

УДК 796.01:577.1+575

**Мелик-Касумов Т. Б.**, канд. биол. наук

**Сосна Л. С., Костина Е. Я., Авласенок И. Ю., Рудниченко Ю. А.**

Институт физиологии НАН Беларусь (Минск)

**Мельнов С. Б.**

БГУФК (Минск)

**Melik-Kasumov T. B.**, PhD

**Sosna L. S., Kostina E. Ya., Avlasionok I. Yu.**

Institute of physiology of NASB (Minsk)

**Melnov S. B.**, Dr. Biol. Sci, professor

BSUPC (Minsk)

## РОЛЬ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ-РЕГУЛЯТОРОВ МЕТАБОЛИЗМА В ФОРМИРОВАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

### THE EFFECT OF SOME METABOLISM REGULATING GENES ON FUNCTIONAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS

**АННОТАЦИЯ:** В исследовании на добровольцах установлены взаимосвязи между генотипами по полиморфным вариантам различных генов, участвующих в регуляции обмена веществ, и функциональными и биохимическими показателями. Установленные связи указывают на актуальность дальнейшего исследования полиморфизмов CYP1A2 (rs762551), PPARA (rs4253778), PPARD (rs2016520), PPARGC1A (rs8192678), ADRB2 (rs1042713), ADRB3 (rs4994), ApoE (rs7412) в контексте разработки подходов персонификации питания.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** полиморфизм генов; нутригенетика; метаболизм

**ABSTRACT:** In a study on volunteers, relationships between genotypes for polymorphic variants of various genes involved in the regulation of metabolism, and functional and biochemical parameters were established. The connections found indicate the relevance of further research on polymorphisms CYP1A2 (rs762551), PPARA (rs4253778), PPARD (rs2016520), PPARGC1A (rs8192678), ADRB2 (rs1042713), ADRB3 (rs4994), ApoE (rs7412) in the context of nutrition personification development.

**KEY WORDS:** genes polymorphisms; nutrigenetics; metabolism

**Введение.** В настоящий момент подавляющее большинство исследований в области спортивной генетики направлено на выявление генетических маркеров, ассоциированных с деятельностью мышечной, сердечно-сосудистой и дыхательной систем организма. Однако очевидно, что соревновательная успешность спортсмена не может зависеть исключительно от их работы. Постоянная физическая активность спортсмена приводит к стабильно высокой интенсивности энергетического и пластического обмена, что требует особого внимания к единственному физиологическому способу пополнения резервов организма – рациональному питанию [3]. К сожалению, в настоящее время индивидуальные схемы питания с обоснованным подбором опти-

малого баланса нутриентов зачастую не применяются, а определяющим критерием при разработке диеты является общая калорийность пищи. Однако такой подход оставляет без должного внимания индивидуальные особенности обмена веществ, в результате чего потенциал спортсмена раскрывается не полностью, а в отдельных случаях возрастает риск развития патологий сердечно-сосудистой, эндокринной и других систем организма спортсмена.

Вместе с тем на сегодняшний день широкое применение находят методы нутригенетики, одно из направлений которой изучает влияние генетической вариабельности на способность человеческого организма усваивать различные компоненты пищи и расходовать энергетические запасы в ответ на физическую нагрузку [2]. Кроме того, предметом исследований нутригенетики является влияние индивидуальных различий генотипа на реакцию организма на тип питания и конкретные диеты. В последние годы активно ведутся исследования, определяющие роль полиморфизмов генов, связанных с регуляцией липидного и углеводного обменов, адипогенезом, терморегуляцией, циркадным ритмом и пищевым поведением в эффективности изменения веса в ответ на разные параметры тренировок и типы диет [3].

Важно помнить, что многие распространенные заболевания, влияющие на спортивное долголетие — ожирение, диабет и сердечно-сосудистая патология — являются полигенными заболеваниями. Одним из способов коррекции этих состояний, согласно последним исследованиям, является диетическое вмешательство, основанное на генетическом анализе. Так, например, показаны широкие возможности применения методов нутригенетики для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний [4]. Распространенным состоянием, которое обычно ассоциируется с атеросклерозом и ишемической болезнью сердца, является гиперлипидемия. Ее лечение включает в себя, в первую очередь, коррекцию рациона питания больного, уровня его физической активности и фармакотерапию. Однако пациенты по-разному реагируют на лечение, что обусловлено особенностями их генетического статуса. Вариации в генах, кодирующих аполипопротеины, некоторые ферменты и гормоны, могут существенно изменять индивидуальную чувствительность к развитию сердечно-сосудистых заболеваний. Некоторые из этих полиморфных вариантов обеспечивают восприимчивость для диетического вмешательства [5]. Ключевыми регуляторами энергетического обмена и метаболизма липидов являются гены семейства ядерных рецепторов, активируемых пролифераторами пероксисом (PPAR) [6]. Исследования показывают связь гена PPARA с регуляцией обмена липидов, глюкозы и поддержания энергетического гомеостаза, влияния на воспалительные процессы в организме путем контроля экспрессии генов, вовлеченных в пероксисомное и митохондриальное окисление, транспорт жирных кислот, синтез липопротеинов, катаболизм триглицеридов и обмен факторов воспаления. Стоит также отметить, что агонист PPARA фенофибрарат применяется для лечения дислипидемий. Немаловажную роль в регуляции углеводного и липидного обмена играют другие гены этого семейства, в частности PPARD и PPARGC1A. Кроме того, большое влияние на интенсивность метаболизма оказывают полиморфные варианты генов  $\beta$ -адренорецепторов 2 и 3 типа, глюкоза-6-фосфотазы (G6PC2) и цитохрома P450 1A2 (CYP1A2). В частности, для последнего показана существенная взаимосвязь между полиморфными вариантами и показателями физической выносливости и работоспособности [7].

В связи с вышесказанным, в настоящем исследовании была поставлена цель изучить комплекс фенотипических и генетических показателей у спортсменов-единоми

борцов и добровольцев контрольной группы, а также проанализировать взаимосвязи между ними.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 59 добровольцев мужского и женского пола в возрасте 17–24 года из числа студентов Белорусского государственного университета физической культуры. Все добровольцы подписали информированное согласие на участие в исследовании.

В качестве антропометрических показателей использовали различные обхватные характеристики, а также показатели биоимпедансометрии (программно-аппаратный комплекс ABC-1 «Медасс»). Биохимические показатели определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Mindray BS-200 (Китай) в свежей сыворотке крови с применением соответствующих диагностических наборов (Диасенс, Беларусь): общий белок, мочевина, креатинин, общий холестерин, триглицериды, липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), глюкоза, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), общая креатинфосфокиназа (КФК). Содержание в сыворотке крови кортизола и тестостерона определяли с помощью иммуноферментного анализа на планшетном фотометре Biotek ELx-808 (США) с применением соответствующих наборов (Хема, Россия).

Для оценки показателей физической работоспособности применяли ступенчато-возрастающий тест на велоэргометре Kettler Ergometer RX1 (Германия). Начальная мощность нагрузки составляла 125 Вт. Длительность каждой ступени – 2 минуты. Каждую ступень нагрузка увеличивалась на 25 Вт, время на отдых между ступенями не отводилось. На протяжении теста добровольцы поддерживали скорость педалирования в пределах 60–65 оборотов в минуту. Тест продолжался до отказа испытуемого продолжать ввиду усталости. По завершение теста определяли максимальную мощность выполненной работы ( $W_{max}$ , Вт). Во время теста на каждой ступени нагрузки регистрировали частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин), а также определяли концентрацию лактата и глюкозы в капиллярной крови на анализаторе глюкозы и лактата EcoTwenty (Германия) после каждой ступени и сразу после окончания работы. Через 3 и 8 минут после завершения теста проводили измерение концентрации лактата в крови для определения скорости восстановления.

В качестве полиморфных маркеров, влияющих на метаболизм, выбраны следующие: G6PC2 (rs560887); CYP1A2 (rs762551); PPARA (rs4253778), PPARD (rs2016520), PPARGC1A (rs8192678); ADRB2 (rs1042713), ADRB3 (rs4994); ApoA5 (rs662799), ApoE (rs429358 и rs7412). ДНК для определения генотипа экстрагировали из цельной крови фенол-хлороформным методом. Подбор праймеров (Артбиотик, Беларусь) осуществляли с помощью базы Primer-Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). Для ПЦР в реальном времени проводили на термоциклиере QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System с использованием Precision melt PCR supermix (ThermoFisher Scientific, США). Генотипирование осуществляли с помощью HRM-анализа. Нормализацию и кластеризацию полученных данных при HRM-анализе проводили при помощи программы PyHRM.

Для межгрупповых сравнений количественных признаков использовали Н-критерий Краскела-Уоллиса с последующим применением апостериорного критерия Данна. Критический уровень значимости ( $p$ ) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

**Результаты.** Для полиморфизма PPARA (rs4253778) среди 66 проанализированных показателей обнаружена достоверная разница в толщине кожно-жировой складки на груди между двумя генотипами: в среднем добровольцы с генотипом CG имели в 3,77 раза большую величину показателя, чем в случае генотипа GG. Медианные значения отличались в два раза.

Для генотипов по полиморфизму PPARGC1A (rs8192678) обнаружены несколько отличий в группе проанализированных показателей. Прежде всего, стоит упомянуть о показателе максимальной выполненной работы в teste на физическую выносливость. Для генотипа AA этот показатель составил 250 (250; 262) Вт, что достоверно выше показателей для генотипа AG – 200 (190; 238) Вт. Установлено также, что студенты с генотипом GG обладают достоверно более низким показателем фазового угла. Этот расчетный интегральный параметр отражает общее функциональное состояние клеток и тканей, интенсивность обмена веществ и, как следствие, уровень общей работоспособности. У добровольцев с генотипом GG фазовый угол был на 14 % ниже показателя для генотипа AG.

Анализ взаимосвязи генотипа по полиморфизму rs2016520 гена PPARD с количественными значениями изученных фенотипических признаков выявил значимые различия в скорости восстановления уровня глюкозы через 3 минуты после завершения теста на ступенчато возрастающую физическую нагрузку. Данный показатель изменялся не одинаково: для генотипа AG он был выше на 26 %, чем для генотипа AA ( $p=0,028$ ). Это отличие объясняется более быстрым восстановлением уровня глюкозы в крови добровольцев с генотипом AG, так как в этом случае показатель через 3 минуты после теста был достоверно выше значений при максимальной нагрузке. Вероятно, более низкая скорость восстановления глюкозы в случае генотипов GG и AA связана с меньшей активностью белка PPAR $\beta/\delta$ , активация которого в норме происходит при действии полиненасыщенных жирных кислот.

Для полиморфизма rs1042713 гена ADRB2 была отмечена зависимость уровня стероидных гормонов в крови от генотипа. Установлено, что в случае генотипа AG медианный уровень тестостерона молодых людей был выше на 32 %. Аналогично, однако менее существенно был выше для этого генотипа и уровень кортизола – на 19 %.

Анализ результатов по полиморфизму rs4994 гена  $\beta 3$ -адренорецептора показал, что для генотипа CT характерна иная картина липидного профиля крови. В частности, установлено, что для данного генотипа характерно более высокое содержание в крови общего холестерина – на 12 % по сравнению с генотипом TT. Кроме того, показано, что медианный уровень триглицеридов в крови добровольцев с генотипом CT выше на 85 %. Генотип CT также был ассоциирован с более низкой частотой сердечных сокращений при максимальной нагрузке на велоэргометре: 177 (173; 178) для TT, 169 (167; 172) для CT.

Анализ результатов по полиморфизму rs429358 APOE показал, что для генотипа CT характерна большая кожно-жировая складка на животе. В медианном значении показатель для генотипа CT был в 1,9 раза больше, чем для генотипа CC.

Для полиморфизма rs762551 гена CYP1A2 были отмечены различия в некоторых антропометрических показателях. Установлено, что генотип AC был ассоциирован с достоверно большей массой тела. Испытуемые с таким генотипом весили в среднем на 14 % больше. Кроме того, у добровольцев с таким генотипом достоверно больше

был охват талии – в среднем на 9 % по сравнению с испытуемыми с другими генотипами. Было установлено, что для генотипа АС характерна большая доля жировой ткани в организме. Этот показатель был на 92 % выше, чем в случае генотипа АА. Аналогично, показатель классификации по проценту жировой ткани, позволяющий наиболее адекватно оценить степень жироотложения с учетом других антропометрических характеристик, для генотипа АС был на 83 % выше. Важно отметить, что, несмотря на значимые различия между группами, сами показатели в среднем находились в нормальном диапазоне.

Анализ результатов по полиморфизмам rs560887 (G6PC2), rs662799 (APOA5) и rs7412 (АроЕ) не выявил значимых зависимостей между генотипом и исследованными показателями

**Заключение.** Результаты исследования позволяют высказать ряд предположений, которые, безусловно, нуждаются в более детальном уточнении после дополнительных исследований в данном направлении. Так, в случае генотипа GG по гену PPARC1A (rs8192678) ввиду относительно низкого уровня основного обмена целесообразным может являться повышение физической активности и калорийности рациона. Людям с генотипами AG и GG по гену PPARD (rs2016520) целесообразно употреблять в пищу больше полиненасыщенных жирных кислот, так как это будет способствовать усилинию активации рецепторов PPAR $\beta/\delta$ . Это поможет ускорить процессы метаболизма глюкозы до показателей, характерных для генотипа АА, для которого характерна, по-видимому, более лиганд-чувствительная форма рецептора. В случае генотипа AG по гену ADRB2 (rs1042713) представляется возможным повышение в рационе доли белков и частично углеводов, а также снижение доли жиров. Такой рацион позволит компенсировать характерный для генотипа в среднем повышенный уровень кортизола. В случае генотипа СТ по гену ADRB3 (rs4994) необходим дополнительный контроль содержания в рационе жиров, в том числе уменьшение их доли, и сохранение высокой физической активности. В случае генотипа АС по гену CYP1A2 (rs762551) и СТ по гену АРОЕ (rs7412) представляется целесообразным более тщательный контроль статуса питания и, в особенности калорийности рациона, так как для таких генотипов отмечены повышенные показатели содержания жировой ткани.

1. Пешкова, Г. П. Гигиеническая оценка фактического питания студентов, занимающихся спортом / Г. П. Пешкова, Р. Е. Калинин, В. Д. Прошляков // Вопросы питания. – 2015. – Том. 84, № S3. – С.54–55.
2. Thomas, D. T. American college of sports medicine joint position statement. nutrition and athletic performance / D. T. Thomas, K. A. Erdman, L. M. Burke // Med Sci Sports Exerc. – 2016. – Vol.48. – P.543–568.
3. Нутригенетический тест в клинической практике: цели и возможности / Е. М. Зеленская [и др.] // Клиническая практика. – 2017. – Том 8, №3. – С. 76–82.
4. Ferguson, L. R. Nutrigenomics and Nutrigenetics in Functional Foods and Personalized Nutrition / L. R. Ferguson. – CRC Press, 2013. – 451 p.
5. Association of apolipoprotein E gene polymorphisms with blood lipids and their interaction with dietary factors / I.M. Shatwan [et al.] // Lipids in Health and Disease. – 2018. – Vol.17. – P. – 98.
6. Impact of PPAR-Alpha Polymorphisms-The Case of Metabolic Disorders and Atherosclerosis / M. Ruscica [et al.] // Int J Mol Sci. – 2019. –Vol.20, No.18. – P. 4378.
7. Caffeine, CYP1A2 genotype, and endurance performance in athletes / N. Guest [et al.] // Med Sci Sports Exerc. – 2018. – Vol.50. – P. 1570–1578.