

АНАЛІЗ ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ *ACE*, *ACTN3*, *ENOS*, *PPARG*, *PPARA*, *HIF-1 β* , *PPARGC1B* ПРИ ВИЗНАЧЕННІ СПАДКОВОЇ СХИЛЬНОСТІ ДО РІЗНИХ ВИДІВ СПОРТУ

С. Б. Дроздовська¹, В. Є. Досенко², Д. О. Строй², В. М. Ільїн¹

Національний університет фізичного виховання і спорту України¹

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України²

З метою встановлення можливості оцінки спадкової схильності до занять різними видами спорту вивчено відмінності у розподілі генотипів за комплексом поліморфізмів у групах спортсменів, які спеціалізуються у видах спорту з різним характером енергозабезпечення м'язової роботи. Використовуючи комплексний аналіз поліморфізмів генів та метод мультифакторної просторової редукції, створено моделі міжгенної взаємодії при оцінці схильності до швидкісно-силових видів спорту та видів спорту з вимогами поєднаної дії сили та витривалості. Встановлено, що I/D поліморфізм гена *ACE*, T⁷⁸⁶>C поліморфізм гена *eNOS*, R577X поліморфізму гена *ACTN3*, G/C поліморфізму 7-го інтрона гена *PPARA* є інформативними маркерами для визначення спадкової схильності до прояву високої фізичної працездатності у швидкісно-силових видах спорту, а T⁷⁸⁶>C поліморфізм гена *eNOS* є маркером схильності до занять видами спорту з вимогами поєднаної дії сили та витривалості.

Ключові слова: поліморфізми генів, спортивний добір, комплексний аналіз, молекулярна генетика м'язової діяльності, спадкова схильність.

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *ACE*, *ACTN3*, *ENOS*, *PPARG*, *PPARA*, *HIF-1 β* , *PPARGC1B* ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗЛИЧНЫМ ВИДАМ СПОРТА

С. Б. Дроздовская¹, В. Е. Досенко², Д. А. Строй², В. Н. Ильин¹

Национальный университет физического воспитания и спорта Украины¹

Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины²

С целью установления возможности оценки наследственной предрасположенности к занятиям различными видами спорта, изучены различия в распределении генотипов по комплексу полиморфизмов в группах спортсменов, специализирующихся в видах спорта с разным характером энергообеспечения мышечной работы. В работе обследовано ДНК 332 лиц, из которых: 110 спортсменов, занимающихся скоростно-силовыми видами спорта, 85 - видами спорта с преимущественным развитием выносливости, 51 - видами спорта, требующими сочетанного проявления силы и выносливости, 86 - не имеющих стажа регулярных занятий спортом.

При помощи метода полимеразной цепной реакции изучали I/D полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента (*ACE*), R577X (C/T) полиморфизм гена б-актина-3 (*ACTN3*), T⁷⁸⁶>C полиморфизм промотора гена эндотелиальной NO-синтазы (*eNOS*), Pro/Ala полиморфизм гена г-рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом (*PPARG*), G/C полиморфизм 7-го интрона гена б-рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом (*PPARA*), Pro⁵⁸²>Ser (C/T) полиморфизма гена фактора, индуцируемого гипоксией (*HIF-1 β*), Ala203Pro полиморфизма гена в-коактиватора PPAR γ (*PPARGC1B*).

Используя комплексный анализ полиморфизмов генов и метод мультифакторной пространственной редукции, созданы модели межгенных взаимодействий при оценке склонности к скоростно-силовым видам спорта и видам спорта с требованиями сочетанного действия силы и выносливости. Установлено, что I/D полиморфизм гена *ACE*, T-786 > C полиморфизм гена *eNOS*, R577X полиморфизм гена *ACTN3*, G/C полиморфизм 7-го интрона гена *PPARA* являются информативными маркерами для определения наследственной предрасположенности к проявлению высокой физической работоспособности в скоростно-силовых видах спорта, а T-786 > C полиморфизм гена *eNOS* является маркером предрасположенности к занятиям видами спорта с требованиями сочетанного действия силы и выносливости.

Ключевые слова: полиморфизмы генов, спортивный отбор, комплексный анализ, молекулярная генетика мышечной деятельности, наследственная предрасположенность.

ANALYSIS OF ACE, ACTN3, ENOS, PPARG, PPARA, HIF-15, PPARGC1B GENE POLYMORPHISMS FOR DETERMINATION A GENETIC PREDISPOSITION TO A VARIETY OF SPORTS

S. B. Drozdovska, V. Ye. Dosenko, D. O. Stroy, V. M. Ilyin

*National University of Physical Training and Sport of Ukraine
Institute of Physiology by O. O. Bogomolets of NAS of Ukraine*

To establishing the possibility of assessing genetic inherited predisposition to various sports, the differences in the distribution of genotypes of the complex polymorphisms in groups of athletes, specializing in sports with different types of energy supply of muscular work were studied. The paper examined the DNA 332 persons, of which 110 athletes involved in speed- power sports, 85 - in endurance sports, 51 - in sports that require a combination of strength and endurance, 86 - with no experience regular exercise.

Using the polymerase chain reaction method the I/D polymorphism of the angiotensin-converting enzyme (ACE), R577X polymorphism of 6-actinin-3 (ACTN3), T-786 > C promoter polymorphism endothelial NO-synthase (eNOS), Pro/Ala polymorphism peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG), G/C polymorphism in intron 7 of the gene peroxisome proliferator-activated receptor 6 (PPARA), Pro582 > Ser (C/T) polymorphism of inducible factor hypoxia (HIF-16), Ala203Pro polymorphism of B-coactivator PPAR α (PPARGC1B) were investigated.

Using complex analysis gene polymorphisms and the method of multifactor dimensional reduction, models of interaction between genes in assessing predisposition to speed-strength sports and sports with the requirements of the combined effects of strength and endurance were created. I/D polymorphism of ACE, T-786 > C polymorphism of eNOS, R577X polymorphism of ACTN3, G/C polymorphism of the 7th intron PPARA is an important marker for determining the genetic predisposition to exercise in speed and power sports, and T-786 > C polymorphism of eNOS gene is a marker of predisposition to sports with the requirements of the combination of strength and endurance.

Key words: gene polymorphisms, sports selection, complex analysis, molecular genetics of muscle activity, inherited predisposition.

Вступ. Результативність пошуку спортивних талантів, добору спортивно обдарованих дітей тісно пов'язана з розвитком методів визначення спадкової схильності до прояву високої фізичної працездатності в певному виді спорту.

Згідно з сучасними уявленнями молекулярної генетики м'язової діяльності, відмінності у прояві фізичних якостей людини залежать від поліморфізмів генів. Фізичні якості детермінуються і успадковуються полігенно, тобто залежать від сукупності генів та їх алельних варіантів. При аналізі спадкової схильності до того чи іншого виду спорту слід аналізувати комбінації алельних варіантів генів, що відіграють найважливішу роль у процесах адаптації організму спортсменів до інтенсивних фізичних навантажень.

За даними бази EMBL, геном людини містить більше ніж 21 млн. поліморфізмів. На сьогодні генетична карта фізичної активності людини нараховує 214 генів, поліморфізми яких асоційовані з розвитком і проявом фізичних якостей, а також морфофункціональними і біохімічними характеристиками, що змінюються під впливом фізичних навантажень різної спрямованості [1].

У світовій практиці створено декілька моделей, що дозволяють визначити спадкову схильність до різних видів спорту. Залежно від носійства алелів 32 генів,

що сприяють якому-небудь виду рухової активності, російські вчені [2] запропонували молекулярно-генетичну діагностику схильності до занять спортом. Вона передбачає визначення декількох типів схильності до розвитку і прояву фізичних якостей: низька схильність (наявність негативних мутацій, що викликають інтолерантність до фізичних навантажень; помірна схильність; виражена схильність; яскраво виражена схильність. Англійські вчені розробили так званий «Загальний генотипічний рахунок» (TGS, total genotype score), який ґрунтується на підрахунку сприятливих алелів 23 поліморфізмів, за допомогою якого розраховується схильність до видів спорту з переважним розвитком витривалості [3]. Більшість моделей не дозволяють передбачити спортивну успішність на 100 %, інформативність вибраних поліморфізмів не завжди підтверджується, тому дослідження, які тривають у даному науковому напрямку, спрямовані на розширення спектра значущих поліморфізмів, на репродукцію результатів попередніх дослідників, на створення молекулярно-генетичних паспортів у кожному окремому виді спорту.

Проведений аналіз наукової літератури дозволив віднести до генетичних маркерів, які можуть обумовлювати спадкову схильність до занять спортом, наступні поліморфізми: I/D поліморфізм гена ангіо-

тензинперетворювального ферменту (*ACE*), R577X (C/T) поліморфізм гена α -актиніну-3 (*ACTN3*), T⁻⁷⁸⁶>C поліморфізм промотора гена ендотеліальної NO-синтази (*eNOS*), Pro/Ala поліморфізм гена g -рецептора, що активує проліферацію пероксисом (*PPARG*), G/C поліморфізм 7-го інтрона гена α -рецептора, що активує проліферацію пероксисом (*PPARA*), Pro₅₈₂>Ser (C/T) поліморфізм гена фактора, що індукується гіпоксією (*HIF-1 β*), Ala203Pro поліморфізм гена β -коактиватора PPAR γ (*PPARGC1B*) [3, 1, 1, 6].

Мета дослідження - встановити відмінності у розподілі генотипів за комплексом поліморфізмів в групах спортсменів, що спеціалізуються у видах спорту з різним характером енергозабезпечення м'язової роботи.

Методи та організація досліджень.

В комплексному дослідженні частоти поліморфізмів взяли участь 332 особи, з них: 110 спортсменів, які спеціалізуються у швидкісно-силових видах спорту, 85 - що спеціалізуються у видах спорту з переважним розвитком витривалості, 51 - у видах спорту, що вимагають поєданого прояву сили та витривалості, 86 - які не мають регулярного стажу занять спортом.

ДНК виділяли з букального епітелію за допомогою набору реактивів Diatom™ DNA Prep (Біоком). Поліморфізми генів визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (PCR), з подальшою обробкою рестриктазами та наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP). Ампліфікати після рестрикції розділяли у 2,5 % агарозному гелі, який містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Візуалізацію ДНК після горизонтального електрофорезу (160 V впродовж 40 хв) проводили за допомогою трансільюмінатора ("Біоком", Росія) і відеосистеми ViTran (Росія). Визначали: I/D поліморфізм гена ангіотензинперетворювального ферменту (*ACE*), R577X (C/T) поліморфізм гена α -актиніну-3 (*ACTN3*), T⁻⁷⁸⁶>C поліморфізм промотора гена ендотеліальної NO-синтази (*eNOS*), Pro/Ala поліморфізм гена g -рецептора, що активує проліферацію пероксисом (*PPARG*), G/C поліморфізм 7-го інтрона гена α -рецептора, що активує проліферацію пероксисом (*PPARA*), Pro₅₈₂>Ser (C/T) поліморфізм гена фактора, що індукується гіпоксією (*HIF-1 α*), Ala203Pro поліморфізм гена β -коактиватора PPAR γ (*PPARGC1B*). Вірогідність відмінностей у розподілі вибірок визначали за критерієм χ^2 . Значення $P < 0,05$ вважали вірогідним.

Статистичний аналіз результатів дослідження проведено за допомогою програмного пакета SPSS

ver.17.0. Головні незалежні, а також спільні ефекти проаналізованих поліморфізмів були визначені при використанні програми мультифакторної просторової редукції (Multifactorial Dimensionality Reduction, MDR) з метою побудови моделі з найбільшим потенціалом предикції.

Результати досліджень та їх обговорення.

Для моделювання та аналізу міжгенних взаємодій ми використали метод багатофакторного зменшення розмірності, який дозволив нам продемонструвати складний характер взаємовідносин аналізованих поліморфізмів. Застосування даного методу до аналізу генотипів спортсменів різних видів спорту та різної кваліфікації дозволило отримати моделі, найкраща з яких володіла класифікаційною здібністю 64 %. Вказана модель дозволяє порівнювати розподіл алельних варіантів в групах спортсменів різної кваліфікації і в контрольній групі, включала в себе один єдиний поліморфізм - T⁻⁷⁸⁶>C поліморфізм промотора гена ендотеліальної NO-синтази (*eNOS*). Як свідчить аналіз даних, графічно зображений на рис. 1, особи з гомозиготним генотипом за (як за нормальним, так і за мінорним алелями) більш асоційовані зі схильністю до занять спортом, що вимагає поєднання сили та витривалості, водночас, гетерозиготний генотип більш асоційований з належністю до контрольної групи.

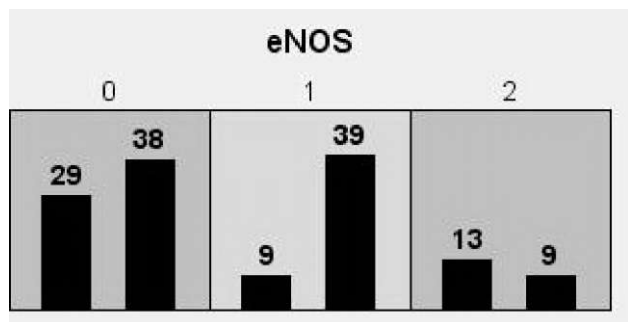


Рис. 1. Графічне зображення розподілу генотипів гена *eNOS* за допомогою методу багатофакторного зменшення просторовості: темно-сірим кольором - генотип, асоційований з високою схильністю до занять видами спорту, з поєднаними вимогами до розвитку витривалості та сили, світлим - генотип, асоційований з низькою схильністю до занять видами спорту, з поєднаними вимогами до розвитку витривалості та сили; 0 - AA, 1 - Aa, 2 - aa.

Для того, щоб дослідити характер взаємодії між поліморфізмами, ми створили дендрограму, побудовану за допомогою кластерного аналізу (рис. 2). На вершинах цього багатокутника представлена інфор-

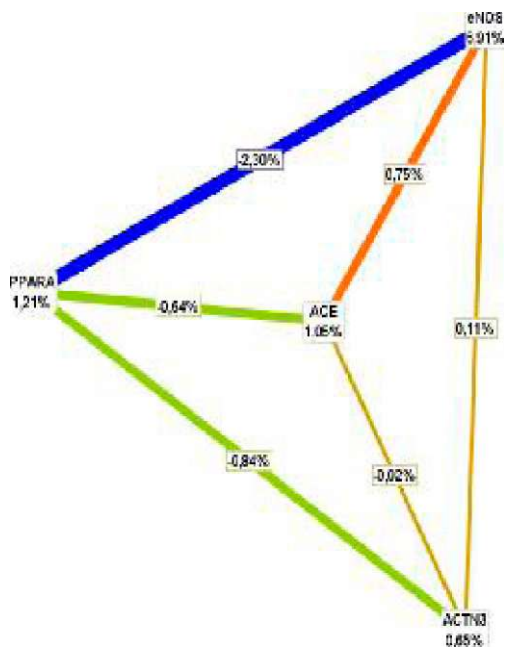


Рис. 2. Графічне зображення міжгенних взаємодій у видах спорту, з поєднаними вимогами до розвитку витривалості та сили.

Примітка: на вершинах багатокутника представлена інформаційна цінність кожного маркера зокрема, на ребрах - інформаційна цінність взаємодії пари маркерів.

- Червоний колір - інтенсивно виражена синергічна взаємодія;
- помаранчевий - помірно виражена синергічна взаємодія;
- синій - інтенсивно виражена антагоністична взаємодія.

маційна цінність кожного маркера зокрема, на ребрах - інформаційна цінність взаємодії пари маркерів. Дані, представлені на рисунку 2, дозволяють стверджувати, що найбільш важливим предиктором схильності до занять спортом, що вимагає поєднання сили та витривалості, є поліморфізм гена *eNOS*. Його інформаційна цінність більш ніж у 6 разів перевищує цінність решти генів. Цей поліморфізм знаходиться у синергічних взаємовідносинах з поліморфізмом гена *ACE* і антагоністичних з поліморфізмом гена *PPARG*. Виявлений факт дозволяє запропонувати метод оцінювання схильності до даних видів спорту на основі поєданого визначення двох поліморфізмів генів: I/D поліморфізму гена *ACE* і T⁻⁷⁸⁶>C поліморфізму гена *eNOS*.

Оскільки застосування методу MDR до всієї вибірки спортсменів, які займаються швидкісно-силовими видами спорту, не дозволило встановити ста-

тично вірогідні відмінності даної вибірки від контрольної групи за розподілом алельних варіантів вивчених поліморфізмів, тому ми виключили з кількості осіб, генотипи яких аналізували, спортсменів, які не досягли рівня «висококваліфіковані спортсмени». На рисунку 3 графічно зображені результати аналізу поліморфізмів генів спортсменів високої кваліфікації (майстри спорту України міжнародного класу), які спеціалізуються у швидкісно-силових видах спорту. Розподіл генотипів у спортсменів цієї групи вірогідно відрізняється від розподілу генотипів у контрольній групі за рахунок 4-х поліморфізмів, а саме: *ACE*, *eNOS*, *ACTN3*, *PPARA*. Класифікаційна здатність цієї моделі - 65 %, Cross-validation consistency (значення перехресної перевірки) - 10/10. Найбільшу інформативну значущість мають поліморфізми генів *PPARA* та *HIF1a*. Поліморфізм гена *HIF1a* знаходиться у антагоністичних з відносинах з поліморфізмами генів *PPARA*, *PPARG* та *eNOS*. Поліморфізм гена *PPARA* знаходиться у антагоністичних відносинах з поліморфізмом гена *PPARG*. Як і в попередній моделі, поліморфізм гена *eNOS* знаходиться у синергічних взаємовідносинах з поліморфізмом гена *ACE*.

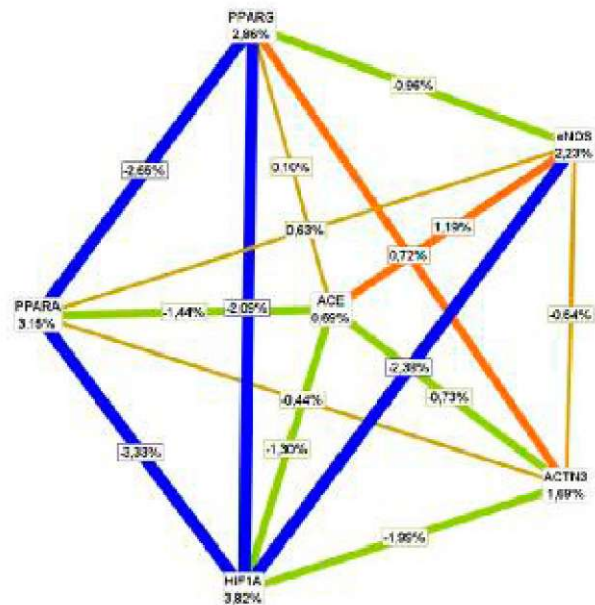


Рис. 3. Графічне відображення міжгенних взаємодій у спортсменів швидкісно-силових видів спорту.

- Червоний колір - інтенсивно виражена синергічна взаємодія;
- помаранчевий - помірно виражена синергічна взаємодія;
- синій - інтенсивно виражена антагоністична взаємодія.

Спортсмени, які спеціалізуються у видах спорту з переважним розвитком витривалості, за розподілом генотипів за кількома поліморфізмами, від результатів контрольної групи статистично не відрізнялись, що не дозволило нам створити модель міжгенної взаємодії для даної групи спортсменів.

Отримані результати добре узгоджуються з раніше встановленими фактами. Так відомо, що такі необхідні для прояву високих спортивних результатів фенотипи як вибухова сила, високий вміст швидкоротливих м'язових волокон, мають високий ступінь успадкування [8, 9] і детерміновані обмеженою кількістю генів [8], тоді як аеробна витривалість легко змінюється під впливом зовнішніх стимулів, має найменший ступінь успадкування, і обумовлена взаємодією великої кількості генів та їх варіацій [3, 5, 6]. Тому встановлення впливу поліморфізмів генів на схильність до занять видами спорту на витривалість вимагає збільшення вибірки спортсменів.

Висновки.

1. Висококваліфіковані спортсмени, які спеціалізуються у швидко-силових видах спорту, вірогідно відрізняються від контрольної групи за розподілом генотипів за 4 поліморфізмами: I/D поліморфізм гена *ACE*, T⁻⁷⁸⁶>C поліморфізм гена *eNOS*, R577X поліморфізму гена *ACTN3*, G/C поліморфізму 7-го інтрону гена *PPARA*, що дозволяє вважати їх інфор-

мативними маркерами для визначення спадкової схильності до прояву високої фізичної працездатності у цих видах спорту.

2. Кваліфіковані спортсмени, які спеціалізуються у видах спорту, що вимагають поєднання сили та витривалості, вірогідно відрізняються від контрольної групи за розподілом генотипів за T⁻⁷⁸⁶>C поліморфізмом гена *eNOS*.

3. При оцінюванні спадкової схильності до видів спорту, які вимагають прояву сили та витривалості, необхідно враховувати взаємодію алейних варіантів чотирьох поліморфізмів генів: I/D поліморфізму гена *ACE* і T⁻⁷⁸⁶>C поліморфізму гена *eNOS*, R577X поліморфізму гена *ACTN3*, G/C поліморфізму 7-го інтрона гена *PPARA*.

4. При оцінюванні спадкової схильності до швидко-силових видів спорту необхідно враховувати взаємодію алейних варіантів шести поліморфізмів: I/D поліморфізму гена *ACE*, T⁻⁷⁸⁶>C поліморфізму гена *eNOS*, R577X поліморфізму гена *ACTN3*, G/C поліморфізму 7-го інтрона гена *PPARA*, C/T поліморфізму гена *HIF-1a*, Pro/Ala поліморфізму гена *PPARG*.

5. Отримані дані потребують подальшої валідації і порівняння з результатами інших дослідницьких груп, що згодом дозволить розробити метод визначення спадкової схильності до прояву високої результативності у різних видах спорту.

Література

1. Bray M. S. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006-2007 update / M. S. Bray, J. M. Hamberg, L. Perrusse, T. Raikinen, S. M. Roth, B. Wolfarth, C. Bouchard // *Medicine & Science in Sports & Exercise*. - 2009. - V 41, N1. P.35-73.
2. Ахметов И. И. Молекулярно-генетические маркеры физических качеств человека: автореф. дис. на соиск. науч. степени доктора мед. наук : спец. 03.02.07 «Генетика», 14.03.11 «Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия» / И. И. Ахметов. - М., 2010. - 45 с.
3. Williams A. Similarity of polygenic profiles limits the potential for elite human physical performance / A. Williams, J. Folland // *J Physiol*. - 2008. - V 586(1). - P.113-121.
4. Bouchard C. Genetics and Physical Performance / C. Bouchard, R. Malina, L. Perusse. - Human Kinetics, 1997. - 400 p.
5. Ахметов И. И. Молекулярная генетика спорта: монография / И. И. Ахметов. ? М. : Советский спорт, 2009. ? 268 с.
6. Collins M. Genetics and Sport / M. Collins // *Medicine and Sport Science*. - 2009. - Vol. 54. - 200 p.
7. Roth S. Genelics primer for exercise science and health / S. Roth. Champaign, IL: Human Kinetics, 2007. - 177 p.
8. Ахметов И. И. Молекулярная генетика спорта: состояние и перспективы // *Электронный журнал Камского гос. ин-та физ. культ «Педагогико-психологические и медико-биологические проблемы физической культуры и спорта»*. ? №5 (4), 2007.
9. Tiainen K. Genetic and environmental effects on isometric muscle strength and leg extensor power followed up for three years among older female twins/ K. Tiainen, S. Sipilä, M. Kauppinen [et al.] // *J. Appl. Physiol*. - 2009. Vol. 106(5). - P 1604-1610.