

Ю. Л. Масленникова, П. В. Михайлов

### Сравнительный анализ полиморфизма гена рецептора брадикинина (BDKRB 2) у женщин и мужчин с разным уровнем неспецифической работоспособности

Был проведен сравнительный анализ частот генотипов и аллелей гена рецептора брадикинина BDKRB 2 (BDKRB receptor B2: 9 bp -9/+9 bp exon 1) в мужских и женских подгруппах с различными проявлениями неспецифической работоспособности. Обнаружена зависимость между величиной энергопотенциала и частотой встречаемости полиморфных вариантов гена BDKRB 2 и гендерные особенности в распределении генотипов у мужчин и женщин с разным уровнем работоспособности.

**Ключевые слова:** общая работоспособность, брадикинин, генетические маркеры, половой диморфизм.

Ju. L. Maslennikova, P. V. Mikhailov

### The Comparative Analysis of Polymorphism of a Gene of the Bradykinin Receptor (BDKRB 2) of Women and Men with a Different Level of a Nonspecific Working Capacity

A comparative analysis of frequencies of genotypes and alleles of bradykinin receptor BDKRB 2 (BDKRB receptor B2: 9 bp -9/+9 bp exon 1) in male and female subgroups of the different level of nonspecific performance was made. Dependence between the level power supply and frequency of occurrence of polymorphic variants of the gene BDKRB 2 and gender differences in the distribution of genotypes in men and women with different levels of performance were determined.

**Keywords:** a general working capacity, bradykinin, genetic markers, gender dimorphism.

На сегодняшний день генотипирование становится клиническим инструментом во многих областях биологической науки. Прикладной аспект анализа полиморфизма генов человека определяется интересом к генетическим маркерам, тесно ассоциированным с уровнем здоровья, развитием и проявлением различных функций организма. Наиболее изученными являются гены, определяющие функции сердечно-сосудистой системы, ассоциирующиеся, в первую очередь, с проявлением выносливости и указывающие на предрасположенность к выполнению длительной физической работы [1, 2, 7, 9, 10]. Сегодня для многих социально значимых заболеваний сердечно-сосудистой системы показана ассоциация определенных полиморфных вариантов генов кинин-брадикининовой системы, способной регулировать артериальное давление, обмен электролитов, существенно меняя их активность, что и является зачастую причиной сердечно-сосудистой патологии [2, 3, 4, 6–16], а в спортивной практике во многом определяет успешность, специфическую работоспособность и увеличивает эффективность отбора [1, 9, 10]. Изучение высокополиморфных маркеров для спорта высших достижений чаще

всего проводится относительно распределения по видам спорта и по типу энергообеспечения. Мало обращается внимание на гендерные отличия в этом вопросе. Вместе с тем, в литературе активно обсуждаются вопросы влияния женских половых гормонов на сосудистую реактивность [8, 11–16]. Согласно экспериментальным и клиническим данным, эстрогены не только влияют на кровоток в репродуктивных органах, но и увеличивают сердечный выброс, снижают общее периферическое сосудистое сопротивление, восстанавливают сосудистую реактивность, изменяют баланс между потребностью миокарда в кислороде и его доставкой.

Предполагают, что в основе этого явления лежит генетическая составляющая, а именно, активация эстрогенами транскрипции генов, ассоциированных с вазоконстрикторным эффектом [2, 6]. Однако их роль в патогенезе недостаточно изучена, данные различных исследований противоречивы, что свидетельствует о целесообразности дальнейшего изучения в этом направлении.

В связи с вышеизложенным целью работы является сравнительный анализ частот генотипов и аллелей гена рецептора брадикинина BDKRB 2

(BDKRB receptor B2: 9 bp -9/+9 bp exon 1) в мужских и женских подгруппах с различными проявлениями неспецифической работоспособности.

### Методика

В исследовании приняли участие мужчины и женщины. Всего 138 человек, средний возраст  $21,35 \pm 0,31$  лет, масса тела –  $64,2 \pm 4,6$  кг, рост –  $172,6 \pm 7,3$  см. По результатам нагрузочного тестирования по Карпману [5] и величине МПК/МТ (максимального потребления кислорода, соотношенного на единицу массы тела) были отобраны по 2 группы мужчин и женщин с высоким и низким уровнем работоспособности:

2 женских группы: 1 группа – «низкий уровень» – МПК/МТ составило в среднем  $28,69 \pm 1,45$  мл/мин/кг, 2 группа – «высокий уровень» – МПК/МТ  $71,28 \pm 3,29$  мл/мин/кг;

2 мужских группы: 1 группа – «низкий уровень» – МПК/МТ  $29,96 \pm 3,32$ , 2 группа – «высокий уровень» – МПК/МТ  $73,96 \pm 4,62$  мл/мин/кг.

У всех испытуемых забирали венозную кровь натощак вакуумной техникой в моноветы (S-monovette) фирмы «SARSTEDT» (Германия) с соответствующими стабилизаторами (гель и ЭДТА).

Количественное определение различных составляющих образцов крови выполнено в многопрофильной диагностической лаборатории ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России» г. Москва.

Выделение ДНК проводили из образцов венозной крови с использованием комплекта реагентов ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА, амплификацию проводили с помощью амплификатора «Терцик» (НПО ДНК-Технология). В качестве метода определения генотипа BDKRB 2 использовали автоматическое секвенирование ДНК по Сэнгеру с применением автоматического капиллярного секвенатора ABI PRISM 310 с комплектом ПО Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Для хранения и обработки результатов исследования была создана матрица данных в виде электронных таблиц *Excel*. Частоту встречаемости полиморфных признаков определяли при помощи критерия Фишера. Значимость различий в частоте аллелей, генотипов и комбинаций генотипов между сравниваемыми выборками определяли с использованием критерия хи-квадрат. Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования в представленной выборке не обнаружено достоверных гендерных отличий между мужской и женской группами в частоте встречаемости отрицательных (-9) и положительных (+9) аллельных вариантов, не было достоверных отличий в соотношении гетерозиготных и гомозиготных вариантов рассматриваемого гена (табл.1).

Таблица 1

Частота встречаемости полиморфных признаков гена рецептора брадикинина BDKRB 2 в общих мужских и женских группах

Параметры	-9	+9	Гомозиготы		гетерозиготы
			-9/-9	+9/+9	-9/+9
Все испытуемые мужчины (n=70)	53,7%	46,3%	7,4	25,9%	66,7%
Все испытуемые женщины (n=68)	41,7%	58,3%	26,1%	11,2%	59,6%

Вместе с тем, обнаруживаются достоверные гендерные отличия в частоте встречаемости отдельных полиморфных признаков при делении испытуемых на группы по величине аэробного потенциала. Так, в группе 2 с более высокими показателями энергообеспечения у женщин выявлена высокая встречаемость -9 аллельных вариантов гена BDKRB 2, ассоциированного с высоким уровнем экспрессии мРНК рецептора, увеличивающего активность брадикинина, что согласуется с данными, полученными при обследовании спортсменов с высоким уровнем работоспособности в видах спорта, преимущественно направленных на развитие кардиореспираторной функции [1, 2, 10]. Частота встречаемости отрицательного варианта (-9) в женской группе 2 составила 85,7 %, что на 70,4 % достоверно ( $r = 4,2$ ) больше в сравнении с частотой положительного варианта. В мужских группах частота встречаемости отрицательного и положительного варианта достоверно не отличалась.

Вместе с тем, обнаруживаются достоверные гендерные отличия в частоте встречаемости отдельных полиморфных признаков при делении испытуемых на группы по величине аэробного потенциала. Так, в группе 2 с более высокими показателями энергообеспечения у женщин выявлена высокая встречаемость -9 аллельных вариантов гена BDKRB 2, ассоциированного с высоким уровнем экспрессии мРНК рецептора, увеличивающего активность брадикинина, что согласуется с данными, полученными при обследовании спортсменов с высоким уровнем работоспособности в видах спорта, преимущественно направленных на развитие кардиореспираторной функции [1, 2, 10]. Частота встречаемости отрицательного варианта (-9) в женской группе 2 составила 85,7 %, что на 70,4 % достоверно ( $r = 4,2$ ) больше в сравнении с частотой положительного варианта. В мужских группах частота встречаемости отрицательного и положительного варианта достоверно не отличалась.

Гендерный анализ композиции генов с учетом гомозиготности и гетерозиготности показал, что в группах 1 с невысоким уровнем работоспособности достоверных отличий в частоте суммарных гомозиготных и гетерозиготных вариантов у

мужчин и женщин не выявлено. Вместе с тем, в группах обоих полов чаще встречались гетерозиготные варианты 78 % и 83,4 % (для мужчин и женщин соответственно) и реже – 22 % и 16,3 % гомозиготные варианты (рис. 1).

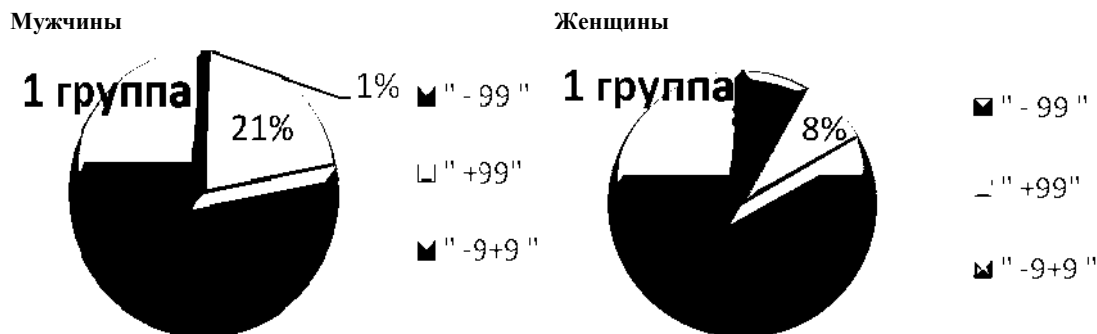


Рис. 1. Частота встречаемости полиморфных вариантов гена рецептора BDKRB 2 в мужских и женских группах с низким уровнем работоспособности

Вместе с тем, гомозиготные варианты в женских группах встречаются одинаково часто, а в мужских – большую долю составляет +9/+9 вариант, а вариант -9/-9 составляет менее 1%.

В группах с высокими величинами МПК/МТ (более 70 мл/мин/кг) у мужчин и женщин преобладают гетерозиготные варианты над гомозиготными. Таким образом, можно предположить, что носители гетерозиготных вариантов как мужчины, так и женщины отличаются большей предрасположенностью к проявлению высокого энергетического потенциала, что согласуется с данными. В биологии считается, что в общебиологическом

смысле в плане выживаемости вида относительно общих адаптационно-приспособительных реакций наиболее успешны особи – носители гетерозиготных вариантов признаков, способных к переключению различных механизмов [2].

Но, вместе с тем, обнаружены гендерные отличия в частоте полиморфных вариантов рассматриваемого гена. Так, в мужской группе 2 достоверно чаще встречаются гетерозиготные варианты в сравнении с группой 2 у женщин (рис. 2). Различие достоверно ( $p < 0,05$ ) и составило 28 %.

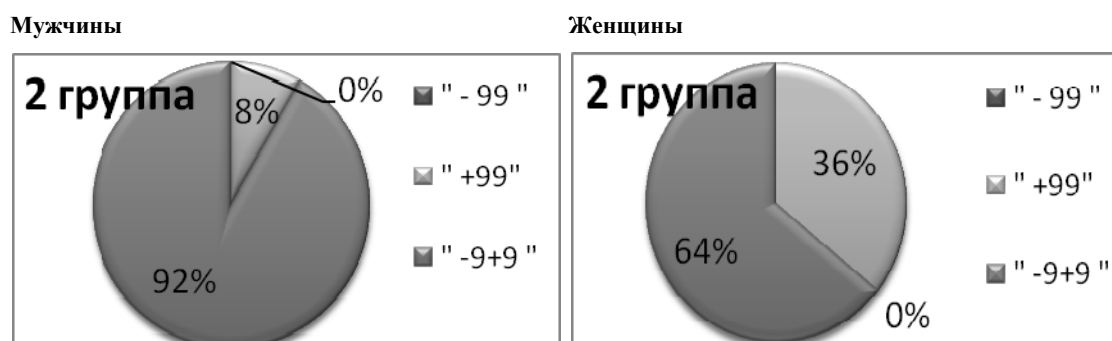


Рис. 2. Частота встречаемости полиморфных вариантов гена рецептора BDKRB 2 в мужских и женских группах с высоким энергетическим потенциалом

Важной гендерной особенностью, на наш взгляд, является то, что у женщин с большим энергетическим потенциалом частота гетерозиготных вариантов в сравнении с группой 1 ниже на 19,4 % в сравнении с группой 1, а у мужчин группы 2 в сравнении с группой 1, напротив, значительно

увеличивается на 36,3 % ( $p < 0,05$ ) частота гетерозигот и составляет более 91 % от группы (рис. 1 и 2). Кроме того, в женской группе с большими величинами МПК/МТ обнаружена высокая встречаемость гомозиготного варианта -9/-9 – 35,7 % ( $r = 0,14 - 0,35$ ), а варианты +9/+9 в

представленной группе отсутствовали. Интересно, что в мужской группе, напротив, не встретился отрицательный вариант, а гомозиготный положительный вариант (+9/+9) составил лишь 8,3 %.

Обнаруженные в нашем исследовании гендерные отличия согласуются с активно развивающейся в последние десятилетия концепцией, согласно которой влияние половых стероидов в той или иной степени распространяется на функциональное состояние всех органов и систем, в том числе и сердечно-сосудистой системы, снижая риск сердечно-сосудистых заболеваний на 25–80 % [3, 15, 16].

Полученные данные соответствуют имеющимся на сегодняшний день представлениям о половом диморфизме. В настоящее время обсуждается влияние женских половых гормонов на сосудистый тонус посредством эндотелий-зависимого и эндотелий-независимого механизмов. Показано, что, несмотря на оказываемый ими слабый вазодилатирующий эффект, эстрогены человека уменьшают и даже полностью устраняют вазоконстрикторный эффект [6, 7, 8]. В целом, анализ механизмов полового диморфизма в состоянии сосудистого русла позволяет заключить, что половые гормоны могут играть не только модулирующую, но и определяющую роль при серотониновой функции гипоталамуса, в повышении холинергического статуса, уровня катехоламинов в крови, выделении вазопрессина и окситоцина, регуляции липидного профиля, сосудистого тонуса. Возможно, что этим, наряду с другими факторами, определяется большая продолжительность жизни женщин [4].

Выявленные гендерные особенности позволяют предположить отличия в генетическом кон-

троле у мужчин и женщин за состоянием и работой кардиореспираторной системы, определяющей уровень общей неспецифической работоспособности. Различия в продолжительности жизни, состоянии сосудистого эндотелия и регуляции сосудистого тонуса могут объясняться не только различным гуморальным компонентом у мужчин и женщин, но и общим генетическим контролем, который определяется различными общебиологическими функциями мужских и женских особей в природе, связанными с обеспечением выживаемости вида в целом.

### Заключение

Полученные результаты позволяют считать, что в нашем исследовании обнаружена зависимость между величиной энергопотенциала (по МПК/МТ) и частотой встречаемости полиморфных вариантов гена BDKRB 2, ассоциированного с активностью брадикинина как у мужчин, так и у женщин. В группах с низким уровнем неспецифической работоспособности достоверных отличий в полиморфных признаках не обнаружено, тогда как в группах с большим энергопотенциалом обоих полов чаще встречались носители гетерозиготных вариантов. Вместе с тем, в представленной выборке у мужчин частота встречаемости гетерозиготного варианта составляет более 90 %, у женщин всего лишь 64 %. В то время как женщины с большей величиной неспецифической работоспособности чаще оказывались носительницами -9 отрицательного аллельного признака, частота гомозиготного варианта -9/-9 генотипа BDKRB 2 рецептора брадикинина также была выше (на 35,7 %,  $p < 0,05$ ) в сравнении с мужской группой.

### Библиографический список

1. Ахметов, И. И. Молекулярная генетика спорта [Текст] : монография / И. И. Ахметов. – М. : Советский спорт, 2009. – 268 с.
2. Баранов, В. С. Геном человека и гены «предрасположенности» (Введение в предиктивную медицину) [Текст] / В. С. Баранов, Е. В. Баранова, Т. Э. Иващенко, М. В. Асеев. – СПб. : Интермедика, 2000. – 263 с.
3. Гомазков, О. А. Эндотелии в кардиологии : молекулярные, физиологические и патологические аспекты (обзор) [Текст] / О. А. Гомазков // Кардиология. – 2001. – №2. – С. 50–58.
4. Караченцов, А. Н. Вазоактивные эффекты половых гормонов / А. Н. Караченцов, В. П. Сергеев // Проблемы эндокринологии. – 1997. – № 41 (2). – С. 45–53.
5. Карпман, В. Л. Тестирование в спортивной медицине [Текст] / В. Л. Карпман, З. Б. Белоцерковский, И. А. Гудков. – М. : Физкультура и спорт, 1988.
6. Мертвцов, Н. П. Регуляция экспрессии генов стероидными гормонами [Текст] / Н. П. Мертвцов. – Новосибирск : Наука, Сиб. отделение, 1990. – 262 с.
7. Наседкина, Т. В. Анализ генетических изменений у человека в норме и при различных заболеваниях с использованием биологических микрочипов [Текст] : дисс. ...д. б. н. / Т. В. Наседкина. – Москва. – 276 с.
8. Настрадаин, О. В. Диагностическая оценка функциональной активности сосудистого эндотелия и уровня половых гормонов у лиц с факторами риска и больных ишемической болезнью сердца [Текст] : ав-

тореф. дисс... к. м. н. / О. В. Настрадаин. – Владивосток, 2005. – 115 с.

9. Прогнозирование успешности соревновательной деятельности спортсменов с учетом генетических основ тренируемости [Текст] / В. А. Таймазов, С. Е. Бакулев // Ученые записки университета имени П. Ф. Лесгафта. – 2005. – Вып. 18. – С. 81–90.

10. Рогозкин, В. А. Генетические маркеры физической работоспособности человека [Текст] / В. А. Рогозкин, И. Б. Назаров, В. И. Казаков // Теория и практика физ. культуры. – 2000. – № 12. – С. 33–36.

11. Baker, L. K. The role of estrogen in cardiovascular disease/ L. Baker, K. Meldrum, M. Wang et al.//J Surg Res, 2003. - 115. - 325–44.

12. Baxter, G.F. Role of bradykinin in preconditioning and protection of the ischaemic myocardium. British

Journal of Pharmacology/ G.F. Baxter, Z. Ebrahim. 2002, 135, 843-854.

13. Barrett-Connor, E. Estrogen and coronary heart disease in women/ E. Barrett-Connor, T. Bush // JAM A. - 1991. - Vol. 265. - p. 1861-1867.

14. English, K.M. Testosterone acts as coronary vasodilators by a calcium channel antagonist action / K.M.English, R.D.Jones // J. Endocrinol. Invest. -2002. Vol. 25, №2. - P. 455-458.

15. Knopp, R. Effects of estrogens on lipoprotein metabolism and cardiovascular disease in women/ R. Knopp, X. Zhu, B.Bonet // Atherosclerosis. - 1994. - Vol. 110. - p. S83-S91.

16. Pines, A. Hormone therapy and the cardiovascular system / A. Pines // Maturitas, 2002.- № 43 (suppl.). - S3–S10.