УДК 612.11:796

КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ ПРИ РАЗНОМ УРОВНЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ CMA1 И ACE

Даутова А.З.[1], Хажиева Е.А.[1], Шамратова В.Г.[1]

[1]*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Уфа, e-mail: dautova.az@mail.ru*

Изучено влияние уровня двигательной активности на состояние кислородтранспортной функции крови у носителей I/D аллельных вариантов гена ангиотензин-превращающего фермента и A(–1903)G гена химазы сердца. Установлено, что адаптация кислородтранспортной функции крови к физическим нагрузкам достигается у юношей с разными генотипами гена CMA1 за счет стимуляции эритропоэтической функции, направленной на увеличение численности клеток красной крови. Генотипы гена ACE ассоциируются с показателями гемоглобинового профиля: при интенсивной ДА у носителей аллеля *D возрастает степень оксигенации гемоглобина, у лиц с генотипом I/I увеличивается доля плодного гемоглобина, обладающего повышенным сродством к кислороду. При наличии D/D генотипа гена ACE и A/A генотипа гена CMA1 по мере роста двигательной активности наблюдается уменьшение размеров эритроцитов, что способствует лучшей циркуляции крови и может расцениваться как адаптация организма к высокой мышечной активности в условиях повышенного сосудистого тонуса. Таким образом, увеличение суммарной дыхательной поверхности крови у лиц с генотипом A/A гена CMA1, необходимое для адекватного нагрузкам обеспечения деятельности мышц кислородом, сочетается с оптимизацией реологических свойств крови.

Ключевые слова: двигательная активность, кислородтранспортная функция крови, ген ангиотензин-превращающего фермента, ген химазы сердца.

OXYGEN TRANSPORT FUNCTION OF BLOOD AT A DIFFERENT LEVEL OF PHYSICAL ACTIVITY DEPENDING ON POLYMORPHISMS OF CMA1 AND ACE GENES

Dautova A.Z.[1], Khazhieva E.A.[1], Shamratova V.G.[1]

[1]*Bashkir State University, Ufa, e-mail: dautova.az@mail.ru*

The influence of the level of physical activity on the state of the oxygen transport function of blood in carriers of I/D allelic variants of the gene of the angiotensin converting enzyme and A(-1903)G of the heart chimpase gene was studied. It has been established that the adaptation of the oxygen transport function of blood to physical loads is achieved in young men with different genotypes of the CMA1 gene by stimulating the erythropoietic function aimed at increasing the number of red blood cells. Genotypes of the ACE gene are associated with hemoglobin profile: in cases of intense physical activity, the degree of oxygenation of hemoglobin increases in carriers of the *D allele, and the proportion of fetal hemoglobin with increased affinity to oxygen increases in persons with genotype I/I. In the presence of the D/D genotype of the ACE gene and the A/A genotype of the CMA1 gene, as the physical activity increases, a decrease in the size of red blood cells is observed, which promotes better blood circulation and can be regarded as adaptation of the organism to high motor activity in conditions of increased vascular tone. Thus, an increase in the total respiratory surface of the blood in individuals with the A/A genotype of the CMA1 gene, necessary for adequate muscular support, is combined with optimization of the rheological properties of the blood.

Keywords: physical activity, oxygen transport function of blood, angiotensin-converting enzyme gene, chymase gene of the heart.

Регуляция кислородтранспортной функции (КТФ) крови при возрастании уровня двигательной активности (ДА) обеспечивается механизмами разного уровня: от количественной и качественной перестройки эритрона до изменения сродства к кислороду и гетерогенной структуры гемоглобина (Hb) [1]. Индивидуальные особенности организма длительно выполнять физические нагрузки, в свою очередь, во многом определяются генетическими факторами, обусловливающими фенотипические проявления адаптационных

изменений [2-4].

Особый интерес представляют гены, белковые продукты которых могут прямо или косвенно участвовать в проявлении физических качеств. К их числу относят гены, отвечающие за работу сердечно-сосудистой системы, сокращение мышц, определяющие эффективность использования углеводных и липидных ресурсов и т.д. [5; 6]. Данными маркерами могут служить полиморфизмы генов ангиотензин-превращающего фермента (ACE) и химазы сердца (CMA1).

ACE является важным гуморальным регулятором артериального давления за счет синтеза ангиотензина 2 - активного сосудосуживающего вещества [7]. Наиболее значимым в отношении влияния на физические качества считается инсерционно-делеционный полиморфизм (I/D) гена ACE. У носителей *D аллеля отмечена высокая экспрессия гена [3; 6; 7].

Ген CMA1 кодирует фермент химазу, ответственный за альтернативный путь биосинтеза ангиотензина 2. Химаза обладает даже большей ферментативной активностью, чем ACE. В 5’-нетранслируемой области гена CMA1 обнаружена точечная замена остатка A на G в положении –1903. У представителей аллеля *A CMA1 наблюдается повышенный синтез фермента [8].

На сегодняшний день известны факты о связи полиморфизмов генов с физической работоспособностью и выносливостью, тогда как ассоциация полиморфизмов генов ACE и CMA1 с показателями кислородтранспортной системы крови в зависимости от уровня физической активности остается малоизученной. В связи с этим **целью данного исследования** явилось исследование влияния I/D аллельных вариантов гена ACE и A(–1903)G гена CMA1 на показатели красной крови и гемоглобинового профиля в зависимости от уровня ДА.

Материалы и методы

В исследовании приняло участие 245 юношей - студентов в возрасте 21±2 года, клинически здоровых по результатам ежегодного диспансерного осмотра, давших письменное согласие на участие в эксперименте. Контингент обследуемых по уровню ДА, в соответствии с рекомендациями ВОЗ [9], был разбит на три группы. Группу с низкой ДА (НДА) составили студенты (151 чел.), которые, согласно данным анкет, проявляли физическую активность менее 150 минут в неделю; с умеренной ДА (УДА) – 44 юноши, занимающиеся аэробикой, плаванием или быстрой ходьбой средней интенсивности 150–300 минут в неделю. Группу с высокой ДА представляли студенты факультета физической культуры, имеющие на момент обследования первый взрослый спортивный разряд по легкой атлетике (50 чел.), в данной группе тренировки проходили 4 раза в неделю по 2 часа, это 480

минут в неделю.

Материалом для генетического исследования послужила венозная кровь, взятая из локтевой вены индивида. Выделение ДНК осуществляли из лейкоцитов периферической крови с использованием стандартной фенол-хлороформной методики. Определение полиморфизмов I/D гена ACE и A(-1903) G гена CMA1 осуществлялось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для определения нуклеотидной замены в гене CMA1 использовали метод ПДРФ-анализа, ПЦР–продукты расщепляли рестриктазой BstXI. Генетический анализ проводили на кафедре генетики БГПУ им. Акмуллы.

Измерения содержания эритроцитов (RBC), гемоглобина (Hb), среднего объема эритроцита (MCV), средней концентрации гемоглобина в клетке (MCHC), гематокрита (Ht) проводились с помощью автоматического гематологического анализатора ADVIA 60 производства BAYER (Германия). В капиллярной крови на аппарате RAPIDLAB865 фирмы BAYER (Германия) анализировали показатели гемоглобинового профиля крови (оксигенированного Hb – HbO_2, фетального Hb – FetHb).

Статистический анализ производили с помощью программ Microsoft Office Excel и Statistics 10.0, значимость различий между показателями в сравниваемых группах определяли с помощью t-критерия Стьюдента и двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA. Различия считались статистически значимыми при $p<0.05$.

Результаты и обсуждения

По результатам исследования для носителей разных вариантов гена CMA1 установлены общие закономерности варьирования показателей красной крови при возрастании интенсивности физических нагрузок. Они выражаются в более высоком уровне суммарных показателей у спортсменов по сравнению с физически малоактивными юношами: общего количества эритроцитов (RBC) (достоверно при генотипах A/A и A/G) и гематокрита (достоверно при G/G генотипе) на фоне снижения объема отдельных эритроцитов (MCV) (достоверно при A/A генотипе), содержания (MCH) и концентрации (MCHC) гемоглобина в клетках (достоверно при A/A и G/G генотипах). Отмеченные тенденции в наибольшей степени проявляются у обладателей генотипов A/A, G/G и в меньшей - при гетерозиготном генотипе.

Сравнение средних значений при одинаковом уровне ДА в зависимости от генотипов полиморфизма A(1903)G гена CMA1 продемонстрировало наличие различий только в группе НДА по показателю MCV. У юношей с G/G вариантом размеры эритроцитов были меньше, чем при A/A генотипе ($p<0,05$) (табл. 1).

Что касается показателей фракционного состава гемоглобина, то здесь существенных различий у носителей разных генотипов гена CMA1 при разном уровне ДА не обнаружено.

Таблица 1

Количественные и морфофункциональные параметры красной крови и фракций гемоглобина у юношей с разным уровнем ДА в зависимости от генотипов гена CMA1 (M±m)

	НДА			УДА			ВДА		
	A/A	A/G	G/G	A/A	A/G	G/G	A/A	A/G	G/G
	n(46)	n (82)	n(23)	n(10)	n(30)	n(4)	n(26)	n(4)	n(20)
	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5	Группа 6	Группа 7	Группа 8	Группа 9
HGB, г/л	152 (3,1)	146 (1,6)	143 (4,3)	149 (4,1)	142 (4,3)	145 (3,3)	144 (3,7)	150 (3,2)	142 (2,1)
RBC, 10^{12}	4,9 (0,1)[7]	4,8 (0,09)[8]	4,6 (0,2)	4,8 (0,2)	4,8 (0,14)	5,22 (0,2)	5,2 (0,1)[1]	5,31 (0,2)[2]	4,9 (0,05)
HTC,%	43 (0,8)[3]	41 (0,7)	39 (1,3)[1,9]	41,0 (1,6)	41,7 (1,1)	41,4 (1,3)	43,3 (0,9)	45,2 (1,4)	42 (0,4)[3]
MCV,fl	86,8 (0,8)[7]	86,1 (0,6)	86,1 (1,1)	84,4 (0,3)	86,6 (0,62)	79,4 (1,0)	82 (1,5)[1]	85,3 (1,2)	85,2 (0,7)
MCH, Pg	30,6 (0,7)[7]	30,3 (0,7)	31,1 (0,9)[9]	30,7 (1,5)	29,4 (0,54)	27,7 (0,8)	27,5 (0,6)[1]	28,2 (0,5)	28,8 (0,4)[3]
MCHC, g/l	352,9 (6,8)[7]	353 (8,2)	361 (9,1)[9]	364 (17,6)	340 (5,3)	350 (5,3)	332 (3,2)[1]	331 (4,2)	338 (2,6)[3]
HbO_2,%	93,0 (0,1)	92,9 (0,5)	93,5 (0,3)	93,1 (0,6)	94,4 (0,9)	93,7 (0,4)	93,6 (0,9)	95,3 (1,2)	94 (0,7)
FetHb, %	3,4 (1,0)	3,7 (0,3)	3,9 (0,6)	3,2 (0,6)	2,9 (1,2)	3,7 (0,3)	2,9 (0,5)	3,1 (1,0)	4,1 (0,8)

Обозначения: группа 1 – носители генотипа A/A с НДА; группа 2 – носители генотипа A/G с НДА; группа 3 – носители генотипа G/G с НДА; группа 4 – носители генотипа A/A с УДА; группа 5 – носители генотипа A/G с УДА; группа 6 – носители генотипа G/G с УДА; 7 – носители генотипа A/Ac ВДА; 8 – носители генотипа A/G с ВДА; 9 – носители генотипа G/G с ВДА. Индексы 1, 2, 3, 4, 5, 6 означают достоверные отличия от соответствующих групп при $p < 0,05$.

При сравнении среднегрупповых значений показателей в группах с разным уровнем ДА в зависимости от генотипов гена ACE выявлена противоположная картина. У обладателей I/D аллельных вариантов гена ACE базовые показатели красной крови варьируют в зависимости от интенсивности физических нагрузок незначительно, тогда как гемоглобиновый профиль – статистически значимо. Возрастание физической активности сопровождается снижением среднего объема эритроцитов у носителей D/D генотипа. Кроме того, в этой группе размеры эритроцитов оказались ниже, чем у юношей с генотипами I/D и I/I (табл. 2).

Таблица 2

Количественные и морфофункциональные параметры красной крови и фракции гемоглобина у юношей с разным уровнем ДА в зависимости от генотипов гена ACE (M±m)

	НДА			УДА			ВДА		
	D/D	I/D	I/I	D/D	I/D	I/I	D/D	I/D	I/I
	Гр. 1 n(64)	Гр.2 n(62)	Гр.3 n(25)	Гр. 4 n(15)	Гр. 5 n(23)	Гр.6 n(6)	Гр. 7 n(22)	Гр.8 n(12)	Гр.9 n(15)

Hb g/l	138 (3,4)	140,8 (2,9)	133 (5,2)	147 (3,6)	147 (1,9)	146 (3,1)	140 (7,2)	149,4 (2,6)	151 (7,6)
Ht, %	41 (1,3)	41,8 (0,9)	39 (1,6)	42 (1,0)	43 (0,7)	42 (0,8)	42,0 (2,1)	44,5 (0,7)	45 (2,0)
MCV, fl	87 (0,9)[7]	87,8 (0,4)	86 (0,8)	84 (1,1)	86 (1,2)	87 (1,3)	82 (1,0)[1,9]	85,8 (1,4)	88 (0,3)[7]
MCHC, g/l	33 (0,2)	33,7 (0,1)	33 (0,2)	34 (0,2)	34 (0,2)	34 (0,2)	33 (0,2)	33,5 (0,2)	33 (0,3)
$HbO_{2,\%}$	94 (0,4)[2]	92,9 (0,3)[1,8]	93 (0,6)	93 (0,7)[7]	92 (0,7)[8]	92 (1,1)	95 (0,5)[4]	96(0,3)[2,5,9]	92 (1,9)[8]
FetHb, %	3 (0,2)[2]	4(0,3)[1,3,5,8]	3,0 (0,5)[2]	3,3 (0,4)	2 (0,4)[2,8]	3,7 (0,7)	2,7 (0,5)	1,7(0,1)[2,5,9]	4,4 (1,0)[8]

Обозначения: группа 1 – юноши с генотипом D/D с НДА; 2 – генотип I/D с НДА; 3 – генотип I/I с НДА; 4 - юноши с генотипом D/D с УДА; 5 – генотип I/D с УДА; 6 - генотип I/I с УДА; 7 - юноши с генотипом D/D с ВДА; 8 – генотип I/D с ВДА; 9 –генотип I/I с ВДА. Индексы 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 означают достоверные отличия от соответствующих групп при $p \leq 0,05$.

В то же время как варианты генотипов полиморфизма I/D гена ACE, так и ДА существенно влияют на содержание фракций гемоглобина. Уровень оксигенации гемоглобина (HbO_2) у спортсменов, имеющих в своем генотипе аллель *D, достоверно выше по сравнению с аналогичными генотипами в группах с более низкой ДА. У юношей с генотипом I/I содержание HbO_2 по мере роста физической активности существенно не меняется. Более того, его доля у спортсменов ниже, чем у носителей аллеля *D. Уровень плодного гемоглобина также зависит от интенсивности ДА и полиморфизма гена ACE. Так, у носителей I/D генотипа при НДА содержание FetHb достоверно выше, чем при других генотипах в данной группе ($p<0,05$). Однако по мере роста физической активности у юношей с гетерозиготным вариантом гена ACE доля FetHb достоверно снижается, при ВДА наблюдался самый низкий уровень показателя. У спортсменов с генотипом I/I по мере роста ДА уровень FetHb повышается (достоверно по отношению к I/D генотипу) ($p<0,05$).

Поскольку FetHb обеспечивает длительную и стабильную адаптацию к кислородному дисбалансу [10], более высокий уровень FetHb у юношей с генотипом I/I при высоких физических нагрузках может рассматриваться как результат адаптации организма к возросшим потребностям клеток к кислороду. Согласно многочисленным исследованиям [2; 5; 6], генотип I/I гена ACE ассоциируется с преимущественно аэробным метаболизмом, что способствует носителям данного генотипа более длительно выполнять физические нагрузки.

Представленные результаты подтверждают данные дисперсионного анализа. На базовые показатели красной крови оказывает влияние только интенсивность ДА (RBC: $p=0,018$; Hb: $p=0,02$), тогда как на гемоглобиновый профиль достоверно влияет также и ген ACE (HbO_2: $p=0,04$; FetHb: $p=0,04$), совместно с ДА на FetHb и MCV ($p=0,001$ и $p=0,04$ соответственно) (рис. 1 и 2).

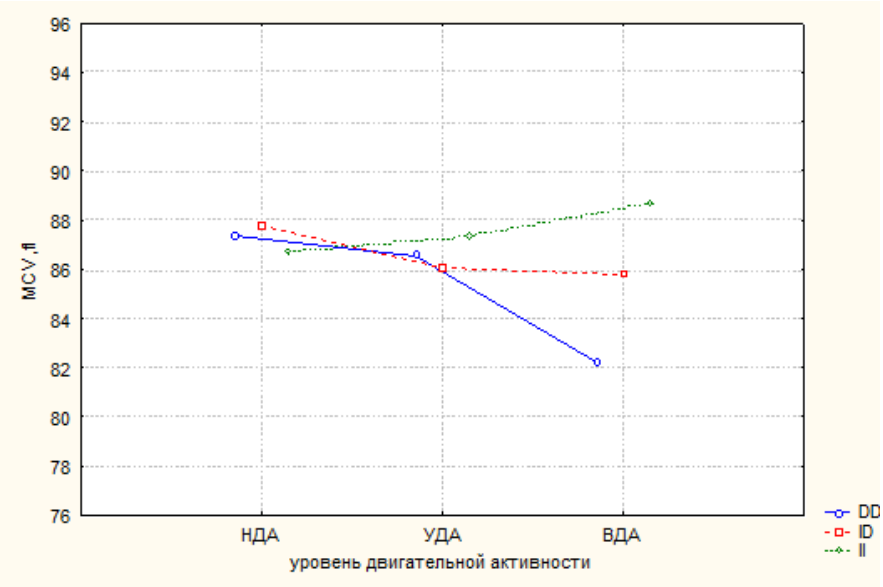

Рис. 1. Совместное влияние факторов ДА и полиморфизма I/D гена ACE на MCV, по данным дисперсионного анализа

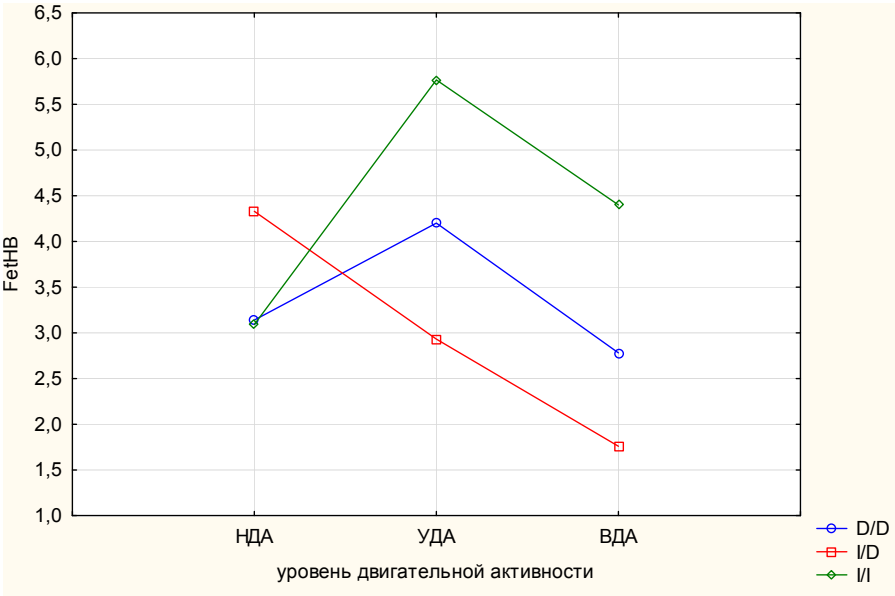

Рис. 2. Совместное влияние факторов ДА и полиморфизма I/D гена ACE на FetHb, по данным дисперсионного анализа

Заключение

Проведенное исследование показало, что адаптация КТФ крови к возрастанию двигательной активности реализуется через разные звенья в зависимости от полиморфизмов генов ACE и CMA1. Так, у юношей с разными генотипами гена CMA1 под влиянием интенсивных физических нагрузок активируется эритропоэтическая функция, направленная на увеличение численности клеток красной крови. В то же время участие гена ACE в адаптации организма к физической деятельности выражается у носителей аллеля *D в возрастании оксигенации гемоглобина, а генотипа I/I – увеличении доли плодного

гемоглобина, обладающего повышенным сродством к кислороду.

Вместе с тем у спортсменов - носителей генотипа A/A гена CMA1 и D/D гена ACE обнаружено выраженное снижение размеров эритроцитов. Этот факт можно рассматривать как компенсаторную реакцию на повышение у обладателей данных генотипов сосудистого тонуса, ассоциированного с более высокой интенсивностью синтеза ангиотензина 2. Известно, что уменьшение размеров эритроцитов способствует улучшению реологических свойств крови в микроциркуляторном русле и у спортсменов расценивается как результат адаптации к систематическому выполнению физических нагрузок [11]. Можно предположить, что увеличение суммарной дыхательной поверхности крови у лиц с генотипом A/A гена CMA1, необходимое для адекватного нагрузкам обеспечения деятельности мышц, сочетается с оптимизацией реологических свойств крови.

Полученные данные свидетельствуют о том, что интенсификация двигательной активности обеспечивается при разных генотипах полиморфизмов генов CMA1 и ACE включением различных адаптационных механизмов функционирования КТФ крови. Этот факт говорит о необходимости учитывать индивидуальные особенности адаптации системы крови юношей при занятиях физической культурой, а также индивидуализации тренировочного процесса в зависимости от наследственного фактора.

Список литературы

1. Шамратова В.Г. Фетальный гемоглобин – маркер кислородного дефицита клеток при гиподинамии / В.Г. Шамратова, Е.Е. Исаева, С.Р. Усманова // Вестник Башкирского университета. – 2015. – Т. 20. - № 1. – С. 101-104.
2. Ahmetov I.I. Genes and Athletic Performance: An Update / I.I. Ahmetov, E.S. Egorova, L.J. Gabdrakhmanova, O.N. Fedotovskaya // Genetics and Sports. – 2016. – V. 61. – P. 41-54.
3. Bray M.S. Bouchard The Human Gene Map for Performance and Health-Related Fitness Phenotype: The 2006-2007 Update / M.S. Bray, J.M. Hagberg, L. Perusse et al. // Med. Sci. Sports. Exerc. – 2009. – V. 41. – P. 35-73.
4. Puthucheary Z. Genetic influences in sport and physical performance / Z. Puthucheary, J.R. Skipworth, J. Rawal [et at.] // Sports medicine. – 2011. – Vol. 41, № 10. – P. 845–859.
5. Рогозкин В.А. Генетические маркеры физической работоспособности человека / В.А. Рогозкин, И.Б. Назаров, В.И. Казаков // Теория и практика физической культуры. – 2000. – № 12. – С. 34-36.
6. Roth S.M. Critical overview of applications of genetic testing in sport talent identification // Recent patents on DNA and gene sequences. – 2012. – Vol. 6, № 3. – P. 247–25.

7. Puthucheary Z. The ACE gene and human performance: 12 years on / Z. Puthucheary, J.R Skipworth, J. Rawal [et al.] // Sports medicine. – 2011. – Vol. 41, № 6. – P. 433–448.
8. Orenes-Piñero E. Impact of polymorphisms in the rennin angiotensin-aldosterone system on hypertrophic cardiomyopathy / E. Orenes-Piñero, D. Hernández-Romero, E. Jover [et al.] // J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst. – 2011. – Vol. 12, № 4. – P. 521–530.
9. Глобальные рекомендации по физической активности для здоровья. Всемирная организация здравоохранения, 2010 г. – URL: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789244599976_rus.pdf (дата обращения 20.02.2018).
10. Taher A.T. Optimal management of beta thalassemia intermedia / A.T. Taher, K.M. Musallam, M.D. Cappellini, D.J. Weatheral // Br. J. Haematol. – 2011. – V. 23. – P. 152-512.
11. Boyadeyiev N. Red blood cell variables in highly trained pubescent athletes: a comparative analysis / N. Boyadeyiev, Z. Taralov // Br. J. Sports Med. – 2000. – Vol. 34. – P. 200.