

"МБУ «СШОР «АКАДЕМИЯ СПОРТА»"

ДОКЛАД

Тема:

«Использование биодиагностических методов исследования в определении предрасположенности к занятиям различными видами спорта»

Инструктор-методист

Давыдова Л.Н.

Г.Воскресенск
2021г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БИОДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЗАНЯТИЯМ РАЗЛИЧНЫМИ ВИДАМИ СПОРТА	5
1.1. Общие сведения о генетических маркерах предрасположенности к занятиям спортом	5
1.2. Определение предрасположенности к занятиям видами спорта на выносливость с использованием биодиагностических методов	9
1.3. Определение предрасположенности к занятиям скоростно-силовыми и силовыми видами спорта с использованием биодиагностических методов	11
1.4. Определение предрасположенности к занятиям ациклическими видами спорта (спортивные игры, единоборства) с использованием молекулярно-генетических методов	13
2. МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ БИОДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЗАНЯТИЯМ РАЗЛИЧНЫМИ ВИДАМИ СПОРТА	16
2.1. Методы забора биологического материала у спортсменов и выделения из него ДНК	16
2.2. Методы анализа полиморфизмов генов, ассоциированных с предрасположенностью к занятиям спортом	17
2.3. Интерпретация данных биодиагностических методов	19
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	25
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	26

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. В настоящее время спортивная наука сделала шаг вперед. Во многих трудах утверждается, что успех спортивной деятельности спортсмена на 60% зависит от генетической предрасположенности к выбранному виду спорта.

Стоит отметить, что педагогико-психологические, физиологические и антропометрические методы оценки спортивной одаренности не позволяют выявить наследственную предрасположенность к определенному виду спорта на ранних стадиях жизни человека. С совершенствованием биодиагностических методов появилась возможность определения спортивных задатков с использованием генетических маркеров уже при рождении человека. Последние результаты исследования показывают, что индивидуальные различия в степени развития тех или иных физических и психических качеств человека во многом зависят от ДНК-полиморфизмами, которых насчитывается не менее 50 миллионов. В наши дни известно около 50 генетических маркеров (ДНК- полиморфизмов), которые тесно связаны с предрасположенностью к занятиям различными видами спорта. В связи с этим, внедрение биодиагностических методов в практику спортивной науки может внести большой вклад в прогностические возможности спортивного отбора и профессиональной ориентации в системе детско-юношеского спорта.

Объект исследования – биодиагностические методы исследования в определении предрасположенности к занятиям различными видами спорта.

Предмет исследования – использование биодиагностических методов исследования в определении предрасположенности к занятиям различными видами спорта.

Цель исследования – изучить особенности применения биодиагностических методов исследования для определения предрасположенности к какому-либо виду спорта.

Задачи исследования:

1) рассмотреть теоретические особенности биодиагностических методов исследования в определении предрасположенности к занятиям различными видами спорта;

2) изучить методику проведения биодиагностических методов исследования в определении предрасположенности к занятиям различными видами спорта;

3) проанализировать возможности интерпретации полученных данных.

1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БИОДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЗАНЯТИЯМ РАЗЛИЧНЫМИ ВИДАМИ СПОРТА

1.1. Общие сведения о генетических маркерах предрасположенности к занятиям спортом

К современным технологиям спортивного отбора следует отнести применение биодиагностических методов, которые позволяют увидеть наследственные характеристики, оказывающие влияние на предрасположенность к занятиям конкретным видом спорта.

Таблица 1 - Особенности биодиагностики

Уровень организации признака	Определяемый параметр	Методы анализа
Полиморфизм и мутации ДНК человека (геном)	Генотип	Полимеразная цепная реакция (ПЦР), ПЦР в реальном времени, секвенирование ДНК, таргетные панели, микрочипы
Метагеном (набор генов всех микроорганизмов, находящихся в окружающей человека среде)	Качественный и количественный состав микробного сообщества, ассоциированного с хозяином	ПЦР в реальном времени, секвенирование гена 16S рРНК сообщества, секвенирование сообщества методом shotgun
Эпигенетические изменения (эпигеном)	Эпигенетический профиль (степень метилирования, ацетилирования, фосфорилирования)	Бисульфитное секвенирование, ПЦР в реальном времени с последующим масс-спектрометрическим анализом, микрочипы, иммуноферментный анализ
Теломеры (концевые участки хромосом)	Длина теломер	ПЦР в реальном времени, флуоресцентная гибридизация in situ (Q-FISH), проточная цитометрия (flow-FISH)
Экспрессия генов (транскриптом)	Количество мРНК определенного гена	RNA-Seq, CAGE, SAGE, ПЦР в реальном времени, экспрессионные микрочипы
Регуляция экспрессии генов	Расположение регуляторных элементов	DNase-Seq, FAIRE-Seq, ChIP-Seq

Белковый профиль (про- теом)	Количественный и качественный состав пептидов и белков	Масс-спектрометрия, высоко-эффективная жидкостная хроматография, двумерный гель-электрофорез, белковые микрочипы
Метаболом	Количественный и качественный состав низко-молекулярных соединений	Масс-спектрометрия, ядерный магнитный резонанс

Маркером называют легко определяемый, более или менее устойчивый признак организма, который обуславливает вероятность проявления другой, трудно определяемой характеристики организма [4].

Различают фенотипические и генетические маркеры.

Таблица 2 – Примеры некоторых фенотипических и генотипических маркеров

Фенотипические маркеры	Генетические маркеры
<i>Ядерный уровень:</i> метилированные участки ДНК, уровень экспрессии гена, и др. <i>Клеточный уровень:</i> концентрация белка/фермента в клетке, количество митохондрий и др. <i>Тканевой уровень:</i> серологические (эритроцитарные ABO, MN, Rh и сывороточные (Hr, Hb, Cc, Ee) системы крови), иммунологические, биохимические, гормональные, гистоморфометрические (состав мышечных волокон, степень капилляризации мышечного волокна, площадь поперечного сечения мышечных волокон), дерматоглифические, иридологические маркеры и др. <i>Органный уровень:</i> масса миокарда левого желудочка, ЖЕЛ и др. <i>Системный уровень:</i> тип темперамента, соматотип, функциональные, психологические маркеры и др.	<i>Молекулярно-генетические маркеры:</i> аллели, генотипы (комбинации гомологичных аллелей), комбинации негомологичных аллелей, гаплотипы (комбинации аллелей генов на одной хромосоме), комбинации генотипов, гаплогруппы (группы схожих гаплотипов, которые являются рядом аллелей в определенных локусах Y- хромосомы и митохондриальной ДНК). <i>Цитогенетические маркеры:</i> половой хроматин (инактивированная X- хромосома в конденсированной форме; служит для опознания женского пола), теломеры, ломкая X- хромосома, трисомии, моносомии и др.

К фенотипическим маркерам относят все маркеры, располагающиеся по уровню выше (таблица 2), чем вариации ДНК (молекулярно-генетические маркеры) и более крупные цитогенетические маркеры. В догеномный период использование фенотипических маркеров тканевого, органного и системного уровней имеет широкое распространение спортивной деятельности [6].

В настоящее время известно не менее 20 генетических маркеров, ассоциированных с психофизиологическими особенностями спортсменов. В основном в этот список входят гены, кодирующие биохимические нейромедиаторы (до- фаминэргическая система – рецепторы дофамина DRD1, DRD2, DRD3, DRD4, DRD5, COMT; серотонинэргическая система – серотониновые пресинаптические и постсинаптических рецепторы 5HT1A и 5HT2A, MAOA, BDNF, 5HTTLPR, TPH1; норадреналиновая система – SLC6A2; стимулирующие и тормозящие медиаторы – CHRNA3, ADORA2A, EAAT, GABRG2) и некоторые гормоны. От активности этих генов зависят такие спортивно значимые признаки, как эмоциональное проявление, когнитивные способности, скорость ответной реакции, скорость психического утомления спортсмена при физических нагрузках, а также развитие перетренированности [9].

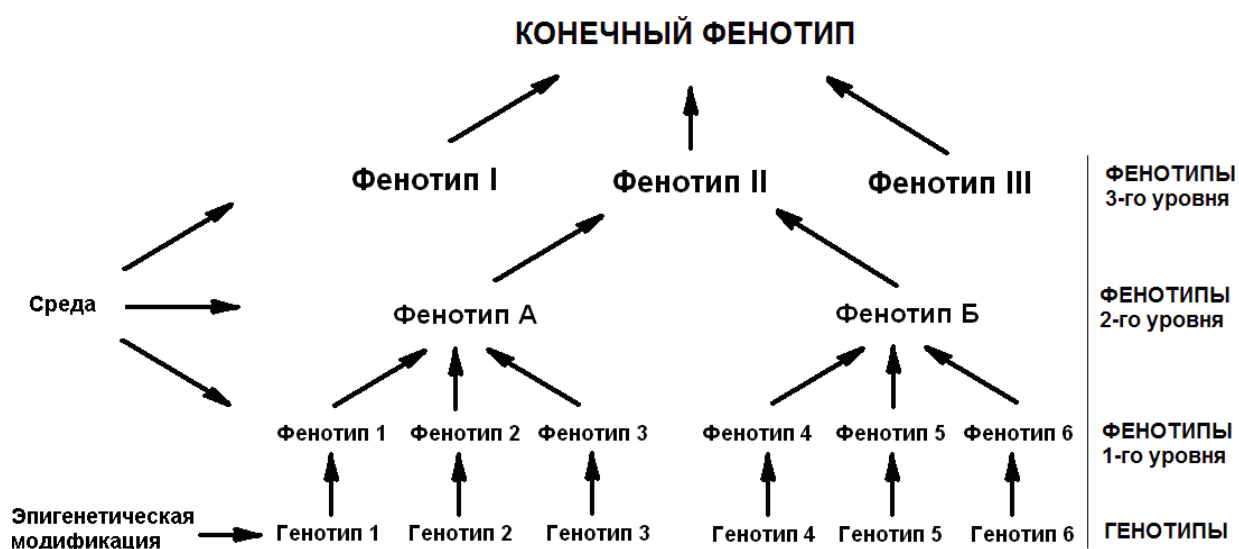


Рисунок 1 - Схема формирования конечного фенотипа из множества генотипов на фоне эпигенетических модификаций и средовых воздействий.

В молекулярной генетике спорта под термином «генетический маркер» понимается определенный аллель гена (либо генотип, различные комбинации аллелей и генотипов), который связан с предрасположенностью к занятиям каким-либо видом спорта (или группам видов спорта), развитием и проявлением какого-либо физического качества (двигательной способности), а также с биохимическими, антропометрическими, композиционными, физиологическими, психологическими и другими показателями [9].

В последнее время исследования идут медленными шагами к изучению генетических маркеров, определяющих успешность в конкретных видах спортивной деятельности. Данный аспект связан с тремя основными причинами. Рассмотрим их поподробнее.

Во-первых, один ДНК- полиморфизм вносит лишь небольшой вклад в общее развитие какого-либо признака. Определение этого вклада является сложным процессом, требующим больших затрат. Например, для проведения исследования необходима большая группа выборки, что несет за собой большое количество времени, сил и ресурсов.

Во-вторых, не все лаборатории изучают спортивную генетику, так как финансовые затраты на данные исследования слишком велики. Отсутствие большого количества инвесторов в данной сфере сказывается на ее медленном развитии. Их вложения чаще всего направлены в научные исследования, которые принесут точные результаты, и не требуют большого количества времени. Также, важной составляющей в изучении генов является не спортивная, а здоровьесберегающая направленность. Ученые исследуют влияние спортивных нагрузок на здоровье человека, а не здоровье человека как характеристика, определяющая вид спортивной деятельности.

В-третьих, количество публикаций в области биодиагностики могут не совпадать с количеством реальных исследований, так как данные, полученные в ходе изучения спортсменов, могут быть конфиденциальными и нести угрозу национальным интересам ряда государств.

Следовательно, исследования в области биодиагностики спортивных предрасположенностей является перспективным направлением. Это значимая область в спортивной индустрии, которая поможет педагогам, тренерскому составу подбирать спортсменов с наилучшим набором генов для достижения успеха в конкретном виде спорта.

Отличительная особенность генетических маркеров, которые не изменяются при жизни, – это их возможное обнаружение на ранних этапах жизни (для его поиска необходимо сделать соскоб эпителиальных клеток со щеки), а значит, прогноз развития показателей, значимых в условиях спортивной деятельности, можно составить очень рано. С другой стороны, генетические маркеры, которые тесно связаны со спортом и его различными видами, нередко являются показателями предрасположенности к различным распространенным заболеваниям (явление плеiotропии), что ставит перед исследователем при генетическом тестировании ряд вопросов этического характера.

1.2. Определение предрасположенности к занятиям видами спорта на выносливость с использованием биодиагностических методов

В научной литературе описано как минимум 36 генетических маркеров, ассоциированных с развитием и проявлением выносливости (таблица 3). Эти маркеры локализованы в 23 генах, мтДНК и Y-хромосоме, и были обнаружены в результате исследований по типу «случай – контроль» («спортсмены – контрольная группа»). Чем большим числом данных аллелей выносливости владеет индивид, тем больше вероятность достижения им успехов в видах спорта на выносливость [2].

Таблица 3 - Генетические маркеры, ассоциированные с предрасположенностью к занятиям видами спорта, направленными на развитие выносливости.

Ген	Локализация	Полиморфизм	Маркер выносливости
-----	-------------	-------------	---------------------

<i>ACE</i>	17q23.3	Alu I/D	I
<i>ADRA2A</i>	10q24-q26	6.7/6.3 kb	6.7-kb
<i>ADRB2</i>	5q31-q32	Gly16Arg (rs1042713 G/A)	16Arg
<i>AMPD1</i>	1p13	Gln12Ter (rs17602729 C/T)	Gln12
<i>BDKRB2</i>	14q32.1-q32.2	+9/-9	-9
<i>EPAS1 (HIF2A)</i>	2p21-p16	rs1867785 A/G rs11689011 C/T	rs1867785 G rs11689011 T
<i>EPOR</i>	19p13.3-p13.2	(GGAA) _n повторы	185-bp
<i>GNB3</i>	12p13	C825T (Ser275Ser rs5443)	825T
<i>HFE</i>	6p21.3	His63Asp (rs1799945 C/G)	63Asp
<i>HIF1A</i>	14q21-q24	Pro582Ser (rs11549465 C/T)	Pro582
<i>KCNJ11</i>	11p15.1	Glu23Lys (rs5219 C/T)	Glu23
мтДНК	мтДНК	Митохондриальные гаплогруппы	Благоприятные: H и L0 Неблагоприятные: K, J2, T и L3*
<i>NFATC4</i>	14q11.2	Gly160Ala (rs2229309 G/C)	Gly160
<i>NOS3</i>	7q36	Glu298Asp (rs1799983 G/T)	Glu298
<i>PPARA</i>	22q13.31	rs4253778 G/C	164-bp
<i>PPARD</i>	6p21.2-p21.1	rs2016520 T/C	rs4253778 G
<i>PPARGC1A</i>	4p15.1	Gly482Ser (rs8192678 G/A)	Gly482
<i>PPARGC1B</i>	5q33.1	Ala203Pro (rs7732671 G/C)	203Pro
<i>PPP3R1</i>	2p15	Промотор 5I/5D	5I
<i>TFAM</i>	10q21	Ser12Thr (rs1937 G/C)	12Thr
<i>UCP2</i>	11q13	Ala55Val (rs660339 C/T)	55Val
<i>UCP3</i>	11q13	rs1800849 C/T	rs1800849 T
<i>VEGFA</i>	6p12	rs2010963 G/C	rs2010963 C
<i>VEGFR2 (KDR)</i>	4q11-q12	His472Gln (rs1870377 T/A)	472Gln

Y-хромосома	Y-хромосома	Гаплогруппы Y-хромосомы	Благоприятные: E*, E3* и K*(xP) Неблагоприятные: E3b1
-------------	-------------	-------------------------	--

1.3. Определение предрасположенности к занятиям скоростно-силовыми и силовыми видами спорта с использованием биодиагностических методов

К настоящему моменту описано как минимум 6 полиморфизмов генов, ассоциированных с предрасположенностью к занятиям видами спорта, направленными на развитие быстроты и силы (таблица 3). Чем большим числом данных аллелей быстроты и силы владеет индивид, тем больше вероятность достижения им успехов в скоростно-силовых (короткие дистанции в беге, плавании, конькобежном спорте, гребле; полевые дисциплины в легкой атлетике) и силовых (тяжелая атлетика, силовое троеборье, гиревой спорт) видах спорта [5].

Таблица 4 - Генетические маркеры, ассоциированные с предрасположенностью к занятиям видами спорта, направленными на развитие быстроты и силы.

Ген	Локализация	Полиморфизм	Маркер быстроты/силы
ACE	17q23.3	Alu I/D	D
ACTN3	11q13.1	Arg577Ter (rs1815739 C/T)	R577
AR	Xq11.2-q12	(CAG) _n	L (≥22)
HIF1A	14q21-q24	Pro582Ser (rs11549465 C/T)	582Ser
PPARA	22q13.31	rs4253778 G/C	rs4253778 C
PPARG	3p25	Pro12Ala (rs1801282 C/G)	12Ala

При этом необходимо проводить различные методы биодиагностики.

Таблица 5 - Молекулярные и классические методы исследований, которые могут применяться на различных этапах спортивного отбора и ориентации

Этапы спортивного отбора и ориентации	Задачи спортивного отбора и ориентации	Методы спортивного отбора и ориентации
Первичный	Установление целесообразности спортивного совершенство вания в данном виде спорта	Геномные (анализ маркеров пред- расположенности к спорту и развитию профессиональных патологий), антропометрические, психологические, педагогические
Предварительн ый	Выявлению способности к эффективному спор- тивному совершенство- ванию. Подбор спортивной специализации	Геномные (определение потенциала развития физических качеств; выявление слабых и сильных сторон организма), эпигеномные, психологические, психофизиологические, физиологические, педагогические
Промежуточн ый	Выявление способностей к достижению высоких спортивных результатов, перенесению высоких тренировочных и сорево- новательных нагрузок	Фармакогеномные, нутригеномные, метагеномные, стандартные биохимические методы, анализ циркулирующих в крови ДНК, педагогические, физиологические, психологические, психофизиологические
Основной	Установление способностей к достижению результатов	Транскриптомные, протеомные, метаболомные, стандартные биохи- мические, педагогические, физио- логические, психологические, пси-

	международного класса. Разработка стратегии и тактики тренировочной и соревновательной деятельности	хофизиологические
Заключительный	Выявление способностей к сохранению достигнутых результатов и их повышению. Определение целесообразности продолжения спортивной карьеры	Определение длины теломер и активности теломеразы, транскриптомные, протеомные, метаболомные, стандартные биохимические, педагогические, физиологические, психологические, психофизиологические

1.4. Определение предрасположенности к занятиям ациклическими видами спорта (спортивные игры, единоборства) с использованием молекулярно-генетических методов

В ациклических видах спорта физические характеристики спортсмена будут отличаться от характеристик циклических видов спорта.

Благодаря вышеперечисленным характеристикам можно сказать, что маркерами успешности для видов спорта этой группы могут быть различные совокупности аллелей-антагонистов (например, одновременно наличие маркеров выносливости и быстроты/силы).

Основные маркеры спортивной успешности для всех ациклических видов спорта этой группы: ACTN3 R577, PPARG 12Ala, PPARGC1A Gly482, PPARGC1B 203Pro, TFAM 12Thr, UCP2 55Val, VEGFA rs2010963 C. Идеальные комбинации генотипов: PPARGC1A Gly/Ser (Gly/Gly),

PPARGC1B Ala/Pro (Pro/Pro), TFAM Ser/Thr (Thr/Thr), UCP2 Ala/Val (Val/Val), VEGFA GC (CC).

Для баскетбола характерны следующие маркеры спортивной успешности: HIF1A 582Ser, PPARGC1B 203Pro, TFAM 12Thr). Характерные комбинации генотипов: HIF1A Pro/Ser (Ser/Ser), PPARGC1B Ala/Pro (Pro/Pro), TFAM Ser/Thr (Thr/Thr). Оптимальное число аллелей по этим маркерам (для достижения успеха в этом виде спорта): от 2 до 4. Для высокого результата необходима следующая совокупность генотипов человека (2 аллеля выносливости по 2 значимым полиморфизмам): Ala/Pro(PPARGC1B)–Ser/Thr(TFAM).

Маркеры спортивной успешности, которые характеризуют такой вид спорта, как бокс: PPARGC1A Gly482, UCP2 55Val). Характерные комбинации генотипов: PPARGC1A Gly/Ser (Gly/Gly), UCP2 Ala/Val (Val/Val). Оптимальное число аллелей по этим маркерам (для достижения успеха в этом виде спорта): от 2 до 4. а (4 аллеля выносливости по 2 значимым полиморфизмам): Gly/Gly(PPARGC1A)– Val/Val(UCP2).

Борьба (классическая, вольная, самбо) (маркеры спортивной успешности: HIF1A 582Ser, PPARGC1A Gly482, PPP3R1 5I, TFAM 12Thr, VEGFA rs2010963 C). Характерные комбинации генотипов: HIF1A Pro/Ser (Ser/Ser), PPARGC1A Gly/Ser (Gly/Gly), PPP3R1 5I/5I, TFAM Ser/Thr (Thr/Thr), VEGFA GC (CC). Для высокого результата необходима следующая совокупность генотипов человека (9 аллелей по 5 значимым полиморфизмам): Ser/Ser(HIF1A)–Gly/Gly(PPARGC1A)–5I/5I(PPP3R1)–Ser/Thr(TFAM)–CC (VEGFA).

Маркеры спортивной успешности для такого вида спорта, как теннис, являются следующими: HIF1A 582Ser, NFATC4 Gly160, PPARGC1A Gly482, UCP2 55Val). Характерные комбинации генотипов: NFATC4 Ala/Gly (Gly/Gly), PPARGC1A Gly/Ser (Gly/Gly), UCP2 Ala/Val (Val/Val). Оптимальное число аллелей по этим маркерам (для достижения успеха в

этом виде спорта): от 4 до 8. Для высокого результата необходима следующая совокупность генотипов человека (7 аллелей по 4 значимым полиморфизмам): Ser/Ser(HIF1A)–Gly/Gly(NFATC4)– Gly/Gly(PPARGC1A)– Ala/Val (UCP2).

Маркеры спортивной успешности для футбола: ACTN3 R577, PPARG rs4253778 C, UCP2 55Val). Характерные комбинации генотипов: PPARG GC (CC), UCP2 Ala/Val (Val/Val). Оптимальное число аллелей по этим маркерам (для достижения успеха в этом виде спорта): от 1 до 4. Для высокого результата необходима следующая совокупность генотипов человека (4 аллеля по 2 значимым полиморфизмам): RR(ACTN3)–CC(PPARG)– Val/Val(UCP2).

Хоккей с шайбой имеет следующие маркеры спортивной успешности: UCP3 rs1800849 T, VEGFA rs2010963 C). Характерные комбинации генотипов: UCP3 CT (TT), VEGFA GC (CC). Оптимальное число аллелей по этим маркерам (для достижения успеха в этом виде спорта): от 1 до 4. Для высокого результата необходима следующая совокупность генотипов человека (3 аллеля выносливости по 2 значимым полиморфизмам): CT(UCP3)–CC(VEGFA).

Для достижения результатов в горнолыжном спорте выделяется маркер спортивной успешности: PPARGC1B 203Pro. Характерные генотипы: PPARGC1B Ala/Pro (Pro/Pro) [10].

Таким образом, почти каждый вид спорта различается своими маркерами успешности и набором генов, которые характеризуют достижения высоких результатов.

2. МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ БИОДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЗАНЯТИЯМ РАЗЛИЧНЫМИ ВИДАМИ СПОРТА

2.1. Методы забора биологического материала у спортсменов и выделения из него ДНК

Исходный этап всех молекулярно-генетических методов – это получение образцов ДНК. Источником геномной ДНК могут быть любые ядродержащие клетки. В спортивной практике чаще используют лейкоциты, буккальные клетки (клетки эпителия щеки) и эпителиальные клетки волосяной луковицы (при необходимости длительной транспортировки биоматериала). Возможность проведения молекулярно-генетического анализа с небольшим количеством легкодоступного биологического материала является методическим преимуществом методов данной группы. Выделенная ДНК одинаково пригодна для проведения различных исследований и может долго сохраняться в замороженном виде. В зависимости от того, какие клетки исследователь собирается получить, выделяют следующие способы забора биологического материала: смыв эпителиальных клеток ротовой полости, соскоб эпителиальных клеток ротовой полости, забор венозной крови.

Существует множество методов выделения ДНК из доступного биоматериала (фенольная экстракция, щелочная экстракция, сорбентный способ, экспресс-методы и др.).

Интерес к циркулирующим в крови ДНК возрос после того, как оказалось, что ее количество может существенно возрастать после выполнения физических нагрузок различной интенсивности и длительности. Это придало ясное практическое значение дальнейшему изучению циркулирующих нуклеиновых кислот в спорте. Циркулирующая ДНК может

появляться в кровотоке в результате гибели ядродержащих клеточных элементов, созревания эритроцитов и тромбоцитов, а также активной секреции нуклеиновых кислот во внеклеточное пространство. В состоянии покоя содержание циркулирующей ДНК составляет 1.32–18.01 пкг/мкл (имеются индивидуальные различия), в то время как сразу после физической нагрузки ее уровень достигает 334.4 ± 139.41 пкг/мкл. Предполагается, что появление циркулирующих ДНК в кровотоке в высокой концентрации на фоне напряженных длительных спортивных нагрузок может быть ранним признаком наступления состояния переутомления и перетренированности [2].

2.2. Методы анализа полиморфизмов генов, ассоциированных с предрасположенностью к занятиям спортом

Анализ полиморфизма гена (генетического маркера) может осуществляться с помощью следующих методов:

- а) Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и дальнейший анализ длин рестрикционных фрагментов
- б) ПЦР в реальном времени.

Проведение ПЦР (на примере определения rs4253778 G/C полиморфизма гена PPARG) (по: Ахметов, 2006). G/C полиморфизм гена PPARG (rs4253778) определяют с помощью двухпраймерной системы:

- Прямой праймер (PAF): 5'-ACAATCACTCCTTAAATATGGTGG-3';
- Обратный праймер (PAR): 5'-AAGTAGGGACAGACAGGACCAGTA-3'.

Реакционная смесь для ПЦР может состоять из следующих компонентов (количество отдельных компонентов может варьировать):

- Деионизированная вода - 6,0 мкл
- Буфер 10-кратный - 1,5 мкл

- dNTP (5мМ) - 1,5 мкл
- Праймер PAF - 0,5 мкл (4 пМ)
- Праймер PAR - 0,5 мкл (4 пМ)
- Taq-полимераза - 0,2 мкл (1 ед)

Инкубацию рестрикционной смеси с результатами амплификации (5 мкл) изучают в чистом контейнере в термостате при 65 °С (на ночь). Наличие сайта рестрикции характеризует разделение ампликонов (265 п.н.) на две части длиной 216 и 50 п.н. Изучение длины рестрикционных продуктов организуется при помощи электрофоретического разделения в 8% ПААГ либо в агарозном геле с дальнейшей окраской бромистым этидием и визуализацией в подносимом ультрафиолетовом свете при использовании трансиллюминатора. В качестве маркера молекулярного веса применяются различные коммерческие наборы. Генотипу GG соответствуют нерестрицированные фрагменты длиной 266 п.н., генотипу GC – три фрагмента длиной 266, 216 и 50 п.н., а генотипу CC – два фрагмента длиной 216 и 50 п.н. Результаты электрофореза записывают в специальный журнал в рабочий журнал и фотографируют на камеру [3].

Метод ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ; Real Time PCR) представляет собой проведение полимеразной цепной реакции с регистрацией накопления ДНК в ходе реакции. Данный метод является популярным в научно-исследовательских и диагностических лабораториях. Регистрация накопления продуктов ПЦР в ходе реакции помогает избежать отдельной стадии анализа результатов, исключить контаминацию). Для измерения накопления ДНК используют детектирующие амплификаторы – термоциклеры, которые имеют флуоресцентные датчики, позволяющие детектировать репортерную флуоресценцию в реакционных пробирках. Результатом работы данного изобретения является информация о зависимости степени репортерной флуоресценции от цикла амплификации. В качестве флуоресцентных меток в исследованиях применяются

интеркалирующие флуоресцентные агенты, меченые флуоресцентными агентами праймеры, меченые флуоресцентными агентами олигонуклеотиды и различные комбинации этих методов.

2.3. Интерпретация данных биодиагностических методов

Интерпретация результатов генетического тестирования в спорте – очень важное занятие, которым должен заниматься подготовленный специалист (либо коллектив специалистов), имеющий необходимые знания в сфере молекулярной генетики человека, физиологии и биохимии мышечной деятельности, спортивной медицины и антропологии, и разбирающийся в различных аспектах спортивной педагогики, питания спортсменов и др.

Стоит отметить, что биодиагностика не является ключевым фактором при отборе спортсменов в команду, или определению их к какому-либо виду спорта, к усовершенствованию или изменению процесса тренировок, а также в решении проблем со здоровьем спортсмена, молекулярно-генетическое тестирование не может заменить фенотипическую диагностику, гистологические, физиологические, антропометрические, биомеханические, клинические методы обследования, а также педагогические и психологические тесты. Однако, они способны дополнить результаты вышеперечисленных исследований.

Это связано не только с тем фактом, что на данный момент нет достаточной информации относительно генетических маркерах, которые в полной мере описывают физиологические и генетические процессы человека, но и с тем, что генетическая диагностика не распространяется дальше генотипа. В свою очередь эпигенетическая диагностика (например, выявление метилированных участков генов, ассоциированных с изменением генной экспрессии) может в значительной мере дополнить генетическую и фенотипическую диагностику. Таким образом, интерпретации генетического анализа должны предшествовать фенотипическая диагностика и

анкетирование со сбором полной информации об испытуемом, и, при необходимости, о его родственниках (наличие спортивного разряда и стажа у его родителей, братьев и сестер, сведения о заболеваниях и т.п.) [7].

Стоит отметить, что, несмотря на большие успеху в продвижении биодиагностических методов исследования, нельзя полагаться на результаты в полной мере. Это обусловлено недостаточной изученностью влияния различных генетических наборов человека на конкретные виды спорта. Поэтому исследователь не сможет дать точного ответа относительно успешной составляющей спортсмена, однако сможет указать его сильные стороны в области спорта, опираясь на которые, можно сделать выводы и выбрать конкретный вид спорта.

В соответствии с функциональной значимостью определенных аллелей генов, ассоциированных со спортивной деятельностью, каждому аллелю присваивается условная единица значимости – балл. В зависимости от количества баллов и качественного состава комбинаций генотипов, у испытуемых можно определить 4 типа предрасположенности к развитию и проявлению физических качеств:

- 1) низкая предрасположенность к развитию и проявлению какого-либо физического качества (определяется на основании того, что среди большой выборки высококвалифицированных спортсменов отсутствуют носители такого минимального числа благоприятствующих конкретной деятельности аллелей, либо если у них отсутствуют найденные у испытуемого негативные мутации, влияющие на спортивный результат); означает, что имеется высокая вероятность того, что индивид не сможет преодолеть уровень мастера спорта в определенной группе видов спорта, требующих преимущественное проявление какого-либо физического качества (выносливости, быстроты, силы, ловкости, гибкости); по всей видимости, к этой категории испытуемых будут относиться индивиды с

негативными мутациями, вызывающими интолерантность к физическим нагрузкам.

2) умеренная предрасположенность к развитию и проявлению какого-либо физического качества; означает, что имеется относительная вероятность того, что индивид сможет достичь выдающихся результатов в той группе видов спорта, где требуется проявление определенного физического качества;

3) выраженная предрасположенность к развитию и проявлению какого-либо физического качества; означает, что имеется большая вероятность того, что индивид сможет достичь выдающихся результатов в той группе видов спорта, где требуется проявление определенного физического качества;

4) ярко выраженная предрасположенность к развитию и проявлению какого-либо физического качества; означает, что имеется очень большая вероятность того, что индивид сможет достичь выдающихся результатов в той группе видов спорта, где требуется проявление определенного физического качества [1].

На основании выявления предрасположенности к развитию и проявлению отдельных физических качеств (например, выраженная предрасположенность к развитию и проявлению выносливости + низкая предрасположенность к развитию и проявлению быстроты и силы), для испытуемого подбирается набор групп видов спорта, к которым он предрасположен (с учетом фенотипических данных). В зависимости от приоритета и генетического потенциала индивида, этот набор должен включать в себя группы видов спорта 1-го и 2-го выбора.

Практические приложения знаний о молекулярных механизмах, лежащих в основе индивидуальных различий в развитии и проявлении физических и психических качеств, связаны с тремя аспектами: спортивной

ориентацией и отбором, оптимизацией и коррекцией тренировочного процесса и профилактикой заболеваний у спортсменов.

Трудовая деятельность, сопряженная с повышенными физическими нагрузками (профессиональные занятия спортом, работа шахтером, грузчиком, металлургом и т.д.) нередко приводит к развитию различных патологий. К примеру, чрезмерные пролонгированные физические нагрузки, которым подвергаются спортсмены, могут привести к длительной гиперфункции сердца с дальнейшим развитием выраженной гипертрофии миокарда, которая не только препятствует росту спортивного мастерства, но и становится причиной формирования «бычьего» сердца и возникновения аритмий. В основе этих и других патологий могут лежать полиморфизмы генов, ассоциированных с деятельностью сердечно-сосудистой системы.

Для того, чтобы подкрепить результаты биодиагностических методик исследования, можно сказать о том, что существует частота встречаемости различных аллелей генов, ассоциированных с двигательной деятельностью. Например, на основании анализа G/C полиморфизма 7 интрона гена PPARG; можно отметить людей с присутствием аллелей G (носители генотипов GG и GC) или C (носители генотипов GC и CC). Было изучено, что частота встречаемости PPARG G аллеля достаточно выше среди стайеров по сравнению с контрольной группой, а частота PPARG C аллеля – среди спринтеров и тяжелоатлетов. Подобный антагонизм аллелей, когда первый аллель гена предрасполагает к видам спорта одной метаболической направленности, а второй аллель – к видам спорта другой метаболической направленности, обнаружен также для ACE I/D, HIF1A Pro582Ser и PPARGC1A Gly482Ser полиморфизмов. Благодаря полученным результатам можно предположить, что носительство каких-либо аллелей генов ACE, HIF1A, PPARG и PPARGC1A не ограничивает человека в возможности занятий видами спорта вообще. При наличии таких генов необходимо

ориентироваться на вид двигательной деятельности, которая будет комфортна для ребенка.

Можно отметить, что распределение спортсменов по видам спорта протекает и без биодиагностических исследований. Наверное, сразу после начала занятий видами спорта происходит перераспределение юных спортсменов среди всего контингента занимающихся. Одни продолжают свои занятия тем видом спорта, в который они пришли изначально, так как их генетические особенности предрасполагают к такой двигательной деятельности. Другие же, или вообще бросают спортивную деятельность, или находят (либо им подбирают) тот оптимальный вид спорта, в котором они смогут добиться более высоких результатов. В соответствии с распределением энергии в ходе тренировочного процесса каждого вида спорта, их можно разделить на некоторые группы, где тренировочные упражнения выглядят более схоже. Помимо признаков, характеризующих развитие выносливости, быстроты и силы принимаются во внимание мощность выполняемой на тренировках работы с разделением на умеренную, большую, субмаксимальную, максимальную и переменную. Используя литературные данные о встречаемости аллелей различных генов у спортсменов, занимающихся разными видами спорта, существует возможность подбора оптимальных для конкретной двигательной деятельности сочетаний аллелей и генотипов по многим генам-кандидатам.

Стоит отметить, что есть люди, которые нейтрально реагируют на любые физические упражнения. Их организм не отвечает на потребление кислорода при совершении спортивной нагрузки. Это говорит о том, что каждый организм может индивидуально и по своему реагировать на физические нагрузки, что не доказывает наличие каких-либо генетических особенностей к предрасположенности в спорте. Однако, исследования с целью регламентации тренировочного процесса с учетом индивидуальной генетической предрасположенности дали положительные результаты. Стоит

учитывать, что такие люди могут иметь наличие генотипа, характеризующего присутствие болезни в организме.

Как уже было отмечено выше, отличительной особенностью генетической диагностики от фенотипической является возможность ее применения сразу после рождения ребенка (либо до рождения – в особых случаях), а значит, прогноз развития показателей, значимых в условиях спортивной деятельности, можно составить очень рано. С другой стороны, генетические маркеры, ассоциированные со спортивной деятельностью, нередко являются маркерами предрасположенности к различным распространенным заболеваниям.

Таким образом, можно утверждать, что уже сейчас начинают закладываться основы принципиально новой системы медико-генетического обеспечения физической культуры и спорта, которая позволит поднять его на более высокий уровень, внедрить в практику основы профилактической медицины и генетики, активно помогать в планировании и коррекции тренировочного процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нельзя не отметить тот факт, что генетическая наследственность является важным фактором при выборе спортивной деятельности. В наши дни есть все возможности, для того, чтобы с малых лет провести все необходимые биодиагностические методики и выявить особенности генетического материала, сопоставив его с тем видом спорта, где данный набор генов поможет добиться наивысших результатов.

Еще с начала прошлого столетия ученые, педагоги и тренеры пытались выявить, как генетические особенности человека способны повлиять на успешную составляющую спортивной деятельности. Позднее, в 80-90 гг., учеными были разработаны биодиагностические комплексы, которые выявляли спортивные особенности человека по серологическим, гормональным, морфологическим и функциональным маркерам. Такие исследования, со временем, получили название – биодиагностические методы исследования.

Стоит сказать, что все эти маркеры можно отнести к внешним признакам – фенотипам, в основе которых лежит взаимосвязь множества генотипов с особенностями окружающей среды, а потому не способны изучить предрасположенность к какому-либо спорту в раннем возрасте. Однако, с последующей разработкой методов молекулярной биологии, появилась возможность изучения предрасположенности человека к определенному виду спорта с использованием биодиагностических методов уже при рождении человека.

Использование биодиагностических методов позволяют тренерскому составу, педагогам, а также родителям грамотно подойти к выбору спортивного направления, для того, чтобы достичь в нем высоких результатов и получать удовольствие от занятия спортом.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Ахметов И.И. Молекулярно-генетическая диагностика предрасположенности к занятиям спортом / Текст. // Клинико-лабораторный консилиум. 2015. №2–3.(33–34). С.25–28.
- 2) Генетический полиморфизм спортсменов с разным спортивным стажем / С. В. Боронникова, Ю. С. Васильева, М. Ю. Бурлуцкая, Е. П. Гаврикова / Текст. // Экология человека. 2019. №8. С. 48-56
- 3) Затеева Т.А. Организация системы мониторинга физического развития и физической подготовленности обучающихся в образовательных учреждениях. Методические рекомендации / Т. А. Затеева, Ю. В. Тупицина. - Тамбов: 2016. - 236 с.
- 4) Линде Е.В. «Спортивное сердце» и генетический полиморфизм / Текст. // Физкультура в профилактике, лечении и реабилитации. – 2016. – №4(19). – С.18–25.
- 5) Матвеев Л. П. Общая теория спорта и ее прикладные аспекты. 4-е изд., испр. и. доп. / Л. П. Матвеев. — СПб.: Издательство «Лань», 2005. — 384 с.
- 6) Оценка суммарного вклада аллелей генов в определение предрасположенности к спорту / Под ред. И. И. Ахмедова / Текст. // Теория и практика физической культуры. 2016. №3. С. 61-67
- 7) Рогозкин В.А. Перспективы использования ДНК-технологий в спорте / Текст. // Теория и практика физической культуры. 2014. №7. С.45–47.
- 8) Рогозкин В.А. Расшифровка генома человека и спорт / Текст. //Теория и практика физ. культуры. 2015, № 6, с. 60-63.
- 9) Рогозкин В.А. Спортивная генетика: состояние и перспективы / Текст. // VII Международный научный конгресс "Современный олимпийский спорт и спорт для всех". М., 2013, т. 3, с. 265-269.

10) Рогозкин В.А. Генетические маркеры физической работоспособности человека / Текст. // Теор. и практ. физ. культ., 2015, №12, с. 34-36.