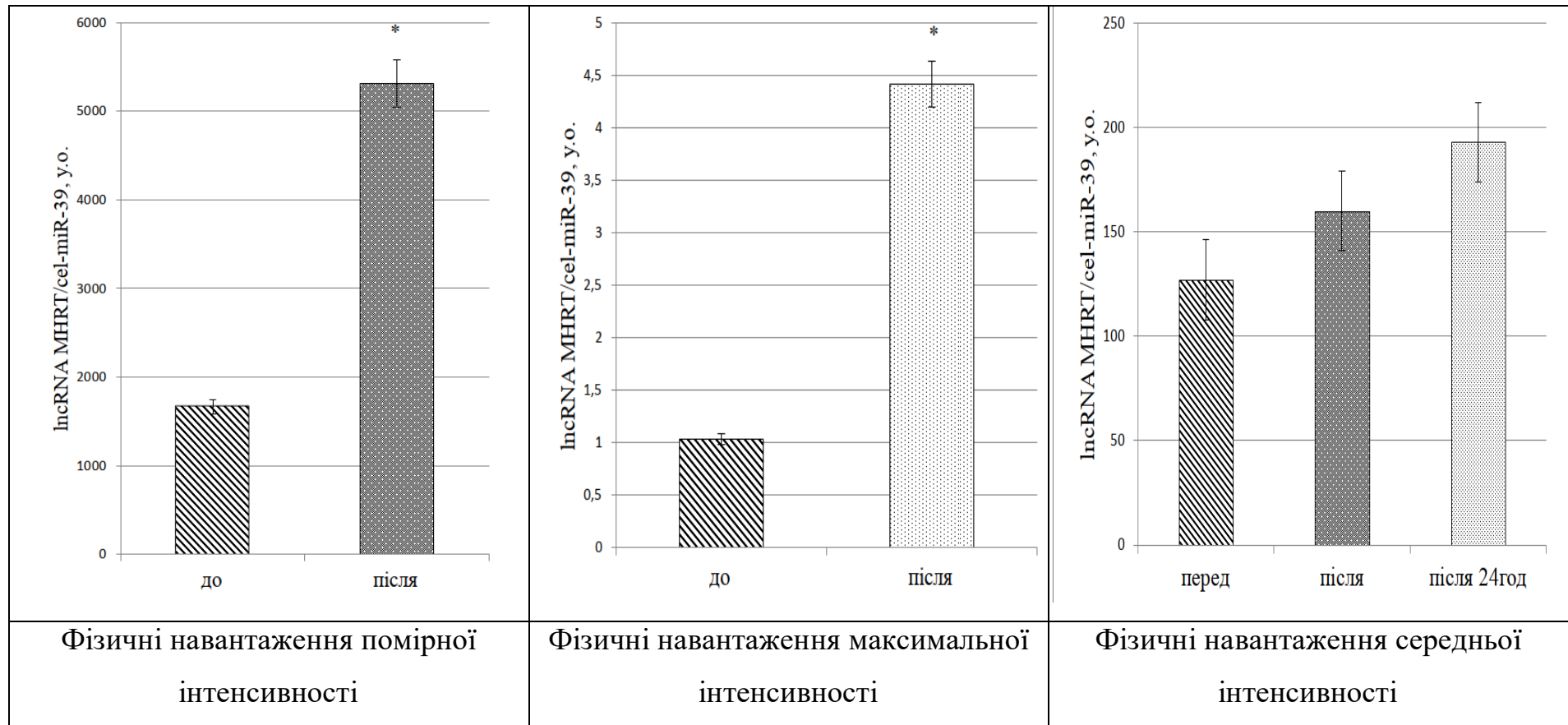


Рис. 4.4. Рівень МІРТ у плазмі крові до та після фізичних навантажень різної інтенсивності; *–статистично значущі дані порівняно з показником стану спокою ($P < 0,05$)

4.2. Вплив рівня lncRNAs на ехокардіографічні показники серця спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним проявом витривалості

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

При аналізі отриманих даних, спортсменів було поділено на дві підгрупи: спортсмени із гіпертрофією міокарда та спортсмени без ознак гіпертрофії міокарда.

Факторний аналіз показників гіпертрофії міокарда у групі спортсменів без ознак гіпертрофії міокарда проводився для оцінки відсоткового вкладу кожного показника. Було визначено три фактори (табл.4.1).

Таблиця 4. 1

Факторний аналіз показників ехокардіографічного дослідження серця у спортсменів без ознак гіпертрофії міокарда (n=17)

Фактори, що визначають гіпертрофію міокарда	Внесок окремого фактора, %
Комбінований фактор I	44,8
Комбінований фактор II	32,2
Комбінований фактор III	13,7
Загальний внесок визначених факторів, %	90,7
Внесок інших факторів, %	9,3

Аналіз факторної структури підтвердив, що комбінований фактор I займає провідне місце серед факторів, що визначають гіпертрофію міокарда. Комбінований фактор I, який має найбільший внесок у загальну дисперсію (44,8%), ототожнений нами з гіпертрофією міокарда, має факторне навантаження показників: ФВ ($r = -0,862$ при $P < 0,01$); ЗСТЛШл ($r = -0,868$ при $P < 0,01$), МНРТ ($r = -0,858$ при $p < 0,01$), МІАТ ($r = -0,828$ при $P < 0,01$), LIPCAR ($r = -0,778$ при $P < 0,01$).

Комбінований фактор II – об'єм лівого шлуночка в стані спокою, також вказує на провідне місце серед факторів, що визначають гіпертрофію міокарда, оскільки має внесок 32,2 % у загальній дисперсії. Фактор II має факторне навантаження таких показників: КДО ($r = -0,891$ при $P < 0,01$); NRON ($r = -0,853$ при $P < 0,01$).

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

Загальний внесок визначених трьох комбінованих факторів становить 90,7 %.

Для оцінки відсоткового вкладу кожного фактора у групі спортсменів з гіпертрофією міокарда проводився факторний аналіз показників ехокардіографії та lncRNAs. Було визначено два комбінованих фактори, загальний внесок яких становить 99,9 % (табл.4.2).

**Факторний аналіз показників ехокардіографічного дослідження
серця у спортсменів з гіпертрофією міокарда (n=12)**

Фактори, що визначають гіпертрофію міокарда	Внесок окремого фактора, %
Комбінований фактор I	63,1
Комбінований фактор II	36,8
Загальний внесок визначених факторів, %	99,9
Внесок інших факторів, %	0,1

Комбінований фактор I із внеском у 63,1% у загальній дисперсії, має ключове місце у розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів, які професійно займаються спортом. Він ототожнений із гіпертрофією міокарда та має факторне навантаження показників: МШП ($r = -0,998$ при $P < 0,01$); КДО ($r = 0,971$ при $P < 0,01$); КДО/ММЛШл ($r = 0,826$ при $P < 0,01$), NRON ($r = -0,703$ при $P < 0,01$), MHRT ($r = -0,998$ при $P < 0,01$), MIAT ($r = -0,995$ при $P < 0,01$).

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

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

Показники ехокардіографії широко використовуються при виявленні патогенезу міокарда, тому також є інформативними у спорті та медицині. Проведено кореляційний зв'язок між функціональними показниками

міокарда спортсменів та їхньою генетичною схильністю до розвитку гіпертрофії (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Кореляційні зв'язки між показниками ехокардіографічного дослідження та рівнем lncRNAs у крові спортсменів

	ММЛШЛ, г	ФВЛШЛ, %	ЗСТЛШЛ, см	МШП, см	КДО, мл	КДО/ММЛШЛ	NRON	МНРТ	MIAT	LIPCAR
ММЛШЛ, г	1	-0,11	0,71	0,47	0,63	-0,38	0,019	0,08	-0,016024	0,123586
ФВЛШЛ, %	-0,11	1	0,12	0,009	-0,33	-0,26	0,006	0,28	0,28	0,29
ЗСТЛШЛ, см	0,71	0,12	1	0,46	0,29	-0,45	0,032	0,102	0,095	0,04
МШП, см	0,47	0,009	0,46	1	0,13	-0,401	-0,519	-0,12	-0,072	-0,11
КДО, мл	0,63	-0,33	0,29	0,13	1	0,45	0,23	0,16	0,01	0,21
КДО/ММЛШ	-0,38	-0,26	-0,45	-0,401	0,45	1	0,23	0,047	-0,02	0,058
NRON	0,019	0,006	0,032	-0,51	0,23	0,23	1	0,54	0,35	0,52

MHRT	0,08	0,28	0,102	-0,12	0,16	0,047	0,54	1	0,88	0,87
MIAT	-0,016	0,28	0,095	-0,072	0,01	-0,02	0,35	0,88	1	0,63
LIPCAR	0,12	0,29	0,04	-0,11	0,21	0,058	0,52	0,87	0,63	1

Примітки: ММЛШл – маса міокарда лівого шлуночка, ФВЛШл (%) – фракція викиду лівого шлуночка, ЗСТЛШл – задня стінка лівого шлуночка, МШП – міжшлуночкова перегородка, КДО – кінчено-діастолічний об’єм, КДО/ММЛШл – відношення кінцево-діастолічного об’єму до маси міокарда лівого шлуночка, *NRON* – довга некодуюча РНК – репресор ядерного фактора, що активує Т-клітини, *MHRT* – довга некодуюча РНК, асоційована із важким ланцюгом міозина, *MIAT* – РНК-транскрипт, асоційований із інфарктом міокарда, *LIPCAR* – мітохондріальна довга некодуюча РНК

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 перш за все функціональні показники стану серця та генетичну схильність до здатності розвитку данного захворювання.

Таблиця 4.4

Коефіцієнт кореляції між показниками ехокардіографії та експресією lncRNAs у групі спортсменів без гіпертрофії міокарда

	ММЛШ л, г	ФВЛШл, %	ЗСТЛШ л	МШП, см	КДО, мл	КДО/ ММЛШл	NRON	MHRT	MIAT	LIPCAR
ММЛШл, г	1									
ФВЛШл, %	-0,072	1								
ЗСТЛШл, см	0,71*	0,072	1							
МШП, см	0,309	0,025	0,28	1						
КДО, мл	0,65*	-0,25	0,38	0,036	1					
КДО/ММ ЛШл	-0,14	-0,27	-0,23	-0,27	0,63	1				
NRON	0,25	-0,028	0,095	-0,58*	0,45	0,28	1			
MHRT	0,36	0,38	0,36	-0,05	0,29	-0,037	0,59*	1		
MIAT	0,25	0,38	0,41	0,042	0,108	-0,15	0,35	0,87*	1	
LIPCAR	0,52*	0,37	0,36	0,012	0,37	-0,071	0,54*	0,87*	0,608*	1

Примітки: ММЛШл – маса міокарда лівого шлуночка, ФВЛШл (%) – фракція викиду лівого шлуночка, ЗСТЛШл (см) – задня стінка лівого шлуночка, МШП (см) – міжшлуночкова перегородка, КДО (мл) – кінцево-діастолічний об'єм, КДО/ММЛШл – відношення кінцево-діастолічного об'єму до маси міокарда лівого шлуночка, NRON – довга некодуєча РНК – репресор ядерного фактора, що активує T-клітини, MHRT – довга некодуєча

РНК, асоційована із важким ланцюгом міозина, *MIAT* – РНК–транскрипт, асоційований із інфарктом міокарда, *LIPCAR* – мітохондріальна довга некодуюча РНК

Кореляційний аналіз показав, що показники ЗСТЛШл, КДО та рівень експресії lncRNA LIPCAR мають вірогідну кореляцію прямої дії на збільшення функціонального показника ММЛШл: $r=0,72$ та $r=0,65$ (при $P<0,01$). Коefіцієнт кореляції ММЛШл та рівня lncRNA LIPCAR становить $0,52$ ($P<0,01$).

На товщину МШП впливає lncRNA NRON: $r=-0,588$ (при $P<0,01$), тобто чим вищий рівень lncRNA NRON, тим менший розмір МШП.

Також, між собою корелюють lncRNAs: LIPCAR з NRON, MHRT та MIAT (табл.4.4).

Таблиця 4.5

Коefіцієнт кореляції між показниками ехокардіографії та експресією lncRNAs у групі спортсменів із гіпертрофією міокарда

	ММЛШ л, г	ФВЛШл, %	ЗСТЛШ л	МШП, см	КДО, мл	КДО/ ММЛШл	NRON	MHRT	MIAT	LIPCAR
ММЛШл, г	1									
ФВЛШл, %	-0,48	1								
ЗСТЛШл, см	-0,031	0,22	1							
МШП, см	0,17	-0,26	0,28	1						
КДО, мл	0,59*	-0,58*	-0,34	-0,088	1					
КДО/ММЛШл	-0,17	-0,28	-0,36	-0,25	0,68*	1				
NRON	0,017	0,15	0,54	0,19	-0,204	-0,24	1			
MHRT	0,0006	-0,205	0,41	0,49	-0,32	-0,36	-0,07	1		
MIAT	0,042	-0,084	0,48	0,402	-0,307	-0,39	0,87*	0,24	1	
LIPCAR	-0,062	0,56	0,07	0,15	-0,207	-0,201	0,45	-0,32	0,27	1

Примітки: ММЛШл – маса міокарда лівого шлуночка, ФВЛШл (%) – фракція викиду лівого шлуночка, ЗСТЛШл (см) – задня стінка лівого шлуночка, МШП (см) – міжшлуночкова перегородка, КДО (мл) – кінцево-діастолічний об'єм, КДО/ММЛШл – відношення кінцево-діастолічного об'єму до маси міокарда лівого шлуночка, *NRON* – довга некодуєча РНК – репресор ядерного фактора, що активує T-клітини, *MHRT* – довга некодуєча РНК, асоційована із важким ланцюгом міозина, *MIAT* – РНК–транскрипт, асоційований із інфарктом міокарда, *LIPCAR* – мітохондріальна довга некодуєча РНК

У кореляційному аналізі групи спортсменів із ознаками гіпертрофії є чотири достовірні кореляційні взаємозв'язки. Функціональний показник КДО має пряму дію на ММЛШл ($r = 0,595$ при $P < 0,01$) та зворотну на ФВЛШл ($r = -0,585$ при $P < 0,01$). На відміну від, даних у групі без гіпертрофії, у спортсменів з гіпертрофією є достовірний кореляційний зв'язок між lncRNAs – *NRON* та *MIAT*: $r = 0,872$ при $P < 0,01$ (табл.4.5).

Кореляційний аналіз показника КДО/ММЛШл показав кореляційний зв'язок із зворотною дією на МШП. Кореляційний коефіцієнт $r = -0,605$ при $P < 0,01$.

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 lncRNAs, варіюються 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 некодуєчих РНК на ступінь розвитку гіпертрофії міокарда, але рівень кореляції є не високим, а зв'язок не тісний (коефіцієнт кореляції між *LIPCAR* та масою міокарда; *NRON* та товщиною міжшлуночкової

перегородки досягає приблизно 0,5. Очікувану кореляцію рівня MIAT з показниками гіпертрофії встановлено не було.

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

Зміни рівня довгої некодуючої РНК MIAT визначали шляхом застосування методу полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі та вимірювання рівня експресії цього гена у швидкоскоротливих (литковий м'яз, *muscle gastroneMIus*), повільноскоротливих (камбалоподібний м'яз, *muscle soleus*) м'язових волокнах та у тканинах серця. Рівень експресії lncRNA MIAT у міокарді щурів зріс після фізичного навантаження у 4,6 рази ($P=0,005$), а у камбалоподібному м'язі у 2,8 рази ($P=0,02$). У литковому м'язі рівень збільшився у 5,7 разів ($P=0,03$) (рис.4.5). Таким чином, після систематичних інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру рівень lncRNA MIAT зростає як у міокарді, так і у скелетних м'язах.

Як було встановлено раніше lncRNA MIAT функціонує як молекулярний спонж (губка) для мікроРНК (miR-93) в кардіоміоцитах. Більше того, рівень lncRNA MIAT зростає, а рівень miR-93 зменшується у кардіоміоцитах під впливом ангіотензину II типу. Це свідчить про негативний ефект lncRNA MIAT на розвиток гіпертрофії міокарда. Зростання рівня MIAT зменшує рівень miR-93, що призводить до підвищення експресії TLR4 і, як наслідок, посилення гіпертрофії міокарда [100].

Таким чином, раніше встановлений в попередньому підрозділі факт збільшення рівня lncRNA MIAT у крові спортсменів після фізичних вправ різної інтенсивності може бути пояснений збільшенням їх експресії у скелетних м'язах під впливом фізичних навантажень.

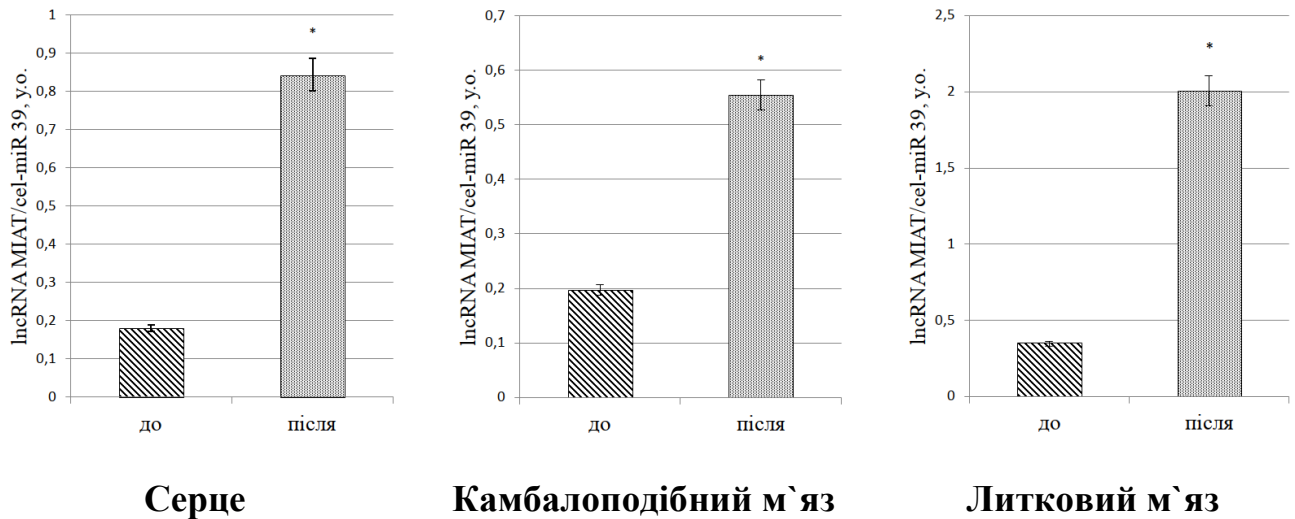


Рис. 4.5 – Зміни рівня експресії гена довгої некодуючої РНК MIAT у різних видах м'язової тканини щурів під впливом фізичних тренувань аеробного характеру, n=7

Дані перевірені на статистичну значущість за допомогою непараметричного тесту Манна-Уїтні.

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

Висновки до розділу 4

Адаптація до фізичних навантажень різної інтенсивності призводить до зміни рівня довгих некодуючих РНК у плазмі крові. Після фізичного навантаження максимальної інтенсивності експресія більшості lncRNA – NRON, MHRT та MIAT достовірно збільшується, тоді як рівень експресії LIPCAR зменшується. Після фізичного навантаження помірної інтенсивності експресія lncRNANRON вірогідно знижується, тоді як, LIPCAR, MHRT, MIAT вірогідно зростає у декілька разів. При аналізі результатів зміни рівнів експресії lncRNAs під впливом фізичних навантажень середньої інтенсивності, були відмічені зміни, проте вони були не статистично значущі.

Встановлено, що незначне збільшення експресії всіх lncRNAs, може бути показником того, що йде процес відновлення після марафонського забігу, а це в свою чергу може свідчити про наявність фази суперкомпенсації.

Підвищення експресії рівня lncRNA MHRT при аеробних навантаженнях різної інтенсивності є захисним механізмом, що протидіє розвитку патологічних форм гіпертрофії міокарда, тобто збільшення рівня експресії lncRNA MHRT проявляється кардіопротективною функцією.

Під впливом систематичних інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру зростає lncRNA MIAT як у міокарді, так і у скелетних м'язах. Довга некодуєча РНК MIAT є негативним фактором, що сприяє розвитку крайніх форм гіпертрофії міокарда.

Кореляційний аналіз між показниками ехокардіографії та рівнем експресії довгих некодуєчих, показав, що рівень кореляції є невисоким, а зв'язок нетісним. Коефіцієнт кореляції ММЛШЛ та рівня lncRNA LIPCAR становить 0,52 ($P < 0,01$); коефіцієнт кореляції між рівнем lncRNA NRON та товщиною МШП досягає $r = -0,588$ ($P < 0,01$). Тобто, чим вищий рівень lncRNA NRON, тим менший розмір МШП. Очікувану кореляцію рівня lncRNA MIAT з показниками гіпертрофії встановлено не було.

Отримані результати можуть бути використані у суміжних наукових галузях, а саме: кардіології та молекулярній біології, спортивній фізіології, спортивній медицині та спортивній генетиці.

Основні положення розділу висвітлено у таких публікаціях автора, як:

- Дроздовська СБ, Поліщук АО. Участь некодуєчих РНК (ncRNA) у формуванні гіпертрофії міокарду при м'язовій діяльності. Вісник проблем біології і медицини. 2017:38-43 [104].
- Дроздовська СБ, Поліщук АО, Вінничук ЮД, Гончаров СВ, Досенко ВС. Молекулярно-генетичні особливості адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень: монографія. Київ: НУФВСУ; 2020. ТОМ 2. – 140 с. [106].

- **Поліщук АО, Дроздовська СБ, Гончаров СВ, Досенко ВЄ.** Рівень експресії довгих некодуючих РНК при тривалій та довготривалій адаптації у відповідь на фізичне навантаження. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020;5(1):354-9 [126].

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Вперше поняття «спортивне серце» було введено в 1899р. S. W. Henschen, який виявив у спортсменів не тільки збільшене серце, а також і дилатацію шлуночків. А поняття «фізіологічне спортивне серце» оприділив Г.Ф. Ланг у 1936р. Багато дослідницьких груп спортивних лікарів, фізіологів та патофізіологів, вчених в різних країнах світу спрямовують свої зусилля на вивчення механізмів розвитку фізіологічної гіпертрофії міокарда у спортсменів, а також її трансформації у патологічну форму, проте не існує універсальної термінології для її визначення, тому в літературі можна зустріти такі вирази: 1. «heart strain» – напруження серця, 2. «cardiac fatigue» – серцева втома, 3. «myocardial dystrophy» – міокардіальна дистрофія, 4. «over training heart» – перетреноване серце. На сьогоднішній день більшість вчених використовують два терміни: «hypertrophic cardiomyopathy» та «athlete`s heart syndrome» [9].

Відомо, що кардіоміоцити повністю диференціюються незабаром після народження людини, оскільки виходять з клітинного циклу, а у серці дорослої особи відбувається збільшення в розмірі уже наявних кардіоміоцитів, замість збільшення кількості самих кардіоміоцитів, а для зменшення тиску на стінку лівого шлуночка, підтримки функціонування та працездатності у відповідь на збільшене навантаження, розвивається гіпертрофія міокарда, як процес адаптації серцево-судинної системи до систематичних інтенсивних фізичних навантажень [127]. «Hypertrophic cardiomyopathy» або ж гіпертрофія міокарда характеризується збільшенням стінок лівого шлуночка: D- та L-типи збільшення. D-гіпертрофія зумовлена потовщенням м'язових волокон, розвивається у спортсменів, які виконують короткочасні потужні ациклічні навантаження. L-гіпертрофія характеризується видовженням м'язових волокон лівого шлуночка серця,

збільшенням маси міокарда (ММ), кінцево-діастолічного об'єму (КДО) та фракції викиду (ФВ%), розвивається у спортсменів, які виконують довгі циклічні фізичні навантаження [8, 9].

В літературі зустрічаються різні концепції про типи гіпертрофії міокарда та механізми їх розвитку: один тип гіпертрофії та один механізм розвитку, або ж два типи гіпертрофії: фізіологічна та патологічна і різні механізми розвитку. Показано, що фізіологічна гіпертрофія спочатку розвивається, як адаптивна реакція на різні подразники, може трансформуватись у патологічну форму, а патологічна, в свою чергу, може переростати в складніші захворювання, такі як серцева недостатність. Кожна форма гіпертрофії регулюється окремими клітинними сигнальними шляхами. Друга концепція, вказує на те, що існує тільки патологічна гіпертрофія. За останнє десятиліття все більша кількість досліджень припускає, що раніше невідомі механізми, включаючи клітинний метаболізм, проліферацію, некодуючі РНК, зокрема довгі некодуючі РНК, імунні відповіді та епігенетичні модифікації позитивно або негативно регулюють серцеву гіпертрофію. Фізіологічна гіпертрофія характеризується невеликим збільшенням серцевої маси (на 10–20%) та індивідуальним ростом кардіоміоцитів як по довжині, так і по ширині. Серце з фізіологічною гіпертрофією має збережену або ж посилену скорочувальну функцію без інтерстиціального або заміщуючого фіброзу, загибелі клітин. Фізіологічна гіпертрофія повністю оборотна і не прогресує до серцевої недостатності.

Гіпертрофоване серце відрізняється від нормального низкою обмінних, функціональних і структурних ознак, які є відображенням, з одного боку, можливості впродовж тривалого часу долати підвищене навантаження, з іншого – наявності передумов для виникнення патологічних змін. Відбувається збільшення маси серця, порушення скорочення і розслаблення серцевих міозитів (унаслідок сповільнення виходу іонів кальцію в саркоплазму погіршується скорочення, а внаслідок утруднення зворотного транспорту іонів кальцію – розслаблення), порушення синтезу

білків і погіршення пластичного забезпечення клітини, погіршення енергетичного забезпечення гіпертрофованої клітини [127, 128].

Крім того, у розвитку гіпертрофії беруть участь генетичні фактори, наприклад експресія генів, що кодують натрійуретичний пептид А (передсердний натрійуретичний пептид), натрійуретичний пептид В (натрійуретичний пептид мозку), важкий ланцюг міозину, β -ізоформа серцевого м'яза (*MYHC β* ; також відомий як міозин 7 типу або *MYH7*), α -актинін. Патологічна гіпертрофія зазвичай супроводжується інтерстиціальним, периваскулярним фіброзом та загибеллю кардіоміоцитів, підвищеним рівнем колагену I типу та активацією міофібробластів.

В деяких дослідженнях автори вказують на те, що розвиток фізіологічної або патологічної гіпертрофії залежить не тільки від природи подразників та механізмів передачі сигналів, а і від тривалості серцевого стресу як такого. Наприклад, навіть періодичне перевантаження тиску на стінки лівого шлуночка викликає патологічну гіпертрофію, тоді як фізичне навантаження, яке також є періодичним стресом, викликає фізіологічну гіпертрофію. Фізіологічний ріст серця спостерігається під час нормального постнатального росту, вагітності та повторюваних вправ на витривалість у спортсменів [128].

Існують різні механізми розвитку фізіологічної та патологічної гіпертрофії під впливом різних чинників, в той час, як фізіологічна гіпертрофія через різні види фізичного навантаження також формується різними механізми розвитку – аеробним та анаеробним. Нами було проведено узагальнення даних та побудовано схему сигнальних систем розвитку фізіологічної гіпертрофії міокарда (рис.5.1).

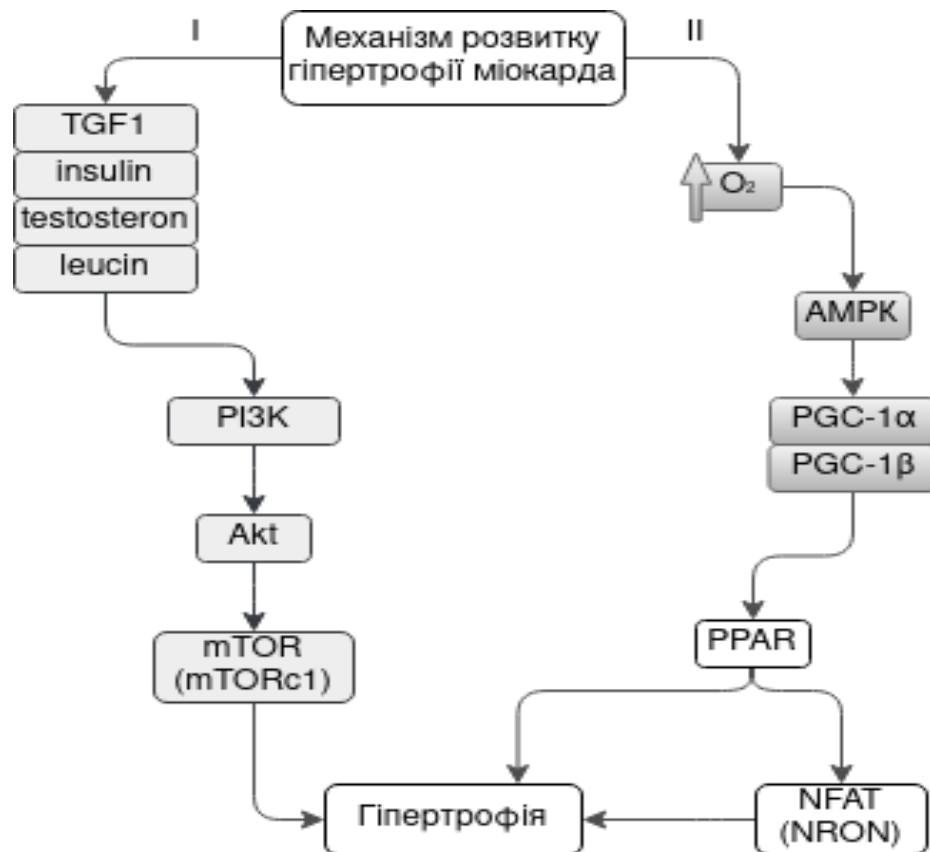


Рис. 5.1. Схематичне зображення сигнальних систем розвитку фізіологічної гіпертрофії

Наші дослідження підтвердили наявність фізіологічної гіпертрофії у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з проявом витривалості. Ми проводили обстеження морфологічних змін та роботи міокарда за допомогою ехокардіографічного та електрокардіографічного обстеження. Для підтвердження даних про вплив спадкових чинників на розвиток гіпертрофії, ми провели низку молекулярно-генетичних досліджень. Спадкова схильність до розвитку фізіологічної або ж патологічної гіпертрофії міокарда у спортсменів видів спорту з проявом витривалості, як наслідок адаптації до систематичних інтенсивних фізичних навантажень переважно аеробного енергозабезпечення є полігенною, обумовленою сукупністю поліморфізмів генів та рівня експресії їх генів. До переліку таких генів належать гени *PPARG*, *PPARA*, *PGC1A*, *UCP2*, *ACTN3* і *COL12A1* та довгих некодуючих РНК *LIPCAR*, *NRON*, *MHRT* та *MIAT*.

Біг на витривалість є одним із найпопулярніших фізичних навантажень у світі, однак встановлено, що частота зустрічі відхилень серцево-судинної системи у спортсменів-легкоатлетів зустрічається уже у 24% випадків звернень до медичних установ, тому значимість проблеми розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів посилюється. Також існує значна поширеність травм у діапазоні від 18,2 до 92,4% травмованих легкоатлетів, залежно від виду та визначення травми [130].

Кваліфікована своєчасна діагностика та контроль морфофункціональних станів серцево-судинної системи спортсменів під час тривалого фізичного навантаження та в умовах змагань необхідна для збереження здоров'я атлета, що допоможе запобігти випадкам раптової смерті у спорті [131].

Ехокардіографія займає особливе місце в спорті, як один із факторів виявлення гіпертрофії лівого шлуночка, патологій в серцево-судинній системі [132]. Точна оцінка товщини стінки лівого шлуночка, шлуночкової маси та розподілу гіпертрофії має вирішальне значення як для діагностичної обробки, спостереження, так і для прогностичної оцінки. Диференціальний діагноз гіпертрофії лівого шлуночка включає гіпертрофічні кардіоміопатії, гіпертрофію, вторинну до аномальних умов наповнення лівого шлуночка, гіпертрофію, пов'язану з інтенсивним фізичним тренуванням, та ізольовану гіпертрофію базальної перегородки літніх людей. Серед інструментів кардіолога є перспективним регіональний аналіз поздовжнього розтягування, який допомагає розрізнити амілоїдоз серця від інших форм гіпертрофії [133].

Показник ММЛШл був найбільшим у підгрупі спортсменів з веслування академічного та становив $170 \pm 4,6$ г, у підгрупі спортсменів з легкої атлетики величина була дещо нижча – $165 \pm 3,9$ г, в той час як ММЛШл у контрольній групі дорівнювала 116,08 г. Показник КДР у підгрупах спортсменів практично не відрізнявся та в середньому дорівнював $5,05 \pm 1,8$ мм, тоді як в контрольній групі він був меншим – $4,8 \pm 0,46$ мм. Кінцево-сistolічний розмір у осіб, що склали контрольну групу становив $3,25 \pm 0,4$

мм, а у групі, що спеціалізується у видах спорту з проявом витривалості показник збільшувався до $7,22 \pm 2,45$ мм в середньому. КДО та КСО показники, які також значно збільшились у спортсменів з видами спорту веслування академічне та легка атлетика на 19,9 мл або у 1,36 рази ($P=0,015$) та на 16,2 мл або ж у 1,02 рази ($P=0,007$) відповідно.

Раніше отримані нами результати на спортсменах, які спеціалізуються у видах спорту з переважним розвитком витривалості, перевищують показники українських спортсменів, які спеціалізуються у легкій атлетиці (швидкісно-силові види спорту). ММЛШл у спортсменів дорівнювала $162 \pm 5,3$ г, що у 1,05 рази менше від показників у спортсменів з веслування академічного, та у 1,02 рази, ніж у спортсменів з легкої атлетики. МШП становила $0,96 \pm 0,1$ см, що у 1,36 рази менша, ніж МШП у спортсменів з веслування академічного, проте показник не відрізняється від МШП у спортсменів із легкої атлетики. У спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним розвитком витривалості показник ехокардіографії КДР був $5,2 \pm 0,27$ мм, що дещо вище від КДР у обстежуваних нами спортсменів. Показник КСР у веслуванні академічному був вищий у 2,6 рази, а у спортсменів із легкої атлетики у 1,92 рази, ніж у спортсменів з видів спорту з проявом витривалості ($КСР=3,19 \pm 0,27$ мм). Показники КДО та КСО також відрізнялись. КДО дорівнював $117,7 \pm 16,1$ мл, що є нижчим від веслування академічного та легкої атлетики у 1,14 ризи та у 1,11 рази відповідно. Показник КСО у спортсменів із веслування академічного був вищий у 1,17 рази, ніж у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним розвитком витривалості ($52 \pm 5,6$ мл), а показник КСР у спортсменів з легкої атлетики переважав у 1,06 рази [134].

Важливість методу ехокардіографії, його діагностичне значення обумовило нас провести дослідження асоціації поліморфізмів генів-кандидатів та показників ехокардіографії. Застосувавши однофакторний дисперсійний аналіз, ми встановили асоціацію поліморфізму гена *COL12A1* із показником ФВЛШл ($P=0,001$) та з товщиною МШП ($P=0,0001$), асоціацію

поліморфізму гена *PPARA*з МШП ($P=0,042$) та поліморфізм гена *PPARG* з показниками КДО ($P=0,005$).

Родина генів *PPAR* (*PPAR α* , *PPAR β/δ* , *PPAR γ*) – група ядерних рецепторів приймає участь у транскрипції генів, що контролюють анаболічні та катаболічні шляхи, впливають на м'язову адаптацію до тренувань коактиваторами транскрипційних факторів (*PPARGC1B*), що контролюють експресію генів відповідальних за координовану відповідь на фізичні навантаження [1, 5, 21, 89]. Раніше було показано, що родина генів *PPAR*сприятливо впливає на серцево-судинну систему, але *PPAR γ* проявляє інгібуючу дію на гіпертрофію серцевих міоцитів, а ліганди *PPAR γ* пригнічують розвиток гіпертрофії серцевого міоциту як *in vitro*, так і в середовищі *in vivo*, проте не досліджено вплив комплексу поліморфізмів цих генів на розвиток гіпертрофії [135].

Транскрипційний фактор *PPAR α* експресується у серцевому та скелетних м'язах, але також присутній у печінці та жировій тканині. Найбільш вивченим поліморфізмом цього гена є заміна нуклеотиду G на C. Аллель G відноситься до алелів витривалості, оскільки у носіїв G-алеля окислення жирних кислот у клітинах печінки, міокарда, скелетних м'язах та інших органах відбувається інтенсивніше, ніж у носіїв C-алеля [64], тоді як C-алель до алелів швидкості-сили. Таким чином недостатність окислення жирних кислот компенсується підвищенням утилізації глюкози.

Частота зустрічі генотипів A/A, A/a та a/a гену *PPARA* у групі спортсменів без ознак гіпертрофії міокарда дорівнює 65,4 %, 23,1% та 11,25 % відповідно. Частота зустрічі алелей в тій же групі: алель A дорівнює 76,9 %, алель a – 23,1 %. У групі спортсменів із ознаками гіпертрофії дані відрізнялись, проте невірогідно: частота зустрічі генотипу A/A = 80 %, A/a = 16 %, a/a = 4 %, а частота алелей A і a була 88% та 12 % відповідно. Кореляційний аналіз G²⁵²⁸→C поліморфізму гена *PPARA* з даними ехокардіографічного обстеження спортсменів, а саме з товщиною міжшлуночкової перегородки (МШП) ($P=0,042$) показав асоціацію *PPARA* C-

алеля з ризиком розвитку гіпертрофії міокарда лівого шлуночка. Встановлена асоціація *PPARA* G-алеля з переважанням повільних м'язових волокон [136].

PPAR γ бере участь у регуляції генів, пов'язаних з акумуляцією жиру, диференціюванням адипоцитів і міобластів, а також з чутливістю до інсуліну, тому *PPAR γ* відіграє роль у глюкозному та жировому гомеостазі, адипогенезі [137]. Встановлено асоціації поліморфізмів цього гена з різними метаболічними порушеннями. Зокрема, найчастіше проводять аналіз Pro₁₂→Ala, C¹⁴³¹→T, C²⁸²¹→T поліморфізмів та недавно виявленого A⁻²⁸¹⁹→G поліморфізму [137, 138]. Також, нещодавно було встановлено асоціацію поліморфізмів даного гена з мінеральною щільністю кісткової тканини, ризиком розвитку остеопорозу та ймовірністю переломів кісток [139]. Найбільш вивченим поліморфізмом гена *PPARG* є Pro₁₂→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 γ 2*) (rs1801282). Виокремлено наступні генотипи: Pro/Pro – гомозиготи за нормальним алелем, Pro/Ala – гетерозиготи, Ala/Ala – гомозиготи за рідкісним алелем. Експериментальні дані свідчать про зниження здатності фактора *PPAR γ 2* при заміні проліну на аланін зв'язуватися з промоторами генів, які він активує [140]. Знижена активність *PPAR γ 2*, що асоціюється з носійством Ala-алеля, призводить до підвищення чутливості до інсуліну і збільшення утилізації глюкози [141]. На цій підставі Ala-алель прийнято вважати протективною стосовно розвитку цукрового діабету II типу. Заміна Pro₁₂→Ala у позиції 12 помірно знижує функцію рецептора, тому поліморфізм Pro₁₂→Ala є показником зниження ризику розвитку цукрового діабету II типу, гіперінсулінемії, інсулінорезистентності й атеросклерозу [141, 142, 143]. Вважають, що чутливість тканин до інсуліну у осіб з Ala-алелем пов'язана з менш активним ліполізом у жировій тканині і гліколізу в печінці, що призводить до зниження вільних жирних кислот і активації їх споживання м'язовою тканиною.

На підставі уже вивчених даних [144] вважають, що носії *PPARG* Ala-алеля більше схильні до швидко-силових видів спорту порівняно з носіями Pro-алеля, оскільки їх м'язи більшою мірою утилізують глюкозу, а також у них підвищена чутливість до інсуліну. Відомо, інсулін володіє анаболічною дією на скелетні м'язи і покращує силові показники. Кореляція Pro₁₂→Ala 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 [62]. 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 повільних (значуще), так і швидких (на рівні тенденції) м'язових волокон. Механізм, що дозволяє розглядати Ala-алель, як маркер підвищеної схильності до розвитку і прояву швидко-силових якостей, полягає у зменшенні транскрипційної активності Ala-алеля.

При аналізі літератури, виявлено дані, про те, що носійство Ala-алеля асоційовано зі збільшенням підшкірного і вісцерального жиру, у корейських жінок з надлишковою масою тіла. Також проводили дослідження, де не виявили значного впливу програм спрямованих на зниження маси тіла витривалістю один місяць [57]. Проте, обстеження 70-ти жінок постменопаузального віку, які страждають на ожиріння, показало, що шестимісячна гіпокалорійна дієта викликає однакове зниження маси як у осіб з Ala-алелем, так і без нього. Після повторного набору маси тіла, жінки з Ala-алелем виявляли більшу схильність до ожиріння, тобто, у цих жінок відбувалось зниження рівня окислення жирів у відповідь на гіпокалорійну дієту. У іншому дослідженні, проведеному на 108 обстежуваних впродовж 4-х років, не спостерігалось ніяких відмінностей у зниженні маси тіла у осіб з та без Ala-алеля. Таким чином, показано вплив даного поліморфізму на

метаболічні процеси, що впливають на властивості м'язової тканини і на фізичні якості.

Наші дослідження показали, що частота зустрічі генотипів гену *PPARG* в групі спортсменів без ознак гіпертрофії міокарда дорівнює $A/A = 62,5\%$, $A/a = 33,3\%$ та $a/a = 4,2\%$. Частота зустрічі алелей в тій же групі: алель *A* дорівнює $79,2\%$, алель *a* – $20,8\%$. В групі спортсменів з гіпертрофією міокарда дані дещо відрізнялись: частота зустрічі генотипу $A/A = 80\%$, $A/a = 12\%$, $a/a = 8\%$, а частота алелей *A* і *a* була 86% та 14% відповідно.

Провівши кореляційний аналіз $Pro_{12} \rightarrow Ala$ поліморфізму гену *PPARG* з даними ехокардіографічного обстеження спортсменів, була виявлена асоціація $Pro_{12} \rightarrow Ala$ поліморфізму гену *PPARG* з кінцево-діастолічним об'ємом (КДО) ($P=0,005$).

Це дозволяє розглядати $Pro_{12} \rightarrow Ala$ поліморфізм гену *PPARG* як генетичний маркер схильності до видів спорту з анаеробними механізмами енергозабезпечення.

PGC1A – α -коактиватор γ -рецепторів, що активуються проліфераторами пероксисом, локалізований на 4-й хромосомі в 4p15.1 локусі, складається з 13 екзонів і експресується переважно у серцевій, м'язовій, жировій тканині (у меншій мірі в печінці, підшлунковій залозі і головному мозку). Найбільш поширений однонуклеотидний поліморфізм $G^{1444} \rightarrow A$. Він знаходиться у 8-му екзоні і викликає заміну у положенні $Gly_{482} \rightarrow Ser$ [145].

Проаналізувавши наші дані щодо частоти зустрічі G/A поліморфізма гену *PGC1A* у спортсменів з ознаками гіпертрофії міокарда вірогідно відрізняється від спортсменів, у яких ці ознаки відсутні. У спортсменів із гіпертрофією міокарда частота генотипу G/G на 19% відсотків менша, ніж в групі без ознак гіпертрофії, а частота алеля *A* на $23,5\%$ більша ($P=0,02$), що може свідчити про здатність алелі *A* впливати на енергетичний метаболізм кардіоміоцитів та сприяти розвитку гіпертрофії.

UCP2 – мітохондріальний роз'єднувальний білок 2, який кодується геном *UCP2*. Його збільшену експресію пов'язують із хворобами обміну речовин, таких як ожиріння, метаболічний синдром та діабет II типу, що часто характеризуються підвищенням утворенням активних форм кисню (АФК) у дихальних комплексах мітохондрій, пов'язаних із накопиченням жиру в кардіоміоцитах, скелетних м'язах та гепатоцитах. Тим часом у декількох тканинах, включаючи серцеву тканину, розвивається адаптивний механізм проти окисного стресу та ліпотоксичності, надмірно експресуючи UCP2, що є специфічними білками мембрани мітохондрій. У серці людини з ожирінням, білки UCP2 та UCP3 можуть захищати кардіоміоцити від смерті, від розвитку гіпертрофії та від стану, що прогресує розвиток серцевої недостатності, знижуючи регулювання запрограмованої загибелі клітин. Активація генів родини *UCP* може впливати на вивільнення цитохрому с та проапоптотичного білка з мітохондрій, зменшуючи генерацію АФК та апоптотичну загибель клітин [146].

При низькій фізичній активності поліморфізм гена *UCP2* викликає заміну Ala на Val у білку UCP2, що призводить до збільшення метаболічної ефективності м'язової діяльності. Дослідження частоти алельних варіантів поліморфізму гена *UCP2* при фізичних навантаженнях, спрямованих на витривалість, підтвердили наявність асоціації Val варіанту.

Оскільки експресія *UCP2* збільшується при ішемії серця, а зміни алелей поліморфізму гена *UCP2* впливають на розвиток гіпертрофії міокарда, ми провели аналіз частоти зустрічей алелей та генотипів гена *UCP2*. В групі спортсменів без ознак гіпертрофії міокарда частоти зустрічей генотипів A/A = 37,5%, A/a = 50 % та a/a = 12,5 %, а алелей A дорівнює 62,5 %, а – 37,5 %. Дані щодо частоти зустрічі генотипів не були статистичнозначущими: A/A = 15%, A/a = 55 % та a/a = 30 %. Частота зустрічі алелей A в даній групі дорівнювала 42,9 %, а-алеля – 57,5 (p=0,045).

Наші дослідження також слугували створенню моделі з класифікаційною здатністю – 68,2%, до якої входять 2 поліморфізми генів-кандидатів: *PPARG*

та *UCP2*, за допомогою методу бінарної логістичної регресії. Згідно цієї моделі два фактори працюють разом: генотипи Pro/Pro Pro₁₂→Ala поліморфізму гена *PPARG* та Ala/Val- та Val/Val-генотипи Ala→Val поліморфізму гена *UCP2* зменшують розвитку гіпертрофії міокарда.

Ген *COL12A1* кодує α-ланцюг колагену XII типу, його рання діагностика може покращити прогнозування та лікування різних видів травм. Найпоширенішою травмою у спортсменів-легкоатлетів, є пошкодження передньої хрестоподібної зв'язки. При генотипуванні спортсменів, було виявлено, що носії генотипу A/A гена *COL12A1*, мають підвищений ризик розвитку такого порушення [72].

У ході аналізу результатів, отриманих у роботі, нами був створений 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, які спеціалізуються у видах спорту з проявом витривалості та базується на аналізі чотирьох поліморфізмів генів: *COL12A1*, *PPARA*, *PPARG* та *UCP2*. Підтверджено відповідним патентом на корисну модель №141030 «Спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів в залежності від поліморфізмів генів» [121].

Некодуючі РНК – є ключовим фактором регуляції м'язового розвитку, гомеостазу та метаболізму (включно мікро- та довгі некодуючі РНК). Не зважаючи на те, що їх біологічну роль почали вивчати не так давно, їхня участь дуже важлива у широкому діапазоні біологічних процесів та вже є безсумнівною. Особливо важливою є їх участь у метаболічних процесах у скелетних м'язах, враховуючи, що вони займають найбільший відсоток маси тіла серцевих тканин [77]. Некодуючі РНК традиційно поділяються на основі їх розміру на два великих класи: малі некодуючі РНК (miRNA), та довгі некодуючі РНК (lncRNA).

Довгі некодуючі РНК, пов'язані з широкою низкою біологічних процесів у відповідь на фізичне навантаження, які можуть діяти на різних

сходинах генної експресії. Відкриття цих молекул – ще один доказ складних відносин між геномом та фізіологічною регуляцією функцій. Як і miRNA вони не кодують протеїни, а регулюють процесінг інших РНК, а отже, як наслідок, впливають на експресію генів. Довгий час вважалося, що довгі некодуючі РНК не виконують ніяких функцій, є побічним продуктом транскрипції у клітині, так званим, транскрипційним шумом, проте, деякі автори продемонстрували важливу роль lncRNA у нормальному розвитку серця та при виникненні серцевих захворювань. Показано, що деякі довгі некодуючі РНК можуть виступати факторами серцевої гіпертрофії. Сучасні дослідження визначили lncRNAs, як корисні діагностичні та прогностичні біомаркери серцевого ремоделювання та серцево-судинної смерті [108, 146, 147, 148].

На основі існуючої класифікації РНК, що широко застосовується в молекулярній біології, ми знайшли місце наших досліджуваних довгих некодуючих РНК (рис. 5.2).

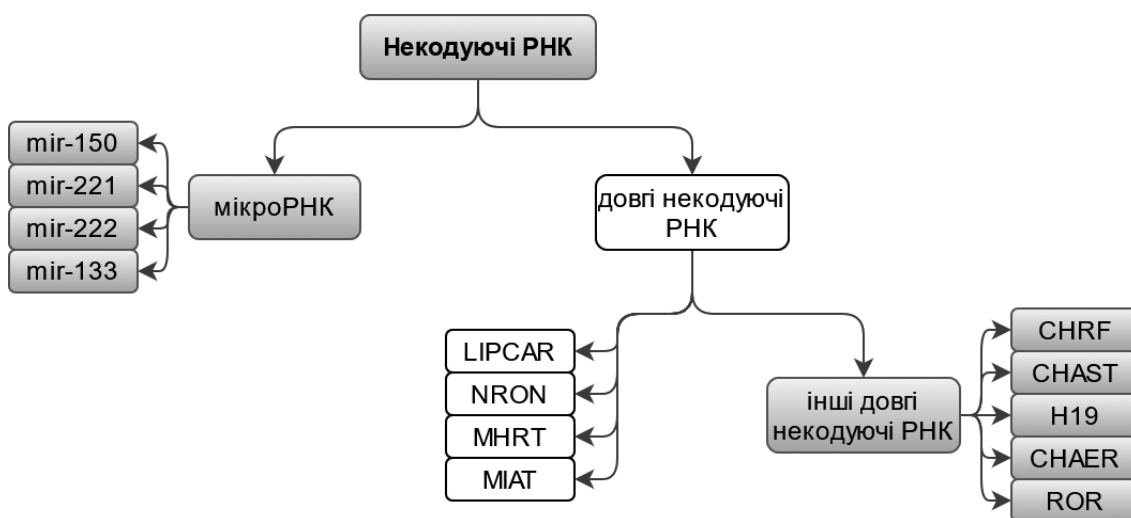


Рис. 5.2. Класифікація досліджуваних у роботі довгих некодуючих РНК в уже існуючій класифікації РНК.

Довгі некодуючі РНК також були залучені в діагностику серцево-судинних захворювань внаслідок характерних змін їх циркулюючих рівнів з різними категоріями патологічних процесів організму [149], тобто lncRNA здатні регулювати виникнення та розвиток певних захворювань.

Наприклад, повідомляється, що стимуляція експресії lncRNA MHRT зменшує патологічну трансформацію α -МНС у β -МНС. Крім того, 45% випадків гіпертрофічної кардіоміопатії стаються у носіїв поліморфізму гена β - важкого ланцюгу міозину. Інгибування цього гену призводить до зменшення синтезу цього білку на 25% та попередження розвитку гіпертрофії міокарда та міокардіального фіброзу [93]. Тобто, збільшення експресії гена *MHRT* під впливом фізичних навантажень різної інтенсивності 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 MHRT після фізичних навантажень максимальної інтенсивності є значно виразнішими і чим вищий рівень експресії цього гену, тим менша ймовірність розвитку патологічних форм гіпертрофії міокарда. Також, у попередніх роботах було показано, що MHRT підвищується у крові після інфаркта міокарда. Нокдаун гену цієї довгої некодуючої РНК призводить до розвитку апоптозу, демонструючи, що MHRT є захисним фактором для кардіоміоцитів, а її рівень може слугувати біомаркером для діагностики стану міокарда [86].

Наші дослідження показали, що рівень експресії lncRNA MHRT зростає після фізичного навантаження різної інтенсивності. Після максимальної інтенсивності у 4,74 рази, після помірної інтенсивності – 1,54 рази. Одразу після марафонського забігу рівень експресії зростає у 1,25 рази, а через добу в 1,34 рази від стану спокою. Зростання рівня експресії lncRNA MHRT при аеробних навантаженнях різної інтенсивності є захисним механізмом, що протидіє розвитку крайніх форм гіпертрофії міокарда.

Існують дослідження, які нещодавно визначили, що циркулюючі lncRNAs можуть бути корисними діагностичними та прогностичними

біомаркерами серцевого ремоделювання та серцево-судинних захворювань [33, 150]. Попередні дослідження визначали роль lncRNAs в ускладненнях захворювань серцево-судинної системи, пов'язаних із діабетом [151, 152]. Практично нічого не відомо про потенціал циркулюючих lncRNAs як показників цукрового діабету та супутніх ускладнень серцево-судинної системи [153], тому було проведене популяційне дослідження пацієнтів із добре контрольованим діабетом 2 типу та рівнем експресії lncRNA LIPCAR. Встановили, що lncRNA LIPCAR може служити корисним раннім діагностичним інструментом для оцінки діастолічної функції ЛШЛ та ремоделювання серця [91, 101, 152, 154].

Для підтвердження таких даних про таку участь lncRNA LIPCAR у діастолічній функції лівого шлуночка, ми провели обстеження спортсменів, визначили у них форму гіпертрофії та експресію lncRNA LIPCAR. Проаналізувавши отримані дані, ми побачили, що експресія знизилась після фізичного навантаження у двох випадках. Після фізичного навантаження максимальної інтенсивності її середньої інтенсивності рівень експресії lncRNA LIPCAR знизився у 1,02 рази, а через 1 добу зростає в 1,28 рази вище стану спокою (можливо як прояв явища суперкомпенсації). У осіб, які мають фізичні навантаження середньої інтенсивності, експресія зростає у 1,47 рази.

Транскрипт, пов'язаний з інфарктом міокарда (MIAT), ідентифікується як lncRNA, яка бере участь у різних захворюваннях, патологічних та фізіологічних процесах, таких як гіпертрофія міокарда, інфаркт міокарда, діабетична ретинопатія, формування ядерних тіл та нейрогенна прихильність. Ці дослідження виявили, що MIAT – це довга некодуєча РНК з біологічними та патологічними ефектами в багатьох системах та процесах клітинної реакції, головним чином у серцево-судинній та нервовій системі [94].

В деяких дослідженнях автори вказують на те, що MIAT, lncRNA асоційована з інфарктом міокарда, сприяє розвитку патологічного типу гіпертрофії серця, спричиненої ангіотензином II (AngII). Тим не менше, основний механізм lncRNA MIAT, який бере участь у серцевій гіпертрофії, в

основному невідомий [154]. Наші дослідження були зосереджені на визначені рівня експресії MIAT при фізичних навантаженнях різної інтенсивності. Рівень цієї lncRNA значно збільшується під час гіпертрофії міокарду і діє як спонж для miR-150. Експресія lncRNA MIAT після фізичного навантаження максимальної інтенсивності вірогідно зростає у 7,42 рази і незначно змінюється після навантаження середньої інтенсивності – знижується у 1,28 рази, дещо збільшуючись через добу – у 1,15 рази. У ситуації з особами, які не мали попереднього досвіду занять спортом, експресія MIAT збільшується у 1,02 рази. Нами було показано, що рівень MIAT під впливом систематичних інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру зростає як у міокарді, так і у скелетних м'язах (швидко-скоротливих та повільно скоротливих). Довга некодуєча РНК MIAT є негативним фактором, що сприяє розвитку крайніх форм гіпертрофії міокарда.

Willingham et al (2005) виявили функціональну довгу некодуєчу РНК NRON, яка діє як репресор ядерного фактора активованих Т-клітини (NFAT), і показали, що lncRNA NRON відіграє важливу роль у регулюванні складності внутрішньоклітинного метаболізму [94] та бере участь у генезисі та розвитку серцевої недостатності [155].

NFAT приймає участь в одному із шляхів гіпертрофічного процесу росту міокарда опосередковується кальцієвою/кальмодулін-активованою білковою фосфатазою, кальцинеурином, що активується за рахунок підвищення внутрішньоклітинного кальцію. Специфічна серцева активація кальцинеурину або ж NFAT є достатньою, щоб викликати сильну гіпертрофічну реакцію. Крім того, низка експериментів генетичного інгібування кальцинеурину або NFAT показав шлях, необхідний для повної гіпертрофічної реакції. Існує припущення, що сигналізація кальцинеурин-NFAT функціонує як запізнілий, але стійкий сигнал для гіпертрофії міокарда. Дослідження показали, що гальмування дії кальцинеурину відображало б

позитивну реакцію при потенційному лікуванні певних форм неадаптивної гіпертрофії міокарда [154, 155].

Зокрема, дані по рівню експресії lncRNA NRON при адаптивній формі гіпертрофії немає, тому ми вирішили визначити його. Це дало нам змогу проаналізувати вплив lncRNA NRON у процесі розвитку гіпертрофії міокарда. Експресія lncRNA NRON збільшується після навантаження максимальної інтенсивності у 9,25 рази і зменшується після навантаження помірної інтенсивності в 1,91 рази. Після середньої інтенсивності рівень експресії падає у 1,04 рази, хоча й відновлюється через добу – від точки стану спокою зростає у 1,02 рази.

Дослідження асоціації поліморфізмів генів-кандидатів та змін експресії довгих некодуючий РНК, які можуть здійснювати вплив на розвиток гіпертрофії міокарда крайніх форм, дозволить розкрити нові аспекти механізму регуляції адаптаційної відповіді серцево-судинної системи на фізичні навантаження, проводити ранню неінвазивну діагностику передпатологічних та патологічних станів міокарда.

ВИСНОВКИ

1. Розвиток гіпертрофії міокарда у спортсменів у відповідь на систематичні фізичні навантаження – це мультифакторне явище, яке залежить від характеру, інтенсивності навантаження, обсягу виконаної роботи та від спадкових чинників. Не дивлячись на гостру актуальність і важливість питань контролю стану серцево-судинної системи у спортсменів, відсутність єдиної концепції виникнення та алгоритму діагностики форм гіпертрофії міокарда (фізіологічної та патологічної) у спортсменів не дозволяє на сьогодні чітко встановити молекулярно-генетичні механізми їх розвитку. Схильність до розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів видів спорту, спрямованих на витривалість, під впливом інтенсивних фізичних навантажень є генетично детермінованою, полігенною, зумовленою сукупністю поліморфізмів генів та рівня експресії їх генів.

2. До переліку генів, які впливають на розвиток гіпертрофії міокарда, належать гени ренін-ангіотензинової системи, гени структурних білків серцевого м'язу та гени факторів росту (*ACE*, *FRAP1*, *Fstl1*, *eNOS*, *PPAR*, *UCP*, *ACTN*), а також довгі некодуючі РНК (*CHRF*, *Chast*, *H19*, *ROR*, *Chaer*, *Malat1*). Серед генів, які здійснюють найбільший вплив на розвиток гіпертрофії міокарда, аналіз дозволив встановити найбільш інформативні гени-кандидати для виявлення асоціації поліморфізмів: *PPARG*, *PPARA*, *PGC1A*, *UCP2*, *ACTN3* і *COL12A1*, а також чотири довгі некодуючі РНК: *LIPCAR*, *NRON*, *MHRT* та *MIAT*, зміна рівня експресії яких, може бути вагомим фактором розвитку гіпертрофії.

3. Спортсмени з ознаками гіпертрофії міокарда вірогідно відрізняються від спортсменів 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 сприяти розвитку гіпертрофії.

4. Шляхом однофакторного дисперсійного аналізу встановлено асоціацію поліморфізмів генів-кандидатів з показниками ехокардіографічного дослідження серця. Асоціація G/A поліморфізму гена *COL12A1* із показником ФВЛШл% та з товщиною міжшлуночкової перегородки. Генотип A/A супроводжується найменшими показниками товщини МШЛ та величини ФВ%. Асоціація G/C поліморфізму гена *PPARA* з товщиною МШП, алель G сприяє зростанню товщини. Показано асоціацію Pro/Ala поліморфізму гена *PPARG* з показником кінцево-діастолічного об'єму ЛШЛ. Поліморфізм R/X гена *ACTN3* не асоційований із показниками ехокардіографії, тобто не має важливого значення для розвитку гіпертрофії міокарда.

5. Методом бінарної логістичної регресії створена модель з класифікаційною здатністю - 68,2 %, до якої входять два поліморфізми: *PPARG* та *UCP2*, де генотипи Pro/Ala та Ala/Ala Pro/Ala поліморфізму гена *PPARG* та Ala/Ala Ala/Val поліморфізму гена *UCP2* мають вплив на збільшення ризику розвитку гіпертрофії міокарда.

6. Після фізичного навантаження максимальної інтенсивності експресія більшості lncRNAs достовірно збільшується: NRON у 9,25 рази (P=0,012), MHRT у 4,74 рази (P=0,00003) та MIAT у 7,42 рази (P=0,019), тоді як рівень експресії LIPCAR зменшується у 1,68 рази (P=0,001). Після фізичного навантаження помірної інтенсивності експресія lncRNANRON вірогідно знижується у 1,91 рази (P=0,04), тоді як інші довгі некодуючі РНК вірогідно зростають у декілька разів: LIPCAR у 1,47 рази (P=0,0004), MHRT у 1,54 рази (P=0,005) та MIAT 1,02 рази (P=0,017). При аналізі результатів зміни рівнів експресії lncRNAs під впливом фізичних навантажень середньої інтенсивності експресія більшості lncRNAs (LIPCAR, NRON, MIAT) незначно знижується, проте дещо відновлюється через 24 години, що може свідчити про наявність явища суперкомпенсації, тоді як рівень MHRT зростає в обох випадках.

7. Підвищення експресії рівня lncRNA MHRT при аеробних навантаженнях різної інтенсивності є захисним механізмом, що протидіє

розвитку патологічних форм гіпертрофії міокарда, тобто збільшення рівня експресії lncRNA MHRT проявляється кардіопротективною функцією. Під впливом систематичних інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру зростає МІАТ як у міокарді, так і у скелетних м'язах, що пояснює її перебування у крові. Довга некодуєча РНК МІАТ є негативним фактором, що сприяє розвитку крайніх форм гіпертрофії міокарда.

8. Встановлено ряд інформативних кореляційних зв'язків між показниками ехокардіографії та рівнем експресії довгих некодуєчих РНК, зокрема коефіцієнт кореляції між ММЛШл та рівнем lncRNA LIPCAR становить $r=0,52$ ($P<0,01$), коефіцієнт кореляції між рівнем lncRNA NRON та товщиною МШП – $r=-0,588$ ($P<0,01$). Очікувану кореляцію рівня lncRNAs МІАТ і MHRT з показниками ехокардіографії виявлено не було.

9. Встановлено кореляційний зв'язок між lncRNAs MHRT і NRON ($r=0,549177$), MHRT і МІАТ ($r=0,880267$), MHRT і LIPCAR ($r=0,878582$), що вказує на можливість застосування в якості біомаркерів для діагностики розвитку форм гіпертрофії.

10. Створено спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда, який дозволяє проводити діагностику стану 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*. Підтверджено відповідним патентом на корисну модель №141030.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Визначення частоти зустрічі алельних варіантів, дозволить спрогнозувати відсоток внеску генотипів генів-кандидатів на розвиток гіпертрофії міокарда у спортсменів у певному виді спорту, в даному випадку з проявом витривалості. Встановлено, що сукупність генотипу Ala/Ala поліморфізму Pro/Ala гена *PPARG*, генотипу C/C поліморфізму G/C гена *PPARA*, генотипу R/R поліморфізму R/X гена *ACTN3*, генотипу A/A поліморфізму G/A гена *COL12A1* та генотипу A/A поліморфізму G/A гена *PGC1A* призводить до збільшення ймовірності розвитку гіпертрофії міокарда у спортсмена під впливом інтенсивних систематичних фізичних навантажень.

2. На основі усіх отриманих результатів за допомогою методу бінарної логістичної регресії, була побудована модель впливу поліморфізмів на схильність до розвитку гіпертрофії. Дана модель, враховує носійство генотипів Pro/Ala та Ala/Ala поліморфізму Pro/Ala гена *PPARG* та генотипу Ala/Ala поліморфізму Ala/Val гена *UCP2*. Сукупний вплив виявлених генотипів підвищує генетичну схильність до розвитку гіпертрофії міокарда до 68,2 % .

3. Неінвазивний метод молекулярно-генетичної предикції, а саме спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда, який створено для генотипування спортсменів, базується на аналізі чотирьох поліморфізмів генів: *COL12A1*, *PPARA*, *PPARG* та *UCP2*. Використання такого методу можна рекомендувати для ранньої доклінічної діагностики захворювань у спортсменів, виявлення схильності до захворювання та застосування профілактичних заходів, корекції тренувального процесу, підвищення загального рівня здоров'я та ефективність їх підготовки.

4. Дослідження змін рівнів експресії довгих некодуючих РНК при фізичних навантаженнях різної інтенсивності, дозволяє встановити їх участь у процесі адаптації серцево-судинної системи спортсменів до систематичних навантажень. Підвищення рівнів експресії двох довгих некодуючих РНК

MHRT та MIAT свідчить про те, що інтенсивність фізичних навантажень викликає у спортсмена адаптаційні механізми, що супроводжуються кардіопротективним ефектом.

5. Усі розробки у даній роботі застосовані у практику науково-методичного забезпечення підготовки спортсменів «Федерації легкої атлетики», а результати роботи викладаються для студентів та аспірантів на кафедрі медико-біологічних дисциплін Національний університет фізичного виховання і спорту України.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Heron M, Anderson RN. Changes in the leading cause of death: recent patterns in heart disease and cancer mortality *NCHS Data Brief*. 2016;254:1-8.
2. Nichols M, Townsend N, Scarborough P, Rayner M. «Trends in age-specific coronary heart disease mortality in the European Union over three decades: 1980–2009», *Eur. Heart J.* 2013;34(39):3017-27. doi: 10.1093/eurheartj/eh159.
3. Гаврилова ЕА. Стрессорная кардиомиопатия у спортсменов. *European researcher*. 2012;22(6-2):961-3.
4. Земцовский Э, Гаврилова Е, Бондарев С. Аритмический вариант клинического течения стрессорной кардиомиопатии. *Вестник аритмологии*. 2002;29:19-27.
5. Михайлюк Е, Сыволап В. Современные взгляды на диагностику метаболической кардиомиопатии вследствие хронического физического перенапряжения организма спортсменов. *Спортивная медицина*. 2014;1:3-12.
6. 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):183-8.
7. Kolwicz SC. An "Exercise" in Cardiac Metabolism. *Front Cardiovasc Med*. 2018;5:66. doi:10.3389/fcvm.2018.00066.
8. 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.
9. Гаврилова ЕА. Спортивное сердце. Стрессорная кардиомиопатия: монография. М.: Советский спорт, 2007. 200 с.

10. Kannel WB, Gordon T, Offutt D. Left ventricular hypertrophy by electrocardiogram. Prevalence, incidence, and mortality in the Framingham study. *Ann.Intern. Med.* 1969;71:89-105.
11. 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.
12. 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.
13. Venckunas T, Lionikas A, Marcinkeviciene J., Raugaliene R, Alekrinskis A, Stasiulis A. Echocardiographic parameters in athletes of different sports. *Journal of Sports Science and Medicine.* 2008;7:151-6.
14. 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.
15. Wang Z, Wang Y. Dawn of The Epi-LncRNAs: New Path from Myheart. 2016;2(116):235-6.
16. Алёшин СЕ. Взаимосвязь между ядерными рецепторами PPAR α , β , γ и её роль в регуляции воспалительного ответа [диссертация]. Москва: Моск. гос. ун-т им. М.В.Ломоносова; 2009. 143 с.
17. 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;6:220-6.
18. Дорофеева ОЕ, Яримбаш КС, Коршак ВМ. Адаптаційні резерви системи кровообігу молоді в залежності від рівня повсякденної фізичної активності. *Спортивна медицина.* 2017;1:31-7.
19. 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.

20. Gupta R, Musunuru K. Mapping novel pathway in cardiovascular disease using eQTL data. *Frontiers in Genetics*. 2013;3:232-6.
21. 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.
22. 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;143:1072-83.
23. Fluck M, Hoppeler H. Molecular basis of skeletal muscle plasticity—from gene to form and function. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 2003;146:159.00127
24. Klapcinska B, Waskiewicz Z, Sadowska-Krepaetal E. Metabolic responsesto a 48-hultra-marathon run in middle-aged male amateur runners. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2019;113(11):2781-93.
25. 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.
26. 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 factorsendothelin-1 and angiotensin II in high performance athletes. *European Journal of Sport Science*. 2001;1(5):1-7.
27. Берг АР. Ассоциация риска развития кардиомиопатий с полиморфными вариантами генов ангиотензин-превращающего фермента, глутатион-S-трансферазы, интерлейкинов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2014;3:24-7.
28. Линде Е, Ахметов И, Орджоникидзе З. Клинико-генетические аспекты формирования «патологического спортивного сердца» у высококвалифицированных спортсменов. *Вестник спортивной науки*. 2009;2:1-6.

- 29.** 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>.
- 30.** McManus D, Freedman J. MicroRNAs in platelet function and cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2015;12:711-7.
- 31.** Гольберг Н, Дружевская А, Рогозкин В, Ахметов И. Роль mTOR в регуляции метаболизма скелетных мышц. *Физиология человека*. 2014;40(5):123-132.
- 32.** Johnson S, Rabinovitch P, Kaerberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature*. 2013;493(7432):338.
- 33.** Kumarswamy R, et al. Circulating long noncoding RNA, LIPCAR, predicts survival in patients with heart failure. *Circ Res*. 2014;114:1569-75.
- 34.** 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.
- 35.** Semple RK, Chatterjee VK, O'Rahilly S. PPAR γ and human metabolic disease. *J Clin Invest*. 2006;116(3):581-9.
- 36.** 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;99:503-10.
- 37.** 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.
- 38.** Sagach VF, 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):12-8.
- 39.** Wu C, Arora P. Long noncoding MHRT RNA: Molecular crowbar unravel insights into heart failure treatment. *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2015;1(8):213-5.
- 40.** Liu N, Olson E. MicroRNA regulatory networks in cardiovascular development. *Dev Cell*. 2010;18:510-25.

41. 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):236-45.
42. 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): 3983-94.
43. Shen Sh, Jiang H, Bei Y, Xiao J, Li X. Long non-coding RNAs in cardiac remodeling. *Cellular physiology and biochemistry.* 2017;41:1830-7.
44. Baggish A, et al. Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training. *J. Physiol.* 2011:589.
45. Guller I, Russel A. MicroRNAs in skeletal muscle: the irroleand regulation in development, desease and function. *J. Physiol.* 2010;588(21):4075-87.
46. 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;16:6855-67.
47. 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;268:178–82.
48. Lippi G, Salvagno G, Daneseatal E. The base line serum value of α -amylase is a sign if I can't predictor of distance running performance. *Clin. Chem. Lab.Med.* 2014:1-8.
49. 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;38:228-33.
50. 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;279:4782-93.

- 51.** Schmitt B, Fluck M, Decombaz J. Transcriptional adaptations of lipid metabolism in tibialis anterior muscle of endurance– trained athletes. *Physiol. Genomics*. 2003;15:148-57.
- 52.** Lichyan T, Yihua B, Haifeng Z, Junjie X, Xinli L. Exercise for the heart: signaling pathways. *Oncotarget*. 2015;6(25):20773-84.
- 53.** 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):2144-57.
- 54.** Fulghum K, Hill B. Metabolic Mechanisms of Exercise-Induced Cardiac Remodeling. *Front Cardiovasc Med*. 2018;5:127. doi:10.3389/fcvm.2018.
- 55.** Колчанов Н, Воевода М, Кузнецова Т, Мордвинов В, Игнатъева Е. Генные сети липидного метаболизма. *Бюллетень СО РАМН*. 2006;2(120):29-42.
- 56.** Бабак О, Клименко Н. Роль рецепторов PPAR в регуляції основних звеньев патогенеза метаболічного синдрому. *Сучасні медичні технології*. 2010;2:70-80.
- 57.** 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;23:1013-25.
- 58.** 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 α*). *J Biol Chem*. 1998;273:5678-84.
- 59.** Braissant O, Fougelle F, Scotto C, Dauca M, Wahli W. Differential expression of peroxisome proliferator–activated receptors (*PPARs*): tissue distribution of PPAR- α , - β and - γ in the adult rat. *Endocrinology*. 1996;137:354–66.

60. Shimano M, Ouchia N, Nakamura K, van Wijk B, Ohashia K, Asaumia Y, et al. Cardiac myocyte follistatin-like 1 functions to attenuate hypertrophy following pressure overload. *PNAS*. 2011;108(43):899-906.

61. Ахметов ИИ. Молекулярно-генетические маркеры физических качеств человека: [диссертация]. Москва; 2010. 45 с.

62. Horowitz J, Leone T, Feng W, Kelly D, Klein S. Effect of endurance training on lipid metabolism in women: a potential role for PPAR alpha in the metabolic response to training. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*. 2000;279:348-55.

63. 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.

64. 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.

65. 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;37:736-43.

66. 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.

67. Richard P, Villard E, Charron Ph, Isnard R. The genetic bases of cardiomyopathies. *Journal of Amer. College of Cardiology*. 2006;48(9):79-89.

68. 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.

69. Kutsche HS, Schreckenber R, Weber M, Hirschhäuser Ch, Rohrbach S, Li L, Niemann B, Schulz R, Schlüter K-D. Alterations in Glucose Metabolism During the Transition to Heart Failure: The Contribution of UCP-2. *Cells.* 2020;9(3):552. doi: 10.3390/cells9030552.

70. Young ME, Patil S, Ying J, Depre C, Ahuja HS, Shipley GL, Stepkowski SM, Davies PJ, Taegtmeyer H. Uncoupling protein 3 transcription is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor (α) in the adult rodent heart. *FASEB J.* 2001;15(3):833-45. doi:10.1096/fj.00-0351com.

71. Yayoi I, Sheila M. Adams, Brianne K. Connizzo, David P. Beason, Louis J. Soslowsky, Manuel Koch, and David E. Birk. Collagen XII mediated cellular and extracellular mechanisms regulate establishment of tendon structure and function. *Matrix Biol.* 2021;95:52–67. doi:10.1016/j.matbio.2020.10.004.

72. Daohong Zhao, Qi Zhang, Qingnan Lu, Chen Hong, Tinghu Luo, Qihui Duan, Songhua Shu, Jiang Lv, Wenchuan Zhao. Correlations Between the Genetic Variations in the *COL1A1*, *COL5A1*, *COL12A1*, and β -fibrinogen Genes and Anterior Cruciate Ligament Injury in Chinese Patients. *J. Athl Train.* 2020;55(5):515-21. doi: 10.4085/1062-6050-335-18.

73. Pickering C, Kiely J. *ACTN3*: More than Just a Gene for Speed. *Front Physiol.* 2017 Dec 18;8:1080. doi: 10.3389/fphys.2017.01080.

74. Koizumi KI, Ota T, Hayashida M, et al. The *ACTN3* Gene is a Potential Biomarker for the Risk of Non-Contact Sports Injury in Female Athletes. *J Mol Biomark Diagn s6.* 2015. <https://doi.org/10.4172/2155-9929.S6-002>.

75. Miyamoto N, Miyamoto-Mikami E, Hirata K, et al. Association analysis of the *ACTN3* R577X polymorphism with passive muscle stiffness and muscle strain injury. *Scand J Med Sci Sports.* 2018;28:1209-14. <https://doi.org/10.1111/sms.12994>

- 76.** Del Coso J, Moreno V, Gutie'rrez-Hellí'n J, et al (2019) ACTN3 R577X Genotype and Exercise Phenotypes in Recreational Marathon Runners. *Genes (Basel)*. 2019;10:413. <https://doi.org/10.3390/genes10060413>.
- 77.** 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):1225-6.
- 78.** Guttman M, Rinn J. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs. *Nature*. 2012;482(7385):339-46.
- 79.** 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.
- 80.** Andrews S, Rothnagel J. Emerging evidence for functional peptides encoded by short open reading frames. *Nat Rev Genet*. 2014;15:193-204.
- 81.** 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(9):981-93.
- 82.** 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.
- 83.** 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.
- 84.** Viereck J, Kumarswamy R, Foinquinos A, Xiao K, et al. Long noncoding RNA Chast promotes cardiac remodeling. *Sci Transl Med*. 2016;8:326.
- 85.** 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;514:102-6.
- 86.** 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.

- 87.** 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.
- 88.** 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.
- 89.** 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.
- 90.** Mooren F, Viereck J. Circulating microRNAs as a potential biomarkers of aerobic exercise capacity. *Am. J. Heart Circ. Physiol.* 2014;306:565-77.
- 91.** Devereux RB. et al. Impact of diabetes on cardiac structure and function: the strong heart study. *Circulation.* 2000;101:2271-6.
- 92.** Dirx 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):2414-24.
- 93.** Wedin JO, Henriksson AE. Post game elevation of cardiac markers amonge lite floorball players. *Scand. J. Med. Sci. Sports.* 2015;25(4):495-500. doi: 10.1111/sms.12304.
- 94.** Jiangquan Liao, Qingyong He, MinLi, Yinfeng Chen, Yongmei Liu, Jie Wang. *LncRNA MIAT: Myocardial infarction associated and more.* *Gene.* 2016;578(2):158-61. doi: 10.1016/j.gene.2015.12.032.
- 95.** Ottaviani L, Martins C. Non-coding RNA in cardiac hypertrophy. *J. Physiol.* 2017;595:4037-50.
- 96.** 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;21:1803-14.

- 97.** 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.
- 98.** Vaccaro O, Lapice E, Monticelli A, Giacchetti M, Castaldo I, Alasso R, Pinelli M, et al. Pro₁₂Ala polymorphism of the PPAR γ 2 locus modulates the relationship between energy intake and body weight in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2007;30(5):1156-61.
- 99.** Zhang J, Gao C, Meng M, Tang H. Long Noncoding RNA MHRT Protects Cardiomyocytes against H₂O₂-Induced Apoptosis. *Biomolecules & Therapeutics.* 2016;24(1):19-24. doi:10.4062/biomolther.2015.066.
- 100.** 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.
- 101.** 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.
- 102.** Kumar R, O'Malley B. NC coregulators and human diseases. *World Scientific.* 2008:602.
- 103.** 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.
- 104.** Дроздовська СБ, Поліщук АО. Участь некодуючих РНК (ncRNA) у формуванні гіпертрофії міокарду при м'язовій діяльності. *Вісник проблем біології і медицини.* 2017: 38-43.
- 105.** Vinnichuk YD, **Polischchuk AO**, Goshovska YV, Sokolova OS, Drozdovska SB. Changes in biochemical parameters and mitochondrial factor in blood of amateur athletes under influence of marathon running. *Фізіологічний журнал.* 2019;5(65):20-7.

106. Дроздовська СБ, Поліщук АО, Вінничук ЮД, Гончаров СВ, Досенко ВС. Молекулярно-генетичні особливості адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень: монографія. Київ: НУФВСУ; 2020. ТОМ 2. – 140 с.

107. 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;818:508-17. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.11.031.

108. 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

109. Земцовский ЭВ. Спортивная кардиология. СПб: Гиппократ, 1995. 448 с.

110. Жарінов ОЙ. Гіпертрофія лівого шлуночка і ефективність лікування артеріальної гіпертензії. *Здоров'я України.* 2009;18(223):20-1.

111. Дроздовська СБ. Фізіологічні та молекулярно-генетичні фактори фізичної працездатності у спорті [дисертація]. Київ: Національний університет фізичного виховання і спорту України; 2016. 378 с.

112. Дроздовская С, Боровик О, Досенко В, Ильин В. Полиморфизм гена γ – 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;4:52-7.

113. 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):207–18.

114. Дроздовська С. Б. Асоціація G/C поліморфізму 7-го інтрону гену α - 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.

115. 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;21:584–95.

116. 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.

117. 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;89:977-82.

118. Антомонов МЮ. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. К, 2006. 558 с.

119. Polishchuk AO, Drozdovska SB, Hrubyak LM, Dolzhenko MM, Dosenko VE. Association of polymorphisms of the *PPAR* family genes and *UCP2* gene with echocardiography indices in athletes. *World of medicine and biology.* 2021;2(76):122-6. DOI:10.26724/2079-8334-2021-2-76-122-126.

120. Mazur I, Drozdovska S, Andrieieva O, Vinnichuk Y, Polishchuk A, Andreev I, Dosenko V, Pickering C, Ahmetov I. *PPARGC1A* gene polymorphism is associated with exercise-induced fat loss. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness.* 2020;47(2):7451-7.

121. Дроздовська СБ, Поліщук АО, Досенко ВЄ. Дроздовська С. Б., патентовласник. Спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів в залежності від поліморфізмів генів. Патент України № 141030. 2020 бер. 25.

122. Drozdovska S, Palladina O, Polischuk A, Yuriev S. The combined effect of dietary supplement ‘Leptin Manager’ and power fitness exercises on

weight loss in women with different *LEPR* (rs1137101) genotypes. *Sporto mokslas*. 2018;2:48-54.

123. Мазур ЮЮ, Дроздовська СБ, Андреева ОВ, Винничук ЮД, Поліщук АО, Андреев Ю, Досенко ВС, Пікерінг К, Ахметов П. Вплив генетичних поліморфізмів генів *PPARG* та *PPARGC1* на ефективність зниження жирової маси при заняттях фітнесом. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2020;27:196-201.

124. Полищук АА, Дроздовская СБ, Гончаров СВ, Досенко ВЕ. Ассоциация Pro/Ala полиморфизма гена *PPARG* T/C полиморфизма гена *eNOS* с показателями гипертрофии левого желудочка миокарда у спортсменов, специализирующихся в видах спорта на выносливость. 22 International scientific congress “Olympic sport and sport for all”, Tbilisi, 2018; p. 340-3.

125. 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;114:1377-88.

126. Поліщук АО, Дроздовська СБ, Гончаров СВ, Досенко ВС. Рівень експресії довгих некодуючих РНК при тривалій та довготривалій адаптації у відповідь на фізичне навантаження. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020;5(1):354-9. DOI: 10.26693/jmbs05.01.354.

127. Nakamura M, Sadoshima J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy. *Nat Rev Cardiol*. 2018;15(7):387-407. doi: 10.1038/s41569-018-0007-y.

128. Saragiotto BT, Yamato TP, Hespanhol Junior LC, et al. What are the Main Risk Factors for Running-Related Injuries? *Sport Med*. 2014;44:1153-63. doi: 10.1007/s40279-014-0194-6.

129. Дорофеева ОЄ, Яримбаш КС. Особливості діагностики функціонального стану спортсменів “Мастерс” в умовах тренувальної та змагальної діяльності. Запорожский медицинский журнал. 2019;21(5):662-6.

130. Weidemann F, Störk S, Herrmann S, Ertl G, Niemann M. The various forms of left ventricular hypertrophy: diagnostic value of echocardiography. *Herz*. 2011;36(8):713-23. doi: 10.1007/s00059-010-3416-1.

131. Dayaalı NB, Müller H. Discovery of left ventricular hypertrophy during adult echocardiography. *Rev Med Suisse*. 2017;13(564):1106-2 .

132. Liang F. Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) agonists inhibit hypertrophy of neonatal rat cardiacmyocytes. *The Endocrine Society*. 2003;№144(9):4187-94.

133. Jamshidi Y, Montgomery H, Hense H, Myerson S, Torra I, Staels B, et al. Peroxisome proliferator– activated receptor α gene regulates left ventricular growth in response to exercise and hypertension. *Circulation*. 2002;105:950-5.

134. Дроздовська СБ, Пастухова ВА. Ультразвукове дослідження серця спортсменів, які спеціалізуються у швидкісно-силових видах легкої атлетики з різними генотипами за I/D поліморфізму гена ангіотензинперетворюючого ферменту (ACE). 2014;12(2):13-6.

135. 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.

136. 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):606-17.

137. Harsløf T, Tofteng C, Husted L, Nyegaard M, Børghlum A, Carstens M, et al. Polymorphisms of the peroxisome proliferator–activated receptor γ (PPAR γ) gene are associated with osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2011;22(10):2655-66.

138. Masud S, Ye S. Effect of the peroxisome proliferator–activated receptor– γ gene Pro12Ala variant on body mass index: a meta–analysis. *Medical Gen*. 2003;40:773-80.

- 139.** 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.
- 140.** 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.
- 141.** 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.
- 142.** Mason S, Howlett R, Kim M, Olfert I, Hogan M, Nulty W, et al. Loss of Skeletal Muscle HIF-1 α results in Altered Exercise Endurance. *Plos Biology*. 2004;10(2):1540-7.
- 143.** 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;99:3448.
- 144.** Ruiz-Ramírez A, López-Acosta O, Barrios-Maya M A, El-Hafidi M. Cell Death and Heart Failure in Obesity: Role of Uncoupling Proteins. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;17:11. doi: 10.1155/2016/9340654.
- 145.** 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.
- 146.** Vausort M, Wagner DR, Devaux Y. Long noncoding RNAs in patients with acute myocardial infarction. *Circ. Res*. 2014;115:668-77.
- 147.** Paterick TE, Gordon T, Spiegel D. Echocardiography: Profiling of the Athlete's Heart. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2014;27(9):941-8.
- 148.** Lina Xuan, Lihua Sun, Ying Zhang, Yuechao Huang, Yan Hou, Qingqi Li, Ying Guo, Bingbing Feng, Lina Cui, XiaoxueWang, ZhiguoWang,

YeTian, BoYu, ShuWang, ChaoqianXu, MingyuZhang, ZhiminDu, Yanjie Lu, BaoFengYan. Circulating long non-coding RNAs NRON and MHRT as novel predictive biomarkers of heart failure. *J. Cell. Mol. Med.* 2017;21(9):1803-14. doi: 10.1111/jcmm.13101.

149. Liu JY et al. Pathogenic role of lncRNA-MALAT1 in endothelial cell dysfunction in diabetes mellitus. *Cell Death Dis.* 2014;5:e1506.

150. Yan B et al. lncRNA-MIAT regulates microvascular dysfunction by functioning as a competing endogenous RNA. *Circ Res.* 2015;116:1143-56.

151. Carter G, et al. Circulating long noncoding RNA GAS5 levels are correlated to prevalence of type 2 diabetes mellitus. *BBA Clin.* 2015;4:102-7.

152. From AM, Scott CG, Chen HH. Changes in diastolic dysfunction in diabetes mellitus over time. *Am J Cardiol.* 2009;103:1463-66.

153. Li Y, Wang J, Sun L, Zhu Sh. LncRNA myocardial infarction-associated transcript (MIAT) contributed to cardiac hypertrophy by regulating TLR4 via miR-93. 2018;818:508-17. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.11.031.

154. Han P, Li W, Lin CH, et al. A long noncoding RNA protects the heart from pathological hypertrophy. *Nature.* 2014;514:102-6.

155. Wilkins BJ, Dai Y-Sh, Bueno OF, Parsons StA, Xu J, Plank DM, Jones F, Kimball ThR, Molkenin JD. Calcineurin/NFAT Coupling Participates in Pathological, but not Physiological, Cardiac Hypertrophy. *Circulation Research.* 2004;94:110-8. doi: 10.1161/01.RES.0000109415.17511.18

ДОДАТКИ

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Дроздовська СБ, **Поліщук АО**. Участь некодуєчих РНК (ncRNA) у формуванні гіпертрофії міокарду при м'язовій діяльності. Вісник проблем біології і медицини. 2017;38-43. Фахове видання України, яке включено до міжнародної наукометричної бази Index Copernicus. *Здобувачем проведено аналіз літературних даних.*
3. Vinnichuk YD, **Polischchuk AO**, Goshovska YV, Sokolova OS, Drozdovska SB. Changes in biochemical parameters and mitochondrial factor in blood of amateur athletes under influence of marathon running. Фізіологічний журнал. 2019;5(65):20-7. Фахове видання України, яке включено до міжнародної наукометричної бази Scopus. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*
4. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ, Гончаров СВ, Досенко ВЄ. Рівень експресії довгих некодуєчих РНК при тривалій та довготривалій адаптації у відповідь на фізичне навантаження. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020;5(1):354-9. DOI: 10.26693/jmbs05.01.354. Фахове видання України, яке включено до міжнародної наукометричної бази Index Copernicus. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалу до публікації.*
5. **Polishchuk AO**, Drozdovska SB, Hrubyak LM, Dolzhenko MM, Dosenko VE. Association of polymorphisms of the *PPAR* family genes and *UCP2* gene with echocardiography indices in athletes. World of medicine and biology. 2021;2(76):122-6. DOI:10.26724/2079-8334-2021-2-76-122-126. Фахове видання України, яке включено до міжнародної наукометричної бази Web of science.

Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалу до публікації.

6. Mazur I, Drozdovska S, Andrieieva O, Vinnichuk Y, **Polishchuk A**, Andreev I, Dosenko V, Pickering C, Ahmetov I. *PPARGC1A* gene polymorphism is associated with exercise-induced fat loss. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 2020;47(2):7451-7. Наукове періодичне видання Італії, яке включено до міжнародної наукометричної бази Scopus. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації).*

7. Drozdovska S, Palladina O, **Polischuk A**, Yuriev S. The combined effect of dietary supplement ‘Leptin Manager’ and power fitness exercises on weight loss in women with different *LEPR* (rs1137101) genotypes. *Sporto mokslas*. 2018;2:48-54. Наукове періодичне видання Литви, яке включено до міжнародної наукометричної бази Index Copernicus. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*

8. Дроздовська СБ, **Поліщук АО**, Вінничук ЮД, Гончаров СВ, Досенко ВЄ. Молекулярно-генетичні особливості адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень: монографія. Київ: НУФВСУ; 2020. ТОМ 2. – 140 с. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*

9. Мазур ЮЮ, Дроздовська СБ, Андрєєва ОВ, Вінничук ЮД, **Поліщук АО**, Андрєєв ІО, Досенко ВЄ, Пікерінг К, Ахметов ІІ. Вплив генетичних поліморфізмів генів *PPARG* та *PPARGC1* на ефективність зниження жирової маси при заняттях фітнесом. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2020;27:196-201. Фахове видання України. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ, Груб'як ЛМ. Асоціація Pro/Ala поліморфізму гену *PPARG* із показниками гіпертрофії лівого шлуночка міокарда у спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту на витривалість. В: Молодь та олімпійський рух: зб. тез доп. 11-ї Міжнар. конф. молодих вчених [Інтернет]; 2018 Квіт 10-12; Київ. Київ: НУФВСУ; 2018. с. 246-7. Доступно: https://uni-sport.edu.ua/sites/default/files/rozklad/zbirnyk_tez_2018.pdf.
2. Дроздовська СБ, Палладіна ОЛ, Юрьєв СД, **Поліщук АО**. Поєднаний вплив дієтичної добавки Лептин Менеджер та занять силовим фітнесом на зниження маси тіла у жінок з різними генотипами: зб. тез доповідей 2-ї Міжнародної науково-практичної конференції. «Фізична активність і якість життя людини», Луцьк–Світязь, 2018.
3. Drozdovska S, Dosenko V, Goncharov S, **Polischuk A**. The role of long non-coding RNAs (lncRNAs) in cardiac hypertrophy formation during physical exercise. Riga, Latvia, 2018, p. 34.
4. **Полищук АА**, Дроздовская СБ, Гончаров СВ, Досенко ВЕ. Асоціація Pro/Ala поліморфізма гену *PPARG* Т/С поліморфізма гену *eNOS*с показателями гіпертрофії лівого желудочка міокарда у спортсменів, спеціалізуються в видах спорту на виносливість. 22 International scientific congress “Olympic sport and sport for all”, Tbilisi, 2018; p. 340-343.
5. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ, Гончаров СВ, Досенко ВЄ. Зміни довгих некодуючих РНК при терміновій та довготривалій адаптації у відповідь на фізичне навантаження. Матеріали 4-го Всеукраїнського з'їзду фахівців із спортивної медицини та лікувальної фізкультури «Сучасні досягнення спортивної медицини, фізичної та реабілітаційної медицини – 2019», Дніпро, 2019, с.138.
6. Мазур ЮЮ, Дроздовська СБ, **Поліщук АО**, Вінничук ЮД, Досенко ВЄ, Пікерінг К, Ахметов П. Поліморфізм генів *PPARG* і *PPARA* як

фактори метаболічних розладів та відповіді організму на фізичні навантаження. Матеріали 4-го Всеукраїнського з'їзду фахівців із спортивної медицини та лікувальної фізкультури «Сучасні досягнення спортивної медицини, фізичної та реабілітаційної медицини – 2019», Дніпро, 2019, с. 121.

7. Дроздовська СБ, **Поліщук АО**, Груб'як ЛМ, Долженко ММ, Досенко ВЄ. Вплив циклічних вправ різної інтенсивності на експресію довгих некодуючих РНК. Матеріали 20-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П. Г. Костюка. Фізіологічний журнал. 2019;65(3):145 с. (Додаток).

8. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ, Груб'як ЛМ, Долженко ММ, Гончаров СВ, Досенко ВЄ. Асоціація поліморфізмів генів із показниками ехокардіографічних досліджень серця спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з переважним розвитком витривалості. Матеріали 20-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П. Г. Костюка. Фізіологічний журнал. 2019;65(3):145-146 с. (Додаток).

9. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ, Гончаров СВ, Досенко ВЄ. Залежність ехокардіографічних показників та поліморфізмів генів серця спортсменів, які спеціалізуються у видах з переважним розвитком витривалості. В: Молодь та олімпійський рух: зб. тез доп. 12-ї Міжнар. конф. молодих вчених [Інтернет]; 2019 Трав 17; Київ. Київ: НУФВСУ; 2019. 260 с. Доступно: https://unisport.edu.ua/sites/default/files/vseDocumenti/zbirnyk_tez_0.pdf.

10. **Поліщук АО**, Дроздовська СБ. Рівень експресії довгих некодуючих рнк при фізичній роботі, спрямованій на розвиток витривалості. В: Молодь та олімпійський рух: зб. тез доп. 13-ї Міжнар. конф. молодих вчених [Інтернет]; 2020 Трав 16; Київ. Київ: НУФВСУ; 2020. 165 с. Доступно: <http://www.unisport.edu.ua/content/naukovi-konferenciyi-ta-seminary>.

**Наукові праці, які додатково відображають наукові результати
дисертації:**

1. Дроздовська СБ, Палладіна ОЛ, Юрьєв СД, **Поліщук АО**, Гончаров СВ, Досенко ВЄ. Ефективність впливу дієтичної добавки Лептин Менеджер на зниження маси тіла у жінок з різними генотипами за геном рецептора до лептину, що займаються силовим фітнесом. Спортивна медицина і фізична реабілітація. 2018;1:73-81. *Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*

2. Дроздовська СБ, **Поліщук АО**, Досенко ВЄ. Дроздовська С. Б., патентовласник. Спосіб прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда у спортсменів в залежності від поліморфізмів генів. Патент України № 141030. 2020 бер. 25. *Здобувачем проведено аналіз отриманих результатів, участь у підготовці матеріалу до публікації.*

**ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ
ДИСЕРТАЦІЇ**

№ п/п	Назва конференції, конгресу, симпозіуму, семінару	Форма участі
1	XI Міжнародна конференція молодих вчених «Молодь та олімпійський рух» (Київ, 10-12 квітня 2018 р.)	Публікація
2	II Міжнародна науково-практична конференція «Фізична активність і якість життя людини» (Луцьк, 2018 р.)	Доповідь та публікація
3	XXII International scientific congress “Olympic sport and sport for all” (Tbilisi, 2018)	Доповідь та публікація
4	IV Всеукраїнський з’їзд фахівців із спортивної медицини та лікувальної фізкультури «Сучасні досягнення спортивної медицини, фізичної та реабілітаційної медицини – 2019» (Дніпро, 2019 р.)	Публікація
5	XX з’їзд Українського фізіологічного товариства ім. П. Г. Костюка (Київ, 2019 р.)	Публікація
6	XX з’їзд Українського фізіологічного товариства ім. П. Г. Костюка (Київ, 2019 р.)	Доповідь та публікація
7	XII Міжнародна конференція молодих вчених «Молодь та олімпійський рух» (Київ, 17 травня 2019 р.)	Публікація
8	XII Міжнародна конференція молодих вчених «Молодь та олімпійський рух» (Київ, 16 травня 2020 р.)	Публікація

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

Скорочена назва гену	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 специфічних протеїнкіназа, що грає важливу роль в передачі позаклітинних сигналів через фосфорилування різних ферментів білкового обмін
<i>MYH7</i>	Ген важкого ланцюгу міозину β	Gly ₃₅₄ →Gly	Структурний білок саркомеру
<i>PPARA</i>	Ген α - рецептора, що активується проліфераторами пероксисом	G ²⁵²⁸ →C	Ядерний рецептор, транскрипційний фактор генів жирового та вуглеводного обмін
<i>PPARG</i>	Ген γ - рецептора, що активується проліфераторами пероксисом	Pro ₁₂ →Ala	Ядерний рецептор, транскрипційний фактор генів жирового та вуглеводного обмін

<i>PPARGC1A</i>	Альфа-коактиватору-рецепторів, що активуються пр оліфераторами пер оксисом	G ¹⁴⁴⁴ →A	Коактиватор транскрипційного фактора PPARG
<i>ACTN3</i>	Альфа-актинін-3 (ізоформа)	rs1615739	Кодує білок, що забезпечує швидке скор оченням'язових волокон
<i>UCP2</i>	Білки–роз'єднувачі окисного фосфорилування	rs660339	транспорт жирних кислот
<i>COL12A1</i>	Ген колагена XII типу	rs970547	Синтез α1–ланцюгів колагена XII типу, локалізований у кістках та хрящах

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	Посилання
CHRF	фактор серцевої гіпертрофії	Діє як ендогенна губка на miR-489	+	-	+ Підвищує рівень гіпертрофії міокарда	-	-	Wang K. 214
MHRT	Транскрипт РНК, асоційований з важким ланцюгом міозину	Регулює хроматиноверемоделювання і серцеву гіпертрофію міжгенна, за механізмом-пастка	+	+	+	-	-	Han 2014
Chast	Транскрипт, асоційований зі серцевою гіпертрофією	Остеокласти, cis-regulation	+	+	+	-	-	Viereck 2016
LIPCAR	Довга, некодуюча, асоційована з серцем РНК	-	+	+	-	+	-	<u>de Gonzalo-Calvo D, 2016</u>

Chaer	Серцевий гіпертрофія асоційовани й епігенетичний регулятор			-	+		-	Matkovich,2016 Wang, 2016
MIAT	міокардіальний інфаркт асоційовани й транскрипт	Спонж для міг	+	+	+	+	-	Yan 2015, Zhu, 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
H19		Негативний регулятор гіпертрофії	+	+	+	+		Tao 2016, LiuL., 2016
NRON	Білок некодуюча РНК		+	+		+		Xuan L., 2017

**Акт
впровадження результатів наукових
досліджень у навчальний процес
кафедри медико-біологічних дисциплін
Національного університету фізичного виховання і спорту України**

Ми, ті, що підписалися нижче, представник НУФВСУ, перший проректор **М.В. Дутчак** та завідувач кафедри медико-біологічних дисциплін **В.А. Пастухова**, склали цей акт про те, що за результатами роботи, виконаної за темою «Молекулярно-генетичні особливості адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень» (№ державної реєстрації: 0117U002383), за період 2017 року, виконавці Дроздовська Світлана Богданівна та Поліщук Анна Олександрівна, внесли такі рекомендації та пропозиції:

Назва пропозиції, форма впровадження і коротка характеристика	Наукова новизна та її значення, рекомендації з подальшого використання	Ефект від впровадження
<p>«Роль некодуючих РНК у процесі розвитку гіпертрофії міокарду при напруженні м'язовій діяльності» Форма – лекційний матеріал з предмету «Молекулярна фізіологія м'язової діяльності» для магістрантів зі спеціальності «Фізіологія спорту» Розуміння ролі некодуючих РНК розширяє уявлення студентів про механізми фізіологічних процесів, що протікають у міокарді, і дозволяють знаходити нові шляхи впливу на перебіг адаптаційних процесів. «Аналогів в світовій практиці немає.»</p>	<p>Створено узагальнене уявлення про основні механізми дії довгих некодуючих РНК та їх сучасну класифікацію. Визначено основні сучасні тенденції, щодо дослідження некодуючих РНК при м'язовій діяльності. Визначено перелік основних довгих некодуючих РНК, що зчиняють вплив на розвиток процесів адаптації міокарду до інтенсивних фізичних навантажень. Зібрано результати останніх досліджень у даній сфері. Результати досліджень можуть використовуватися при викладанні дисципліни «Спортивна медицина», «Спортивна фізіологія», «Фізіологія м'язової діяльності».</p>	<p>Матеріали досліджень використано при викладанні лекцій протягом жовтня-листопада 2017 р. для магістрів зі спеціалізації «Фізіологія спорту». Впровадження результатів досліджень в лекційний матеріал сприяло розширенню кола знань магістрів, підвищенню якості викладання предмету, виводить викладання на сучасний рівень. Дає студентам операційний інструмент для майбутнього застосування у практиці підготовки спортсменів. Знання дозволяють керувати перебігом адаптаційних процесів у міокарді та контролювати стан серцево-судинної системи спортсменів.</p>

Автори, розробники:



С.Б. Дроздовська, д.б.н., доцент, професор кафедри медико-біологічних дисциплін, головний науковий співробітник НДІ НУФВСУ, виконавець теми
А.О. Поліщук, аспірант кафедри МБД

Представник НУФВСУ



Перший проректор, проф., д.мед.н.

М.В. Дутчак

Представник установи, де виконувався впровадження:

Завідувач кафедри медико-біологічних дисциплін,
доцент, д.мед.н.



В.А. Пастухова

25 жовтня 2017 р.

Акт
впровадження результатів наукових
досліджень у практику науково-методичного забезпечення підготовки спортсменів
Федерації легкої атлетики

Ми, ті, що підписали нижче: представники Федерації легкої атлетики України, Генеральний секретар Медведь М.В. та головний тренер збірної команди України з легкої атлетики (види витривалості) Романчук С.І. з одної сторони, склали цей акт про те, що виконавці Поліщук Анна Олександрівна, Дроздовська Світлана Богданівна та Досенко Віктор Євгенович, за результатами роботи, виконаної за темою «Молекулярно-генетичні особливості адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень» (№ державної реєстрації: 0117U002383), за період 2017 року, внесли такі рекомендації та пропозиції:

Назва пропозиції, форма впровадження і коротка характеристика	Наукова новизна та її значення, рекомендації з подальшого використання	Ефект від впровадження
«Неінвазивний метод молекулярно-генетичної предикції розвитку вираженої гіпертрофії міокарда на основі детекції молекулярно-генетичних маркерів». У якості молекулярно-генетичних маркерів стану серцево-судинної системи, що відображають хід адаптаційних процесів до фізичних навантажень у серці, використано сукупність поліморфізмів генів, які кодують транскрипційні фактори та структурні білки кардіоміоцитів. Даний метод в практиці підготовки легкоатлетів України не використовувався.	Результати дозволяють прогнозувати формування адекватної адаптаційної відповіді міокарду на фізичні навантаження, що спрямовані на розвиток витривалості, коректувати процес підготовки спортсменів, контролювати стан, здоров'я серця в цілому.	Підвищення якості медико-біологічного забезпечення та удосконалення тренувального процесу висококваліфікованих спортсменів-легкоатлетів (види витривалості) при підготовці до чемпіонату Європи з легкої атлетики 2018 року.

Автори, розробники:

А.О. Поліщук, аспірантка кафедри медико-біологічних дисциплін НУФВСУ

С.Б. Дроздовська, д.б.н., професор кафедри МБД, завідувач лабораторії стимуляції працездатності та адаптаційних реакцій у спорті вищих досягнень НДІ НУФВСУ

В.Є. Досенко, д.м.н., професор, завідувач відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України

Представники
Федерації легкої атлетики України
Генеральний секретар

Головний тренер збірної команди України
з легкої атлетики (види витривалості)

Медведь М.В.

Романчук С.І.

_____ 2018 р.

Акт
впровадження результатів наукових
досліджень у практику науково-методичного забезпечення підготовки спортсменів
Федерації легкої атлетики

Ми, ті, що підписали нижче: представники Федерації легкої атлетики України, Генеральний секретар Медведь М.В. та головний тренер збірної команди України з легкої атлетики (види витривалості) Романчук С.І. з одної сторони, склали цей акт про те, що виконавці Поліщук Анна Олександрівна, Дроздовська Світлана Богданівна та Досенко Віктор Євгенович, за результатами роботи, виконаної за темою «Молекулярно-генетичні особливості адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень» (№ державної реєстрації: 0117U002383), за період 2017 року, внесли такі рекомендації та пропозиції:

<i>Назва пропозиції, форма впровадження і коротка характеристика</i>	<i>Наукова новизна та її значення, рекомендації з подальшого використання</i>	<i>Ефект від впровадження</i>
«Оцінка ступеня і характеру адаптації міокарда до фізичних навантажень, спрямованих на витривалість шляхом визначення експресії генів некодуючих РНК у плазмі крові» Особливості зміни концентрації 4-х lncRNA (NRON, MHRT, MIAT, LIPCAR) дозволяють стверджувати про наявність чи відсутність адекватної адаптації до навантажень різної інтенсивності, створити та впровадити у практику молекулярно-генетичний метод попередження розвитку патологічних форм гіпертрофії для індивідуальної корекції процесу адаптації серцево-судинної системи до інтенсивних фізичних навантажень. «Аналогів у світовій практиці немає».	Науково обґрунтовано новий підхід до системи контролю та оцінки перебігу процесів адаптації міокарду до інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру у висококваліфікованих кваліфікованих спортсменів дозволяє підвищити ефективність оперативного контролю тренувальної та змагальної діяльності. Запропонована система може бути використана в практиці підготовки спортсменів збірної команди України з циклічних видів спорту. Можливе використання в процесі підготовки спортсменів інших видів спорту.	Підвищення якості медико-біологічного забезпечення тренувального процесу висококваліфікованих спортсменів збірної команди України з легкої атлетики (види витривалості) за рахунок моніторингу функціонального стану серцево-судинної системи при підготовці до чемпіонату Європи 2018 року.

Автори, розробники:

А.О. Поліщук, аспірантка кафедри медико-біологічних дисциплін НУФВСУ

С.Б. Дроздовська, д.б.н., професор кафедри МБД, завідувач лабораторії стимуляції працездатності та адаптаційних реакцій у спорті вищих досягнень НДІ НУФВСУ

В.Є. Досенко, д.м.н., професор, завідувач відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України

Представники
Федерації легкої атлетики України
Генеральний секретар

Головний тренер збірної команди України
з легкої атлетики (види витривалості)

Медведь М.В.

Романчук С.І.

_____ 2018 р.