

ВІДГУК
ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу
Дроздовської Світлана Богданівни
«ФІЗІОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ФАКТОРИ ФІЗИЧНОЇ
ПРАЦЕЗДАТНОСТІ У СПОРТІ»,

представлену на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук
за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин

Актуальність теми дисертації. Дисертаційна робота Дроздовської Світлани Богданівни присвячена вивченню важливої проблеми прикладної фізіології, зокрема фізіології спорту, а саме - дослідженню молекулярних механізмів і закономірностей адаптації до фізичних навантажень, що є базою для підвищення фізичної працездатності. Фізична працездатність – поняття комплексне, яке, як відомо, характеризується поєднанням цілого ряду морфологічних, функціональних, метаболічних та інших параметрів, є також індикатором здоров'я і загального стану організму та його стійкості до дії несприятливих факторів. Безумовно, що цей інтегральний комплекс анатомічних, біохімічних та фізіологічних систем та їх параметрів залежить від комбінації як спадкових факторів, так і чинників навколишнього середовища (L. M. Guth, 2013; A. G. Williams, 2014; C. Bouchard, 2015).

Завдяки бурхливому розвитку молекулярно-генетичних методів протягом останніх двох десятиліть встановлено, що індивідуальні відмінності у ступені розвитку фізичної працездатності зумовлені генетичними поліморфними варіантами генів, яких налічується більш, ніж 62 мільйони (за даними бази NCBI). Зараз відомо 214 аутосомальних, 18 мітохондріальних генів та 7 генів на X хромосомі, поліморфні варіанти яких асоційовані з розвитком і проявом фізичних якостей людини, а також морфо-функціональними ознаками і біохімічними показниками, які змінюються під впливом фізичних навантажень різної спрямованості (M. S. Bray, 2009). На сьогодні у реплікативних дослідженнях встановлено 155 молекулярно-генетичних маркерів, асоційованих зі статусом спортсменів, з них 93 – у видах спорту з вимогами до переважного розвитку

витривалості та 62 – у швидко-силових видах (Ahmetov I.I., 2015). За наявності величезного обсягу фактичної інформації про асоціацію певних варіацій генів із розвитком фізичних якостей, практично відсутні дані про функціональне значення певних поліморфних варіант генів, тобто про механізми реалізації зміненого генотипу у фенотип спортсмена. Крім того, поза увагою дослідників, як правило, залишається той аспект, що всі генетично детерміновані властивості спортсмена є результатом сукупного впливу поліморфних варіант генів, а дослідниками аналізуються переважно ефекти окремих поліморфних варіант генів, а не їх інтегральний вплив.

Тобто, питання про перелік генетичних маркерів для діагностики розвитку фізичної працездатності та їх необхідну кількість ще остаточно не вирішене. Існуючі системи молекулярно-генетичного аналізу є еkleктичними та не охоплюють генетичних маркерів провідних фізичних якостей і властивостей, необхідних для точного визначення схильності до певного виду спорту. Це дає підставу вважати, що дисертаційна робота Дроздовської С. Б. «Фізіологічні та молекулярно-генетичні фактори фізичної працездатності у спорті» є без сумніву своєчасною та актуальною.

Зв'язок роботи з науковими планами, темами. Робота виконувалася згідно з темою 2.4.1 «Системний аналіз морфо-функціональних перебудов організму людини у процесі адаптації до фізичних навантажень» (номер державної реєстрації 0106U010778) та згідно з темою НДІ спортивної й оздоровчої медицини 2.4.15.4п «Молекулярно-генетична діагностика схильності до швидко-силових і складнокоординаційних видів спорту та вияв генетичних механізмів вірогідних функціональних порушень сполучної тканини у спортсменів» (№ державної реєстрації 0109U007580) «Зведеного плану науково-дослідної роботи у сфері фізичної культури і спорту на 2006 – 2010 рр.»; згідно зі «Зведеним планом науково-дослідної роботи у сфері фізичної культури і спорту на 2011 – 2015 рр.» темою 2.22 «Розробка комплексної системи визначення індивідуально-типологічних властивостей спортсменів на основі прояву геному» (номер державної реєстрації 0111U001729), темою 2.35 «Критерії оцінки функціонального потенціалу спортсменів високого класу» (№ держреєстрації 0114U001482) та держбюджетною науково-дослідною темою «Моніторинг процесу адаптації кваліфікованих спортсменів з урахуванням їх індивідуальних особливостей» (№ державної реєстрації 0111U001732). Роль автора полягала у дослідженні особливостей проявів функціональних можливостей

організму в осіб з різними генотипами і створенні алгоритму молекулярно-генетичної діагностики схильності до прояву високої фізичної працездатності та розробці технології впровадження її у практику спортивної підготовки.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна, повнота їх викладу в опублікованих працях. Результати досліджень носять об'єктивний характер, базуються на достатній кількості дослідницького матеріалу, отриманого завдяки використанню сучасних наукових методів дослідження. У роботі обстежено 610 осіб, з яких 284 спортсмени різних видів спорту та 326 осіб, які не займаються спортом. Крім того, в експерименті на 3-х групах тварин (по 7 щурів в групі) визначали фізіологічне значення гена *HIF3A* для м'язової діяльності.

Висновки впливають зі змісту дисертаційного дослідження. Їх об'єктивність і новизна не викликають сумнівів.

Публікації. За матеріалами дисертаційних досліджень опубліковано 69 праць, з них – 20 статей, опублікованих у спеціалізованих фахових виданнях, 6 з яких входять до наукометричних баз даних, 26 робіт апробаційного характеру (тези доповідей на конференціях), 22 статті, які додатково відображають результати наукових досліджень, навчально-методичний посібник.

Теоретичне і практичне значення результатів дослідження. Робота відрізняється науковою новизною, великим прикладним значенням та теоретичною значущістю. У роботі на основі аналізу літературних джерел виконано пошук генів-кандидатів, що впливають на перебіг адаптаційних реакцій до м'язової діяльності та поліморфні варіанти яких можуть бути молекулярно-генетичними маркерами спадкової схильності до різних видів спорту. Шляхом дослідження ДНК методом полімеразної ланцюгової реакції встановлена частота генотипів та алелів генів, що впливають на адаптаційні реакції серцево-судинної та дихальної систем до фізичних навантажень різного характеру у спортсменів різних видів спорту та населення, що не має стажу занять спортом. Аналіз результатів функціональних та генетичних досліджень дозволив автору встановити залежність між генотипом спортсмена й адаптаційними реакціями серцево-судинної та дихальної систем у процесі тренування; його спортивними досягненнями. У роботі досліджено деякі механізми впливу вивчених поліморфних варіантів на фізичну працездатність. Вивчено вплив поліморфних варіантів гену ендотеліальної NO-синтази на рівень експресії цього гена та на зміни її активності під впливом тренувань різного

характеру. В експерименті на тваринах з'ясовувалось значення гена HIF3A для механізмів адаптації до фізичних навантажень.

У дисертації теоретично й експериментально обґрунтовано та розроблено технологію молекулярно-генетичної діагностики спадкової схильності до занять спортом на основі аналізу комплексу поліморфних варіантів генів; науково обґрунтовано вибір генів, що входять до системи молекулярно-генетичної діагностики спадкової схильності до занять спортом, на основі аналізу комплексу поліморфізмів генів.

Дисертантом запропоновано алгоритм визначення спадкової схильності до розвитку високої фізичної працездатності у різних видах спорту, що ґрунтується на аналізі поліморфних варіантів генів, який слід використовувати у комплексі з педагогічними та іншими методами у процесі відбору спортсменів. Розроблені етапи визначення, загальна схема оцінки, критерії оцінки, бальна системи оцінки загальної спадкової схильності для трьох груп видів спорту (з переважним розвитком витривалості, швидко-силових видів спорту, видів спорту з поєднаним розвитком сили та витривалості), оцінено значення кожного з поліморфних варіантів генів при визначенні спадкової схильності до 7 обраних видів спорту (академічне веслування, лижні гонки, стрибкові види легкої атлетики, метання, біг на короткі дистанції, єдиноборства, вітрильний спорт).

Результати дослідження впроваджені у процес спортивного відбору ДЮСШ з академічного веслування і плавання, у практику роботи тренерського складу збірних команд України з легкої атлетики, плавання і академічного веслування та лижних гонок, що підтверджено відповідними актами впровадження. Результати досліджень використовуються також в навчальному процесі при викладанні дисципліни «Спортивна фізіологія».

Оцінка змісту дисертації, її завдання в цілому та ідентичності змісту автореферату і основних положень дисертації. Дисертація побудована за типовою схемою, визначеною МОН України та вміщує усі необхідні складові: вступ, огляд літератури, описання методичних та організаційних підходів до дослідження, 4-х розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних першоджерел літератури. Основний текст дисертації викладено на 377 сторінках друкованого тексту, серед них 285 сторінок основного тексту. Список

використаних джерел нараховує 745 найменувань (231 - кирилицею, 514 – латиною). Роботу проілюстровано 62 таблицями та 49 рисунками.

Автореферат відповідає змісту дисертації і розкриває її основні положення.

У **вступі** дисертант чітко і аргументовано формулює актуальність теми, мету і завдання, об'єкт, предмет та методи дослідження, наукову новизну, теоретичне та практичне значення роботи. Наведені дані про особистий внесок, апробацію, впровадження результатів дослідження, публікації.

У першому розділі **«Фізіологічні та молекулярно-генетичні фактори проявів фізичної працездатності у спорті»** представлено характеристику поняття «фізична працездатність» та наведені основні детермінанти, від яких вона залежить. Встановлено співвідношення впливу факторів зовнішнього середовища та генетичних факторів на розвиток фізичних якостей. Аналіз літературних джерел дозволив з'ясувати, що в переліку генетичних факторів, які впливають на фізичну працездатність, алельний поліморфізм генів та рівень їх активності посідають важливе місце. Поліморфні варіанти генів можуть викликати кількісні та якісні зміни білків, зміну або втрату їх функціональної активності, тим самим зумовлювати індивідуальні відмінності у розвитку та життєдіяльності. Хоча кількість поліморфних варіантів генів, асоційованих з фізичною працездатністю, зростає з року в рік, у функціональному відношенні вони вивчені недостатньо. У дослідженнях, що стосуються функціональної ролі поліморфних варіантів генів, виявлено, що, з одного боку, поліморфні варіанти генів опосередковано впливають на формування спортивних фенотипів, з іншого боку, є прогностичними маркерами схильності до розвитку та прояву високої фізичної працездатності. Проведено пошук та аналіз генів-кандидатів, поліморфні варіанти яких можуть зумовлювати зміни фізичної працездатності у спорті. Установлено протиріччя між наявністю переліку молекулярно-генетичних маркерів та відсутністю даних про функціональне значення більшості поліморфних варіантів, а дані про поєднану дію окремих поліморфних варіантів генів відсутні взагалі.

У другому розділі **«Методи й організація дослідження»** представлено характеристику контингенту, умови проведення досліджень, описано методи, використані у роботі, та порядок проведення основних етапів дослідження. Дисертантка застосовувала у роботі сучасні, наукомісткі методи, адекватні поставленим завданням, які доповнюють один одного. У роботі використано фізіологічні методи дослідження: аналіз спеціальної науково-методичної

літератури, дослідження реакцій кардіореспіраторної системи організму на фізичні навантаження з використанням методів ергометрії, спірометрії та газоаналізу, тетраполярна реографія, ехокардіографічне дослідження спортсменів, моделювання впливу фізичного навантаження на тваринах. До молекулярно-генетичних методів, використаних у роботі, належать визначення алельного поліморфізму генів методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та визначення експресії генів за допомогою методу ПЛР у реальному часі. З метою дослідження впливу гена *Hif3α* на розвиток фізичної працездатності проводили нокаут цього гена за допомогою методу РНК-інтерференції. У роботі підібрано адекватний набір методів математичної статистики.

У третьому розділі «Дослідження структурно-функціональних особливостей генів-кандидатів у спортсменів різних видів спорту та у контрольній групі» досліджено частоту генотипів та алелів 11 поліморфних варіантів генів у спортсменів різних видів спорту та у контрольній групі. Аналіз розподілу частоти зустрічі генотипів та алелів генів у вибірках спортсменів різних видів спорту та контрольній групі дозволив виявити певні закономірності, що дозволяють використовувати вивчені поліморфні варіанти генів у якості генетичних маркерів спадкової схильності до занять спортом. Встановлено, що $C^{1744} \rightarrow T$ поліморфний варіант гена *HIF1A*, $T^{-786} \rightarrow C$ поліморфний варіант промотора гена *eNOS*, $Pro_{12} \rightarrow Ala$ поліморфний варіант гена *PPARG* та $R \rightarrow X$ поліморфний варіант гена *ACTN* асоційовані зі статусом спортсмена, що є інформативним показником рівня фізичної працездатності. С-алель (*HIF1A*), Т-алель (*eNOS*), Ala-алель (*PPARG*) асоційовані зі статусом спортсменів швидко-силових видів спорту.

У розділі досліджувалось значення гена *Hif3α* для прояву фізичної працездатності. З'ясовано, що HIF3α гальмує адаптацію організму до гіпоксії навантаження. Заглушення гена *Hif3α* у щурів призводить до зростання у них аеробної витривалості, але уповільнює приріст кількості мітохондрій та спричиняє порушення структурної цілісності м'язових волокон.

У цьому розділі досліджувались зміни експресії гена *eNOS* під впливом інтенсивної м'язової роботи. У тромбоцитах спортсменів спостерігався більш високий рівень експресії гена *eNOS* (на 20,8 %, $p < 0,01$) та NO-синтазної активності (на 29,5 %), ніж у осіб, які не займаються спортом, що свідчить про участь цього білка в адаптації до тривалих фізичних навантажень. Фізичні

навантаження призводять до збільшення рівня експресії гена *eNOS* (у 16 разів, $p < 0,01$) і NO-синтазної активності (на 21,8 %) у тромбоцитах та їх зменшення у моноцитах крові кваліфікованих спортсменів.

Четвертий розділ **«Комплексний аналіз поліморфізмів генів для визначення схильності до розвитку високої фізичної працездатності»** присвячений поєднаному аналізу сукупності поліморфізмів генів у спортсменів, які сприяють фізичній працездатності у певних видах спорту та створенню моделей міжгенних взаємодій генів-кандидатів для визначення спадкової схильності до прояву високої фізичної працездатності. Встановлено, що спадкова схильність до видів спорту, які ставлять вимоги до прояву сили та витривалості, формується за рахунок взаємодії алельних варіантів чотирьох поліморфних варіантів генів: I/D поліморфного варіанту гена *ACE* і T⁷⁸⁶→C поліморфного варіанту гена *eNOS*, R⁵⁷⁷→X поліморфного варіанту гена *ACTN3*, G²⁵²⁸→C поліморфного варіанту 7-го інтрону гена *PPARA* (прогностична цінність створеної моделі – 64 %). Спадкова схильність до швидкісно-силових видів спорту визначається комбінацією алельних варіантів шести поліморфізмів: I/D поліморфного варіанту гена *ACE*, T⁷⁸⁶→C поліморфного варіанту гена *eNOS*, R⁵⁷⁷→X поліморфного варіанту гена *ACTN3*, G²⁵²⁸→C поліморфного варіанту 7-го інтрону гена *PPARA*, Pro₅₈₂→Ser поліморфного варіанту гена *HIF-1α*, Pro₁₂→Ala поліморфного варіанту гена *PPARG* (прогностична цінність створеної моделі – 65%).

Результати досліджень, представлених у п'ятому розділі **«Асоціація поліморфізмів генів з функціональними показниками організму спортсменів»**, свідчать про те, що функціональні показники організму у стані спокою та під час виконання фізичних навантажень асоційовані з поліморфними варіантами генів. У цьому розділі досліджувалися показники, отримані методами газоаналізу, ергометрії та реографії. У роботі встановлено асоціацію одонуклеотидних поліморфізмів з різними характеристиками аеробних можливостей організму кваліфікованих спортсменів та параметрами гемодинаміки спортсменів у стані відносного м'язового спокою.

У шостому розділі **«Розробка технології молекулярно-генетичної діагностики фізичної працездатності у спорті»** автор обґрунтовує етапи визначення, критерії оцінки, бальну систему оцінювання молекулярно-генетичних

маркерів під час молекулярно-генетичної діагностики, яку вона пропонує використовувати у практиці спортивної підготовки.

У цьому розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» охарактеризовано ступінь вирішення завдань дослідження, що надало можливість виокремити три взаємодоповнюючі групи даних. В першій групі автор підтверджує наявні положення про генетичне детермінування схильності до занять швидко-силовими видами спорту та до розвитку витривалості; про те, що один з основних показників аеробної продуктивності – максимальне споживання кисню – є генетично детермінованим та залежить від комплексу поліморфних варіантів генів.

В другій групі автор представила дані, що дозволили розширити наявні положення про спектр поліморфних варіантів генів, які можуть входити у комплекс молекулярно-генетичних маркерів визначення схильності до занять спортом. Запропоновані найсприятливіші комбінації поліморфних варіантів генів для конкретних видів спорту.

В третій групі дисертант сформулював нові положення, в яких представив свої дані про інформативність вивчених поліморфних варіантів генів як маркерів спадкової схильності до розвитку різних фізичних якостей та можливості використання їх в комплексній оцінці схильності до занять спортом. За результатами досліджень створено метод визначення спадкової схильності до занять видами спорту з переважним розвитком витривалості, до швидко-силових видів, до видів спорту з комбінованим розвитком сили та витривалості.

Таким, чином, реалізовані дослідження дозволили обґрунтувати низку положень, які формують новий науковий напрям, що передбачає широке розкриття можливостей молекулярно-генетичної діагностики у спорті.

Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації у практиці. Впровадження системи контролю і керування розвитком фізичної працездатності спортсменів на основі молекулярно-генетичної діагностики дозволить об'єктивно оптимізувати всі складові підготовки спортсменів: науково-методичної, фармакологічної, медичної тощо. Обґрунтована комплексної діагностики, контролю та управління розвитком фізичних якостей на підставі прояву геному дозволить упорядкувати роботу тренерів всіх ланок та ефективно здійснювати підготовку спортсменів на всіх етапах багаторічного вдосконалення, що має значний економічний та соціальний ефект.

Зауваження щодо змісту дисертації. Дисертація викладена науковою українською мовою, а її оформлення та оформлення автореферату відповідає діючим вимогам ДАК України. Разом з тим робота не позбавлена деяких недоліків, а саме:

Зустрічаються механічні описки в тексті дисертації, поодинокі помилки орфографічного і стилістичного характеру та «русизми» (напр., на сторінках 2, 108, 273, 281, 284) і навіть у авторефераті (сторінка 29, 30, 34).

Дисертаційна робота та автореферат, зі зрозумілих причин, перевантажені скороченнями, що утруднює сприйняття інформації. Разом тим, не варто це посилювати і в переліку умовних скорочень давати такі загальноприйняті скорочення як ЧСС, або загальноприйняте скорочення систолічного та діастолічного тиску (САТ, ДАТ) замінювати на свої скорочення (СТ, ДТ), а ППОС (питомий периферичний опір судин), який зустрічається в тексті роботи і автореферату, подавати в переліку скорочень як ППС (питомий периферійний спротив судинної системи), або давати в переліку умовних скорочень мітохондріальну ДНК як mtDNA, в тексті дисертації та автореферату - mDNA, а інколи – мДНК; чи давати в тексті дисертації та автореферату позначення фізичної працездатності як ФПа – аеробна, ФПан - анаеробна, ФПзм - змішана, а в переліку умовних скорочень впливають незрозумілі скорочення – ФРа - аеробна, ФАан - анаеробна, ФПзм - змішана. Крім того, для полегшення сприйняття матеріалу до автореферату слід було також додати перелік основних умовних скорочень.

Автореферат перевантажений рисунками та таблицями (3-и таблиці і 18 рисунків), дані яких інколи дублюються. Зокрема, у табл. 1 і рис. 1 наведено частоту генотипів поліморфного варіанту C₁₇₄₄→T гена HIF1A, аналогічно у табл. 1 і рис. 3 - частоту генотипів поліморфного варіанту T⁷⁸⁶→C промотора гена eNOS, а також табл. 1 і рис. 4 - частоту генотипів поліморфного варіанту Pro₁₂→Ala гена PPARC. Такі повторення перевантажують автореферат і ускладнюють сприйняття інформації. Аналогічні дублювання даних у таблицях і рисунках зустрічаються також і у тексті дисертації (напр., таблиця 3.10, рисунок 3.3).

Є зауваження до оформлення таблиці 1 в авторефераті, зокрема по вертикалі підписані «групи», а насправді це – частоти генотипів у групах досліджуваних. Крім того, не зрозуміло, скільки осіб було в кожній із груп. В тексті дисертації такої збірної таблиці нема, і там – все коректно.

Автор у дисертації не згадує роботи, в яких спадкова схильність до різних видів спорту визначається методом оцінки пропорції швидкоскоротливих та повільноскоротливих м'язових волокон (методи ферментної гістохімії та електронної мікроскопії).

Викликає сумнів доцільність вживання терміну «розвиток» стосовно фізичної працездатності.

Незрозумілим є термін «ефективність серцевого циклу».

Слід відзначити, що вказані недоліки є непринциповими, а зауваження носять дискусійний характер і не знижують наукового рівня та цілком позитивного враження від роботи.

Разом з тим, під час рецензування роботи виникли декілька запитань, на які хотілось б отримати відповідь під час офіційного захисту, а саме:

1. Кількість обстежуваних за різними поліморфними ознаками та у різних групах спортсменів відрізняється. Чим автор може пояснити ці суттєві відмінності?

2. На основі яких критеріїв були вибрані для дослідження саме ці поліморфні варіанти генів?

3. Скажіть будь ласка, чи розроблені алгоритми для визначення спадкової схильності до досягнення високої фізичної працездатності були дослідженні у семи видах спорту як у репрезентативних, і їх результати можна екстраполювати на інші види спорту з проявом схожих рухових якостей, чи треба досліджувати всі види спорту окремо?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. Таким чином, на підставі вищезазначеного можна резюмувати, що за актуальністю проблеми, теоретичним рівнем, методичним забезпеченням, науковою новизною та практичною значущістю результатів досліджень дисертаційна робота Дроздовської Світлани Богданівни «Фізіологічні та молекулярно-генетичні фактори фізичної працездатності у спорті» є завершеною кваліфікаційною науково-дослідною працею, яка містить наукові положення та науково обґрунтовані результати, що розв'язують важливу наукову проблему, а саме: розробка та впровадження молекулярно-генетичної діагностики фізичної працездатності у спорті, що дозволить покращити систему відбору та підготовки спортсменів.

Дисертація відповідає вимогам пунктів 9, 10, 12 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», який затверджено постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567 щодо докторських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин.

Офіційний опонент -

професор кафедри анатомії та фізіології

Львівського державного університету

фізичної культури,

доктор біологічних наук, професор



З. І. Коритко

2.04.2016 р.



Підпис *Коритко З.І.*
Засвідчую:
Нач. відділу кадрів *[signature]*