

УДК 575.174.015.3:796

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА RS1614148 ГЕНА *EGLN1* С АЭРОБНЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ СПОРТСМЕНОВ

© 2024 г. А. З. Даутова^{1, *}, Е. В. Валеева², Е. А. Семенова^{1, 3}, Ф. А. Мавлиев¹,
А. А. Зверев¹, А. С. Назаренко¹, А. К. Ларин³, Э. В. Генерозов³, И. И. Ахметов^{2, 3, 4}

¹ФГБОУ ВО Поволжский государственный университет физической культуры, спорта и туризма, Казань, Россия

²ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет Минздрава России, Казань, Россия

³ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю. М. Лопухина
Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

⁴НИИ спорта Ливерпульского университета имени Джона Мурса, Ливерпуль, Великобритания

*E-mail: dautova.az@mail.ru

Поступила в редакцию 18.07.2023 г.

После доработки 23.07.2024 г.

Принята к публикации 29.07.2024 г.

Недавние исследования показали ассоциацию полиморфизма rs1614148 гена фактора, индуцируемого гипоксией 1 семейства Egl-9 (*EGLN1*) с максимальным потреблением кислорода (МПК) у нетренированных лиц. Изучение ассоциации данного полиморфизма с аэробной работоспособностью у спортсменов, а также с гематологическими показателями ранее не проводилось. Целью исследования явилось изучение ассоциации полиморфного маркера rs1614148 гена *EGLN1* с аэробной работоспособностью и гематологическими показателями спортсменов разной специализации и квалификации. Было обследовано 1309 спортсменов, специализирующихся в различных видах спорта (538 женщин 21.9 ± 4.1 лет, 771 мужчина 22.4 ± 4.8 лет). На момент обследования 132 спортсмена имели квалификацию заслуженного мастера спорта (ЗМС), 331 – мастера спорта международного класса (МСМК), 444 – мастера спорта (МС), 257 – кандидата в мастера спорта (КМС) и 145 – массовые спортивные разряды. Группу сравнения составили 284 чел., не занимающихся спортом (44.5 ± 4.1 лет). ДНК выделяли из клеток Buccalного эпителия либо лейкоцитов венозной крови. Генотипирование проводили с помощью ПЦР в реальном времени, либо микрочипового анализа. У спортсменов проводили оценку аэробной работоспособности с помощью спироэргометрии ($n = 259$), а также определяли значения гематологических параметров ($n = 240$). Обнаружено преобладание rs1614148*А аллеля как среди высококвалифицированных спортсменов, так и в общей группе спортсменов, тренирующих выносливость (стейеров), по сравнению со спортсменами скоростно-силовой направленности (26.3% против 15.8%, $\chi^2 = 3.81$, отношение шансов (*Odds Ratio*, *OR*) $OR = 1.90$, $p = 0.025$). У стейеров уровня МСМК и ЗМС установлена ассоциация генотипа rs1614148 AA гена *EGLN1* с более высоким МПК ($p = 0.047$), что соответствует данным литературы. Влияние полиморфизма гена *EGLN1* на гематологические показатели обнаружено не было. Таким образом, rs1614148*А аллель превалирует в группе стейеров, что может быть обусловлено его ассоциацией с высокими аэробными возможностями.

Ключевые слова: полиморфизм, ген, генотип, гипоксия, выносливость, гематологические показатели, максимальное потребление кислорода, высококвалифицированные спортсмены.

DOI: 10.31857/S0131164624060062 **EDN:** AGCYWK

Во время интенсивных физических нагрузок, при несоответствии между возрастающим кислородным запросом и текущим потреблением кислорода работающими мышцами у спортсменов может возникнуть артериальная гипоксия [1, 2]. В зависимости от продолжительности максимальных нагрузок (2–10 мин) разные авторы регистрировали снижение сатурации до 80–90%, что приводило

к снижению общего количества O_2 , доставляемого к тканям [1, 3, 4]. Роль артериальной гипоксемии как лимитирующего фактора показана в экспериментах с дыханием нормоксической и гипероксической газовой смесью во время теста с непрерывно повышающейся нагрузкой до отказа [5].

Важнейшая роль в процессах адаптации организма к гипоксии принадлежит кисло-

родчувствительному протеиновому комплексу, обладающему транскрипционной активностью, фактору, индуцируемому гипоксией (*hypoxia inducible factor* – HIF) [6]. Комплекс HIF является гетеродимером, состоящим из одной альфа-субъединицы (HIF α) и одной бета-субъединицы (HIF β). HIF α существует в виде множества изоформ (HIF1 α , HIF2 α и HIF3 α) с различными биологическими свойствами [7].

В настоящее время известно более 100 генов, активируемых HIF, поэтому опосредованно этот фактор транскрипции влияет на поддержание гомеостаза железа, энергетического обмена, баланс про- и антиоксидантов в клетках, активацию ингибиторов апоптоза и образование новых сосудов [8–11]. Индивидуальные генетические особенности, обуславливающие адаптацию к гипоксическим воздействиям, могут в таком случае влиять и на уровень максимального потребления кислорода (МПК) [12–15].

В физиологических условиях (в условиях нормоксии (21% O₂)) содержание HIF-1 α в клетке минимально за счет его протеасомной деградации [16], происходит гидроксилирование двух остатков пролина внутриклеточными ферментами – пролил-гидролазами (PHD) [17]. Одним из генов, который кодирует пролил-гидроксилазу 2 (EGLN1/PHD2), является ген *EGLN1* (*Egl-9 Family Hypoxia Inducible Factor 1*). В условиях гипоксии наблюдается снижение транскрипционной активности гена *EGLN1*, что приводит к повышению экспрессии гена *HIF-1 α* [18].

Ранее была показана ассоциация однонуклеотидного полиморфизма (SNP) гена *EGLN1* (rs1769793) с уровнем МПК (rs1769793*Т аллель был ассоциирован с более высоким значением МПК), измеренным в условиях высокогорья у кечуа и в смоделированных гипоксических условиях, путем снижения фракционной концентрации O₂ до ~ 12.6%, у нетренированных лиц, проживающих на уровне моря [13, 14]. Также авторами было показано, что у людей, проживающих на большой высоте, наблюдалось увеличение частоты аллелей гена *EGLN1*, ассоциированных с высокими аэробными возможностями [13]. Эти результаты демонстрируют, что гены, ассоциированные с адаптацией к высокогорью, также могут быть ассоциированы с физической работоспособностью.

В то же время ассоциация генетического маркера rs1769793 с МПК у тренированных лиц ранее не изучалась. Также не сравнивались частоты аллелей между спортсменами и контрольной группой или между спортсменами разной специализации. Известно, что аллель rs1614148*А на 100% сцеплен с аллелем rs1769793*Т ($D' = 1.00$, $r^2 = 1$) (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>), что позволяет использовать его в качестве предиктора

rs1769793*Т со 100%-й точностью. В связи с этим можно предполагать, что аллель rs1614148*А гена *EGLN1* может быть ассоциирован с аэробной работоспособностью спортсменов.

Цель исследования – изучение ассоциации полиморфного маркера rs1614148 гена *EGLN1* с аэробной работоспособностью и гематологическими показателями спортсменов разной специализации и квалификации.

МЕТОДИКА

В исследовании были использованы два подхода изучения ассоциации полиморфизма rs1614148 гена *EGLN1* с аэробной работоспособностью спортсменов. Первый подход заключался в сравнении частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs1614148 гена *EGLN1* в группах спортсменов, тренирующих выносливость, спортсменов скоростно-силовых видов спорта и контрольной группы. При втором подходе применяли анализ ассоциаций генотипов и аллелей полиморфизма с фенотипическими показателями у спортсменов.

Для проведения исследования сравнения частот генотипов и аллелей полиморфизма rs1614148 гена *EGLN1* было обследовано 1309 спортсменов, из них 538 женщин в возрасте 21.9 ± 4.1 лет и 771 мужчин 22.4 ± 4.8 лет, специализирующихся в различных видах спорта. Группу сравнения составили 284 чел. в возрасте 44.5 ± 4.1 лет, не занимающиеся спортом (рис. 1).

Спортсмены были поделены на две группы в зависимости от направленности физических нагрузок на спортсменов, развивающих выносливость (биатлон, лыжные гонки, спортивная ходьба, плавание на дальние дистанции, триатлон, бег на 3–10 и более км, академическая гребля) ($n = 376$) и скорость/силу (единоборства, прыжки, циклические виды спорта на короткие дистанции) ($n = 933$). На момент обследования 463 спортсмена были заслуженными мастерами спорта (ЗМС) и мастерами спорта международного класса (МСМК) (“высококвалифицированные”), 701 – мастерами спорта (МС) и кандидатами в мастера спорта (КМС) и 145 – имели массовые спортивные разряды.

При оценке ассоциации генотипов и аллелей с МПК принимали участие 259 спортсменов различных видов спорта: 99 женщин и 160 мужчин; при оценке с гематологическими показателями – 240 спортсменов: 103 женщины и 137 мужчин. Более подробное описание групп обследованных представлено в табл. 1.

Генетические методы исследования. Для изучения полиморфизма rs1614148 гена *EGLN1* использовали образцы геномной ДНК, выделенные из эпителиальных клеток буккального эпителия ($n = 497$), полученные с помощью соскоба



Рис. 1. Количественная характеристика обследованных групп.
МПК – максимальное потребление кислорода.

одноразовым зондом, а также использовали образцы ДНК испытуемых, выделенных из лейкоцитов венозной крови ($n = 1096$). ДНК выделяли сорбентным способом в соответствии с прилагаемой инструкцией к комплекту реагентов для экстракции ДНК “АмплиПрайм ДНК-сорб-В” (“Некст-Био”, Россия). Генотипирование образцов проводили в дубликate с помощью ПЦР в реальном времени *CFX96* (*Bio-Rad*, США) с использованием реагентов *Тест-ген* (Россия) согласно инструкции производителя ($n = 497$). Компоненты реакционной смеси на постановку реакции одной пробы включали в себя 4 мкл смеси для ПЦР, 2 мкл

Тaq-полимеразы, 3 мкл деионизованной воды и 1 мкл исследуемого образца. Амплификацию проводили при следующих условиях 95 °C – 2 мин, 40 циклов: 94 °C – 10 с, 60 °C – 30 с с детекцией флуоресценции по каналу *FAM* (*Fluorescein amidites*) для аллеля А и *VIC* (2'-chloro-7'phenyl-1,4-dichloro-6-carboxy-fluorescein) для аллеля С полиморфизма rs1614148 гена *EGLN1*. Для анализа результатов 1096 образцов были использованы ДНК-чипы *HumanOmni1-Quad BeadChips* (*Illumina Inc.*, США) согласно инструкции производителя, как было описано ранее [19].

Исследование фенотипических показателей. Определение МПК у гребцов-академистов проводили в тесте со ступенчато повышающейся нагрузкой на механическом гребном эргометре *PM 3* (*Concept II*, США). У спортсменов, занимающихся лыжными гонками, биатлоном, лыжным двоеборьем, спортивной – на тредбане *Saturn* (*HP Cosmos*, Германия). МПК у конькобежцев, велосипедистов определяли с помощью теста со ступенчато повышающейся нагрузкой на велоэргометре с электромагнитным сопротивлением *Ergoselect 200K* (*Ergoline*, Германия). Определение МПК у гребцов-байдарочников проводили с помощью теста со ступенчато повышающейся нагрузкой на гребном тренажере конструкции Г.М. Ефремова с подвижной платформой и противовесом, моделирующим величину сопротивления водной среды. МПК определяли с использованием системы газоанализа *MetaLyzer II* и *MetaMax 3B* (*Cortex*, Германия), брали усредненные за последние 30 с каждой ступени теста показатели газообмена.

Протокол нагрузки, использованный у всех испытуемых, был одинаковым и представлял собой плавно возрастающую нагрузку. На тредбане *Saturn*: первые 2 мин отмечали плавное увеличение скорости от 0 до 7 км/ч, в дальнейшем скорость плавно возрастала на 1 км/ч каждую минуту.

Таблица 1. Общая характеристика спортсменов, принявших участие в анализе ассоциаций генотипов и аллелей полиморфизма rs1614148 гена *EGLN1* с фенотипическими показателями ($M \pm m$)

Показатель	МПК ($n = 259$)				Гематология ($n = 240$)			
	выносливость		сила/скорость		выносливость		сила/скорость	
	муж ($n = 86$)	жен ($n = 54$)	муж ($n = 74$)	жен ($n = 45$)	муж ($n = 56$)	жен ($n = 33$)	муж ($n = 81$)	жен ($n = 70$)
Возраст, лет	20.7 ± 5.3	21.4 ± 4.7	18.1 ± 3.7	19.4 ± 5.1	20.3 ± 4.7	19.9 ± 4.1	20.3 ± 4.9	17.9 ± 4.3
Рост, см	180.3 ± 12.2	168.9 ± 6.9	179.5 ± 8.5	172.1 ± 6.9	180.9 ± 11.2	166 ± 8.3	177.5 ± 12.4	166.9 ± 8.6
Вес, кг	72.1 ± 16.6	61.3 ± 9.1	69.7 ± 11.5	62.1 ± 9.2	72.9 ± 15.6	55.6 ± 8.3	70.5 ± 15.5	60.5 ± 11.2

Примечание: МПК – максимальное потребление кислорода. n – количество обследованных спортсменов.

Угол наклона беговой дорожки в ходе всего теста составлял 1 град. На эргометре *Concept 2* нагрузка начиналась с 50 Вт и увеличивалась каждые 2 мин (длительность ступени) на 30 Вт. Тест выполнялся до отказа.

Гематологические показатели определяли с помощью автоматических анализаторов *Sysmex XE2100* и *MEK 7222K* (*Sysmex Corporation*, Япония). Оценивали общее число эритроцитов (RBC, $10^9/\text{л}$), содержание гемоглобина (HGB, г/л), средний объем отдельного эритроцита (MCV, фл), гематокрит (HCT, %), среднее содержание и концентрацию гемоглобина в эритроците (MCH, пг и MCHC, г/л соответственно), содержание тромбоцитов (PLT, $10^9/\text{л}$). Забор венозной крови проводили натощак в утренние часы на следующий день после дня отдыха (без тренировок) с обязательным исключением курения и приема алкоголя непосредственно перед исследованием.

Методы статистической обработки. Статистические тесты проводили с использованием программы *STATISTICA 10.0* (*StatSoft*, США). Проверку распределения непрерывных переменных проводили с использованием теста Колмогорова–Смирнова. Значимость различий в частоте аллелей и генотипов между сравниваемыми выборками, а также соответствие распределения генотипов равновесию Харди–Вайнберга определяли с использованием критерия хи-квадрат (χ^2). В случае статистически значимых различий силу ассоциаций оценивали в значениях показателя соотношения шансов (*Odds Ratio*, OR) с указанием 95% доверительного интервала (*confidence interval*, CI). Различия считали значимыми при $p < 0.05$. Для выявления отдельного, а также сочетанного влияния факторов проводили многофакторный дисперсионный анализ *Factorial ANOVA* с выделением факторов: “генотип” (AA и AC + CC), “направленность физических нагрузок” (выносливость и сила/скорость), “квалификация” (высококвалифицированные (МСМК и ЗМС), квалифицированные (МС и КМС), спортивные разряды). Поскольку задачей исследования являлось изучение влияния полиморфизма rs1614148 гена *EGLN1* на аэробную работоспособность спортсменов, рассматривали только эффекты фактора «генотип» и взаимодействия, включающие этот фактор. При проведении множественных сравнений проводили апостериорный тест с поправкой Бонферрони. Непрерывные переменные (гематологические показатели и МПК) были представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительная оценка частот генотипов и аллелей в группах. Распределение генотипов

полиморфизма rs1614148 гена *EGLN1* соответствовало равновесию Харди–Вайнберга в общей группе спортсменов, а также во всех тестируемых группах отдельно ($p > 0.05$).

Частота генотипа AA была статистически значимо выше у спортсменов, тренирующих выносливость (стайеров) по сравнению со спортсменами скоростно-силовой направленности ($\chi^2 = 3.0$, OR = 1.65 (95% CI 0.97–2.80)), при сравнении с контрольной группой значимых различий не было. Также у стайеров частота генотипа AC была ниже по сравнению со спортсменами скоростно-силовых видов спорта ($\chi^2 = 3.51$, OR = 0.77 (95% CI 0.59–1.00)) и контрольной группой ($\chi^2 = 3.1$, OR = 0.73 (95% CI 0.52–1.01)) (табл. 2).

Также был проведен частотный анализ только у высококвалифицированных спортсменов (ЗМС + МСМК). Было установлено, что у стайеров статистически значимо превалирует частота аллеля rs1614148*A гена *EGLN1* по сравнению со спортсменами скоростно-силовой направленности (26.3% против 15.8%; $\chi^2 = 3.81$, OR = 1.90 (95% CI 1.04–3.49), $p = 0.025$), но не с контрольной группой (23.6%; $\chi^2 = 0.23$, OR = 1.1 (95% CI 0.72–1.8), $p = 0.31$).

Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs1614148 гена *EGLN1* у российских спортсменов и у лиц контрольной группы соответствовала распределению аллелей у европейцев (данные проекта «1000 геномов», *Project Phase 3, Ensembl* 2019. <http://www.ensembl.org>). Встречаемость аллеля rs1614148*A в обследуемых группах спортсменов без учета их квалификации соответствовала 21%, в контрольной группе составила 23.7%. По данным литературы, распространенность минорного аллеля в различных популяциях мира в среднем составляет 24%, у населения Южной и Восточной Азии снижается до 3.3%, тогда как наибольшая встречаемость аллеля *A установлена у латиноамериканцев (35.6%) (*UKB Neale v2* (2018), <https://genetics.opentargets.org/>).

Ассоциация аллелей и генотипов полиморфизма rs1614148 гена EGLN1 с фенотипическими признаками. Одним из основных показателей функционального состояния спортсмена, определяющим аэробную работоспособность, является максимальное потребление кислорода [2].

С помощью многофакторного дисперсионного анализа было установлено, что на уровень МПК у спортсменов влияли такие факторы, как “квалификация” ($F = 10.1$, $p = 0.001$), “направленность нагрузок” ($F = 19.3$, $p = 0.00003$), но при этом влияния фактора “генотип” на показатель не обнаружено ($F = 0.6$, $p = 0.43$).

У мужчин-спортсменов на МПК помимо фактора “квалификация” ($F = 13.5$, $p = 0.0003$), “направленность нагрузок” ($F = 4.8$, $p = 0.03$), установлено совместное влияние факторов

Таблица 2. Сравнительный анализ частоты аллелей и генотипов полиморфизма rs1614148 гена *EGLN1* у спортсменов и контрольной группы

Общая группа спортсменов									
Группы спортсменов	<i>n</i>	частота генотипов, % (абс. знач.)			<i>p</i> ¹	<i>p</i> ²	<i>p</i> ³	частота минорного аллеля, % (абс. знач.)	<i>p</i>
		CC	AC	AA				A	
Виды спорта на выносливость	376	64.36 (242)	29.25 (110)	6.38 (24)	0.04	0.03	0.15	21.01 (158)	0.43
Скоростно-силовые виды спорта	933	61.2 (571)	34.83 (325)	3.96 (37)				21.38 (399)	
Контроль	284	58.30 (165)	36.04 (102)	5.65 (16)	0.41	0.03	0.06	23.67 (134)	0.13
Высококвалифицированные спортсмены									
Виды спорта на выносливость	59	55.9 (33)	35.6 (21)	8.5 (5)	0.24	0.08	0.034	26.3 (31)	0.025
Скоростно-силовые виды спорта	73	72.6 (53)	23.3 (17)	4.1 (3)				15.8 (23)	

Примечание: *p*¹ – уровень значимости при сравнении частоты AA генотипа у стайеров и спортсменов скоростно-силовой направленности, а также контрольной группы; *p*² – уровень значимости при сравнении частоты AC генотипа у стайеров и спортсменов скоростно-силовой направленности, а также контрольной группы; *p*³ – уровень значимости при сравнении частоты CC генотипа у стайеров и спортсменов скоростно-силовой направленности, а также контрольной группы. *p* – уровень значимости при сравнении частот аллелей у стайеров и спортсменов скоростно-силовой направленности, а также контрольной группы.

“квалификация+генотип” ($F = 4.2, p = 0.04$). У высококвалифицированных спортсменов носителей генотипа rs1614148 AA уровень МПК составил 73.2 ± 8.13 мл/мин, у лиц с *C аллелем – 63.06 ± 6.87 мл/мин (CC и AC генотипы, $n = 26, p = 0.047$). У спортсменов уровня MC и KMC, имеющих AA генотип, МПК составил 67.75 ± 0.35 мл/кг/мин, у обладателей аллеля *C (CC и AC генотипы) – 58.99 ± 9.84 мл/кг/мин ($n = 48, p = 0.21$). У спортсменов-разрядников, имеющих аллель *C в своем генотипе, МПК составил 49.01 ± 7.37 мл/мин/кг, и у обладателей генотипа AA – 49.75 ± 8.09 мл/мин/кг ($n = 86, p = 0.84$).

Полиморфизм rs1614148 (AA, AC или CC) гена *EGLN1* объяснял 0.07% дисперсии МПК как основной эффект ($p = 0.046$) и 0.26% дисперсии как эффект взаимодействия ($p = 0.031$).

В исследовании T.D. Brutsaert et al. [13] было показано, что значение МПК в зависимости от носительства генотипов полиморфизма rs1769793 гена *EGLN1* имело статистически значимое отличие: генотип TT = 34.16 ± 0.98 мл/мин/кг, генотипы СТ = 31.98 ± 0.40 мл/мин/кг, и CC = 30.50 ± 0.53 мл/мин/кг.

В исследовании G. Liu et al. [14] было установлено, что аллель rs1769793*Т (*EGLN1*) снижает

экспрессию гена *EGLN1* в скелетных мышцах и гиппокампе человека, что в свою очередь способствует более высокой транскрипционной активности HIF-1α и обеспечивает повышенную аэробную работоспособность организма при гипоксии. Согласно данным портала GTEx, аллель rs1614148*А (*EGLN1*) также приводит к снижению экспрессии гена в различных тканях человека: цельной крови ($p = 4.5e-9$), в коже (голень) ($p = 0.000001$), в поперечной ободочной кишке ($p = 0.00004$), в мышцах ($p = 0.000071$) (<https://gtexportal.org/home/snp/rs1614148>). В связи с этим можно предположить, что обнаруженное нами повышение МПК у спортсменов-мужчин, имеющих генотип AA (*EGLN1*) обусловлено, в том числе, снижением экспрессии гена *EGLN1*, и как следствие, ускоренными адаптивными изменениями в клеточном метаболизме [20].

Средние значения гематологических показателей у спортсменов с учетом генотипов полиморфизма гена *EGLN1* независимо от их специализации и квалификации представлены в табл. 3.

У спортсменов-мужчин при включении в анализ факторов “квалификация” и “направленность нагрузок” было установлено, что на все изучаемые показатели крови оказывал влияние фактор

Таблица 3. Гематологические показатели у спортсменов при разных генотипах полиморфизма *rs1614148* гена *EGLN1* ($M \pm m$)

Показатель	Генотип AA		Генотип AC		Генотип CC	
	муж. ($n = 7$)	жен. ($n = 7$)	муж. ($n = 47$)	жен. ($n = 32$)	муж. ($n = 80$)	жен. ($n = 57$)
HGB, г/л	158.3 $\pm$ 10.3	141.3 $\pm$ 12.9	154.38 $\pm$ 13.0	137.2 $\pm$ 15.1	154.7 $\pm$ 10.6	136.2 $\pm$ 20.4
RBC, 10^9 /л	5.2 $\pm$ 0.25	4.6 $\pm$ 0.4	5.1 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.5	5.0 $\pm$ 0.3	4.6 $\pm$ 0.3
MCH, пг	30.7 $\pm$ 1.5	30.9 $\pm$ 1.7	30.6 $\pm$ 1.7	30.3 $\pm$ 2.1	30.8 $\pm$ 1.3	30.3 $\pm$ 1.5
MCHC, г/л	342.7 $\pm$ 13.3	346.6 $\pm$ 14.6	342.8 $\pm$ 10.2	337.5 $\pm$ 11.0	344.0 $\pm$ 12.7	339.4 $\pm$ 11.9
MCV, фл	89.6 $\pm$ 6.4	89.4 $\pm$ 6.5	89.3 $\pm$ 6.3	89.9 $\pm$ 6.0	89.7 $\pm$ 5.2	88.9 $\pm$ 5.4
HCT, %	46.3 $\pm$ 4.6	40.9 $\pm$ 4.9	45.1 $\pm$ 4.6	40.8 $\pm$ 4.6	45.1 $\pm$ 3.7	40.7 $\pm$ 3.6
PLT, 10^9 /л	266.9 $\pm$ 71.1	280.3 $\pm$ 95.3	238.5 $\pm$ 46.8	303.4 $\pm$ 70.9	252.8 $\pm$ 63.9	277.4 $\pm$ 59.8

“квалификация”, тогда как непосредственного влияния направленности нагрузок и полиморфизма *rs1614148* гена *EGLN1* обнаружено не было. Взаимодействие факторов “генотип + квалификация” оказало влияние только на MCV ($F = 2.76$, $p = 0.03$). Наибольшее значение MCV было у спортсменов уровня МСМК и ЗМС, имеющих в своем генотипе аллель *C (AC и CC генотипы) (93.5 ± 3.2 фл и 93.2 ± 3.1 фл соответственно), что статистически значимо выше по сравнению со спортсменами, имеющими массовые спортивные разряды (AA 82.3 ± 5.0 фл, AC 83.18 ± 3.84 фл, CC 84.55 ± 3.27 фл, $p < 0.001$).

У спортсменов влияния фактора “генотип”, а также взаимодействия данного фактора с другими изучаемыми факторами установлено не было.

В нескольких исследованиях сообщалось, что были обнаружены полиморфизмы в гене *EGLN1*, ассоциированные с низкой концентрацией Hb [21, 22]. Тогда как для жителей Анд характерна, наоборот, относительно высокая концентрация Hb [23]. Y. Yasukochi et al. [23] установили, что у жителей Анд частоты гаплотипов *EGLN1* коррелировали с уровнем гемоглобина независимо от пола или высоты над уровнем моря. Авторы предположили, что относительно высокие уровни гемоглобина у жителей Анд могут быть частично объяснены генетическими вариантами гена *EGLN1*.

Исследуемый полиморфизм *rs1614148* гена *EGLN1* находится в межгенной области. Буквенная замена C/A в данном локусе может играть важную роль в транскрипционной активности самого гена *EGLN1*, а также кодируемый белок EGLN1 может взаимодействовать с рядом других белков (в том числе HIF1A) или нуклеотидной последовательности, усиливая его активность (<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=EGLN1>). По крайней мере, данные портала GTEх указывают на то, что

полиморфизм *rs1614148* является функциональным (влияет на экспрессию генов в различных тканях) (<https://gtexportal.org/home/snp/rs1614148>). Для лучшего понимания молекулярного механизма взаимосвязи данного генетического маркера с физиологическими особенностями спортсменов требуются дальнейшие исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование продемонстрировало ассоциацию генотипа *rs1614148* AA гена *EGLN1* с более высоким МПК у спортсменов-мужчин. Установлено преобладание аллеля *rs1614148**A среди спортсменов, развивающих выносливость, независимо от их квалификации, по сравнению со спортсменами скоростно-силовой направленности. Ассоциаций полиморфизма *rs1614148* гена *EGLN1* с гематологическими параметрами, как у мужчин, так и у женщин обнаружено не было. Дисперсионный анализ в большинстве случаев не выявил влияния исследуемого полиморфизма на изучаемые показатели.

Настоящее исследование имеет некоторые ограничения. Исследование ассоциаций генотипов и аллелей полиморфизма с фенотипическими показателями проводили у ограниченного количества высококвалифицированных спортсменов. Для подтверждения ассоциации маркера с аэробной работоспособностью, а также для уменьшения доли ложноположительных ассоциаций следует провести дополнительные исследования полиморфного маркера *rs1614148* гена *EGLN1* на большей выборке спортсменов, а также необходимо воспроизведение результатов исследований на независимых выборках.

Стоит отметить, что однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные с фенотипическими признаками и предрасположенностью к развитию

физических качеств, следует учитывать в системах многовариантного прогнозирования, поскольку они связаны с полигенным наследованием.

Финансирование работы. Работа частично выполнена в рамках государственного задания для ФГБОУ ВО «Поволжский государственный университет физической культуры, спорта и туризма» (Поволжский ГУФКСИТ, Казань) № 777-00022-24-01 (НИОКТР 123100600294-2).

Соблюдение этических стандартов. Все исследования проводились в соответствии с принципами биомедицинской этики, изложенными в Хельсинкской декларации 1964 г. и последующих поправках к ней. Они также были одобрены локальным Этическим комитетом Поволжского государственного университета физической культуры, спорта и туризма (Казань), протокол № 2 от 26.05.2023 г.

Каждый участник исследования дал добровольное письменное информированное согласие после получения разъяснений о потенциальных рисках и преимуществах, а также о характере предстоящего исследования.

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Dempsey J.A., Wagner P.D.* Exercise-induced arterial hypoxemia // *J. Appl. Physiol.* 1999. V. 87. № 6. P. 1997.
2. *Попов Д.В., Виноградова О.Л.* Аэробная работоспособность: роль доставки кислорода, его утилизации и активации гликолиза // *Успехи физиологических наук.* 2012. Т. 43. № 1. С. 30.
3. *Nielsen H.B., Bredmose P.P., Stromstad M. et al.* Bicarbonate attenuates arterial desaturation during maximal exercise in humans // *J. Appl. Physiol.* 2002. V. 93. № 2. P. 724.
4. *Vogiatis I., Georgiadou O., Giannopoulou I. et al.* Effects of exercise-induced arterial hypoxaemia and work rate on diaphragmatic fatigue in highly trained endurance athletes // *J. Physiol.* 2006. V. 572. Pt. 2. P. 539.
5. *Grataloup O., Busso T., Castells J. et al.* Evidence of decrease in peak heart rate in acute hypoxia: effect of exercise-induced arterial hypoxemia // *Int. J. Sports Med.* 2007. V. 28. № 3. P. 181.
6. *Semenza G.L.* Oxygen sensing, homeostasis, and disease // *N. Engl. J. Med.* 2011. V. 365. № 6. P. 537.
7. *Wang G.L., Jiang B.H., Rue E.A., Semenza G.L.* Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1995. V. 92. № 12. P. 5510.
8. *Semenza G.L.* The genomics and genetics of oxygen homeostasis // *Annu. Rev. Genomics Hum Genet.* 2020. V. 21. P. 183.
9. *Corrado C., Fontana S.* Hypoxia and HIF signaling: One axis with divergent effects // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 16. P. 5611.
10. *Bai J., Li L., Li Y., Zhang L.* Genetic and immune changes in Tibetan high-altitude populations contribute to biological adaptation to hypoxia // *Environ. Health Prev. Med.* 2022. V. 27. P. 39.
11. *Lappin T.R., Lee F.S.* Update on mutations in the HIF: EPO pathway and their role in erythrocytosis // *Blood Rev.* 2019. V. 37. P. 100590.
12. *Бондарева Э.А., Блеер А.Н., Година Е.З.* Поиск ассоциаций G/A — полиморфизма гена *EPAS1* с уровнем максимального потребления кислорода у российских спортсменов // *Физиология человека.* 2016. Т. 42. № 3. С. 120.
13. *Brutsaert T.D., Kiyamu M., Elias Revollendo G. et al.* Association of *EGLN1* gene with high aerobic capacity of Peruvian Quechua at high altitude // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2019. V. 116. № 48. P. 24006.
14. *Liu G., Zhao W., Zhang H. et al.* rs1769793 variant reduces *EGLN1* expression in skeletal muscle and hippocampus and contributes to high aerobic capacity in hypoxia // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2020. V. 117. № 47. P. 29283.
15. *Semenova E.A., Hall E.C.R., Ahmetov I.I.* Genes and Athletic Performance: The 2023 Update // *Genes (Basel).* 2023. V. 14. № 6. P. 1235.
16. *Sutter C.H., Laughner E., Semenza G.L.* Hypoxia inducible factor 1alpha protein expression is controlled by oxygen-regulated ubiquitination that is disrupted by deletions and missense mutation // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000. V. 97. № 9. P. 4748.
17. *Huang L.E., Gu J., Schau M., Bunn H.F.* Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha is mediated by an O₂-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1998. V. 95. № 14. P. 7987.
18. *Strocchi S., Reggiani F., Gobbi G. et al.* The multifaceted role of EGLN family prolyl hydroxylases in cancer: going beyond HIF regulation // *Oncogene.* 2022. V. 41. № 29. P. 3665.
19. *Semenova E.A., Zempo H., Miyamoto-Mikami E. et al.* Genome-wide association study Identifies CDKN1A as a novel locus associated with muscle fiber composition // *Cells.* 2022. V. 11. № 23. P. 3910.
20. *Bouthelie A., Aragonés J.* Role of the HIF oxygen sensing pathway in cell defense and proliferation through the control of amino acid metabolism // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* 2020. V. 1867. № 9. P. 118733.
21. *Simonson T.S., Wei G., Wagner H.E. et al.* Low hemoglobin concentration in Tibetan males is associated

with greater high-altitude exercise capacity // *J. Physiol.* 2015. V. 593. № 14. P. 3207.

22. Moore J.A., Hubbi M.E., Wang C. et al. Isolated erythrocytosis associated with 3 novel missense mutations in the *EGLN1* gene // *J. Investig. Med. High Impact Case Rep.* 2020. V. 8. P. 2324709620947256.
23. Yasukochi Y., Nishimura T., Ugarte J. et al. Effect of *EGLN1* genetic polymorphisms on hemoglobin concentration in andean highlanders // *Biomed Res. Int.* 2020. V. 2020. P. 3436581.

REFERENCES

1. Dempsey J.A., Wagner P.D. Exercise-induced arterial hypoxemia // *J. Appl. Physiol.* 1999. V. 87. № 6. P. 1997.
2. Popov D.V., Vinogradova O.L. [Aerobic performance: role of oxygen delivery and utilization, glycolytic flux] // *Usp. Fiziol. Nauk.* 2012. V. 43. № 1. P. 30.
3. Nielsen H.B., Bredmose P.P., Stromstad M. et al. Bicarbonate attenuates arterial desaturation during maximal exercise in humans // *J. Appl. Physiol.* 2002. V. 93. № 2. P. 724.
4. Vogiatzis I., Georgiadou O., Giannopoulou I. et al. Effects of exercise-induced arterial hypoxaemia and work rate on diaphragmatic fatigue in highly trained endurance athletes // *J. Physiol.* 2006. V. 572. Pt. 2. P. 539.
5. Grataloup O., Busso T., Castells J. et al. Evidence of decrease in peak heart rate in acute hypoxia: Effect of exercise-induced arterial hypoxemia // *Int. J. Sports. Med.* 2007. V. 28. № 3. P. 181.
6. Semenza G.L. Oxygen sensing, homeostasis, and disease // *N. Engl. J. Med.* 2011. V. 365. № 6. P. 537.
7. Wang G.L., Jiang B.H., Rue E.A., Semenza G.L. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1995. V. 92. № 12. P. 5510.
8. Semenza G.L. The genomics and genetics of oxygen homeostasis // *Annu. Rev. Genomics Hum Genet.* 2020. V. 21. P. 183.
9. Corrado C., Fontana S. Hypoxia and HIF signaling: One axis with divergent effects // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 16. P. 5611.
10. Bai J., Li L., Li Y., Zhang L. Genetic and immune changes in Tibetan high-altitude populations contribute to biological adaptation to hypoxia // *Environ. Health Prev. Med.* 2022. V. 27. P. 39.
11. Lappin T.R., Lee F.S. Update on mutations in the HIF: EPO pathway and their role in erythrocytosis // *Blood Rev.* 2019. V. 37. P. 100590.
12. Bondareva E.A., Bleer A.N., Godina E.Z. Search for associations between G/A polymorphism of the *EPAS1* gene and the maximal oxygen consumption in Russian athletes // *Human Physiology.* 2016. V. 42. № 3. P. 335.
13. Brutsaert T.D., Kiyamu M., Elias Revollendo G. et al. Association of *EGLN1* gene with high aerobic capacity of Peruvian Quechua at high altitude // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2019. V. 116. № 48. P. 24006.
14. Liu G., Zhao W., Zhang H. et al. rs1769793 variant reduces *EGLN1* expression in skeletal muscle and hippocampus and contributes to high aerobic capacity in hypoxia // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2020. V. 117. № 47. P. 29283.
15. Semenova E.A., Hall E.C.R., Ahmetov I.I. Genes and Athletic Performance: The 2023 Update // *Genes (Basel).* 2023. V. 14. № 6. P. 1235.
16. Sutter C.H., Laughner E., Semenza G.L. Hypoxia inducible factor 1alpha protein expression is controlled by oxygen-regulated ubiquitination that is disrupted by deletions and missense mutation // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000. V. 97. № 9. P. 4748.
17. Huang L.E., Gu J., Schau M., Bunn H.F. Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha is mediated by an O₂-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1998. V. 95. № 14. P. 7987.
18. Strocchi S., Reggiani F., Gobbi G. et al. The multifaceted role of EGLN family prolyl hydroxylases in cancer: going beyond HIF regulation // *Oncogene.* 2022. V. 41. № 29. P. 3665.
19. Semenova E.A., Zempo H., Miyamoto-Mikami E. et al. Genome-wide association study Identifies CDKN1A as a novel locus associated with muscle fiber composition // *Cells.* 2022. V. 11. № 23. P. 3910.
20. Bouthelie A., Aragonés J. Role of the HIF oxygen sensing pathway in cell defense and proliferation through the control of amino acid metabolism // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* 2020. V. 1867. № 9. P. 118733.
21. Simonson T.S., Wei G., Wagner H.E. et al. Low hemoglobin concentration in Tibetan males is associated with greater high-altitude exercise capacity // *J. Physiol.* 2015. V. 593. № 14. P. 3207.
22. Moore J.A., Hubbi M.E., Wang C. et al. Isolated erythrocytosis associated with 3 novel missense mutations in the *EGLN1* gene // *J. Investig. Med. High Impact Case Rep.* 2020. V. 8. P. 2324709620947256.
23. Yasukochi Y., Nishimura T., Ugarte J. et al. Effect of *EGLN1* genetic polymorphisms on hemoglobin concentration in andean highlanders // *Biomed Res. Int.* 2020. V. 2020. P. 3436581.

Association of the Polymorphic Marker rs1614148 of the *EGLN1* Gene with Aerobic Capacity of Athletes

A. Z. Dautova^{a, *}, E. V. Valeeva^b, E. A. Semenova^{a, c}, F. A. Mavliev^a, A. A. Zverev^a,
A. S. Nazarenko^a, A. K. Larin^c, E. V. Generozov^c, I. I. Ahmetov^{b, c, d}

^aVolga Region State University of Physical Culture, Sport and Tourism, Kazan, Russia

^bKazan State Medical University, Kazan, Russia

^cLopukhin federal research and clinical center of physical-chemical medicine of federal medical biological agency,
Moscow, Russia

^dLiverpool John Moores University, Liverpool, UK

*E-mail: dautova.az@mail.ru

Recent studies have shown an association between the rs1614148 polymorphism of the Egl-9 family hypoxia-inducible factor 1 (*EGLN1*) gene and maximal oxygen consumption (VO_2) in untrained individuals. The association of this polymorphism with aerobic performance in athletes and with haematological parameters has not been previously investigated. The aim of this study was to investigate the association of the polymorphic marker rs1614148 of the *EGLN1* gene with aerobic performance and haematological parameters in athletes of different specialisations and qualifications. 1309 athletes specialised in different sports were studied (538 females 21.9 ± 4.1 years, 771 males 22.4 ± 4.8 years). At the time of the survey, 132 athletes had the qualification of Honoured Master of Sports (HMS), 331 – International Master of Sports (IMS), 444 – Master of Sports (MS), 257 – Candidate Master of Sports (CMS) and 145 – popular sports categories. The control group consisted of 284 non-athletes (44.5 ± 4.1 years). DNA was isolated from buccal epithelial cells or from venous blood leukocytes. Genotyping was performed by real-time PCR or microarray analysis. Athletes were assessed for aerobic performance using spiroergometry ($n = 259$) and haematological parameters were determined ($n = 240$). A predominance of the rs1614148*A allele was found both in highly qualified athletes and in the general group of endurance athletes (stayers) compared to speed athletes (26.3% versus 15.8%, $\chi^2 = 3.81$, OR = 1.90, $p = 0.025$). An association of the rs1614148 AA genotype of the *EGLN1* gene with higher BMD ($p = 0.047$) was observed in the IMS and HMS group, which is consistent with literature data. No effect of the *EGLN1* gene polymorphism on haematological parameters was found. Thus, the rs1614148*A allele predominates in the group of stayers, which may be due to its association with high aerobic capacity.

Keywords: polymorphism, gene, genotype, hypoxia, endurance, hematological parameters, maximum oxygen consumption, highly skilled athletes.