

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КОМБИНАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *BDKRB2* И *NOS3* У КОНЬКОБЕЖЦЕВ

*Ильютник А.В.*,

Белорусский государственный университет физической культуры,  
НИИ физической культуры и спорта Республики Беларусь

*Синелев В.А.*,

Институт биоорганической химии НАН Беларуси

*Гилеп И.Л.*, канд. хим. наук, доцент,

Белорусский государственный университет физической культуры  
Республика Беларусь

Генетические факторы обуславливают наследственную предрасположенность к развитию физических качеств, определяют индивидуальные особенности процесса адаптации сердечно-сосудистой системы к физическим нагрузкам. Показано, что белки, кодируемые геном ангиотензин-конвертирующего фермента (*ACE*), ангиотензиногеном (*AGT*), геном  $\beta$ 2-рецептора брадикинина (*BDKRB2*), геном эндотелиальной NO-синтазы (*NOS3*) и др. оказывают влияние на работу сердечно-сосудистой системы, а также ассоциированы с физической работоспособностью человека [1–3]. При этом проявление физических качеств человека происходит в результате взаимодействия многих полиморфных генов, каждый из которых вносит различный вклад в этот процесс. Поэтому при изучении генотипических данных спортсменов необходимо анализировать не отдельно взятые полиморфизмы генов, а использовать комплексный метод, основанный на исследовании нескольких генотипов и групп аллелей, которые определяют развитие и проявление тех или иных физических качеств [4].

Ген *BDKRB2* (локализация: 14q32) кодирует  $\beta$ 2-рецептор брадикинина – полипептида из группы кининов. Брадикинин снижает сосудистый тонус (стимулирует образование эндотелиальными клетками монооксида азота (NO), что приводит к вазодилатации, снижению АД и улучшению кровоснабжения мышечной ткани) [5]. В первом экзоне гена *BDKRB2* обнаружен инсерционно-делеционный полиморфизм (вставка или выпадение 9 нуклеотидов; +9/-9), который является функциональным. С отсутствием вставки (-9) связывают высокую экспрессию гена, а значит, более выраженный сосудорасширяющий эффект [3]. Соответственно, выделяют три полиморфных варианта гена *BDKRB2*: гомозиготные -9/-9 и +9/+9, а также гетерозиготный +9/-9.

Ген эндотелиальной NO-синтазы (*NOS3*) кодирует гемсодержащий фермент NO-синтазу, которая катализирует синтез молекул монооксида азота (NO) из L-аргинина в эндотелии сосудов [6]. Монооксид азота (NO) – один из наиболее важных биологических медиаторов, вовлечённых во множество физиологических процессов. В сосудистой системе NO играет важную роль, вызывая вазодилатацию, регулируя кровоток и системное артериальное давление, и обеспечивая тромборезистентность и артериопротективную функцию эндотелия. NO также принимает участие в ряде патологических процессов: в развитии гипертонии, атеросклероза, гипертрофии левого желудочка и др. [3, 6]. Пониженная активность NO-синтазы ведет к недостаточному кровоснабжению скелетной мускулатуры при физических нагрузках.

Один из полиморфизмов гена *NOS3* (локализация: 7q36) является полиморфизм переменного числа tandemных повторов в 4-м интроне: *b/a* полиморфизм, аллель *b* – 5 повторяющихся фрагментов 27 п.н., аллель *a* – только 4 повторяющихся фрагмента 27 п.н. [3]. Соответственно, выделяют три полиморфных варианта гена *NOS3*: *bb* – гомозиготный по нормальному гену, *ab* – гетерозиготный и *aa* – гомозиготный по мутантному гену.

**Цель** исследования заключалась в изучении распределения комбинаций полиморфных вариантов генов *BDKRB2* и *NOS3* у конькобежцев в зависимости от квалификации и специализации.

**Материалы и методы исследования.** В исследовании были использованы образцы геномной ДНК спортсменов национальной команды Республики Беларусь и спортивного резерва, специализирующихся в скоростном беге на коньках. В тестировании принимали участие спортсмены мужчины и женщины в возрасте от 13 до 33 лет, МСМК 5 человек, МС – 31, КМС – 35, I–III разряд – 33, I–III юношеский разряд – 30. Контрольную группу составили 136 человек, не занимающиеся профессиональным спортом. Определение полиморфизмов генов осуществлялось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в лаборатории молекулярной диагностики ИБОХ НАН Беларуси.

Достоверность различий распределения генотипов и аллелей в сравниваемых группах определяли с помощью критерия  $\chi^2$  с учетом поправки Йетса. Для выявления статистически значимых различий в частоте встречаемости генотипов в исследуемых группах использовали многомерный критерий углового преобразования Фишера ( $\phi$ ). Статистически значимыми считали различия при величине  $P < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** На основании анализа результатов ПЦР были определены полиморфные варианты исследуемых генов у конькобежцев и в контрольной группе. Ранее нами были показаны различия в частоте встречаемости генотипов *BDKRB2* и *NOS3* у конькобежцев по сравнению с контрольной группой [7]. Так, было установлено, что частота генотипа -9/-9 повышена у конькобежцев в целом (25,6 %) и у высококвалифицированных конькобежцев (41,4 %) по сравнению с контрольной группой (12,8 %). Генотипы *aa* гена *NOS3* у конькобежцев не встречались, а в контрольной группе отмечены в 6,1 % случаев [7].

Для изучения взаимосвязи полиморфизма генов *BDKRB2* и *NOS3* с физической работоспособностью была рассчитана частота комбинаций генотипов данных генов в группах конькобежцев различной квалификации и специализации. Полученные данные представлены в таблице 1. У конькобежцев не встречались носители *NOS3 aa* генотипа, при этом в контрольной группе такие генотипы отмечены: 1 человек имеет комбинацию генотипов *+9/+9-aa* (0,7%), 5 человек – комбинацию *+9/-9-aa* (3,7%), что достоверно выше по сравнению с общей выборкой конькобежцев ( $\phi_{эмт} = 3,17$ ,  $P < 0,01$ ) (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение частот комбинаций генотипов генов *BDKRB2* и *NOS3* в контрольной группе и в группах конькобежцев различной квалификации и различной специализации, %

Генотипы	Контрольная группа	Конькобежцы (все)	Группы конькобежцев различной квалификации				Группы высококвалифицированных конькобежцев различной специализации		
			МС и МСМК	КМС	I–III разряды	юношеские разряды	спринтеры	многоборцы	стайеры
			n=136	n=134	n=36	n=35	n=33	n=30	n=24
<i>+9/+9-aa</i>	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>+9/+9-ab</i>	11,0	14,2	5,5	5,7	21,2	26,7	4,2	10,3	0,0
<i>+9/+9-bb</i>	21,3	21,6	8,3	31,4	21,2	26,7	<b>29,2</b>	<b>20,7</b>	<b>5,6</b>
<i>+9/-9-aa</i>	3,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>+9/-9-ab</i>	13,2	10,4	16,7	5,7	12,1	6,6	8,3	17,3	5,6
<i>+9/-9-bb</i>	31,6	29,1	27,8	31,4	27,3	30	25,0	37,9	22,2
<i>-9/-9-aa</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>-9/-9-ab</i>	3,7	7,5	11,1	2,9	6,1	10,0	8,3	3,4	11,1
<i>-9/-9-bb</i>	14,7	17,2	<b>30,6</b>	<b>22,9</b>	<b>12,1</b>	<b>0,0</b>	25,0	10,3	55,5

Примечание: жирным шрифтом выделена линейная корреляционная зависимость частоты встречаемости комбинаций генотипов от уровня квалификации или специализации конькобежцев.

Достоверность различий в распределении комбинаций генотипов между выборками оценивалась по критерию  $\chi^2$ , вычисленные значения которого приведены в таблице 2. Согласно полученным результатам, распределение комбинаций генотипов *BDKRB2* и *NOS3* в группе конькобежцев, имеющих разряды не ниже мастера спорта, достоверно отличалось от распределения данных комбинаций генотипов в группе конькобежцев-разрядников (I–III взрослые и юношеские разряды) ( $p=0,025$ ) и в группе спортсменов с юношескими разрядами ( $p=0,017$ ) (таблица 2). Следовательно, достижение высоких спортивных результатов в конькобежном спорте предполагает наличие определенных комбинаций генотипов *BDKRB2* и *NOS3*: вероятно, это комбинации *-9/-9-bb* и *+9/-9-bb* отмеченные у МС и МСМК с наибольшей частотой.

Таблица 2 – Критерий  $\chi^2$  при сравнении исследуемых выборок

Сравниваемые группы	$\chi^2$	p
Контроль – все конькобежцы	9,03	0,34
Контроль – конькобежцы МС и МСМК	12,38	0,13
Конькобежцы МС и МСМК – конькобежцы I–III и юношеских разрядов	<b>17,55*</b>	<b>0,025</b>
Конькобежцы МС и МСМК – конькобежцы юношеских разрядов	<b>18,68*</b>	<b>0,017</b>
Конькобежцы КМС – конькобежцы юношеских разрядов	12,97	0,11
Контроль – конькобежцы юношеских разрядов	13,33	0,10
Высококвалифицированные конькобежцы-стайеры – контроль	<b>21,58*</b>	<b>0,006</b>
Высококвалифицированные конькобежцы-стайеры – все конькобежцы	<b>16,32*</b>	<b>0,038</b>
Высококвалифицированные конькобежцы-стайеры – высококвалифицированные конькобежцы-многоборцы	14,85	0,062
Высококвалифицированные конькобежцы-стайеры – конькобежцы I–III и юношеских разрядов	<b>26,89*</b>	<b>0,0007</b>
Высококвалифицированные конькобежцы-стайеры – конькобежцы юношеских разрядов	<b>24,43*</b>	<b>0,002</b>

\* – статистически значимые различия между другими группами (по критерию  $\chi^2$ ,  $p < 0,05$ )

Распределение комбинаций генотипов *BDKRB2* и *NOS3* в контрольной группе и в группе высококвалифицированных конькобежцев-стайеров достоверно отличалось ( $p=0,006$ ). Также достоверно отличалось распределение данных комбинаций генотипов между группой высококвалифицированных конькобежцев-стайеров и всей выборкой конькобежцев ( $p=0,038$ ) и группой разрядников ( $p=0,0007$ ) (таблица 2). Таким образом, можно предположить, что успешность выступлений на длинных конькобежных дистанциях ассоциирована с наличием наиболее благоприятной для стайеров комбинации генотипов *BDKRB2* и *NOS3* – *-9/-9-bb*, которая отмечена в группе высококвалифицированных стайеров в 55,5% случаев. Эта величина достоверно выше по сравнению с долей генотипов *-9/-9-bb* в контрольной группе – 14,7 % ( $\varphi_{эмт} = 3,57, p < 0,01$ ), в общей выборке конькобежцев – 17,2 % ( $\varphi_{эмт} = 3,30, p < 0,01$ ), в группе спортсменов I–III разрядов – 12,1 % ( $\varphi_{эмт} = 3,31, p < 0,01$ ), в группе конькобежцев юношеских разрядов – 0,0 % ( $\varphi_{эмт} = 5,64, p < 0,01$ ), в группе высококвалифицированных спринтеров – 25,0 % ( $\varphi_{эмт} = 2,04, p < 0,05$ ) и в группе высококвалифицированных многоборцев – 10,3 % ( $\varphi_{эмт} = 3,42, p < 0,01$ ).

С использованием многомерного критерия углового преобразования Фишера ( $\varphi$ ) были определены ещё некоторые статистически достоверные различия между исследуемыми группами:

1) частота генотипов *+9/+9-ab* достоверно ниже у МС (5,5 %) по сравнению с группами I–III разрядов (21,2 %) ( $\varphi_{эмт} = 2,0, p < 0,05$ ) и юношеских разрядов (26,7 %) ( $\varphi_{эмт} = 2,46, p < 0,01$ ), а также ниже у КМС (5,7 %) по сравнению с группами I–III разрядов ( $\varphi_{эмт} = 1,96, p < 0,05$ ) и юношеских разрядов ( $\varphi_{эмт} = 2,42, p < 0,01$ );

2) частота генотипов *+9/+9-bb* достоверно ниже у МС (8,3%) по сравнению с контрольной группой (21,3 %) ( $\varphi_{эмт} = 2,05, p < 0,05$ ), с общей группой конькобежцев (21,6 %) ( $\varphi_{эмт} = 2,03, p < 0,05$ ), с группой КМС (31,4 %) ( $\varphi_{эмт} = 2,55, p < 0,01$ ), с группой спортсменов юношеских разрядов (26,7 %) ( $\varphi_{эмт} = 2,02, p < 0,05$ );

3) частота генотипов *-9/-9-bb* достоверно выше у МС (30,6 %) по сравнению с контролем (14,7 %) ( $\varphi_{эмт} = 2,05, p < 0,05$ ), с общей группой конькобежцев (17,2 %) ( $\varphi_{эмт} = 1,69, p < 0,05$ ), с группой спортсменов I–III разрядов (12,1 %) ( $\varphi_{эмт} = 1,91, p < 0,01$ ), с группой спортсменов юношеских разрядов (0,0 %) ( $\varphi_{эмт} = 4,74, p < 0,01$ );

4) частота генотипов *+9/+9-ab* достоверно ниже у стайеров (0,0 %) по сравнению с многоборцами (10,3 %) ( $\varphi_{эмт} = 2,18, p < 0,05$ );

5) частота *+9/+9-bb* достоверно ниже у стайеров (5,6 %) по сравнению с контрольной группой (21,3 %) ( $\varphi_{эмт} = 2,6, p < 0,01$ ), с общей группой конькобежцев (21,6 %) ( $\varphi_{эмт} = 1,96, p < 0,05$ ), с группой спринтеров (29,2 %) ( $\varphi_{эмт} = 2,13, p < 0,05$ ).

Была обнаружена линейная корреляционная зависимость частоты встречаемости генотипической комбинации *-9/-9-bb* от уровня квалификации конькобежцев ( $r=0,995, p < 0,01$  для линейной зависимости). При оценке распределения частоты встречаемости комбинации *-9/-9-bb* в зависимости от спортивной квалификации было обнаружено, что она увеличивается с ростом квалификации: юношеские разряды – 0,0 %, I–III разряды – 12,1 %, КМС – 22,9 %, МС и МСМК – 30,6 %. Обнаружена также линейная корреляционная зависимость частоты встречаемости комбинации генотипов *+9/+9-bb* от специализации конькобежцев ( $r=-0,987, p < 0,05$  для линейной зависимости): спринтеры – 29,2 %, многоборцы – 20,7 %, стайеры – 5,6 %.

#### **Выводы:**

Согласно результатам комплексного анализа полиморфизма генов *BDKRB2* и *NOS3* у конькобежцев с ростом спортивного мастерства увеличивается доля комбинации генотипов *-9/-9-bb* ( $p < 0,01$ ) и уменьшается доля комбинаций *+9/+9-ab* и *+9/+9-bb* ( $p < 0,05$ ). У высококвалифицированных конькобежцев-стайеров отмечена более высокая частота генотипов *-9/-9-bb* и *-9/-9-ab*, а также более низкая частота комбинаций *+9/+9-ab*, *+9/+9-bb*, *+9/-9-ab* и *+9/-9-bb* по сравнению с группами спринтеров и многоборцев. Таким образом, наиболее благоприятными комбинациями генотипов *BDKRB2* и *NOS3* для конькобежцев, специализирующихся на дистанциях 5000 и 10000 метров, являются *-9/-9-bb* и *-9/-9-ab*, для спринтеров (500–1000 метров) и многоборцев – комбинации *+9/+9-bb* и *+9/-9-bb*.

Отсутствие *+9/+9-aa*, *+9/-9-aa* и *-9/-9-aa* генотипов в выборке конькобежцев и низкая частота генотипов *+9/+9-ab* у высококвалифицированных спортсменов указывает на то, что данные комбинации нежелательны для конькобежцев, так как могут быть ассоциированы с низкой физической работоспособностью и риском развития заболеваний сердечно-сосудистой системы при напряженных тренировочных и соревновательных нагрузках.

1. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: The 2006-2007 Update. / C. Bouchard [et al.] // Med. Sci. Sports and Exercise. – 2009. – V.41. – P. 35–73.

2. Полиморфизм генов *BDKRB2*, *NOS3*, *AGT*, *ACE* и *AGTR1* и физическая работоспособность человека / В. А. Синелев [и др.] // Доклады Национальной Академии Наук. – 2010. – Т. 54. – № 3. – С. 77–83.

3. Ахметов, И. И. Молекулярная генетика спорта / И. И. Ахметов. – Советский спорт. – 2009. – 268 с.

4. Рогозкин, В. А. Генетическая предрасположенность человека к выполнению физических нагрузок / В. А. Рогозкин // Генетические, психофизические и педагогические технологии подготовки спортсменов: сб. науч. тр. / СПбНИИФК; под ред. В. А. Рогозкина. – СПб., 2006. – С. 21–33.

5. Bradykinin B2BKR receptor polymorphism and left-ventricular growth response / D. Brull [et al.] // Lancet. – 2001. – Vol. 358 – P. 1155–1156.

6. Nitric oxide synthases: biochemical and molecular regulation / Y. Wang [et al.] // Curr Opin Nephrol Hypertens – 1995. – Vol. 4. – P. 12–22.

7. Ильютюк, А. В. Распределение полиморфизма генов, определяющих показатели работы сердечно-сосудистой системы, у конькобежцев / А. В. Ильютюк, В. А. Синелев, И. Л. Гилеп // Вестник Фонда фундаментальных исследований. – 2012. – № 1. – С. 38–44.