

Некоторые аспекты ассоциации генов с высокими спортивными достижениями

И.Б. Моссе¹✉, А.В. Кильчевский¹, Л.А. Кундас¹, А.Л. Гончар¹, С.Л. Минин², К.В. Жур¹

¹ Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Республика Беларусь

² Государственное учреждение «Городской центр олимпийского резерва по ледовым дисциплинам», Минск, Республика Беларусь

Большинство работ по генетике спорта направлено на выявление различий между генотипами спортсменов и контрольной группы. Очевидно, генетические различия должны быть и среди спортсменов разной квалификации, поскольку чем больше благоприятных для спорта аллелей содержится в генотипе атлета, тем более высоких результатов он может достичь. Кроме того, спортивная одаренность зависит не только от наличия тех или иных полиморфных вариантов генов, но и от уровня их экспрессии, которая меняется в процессе тренировок у разных людей по-разному. Цель исследования – сравнить генотипы атлетов разной спортивной квалификации и проанализировать изменение активности генов, обеспечивающих адаптацию спортсменов к физическим нагрузкам. Методом ПЦР проанализированы генотипы 143 представителей 18 национальных команд Беларуси по разным видам спорта. Сравнение генотипов спортсменов разной квалификации (мастеров спорта, мастеров спорта международного класса, заслуженных мастеров спорта) показало, что чем выше квалификация спортсменов, тем чаще встречаются в их генотипах благоприятные для спорта аллельные варианты, что доказывает необходимость соответствующего генетического потенциала для достижения высоких спортивных результатов. У 15 высококвалифицированных спортсменов-конькобежцев проведен анализ экспрессии генов *UCP2*, *HIF1A* и *MTHFR* в ответ на двухнедельную гипоксическую тренировку. Выявлено статистически значимое увеличение среднего группового уровня мРНК генов *UCP2* и *MTHFR* в ответ на гипоксию, в то время как экспрессия гена *HIF1A* статистически значимо снизилась. При этом индивидуальные уровни экспрессии генов *UCP2*, *HIF1A* и *MTHFR* как на начальном этапе гипоксической тренировки, так и по ее окончании у спортсменов существенно различались. На примере гена *UCP2* показано влияние полиморфизма на экспрессию гена: для носителей генотипа Val/Val гена *UCP2* установлена более высокая активность гена по сравнению с носителями генотипов Val/Ala и Ala/Ala. Следовательно, генотипирование и анализ экспрессии генов имеют большое значение для отбора и подготовки спортсменов.

Ключевые слова: спортивная успешность; ПЦР-анализ; ДНК-полиморфизмы; программы отбора; экспрессия генов.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Моссе И.Б., Кильчевский А.В., Кундас Л.А., Гончар А.Л., Минин С.Л., Жур К.В. Некоторые аспекты ассоциации генов с высокими спортивными достижениями. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(3):296-303. DOI 10.18699/VJ17.247

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Mosse I.B., Kilchevsky A.V., Kundas L.A., Gonchar A.L., Minin S.L., Zhur K.V. Some aspects of gene association with high sport achievements. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(3):296-303. DOI 10.18699/VJ17.247

Received 19.08.2015
Accepted for publication 04.04.2016
© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: i.mosse@igc.by

Some aspects of gene association with high sport achievements

I.B. Mosse¹✉, A.V. Kilchevsky¹, L.A. Kundas¹, A.L. Gonchar¹, S.L. Minin², K.V. Zhur¹

¹ Institute of Genetics and Cytology of NAS of Belarus, Minsk, Belarus

² Minsk City Olympic Reserve Skating Center, Belarus

Most papers on sport genetics identify differences between genotypes of athletes and a control group. It is obvious that the genetic differences should also be among sportsmen with different qualifications. Additionally, athletes' performance depends not only on their genotypes, but also on the gene activities, which can be different during the training process in various athletes. The aim of the study was to compare genotypes of athletes with different qualifications and to analyze the change in expression of some genes responsible for the physical performance. Genotypes of 143 elite sportsmen of 18 national teams were analyzed by PCR method. A comparison of the genotypes of Masters of Sports, International Masters of Sports and Honored Masters of Sports showed that the frequencies of favorable gene variants were higher in the genotypes of more qualified athletes; it proves an appropriate genetic potential necessity for high achievements in sports. The analysis of *UCP2*, *HIF1A* and *MTHFR* gene expression changes in response to two-week hypoxic training was performed on 15 skaters of high qualification. We found that average *UCP2* and *MTHFR* mRNA levels had significantly increased after the training but the expression of the *HIF1A* gene had reduced. At the same time, individual athlete variability in *UCP2*, *HIF1A* and *MTHFR* gene expression was revealed. Genotype influence on gene expression was shown with the help of the *UCP2* gene – its activity was higher in sportsmen with Val/Val than with Val/Ala or Ala/Ala genotypes. Consequently, genotyping and analysis of gene expression is very important for athlete selection and training.

Key words: athletic performance; PCR analysis; DNA polymorphisms; selection programs; gene expression.

Во всем мире активно ведутся исследования, направленные на выявление информативных молекулярно-генетических маркеров, позволяющих улучшить отбор перспективных спортсменов, а также повысить работоспособность атлетов и их результативность.

В разработанную нами ранее систему генетического тестирования в спорте (Моссэ и др., 2013) были включены гены, альтернативные варианты которых ассоциированы с выносливостью либо со скоростно-силовыми способностями: гены сердечно-сосудистой системы (гены роста эндотелия кровеносных сосудов, системы транспорта кислорода, генетические факторы тромбообразования), гены, ответственные за прочность костей и соединительной ткани, гены углеводно-жирового обмена и гены психоэмоционального состояния человека. Тестирование спортсменов по названным генам позволяет решить две задачи: определить благоприятные аллели, дающие преимущества в разных спортивных специализациях, и выявить неблагоприятные варианты генов у спортсменов для возможной корректировки их эффектов.

Проведено молекулярно-генетическое тестирование 450 высококвалифицированных спортсменов, представителей 25 олимпийских и национальных команд разных видов спорта, с целью выявления наиболее информативных маркеров, определяющих спортивную одаренность, поскольку именно эти спортсмены являются потенциальными носителями генотипов, благоприятных для соответствующих видов спорта. На основании выявленных различий в частотах благоприятных вариантов генов у спортсменов разных специализаций (Моссэ и др., 2010, 2012а, б; Кухтинская и др., 2012; Жур и др., 2013; Кундас и др., 2013) была разработана программа отбора начинающих спортсменов по четырем спортивным направлениям: скоростно-силовому, требующему выносливости, игровому и сложно-координационному (Моссэ и др., 2013).

Интересным представлялось сравнить генотипы атлетов разной спортивной квалификации, так как вполне логично предположить, что чем более высокие результаты показывает спортсмен, тем больше благоприятных для занятия спортом аллелей должен содержать его генотип. Кроме того, известно, что результативность атлетов зависит не только от наличия тех или иных вариантов генов, но и от активности работы этих генов, которая меняется в процессе тренировок у разных людей по-разному (Stepro et al., 2009). Анализ экспрессии генов спортивной успешности – одно из наиболее актуальных направлений генетики спорта.

Таким образом, цель нашего исследования заключалась в сравнении генотипов атлетов разной спортивной квалификации и анализе изменений активности генов, обеспечивающих адаптацию к интенсивным физическим нагрузкам.

Материалы и методы

Проведение молекулярно-генетического тестирования спортсменов одобрено комитетом по этике государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр спорта» (Минск).

Протестированы образцы крови 143 высококвалифицированных спортсменов, в том числе 74 мастеров спор-

та (МС), 59 мастеров спорта международного класса (МСМК) и 10 заслуженных мастеров спорта (ЗМС). Спортсмены входили в состав 18 олимпийских и национальных команд Беларуси, проходивших медицинское обследование на базе Республиканского научно-практического центра спорта Министерства спорта и туризма Республики Беларусь. Среди обследованных спортсменов были представители циклических видов спорта (плавание, гребной слалом, академическая гребля, велоспорт, беговые виды легкой атлетики, конькобежный спорт), игровых видов спорта (хоккей с шайбой, баскетбол, теннис), скоростно-силовых (тяжелая атлетика, легкая атлетика (метание копья), стрельба из лука), сложнокоординационных (спортивная гимнастика, акробатика) и комбинированных видов спорта (современное пятиборье, биатлон).

В качестве биологического материала для исследования использовали ДНК и РНК, выделенные из лейкоцитов периферической крови с помощью наборов соответствующих реагентов для экстракции («Синтол», Россия). Генотипирование проведено по 11 генным полиморфизмам 10 генов.

Тестирование полиморфизмов генов *VEGF* –634G/C (rs2010963), *HIF1A* C1772T (rs11549465), *MTHFR* C677T и A1298C (rs1801133, rs1801131), *UCP2* Ala55Val (rs660339), *AMPD* C34T (rs17602729) выполняли методом ПЦР в реальном времени с использованием праймеров и зондов собственного дизайна. Последовательности праймеров и зондов, а также температурные режимы реакций амплификации приведены в таблице. Реакцию проводили в конечном объеме 10 мкл в следующих условиях: 5 мкл 2х супермикса для ПЦР iTaq Universal probes supermix (Bio-Rad, США), по 300 нМ прямого и обратного праймера, по 50 нМ каждого зонда и 15 нг исследуемой ДНК.

Генетическое тестирование полиморфизмов генов *MB* A79G (rs7293) и *PPARG* Pro12Ala (rs1801282) осуществляли с использованием наборов праймеров и зондов компании Applied Biosystems (C_2506456_1, C_1129864_10 соответственно) согласно инструкции производителя. Генотипирование полиморфизмов генов *ACE* Alu Ins/Del (rs4646994), *BDKRB2* I/D (rs5810761), *ACTN3* R577X (rs1815739) проводили с применением описанных в литературе методик (Rigat et al., 1992; Wang et al., 2010; Zempo et al., 2011).

У 15 высококвалифицированных спортсменов национальной команды Республики Беларусь по конькобежному спорту была проанализирована экспрессия генов *UCP2*, *HIF1A* и *MTHFR* в ответ на двухнедельную гипоксическую тренировку (на велотренажере), которая применяется в профессиональном спорте для повышения выносливости. Спортсмены тренировались в условиях гипоксии (моделируемая высота – до 3200 м) ежедневно по два часа на протяжении 14 дней по схеме, указанной в методических рекомендациях, с постоянным контролем насыщенности крови кислородом. Основные параметры горного климата создавали и поддерживали с помощью установки Low Oxygen Systems (Германия).

Относительный количественный анализ экспрессии генов проводили методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией с ген-специфичными праймерами TaqMan Gene Expression Assays (Hs00153153_m1,

PCR primers, probes, and temperature schedules for genotyping polymorphisms
in the genes *VEGF*, *HIF1A*, *MTHFR*, *UCP2*, and *AMPD*

Gene/polymorphism	Designation	Sequences of primers and probes (5'→3')	Temperature schedule
<i>VEGF</i> -634G/C (rs2010963)	VEGF_F	agcagaaagaggaaagaggtagc	95° – 10 min
	VEGF_R	caaaagcaggtcactcactttg	95° – 20 sec } 65° – 30 sec }
	VEGF_C	[FAM]ccctgtcgtttcgctgctc[BHQ1]	40 cycles
	VEGF_G	[ROX]ccctgtcccttcgctgctc[BHQ2]	
<i>HIF1A</i> C1772T (rs11549465)	HifR	tttcagggcttcggaac	95° – 10 min
	HifF	tgagatgtagctccatatcc	95° – 20 sec } 65° – 30 sec }
	HifC	[FAM]tcgatcagttgtcaccattagaagcagt[BHQ1]	40 cycles
	HifT	[ROX]tcgatcagttgtcatcattagaagcagt[BHQ2]	
<i>MTHFR</i> C677T (rs1801133)	677F	tgacctgaagcactgaaggagaa	95° – 5 min
	677R	ggaagaatgtgtcagcctcaaga	95° – 10 sec } 57° – 20 sec }
	677C	[FAM]atgaaatcggtcccg[BHQ1]	40 cycles
	677T	[ROX]atgaaatcgactcccg[BHQ2]	
<i>MTHFR</i> A1298C (rs1801131) (multiplex)	1298F	ggaggagctgctgaagatgtg	
	1298R	tctcccagaggtaaagaacaaa	
	1298A	[Cy5]aaagacactttctcactg[BHQ2]	
	1298C	[6TET-AH]agacacttgctcactg[BHQ1]	
<i>UCP2</i> Ala55Val (rs660339)	UCP2-F	ttgcagatccaaggagaaagtca-3'	95° – 5 min
	UCP2-R	ccctcagtagcaccatggt-3'	95° – 15 sec } 64° – 60 sec }
	UCP2-1	[FAM]cgctacagccagcggcagctacc[BHQ1]	40 cycles
	UCP2-2	[ROX]cgctacagtcagcggcagctaccg[BHQ2]	
<i>AMPD</i> C34T (rs17602729)	AMPDF	agccaccatgattacaga	95° – 10 min
	AMPD-R	ctgacaatggcagcaaa	95° – 20 sec } 61° – 30 sec }
	AMPDW	[FAM]tgcaatactcacgtttctctcagc[BHQ1]	40 cycles
	AMPDM	[ROX]tgcaatactcacatttctctcagct[BHQ2]	

Hs01075227_m1, Hs00195560_m1 (Applied Biosystems)) в соответствии с инструкцией производителя. Синтез кДНК выполняли с помощью набора Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific). Уровень экспрессии изучаемых генов нормализовали относительно экспрессии гена «домашнего хозяйства» *GAPDH* (Hs03929097_g1, Applied Biosystems), в связи с чем этот показатель представлен в условных единицах.

Для детекции флуоресценции, а также первичной обработки результатов применяли программное обеспечение CFX96 Manager 3.1 (прибор CFX96, Bio-Rad, США) в автоматическом режиме.

Статистическую обработку данных проводили в пакете программ Statistica 10.0, за исключением анализа зависимости двух категориальных параметров – спортивной квалификации и генотипов атлетов, который выполнен с использованием функции Fisher.test пакета Stat программы RStudio (для таблиц размерности $n \times m$ (Agresti, 2002)). Сравнение среднегрупповых значений экспрессии производили с помощью критерия Манна–Уитни. Для проверки различий между двумя выборками парных из-

мерений уровней экспрессии применяли Т-критерий Вилкоксона. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0.05$.

Результаты и обсуждение

Сравнение генотипов атлетов разной квалификации

Проведен анализ распределения аллельных вариантов 9 генов, ассоциированных со спортивной успешностью, в генотипах атлетов с различной спортивной квалификацией.

При разделении спортсменов на группы в зависимости от специализации, выборка атлетов самой высокой квалификации (ЗМС) оказалась слишком мала для обнаружения статистически значимых различий в частотах встречаемости аллельных вариантов исследуемых генов. При сравнении генотипов всех высококвалифицированных спортсменов без учета специализации выявлено следующее распределение частот аллельных вариантов ряда генных полиморфизмов, очевидно, благоприятных

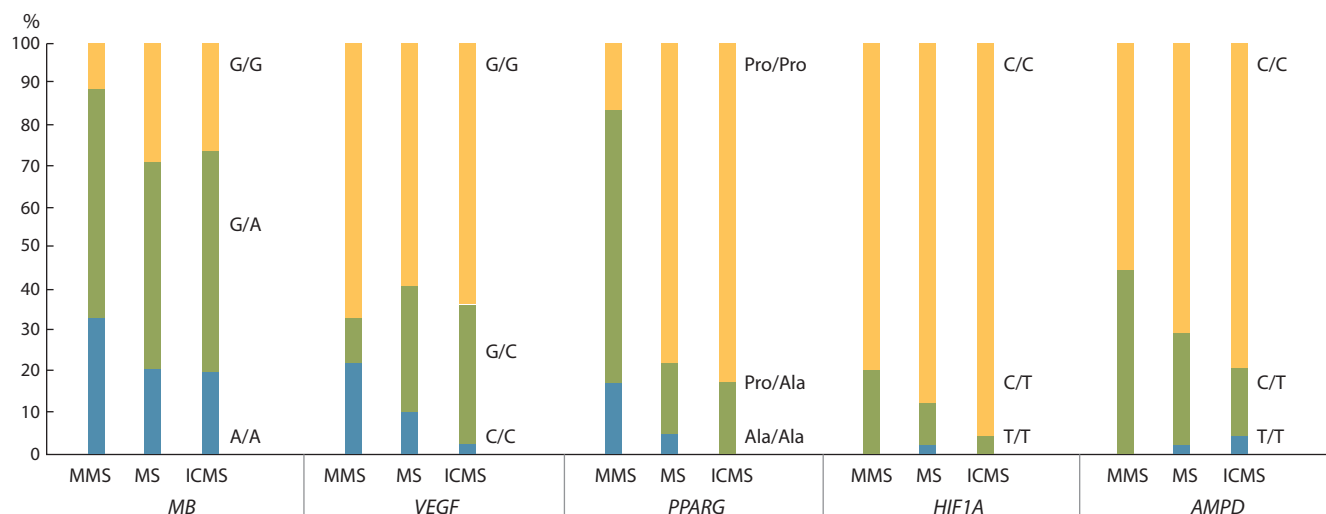


Fig. 1. Allele frequencies of the *MB*, *VEGF*, *PPARG*, *HIF1A*, and *AMPD* genes in groups of athletes of different ranks.

для разных специализаций: C/T+T/T гена *HIF1A* (МС – 4.1 %, МСМК – 11.9 %, ЗМС – 20.0 %), C/C гена *VEGF* (МС – 2.7 %, МСМК – 10.2 %, ЗМС – 22.2 %) и Ala/Ala гена *PPARG* (МС – 0 %, МСМК – 4.5 %, ЗМС – 16.7 %) (рис. 1).

Для полиморфного варианта Pro12Ala гена *PPARG* выявлена зависимость частоты встречаемости случая Ala/Ala от квалификации спортсменов ($\chi^2 = 16.74$; $p < 0.05$): чем выше квалификация атлетов, тем чаще в их генотипах встречается данный вариант гена.

Для полиморфизмов C1772T *HIF1A* и –634G/C *VEGF* статистически значимых различий в распределении частот генотипов обнаружено не было, что, вероятно, обусловлено недостаточным размером выборки спортсменов с наиболее высокой квалификацией (ЗМС). Однако при объединении ЗМС и МСМК в одну группу выявлены значимые различия в распределении полиморфных вариантов C1772T гена *HIF1A* и –634G/C гена *VEGF*: установлено, что в группе спортсменов МСМК+ЗМС носители генотипов C/C гена *VEGF* и CT+TT гена *HIF1A* встречаются значительно чаще ($p < 0.05$), чем в группе МС.

Полученные результаты можно объяснить важной ролью этих генных вариантов для спортивной успешности. Так, наличие аллеля Т гена *HIF1A* повышает транскрипционную активность гена и стабильность белка HIF1 α , благодаря чему увеличивается устойчивость клеток к гипоксии; аллель С гена *VEGF* ассоциирован с повышенной активностью гена, большим приростом кровеносных сосудов, что увеличивает максимальное потребление кислорода в ответ на аэробные нагрузки; аллельный вариант Ala/Ala гена *PPARG* обеспечивает повышенную чувствительность тканей к инсулину, что способствует большему приросту мышечной силы в ответ на физические нагрузки (Ахметов, 2009).

Нами также отмечено, что в группах более квалифицированных спортсменов частота встречаемости благоприятного аллельного варианта I/I гена *ACE* выше (МС – 17.6 %, МСМК – 28.8 %, ЗМС – 33.3 %), а частоты встречаемости неблагоприятных вариантов Т/Т гена *AMPD* (МС – 4.1 %, МСМК – 1.7 %, ЗМС – 0 %) и X/X гена

ACTN3 (МС – 17.6 %, МСМК – 11.9 %, ЗМС – 0 %) ниже, чем у менее квалифицированных (рис. 1 и 2). Однако эти результаты оказались статистически незначимыми.

Повышенную частоту встречаемости аллельного варианта I/I гена *ACE* можно объяснить тем, что этот вариант обеспечивает высокую аэробную работоспособность спортсменов, поэтому чем выше квалификация спортсменов, тем чаще в их генотипах выявляется вариант I/I (Montgomery et al., 1998; Sgourou et al., 2012).

Низкая частота встречаемости варианта T/T гена *AMPD* у спортсменов высокой квалификации может быть обусловлена тем, что аллель Т ассоциирован с синтезом укороченного белка с пониженной активностью аденозинмонофосфат-дезаминазы – фермента, регулирующего энергетические процессы в клетке, что снижает скорость восстановления спортсмена после выполнения высокоинтенсивных физических нагрузок (Ахметов, 2009).

Что касается низкой частоты встречаемости аллельного варианта X/X гена *ACTN3* в генотипах высококвалифицированных атлетов, то этот факт можно объяснить тем, что у носителей варианта R/R быстрые мышечные волокна способны под воздействием тренировок превращаться в медленные, т.е. носители варианта R/R могут усовершенствовать свои аэробные качества и повысить выносливость. В то же время носители генотипа X/X не могут изменить состав своих мышц, выполняя нагрузки скоростно-силового характера (Janssen, 2001). Поэтому наличие аллеля R более благоприятно не только для спортсменов скоростно-силовых видов спорта, но и для атлетов, тренирующих выносливость. Полученные нами данные согласуются с результатами других исследователей (Дружевская, 2006; Kikuchi et al., 2015), которые установили, что частота R аллеля гена *ACTN3* превалирует у спортсменов, занимающихся как скоростно-силовыми видами спорта, так и видами спорта, требующими выносливости.

Для полиморфных вариантов Ala55Val *UCP2*, I/D *BDKRB2*, A79G *MB* статистически значимых различий в распределении частот генотипов в зависимости от квали-

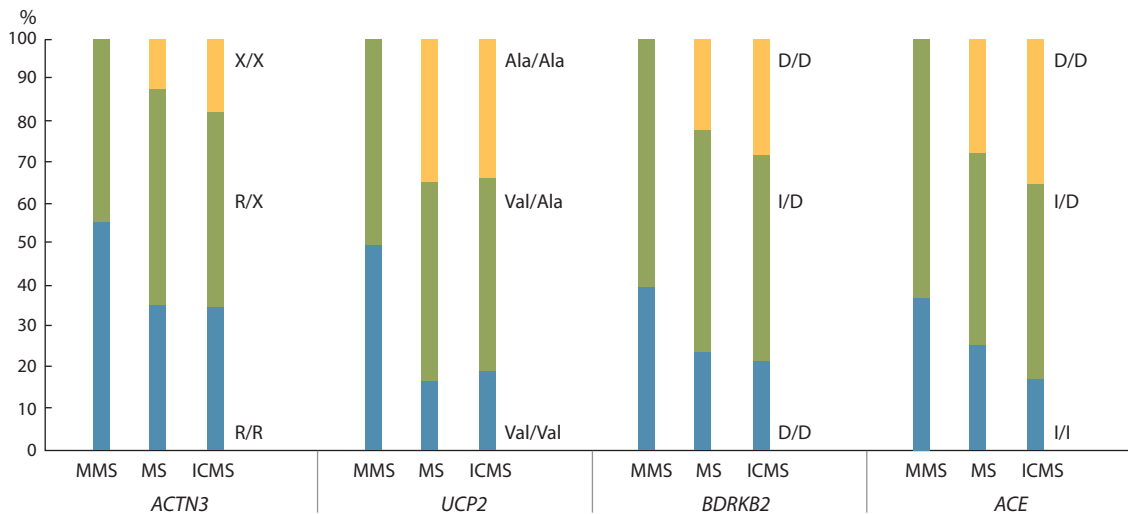


Fig. 2. Allele frequencies of the *ACTN3*, *UCP2*, *BDRKB2*, and *ACE* genes in groups of athletes of different ranks.

фикации спортсменов обнаружено не было, что, вероятно, обусловлено малым размером выборки спортсменов с наиболее высокой квалификацией (ЗМС). Заслуженные мастера спорта – это выдающиеся спортсмены, чемпионы, самая малочисленная группа среди протестированных спортсменов. Тем не менее, как видно из рис. 1 и 2, в группе ЗМС частота гомозигот по «благоприятным» аллелям значительно выше, чем в группах МС и МСМК, между которыми различий практически нет. Причем для гена *UCP2* различия вплотную приближаются к статистически значимым. Следовательно, и для этих генов можно говорить о наблюдаемой тенденции: чем выше квалификация атлетов, тем чаще в их генотипах встречаются благоприятные варианты генов.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что для того, чтобы стать выдающимся спортсменом, необходимо обладать соответствующим генетическим потенциалом, в отсутствие которого любые усилия могут оказаться недостаточными.

Определение экспрессии ряда генов спортивной успешности

Для исследования были выбраны ассоциированные со спортивной успешностью и экспрессирующиеся в крови гены *UCP2*, *HIF1A* и *MTHFR*. Проведенный анализ изменения экспрессии этих генов у конькобежцев выявил статистически значимое увеличение среднегрупповых уровней мРНК гена *UCP2* с 0.39 ± 0.05 до 1.55 ± 0.09 усл. ед. ($p \leq 0.05$) и гена *MTHFR* с 0.20 ± 0.02 до 0.66 ± 0.05 усл. ед. ($p \leq 0.05$) в ответ на стимулирующее и адаптирующее действие двухнедельной гипоксической тренировки.

Ген *UCP2* – один из представителей семейства разобщающих белков. Он принимает участие в термогенезе, регуляции обмена жиров и расхода энергии, в защите от активных форм кислорода, а также влияет на секрецию инсулина и нейропротекцию. Препятствуя выработке инсулина клетками поджелудочной железы, продукт гена *UCP2* способствует липолизу – использованию жирных

кислот в качестве источника энергии, что увеличивает работоспособность и выносливость организма (Brand, Esteves, 2005). В ответ на тренировку аэробной направленности экспрессия гена в скелетных мышцах человека увеличивается, в свою очередь повышенная активность гена изменяет продукцию гликолитических и окислительных ферментов, в результате чего происходит сдвиг в сторону более экономного способа энергообеспечения – окислительного фосфорилирования (Vuemann et al., 2001). Таким образом, увеличение экспрессии гена *UCP2* свидетельствует о переходе на более экономичный способ энергообеспечения.

Фермент метилентетрагидрофолатредуктаза, кодируемый геном *MTHFR*, катализирует восстановление 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат, который является активной формой фолиевой кислоты, необходимой для образования метионина из гомоцистеина и далее – S-аденозилметионина, играющего ключевую роль в процессе метилирования ДНК. Метилирование ДНК контролирует активность многочисленных генов, в том числе задействованных в процессе адаптации к физическим нагрузкам и к гипоксии, а также ответственных за рост мышечной ткани и синтез митохондрий (Bagges, Zierath, 2011; Terruzzi et al., 2011). Следовательно, увеличение экспрессии гена *MTHFR* в ответ на интервальные гипоксические тренировки может свидетельствовать о запуске вышеперечисленных процессов для адаптации организма к гипоксии.

В то же время среднегрупповой уровень экспрессии гена *HIF1A* в ответ на гипоксию статистически значимо снизился с 3.04 ± 0.25 до 1.61 ± 0.13 усл. ед. ($p \leq 0.05$). Это можно объяснить тем, что продукт гена *HIF1A* служит ведущим транскрипционным регулятором генов, ответственных за реакцию на недостаток кислорода, обеспечивает быстрые и адекватные ответы на гипоксический стресс, активизирует гены, регулирующие процесс ангиогенеза, вазомоторный контроль, энергетический метаболизм и эритропоэз (Ameln et al., 2005; Lundby, Gassman,

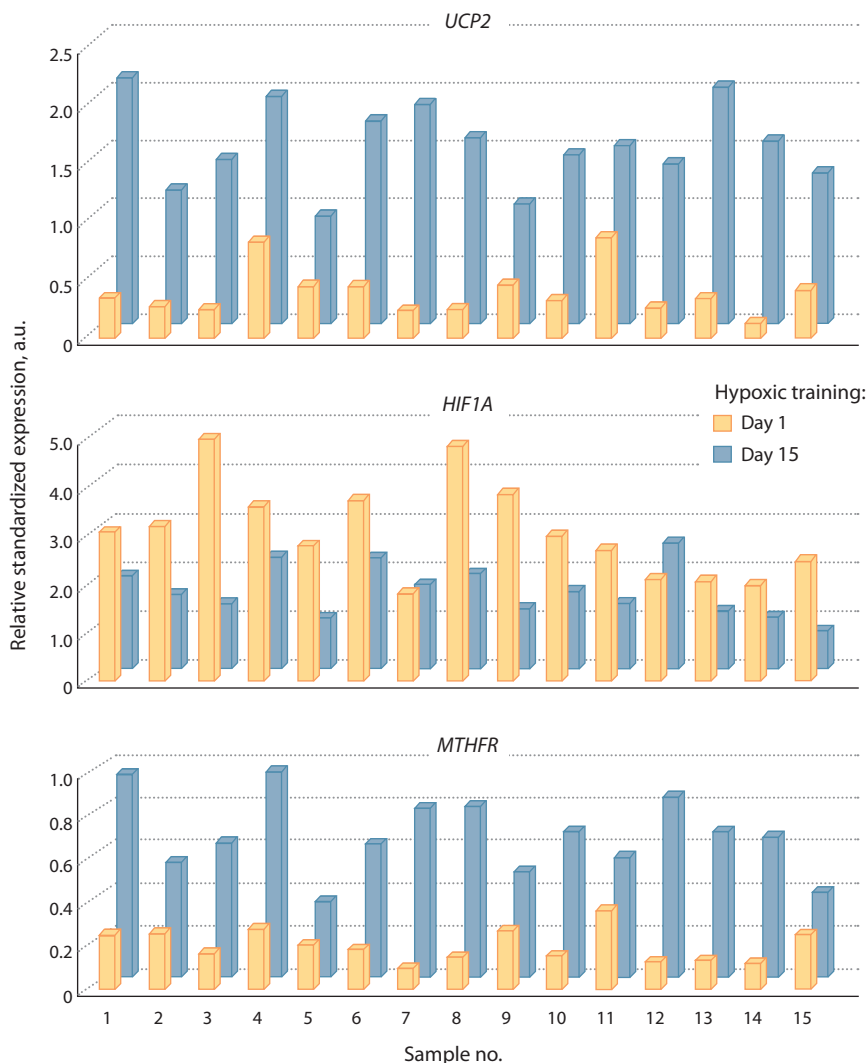


Fig. 3. Individual variations in levels of the *UCP2*, *HIF1A* and *MTHFR* RNAs in athletes in response to hypoxic training.

2006). Поэтому в ответ на гипоксию уровень экспрессии гена *HIF1A* быстро и резко возрастает для запуска комплекса генов, ответственных за адаптацию к недостатку кислорода (Döring et al., 2010), и в то время, когда активность данных генов увеличивается, экспрессия гена *HIF1A* уже снижается, поскольку ни одна биологическая система не может длительное время находиться в состоянии перенапряжения.

Необходимо отметить, что изменение активности гена у каждого спортсмена носит индивидуальный характер (рис. 3). Так, экспрессия гена *UCP2* под воздействием гипоксии увеличилась у атлета № 11 в 1.8 раза, а у спортсмена № 14 – более чем в 12 раз. Обращает на себя внимание также индивидуальный характер базового уровня экспрессии этого гена – у разных спортсменов он колеблется от 0.13 до 0.87 усл. ед. (см. рис. 3).

Индивидуальные различия в динамике активности были выявлены и при анализе экспрессии генов *HIF1A* и *MTHFR* как на базовом уровне, так и под воздействием гипоксии (см. рис. 3).

Таким образом, нагрузка одинаковой интенсивности изменяет экспрессию генов у разных спортсменов в разной степени и даже в различных направлениях. Полученные нами данные указывают на необходимость индивидуального подхода к составлению программы тренировок и фармакологического обеспечения.

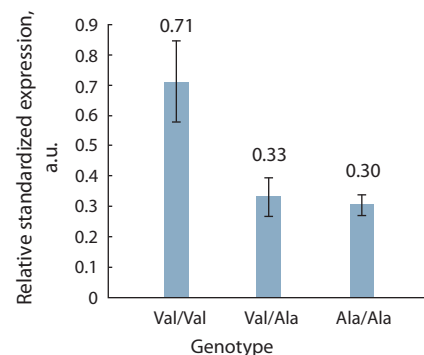


Fig. 4. *UCP2* gene expression level in athletes at the initial stage of hypoxic training depending on Ala55Val polymorphism variant.

В научной литературе практически отсутствует информация о том, как экспрессируются исследуемые нами гены в гетерозиготном состоянии, т. е. при наличии благоприятного и неблагоприятного полиморфных аллелей в одном генотипе. Работает ли один из аллелей или оба, обуславливая средний уровень синтеза соответствующего продукта. Поэтому представлялось интересным сравнить экспрессию гомо- и гетерозиготных аллельных вариантов генов.

Нами проанализирована взаимосвязь разных полиморфных вариантов Ala55Val гена *UCP2*, C1772T гена *HIF1A*, C677T и A1298C гена *MTHFR* с уровнями их экспрессии. Установлены статистически значимые различия в активности работы гена *UCP2* – под воздействием гипоксии у вариантов Val/Ala и Ala/Ala экспрессия гена ниже, чем у гомозиготы Val/Val (0.33 ± 0.06 и 0.30 ± 0.03 соответственно против 0.71 ± 0.13 усл. ед.; $p \leq 0.05$) (рис. 4). Следовательно, для гомозиготы Val/Val гена *UCP2* характерна более высокая активность, что обуславливает повышенную способность использовать жирные кислоты в качестве источника энергии и, соответственно, увеличивает работоспособность и выносливость организма. Это подтверждает высокая частота встречаемости аллеля 55Val у представителей видов спорта, тренирующих выносливость (Vuemann et al., 2001).

Судя по полученным данным, активность гетерозиготы Val/Ala гена *UCP2* практически не отличается от экспрессии гомозиготного варианта

Ala/Ala, что позволяет корректно оценивать вклад данного гетерозиготного варианта в потенциал спортсмена при интерпретации результатов генетического тестирования.

Для полиморфизмов C1772T гена *HIF1A*, C677T и A1298C гена *MTHFR* статистически значимых различий в экспрессии в зависимости от аллельного варианта не выявлено.

Таким образом, исследование уровней экспрессии генов спортивной успешности является важным этапом при подготовке профессиональных спортсменов, поскольку сведения об активности работы генов могут выступать в качестве дополнительного критерия, характеризующего адаптацию атлета к интенсивным физическим нагрузкам.

Заключение

Сравнение генотипов спортсменов разной квалификации (мастеров спорта, мастеров спорта международного класса, заслуженных мастеров спорта) показало, что чем выше квалификация спортсменов, тем чаще встречаются в их генотипах благоприятные для спорта аллельные варианты. Так, частоты генотипов C/T + T/T гена *HIF1A* и C/C гена *VEGF* в группе спортсменов с квалификациями МСМК + ЗМС достоверно выше, чем в группе спортсменов с квалификацией МС ($p \leq 0.05$). Подобная зависимость выявлена и для частоты встречаемости гомозиготы Ala/Ala гена *PPARG*. Следовательно, можно сделать вывод о том, что для достижения выдающихся результатов атлету необходимо обладать соответствующим генетическим потенциалом, в отсутствие которого все усилия могут оказаться безрезультатными.

Анализ экспрессии генов *UCP2*, *HIF1A* и *MTHFR* показал, что у спортсменов под воздействием гипоксических тренировок, направленных на повышение выносливости, происходит статистически значимое увеличение среднegrupповых уровней активности генов *UCP2* и *MTHFR* и снижение экспрессии гена *HIF1A*. При этом установлены индивидуальные различия в активности генов на различных этапах тренировки у разных спортсменов, что свидетельствует о необходимости индивидуального подхода к их подготовке.

На примере гена *UCP2* показаны статистически значимые различия уровней экспрессии гена у носителей разных аллельных вариантов полиморфизма Ala55Val: у обладателей гомозиготы Val/Val установлена более высокая экспрессия гена по сравнению с носителями аллельных вариантов Val/Ala и Ala/Ala. Полученные данные позволяют ответить на вопрос о том, как экспрессируются гены при наличии в гетерозиготе благоприятного и неблагоприятного полиморфных аллелей, что необходимо учитывать для корректной оценки вклада гетерозиготного варианта в спортивный потенциал спортсмена.

Таким образом, комплексный подход, включающий в себя как определение генотипов атлетов, так и анализ экспрессии генов, ответственных за адаптацию к интенсивным физическим нагрузкам, обеспечивает более эффективный отбор перспективных спортсменов и позволяет корректировать программу тренировок для каждого спортсмена индивидуально с целью сохранения его здоровья и повышения результативности.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Agresti A. Categorical Data Analysis. 2nd ed. N.Y.: Wiley, 2002;91-101.
- Ahmetov I.I. Molekulyarnaya genetika sporta [Molecular genetics of sport]. Moscow: Sovetskiy Sport, 2009. (in Russian)
- Ameln H., Gustafsson T., Sundberg J., Okamoto K., Jansson E., Poellinger L., Makino Y. Physiological activation of hypoxia inducible factor-1 in human skeletal muscle. *FASEB J.* 2005;19(8):1009-1011. DOI 10.1096/fj.04-2304fje.
- Barres R., Zierath J.R. DNA methylation in metabolic disorders. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011;93(4):897-900. DOI 10.3945/ajcn.110.001933.
- Brand M.D., Esteves T.C. Physiological functions of the mitochondrial uncoupling proteins UCP2 and UCP3. *Cell Metab.* 2005;2(2):85-93. DOI 10.1016/j.cmet.2005.06.002.
- Buemann B., Schiering B., Toubro S., Bibby B.M., Sørensen T., Dalgaard L., Pedersen O., Astrup A. The association between the val/ala-55 polymorphism of the uncoupling protein 2 gene and exercise efficiency. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2001;25(4):467-471.
- Döring F., Onur S., Fischer A., Boulay M.R., Pérusse L., Rankinen T., Rauramaa R., Wolfarth B., Bouchard C. A common haplotype and the Pro582Ser polymorphism of the hypoxia-inducible factor-1 α (*HIF1A*) gene in elite endurance athletes. *J. Appl. Physiol.* 2010;108(6):1497-1500. DOI 10.1152/jappphysiol.01165.2009.
- Druzhevskaya A.M. Polimorfizm gena *ACTN3* u sportmenov [R577X polymorphism of the *ACTN3* gene in athletes]. *Geneticheskie, psikhofizicheskie i pedagogicheskie tekhnologii podgotovki sportmenov* [Genetic, Psychophysical and Pedagogical Technologies of Athlete Training]. Petersburg, 2006;58-67. (in Russian)
- Janssen P. Lactate Threshold Training. L.: Human Kinetics, 2001.
- Kikuchi N., Miyamoto-Mikami E., Murakami H., Nakamura T., Min S.K., Mizuno M., Naito H., Miyachi M., Nakazato K., Fuku N. *ACTN3* R577X genotype and athletic performance in a large cohort of Japanese athletes. *Eur. J. Sport. Sci.* 2015;16(6):694-701. DOI 10.1080/17461391.2015.1071879.
- Kukhtinskaya L.V., Zhur K.V., Kundas L.A. Molecular genetic analysis of genetic markers of adaptation to hypoxia in highly qualified athletes. *Prilozhenie k zhurnaly "Vesti Natsyanal'noy akademii nauk Belarusi"* = Supplement to Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. 2012;3:102-105. (in Russian)
- Kundas L.A., Zhur K.V., Byshnev N.I., Prohorova T.N., Lositskiy Y.A., Mosse I.B. Analysis of genetic markers for resistance to a physical stress in elite collegiate rowers. *Molekular. i prikl. genetika = Mol. Appl. Genetics.* 2013;14:101-106. (in Russian)
- Lundby C., Gassmann M., Pilegaard H. Regular endurance training reduces the exercise induced HIF-1 α and HIF-2 α mRNA expression in human skeletal muscle in normoxic conditions. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2006;96(4):363-369. DOI 10.1007/s00421-005-0085-5.
- Montgomery H.E., Marshall R., Hemingway H., Myerson S., Clarkson P., Dollery C., Hayward M., Holliman D.E., Jubb M., World M., Thomas E.L., Brynes A.E., Saeed N., Barnard M., Bell J.D., Prasad K., Rayson M., Talmud P.J., Humphries S.E. Human gene for physical performance. *Nature.* 1998;393:221-222. DOI 10.1038/30374.
- Mosse I.B., Gonchar A.L., Kukhtinskaya L.V., Mosse N.I., Malashevich P.N., Semenyakov A.V. Genetic markers of organism resistance to hypoxia. *Molekular. i prikl. genetika = Mol. Appl. Genetics.* 2010;11:74-82. (in Russian)
- Mosse I.B., Gonchar A.L., Zhur K.V., Kundas L.A., Byshnev N.I. Molecular genetic analysis of predisposition to various sports. *Dosyagnennya i problemi genetiki, seleksii ta biotekhnologii = Achievements and Problems of Genetics, Breeding, and Biotechnology.* 2012a;3:332-337. (in Russian)
- Mosse I.B., Gonchar A.L., Zhur K.V., Kundas L.A., Byshnev N.I., Malashevich P.N., Lositskiy E.A., Pozdnjak N.V. A system of genetic

- testing of athletes for resistance to hypoxia. *Konsilium = Consilium*. 2013;3:17-18. (in Russian)
- Mosse I.B., Gonchar A.L., Zhur K.V., Mosse N.I., Kundas L.A., Byshnev N.I., Malashevich P.N., Semenyakov A.V. A genotype comparison of different specialization sportsmen by sport gene complex. *Molekular. i prikl. genetika = Mol. Appl. Genetics*. 2012b;13:19-24. (in Russian)
- Rigat B., Hubert C., Corvol P., Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucl. Acids Res.* 1992;20(6):1433.
- Sgourou A., Fotopoulos V., Kontos V., Patrinos G.P., Papachatzopoulou A. Association of genome variations in the reninangiotensin system with physical performance. *Human Genomics*. 2012;6:24. DOI 10.1186/1479-7364-6-24.
- Stepo N.K., Coffey V.G., Carey A.L., Ponnampalam A.P., Canny B.J., Powell D., Hawley J. A. Global gene expression in skeletal muscle from well-trained strength and endurance athletes. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2009;41:546-565. DOI 10.1249/mss.0b013e31818c6be9.
- Terruzzi I., Senesi P., Montesano A., Luzi L. Genetic polymorphisms of the enzymes involved in DNA methylation and synthesis in elite athletes. *Physiol. Genomics*. 2011;43(16):965-973. DOI 10.1152/physiolgenomics.00040.2010.
- Wang P., Koehle M.S., Rupert J.L. No association between alleles of the bradykinin receptor-B2 gene and acute mountain sickness. *Exp. Biol. Med.* 2010;235(6):737-740. DOI 10.1258/ebm.2010.009325.
- Zempo H., Tanabe K., Murakami H., Iemitsu M., Maeda S., Kuno S. Age differences in the relation between *ACTN3* R577X polymorphism and thigh-muscle cross-sectional area in women. *Genet. Testing Mol. Biomarkers*. 2011;15(9):639-643. DOI 10.1089/gtmb.2011.0005.
- Zhur K.V., Kundas L.A., Byshnev N.I., Lositskiy Y.A., Malashevich P.N., Mosse I.B. Molecular genetic analysis of *HIF1A* gene to test athlete performance. *Molekular. i prikl. genetika = Mol. Appl. Genetics*. 2013;13:19-24. (in Russian)