

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ NO-СИНТАЗИ (eNOS) У ТРОМБОЦИТАХ І МОНОЦИТАХ ПРИ АДАПТАЦІЇ ДО ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ

Для встановлення фізіологічної ролі гена eNOS в процесах адаптації до м'язової роботи і механізму впливу поліморфізму цього гена було досліджено рівень його експресії в клітинах крові спортсменів, адаптованих до різних видів фізичної роботи, а також його зміни під впливом фізичного навантаження. Встановлено, що у спортсменів, адаптованих до фізичних вправ аеробного характеру в клітинах крові в стані спокою спостерігається більш високий рівень mRNA eNOS, ніж у спортсменів, адаптованих до фізичних навантажень анаеробного характеру. Рівень експресії гена eNOS iNO-синтазна активність в тромбоцитах нижчі, ніж в моноцитах крові, як у осіб контрольної групи, так і спортсменів. Фізичні навантаження призводять до збільшення рівня експресії гена eNOS iNO-синтазної активності в тромбоцитах та їх зменшення в моноцитах крові кваліфікованих спортсменів.

Ключові слова: експресія гена, ендотеліальна NO-синтаза, адаптація до фізичних навантажень, T⁻⁷⁸⁶ → C поліморфізм гена eNOS

Постановка проблеми. Аналіз останніх досліджень і публікацій. Багатьма дослідниками доведена важлива роль оксиду азоту в забезпеченні довготривалої адаптації організму до різних за обсягом та інтенсивністю фізичних навантажень [6, 7, 20, 28, 29]. Відомо, що для осіб, які систематично виконують м'язову роботу, характерний вищий рівень синтезу оксиду азоту [1]. Серед трьох ізоформ ензиму NO-синтази, що беруть участь у окисному процесі утворення NO, функцію забезпечення поточних адаптивних можливостей серцево-судинної системи організму виконують конститутивні ізоформи NOS (ендотеліальна (eNOS) і нейрональна (nNOS)) [2]. Дослідження ряду науковців вказують на те, що обидві ізоформи експресуються у м'язових волокнах, але методом вестерн-блотингу встановлено, що у м'язах, з повільно скоротливими волокнами окисного типу переважає експресія eNOS, тоді як у м'язах, з швидко скоротливими волокнами гліколітичного типу – [15, 18]. Встановлено, що систематичні фізичні вправи спричиняють підвищення генної експресії eNOS в клітинах ендотелію аорти, лівому шлуночку та нирках [5, 14, 17, 28].

Зростання експресії eNOS під впливом фізичних вправ демонструвалися у процесі як експериментів на тваринах, так і при обстеженні людей. Проте дослідження одних вчених вказують на відсутність впливу вправ на експресію eNOS у практично здорових осіб [13]. Вивчення інших фахівців свідчить про те, що у мишей, які в нормі активно рухаються, фізичні тренування спричиняють мінімальну відповідь зі сторони експресії eNOS. Низька інтенсивність рухової активності може бути достатньою для підтримки нормальної ендотеліальної функції у молодих здорових осіб [23]. Таким чином, аналіз літературних джерел дозволяє стверджувати, що eNOS бере участь у процесі адаптації серцево-судинної системи до фізичних навантажень, але в адаптованих осіб її рівень не підвищується.

Хоча рівень експресії eNOS під впливом фізичних вправ широко вивчався, зміни рівня експресії eNOS у кваліфікованих спортсменів у відповідь на інтенсивне навантаження не досліджувалися. Тому метою нашої роботи було дослідження рівня експресії eNOS в клітинах крові кваліфікованих спортсменів різних видів спорту до та після фізичних навантажень.

Методика

Рівень експресії *eNOS* визначався у спортсменів, яких було розподілено на три групи: I – спортсмени, які спеціалізуються у підводному плаванні в ластах (n=20) та є адаптованими до виконання короткочасних фізичних вправ анаеробного характеру енергозабезпечення в умовах поєднаної дії різних видів гіпоксії (гіпоксична гіпоксія, апное та гіпоксія навантаження); II – спортсмени, які спеціалізуються у веслуванні академічному (n=13) та адаптовані до виконання тривалих фізичних вправ аеробного характеру, III – особи, неадаптовані до систематичних фізичних навантажень (контроль), яку складали 10 практично здорових донорів (Київський міський центр крові). На момент забору біологічних зразків для дослідження 13 спортсменів мали кваліфікацію майстрів спорту України міжнародного класу (МСМК), 20 – майстрів спорту України (МС), середній вік: $21,5 \pm 2,9$ років. Головною умовою для включення до контрольної групи була відсутність стажу регулярних занять спортом і спортивного розряду.

Для дослідження використовували тромбоцити та моноцити венозної крові. Оскільки за нормальних умов у тромбоцитах міститься тільки ендотеліальна *NOS* [16], це дозволило нам досить впевнено стверджувати, що досліджувалася активність саме цієї ізоформи ензиму.

Венозну кров набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 мМ) в якості антикоагулянту ("Sarstedt", Німеччина). Виділення тромбоцитів відбувалося в три етапи: центрифугування (100 g) цільної крові протягом 5 хв (супернатант містив тромбоцити і моноцити); центрифугування (400 g) протягом 2 хв (моноцити сідають на дно пробірки, а тромбоцити залишаються у верхньому шарі); центрифугування (900 g) протягом 6 хв з наступним ресуспензуванням тромбоцитів в буфері Тіроде наступного складу (137 мМоль NaCl, 12 мМоль NaHCO₃, 2 мМоль KCl, 0,34 мМоль Na₂HPO₄, 1 мМоль MgCl₂, 5,5 мМоль глюкози, 5 мМоль HEPES ((N-2-гідроксиетилпіперазин-N'-2-етансульфонова кислота), рН 7,3), що містив 0,35% сироваткового альбуміну бика. Підрахунок кількості тромбоцитів проводили в камері Горяєва.

Виділення РНК із тромбоцитів та моноцитів проводили із використанням набору Trizol RNA-prep (Isogen, Росія) для виділення тотальної РНК. Метод базується на використанні *Trizol* реагенту, що містить гуанідинізоціанат, який призначений для лізису клітин, солюбілізації клітинного дебрису, денатурації клітинних рибонуклеаз, а також білків. Після цього РНК екстрагується у розчин фенол-хлороформу при центрифугуванні, відмивається від білків та переноситься у стерильні вільні від ДНК та РНК мікропробірки. Отримана РНК може безпосередньо використовуватися для проведення зворотної транскрипції. В процесі виділення РНК ми дотримувалися рекомендацій, наведених у комерційному наборі. Зворотну транскрипцію проводили із використанням RevertAid™ HMinusFirstStrandcDNASynthesisKit (Fermentas, Литва), застосовуючи 500 нг загальної РНК та олігомерний (dT)₁₈праймер. Отриману одноланцюгову ДНК використовували на полімеразної ланцюгової реакції (PCR) в реальному часі із застосування набору Hs 00355855_g1 (AppliedBiosystem, USA). Для контролю за якістю виділення РНК та порівняння інтенсивності експресії гена *eNOS* паралельно ампліфікували фрагмент гена β-актину – одного із house-keeping генів за допомогою Tagmanβ – actincontrolreagents.

Для визначення активності eNOS використовували флуориметричну детекційну систему (FCANOS-1, Sigma), в основу якої покладено принцип флуоресценції триазолофлуоресцеїна, що утворюється після взаємодії *NO* з 4,5-діамінофлуоресцеїном, який, в свою чергу, утворюється з 4,5-діамінофлуоресцеїна діацетату (DAF-2A) під дією внутрішньоклітинних естераз.

Довжина хвиль збудження/поглинання становила 492/515 нм. Інгібітор NOS діфеніленодоній хлорид (100 мкМоль) пригнічував реакцію, що підтверджувало специфічність вимірювання активності NOS. Активність ензиму виражали в одиницях флуоресценції (UF) за хв на 10^6 клітин.

Фізичні навантаження переважно аеробного характеру енергозабезпечення моделювали на базі лабораторії «Теорії методики спортивної підготовки та резервних можливостей спортсменів» НДІ НУФВСУ. Тестування складалося з розминки (3 хв), виконання стандартної роботи – навантаження тривалістю 12 хв з постійною потужністю роботи 1,5 Вт на кг маси тіла, відновлення (5хв), стандартний тест зі висхідно-зростаючою потужністю навантаження до моменту «довільної відмови від роботи». Загальна тривалість роботи складала 40-45 хв. Навантаження виконувалися на ергометрі ConceptII» (USA). Тестування проводилося після дня відпочинку при стандартизованому режимі харчування і питного режиму. Забір крові проводили до початку та на 5 хв після фізичного тестування за участю медичного працівника НДІ. Дослідження проводили через 2 години після процедури забору.

Спортсмени були інформовані про зміст тестів і дали письмову згоду на їхнє проведення. Дослідження відповідали встановленим стандартам Гельсінкської декларації, прийнятої у 1964 р. та переглянутої 59-ю Генеральною асамблеєю ВМА у 2008 р. Всі процедури були схвалені комітетом з біомедичної етики Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Статистичний аналіз результатів дослідження проведено за допомогою програмного пакету SPSS ver.17.0 з визначенням середнього (M), помилки середнього (m). Рівень достовірності (p) аналізували за допомогою методів параметричної статистики (критерій Стьюдента).

Результати дослідження та їх обговорення

В результаті порівняльного аналізу експресії у крові спортсменів та контрольної групи у стані спокою з'ясовано, що в тромбоцитах крові спортсменів встановлено вищий рівень експресії mRNA ($0,396 \pm 0,05$ у.о.), що в 20,8% разів вище ($p < 0,01$), ніж у тромбоцитах крові осіб, неадаптованих до фізичних навантажень ($0,019 \pm 0,01$) (рис.1).

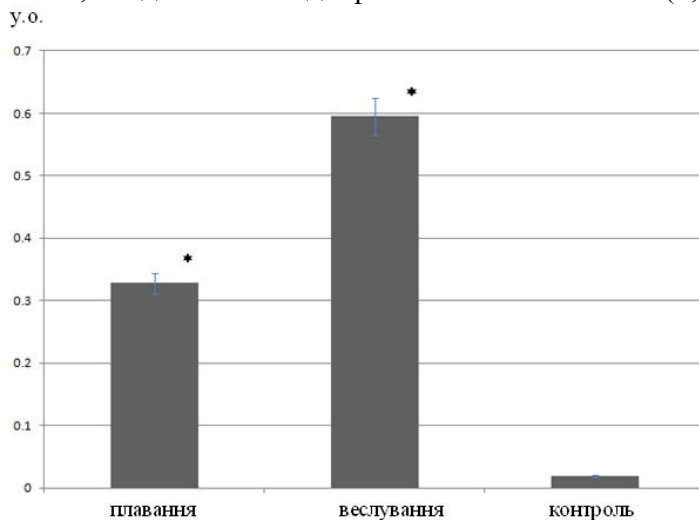


Рис. 1. Порівняльний аналіз рівня mRNA eNOS в тромбоцитах спортсменів різних видів спорту та контрольній групі у стані спокою. * статистично вірогідні відмінності від контрольної групи, $p < 0,05$

Нез'ясованим є факт появи mRNA eNOS у тромбоцитах, оскільки вони не містять ядра. Однак короткотривале життя тромбоцитів (8-12 днів), їх утворення шляхом відщеплення цитоплазми мегакаріоцитів та щоденне оновлення до 20% маси кров'яних

пластинок пояснює присутність mRNA. Експресія генів в тромбоцитах звісно, неможлива, однак, тромбоцити здатні використовувати РНК для синтезу білків на полісомах, а отже, зміни рівню РНК eNOS в цих клітинах також можуть впливати на рівень трансляції білка eNOS та його активність.

Рівень експресії eNOS у спортсменів різних видів спорту також вірогідно відрізнявся. Так, у тромбоцитах спортсменів, які спеціалізуються у академічному веслуванні рівень експресії перевищує рівень у контрольній групі більше 30 разів ($p < 0,01$), а у спортсменів, які спеціалізуються у підводному плаванні в ластах – 17 разів ($p < 0,01$). Експресія у групі спортсменів, які спеціалізуються у веслуванні академічному в 1,8 рази вища ($p < 0,05$), що дозволяє стверджувати, що фізичні вправи з різними механізмами енергетичного забезпечення викликають різні за абсолютною величиною зміни у рівні експресії eNOS.

Аналіз mRNA eNOS у різних клітинах крові дозволив встановити, що рівень експресії eNOS у моноцитах був вищий, ніж у тромбоцитах (рис.2). Цей факт підтверджує результати отримані іншими науковцями [9б 22]. В моноцитах периферичної крові людини з усіх лізоформ NOS найвищим є рівень експресії eNOS [22]. Він переважає рівень eNOS у лімфоцитах, та інших клітинах крові [9].

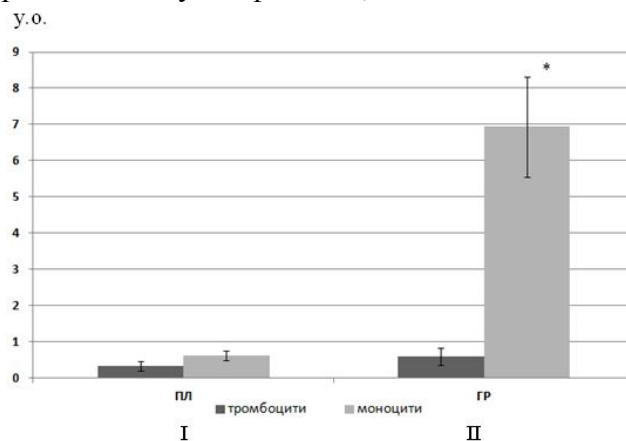


Рис. 2. Результати порівняльного аналізу рівня mRNA eNOS в клітинах крові спортсменів різних видів спорту у стані спокою, де I – рівень mRNA eNOS у клітинах венозної крові спортсменів, які спеціалізуються у підводному плаванні в ластах; II – рівень mRNA eNOS у клітинах венозної крові спортсменів, які спеціалізуються у веслуванні академічному; * статистично вірогідні відмінності від групи плавання, $p < 0,05$

Серед груп спортсменів найнижчий рівень mRNA eNOS у клітинах крові спостерігався у плавців.

Для підтвердження впливу фізичних навантажень на процеси, що впливають на синтез NO, ми дослідили зміни активності NO-синтази у спортсменів та групі осіб, які не займаються спортом (табл.1). Рівень активності NO-синтази у тромбоцитах в 32,5 ($p < 0,01$) рази нижчий, ніж у моноцитах в крові осіб контрольної групи та в 21,6 рази ($p < 0,01$) у крові спортсменів. Більш високий рівень NO-синтазної активності в тромбоцитах крові спортсменів, у порівнянні з активністю тромбоцитів крові осіб, які не займаються спортом (на 22,8%) підтверджує продемонстровані нами вище відмінності у рівні експресії гену eNOS. Фізичне навантаження призвело до незначного збільшення NO-синтазної активності в тромбоцитах, але до її зменшення в моноцитах.

Відомо, що одноразове фізичне навантаження субмаксимальної потужності супроводжується збільшенням кількості і функціональної активності тромбоцитів, а адаптація до хронічних фізичних навантажень субмаксимальної потужності призводить до зменшення адгезивної здатності тромбоцитів при збереженні їх кількості [3]. Крім того, встановлено, що при тривалому інтенсивному навантаженні тромбоцитоз може

бути наслідком посиленого гемопоезу, при короткочасних — перерозподілу крові. Отже, фізичне навантаження, виконане спортсменами, спричинило міогенний тромбоцитоз шляхом тромбоцитопоезу, та в кровоносному руслі з'явилися тромбоцити з підвищеним рівнем mRNA *eNOS*.

Таблиця 1

Рівень активності NO-синтази в клітинах крові спортсменів групи III ($M \pm m$)

Група	Моноцити	Тромбоцити
Контрольна група (n=10)	15,504±2,079	0,477±0,06*
У стані спокою (n=6)	13,37±1,77	0,618±0,205*
Після фізичного навантаження (n=6)	12,18±4,07	0,753±0,191*

* Вірогідні відмінності порівняно з моноцитами крові

Аналогічні зміни відбулися з рівнем експресії *eNOS*. У тромбоцитах крові спортсменів відбулось зростання рівня mRNA *eNOS* з $0,599 \pm 0,11$ до $9,38 \pm 2,22$ (у 16 разів ($p < 0,01$)), тоді як в моноцитах відбулось невелике зменшення – від $6,94 \pm 0,87$ до $5,91 \pm 1,12$ (рис.3).

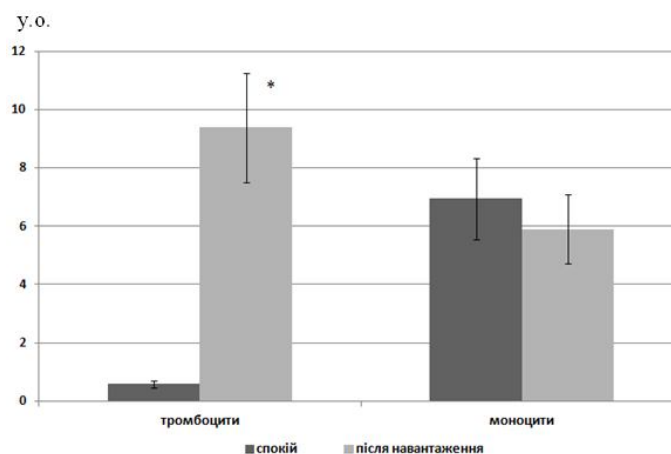


Рис. 3. Зміни рівня mRNA *eNOS* після фізичних навантажень в клітинах крові спортсменів, де: * - статистично вірогідні відмінності від показників у стані спокою, $p < 0,05$

У спортсменів у тромбоцитах спостерігається вищий рівень експресії гена *eNOS* та NO-синтазної активності, ніж у осіб, які не займаються спортом, що свідчить, з однієї сторони, про активацію транскрипції даного гена при адаптації до систематичних напружених фізичних навантажень, а з іншого – про підвищену потребу організму в NO при фізичних навантаженнях. В результатах дослідження впливу фізичних вправ на рівень експресії *eNOS* як в експериментах на тваринах, так і при обстеженні людей спостерігаються протиріччя [13]. Причинами цього можуть бути: час який пройшов після тренування, у який відбувається вимірювання; стан тренуваності чи фізичної активності обстежуваних, носійство різних алелів поліморфізмів гена *eNOS*. Так, за даними наукової літератури, підвищення експресії *eNOS* в аорті та міокарді мишей, після 9-тижневого тренування не спостерігалось, тоді як після 3-тижневого тренування експресія зростала значно [12]. Очевидно, підвищення експресії *eNOS*, спричинене фізичними тренуваннями має короткочасний характер. Проте рівень експресії може залежати від інтенсивності та тривалості навантаження.

Ряд даних свідчить про те, що у мишей, які в нормі активно рухаються, фізичні тренування викликають мінімальну відповідь зі сторони експресії *eNOS*. Низька інтенсивність фізичної активності може бути достатньою для підтримки нормальної ендотеліальної функції у молодих здорових осіб [23]. Отже, *eNOS* бере участь у процесі

адаптації серцево-судинної системи до фізичних навантажень, але в адаптованих осіб її рівень не підвищується. Очевидно, що підвищена потреба у NO пов'язана з його модулюючим ефектом на споживання вуглеводів та кисню [8, 20, 29], а також його впливом на базальний мітохондріальний біогенез у скелетній м'язовій тканині [20, 27].

Останнім часом активно ведеться пошук молекулярно-генетичних маркерів, асоційованих з фізичною діяльністю, які дозволяють прогнозувати розвиток фізичних якостей та фізичної працездатності спортсменів. До цього переліку можливим є включення поліморфізмів генів з плейотропним та широким ефектом дії, зокрема T⁷⁸⁶→C поліморфізм у промоторі гена *eNOS*. Вплив поліморфізму гена *eNOS* пов'язаний з різноманітністю функцій NO, що частково пов'язана з його впливом на концентрацію цГМФ, на процес фосфорилування білків під дією кіназ. Зокрема, NO реагує з SH (тіоловими) групами білків, а також з білками, що містять іони металів. Тому точками прикладення NO є білки іонних каналів, ферменти, поверхневі рецептори і фактори транскрипції – всі білки, до складу алостеричних або активних центрів яких входять або іони металів, або тіолові групи [4].

Висновки

Фізичні вправи з різними механізмами енергетичного забезпечення спричиняють різні за абсолютною величиною зміни у рівні експресії *eNOS*. Вищий рівень mRNA *eNOS* у стані спокою спостерігається у клітинах крові спортсменів, адаптованих до напружених фізичних навантажень аеробного характеру. Рівень експресії гена *eNOS* та активність NO-синтази у тромбоцитах нижчі, ніж у моноцитах крові як контрольної групи, так і осіб, адаптованих до фізичних навантажень. Фізичні навантаження призводять до збільшення рівня експресії гена *eNOS*у 16 разів($p < 0,01$) у тромбоцитах крові кваліфікованих спортсменів.

Література

1. Богдановська Н.В. Оксид азоту як регулятор адаптивних можливостей організму практично здорових юнаків і дівчат/ Н.В. Богдановська// Вчені записки Таврій. нац. ун-ту ім. В. І. Вернадського. – 2012. – Т.25, №4. – С.3-11.
2. Богдановська Н.В. Синтез оксиду азоту у період довгострокової адаптації до інтенсивної м'язової роботи у спортсменок / Н.В. Богдановська, Г.М. Святодух, А.В. Коцюруба та ін. // Фізіол. журн. – 2009. – 55(3). – С. 94-99.
3. Марышева Е.Ф. Тромбоцитарный гемостаз при физической нагрузке: автореф. дис. ... канд. биол. наук: спец. 03.00.13»/ Е.Ф. Марышева. Тюмень. 2003. 26 с.
4. Фаллер Д.М. Молекулярная биология клетки: рук. для врачей / Д.М. Фаллер, Д. Шилдс.– М.: БИНОМ, 2011. –256 с.
5. AiLun Y. Chronic Exercise Increases Both Inducible and Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Expression in Endothelial Cells of Rat Aorta / Y. Ai-Lun, T. Shaw-Jenq, J. Meei Jyhet al. // J. of Biomedical Science. – 2002. – Vol. 9, N. – P. 149.
6. Bailey S.J. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway: Its role in human exercise physiology / S.J. Bailey, A. Vanhatalo, P.G. Winyard et al. // European Journal of Sport Science. – 2012. – Vol. 12, N 4. – P. 309-320.
7. Bescós R. The Effect of Nitric-Oxide-Related Supplements on Human Performance/ R. Bescós, A. Sureda; J. A. Tur; A. Pons // Sports Medicine. – 2012. – Vol. 42, Is. 2. – P. 99-117.
8. Bradley S. J. Nitric oxide synthase inhibition reduces leg glucose uptake but not blood flow during dynamic exercise in humans / S. J. Bradley, B.A. Kingwell, G.K. McConell // Diabetes. – 1999. – №48. – P. 1815-21.
9. Cortese-Krott M.M. Human red blood cells at work: identification and visualization of erythrocytic activity in health and disease/ M.M. Cortese-Krott, A. Rodriguez-Mateos, R. Sansone et al. // Blood. – 2012. – № 120. – P. 4229-4237.
10. Cruz-González I. Association between -T786C NOS3 polymorphism and resistant hypertension: a prospective cohort study / I. Cruz-González, E. Corral, M. Sánchez-Ledesma et al. // BMC Cardiovascular Disorders. – 2009. – № 9. – P. 35.
11. Erbs S. Promoter but not exon polymorphism of endothelial nitric oxide synthase affects training-induced correction of endothelial dysfunction / S. Erbs, Y. Baither, A. Linke et al. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2003. – Vol. 23. – P. 1814-1819.

12. Fukai T. Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training/ T. Fukai, M.R. Siegfried, M. Ushio-Fukai et al. // J. Clin. Invest. –2000. –N. 105. –P.1631-1639.
13. Green D.J. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans/ D.J. Green, A. Maiorana, G.O'Driscoll et al.// J. Physiol. –2004. –N. 561. – P.1-25.
14. Grijalva J. Exercise training enhanced myocardial endothelial nitric oxide synthase (eNOS) function in diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats/ J. Grijalva, S. Hicks, X. Zhao et al. // Cardiovascular Diabetology. –2008. – N 7. – P.7-34.
15. Hussain S.N. Expression of nitric oxide synthase isoforms in normal ventilatory and limb muscles/ S.N. Hussain, Q.El-Dwairi, M.N. Abdul-Hussain // J. Appl. Physiol. –1997.–Vol.83. – P. 348-53.
16. Jayachandran M. Ovariectomy upregulates expression of estrogen receptors, NOS, and HSPs in porcine platelets / M. Jayachandran, V.M. Miller // Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2002. –Vol.283. – P.220–226.
17. Kojda G. Dysfunctional regulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) expression in response to exercise in mice lacking one eNOS gene/ G.Kojda, Y.C. Cheng, J. Burchfield et al. // Circulation. –2001. – N 103. – P.2839-2844.
18. Lau K.S. nNOS and eNOS modulate cGMP formation and vascular response in contracting fast-twitch skeletal muscle/ Lau K.S., Grange R.W., Isotani E et al.// Physiol. Genomics. – 2000. –V. 2.– P. 21-7.
19. Le Cras T.D. Effects of chronic hypoxia and altered hemodynamics on endothelial nitric oxide synthase expression in the adult rat lung/ T.D. Le Cras, R.C. Tyler, M.P. Horan et al.// J. Clin. Invest. – 1998. –N 101. – P. 795–801.
20. McConell G.K. Potential role nitric oxide in contraction-stimulated glucose uptake and mitochondrial biogenesis in skeletal muscle / G.K. McConell, G.D. Wadley // Proceeding of the Australian Physiological Society. – 2008. – N 39. – P.69-74.
21. Niess A.M. Physical exercise-induced expression of inducible nitric oxide synthase and heme oxygenase-1 in human leukocytes: effects of RRR-alpha-tocopherol supplementation /A.M. Niess, M. Sommer, M. Schneider et al. // Antioxid Redox Signal. – 2000. – 2, N1. – P. 113-26.
22. Saluja R. Molecular and biochemical characterization of nitric oxide synthase isoforms and their intracellular distribution in human peripheral blood mononuclear cells/ R. Saluja, A. Jyoti, M. Chatterje et al. // Biochimica et biophysica Acta. – 2011. – N.1813. – P.1700-1707.
23. Shantsila R. The effects of exercise and diurnal variation on monocyte subsets and monocyte-platelet aggregates/ R. Shantsila Eduard, Luke D. Tapp, Benjamin J. Wrigley, Silvia Montoro-Garcia, Angie Ghattas, Anthony Jaipersad and Gregory Y. H. Lip // European Journal of Clinical Investigation. 2012. P. 1-8.
24. Suvorava T. Physical inactivity causes endothelial dysfunction in healthy young mice/ T. Suvorava, N. Lauer, G. Kojda // J. Am. Coll. Cardiol. – 2004. – N 44. – P.1320-7.
25. Tanabe T. Exercise training improves ageing-induced decrease in eNOS expression of the aorta /T. Tanabe, S. Maeda, T. Miyauchi et al. // Acta Physiol Scand. – 2003. – 178 (1). – p.3-10.
26. Toporsian M. Downregulation of endothelial nitric oxide synthase in rat aorta after prolonged hypoxia in vivo/ M. Toporsian, K. Govindaraju, M. Nagi et al. // Circ Res. –2000.– 86. – P. 671–675.
27. Wadley G.D. NOS isoform specific regulation of basal but not exercise-induced mitochondrial biogenesis in mouse skeletal muscle/ G.D. Wadley, J. Choate, G.K. McConell // J. Physiol. – 2007. –Vol. 585. – P. 253-62
28. Walther C. The Effect of Exercise Training on Endothelial Function in Cardiovascular Disease in Humans/ Claudia Walther, Stephan Gielen, Rainer Hambrecht // Exerc Sport Sci Rev. – 2004. – Vol. 32, N4. – P.130-134.
29. Wilkerson D.P. Influence of nitric oxide synthase inhibition on pulmonary O₂ uptake kinetics during supra-maximal exercise in humans/ D.P. Wilkerson, I.T. Campbell, A.M. Jones // J. Physiol. – 2004. – Vol. 561, N 2. – P.623-635.
30. Wolfarth B. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and elite endurance athlete status: the Genathlete study/ B. Wolfarth, T. Rankinen, S. Mühlbauer et al. // Scand J Med Sci Sports. – 2008. – N 18. – 485–490.

Аннотация. Дроздовская С.Б. Экспрессия гена эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) в тромбоцитах і моноцитах при адаптации к физическим нагрузкам. Для установления физиологической роли гена eNOS в процессах адаптации к мышечной работе и механизма влияния полиморфизма этого гена был исследован урiвень экспрессии гена eNOS в клетках крови спортсменов, адаптированных к различным видам физической работы и его изменения под влиянием физической нагрузки. Урiвень экспрессии eNOS определяли методом ПЦР в реальном времени в моноцитах и тромбоцитах крови 33 спортсменов и 10 лиц, не адаптированных к систематическим физическим нагрузкам. Установлено, что у спортсменов, адаптированных к физическим упражнениям аеробного характера в клетках крови в состоянии покоя наблюдается более высокий урiвень RNA eNOS, чем у спортсменов,

адаптированных к физическим нагрузкам анаэробного характера. Уровень экспрессии гена eNOS и NO-синтазная активность в тромбоцитах ниже, чем в моноцитах крови, как у лиц контрольной группы так и спортсменов. Физические нагрузки приводят к увеличению уровня экспрессии гена eNOS и NO-синтазной активности в тромбоцитах и их уменьшению в моноцитах крови квалифицированных спортсменов

Ключевые слова: экспрессия гена, эндотелиальная NO-синтаза, адаптация к физическим нагрузкам, $T^{-786} \rightarrow C$ полиморфизм гена eNOS

Summary. Drozdovska S.B. The expression of endothelial NO-synthase (eNOS) in monocytes and platelets during the adaptation to physical loads. To establish the physiological role of the NOS gene in adaptation to muscular work and effect mechanism of gene polymorphism, blood cells NOS gene expression in adapted to different types of work athletes and the physical change under influence of physical activity were studied. Level of eNOS expression was determined in monocytes and blood platelets 33 athletes and 10 sedentary men, not adapting to systematic physical activity. DNA was isolated from buccal epithelium. RNA was extracted from platelets and monocytes. $T^{-786} \rightarrow C$ polymorphisms and eNOS gene expression were detected by Real Time PCR. For an assay of eNOS enzyme activity in platelets we used a fluorimetric detection system FCANOS-1 (Sigma). Higher level of eNOS gene expression and eNOS enzyme activity are observed in athletes' platelets compared to people uninvolved in sports (20,8% fold and 22,8%, $p < 0,01$ respectively). We found that the levels eNOS mRNA of blood cells in athletes, adapted to the aerobic exercises in the rest was higher, than athletes adapted to the anaerobic exercises. eNOS mRNA of blood cells and NO – synthase activity in platelets were lower than in monocytes, as in the control group and athletes. Physical activity leads to the increase of the eNOS gene expression and NO – synthase activity in platelets and decrease in blood monocytes qualified athletes. Adaptation to physical exercise with various pathways of energy supply results in different in value changes of eNOS gene expression level in the rest. Therefore, eNOS affects the development of adaptation processes to physical exercise among qualified athletes. Apparently, high demand of NO during endurance exercises is related to its modifying effect on carbohydrates and oxygen consumption and its influence on basal mitochondrial biogenesis in skeletal muscles.

Keywords: gene expression, endothelial NO-synthase, adaptation to physical exercises, $T^{-786} \rightarrow C$ polymorphisms NOS gene

Національний університет фізичного виховання і спорту України

Одержано редакцією 27.11.2014

Прийнято до публікації 05.02.2015