

УДК 159.9.072.2

**Е.Я. КОСТИНА**

младший научный сотрудник лаборатории  
физиологии питания и спорта<sup>1</sup>

**Л.С. СОСНА**

младший научный сотрудник лаборатории  
физиологии питания и спорта<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГНУ «Институт Физиологии НАН Беларуси»,  
г. Минск, Республика Беларусь

**С.Б. МЕЛЬНОВ**, д-р биол. наук, профессор,  
преподаватель кафедры анатомии<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет физической культуры,  
г. Минск, Республика Беларусь

Статья поступила 9 октября 2018г.

## ПОЛИМОРФИЗМ R577X ГЕНА ACTN3 У БЕЛОРУССКИХ СПОРТСМЕНОВ, СПЕЦИАЛИЗИРУЮЩИХСЯ В ИГРОВЫХ ВИДАХ СПОРТА

***Резюме.** Статья посвящена изучению роли полиморфизма R577X гена ACTN3, кодирующего белок α-актинин-3 в быстросокращающихся мышечных волокнах. Описан вклад данного полиморфного маркера в развитии скоростно-силовых качеств спортсмена. В исследовании приняло участие 219 индивидов, среди которых 109 высококвалифицированных спортсменов игровых видов спорта и 110 лиц, не занимающихся профессиональной спортивной деятельностью. Для проведения молекулярно-генетического анализа использовали метод полимеразной цепной реакции полиморфизмов длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДФ). Выявлены особенности распределения генотипов и аллельных вариантов вышеуказанного генетического полиморфизма среди спортсменов и группы сравнения. На основе проведенного анализа авторами сделано заключение о возможности использования R-аллеля полиморфизма R577X гена ACTN3 в качестве генетического маркера развития силы и скорости.*

***Ключевые слова:** физические качества, генетические маркеры, генотип, аллель, ген α-актинина-3, полиморфизм длин рестрикционных фрагментов, полимеразная цепная реакция.*

**KOSTINA E.YA.**<sup>1</sup>

**SOSNA L.S.**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of physiology NAS of Belarus, Minsk

**MELNOV S.B.** Doctor of Biolog. Sc., Professor<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Belaruian State University of Physical Culture, Minsk

## POLYMORPHISM OF R577X GENE ACTN3 IN BELARUSIAN SPORTSMEN SPECIALIZING IN GAME SPORTS

***Summary.** The article is devoted to the investigation of the role of gene encoding for the alpha-actinin-3 protein in the fast-twitch fibres (type II). The focus is on presenting the association between polymorphism R577X in the ACTN3 and display of muscular strength and power. The functional R-allele of the alpha-actinin-3 gene has been reported to get into elite sprint/power athlete status. The aim of the study is to determine the frequency distribution of ACTN3 genotypes and alleles in playing games. 219 individuals were composed two groups of the study: 109 professional elite athletes of playing sports and 110 individuals of control group. Genotypes were determined using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method. Exceptions of the distribution of genotypes and alleles of the*

*genetic polymorphism have been revealed in elite athletes of playing sports. In conclusion, researchers are able to use this polymorphism as genetic marker of speed and strength qualities.*

**Keywords:** *physical qualities, genetic markers, genotype,  $\alpha$ -Actinin-3 gene, allele, polymorphism of restriction fragments, polymerase chain reaction*

**Введение.** В настоящее время известно, что некоторые физиологические параметры человека генетически детерминированы. Одним из таких параметров является структура мышечных волокон, процентное соотношение которых формируется еще в эмбриональном периоде [1, 5]. Спортсмены, обладающие комплексом генетических полиморфизмов, обуславливающих формирование физических качеств, необходимых для занятий теми или иными видами спорта, имеют преимущества в спортивной подготовке. Можно утверждать, что в ситуативных видах спорта при равных морфометрических, тактико-технических и мотивационных параметрах, преимущества имеет тот спортсмен, который обладает большими скоростно-силовыми качествами, зависящими, в том числе, от структуры мышечного волокна [2].

Современный отбор кандидатов в игровые виды спорта представляет собой комплексный метод, основанный на изучении морфологических, педагогических, психологических характеристик [3]. Однако многочисленные исследования в области спортивной науки демонстрируют необходимость дополнения этого метода анализом генетических параметров, которые позволят выявить перспективность индивида еще на этапе спортивной ориентации [4].

Известно, что каждое мышечное волокно состоит из миофибрилл, которые, в свою очередь, представляют собой комплекс микрофиламентов двух типов актиновых (тонких) и миозиновых (толстых) нитей. Мышечное сокращение обусловлено скольжением нитей относительно друг друга. Структура актиновых филаментов регулируются белками  $\alpha$ -актинидами-2 и -3. Структура белков  $\alpha$ -актинида-2 и  $\alpha$ -актинида-3 кодируются генами *ACTN2* и *ACTN3* [5].

Имеются данные о том, что ген  $\alpha$ -актинида-3 ассоциирован с проявлением физических качеств спортсменов и влияет на нормальное функционирование мышц [6–8]. Он локализован в длинном плече 11 хромосомы в положении 11q13-q14 и состоит из 20 экзонов и 19 интронов.

В результате однонуклеотидной замены цитозина (С-аллель) на тимин (Т-аллель) в

16-ом экзоне происходит превращение кодона, кодирующего аргинин, в стоп-кодон, что служит причиной блокировки синтеза полипептидной цепи белка. Следствием такого преобразования является дефицит  $\alpha$ -актинида-3 в быстросокращающихся мышечных волокнах, что приводит к снижению скоростно-силовых показателей [9]. В литературе генотип СС обозначается как RR, тогда как ТТ генотип – ХХ, а сам полиморфизм имеет название *R577X*. Установлено, что более миллиарда человек по всему миру гомозиготны по Х аллелю и имеют дефицит белка  $\alpha$ -актинида-3 [10].

Согласно данным базы генетических частот популяций человека «*The Allele FREquency Database*», частота аллелей R и X полиморфизма *R577X* гена *ACTN3* в белорусской популяции составляет 53,6% к 46,4% (данные 2018 года) [11]. Однако, согласно этой базе, в исследованиях других европейских стран наиболее встречаемым аллелем является R.

Исследования Seto J.T. с соавт., выявили компенсацию белкового продукта нокаутированного гена *ACTN3* у мышей за счет увеличения выработки  $\alpha$ -актинида-2, что приводит к повышению интенсивности работы волокон медленного типа. Аналогичным образом спортсмены с генотипом ХХ демонстрируют склонность к видам спорта с проявлением выносливости [12].

Ахметов И.И. и соавт. обнаружили статистически значимые различия в распределении генотипов полиморфизма *R577X*, так генотип ХХ встречается значительно реже среди спортсменов, специализирующихся в фигурном катании, по отношению к группе сравнения (2,6 к 14,5;  $p < 0,05$ ) [13].

В исследованиях Pimenta, E.M. и соавт. среди группы бразильских футболистов выявлена связь генотипа RR с более высокими показателями в беге на короткие дистанции и прыжковых тестах по отношению к спортсменам, имеющим генотип RX и ХХ ( $p < 0,05$ ) [14].

Таким образом, изучение структуры генов белорусских спортсменов является актуальным, поскольку результаты подобных исследований позволят сформировать модель для

отбора еще на ранних этапах спортивной ориентации.

Цель исследования – проанализировать распространенность аллелей и генотипов полиморфизма *R577X* гена *ACTN3* среди спортсменов, специализирующихся в игровых видах спорта и группы сравнения.

**Материалы и методы исследования.** В исследовании приняли участие 219 индивидов, среди которых мужчины и женщины в возрасте 19-30 лет. Основную группу исследования составили 109 высококвалифицированных спортсменов (КМС, МС, МСМК), специализирующихся в бадминтоне, настольном и большом теннисе, баскетболе, волейболе, гандболе. Группу сравнения составили 110 человек – мужчины и женщины, не занимающиеся профессиональным спортом. Изучаемые группы сопоставимы по половозрастной структуре. В рамках настоящей работы было разработано информированное согласие, с которым ознакомлены все участники исследования.

Для проведения молекулярно-генетического анализа использовали образцы ДНК, полученные из сухих капель ка-

пиллярной крови, нанесенных на фильтровальную бумагу для сбора образцов Whatman (Великобритания). Полиморфизм *R577X* гена *ACTN3* определяли методом полимеразной цепной реакции полиморфизмов длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). В ходе исследования использовались специально подобранные последовательности праймеров указанные в таблице 1.

Анализ длин рестрикционных продуктов проводился методом электрофоретического разделения в 8%-полиакриламидном геле с последующей окраской бромистым этидием и визуализацией в проходящем ультрафиолетовом свете. В результате амплификации полиморфизма *R577X* гена *ACTN3* образуются 4 фрагмента ДНК различной длины:

а) генотипу RR соответствуют два фрагмента длиной 205 и 85 п.н.;

б) генотипу RX – четыре фрагмента длиной 205, 108, 97 и 85 п.н.;

в) генотипу XX – три фрагмента длиной 108, 97 и 85 п.н.

Интерпретация результатов проводилась в соответствии с рисунком 1.

Таблица 1 – Последовательности праймеров для анализа полиморфизма *R577X* гена *ACTN3*

Название	Последовательность
<i>ACTN3_F</i>	5`-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3`
<i>ACTN3_R</i>	5`-CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3`

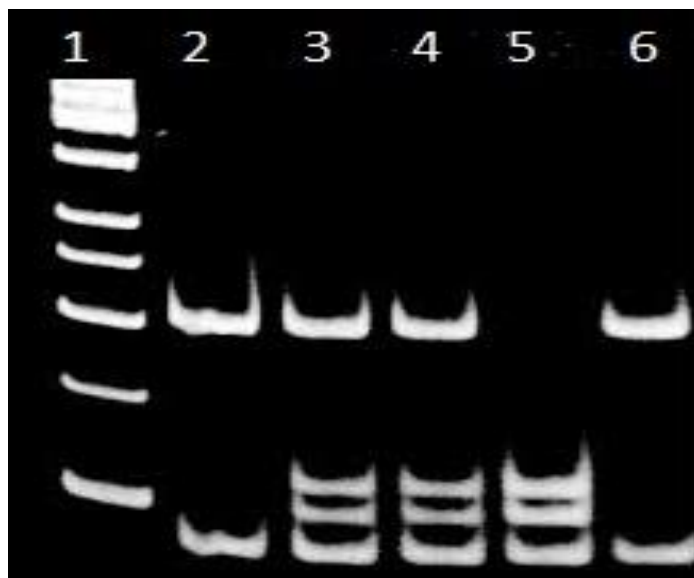


Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов амплификации гена *ACTN3* (1 – ladder; 2,6 – гомозигота RR; 3, 4 – гетерозигота RX; 5 – гомозигота XX)

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью паке-

та программ Statistica 5.0 и MS Excel. Оценку соответствия наблюдаемого распределения

генотипов ожидаемому, исходя из равновесия Харди-Вайнберга, осуществляли с помощью критерия  $\chi^2$ . Значимость различий в частотах встречаемости качественных признаков между сравниваемыми выборками устанавливали с помощью критерия  $\chi^2$  и точного критерия Фишера  $\phi$ . Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Для всех индивидов основной группы и группы сравнения было проведено генотипирование по полиморфизму *R577X* гена *ACTN3*. Распределение частот генотипов в выборках соответствует закону равновесия Харди-Вайнберга. Результаты генотипирования представлены в таблице 2.

Согласно данным литературы, полиморфизм гена *ACTN3* ассоциирован с успешной спортивной деятельностью и проявлением скоростно-силовых качеств [6, 8, 9, 10, 12]. Чаще всего с проявлением высоких скоростно-силовыми показателей связывают аллель *R* гена *ACTN3*. В то же время, наличие мутации в кодирующей последовательности может стать причиной снижения уровня развития скорости и силы индивида [9]. Полученные результаты распределения генотипов не подтверждаются данными, опубликованными в базе «*The Allele FREquency Database*» относительно белорусской популяции, что может быть связано с малочисленностью исследуемых групп в предыдущих работах [11].

В настоящем исследовании нами не было выявлено статистически значимых различий

в распределении генотипов полиморфизма *R577X* гена *ACTN3* среди спортсменов, специализирующихся в игровых видах спорта, и группой сравнения ( $p > 0,05$ ). Выявлено, что гомозигота *XX* среди спортсменов и группы сравнения встречается с частотой 11,0% и 19,1% соответственно. В то же время, относительно гомозиготы *RR* и гетерозиготы *RX*, кодирующих нормальную последовательность белка, этот показатель равен 42,2% и 46,8% для основной группы и 30,9% и 50% для группы сравнения, соответственно. Несмотря на то, что нами не было выявлено статистически значимых различий в распределении генотипов между исследуемыми группами, в целом, наблюдаемая тенденция в преобладании генотипов *RR* и *RX* совпадает с результатами других популяционных исследований.

В распределении аллелей полиморфизма *R577X* гена *ACTN3* нами были выявлены статистически значимые различия ( $\chi^2 = 4,31$ ,  $p < 0,05$ ). Результаты анализа представлены в таблице 3.

Спортивным играм присущи кратковременные скоростно-силовые высокоинтенсивные нагрузки с развитием общей выносливости. Поэтому для достижения высоких результатов предпочтительно преобладание в скелетной мускулатуре быстрых мышечных волокон, обеспечивающих мощные кратковременные сокращения.

Таблица 2 – Распределение частот генотипов полиморфизма *R577X* гена *ACTN3*

Ген, полиморфизм	Генотип	Частота генотипов, %		$\phi$	P
		Основная группа N=109	Группа сравнения N=110		
<i>R577X</i> гена <i>ACTN3</i>	<i>RR</i>	42,2	30,9	4,363	0,115
	<i>RX</i>	46,8	50,0		
	<i>XX</i>	11,0	19,1		

Таблица 3 – Распределение частот аллелей полиморфизма *R577X* гена *ACTN3*

Ген, полиморфизм	Аллель	Частота аллелей, %		$\chi^2$	P	OR	
		Основная группа N=109	Группа сравнения N=110			значение	95%
<i>R577X</i> гена <i>ACTN3</i>	<i>R</i>	65,6	55,9	4,31	0,04	<b>1,50</b>	<b>1,02-2,21</b>
	<i>X</i>	34,4	44,1			0,67	0,45-0,98

Показано, что частота встречаемости «нормального» аллеля (R-аллель) среди спортсменов игровых видов спорта выше по отношению к группе сравнения (65,6% к 55,9%, соответственно). Наличие этого аллеля ассоциировано с синтезом  $\alpha$ -актинина-3 и проявлением скоростно-силовых качеств.

**Заключение.** Выявлены статистически значимые различия в распределении аллелей полиморфизма R577X гена ACTN3 среди спортсменов и группы сравнения ( $\chi^2=4,31$ ,  $p<0,05$ ). Частота встречаемости R-аллеля в группе спортсменов в 1,5 раза выше по отношению к контролю. Таким образом, можно предположить, что аллель R вносит явный вклад в развитие скоростно-силовых качеств спортсменов, однако изучение ассоциации фенотипических признаков и данного генетического полиморфизма требует дальнейшего изучения.

#### Список литературы

1. Губа, В.П. Морфобиомеханические исследования в спорте / В.П. Губа. – М.: Спорт Академ Пресс, 2000. – 119 с.].
2. Macarthur, D.G. ACTN3: A genetic influence on muscle function and athletic performance / D.G Macarthur, K.N. North // Exerc. Sports Sci Rev. – 2007. – № 35(1). – P. 30–34.
3. Гробовикова, И.Ю. Морфогенетические маркеры предрасположенности к спортивным единоборствам (дзюдо, самбо, вольная и греко-римская борьба): автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.03.02 / И.Ю. Гробовикова ; Бел. гос. унив. физ. Культ.. – Минск, 2018. – 30 с.
4. Ahmetov, I.I., Sports genomics: current state of knowledge and future directions / I.I. Ahmetov, O.N. Fedotovskaya // Cellular and Molecular Exercise Physiology. – 2012. – V.1(1). – P. 1–25.
5. Платонов, В.Н. Система подготовки спортсменов в олимпийском спорте. Общая теория и ее практические приложения / В.Н. Платонов – Киев : Олимпийская литература, 2004. – 808 с.
6. Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians / A.M. Druzhevskaya [et al.] // Europ J Appl Physiol. – 2008. – 103(6) – P. 631–634.
7. Determinants and upper-limit heritabilities of skeletal muscle mass and strength / W. Huygens [et al.] // Canadian J Applied Physiol. – 2004. – 29(2). –P. 186–200.
8. Association between sport performance and alphaactinin-3 gene 577X polymorphism / B. Yamak [et al.]// Intern J Hum Genet. – 2015. –15(1). – P. 13–19.
9. Actn3 genotype is associated with human elite athletic performance / N. Yang [et al.] // Am. J. Hum. Genet. – 2003. – Vol. 73. – P. 627–631.
10. Genes for elite power and sprint performance: Actn3 leads the way / N. Eynon [et al.] // Sports Med. – 2013. – Vol. 43. – P. 803–817.
11. ALFRED: allele frequency database [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://alfred.med.yale.edu/alfred/recordinfo.asp?UNID=SI273821>. – Дата доступа : 05.12.2018.].
12. Actn3 genotype influences muscle performance through the regulation of calcineurin signaling / J.T. Seto [et al.] // J. Clin. Investig. – 2013. –Vol. 123. – P. 4255–4263.
13. The dependence of preferred competitive racing distance on muscle fibre type composition and actn3 genotype in speed skaters / Ahmetov [et al.] // Exp. Physiol. – 2011. – Vol. 96. – P. 1302–1310.
14. The actn3 genotype in soccer players in response to acute eccentric training / E.M. Pimenta [et al.] // Eur. J. Appl. Physiol. – 2012. – Vol. 112. – P. 1495–1503.

Received 9 October 2018