

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ФИЗИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ, СПОРТА, МОЛОДЕЖИ И ТУРИЗМА  
(ГЦОЛИФК)» (РГУФКСМиТ)

На правах рукописи

**ПАРФЕНТЬЕВА Ольга Ивановна**

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА  
РАЗОБЩАЮЩИХ БЕЛКОВ УСР С ПОКАЗАТЕЛЯМИ  
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ПОДГОТОВЛЕННОСТИ СПОРТСМЕНОВ  
РАЗЛИЧНЫХ СПЕЦИАЛИЗАЦИЙ**

03.03.02 - «Антропология» по биологическим наукам

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:**  
доктор биологических наук, профессор  
**В.Д. СОНЬКИН**

Москва, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ	
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	12
1.1. Строение и эволюция генов разобщающих белков .....	14
1.2. Разобщающие белки: строение и функции .....	20
1.3. Регуляция экспрессии генов разобщающих белков.....	27
1.4. Полиморфные системы генов <i>UCP</i> .....	34
1.4.1. -3826A>G полиморфизм гена <i>UCP1</i> (rs1800592).....	35
1.4.2. Ala55Val полиморфизм гена <i>UCP2</i> (rs660339).....	38
1.4.3. -55C/T полиморфизм гена <i>UCP3</i> (rs1800849).....	40
1.5. A/T полиморфизм гена <i>FTO</i> (rs9939609).....	42
1.6. Ген-генные и генно-средовые взаимодействия .....	44
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	47
2.1. Характеристика обследованной выборки.....	47
2.2. Программа исследования .....	49
2.3. Методы статистического анализа.....	53
2.3.1. Анализ факторов, ассоциированных с повышенным набором жировой массы тела в обследованной выборке.....	54
2.3.2. Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей исследуемых генов .....	59
2.3.3. Ассоциативный анализ полиморфизма исследуемых генов и функциональных показателей .....	59
2.3.4. Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей генов разобщающих белков в популяциях мира.....	62
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....	63

3.1. Анализ факторов, ассоциированных с повышенным набором жировой массы тела в обследованной выборке .....	63
3.1.1. Антропометрические индексы как предикторы жирового компонента в обследованной выборке .....	63
3.1.2. Анализ ассоциаций между вариантами исследуемых генов и антропометрическими показателями в обследованной выборке .....	67
3.1.3. Анализ ассоциаций рискованного генетического индекса и антропометрических показателей .....	73
3.1.4. Анализ взаимосвязи физической активности и антропометрических показателей .....	78
3.2. Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей исследуемых генов в обследованной выборке .....	85
3.3. Анализ факторов, ассоциированных с функциональными показателями в группе спортсменов .....	90
3.3.1. Поиск ассоциаций между показателями максимального потребления кислорода, максимальной анаэробной производительностью и полиморфизмом исследуемых генов .....	90
3.3.2. Ассоциативный анализ полиморфизма исследуемых генов и содержания лактата в крови до и после нагрузки .....	98
3.4. Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей генов разобщающих белков в популяциях мира .....	103
Заключение .....	111
Выводы .....	113
Благодарности .....	115
Список сокращений .....	116
Список литературы .....	119
Приложения .....	140

Приложение А. Средние значения морфологических показателей в зависимости от количества «бережливых» аллелей в контрольной группе. ....	140
Приложение Б. Результаты описательной статистики морфологических показателей в зависимости от количества «бережливых» аллелей в группе спортсменов. ....	141
Приложение В. Результаты описательной статистики морфологических показателей в зависимости от спортивной специализации спортсменов. ....	142
Приложение Г. Результаты описательной статистики для максимального потребления кислорода (мл/кг/мин) в группе квалифицированных спортсменов с учетом пола. ....	143
Приложение Д. Результаты описательной статистики для максимального потребления кислорода (мл/кг/мин) в группе квалифицированных спортсменов с учетом пола и специализации. ....	144
Приложение Е. Климатогеографические данные для территорий, на которых проживают исследуемые популяции. ....	145

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы и степень её разработанности**

Митохондриальные разобщающие белки (UCP - uncoupling proteins) были открыты более 40 лет назад в специализированной ткани плацентарных млекопитающих, бурой жировой ткани (Nicholls et al., 1978). После открытия активной бурой жировой ткани у взрослых людей эти белки стали интенсивно исследоваться в контексте борьбы с различными метаболическими заболеваниями, а также исследования основ аэробной и анаэробной производительности (Nedergaard et al., 2007; Ahmetov et al., 2008; Liu et al., 2013; Brondani et al., 2014; Pravednikova et al., 2020).

Разобщающие белки расположены на внутренней мембране митохондрий, где они задействованы в переносе протонов из межмембранного пространства в матрикс. Контролируемая разобщающими белками утечка протонов влечет за собой разобщение дыхания и синтеза АТФ и преобразование образовавшейся энергии в тепловую. Изменение электрохимического потенциала вследствие протонофорной активности разобщающих белков приводит к изменению в производстве активных форм кислорода (Toda et al., 2011). Долгое время считалось, что разобщающие белки (UCP1) обнаруживаются только в бурой жировой ткани плацентарных млекопитающих, где их роль ограничивается несократительным термогенезом. Однако, в 1997 году в мышечной, бурой, бежевой и белой жировой тканях, а также нервной ткани были открыты гомологичные UCP1 по своей аминокислотной последовательности белки UCP2 и UCP3 (Fleury et al., 1997; Boss et al., 1997; Hughes et al., 2009). Более того, за последние 20 лет разобщающие белки были обнаружены у многих животных, для которых не характерна гибернация, а также у растений и некоторых простейших (Ledesma et al., 2002). В связи с этим, предполагается, что функциональная роль разобщающих белков не ограничивается несократительным термогенезом и в настоящее время активно исследуется с помощью различных методов

молекулярной, клеточной и компьютерной биологии (Hughes et al., 2009; Gaudry et al., 2019).

Разобщающие белки играют важную роль в регулировании процессов энергетического метаболизма, и замены в последовательности генов разобщающих белков могут иметь различные последствия. Генетико-эпидемиологические и молекулярно-генетические исследования выявили ряд полиморфизмов генов разобщающих белков -3826 A/G *UCP1* (rs1800592), Ala55Val *UCP2* (rs660339), -55C/T *UCP3* (rs1800849), которые имеют различное фенотипическое проявление в зависимости от условий среды (Ahmetov et al., 2008; Brondani et al., 2014). Например, в условиях гипокинезии, так называемые «бережливые» рискованные варианты генов разобщающих белков (rs1800592, rs660339, rs1800849) ассоциированы с повышенным накоплением жировой массы (Brondani et al., 2014). Однако в условиях повышенного расхода энергии при интенсивной физической нагрузке, предполагается, что эти «бережливые» варианты могут стать преимуществом для их носителей, например, спортсменов (Ahmetov et al., 2008; Shirkhani et al., 2018; Schrauwen et al., 2002). В то же время в холодных климатических условиях преимуществом для носителей могут стать протекторные в случае ожирения варианты генов разобщающих белков (А аллель rs1800592 и Т аллель rs1800849), так как было показано, что протекторные варианты этих генов ассоциированы с усилением несократительного термогенеза в ответ на холодное воздействие (Nagai et al., 2003; Nau et al., 2008).

Важную координирующую роль в функционировании разобщающих белков играет *FTO*, некоторые варианты (rs9939609, rs1421085 и др.) которого ассоциированы с повышенным жиротложением у людей с низким уровнем физической активности (Frayling et al., 2007; Tews et al., 2013; Kilpelainen et al., 2011; Bondareva et al., 2019). Так, один из рискованных вариантов гена *FTO* (rs1421085) приводит к побурению белых адипоцитов, а недостаток *FTO* увеличивает уровень экспрессии генов разобщающих белков (Smemo et al. 2014; Merkestein et al. 2015; Claussnitzer M. et al. 2015).

Исследование морфофункциональных признаков представляет сложность, так как эти признаки зависят от огромного количества экзогенных и эндогенных факторов, а также от их нелинейного взаимодействия. Например, известно, что некоторые факторы среды модифицируют фенотипическое проявление ряда генов (Kilpelainen et al., 2011). В связи с этим, выявление таких факторов является перспективным направлением исследований как в контексте борьбы с ожирением и метаболическими заболеваниями, так и для предсказания спортивной одаренности.

**Целью исследования** является выявление ассоциаций между полиморфизмом генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849), *FTO* (rs9939609) и морфофункциональными особенностями испытуемых в группах с различным уровнем физической активности.

#### **Задачи исследования**

1. Выявить ассоциации полиморфизма исследуемых генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849), *FTO* (rs9939609) с морфофункциональными показателями у молодых взрослых с различным уровнем физической активности.
2. Проанализировать влияние комбинации некоторых средовых и генетических факторов на морфофункциональные показатели в двух возрастных группах: молодых взрослых 18-25 лет и подростков 11-18 лет.
3. Провести анализ ассоциаций генетических факторов с максимальным потреблением кислорода и максимальной анаэробной мощностью в группе спортсменов 18-25 лет различной специализации.
4. Провести анализ клинальной изменчивости полиморфизма генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) на примере различных популяций мира.

## Научная новизна

1. Проведен анализ ассоциаций между генетическими факторами и морфофункциональными показателями в обследованной выборке с учетом физической активности, пола и возраста. Подтверждены ассоциации полиморфизма -3826 A/G *UCP1* (rs1800592), Ala55Val *UCP2* (rs660339), -55C/T *UCP3* (rs1800849), *FTO* (rs9939609) и повышенным накоплением жировой массы в обследованной выборке.

2. Установлены значимые ассоциации суммарного вклада полиморфизма исследуемых генов («рискового индекса» - TGS, total genotype score) и предрасположенности к повышенному накоплению жировой массы в обследованной выборке.

3. Показано, что физическая активность объясняет больший процент вариабельности исследуемых антропометрических признаков и оказывает модифицирующее влияние на фенотипическое проявление исследуемых генетических вариантов. Влияние отдельных вариантов *UCP1* (rs1800592), (rs660339), *UCP3* (rs1800849), *FTO* (rs9939609), а также их суммарного вклада (TGS) на жиросотложение значимо выше в группе испытуемых, которые не занимаются регулярно спортом (контрольной группе), а в группе физически активных испытуемых (квалифицированных спортсменов) данная зависимость ослабевает или пропадает.

4. Показано увеличение частот встречаемости «бережливых» вариантов исследуемых генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) в группе спортсменов. Установлены значимые ассоциации полиморфизма гена *UCP2* (rs660339) с максимальным потреблением кислорода и максимальной анаэробной мощностью.

5. Проведен анализ клинальной изменчивости распределения частот встречаемости «термогенных» (протекторных) аллелей генов *UCP1* (А аллель), *UCP2* (С аллель), *UCP3* (Т аллель) в популяциях мира. Показана зависимость частоты встречаемости «термогенных» протекторных

вариантов генов разобщающих белков от климатогеографических факторов, что может говорить в пользу гипотезы о существовании отбора «термогенных» (протекторных) вариантов в северных популяциях.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Полученные данные расширяют и углубляют знания о фенотипическом проявлении полиморфизма генов -3826 A/G *UCP1* (rs1800592), Ala55Val *UCP2* (rs660339), -55C/T *UCP3* (rs1800849), *FTO* (rs9939609). Полученные ассоциации изученных полиморфизмов с морфофункциональными показателями в группах нетренированных испытуемых помогают раскрыть механизмы метаболических расстройств, широко распространённых в мире: ожирения, инсулиновой резистентности и других, связанных с энергетическим метаболизмом. Полученные результаты вносят вклад в понимание влияния генетических факторов на физическую работоспособность спортсменов. Результаты работы позволяют определить степень влияния генетических и средовых факторов на морфофункциональные показатели групп с различным уровнем физической активности. Продемонстрирована важность комплексного анализа материала. Введение в научный оборот данных по антропогенетике (168 индивидов) дополнит уже имеющиеся базы данных. Установленные закономерности и результаты могут использоваться в практике спортивного отбора и контроля в различных видах спорта. В частности, изученные полиморфизмы могут войти в набор генетических маркеров высокой аэробной и анаэробной работоспособности при спортивной ориентации и отборе.

### **Методы исследования**

При выполнении диссертационного исследования был использован комплексный подход, включающий сравнительный анализ частот встречаемости аллелей генов -3826 A/G *UCP1* (rs1800592), Ala55Val *UCP2* (rs660339), -55C/T *UCP3* (rs1800849), *FTO* (rs9939609), антропометрическое обследование и функциональное тестирование в обследованной выборке. Для

выявления экзогенных и эндогенных факторов, ассоциированных с морфофункциональными признаками в обследованной выборке, были применены различные методы классификации и регрессии. Анализ клинальной изменчивости частот встречаемости аллелей и генотипов исследуемых генов производился на основе собственных данных и данных из открытых источников.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Полиморфизм генов -3826 A/G *UCP1* (rs1800592), Ala55Val *UCP2* (rs660339), -55C/T *UCP3* (rs1800849), *FTO* (rs9939609) ассоциирован с антропометрическими показателями, при этом физическая активность объясняет больший процент вариабельности исследованных признаков, чем суммарно полиморфизмы исследованных генов.

2. Спортсмены достоверно отличаются от контрольной выборки неспортсменов по распределению частот встречаемости «бережливых» генотипов разобщающих белков, при этом у спортсменов выявлены значимые ассоциации полиморфизма Ala55Val гена *UCP2* (rs660339) с максимальным потреблением кислорода и максимальной анаэробной мощностью.

3. Выявлена зависимость частоты встречаемости «термогенных» протекторных аллелей генов разобщающих белков (*A\*UCP1*, *C\*UCP2*, *T\*UCP3*) в различных популяциях человека от географической широты и комплекса климатических факторов.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов обеспечивается применением современных методов исследования и анализа данных, адекватных установленным задачам. Все измерения проводились с использованием верифицированных инструментов. Полученные результаты изучены на достоверность при помощи различных пакетов в компьютерной среде R, версия 3.5.1 (RStudio Team, 2015). Апробация результатов включала их представление в виде докладов на различных конференциях, в том числе: Beige and brown Fat: Basic

Biology and Novel Therapeutics 2015 (2015, Юта, США) II Всероссийская научно-практическая конференция по вопросам спортивной науки в детском и адаптивном спорте (2017, Москва, Россия), Геномное секвенирование и редактирование 2019 (2019, Москва, Россия), III Всероссийская научно-практическая конференция по вопросам спортивной науки (2019, Москва, Россия), 12th International Symposium on Computer Science in Sport (2019, Москва, Россия), icSports 2019 (2019, Вена, Австрия).

### **Структура и объем работы**

Диссертация состоит из Введения, трех глав, Выводов и библиографии. Общий объем диссертации, включая 19 рисунков и 25 таблиц, составляет 145 страниц, в том числе библиографический список, состоящий из 205 наименований на 19 страницах.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Разобщающие белки (UCP-uncoupling proteins) представляются перспективными кандидатами для борьбы с ожирением и для исследования основ аэробной и анаэробной производительности у спортсменов (Brondani et al., 2014; Ahmetov et al., 2008; Liu et al 2013). Разобщающие белки вследствие их протонофорной активности влияют на энергетический метаболизм организма. Эти белки задействованы в регулировании температуры тела, массы тела, энергетического баланса и метаболизма глюкозы и липидов (Fleury et al., 1997; Canon et al., 2004; Parton et al., 2007; Diano et al., 2014; Toda et al., 2016). Исследования в области молекулярной физиологии и генетической эпидемиологии показали, что в условиях гипокинезии или переизбытка поступающих калорий некоторые из вариантов генов *UCP*, а именно *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849), ассоциированы с повышенным риском развития таких заболеваний, как диабет второго типа и ожирение (Esterbauer et al 1998; Ho Cha et al., 2008; Srivastava et al 2010; Brondani et al., 2014; Nakatochi M et al., 2015; Chathoth et al., 2018). В условиях гипокинезии замены в генах *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849), снижающих эффективность разобщения, ассоциированы с более высокими показателями индекса массы тела (ИМТ) и жировой массы в абдоминальной области (Ho Cha et al., 2008; Srivastava et al 2010). Однако неизвестно влияние этих вариантов на морфологические показатели в условиях повышенного расхода энергии, например, у квалифицированных спортсменов. Молекулярно-генетические исследования показали, что аэробная физическая активность приводит к изменению уровня экспрессии генов *UCP2* и *UCP3* (Schrauwen et al., 1999; Boss et al 1998). Предполагается, что в случае усиленного расхода энергии, снижение активности процессов разобщения в мышцах может стать преимуществом для спортсменов. В то же время в ответ на физические нагрузки, направленные на развитие силы и мощности, уровень экспрессии *UCP2* возрастает, что может быть связано с защитной функцией от активных форм кислорода в клетках мышц (Liu et al

2013; Toda et al 2016). Ранее для этих белков была выявлена защитная функция клеток от активных форм кислорода при развитии различных состояний, вызванных гипоксией и последующей реоксигенацией (Toda et al 2016). Таким образом, предполагается, что разнонаправленные физические нагрузки приводят к различным последствиям. В случае анаэробной физической активности происходит увеличение уровня экспрессии генов разобщающих белков, в то время как аэробная физическая нагрузка приведет к снижению уровня экспрессии.

При исследовании таких многокомплексных показателей, как ИМТ, жировой компонент или максимальное потребление кислорода, необходимо учитывать сложные генно-средовые и ген-генные взаимодействия. Известно, что физическая активность может модулировать фенотипическое проявление некоторых генов. Например, известно, что физическая активность нивелирует влияние А/Т полиморфизма гена *FTO* (Kilpeläinen et al., 2010; Bondareva et al., 2019). В условиях гипокинезии этот вариант (rs9939609) ассоциирован с повышенным набором жировой массы, его носители набирают вес быстрее и весят в среднем больше, чем носители исходного генотипа (Frayling et al., 2008). Предполагается, что *FTO* может быть задействован в адипогенезе бурой жировой ткани (Fischer et al., 2009). Нокаут гена *FTO* у мышей приводит к превращению белой жировой ткани в бежевую (Fischer et al., 2009). Так, один из вариантов в интронной области гена *FTO* (rs1421085) ассоциирован со сниженной активностью репрессора *ARID5B*, который, в свою очередь, приводит к увеличению экспрессии генов *IRX3* и *IRX5* и как следствие снижению образования бежевых адипоцитов (Smeto et al. 2014). Предполагается, что для некоторых вариантов генов *FTO* и *UCP* может наблюдаться эффект взаимодействия на морфологические показатели, как это было показано для вариантов -3826A>G *UCP1* (rs1800592) и Trp64Arg *ADRB3* (Valve et al., 1998).

Таким образом, «бережливые» варианты генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339) и *UCP3* (rs1800849), которые снижают эффективность разобщения, с одной стороны, могут быть ассоциированы с более высоким риском развития метаболических заболеваний в условиях гипокинезии. С другой стороны, в условиях повышенного расхода энергии, например, в случае квалифицированных спортсменов, стать преимуществом для их носителей.

### 1.1. Строение и эволюция генов разобщающих белков

Разобщающие белки были открыты около 40 лет назад в бурой жировой ткани мелких плацентарных млекопитающих, однако интенсивно они стали исследоваться последние 15 лет после открытия активной бурой жировой ткани у взрослого человека (Nicholls et al., 1978). Разобщающие белки являются митохондриальными белками и участвуют в переносе протонов через внутреннюю мембрану в матрикс митохондрий из межмембранного пространства (Jiménez-Jiménez et al., 2006). При этом синтеза АТФ не происходит. Протонофорная активность разобщающих белков приводит к снижению электрохимического градиента, а энергия, необходимая для синтеза АТФ, преобразуется в тепловую энергию. После открытия белка *UCP1* в митохондриях бурой жировой ткани мелких плацентарных млекопитающих, долгое время считалось, что разобщающие белки являются поздним приобретением эволюции и их гены экспрессируются только в бурой жировой ткани некоторых млекопитающих (Ledesma et al., 2002). Однако, в 1997 году были открыты белки *UCP2* и *UCP3*, которые гомологичны по своей аминокислотной последовательности *UCP1* (Fleury et al., 1997).

У человека и других млекопитающих обнаружены 5 генов разобщающих белков, экспрессирующихся в разных тканях организма: *UCP1*, *UCP2*, *UCP3*, *UCP4* и *VMPC1* (Рис. 1). Уровень экспрессии *UCP1* наибольший в бурой жировой ткани (Villarroya et al., 2017). *UCP2* активно экспрессируется в клетках гипоталамуса, поджелудочной железы, мышечных клетках, бежевой и белой жировой ткани, а также макрофагах (Shadel et al., 2015; Tagen et al.,

2009). Экспрессия гена *UCP3* ограничивается скелетной мускулатурой и бурой жировой тканью (Solanes et al., 1997). Гистологические исследования мышечной ткани человека и некоторых млекопитающих показали, что активность белка *UCP3* выше в гликолитических мышечных волокнах, чем в окислительных (Solanes et al., 1997).

Сравнительный филогенетический анализ выявил наиболее дивергентные гены, которые кодируют белки *VMPC1* и *UCP4* млекопитающих (Krauss et al., 2005). Белки *VMPC1* и *UCP4* обнаружены в клетках мозга и почках (Krauss et al., 2005). Аминокислотная последовательность *VMPC1* и *UCP4* совпадает с *UCP1* на 33% и 30% соответственно (Krauss et al., 2005).

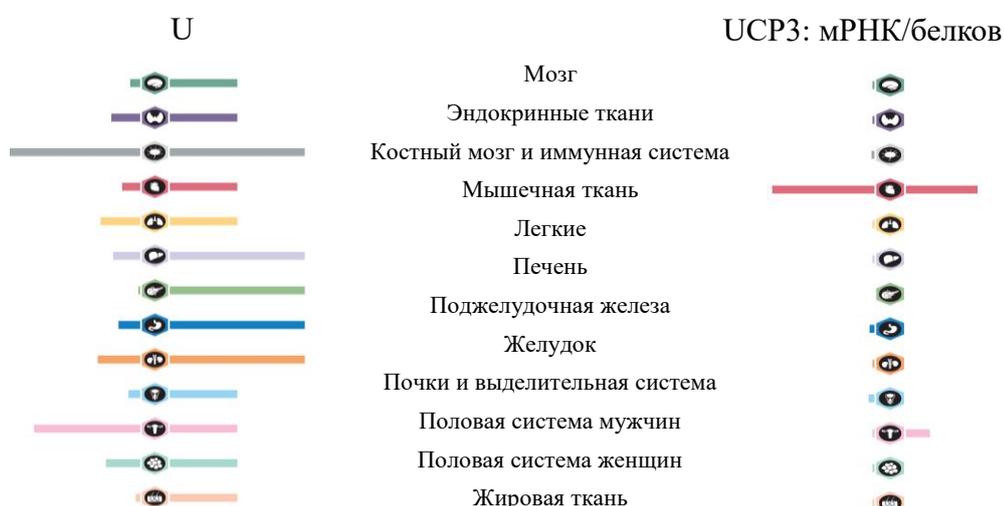


Рисунок 1. Профиль экспрессии генов *UCP2* и *UCP3* в тканях организма человека (данные Uhlén et al., 2015).

Структура гена *UCP1* консервативна среди млекопитающих, состоит из 6 экзонов, которые кодируют 6 трансмембранных доменов (Рис. 2). Ген *UCP1* расположен на 4 хромосоме (4q31.21) и имеет длину в 13 000 пар оснований, включающий кодирующий регион в 9000 пар оснований (Cassard et al., 1990). 5' нетранслируемая область гена *UCP1* содержит сайты для прикрепления различных факторов транскрипции. Исследуемая замена rs1800592 в гене *UCP1* произошла в 5' нетранслируемой области в 3826 пар оснований от сайта

инициации транскрипции. Предполагается, что исследуемая замена rs1800592 приводит к снижению уровня экспрессии (Esterbauer et al., 1998).

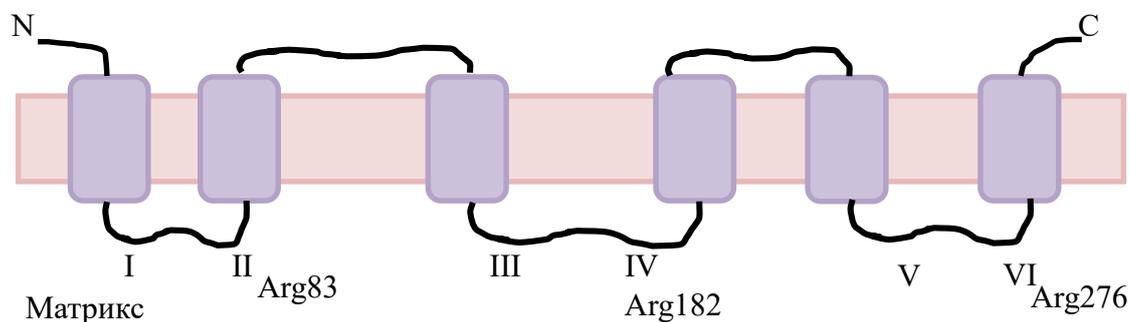


Рисунок 2. Модель строения белка UCP1, расположенного на внутренней мембране митохондрий (Berardi et al 2011)

Последовательности генов *UCP2* и *UCP3* схожи с *UCP1* на 59% (Fleury et al., 1997, Vidal-Puig et al., 1997). Структура гена *UCP2* практически не отличается от *UCP1* за исключением того, что этот ген имеет 2 дополнительных 5' нетранслируемых экзона (Solanes et al., 1997). Ген *UCP3* состоит из 7 экзонов и расположен на хромосоме 11 (11q13), примыкая к гену *UCP2*. *UCP2* и *UCP3* находятся рядом на 11 хромосоме на расстоянии в 10 000 пар оснований (Solanes et al., 1997). Предполагается, что происхождение генов *UCP2* и *UCP3* связано с явлением дупликации генов. Гены *UCP2* и *UCP3* на 70% идентичны (Solanes et al., 1997). Экзон 7 в структуре гена *UCP3* кодирует 37 аминокислотных остатков со стороны С-конца. Следует упомянуть, что *UCP3* имеет 2 транскрипта, длинный и короткий. Короткий транскрипт *UCP3* теряет фрагмент в 37 аминокислотных остатков со стороны С-конца. Экзон 7, который кодирует этот участок, гомологичен участкам в *UCP1* и *UCP2*. Считается, что этот участок связывается с пуриновыми нуклеотидами, которые ингибируют разобщающие белки (Solanes et al., 1997). В связи с этим предполагается, что короткий вариант *UCP3* может терять свою активность.

Впервые разобщающие белки были обнаружены у плацентарных млекопитающих, для которых характерна сезонная спячка (Nicholls et al., 1978). Позднее разобщающие белки были обнаружены почти у всех

представителей тетрапод (Hunt et al., 2018). Поиск в базе данных Ensembl показал, что гены разобщающих белков *UCP1*, *UCP2* и *UCP3* обнаружены почти у всех представителей эукариотических организмов (Hunt et al., 2018). Предполагается, что на ранних этапах эволюции позвоночных животных произошла дупликация генов разобщающих белков (*UCP2* и *UCP3*), а затем потеря генов *UCP1* и *UCP2* у птиц и рептилий около 300 миллионов лет назад (Hughes et al., 2008; Gaudry et al., 2017; Nowack et al., 2017). Гены разобщающих белков обнаружены не только у позвоночных животных, но и растений и некоторых простейших (Vercesi et al., 1995; Jarmuszkiewicz et al., 1999; Woyda-Ploszczyca et al., 2017). В 1995 году Vercesi и его коллеги выделили UCP-подобные белки, или PUMP, из клубней картофеля *Solanum tuberosum* (Vercesi et al., 1995). Авторы исследования пришли к выводу, что эти белки могут быть схожи с белками семейства UCP млекопитающих по своей работе и имеют схожую с ними структуру. Позднее гомологи разобщающих белков были обнаружены у многих видов растений, у которых наблюдается климактерий (временный резкий подъем клеточного дыхания у плодов в конце их созревания). Например, в тканях Резуховидки Таля (*Arabidopsis thaliana*) обнаруживается разобщающий белок митохондрий atPUMP, уровень его синтеза возрастает в ответ на снижении температуры окружающей среды (Watanabe et al., 1999). Этот белок на 80% идентичен PUMP картофеля, включает консервативные мотивы, характерные для этого белка. Считается, что физиологическая роль PUMP в растительных клетках главным образом ассоциирована с регуляцией процессов производства активных форм кислорода, количество которых резко возрастает при снижении температуры (McDonald et al., 2018). У грибов гомологов разобщающих белков не обнаружено, но гомолог разобщающих белков (AcUCP) был найден в митохондриях простейших, почвенной амебы *Acanthamoeba castellanii* (Jarmuszkiewicz et al., 1999). Предполагается, что у простейших AcUCP в первую очередь направлен на борьбу с активными формами кислорода (Antos-Krzeminska et al., 2018). Так, при индукции в геном

*Saccharomyces* вектора, содержащего ген *AcUCP*, повышалась их устойчивость к воздействию активных форм кислорода (Antos-Krzeminska et al., 2018).

Несократительный термогенез в бурой жировой ткани, где активно экспрессируются гены разобщающих белков, позволяет организмам поддерживать постоянную температуру и активизируется, когда организм нуждается в дополнительном производстве тепла. Считается, что бурая жировая ткань появилась у млекопитающих 150 миллионов лет назад, позволяя им не зависеть от двигательной функции и сократительного термогенеза (Gaudry et al., 2017). Данный вид ткани отвечает за производство тепла в ответ на холодовой стимул (Cannon et al., 2004; Yoneshiro et al., 2013). Активность бурой жировой ткани у человека может варьироваться в зависимости от различных эндогенных и экзогенных факторов. Например, у людей, с ожирением наблюдается снижение активности бурой жировой ткани (Cypess et al., 2009; Brendle et al., 2018). В условиях холода наблюдается повышение активности бурой жировой ткани у здоровых людей (Leitner et al., 2019). Предполагается, что эволюция человека могла быть направлена в сторону усиления активности бурой жировой ткани в условиях активной миграции человека в северные районы (Racimo et al., 2017).

Миграция представителей *Homo sapiens* из Африки началась около 200 - 100 тысяч лет назад (Roberts et al., 2018). Условия, в которые попадали представители *H. sapiens*, сильно отличались от условий Восточной Африки (Roberts et al., 2018). Как предполагается, *H. sapiens* или, возможно, другие представители рода *Homo*, могли достигнуть северных широт около 45 000 тысяч лет назад (Pitulko et al., 2016). Усиление производства тепла в бурой жировой ткани за счет несократительного термогенеза могло стать преимуществом в холодных климатических условиях, так как этот процесс позволял организмам эффективнее адаптироваться к таким условиям. Так, у северных популяций следы положительного отбора наблюдаются в генах

энергетического метаболизма (Cardona et al., 2016; Chen et al., 2018; Fumagalli et al., 2015). У автохтонных популяций, проживающий на территории современной Гренландии наблюдается увеличение частот встречаемости генов, задействованных в регуляции несократительного термогенеза (Fumagalli et al., 2015). Однако, при исследовании геномов *Homo neanderthalensis* и *Homo denisovensis*, которые как известно сталкивались с экстремальными условиями среды, не было обнаружено следов положительного отбора в этих генах (Sazzini et al., 2014). Авторы предполагают, что это может быть связано с полигенной адаптацией (polygenic adaptation), которая приводит к незначительным изменениям в частотах встречаемости аллелей множества генов, задействованных в регуляции теплообмена (Sazzini et al., 2014).

Помимо адаптации к холоду бурая жировая ткань помогает организму справиться с повышенным поступлением калорий, и увеличение ее активности может снизить риск развития ожирения (Virtanen et al., 2009; Vijgen et al., 2011; Betz et al., 2018). Постепенное изменение условий жизни предков человека, увеличение количества потребляемых калорий привело к тому, что излишний набор веса становится не таким редким явлением, как это было ранее (Stunkard et al., 1998). Возникновение сельского хозяйства в Европе привело к значимому смещению частот встречаемости аллелей определенных генов (Mathieson et al., 2015). Отбору в этом случае подверглись гены толерантности к лактозе, метаболизма глюкозы и жирных кислот и некоторые гены, белки которых задействованы в иммунном ответе (Mathieson et al., 2015). Так, в европейской популяции наблюдается отбор вариантов *FTO* - «гена ожирения» (Babenko et al., 2019). Частота встречаемости гаплотипа *FTO*, ассоциированного с ожирением, самая высокая в европейской популяции, а самая низкая - в африканской (Babenko et al., 2019). Ранее было показано, что *FTO* задействован в регуляции термогенеза в митохондриях адипогенных предшественников и таким образом может быть ассоциирован с ожирением

(Claussnitzer et al., 2015). Замена нуклеотида Т на С (rs1421085) в последовательности гена *FTO* приводит к супрессии репрессора *ARID5B* и увеличению экспрессии *IRX3*, что в итоге приводит к превращению прогениторных адипогенных клеток в клетки белого жира (Claussnitzer et al., 2015). Что именно могло повлиять на отбор этих вариантов у европейских популяций, остается неизвестным: климатические условия, развитие сельского хозяйства или какие-то другие случайные факторы.

### **Краткое заключение по разделу**

Широкое распространение гомологов разобщающих белков среди почти всех групп эукариотических организмов и их широкий профиль экспрессии, наводит на мысль, что их функциональная роль может быть гораздо шире, чем предполагалось ранее. Роль некоторых представителей семейства разобщающих белков еще предстоит установить.

### **1.2. Разобщающие белки: строение и функции**

Разобщающие белки относятся к суперсемейству мембранных митохондриальных белков (Ledesma et al., 2002). Они имеют схожее строение и функции с другими мембранными белками данного суперсемейства (Ledesma et al., 2002). Несмотря на то что *UCP1*, *UCP2* и *UCP3* показывают высокую идентичность, замены в последовательностях, кодирующих функциональные домены, могут приводить к функциональной специфичности. Показано, что аминокислотные замены в последовательности *UCP1* может изменять его протонную проводимость (Jiménez-Jiménez et al., 2006; Hoang et al., 2012).

Разобщающие белки являются трансмембранными белками, с молекулярной массой от 31 до 34 кДа. Считается, что разобщающие белки являются гомодимерами или, возможно, гомотетрамерами (Berardi et al 2011). Некоторые исследователи считают, что разобщающие белки могут действовать как мономеры (Hoang et al., 2012). Мономер белка имеет 3 повтора

в своей структуре длиной примерно 100 аминокислот. Каждый повтор содержит 2 гидрофобных участка, которые, таким образом, формируют 6 альфа-цепей (I-VI), пронизывающие липидную мембрану (Рис. 2). Альфа-цепи каждого повтора соединены гидрофильными петлями, которые обращены к матриксу. Предполагается, что альфа-цепи формируют гидрофильный канал в коре белка, а гидрофильные петли формируют ворота.

Работа разобщающих белков регулируется жирными кислотами и пуриновыми основаниями (АТФ, АДФ, ГТФ и ГДФ). Жирные кислоты активируют разобщающие белки, а пуриновые основания ингибируют (Nicholls et al., 2006, Garlid et al 1996). Выделяют 4 стадии работы разобщающих белков (Nicholls et al., 2006). Наибольшая проводимость протонов наблюдается в присутствии жирных кислот (S-I). Во вторую стадию (S-II) проводимость снижается, достигая минимума к четвертой стадии (S-IV). Минимальная проводимость наблюдается в отсутствии жирных кислот и присутствии нуклеозидтрифосфатов (Табл. 1).

Таблица 1. Стадии работы UCP1 по данным Nicholls (Nicholls, 2006): ЖК- жирные кислоты, НТФ - нуклеозиды с тремя фосфатами (АТФ или ГТФ),  $\Delta p$  – изменение градиента.

Стадия	ЖК	НТФ	Транспорт протонов	Транспорт хлоридов	$\Delta p$ , мВ
S-I	+	-	Очень высокий	Высокий	<10
S-II	-	-	Высокий, активный	Высокий	80
S-III	+	+	Средний, неактивный	Низкий, неактивный	180
S-VI	-	+	Низкий, неактивный	Низкий, неактивный	220

Ингибирование белка пуриновыми нуклеотидами происходит в 3 этапа (Krauss et al., 2005). Первый этап включает в себя вхождение пуринового нуклеотида в гидрофильный карман, где сахар связывается с гидрофильной петлей между альфа-цепями V и VI (Рис. 1). Фосфат пуринового нуклеотида связывается с аргинином в позиции 182 в петле IV. Следующий этап включает протонирование глутаминовой кислоты в позиции 190 и связывание фосфатной группой трифосфата с аргинином в позиции 83. Третья стадия

включает связывание аргинина в позиции 276 с последней фосфатной группой трифосфата и смене конформации белка. Связывание с трифосфатом приводит к ингибированию транспортной активности разобщающих белков.

Аминокислотные замены в функциональных доменах могут приводить к изменению транспортной проводимости белка. Так, у белка UCP2 существуют 2 консервативных участка в матриксе и межмембранном пространстве, где формируются солевые мостики. Транспорт субстратов может быть связан с открытием и закрытием каналов через формирование или разрушение этих мостиков (Hoang et al., 2012). Анализ структуры UCP2 выявил, что положительно заряженные аминокислотные остатки формируют воронкообразную структуру, которая открывается в матрикс. Один из доменов со стороны межмембранного пространства также формирует такую же воронкообразную структуру, которая может быть доступна для катионов или анионов, например, хлоридов (Hoang et al., 2012). Таким образом, замены в последовательности белка могут изменять транспортную активность разобщающих белков и влиять на эффективность разобщения.

### **Транспорт протонов и поддержание баланса в производстве активных форм кислорода**

Разобщающие белки выполняют транспортную функцию. Изменение электрохимического градиента вследствие транспорта протонов через внутреннюю мембрану способствует поддержанию баланса в производстве активных форм кислорода. Существует две модели, описывающие транспорт ионов с помощью разобщающих белков: флип-флоп транспортный переход и кофакторная модель (Kraus et al., 2005; Garlid et al., 1996; Hoang et al., 2012). Первая модель, или флип-флоп транспортный переход, предполагает, что протонированная жирная кислота может транспортироваться через липидную мембрану с помощью флип-флоп перехода (Garlid et al., 1996). Анион жирной кислоты транспортируется обратно в межмембранное пространство через

неизвестный механизм с помощью разобщающих белков (Kraus et al., 2005). Вторая модель, или кофакторная модель, предполагает, что карбоксильная группа жирной кислоты может быть связана с транспортом протонов через мембрану (Hoang et al., 2012). Активность переноса протонов разобщающими белками напрямую зависит от липидного состава мембраны и встроенных в нее белков (Brown et al., 2010). На структуру белков внутренней мембраны митохондрий влияют молекулы, окружающие их, например, кардиолипин (Hoang et al., 2013). Кардиолипин является одним из главных компонентов внутренней мембраны митохондрий и представляет собой дифосфатидилглицерол. От его содержания в мембране митохондрий зависит транспортная функция разобщающих белков (Hoang et al., 2013). Транспортная функция разобщающих белков увеличивается при увеличении концентрации кардиолипина в мембране (Hoang et al., 2013).

Процесс контролируемой утечки протонов является биохимически значимым, так как, снижая электрохимический потенциал, клетка поддерживает баланс в производстве активных форм кислорода (АФК), которые образуются в процессе передачи электронов в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ). Производство активных форм кислорода является неизбежным следствием аэробного метаболизма. При определенных условиях производство активных форм кислорода может возрастать. Например, при активации бурой жировой ткани холодом (4°C) повышалось производство активных форм кислорода (супероксида, гидроперекиси липидов, перекись водорода) в митохондриях (Chouchani et al., 2016). При патологических условиях, как при метаболическом синдроме и ожирении, происходит повышенное производство активных форм кислорода. Существуют несколько механизмов обеспечения баланса в поддержании активных форм кислорода. Одной из ступеней регуляции могут выступать разобщающие белки митохондрий. За счет разобщающих белков, которые снижают потенциал, клетка поддерживает баланс в производстве активных форм кислорода, так как

продукция супероксида в матриксе митохондрий высокочувствительна к изменению протондвижущей силы. Изменение электрохимического градиента вследствие протонофорной активности разобщающих белков приводит к снижению производства активных форм кислорода (Toda et al., 2016). В экспериментальных исследованиях на культуре клеток мозга мышей было показано, что недостаток этих белков может приводить к гибели клетки при патологических условиях (Toda et al., 2016). Например, избыточная экспрессия *UCP2* является одним из защитных механизмов в условиях ишемии и травмы мозга (Toda et al., 2016). У мышей при 3 минутной сублетальной ишемии и 10-минутной ишемии 2 днями позже наблюдалось повышенное образование мРНК *UCP2* в клетках гиппокампа, что может говорить о защитной роли *UCP2*. Также в нейронах коры головного мозга *UCP2* ингибирует каспазы-3, индуцированные глюкозной и кислородной депривацией, и запускающие апоптоз. В исследовании, проведенном на культуре клеток нефронов (proximal convoluted tubule) мышей, наблюдалась повышенная экспрессия мРНК *UCP2* и *UCP3* в условиях гипоксии с последующей реоксигенацией. Так как реоксигенация может быть ассоциирована с гиперполяризацией внутренней мембраны митохондрий и как следствие повышенной продукцией активных форм кислорода, разобщающие белки могут выступать как одна из ступеней адаптации клеток к гипоксии и последующей реоксигенации (Chouchani et al., 2016; Toda et al., 2016).

Существует предположение, что *UCP2* и *UCP3* могут участвовать в поддержании гомеостаза кальция (Trenker et al., 2007; Waldeck-Weiermair et al., 2010; Madreiter-Sokolowski et al 2016). Нокаут генов *UCP2* и *UCP3* приводит к снижению транспорта кальция в митохондрии (Madreiter-Sokolowski et al 2016). Транспорт кальция осуществляется митохондриальным трансмембранным белком унипортером кальция (MCU). Он позволяет кальцию транспортироваться из цитозоля в митохондрию. Транспорт кальция через унипортер регулируется мембранным потенциалом и отношением

содержания кальция в цитозоле к содержанию в митохондрии. Для работы комплекса MCU необходимы белки MICU1 и MICU2, которые подвергаются посттрансляционным модификациям. Протеинаргининметилтрансфераза 1 (PRMT1) регулирует метилирование MICU1 в позиции 455. Данная модификация приводит к снижению поступления кальция в митохондрию. Белки UCP2 и UCP3 регулирует метилированный MICU1 в условиях повышенной активности PRMT1. Белок UCP3, снижая электрохимический градиент, уменьшает производство АТФ и таким образом модулирует активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы (SERCA) и, как следствие, транспорт кальция (De Marchi et al., 2011).

Предполагается, что разобщающие белки могут осуществлять транспорт анионов (Garlid et al., 1996). Наличие положительно заряженных аминокислотных остатков в доменах, расположенных ближе к матриксу, за счет электростатического взаимодействия может привлекать анионы к каналу.

### **Регуляция гомеостаза глюкозы и липидов**

Профиль экспрессии генов разобщающих белков не ограничивается бурой жировой тканью. Эти белки обнаруживаются во многих тканях, где, как предполагается, они могут быть задействованы в регуляции метаболизма глюкозы и липидов, а также пищевого поведения (Parton et al., 2007; Diano et al., 2014; Toda et al., 2016).

Клеточный и общий метаболизм глюкозы регулируется аркуатным и вентромедиальным ядрами гипоталамуса (Parton et al., 2007; Grayson et al., 2013). Их функции заключаются в мониторинге количества доступных питательных веществ для обеспечения нужд организма, регуляции адаптации периферических тканей к избытку или недостатку глюкозы, определению чувства насыщения и регуляции пищевого поведения (Parton et al., 2007). Например, при избытке глюкозы активируются зоны мозга, ответственные за чувство насыщения и усиление утилизации глюкозы периферическими

тканями. При недостатке глюкозы, наоборот, происходит активация других областей, которые также изменяют чувство насыщения, но в дополнение изменяют метаболизм липидов в тканях (Parton et al., 2007). В клетках гипоталамуса, POMC нейронах, оценивается метаболическая доступность глюкозы (Parton et al., 2007). Нарушение работы этих клеток может приводить к развитию метаболических заболеваний, таких как диабет второго типа или ожирение, так как они являются первой ступенью в регуляции уровня глюкозы (Parton et al., 2007). Предполагается, что белок UCP2 может модулировать работу этих клеток (Parton et al., 2007; Diano et al., 2014). UCP2, снижая выработку АТФ в клетках POMC, снижает их проводимость, таким образом влияя на метаболизм глюкозы (Parton et al., 2007; Diano et al., 2014).

Более того белок UCP2 в нервных клетках вентромедиального ядра гипоталамуса активирует белок DRP1 (dynamin-related peptide 1), который регулирует процесс деления митохондрий. (Richard et al., 1998; Toda et al., 2016). DRP1, белок, который в активной фосфорилированной форме связан с внешней мембраной митохондрий, необходим для процесса фрагментации митохондрий (Smirnova et al., 2001). Повышение концентрации глюкозы значительно увеличивает отношение pDRP1/DRP1, то есть фосфорилированной активной формы к неактивной. При систематическом повышении концентрации глюкозы UCP2, через регуляцию синтеза АТФ, играет ключевую роль в фосфорилировании DRP1, делении митохондрий, уменьшении производства активных форм кислорода и активации клеток вентромедиального ядра гипоталамуса (Toda et al., 2016).

### **Краткое заключение по разделу**

Функциональная роль разобщающих белков интенсивно исследуется последнее десятилетие с помощью различных методов молекулярной биологии и функциональной геномики. Первоначально предполагалось, что разобщающие белки задействованы в срочном производстве тепла. Однако

позднее было показано, что разобщающие белки задействованы в регуляции метаболизма глюкозы и липидов, транспорте протонов, кальция и некоторых анионов, а также в поддержании баланса в производстве активных форм кислорода. Предполагается, что разобщающие белки могут быть задействованы в защите организма от ожирения.

### **1.3. Регуляция экспрессии генов разобщающих белков**

Регуляция транскрипции генов разобщающих белков активно изучалась последнее десятилетие в контексте исследования причин развития ожирения (Esterbauer et al., 1998). Предполагается, что замены в регуляторных сайтах могут изменить транскрипционную активность генов (Villaroya et al., 2016; Lima et al., 2019). Исследуемые варианты -3826A>G (rs1800592) и -55C/T (rs1800849) в генах *UCP1* и *UCP3* расположены в регуляторных областях. Например, исследуемая замена -3826A>G (rs1800592) в гене *UCP1* произошла недалеко от участка ДНК–энхансера, к которому прикрепляются различные транскрипционные факторы (Villaroya et al., 2016). Исследования в области функциональной геномики показали, что замена -3826A>G (rs1800592) в *UCP1* приводит к снижению уровня его экспрессии (Esterbauer et al., 1998). Анализ регуляторных элементов является важным этапом в определении функциональных последствий замен.

#### **цАМФ-зависимая активация транскрипции генов UCP**

Увеличение экспрессии разобщающих белков наблюдается в ответ на холодовой стимул (Krauss et al., 2005). При активации симпатической нервной системы происходит выделение катехоламинов из периферических нервных окончаний. Норадреналин активирует  $\beta$ -адренорецепторы и, как следствие, происходит повышение внутриклеточной концентрации цАМФ. С сайтом, куда прикрепляется транскрипционный фактор CREB, связывается цАМФ, запуская транскрипцию разобщающих белков (Kozak et al., 1994). цАМФ также активирует протеинкиназу А. Протеинкиназа А стимулирует липолиз

эндогенных триглицеридов через гормон-чувствительную липазу (Kozak et al., 1994). Активированная гормон-чувствительная липаза переносится в липидную каплю, где отщепляет одну жирную кислоту от диглицеридов. Протеинкиназа A также фосфорилирует перилипин, который необходим для транспорта гормон-чувствительной липазы. Также, возможно, фосфорилирование перелипина приводит к активации фактора CGI-58, который может быть ответственен за усиление активности липазы ATGL (Рис. 3). Образованные в процессе липолиза свободные жирные кислоты используются в качестве субстрата для  $\beta$ -окисления и усиления работы UCP1.

Помимо катехоламинов, в ответ на острую или хроническую стрессовую нагрузку, например, физическую нагрузку или гипогликемию, происходит образование гормонов стресса (Peckett et al., 2011; Morgan et al., 2011). Как и катехоламины, глюкокортикоиды выделяются в ответ на активацию симпатической нервной системы через систему гипоталамус-гипофиз-надпочечники. В ответ на стрессовый стимул из гипоталамуса происходит выделение кортиколиберинов, которые стимулируют выработку кортикотропного гормона гипофиза, который, в свою очередь, связываясь с цитоплазматическими рецепторами, индуцирует выработку надпочечниками глюкокортикоидов. Выброс гормонов стресса помогает организму поддерживать гомеостаз при стрессовой нагрузке, активируя катаболические процессы. Глюкокортикоиды регулируют активность ферментов и гормонов, участвующих в процессе распада триглицеридов, через транскриптомные факторы. Глюкокортикоиды увеличивают липолиз в зрелых адипоцитах, активируя гены, кодирующие липазу ATGL и гормон-чувствительную липазу (Рис. 3).

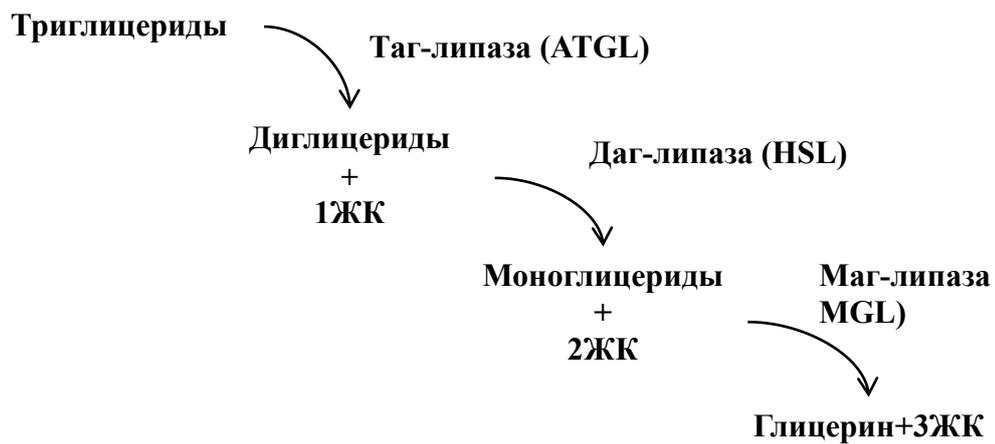


Рисунок 3. Липолитический каскад распада триглицеридов по Стайнбергу.

Глюкокортикоиды так же, как и катехоламины, могут действовать через  $\beta$ -адреналовый путь, изменяя уровень цАМФ, которая регулирует уровень транскрипции разобщающих белков (Morgan et al., 2011). Известно, что они уменьшают активность протеинкиназы В и, как следствие, экспрессию и активность фосфодиэстеразы. Снижение активности фосфодиэстеразы приводит к активации липолиза. Таким образом, катехоламины и глюкокортикоиды усиливают образование жирных кислот из триглицеридов, а образовавшиеся жирные кислоты активируют разобщающие белки.

### Активация экспрессии UCP через TR и IRS

В дистальном регионе *UCP1* расположен участок HRE – элемент отклика гормона, с которым связан рецептор тиреоидных гормонов (TR). Связывание тиреоидных гормонов с TR усиливают транскрипцию гена *UCP1* (Cassard et al., 1994; Valverde et al., 2003). Тиреоидные гормоны играют очень важную роль в регуляции процесса несократительного термогенеза. В клетках бурой жировой ткани в большом количестве экспрессируются рецепторы к Т3 (TR). Во время эмбрионального развития, когда симпатическая иннервация бурой жировой ткани не так развита, существует альтернативный путь активации несократительного термогенеза через активацию тиреоидными гормонами. Т3 инициирует транскрипцию *UCP1*, а также увеличивает стабильность молекулы мРНК (Branco et al., 1999). Т3 продлевает период полураспада мРНК

*UCP1* в два раза даже в отсутствие стимула норадреналина (Branco et al., 1999). T3 совместно с PPARs и NRF1 стимулирует активность *UCP1* в бурой жировой ткани (Branco et al., 1999; Lee et al., 2011). Содержание рецепторов TR значительно коррелирует с содержанием *UCP1* в бурой жировой ткани (Branco et al., 1999). Тироидные гормоны могут быть вовлечены в процесс дифференциации бурых адипоцитов (Branco et al., 1999; Valverde et al., 2003).

Еще один гормон, который вовлечен в дифференциацию бурых адипоцитов во время внутриутробного развития, это инсулин (Valverde et al., 2003). Считается, что инсулин может быть вовлечен в регулирование экспрессии генов бурой жировой ткани, в том числе и гена *UCP1*. Бурые адипоциты мышей показывают высокий уровень экспрессии генов субстратов инсулиновых рецепторов (IRS) 1 и 2. Активация этих рецепторов вследствие повышенной концентрации инсулина приводит к запуску фосфатидилинозитол-3-киназного сигнального пути. Как считается, данный путь может регулировать экспрессию гена *UCP1* (Valverde et al., 2003). Таким образом, показано, что тироидные гормоны и инсулин индуцируют экспрессию *UCP1*.

### **Активация экспрессии UCP Zfp516**

В проксимальном регионе промоторной области *UCP1* расположен сайт связывания с транскрипционным фактором цинкового пальца 516 (Zfp516). Производство Zfp516 увеличивается в ответ на холодовой стимул через путь цАМФ-CREB/ATF2 (Dempersmier et al., 2015). Zfp516 взаимодействует с фактором регуляции транскрипции PRDM16, который задействован в дифференциации бурых адипоцитов. Оба факторы усиливают экспрессию гена *UCP1*. Исследования на клеточных линиях показали, что Zfp516 связывается с регионом, расположенным в 40 и 70 пар оснований выше сайта инициации транскрипции (Dempersmier et al., 2015). Zfp516 также связывается с сайтом для прикрепления PGC1 $\alpha$  и Cox8 $\beta$  в 2,5 тысячи пар оснований выше

сайта инициации транскрипции (Dempersmier et al., 2015). Оверэкспрессия *Zfp516* приводит к превращению белых адипоцитов в бежевые у мышей даже при комнатной температуре, увеличивает производство тепла и расход энергии. Таким образом, предполагается, что оверэкспрессия *Zfp516* защищает организм от излишнего накопления жировой массы (Dempersmier et al., 2015).

### **Подавление экспрессии UCP через LXR**

В дистальном регионе недалеко от места, где произошла одна из исследуемых замен -3826A>G (rs1800592) в гене *UCP1*, расположен сайт связывания с транскрипционными факторами, подавляющими экспрессию генов разобщающих белков. Предполагается, что фактор LXR (Liver X ресептор) может подавлять транскрипцию гена *UCP1* (Shu et al., 2017). LXR в комплексе с кофактором NRIP1 конкурирует с факторами транскрипции PPARs за сайт в энхансерном регионе термогенных генов. LXR супрессируется белком, связывающим жирные кислоты (A-FABP). Белок A-FABP модулирует протеосомную деградацию LXR через убиквитирование. Белые, бежевые и бурые адипоциты в большом количестве продуцируют белок A-FABP, также известный как FABP4, в ответ на холодовой стимул (Shu et al., 2017). Этот белок работает в качестве транспортера жирных кислот. Предполагается, что A-FABP включает компенсаторный механизм активизации несократительного термогенеза. Выключение гена A-FABP приводит к затуханию активации несократительного термогенеза вызванного холодом или диетой с высоким содержанием жиров (Shu et al., 2017). Белок A-FABP усиливает производство T3 из T4 через LXRa-Dio2 сигнальный путь, который в свою очередь запускает транскрипцию генов, задействованных в регуляции несократительного термогенеза. Таким образом, A-FABP, подавляя активность LXRс, усиливает активность гена *UCP1*. Участвует в преобразовании T4 в T3 через модулирование активности LXRс (Shu et al., 2017).

## Регуляция UCP микроРНК

МикроРНК являются одной из ступеней регуляции генной экспрессии (Arner et al., 2015). МикроРНК представляют собой малые некодирующие РНК длиной до 25 оснований и участвуют в регуляции трансляции, связываясь с определенными участками мРНК, таким образом подавляя активность этого процесса (Zhou et al., 2014). Предполагается, что микроРНК может связываться с как с 5', так и с 3' нетранслируемыми областями (Gu et al., 2014). Замены в этих областях могут приводить к изменению уровня экспрессии и стабильности мРНК (Moszyńska et al., 2017). Например, замена rs8887 (G>A) в 3' нетранслируемой области гена *PLIN4* изменяет сайт для связывания с микроРНК и снижает уровень экспрессии гена *PLIN4*, что в конечном итоге повышает риск развития ожирения (Richardson et al., 2011).

Однако неизвестно, как замены в 5' и с 3' нетранслируемых областях генов *UCP* могут повлиять на сайты связывания с микроРНК. Согласно результатам поиска, в базе данных MicroRNA.org, известно около 40 микроРНК, которые связываются с этими областями и вносят вклад в регуляцию экспрессии генов *UCP*. Например, miR133a регулирует экспрессию *UCP2* в миоцитах и макрофагах, подавляя его активность (Yuan et al., 2015). MiR-106b-93 супрессирует уровень экспрессии *UCP1* (Zhou et al., 2014). МикроРНК MiR-106b и miR-93 ингибируют экспрессию *UCP1* (Wu et al., 2013). Некоторые из кластеров микроРНК, таких как miR-193b-365, miR-196a, miR-133, miR-155 играют ключевую роль в развитии бурой жировой ткани, регулируя непосредственно экспрессию *UCP1* и *UCP2*, а также других генов, чьи продукты задействованы в адипогенезе. МикроРНК могут непосредственно выделяться самой жировой тканью. При развитии ожирения может наблюдаться изменение уровня микроРНК (Arner et al., 2015). Например, miR-325 и miR-743b, выделяемые жировой тканью, подавляют экспрессию *UCP1*, повышая риск развития ожирения (Thomou et al., 2017). Изменение уровня микроРНК может происходить также в ответ на

физическую нагрузку (Aoi et al., 2010). Уровень микроРНК miR-126, ассоциированной с метаболическим синдромом, снижается в ответ на физические нагрузки (Zhou et al., 2014).

### **Посттрансляционные модификации UCP**

Одна из исследуемых нами замен Ala55Val в *UCP2* произошла в 4 экзоне в функциональном домене, что приводит к снижению эффективности процессов разобщения (Astrup et al., 1999). Однако причины снижения эффективности разобщения неизвестны. Предполагается, что модификации определенных позиций в аминокислотной последовательности разобщающих белков могут влиять на их активность. Например, фосфорилирование остатков серина в позиции 3 и 4, которые расположены в межмембранном пространстве митохондрий, и в позиции 51 в матриксе митохондрий, повышает активность разобщающих белков (Рис. 4, Carroll et al., 2008, Chouchani et al., 2016). Окислительные модификации UCP1 являются ключевым элементом в АФК-зависимом-термогенезе (Carroll et al., 2008). Активные формы кислорода, образованные в митохондриях бурой жировой ткани, приводят к окислению цистеина. Была исследована связь термогенеза и окисления тиоловых групп боковых цепей аминокислот UCP1 и показано, что окисление цистеина в позиции 253 UCP1 приводит к активации процесса АФК-зависимого термогенеза в бурой жировой ткани (Carroll et al., 2008). Было показано, что при острой холодной нагрузке количество окисленных тиоловых групп возросло. Окисление цистеина в позиции 253 UCP1 определяет стабильность «закрытой» фазы, когда белок ингибирован ГТФ, и определяет чувствительность к активации норадреналином. Цистеин в позиции 253 консервативен и встречается у других типов разобщающих белков, UCP2 и UCP3.

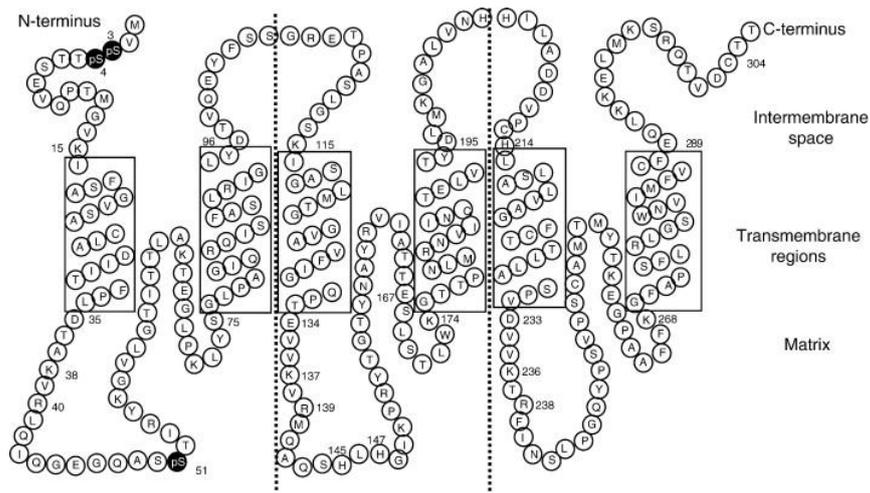


Рисунок 4. Диаграмма сворачивания UCP1 бурой жировой ткани мышей и посттрансляционные модификации UCP1: фосфорилирование остатков серина в позиции 3/4 и 51 (Carroll et al., 2008).

### Краткое заключение по разделу

Замены в регуляторных областях разобщающих белков в определенных регионах повлечь за собой изменение транскрипционной активности. Например, замены -3826A>G (rs1800592) и -55C/T в генах *UCP1* и *UCP3*, которые произошли недалеко от ТАТА-бокса, влияют на количество синтезированного мРНК. Замены в аминокислотной последовательности разобщающих белков в определенных регионах, а также посттрансляционные модификации могут повлечь за собой изменение их активности.

### 1.4. Полиморфные системы генов *UCP*

Замены в нуклеотидной последовательности генов разобщающих белков могут также изменять транскрипционную активность, что в свою очередь может влиять на эффективность процессов разобщения. Полиморфизм генов разобщающих белков имеет различное фенотипическое проявление. Ранее для исследуемых вариантов -3826A>G *UCP1*, Ala55Val *UCP2* и -55C/T *UCP3* была показана связь с развитием ожирения в некоторых популяциях, но результаты этих исследований противоречивы. Предполагается, что рискованные «бережливые» варианты, а именно G аллель *UCP1* (rs1800592), T аллель *UCP2* (rs660339), C аллель *UCP3* (rs1800849), повышают риск развития ожирения

(Табл. 2). Однако «бережливые» варианты в условиях повышенного расхода энергии могут стать преимуществом, например, для спортсменов.

Таблица 2. Краткая характеристика исследуемых вариантов: рисковые «бережливые» аллели: G аллель *UCP1* (rs1800592), T аллель *UCP2* (rs660339), C аллель *UCP3* (rs1800849)

Полиморфизм	Позиция	Исходный аллель	Минорный аллель		
			Аллель	Частота	Эффект
-3826A>G <i>UCP1</i> (rs1800592)	chr4:14057 2807	A	<b>G*</b>	0,36	Снижение экспрессии мРНК
Ala55Val <i>UCP2</i> (rs660339)	chr11:7397 8059	C	<b>T*</b>	0,42	Неизвестно
-55C/T <i>UCP3</i> (rs1800849)	chr11:7400 9120	<b>C*</b>	T	0,23	Увеличение экспрессии мРНК

#### 1.4.1. -3826A>G полиморфизм гена *UCP1* (rs1800592)

Исследуемый вариант гена *UCP1* -3826A>G (rs1800592) определяется как не патогенный (OMIM 113730.0001). Однако, исследуемый вариант описан как повышающий риск развития ожирения и метаболических заболеваний в некоторых популяциях (Табл. 3). Носители рискованного «бережливого» аллеля (G аллеля) обладают более высоким риском развития ожирения.

Ген-таргетные исследования выявили ассоциации между однонуклеотидным полиморфизмом -3826A>G *UCP1* (rs1800592) и риском развития ожирения и метаболических заболеваний в различных популяциях. В группе корейских женщин (N=367) были выявлены ассоциации локуса rs1800592 (*UCP1*) с абдоминальным ожирением, но при этом не были обнаружены ассоциации исследуемого варианта с общим содержанием жировой массы и ИМТ (Ho Cha et al., 2008). Были выявлены ассоциации с подкожным жиротложением. Ассоциации были выявлены для кодоминантной и доминантной моделей наследования. В то же время ассоциаций с содержанием висцерального жира в абдоминальной области обнаружено не было.

Таблица 3. Ассоциации исследуемого -3826A>G полиморфизма гена *UCP1* (rs1800592) в различных популяциях мира.

Генотип			Исследуемая группа	Результат	Ссылка
GG	AG	AA			
27% (23)	45% (37)	28% (22)	Европеоиды	G аллель ассоциирован с уменьшением базального уровня метаболизма	(Nishimura et al., 2017)
28% (122)	49% (217)	23% (105)	Китайцы	G аллель ассоциирован с повышенным риском развития диабета II типа	(Sale et al., 2007)
24% (79)	48% (161)	28% (94)	Китайцы		
42% (121)	41% (116)	17% (50)	Афроамериканцы	AA генотип ассоциирован с повышенным значением ЛПВП	(Kahara et al., 2002)
14% (45)	52% (165)	34% (108)	Латиноамериканцы		
49%	-	51%	Корейцы	G аллель ассоциирован с абдоминальным накоплением жировой массы	(Ho Cha et al., 2008)

Исследование по типу случай-контроль в группе арабов-саудовцев (N=492), страдающих ожирением, выявило значимые ассоциации исследуемого варианта с ожирением (Chathoth et al., 2018). Отношение рисков (OR) для исследуемой группы составили 1,5 для носителей рискового «бережливого» варианта гена *UCP1* (G аллеля, rs1800592), то есть наличие этого варианта повышало риск развития ожирения в 1,5 раза. В группе бразильцев (N=1500), имеющих европейское происхождение, были обнаружены значимые ассоциации исследуемого варианта в гене *UCP1* (G аллеля, rs1800592) и повышенным риском развития ожирения (Brondani et al., 2014). Для исследуемого варианта также были обнаружены значимые ассоциации с метаболическим синдромом в группе японцев (N=360)

(Nakatohi M et al., 2015). Для российской популяции поиска ассоциаций исследуемого варианта и ожирения не проводилось.

В то же время мета-анализ не выявил значимых ассоциаций исследуемого варианта с риском развития ожирения и метаболического синдрома в популяциях, имеющих европеоидное происхождение (Souza et al., 2013, Brondani et al., 2014). Полногеномный поиск ассоциаций также не определил это вариант как значимый и повышающий риск развития ожирения или метаболических заболеваний в популяциях, имеющих европеоидное происхождение.

Исследуемая замена аденина (A) на гуанин (G) в позиции -3826 гена *UCP1* произошла в некодирующей области, которая служит для прикрепления транскрипционных факторов (Villarroya et al., 2017). Анализ эволюционной консервативности (PhyIP) показал, что позиция, в которой произошла замена, не является высоко консервативной. Однако, регион ТАТА-бокс и последовательность 5`-GCCCCT-3`, недалеко от которой произошла исследуемая замена, являются высоко консервативными среди плацентарных млекопитающих и замена в этих участках может привести к изменению транскрипционной активности гена (Villarroya et al., 2019, Gaudry et al., 2017). В экспериментальном исследовании на культуре клеток было показано, что данная замена приводит к снижению синтеза мРНК *UCP1* (Esterbauer et al., 1998). В то же время, в литературе нет данных о влиянии исследуемой замены на синтез и активность белка.

Таким образом, предполагается, что у носителей «бережливого» рискованного аллеля будет снижаться эффективность разобщения, и, следовательно, будет выше риск развития ожирения по сравнению с носителями протекторного А аллеля *UCP1*.

### 1.4.2. Ala55Val полиморфизм гена *UCP2* (rs660339)

Исследуемый однонуклеотидный вариант NM\_003355.2:c.164C>T (rs660339) приводит к несинонимичной замене p.Ala55Val неконсервативной позиции в домене с неизвестной функцией гена *UCP2*. Для гена *UCP2* ранее были описаны варианты в промоторной области и кодирующей последовательности, ассоциированные с ожирением и диабетом второго типа (Esterbauer et al., 1998, Srivastava et al., 2010). Исследуемый однонуклеотидный вариант гена *UCP2* (rs660339) не является патогенным. Данный вариант (ТТ генотип) встречается у 36% населения (табл. 4).

Таблица 4. Ассоциации Ala55Val полиморфизма гена *UCP2* (rs660339) в различных популяциях мира

Генотип			Исследуемая группа	Результат	Ссылка
СС	СТ	ТТ			
34% (132)	49% (191)	17% (64)	Китайцы	Исследование случай-контроль: Т аллель повышает риск развития диабета II типа у пациентов с ожирением	(Su et al., 2018)
83% (1188)		17% (229)	Испанцы	ТТ генотип ассоциирован с более высокими показателями WHR у здоровых испытуемых	(Martinez-Hervas et al., 2012)
34.2% (13)	65.8% (25)		Корейцы (спортсмены)	Т аллель ассоциирован с низкими показателями в прыжке в длину с места, и низким риском развития ожирения	(Kim et al., 2018)
68% (21)	32% (10)		Корейцы (неспортсмены)		
50% (8)	50% (8)		Европеоиды	Выше уровень потребления кислорода у носителей СТ генотипа	(Buemann et al., 2001)
53% (89)	38% (64)	9% (16)	Россияне (спортсмены, конькобежцы)	СТ генотип ассоциирован с более высокими показателями МПК	(Ahmetov et al., 2008)
35% (21)	48% (29)	17% (10)	Европеоиды	Т аллель ассоциирован с уменьшением расхода энергии в покое	(Astrup et al., 1999)

Ген-таргетные исследования показали, что локус rs660339 ассоциирован с повышенным риском развития диабета второго типа у пациентов с

ожирением и коронарной недостаточностью в популяциях, проживающих на территории Китая и Мексики соответственно (Su et al., 2018, Gamboa et al., 2018). У носителей T аллеля выше риск развития метаболических заболеваний.

Один из проведенных мета-анализов показал, что ассоциации между исследуемым вариантом *UCP2* (T аллель, rs660339) и ожирением выявлены только для европейской популяции (Qian et al., 2013). Однако, мета-анализ, включающий большее количество исследований, выявил ассоциации между индексом массы тела и исследуемым вариантом у европеоидов и монголоидов (Brondani et al., 2015). В американской популяции не было обнаружено ассоциаций полиморфизма гена *UCP2* (T аллель, rs660339) с повышенным риском развития ожирения (Tan et al., 2014). Мета-анализ, включающий 8 исследований, не выявил значимых ассоциаций локуса rs660339 с процентным содержанием жировой массы (Tan et al., 2014). В группе профессиональных спортсменов исследуемый вариант (T аллель, rs660339) ассоциирован с успешностью в беге (Gronek et al., 2018).

Исследуемая замена Ala55Val в гене *UCP2* (rs660339) произошла в кодирующей области в 4 экзоне в позиции 55. Позиция, в которой произошла замена, расположена в 38 аминокислотах от сайта сплайсинга и не влияет на сплайсинг мРНК. Участок, в котором произошла замена, находится в межмембранном пространстве на поверхности белка в домене с неизвестной функцией (рис. 5). В связи с этим неизвестно, влияет ли данная миссенс-мутация на стабильность белка или на способность связываться с другими молекулами. Предполагается, что замена Ala55Val в гене *UCP2* может снижать активность процесса разобщения в клетках (Astrup et al., 1999). Val/Val генотип ассоциирован с низкой активностью процессов разобщения (Astrup et al., 1999).

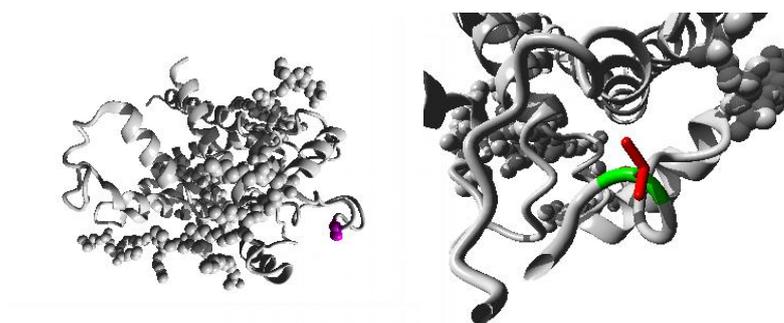


Рисунок 5. Положение участка в белке UCP2, в котором произошла исследуемая миссенс-мутация (rs660339). Данные получены с помощью биоинформатической программы Nore.

### 1.4.3. -55C/T полиморфизм гена *UCP3* (rs1800849)

Исследуемая замена -55C/T (rs1800849) в гене *UCP3* произошла в промоторной области в позиции, расположенной на 55 пар оснований выше сайта инициации транскрипции и 6 пар оснований выше региона ТАТА-бокса. Данная замена произошла в позиции, которая не является высоко консервативной. Биоинформатические программы PhyloP и phastCons предсказывают сайт, в котором произошла замена, как быстро эволюционирующий. Регионы, расположенные около сайтов инициации транскрипции, являются быстро эволюционирующими у генов, образовавшихся в результате дупликации (Kostka et al., 2010). Быстрая эволюция этих регионов может быть связана с адаптацией к условиям среды (Kostka et al., 2010). Область, в которой произошла замена, служит для прикрепления таких факторов, как PPAR (рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом) и их коактиватор PGC-1 $\alpha$ , а также РНК-полимеразы II и гистоновой ацетилтрансферазы p300 (Lima 2019). Однако неизвестно, влияет ли данная замена на эффективность связывания с транскрипционными факторами. Было показано, что минорный вариант (Т аллель) приводит к увеличению уровня экспрессии мРНК *UCP3* (Schrauwen et al., 1999). Предполагается, что исследуемая замена rs1800849 (Т аллель) в условиях повышенного поступления жирных кислот является преимуществом для их носителей и может защищать от избыточного накопления жировой

массы (Lima 2019). Уровень экспрессии мРНК *UCP3* отрицательно коррелирует с ИМТ (Schrauwen et al., 1999). Таким образом, предполагается, что исследуемый вариант (Т аллель) является протекторным в случае ожирения. Однако результаты исследований о взаимосвязи исследуемого полиморфизма гена *UCP3*, ожирения и диабета второго типа противоречивы (Табл. 5).

Таблица 5. Ассоциации полиморфизма гена *UCP3* (rs1800849) в разных популяциях.

Генотип			Исследуемая группа	Результат	Ссылка
СС	СТ	ТТ			
-	-	-	Мета-анализ (47 исследований): контроль (N=5431), случай (N=4578)	Т аллель является протекторным в случае ожирения	(Brondani et al., 2014)
44% (173)	43% (165)	13% (49)	Монголоиды	Т аллель ассоциирован с преддиабетическим состоянием	(Su et al., 2018)
53% (89)	39% (64)	9% (16)	Россияне, конькобежцы	Т аллель ассоциирован с большими показателями МПК	(Ahmetov et al., 2008)
2% (2)	22% (18)	76% (62)	Индейское племя Пима	Значимых ассоциаций с ожирением не обнаружено	(Walder et al., 1998)
-	-	-	Мета-анализ (12 исследований): случай (N=9860) контроль (N=7390)	Значимых ассоциаций с ожирением не обнаружено	(Qian et al., 2013)

Несколько исследований показали, что наблюдается взаимосвязь между показателями аэробной выносливости и исследуемого полиморфизма (Табл. 5). Мета-анализ, включающий 12 исследований, не выявил значимых ассоциаций между исследуемым вариантом и ожирением в популяциях, имеющих европеоидное и монголоидное происхождение (Qian et al., 2013). Однако другой проведенный мета-анализ, включающий большее количество

исследований, показал, что исследуемый вариант (Т аллель) является протекторным в случае ожирения в популяции, имеющей европеоидное происхождение (Brondani et al., 2014).

### 1.5. А/Т полиморфизм гена *FTO* (rs9939609)

В гене *FTO*, известном также как ген ожирения, были выявлены несколько вариантов, ассоциированных с повышенным риском развития ожирения, среди них rs9939609 является наиболее изученным (Dina et al., 2007). Исследуемая замена rs9939609 не является патогенной. Замена произошла в первом интроне (Frayling et al., 2007). Полногеномный поиск ассоциаций выявил, что у носителей АА генотипа выше показатели индекса массы тела, по сравнению с носителями гетерозиготного и гомозиготного ТТ вариантов (Frayling et al., 2007). Молекулярно-генетические исследования показали, что недостаток *FTO* приводит к уменьшению количества жировой массы, снижению концентрации лептина и повышению адипонектина (Fischer et al., 2009). При диете с высоким содержанием жиров мыши с нокаутом *FTO* набирали жировую массу медленнее, чем носители гомозиготного варианта *FTO*<sup>+/+</sup> (Fischer et al., 2009). Предполагается, что недостаток *FTO* может защитить организм от ожирения (Fischer et al., 2009). *FTO* относится к семейству 2-оксоглутарат-зависимых диоксигеназ и, как предполагается, участвует в репарации ДНК и РНК, катализируя реакции деметилирования 3-метилтимина в одноцепочечной ДНК и 3-метилурацила и 6-метиладенозина в РНК (Fisher et al., 2009).

Ген *FTO* экспрессируется повсеместно в организме, в том числе гипоталамусе и белой жировой ткани. Предполагается, что недостаток *FTO* может приводить к побурению белой жировой (Tews et al., 2013). Ген *FTO* расположен рядом с генами *IRX3* и *IRX5*, кодирующими факторы транскрипции *IRX3* и *IRX5*. Замены в последовательности гена могут *FTO* влиять на уровень экспрессии генов *IRX3* и *IRX5* (Claussnitzer et al., 2015). Предполагается, что один из рискованных вариантов гена *FTO* (rs1421085)

снижает эффективность связывания ARID5B, что приводит к увеличению уровня экспрессии *IRX3* и *IRX5*. Увеличение экспрессии генов *IRX3* и *IRX5* приводит к увеличению белых адипоцитов и снижению количества бежевых (Claussnitzer et al., 2015). Замены в последовательности гена *FTO*, например, указанная выше замена rs1421085 T/C, могут влиять на процесс «побурения» белых адипоцитов (Claussnitzer et al., 2015). Исследования в области молекулярной генетики показали, что нокаут гена *FTO* приводит к увеличению экспрессии гена *UCP1* в белой жировой ткани у мышей (Fischer et al., 2009, Tews et al., 2013). На культуре клеток было показано, что уровень экспрессии разобщающих белков *UCP1* отличался в клеточных линиях *FTO*<sup>-/-</sup> и *FTO*<sup>+/+</sup> (Tews et al., 2013). В клеточной линии, где был проведен нокаут гена *FTO* активность *UCP1* значительно уменьшалась. Предполагается, что ген *FTO* может быть эпистатическим по отношению к *UCP1*.

### **Краткое заключение по разделу**

Транскрипция генов разобщающих белков находится под контролем большого количества факторов. Замены в регуляторных областях, интронах и экзонах могут привести к изменению уровню транскрипции этих генов, что может иметь различное фенотипическое проявление. Исследуемые однонуклеотидные варианты в генах *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609) не являются патогенными, но они могут повышать риск развития ожирения в некоторых популяциях. Однако, в условиях повышенного расхода энергии эти варианты могут стать преимуществом для их носителей, например, для спортсменов. Популяционная частота встречаемости этих однонуклеотидных полиморфизмов варьирует от 5% до 75% в зависимости от условий проживания популяции. Области, в которых произошли замены, не являются высоко консервативными, и их быстрая эволюция может быть связана с адаптацией к различным условиям среды.

## 1.6. Ген-генные и генно-средовые взаимодействия

Для таких многокомплексных показателей, как индекс массы тела (ИМТ) или максимальное потребление кислорода (МПК) описаны более 1000 локусов, ассоциированных с этими показателями (Locke et al., 2015, Ahmetov et al., 2015, Yengo et al., 2018, Wainschtein et al., 2019). Однако, несмотря на большие успехи полногеномных исследований, суммарный эффект локусов, выявленных этим методом, объясняет лишь небольшой процент вариабельности (дисперсии) таких сложных признаков. Объяснение оставшейся доли наследуемости признака или «потерянной наследуемости» представляется одной из важнейших задач не только в генетике и биологии человека, но и в других областях, например, в области спортивной науки. Феномен «потерянной наследуемости» объясняется локусами с малым эффектом, редкими аллелями, неаддитивными эффектами, ген-генными и генно-средовыми взаимодействиями (Manolio et al., 2009). Алгоритмы и модели анализа, позволяющие учитывать эти факторы, значимо увеличивают долю объясненной дисперсии исследуемых признаков (Manolio et al., 2009). Проблема «потерянной наследуемости» хорошо прослеживается для таких показателей как ИМТ. Полногеномный поиск ассоциаций выявил около 1000 локусов, ассоциированных с ИМТ (Locke et al., 2015, Yengo et al., 2018). Суммарно эти варианты объясняют лишь небольшой процент вариабельности ИМТ, не более 6% (Wainschtein et al., 2019). Однако при включении в анализ всех редких вариантов, процент объясненной дисперсии ИМТ возрос до 40% (Wainschtein et al., 2019). В то же время исследования на близнецах показали, что ИМТ определяется на 60% генетическими факторами (Nan et al., 2012).

Исследование эффекта ген-генных взаимодействий также представляется перспективным для исследования проблем «потерянной наследуемости» (Dong et al., 2019). Например, алгоритмы, включающие ген-генные взаимодействия, выявили ряд новых локусов, ассоциированных с ИМТ (Dong et al., 2019). Для вариантов *UCP1* -3826A>G и *ADRB3* 64 Trp/Arg были

обнаружены ассоциации с повышенным накоплением висцерального жира и незначительным снижением количества бурой жировой ткани (Yoneshiro et al., 2013). Ген-генные взаимодействия были обнаружены между генами *FTO*, *IRX3* и *IRX5* (Landgraf et al., 2016). У носителей рискованных вариантов в гене *FTO* наблюдается повышение уровня экспрессии генов *IRX3* и *IRX5* (Landgraf et al., 2016). Предполагается, что между генами *FTO* и *UCP* может быть обнаружен эффект взаимодействия (Ramos et al., 2012, Claussnitzer et al., 2015). *FTO* задействован в превращении преадипоцитов в бежевые адипоциты, а недостаток *FTO* приводит к увеличению уровня экспрессии *UCP1* (Рис. 6).



Рисунок 6. Механизм побурения белых адипоцитов с участием *FTO*.

Проблема потерянной наследуемости также может быть связана с неаддитивным эффектом генов (Tsepilov et al., 2015). Модели анализа, которые включают эти эффекты, позволяют увеличить статистическую мощность и долю объясненной дисперсии.

Феномен «потерянной наследуемости» также объясняется ген-средовыми взаимодействиями (Manolio et al., 2009). Сложные показатели, как ИМТ или МПК, определяются как генетическими факторами, так и средовыми факторами, а также их сложным взаимодействием (Rask-Andersen et al., 2017). Физическая активность, потребление алкоголя, количество сна или другие средовые факторы могут модулировать влияние генетических факторов (Rask-

Andersen et al., 2017). Например, влияние некоторых рисков вариантов в гене *FTO* на ИМТ или жировую массу нивелируется физической активностью (Kilpeläinen et al., 2011). При воздействии двух факторов на многокомплексный показатель, один из них может быть антагонистом, то есть снижать влияние второго фактора (Kilpeläinen et al., 2011). Взаимодействие ген-ген и ген-среда, а именно генов разобщающих белков, *FTO* и физической неактивности, в случае ожирения, как предполагается, может повысить риск ожирения и объяснить больший процент вариативности.

### **Заключение по главе**

Разобщающие белки играют важную роль в регуляции энергетического метаболизма. Снижая электрохимический градиент, разобщающие белки вследствие их протонофорной активности могут косвенно или напрямую влиять на ряд биологических процессов. Эти белки задействованы в производстве тепла организмом, поддержании баланса активных форм кислорода, транспорте различных катионов и анионов. Транспортная активность разобщающих белков зависит от их структуры. Изменения в структуре вследствие мутаций могут повлечь за собой изменение активности разобщающих белков. Например, замены в промоторной области могут повлечь за собой снижение количества синтезированного мРНК и белка, и, как следствие, снижение эффективности разобщения. Полиморфизм генов разобщающих белков имеет различное фенотипическое проявление в зависимости от условий среды, в которые попадает носитель этих вариантов.

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Характеристика обследованной выборки

В исследовании приняли участие 275 молодых взрослых в возрасте от 18 до 25 лет, проживающих в районе Москвы и московской области, а также подростки в возрасте 11-18 лет (N=250) с различным уровнем физической активности (Табл. 6).

Таблица 6. Характеристики групп, изученных в работе.

Группа	Источник данных	Пол	Численность	Средний возраст
Взрослые (контрольная группа), студенты	Лаборатория Ауксологии НИИ и Музея Антропологии МГУ им. Ломоносова	М	28	20,0
		Ж	73	19,5
Подростки (контрольная группа), школьники	Лаборатория Ауксологии НИИ и Музея Антропологии МГУ им. Ломоносова	М	18	18,1
		Ж	31	17,0
Взрослые (квалифицированные спортсмены)	ГКУ ЦСТиСК Москомспорта	М	124	22
		Ж	50	21,5
Подростки (квалифицированные спортсмены)	ГКУ ЦСТиСК Москомспорта; Лаборатория Ауксологии НИИ и Музея Антропологии МГУ им. Ломоносова	М	139	13,9
		Ж	62	16,1

Исследуемая выборка была разделена на группы в зависимости от уровня их физической активности: контрольная группа (не занимающиеся спортом) и группа квалифицированных спортсменов. В группу контроля были включены представители европеоидной расы, проживающие на территории Москвы и Московской области, не являющиеся квалифицированными спортсменами, не имеющие спортивного разряда, без существенных медицинских отклонений. Индивидуальные данные контрольной группы взрослого населения Москвы и Московской области любезно предоставлены

лабораторией Ауксологии НИИ и Музея Антропологии МГУ им. Ломоносова (г. Москва, Россия). В контрольную группу вошли студенты МГУ им. Ломоносова в возрасте от 18 до 21 года и школьники в возрасте от 11 до 18 лет.

К группе спортсменов были отнесены спортсмены, специализирующиеся в различных видах спорта. Индивидуальные данные квалифицированных московских спортсменов (подростков и взрослых) различной специализации были собраны на базе ГКУ «ЦСТиСК» Москомспорта в рамках этапного комплексного обследования при непосредственном участии автора. К группе спортсменов-подростков были отнесены испытуемые, являющиеся победителями и/или участниками спортивных соревнований различного уровня. К группе взрослых квалифицированных спортсменов причислены спортсмены, чей уровень квалифицированной квалификации был выше 1 взрослого разряда.

Группа взрослых спортсменов была разбита на подгруппы в зависимости от преобладающего типа энергообеспечения в конкретном виде спорта (Табл. 7). Были сформированы следующие подгруппы: аэробная, смешанного энергообеспечения и анаэробная. К подгруппе смешанного энергообеспечения были отнесены игровые виды спорта и единоборства.

В исследуемую выборку вошли 36% спортсменов с квалификацией кандидат в мастера спорта (КМС), 22% спортсменов - мастера спорта (МС), 23% спортсменов с квалификацией выше МС (МСМК и ЗМС). Остальные спортсмены (19%) имели первый взрослый разряд. Возраст взрослых спортсменов варьировался от 18 до 25 лет. Исследуемая выборка состояла из 70% мужчин и 30% женщин.

Таблица 7. Исследованная выборка спортсменов.

Вид спорта	Численность	Подгруппа
Академическая гребля (2 км)	3	Аэробные виды спорта
Биатлон (7,5; 10; 12 км)	19	Аэробные виды спорта
Конькобежный спорт (5 км)	10	Аэробные виды спорта
Лыжные гонки (15 км)	2	Аэробные виды спорта
Современное пятиборье	2	Смешанные виды спорта
Спортивное ориентирование	1	Аэробные виды спорта
Шорт-трек	33	Смешанные виды спорта
Конькобежный спорт (многоборье)	9	Смешанные виды спорта
Бокс	7	Смешанные виды (единоборства)
Самбо	6	Смешанные виды (единоборства)
Баскетбол	13	Смешанные виды (игровые)
Вольная борьба	1	Смешанные виды (единоборства)
Тхэквондо	9	Смешанные виды (единоборства)
Дзюдо	8	Смешанные виды (единоборства)
Футбол	28	Смешанные виды (игровые)
BMX	7	Анаэробные виды спорта
Каное (500 м)	2	Анаэробные виды спорта
Легкая атлетика (спринт)	9	Анаэробные виды спорта
Плавание (100-200 м)	4	Анаэробные виды спорта
Сноуборд	1	Анаэробные виды спорта
Общая численность	174	

## 2.2. Программа исследования

Программа исследования включала молекулярно-генетическое обследование (N=525), антропометрическое обследование (N=525) и функциональное тестирование (N=169).

Для ассоциативного исследования были выбраны полиморфные варианты генов *UCP1*, *UCP2* и *UCP3*, а также гена *FTO*, которые имеют различное фенотипическое проявление. Для исследования были выбраны локусы rs1800592 (*UCP1*), rs660339 (*UCP2*), rs1800849 (*UCP3*) и rs9939609 (*FTO*). Для исследуемых локусов ранее были показаны ассоциации с морфологическими

параметрами, отражающими количество и топографию жирового отложения (Бондарева Э. А. и др, 2016; Qi et al., 2008; Kring et al., 2008). Молекулярно-генетическая часть исследования проводилась под руководством к.б.н. Э.А. Бондаревой. Биологический материал был собран на базе ГКУ «ЦСТиСК» Москомспорта в рамках комплексного этапного обследования спортсменов. В качестве биологического материала для выделения геномной ДНК был использован образец буккального эпителия. Забор биологического материала проводили при помощи стерильных урогенитальных зондов (Тип А «Универсальный», “*Jingsu Suyun Medical, Materials Co LTD*”, Китай). Для каждого испытуемого, участвовавшего в исследовании, был определен генотип по полиморфным системам генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609). Геномные состояния определялись с помощью процедуры минисеквенирования с детекцией результатов в режиме MALDI-TOF, анализ проводился на базе ООО “Литех”, г. Москва. Исследование проведено при финансовой поддержке гранта РФФИ №17-26-03004 «Физические кондиции современных детей, подростков и молодежи в контексте этногенетических, социально-экономических и экологических факторов».

Программа антропометрического исследования выполнена по методике, разработанной НИИ и Музеем антропологии МГУ им. Ломоносова. Проведены измерения длины (ДТ, см) и массы тела (МТ, см), по результатам которых рассчитывали индекс массы тела (ИМТ). Измеряли обхваты талии (ОТ, см) и бедер (ОБ, см), рассчитывали соотношение талии к бедрам (WHR). Для измерения длины и массы тела использовали ростомер и весы SECA (Германия). Измерение обхватов талии и бедер производили с помощью сантиметровой ленты. Обхват талии измеряли на уровне 5-6 см выше подвздошных гребней. Обхваты ягодиц производили на уровне выступающей точки ягодиц. Все измерения были проведены высококвалифицированными

антропологами ГКУ «ЦСТиСК Москомспорта» и НИИ и Музея Антропологии МГУ им. Ломоносова.

На основании измеренных показателей вычисляли антропометрические индексы. **Антропометрические индексы** рассчитывали по следующим формулам.

- Индекс массы тела (ИМТ):  $ИМТ = МТ (кг) / ДТ^2(м)$
- Индекс талии/бедра (WHR):  $WHR = ОТ(см) / ОБ(см)$
- Body adiposity index BAI или индекс ожирения:  
 $BAI = ОБ(м) / ДТ(м)^{2/3} - 18$  (Bergman, 2011)
- Соотношение талии к длине тела (WHtR):  $WHtR = ОТ(см) / ДТ(см)$
- Abdominal volume index AVI или индекс абдоминального ожирения:

$$AVI = 2 * ОТ^2 (см) + 0,7 * (ОТ(см) - ОБ(см))^2 / 1000 \text{ (Guerrero-Romero et al., 2003)}$$

**Для определения состава тела** была проведена биоимпедансометрия. С ее помощью измеряли долю жировой массы в организме (%). Измерение проводилось с помощью биоимпедансного анализатора обменных процессов и состава тела ABC-01 «МЕДАСС» (Россия). Исследование проходило в утренние часы натощак. Исследование проводилось в положении испытуемого лежа на спине. Правая рука (плечо) отведена под углом 45 градусов к вертикальной оси тела, предплечье располагалось параллельно корпусу; ноги разведены и не касались друг друга. Электроды крепились на правой кисти и стопе испытуемого.

**Функциональное тестирование спортсменов** было поведено на базе Центра спортивных инновационных технологий и подготовки сборных команд Москомспорта (ГКУ ЦСТиСК Москомспорта). В программу обследования входили следующие методики.

1. Проведение рамптеста на беговой дорожке “WoodWay proXL” для определения максимальной аэробной производительности (МПК) под контролем газоанализатора “Metalyzer 3BR2” (Германия), измерения вентиляторной функции, частоты сердечных сокращений (ЧСС – кардиомониторы Polar, Финляндия) и лактата крови. Работа начиналась с 7 км/ч и продолжалась до отказа. Увеличение скорости на 100 м/ч происходило каждые 10 секунд. Угол наклона дорожки составлял 1 градус. Забор крови для определения содержания лактата и глюкозы производился в 25 мкл капилляры, содержащие натрий гепарин, каждые 3 минуты работы во время рамп теста. Капилляры с кровью помещались в пробирки, содержащие 2 мл гемолизирующего раствора. Максимальное содержание лактата определялось в момент отказа от работы. Определение концентрации лактата и глюкозы производилось с помощью электрохимического метода на автоматическом приборе Biosen\_C line (Германия) в лаборатории биохимического мониторинга и клинической диагностики ГКУ ЦСТиСК Москомспорта.

2. Проведение теста МАМ (максимальной анаэробной мощности) осуществлено на велоэргометре Excalibur sport Lode BV по стандартному протоколу. Тест заключается в выполнении максимальной работы в течение 10 секунд. Тест выполнялся после разминки и последующего 4-минутного отдыха. Тест МАМ был проведен у группы спортсменов конькобежцев и шорт-трекистов для определения относительных показателей максимальной анаэробной мощности. К этим тестам каждый спортсмен получал персональный допуск после обследования кардиологом. Данные были собраны под руководством специалистов ГКУ «ЦСТиСК» Москомспорта Козлова А.В., Карцева С.С. и Якушкина А.В. Исследование проводилось в утренние часы в теплые месяцы (с мая по сентябрь 2016 года). Температура в помещении не опускалась ниже 19°C. Некоторые измерения были повторены в зимние месяцы (октябрь-март 2016-2017 года). Разные тесты с физическими нагрузками выполнялись в различные экспериментальные дни, чтобы исключить взаимовлияние тестовых процедур на результаты измерений.

### 2.3. Методы статистического анализа

Статистический анализ проводился в компьютерной среде R (R Core Team, 2013). Статистический анализ данных проходил в 4 этапа. Первый этап включал ассоциативный анализ вариантов rs1800592 *UCP1*, rs660339 *UCP2*, rs1800849 *UCP3*, rs9939609 *FTO*, а также суммарного вклада исследуемых вариантов и антропометрических показателей в контрольной группе и группе спортсменов. Суммарный вклад 4 вариантов (rs1800592 *UCP1*, rs660339 *UCP2*, rs1800849 *UCP3*, rs9939609 *FTO*) определялся как рискованный генетический индекс (TGS, total genotype score). Оценивалось влияние физической активности и генно-средовых взаимодействий на антропометрические показатели в обследованной выборке. Второй этап включал сравнительный анализ частот встречаемости вариантов rs1800592 *UCP1*, rs660339 *UCP2*, rs1800849 *UCP3*, rs9939609 *FTO* в группе контроля и спортсменов. Третий этап включал ассоциативный анализ полиморфизма исследуемых генов и функциональных показателей (максимального потребления кислорода, анаэробной мощности и концентрации лактата в покое и после нагрузки) в группе спортсменов. Последний этап включал сравнительный анализ частот встречаемости в популяциях мира и анализ зависимости распределения частот встречаемости протекторных вариантов генов разобщающих белков от климатогеографических факторов.

Перед построением моделей был проведен стандартный разведочный анализ. Для проверки характера распределения данных использовались графические методы (гистограмма и квантильный график) и критерий Шапиро-Уилка (Shapiro et al., 1972). Наличие выбросов оценивалось с помощью теста Граббса (Tietjen et al., 1972). В случае если необходимости данные трансформировались с помощью преобразования Бокса-Кокса (Draeger et al., 1969). Данные подростков были трансформированы с помощью метода LMS-трансформации, рекомендуемой всемирной организацией здравоохранения при работе с морфологическими данными детей и

подростков разного пола и возрастов (Cole et al., 1992, Hermanussen et al., 2014). С помощью LMS-трансформации высчитывались Z-оценки исследуемых морфологических показателей ввиду половозрастной неоднородности группы подростков. В качестве референсных данных были использованы данные для популяции, проживающей на территории Москвы и московской области (Rudnev et al., 2014). Математический метод LMS-трансформации рекомендован всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) для построения стандартных кривых и приведения ассиметричных морфологических данных к нормальному распределению и проведения лонгитюдных исследований (Hermanussen et al., 2014). Z-оценка высчитывалась по формуле:

$$z = \frac{\left(\frac{y}{M}\right)^L}{LS}$$

Условные обозначения:  $y$  - экспериментально полученное значение,  $M$  - среднее значение по популяции (Rudnev et al., 2014),  $S$  - параметры скалирования,  $L$  – параметры трансформации Бокса-Кокса.

Для моделей, построенных с помощью множественного регрессионного анализа, был рассчитан фактор инфляции дисперсии (VIF) как мера мультиколлинеарности. Фактор инфляции дисперсии был в диапазоне 1 - 2, что говорит о низкой корреляции между независимыми переменными. Высоко коррелирующие предикторы удалялись, если корреляция для них была выше 0,75.

### **2.3.1. Анализ факторов, ассоциированных с повышенным набором жировой массы тела в обследованной выборке**

Для анализа факторов, ассоциированных с повышенным набором жировой массы, были сформированы 2 группы: контрольная группа, в которую входили представители, имеющие европеоидное происхождение, не являющиеся квалифицированными спортсменами и не имеющие медицинских

отклонений. Во вторую группу были включены квалифицированные спортсмены различной специализации, также имеющее европеоидное происхождение.

### **Поиск предикторов жирового компонента у спортсменов**

Задачей данной части исследования было оценить взаимосвязь между антропометрическими индексами (индексом массы тела, индексом центрального ожирения, индексом талии/бедра, индексом ожирения тела и индексом абдоминального ожирения) и процентным содержанием жировой массы тела в группе контроля и квалифицированных спортсменов. Были использованы 3 метода оценки взаимосвязи этих показателей: корреляционный анализ Пирсона (Fieller et al., 1957), метод Блэнд-Альтмана (Bland et al., 1995), регрессия Деминга (Deming et al., 1943).

### **Ассоциативный анализ полиморфизма исследуемых генов и антропометрических параметров**

Ассоциативный анализ проводился между рисковыми вариантами *UCP1* (G аллель, rs1800592), *UCP2* (T аллель, rs660339), *UCP3* (C аллель, rs1800849) и *FTO* (A аллель, rs9939609) и антропометрическими показателями в обследованной выборке, а затем отдельно в группах контроля и спортсменов. Для генетического анализа были выбраны антропометрические показатели, отражающие количество жировой массы тела: индекс массы тела, индекс ожирения тела, индекс центрального ожирения и процентное содержание жировой массы тела, измеренного с помощью биоимпедансного анализа. Анализ главных эффектов полиморфизма исследуемых генов на антропометрические показатели производился с помощью множественной линейной регрессии. Категориальные переменные, такие как спортивный разряд, были переведены в количественные переменные, где минимальное значение было присвоено наименьшему разряду. Для переменной пол была создана дамми-переменная, или фиктивная переменная, при этом мужскому

полу присваивалась 1, а женскому 0. Дамми-переменные были созданы также для переменной специализация. Оптимизация параметров модели производилась с помощью пакета caret с помощью алгоритмов ресемплинга, а именно leave-one-out проверки (Kuhn et al., 2015). Модель включала такие кофакторы, как пол, возраст и возраст<sup>2</sup> в группе контроля, в группе спортсменов дополнительно были добавлены такие кофакторы, как спортивная специализация и разряд. Качество модели оценивалось по среднеквадратичной ошибке RMSE и среднему коэффициенту детерминации R<sup>2</sup>. Поправка на множественное сравнение выполнялась по методу Бенджамини-Хохберга (FDR).

### **Анализ ассоциаций рисковогого генетического индекса и антропометрических показателей**

Рисковий генетический индекс (total genotype score, TGS) был рассчитан для 4 локусов (rs1800592 *UCP1*, rs660339 *UCP2*, rs1800849 *UCP3*, rs9939609 *FTO*) по формуле, предложенной Williams (Williams et al., 2008):

$$TGS = 100/2 * n(\text{полиморфизм}) * (G1 + G2 + G3 + G4)$$

Условные обозначения: Gn – генотип исследуемых генов, n(полиморфизм) – количество исследуемых вариантов.

Каждому генотипу присваивался весовой индекс от 0 до 2. Максимальное значение «2» присваивалось носителям 2 минорных аллелей, весовой индекс «1» - присваивался носителю 1 минорного аллеля (табл. 8) и т.д.

Таблица 8. Весовые индексы для расчета рисковогого индекса TGS

Весовой индекс	Генотип			
2	<i>UCP1*GG</i>	<i>UCP2*TT</i>	<i>UCP3*CC</i>	<i>FTO*AA</i>
1	<i>UCP1*AG</i>	<i>UCP2*CT</i>	<i>UCP3*CT</i>	<i>FTO*AT</i>
0	<i>UCP1*AA</i>	<i>UCP2*CC</i>	<i>UCP3*TT</i>	<i>FTO*TT</i>

Анализ проводился для контрольной группы и группы спортсменов раздельно. Исследуемая выборка была разделена в зависимости от величины рискованного индекса TGS. В первую подгруппу вошли испытуемые, чей «рисковый статус» был выше 50%, во вторую группу вошли испытуемые с «рисковым статусом» равным или ниже 50%. Перед построением моделей были удалены высоко коррелирующие предикторы. Граница составила 0,75. Для проверки гипотезы о многомерном нормальном распределении данных использовался многомерный критерий Шапиро-Уилка, реализованный в пакете `mnormtest`. М-критерий Бокса из пакета `biotools` был использован для проверки гомогенности матриц ковариаций. Ошибка распознавания была оценена при помощи процедуры скользящего контроля. Для выбора переменных была использована процедура пошагового выбора переменных `stepclass` из пакета `klaR` (Roeber et al., 2006). Далее была проведена классификация антропометрических признаков в зависимости от показателя рискованного генетического индекса с помощью бинарных классификаторов с различными разделяющими поверхностями: линейный дискриминантный анализ, метод опорных векторов на радиальном ядре и алгоритм случайного леса (Liaw et al., 2002). Оптимизация параметров модели производилась с помощью алгоритмов ресемплинга пакета `caret`, а именно `leave-one-out` проверки (Kuhn et al., 2015). Сравнение моделей производилось по протоколу Kuhn и Johnson (2013). В качестве критериев качества моделей использовались показатели точности, чувствительности, специфичности и F1-меры.

$$\text{Точность} = \frac{\text{Истинноположительные}}{\text{Истинноположительные} + \text{ложноположительные}}$$

$$\text{Специфичность} = \frac{\text{Истинноотрицательные}}{\text{Истинноотрицательные} + \text{ложноположительные}}$$

$$\text{Чувствительность} = \frac{\text{Истинноположительные}}{\text{Истинноположительные} + \text{ложноотрицательные}}$$

$$\text{F1 – мера} = \frac{2 * \text{Точность} * \text{Чувствительность}}{\text{Точность} + \text{Чувствительность}}$$

Модели тестировались на обучающей и контрольной выборках. В качестве метода оценки моделей был использован ROC-анализ (“Receiver Operator Characteristic”). ROC-кривая позволяет показать зависимость верно классифицированных исходов от количества неверно классифицированных. Были рассчитаны значения площади под кривой - AUC (Area Under Curve) на полной выборке.

### **Анализ взаимосвязи физической активности и антропометрических показателей**

Влияние уровня физической активности оценивалось с помощью линейной множественной регрессии. В качестве кофакторов были включены переменные пола, возраста, спортивной специализации и спортивного разряда. Кофакторы (сопутствующие факторы) были включены в анализ для того, чтобы учесть их влияние на переменную-отклик. Анализ проводился в объединенной выборке, включающей контрольную группу и группу спортсменов. С помощью алгоритма случайного леса, алгоритма «Voruta» и регрессии «Лассо» были выбраны переменные, которые объясняют наибольший процент вариабельности исследуемых признаков (Kursa et al., 2010, Tibshirani 1996). Алгоритм случайного леса был выбран, так как он является мощным методом предсказания на маленьких выборках. Более того, метод случайного леса популярен в геномных и биомедицинских исследованиях, где необходимо выбрать из кластера генов со схожей функцией только гены, вносящие наибольший вклад в развитие многофакторной заболевания или сложного показателя. Для построения модели были выбраны следующие параметры. Строилось 500 деревьев решений. Число признаков для повышения расщепления ( $mtry$ ) выбиралось на уровне  $p/3$ . Ограничение на число объектов в листьях было выбрано по умолчанию и составило 5. Глубина деревьев была выбрана 5. Тестирование параметров модели производилось с помощью кросс-проверки из пакета `caret`. С помощью функции `varImpPlot()` были выбраны важные предикторы по двум

показателям. Первый показатель %IncMSE, основанный на среднем снижении точности предсказаний. Вторым показателем IncNodePurity, выражаемый через ошибку суммы квадратов разностей (RSS).

Были исследованы взаимодействия между рисковым генетическим индексом и физической активностью. Для исследования генно-средовых взаимодействий на показатели, ассоциированные с ожирением, были использованы метод многофакторной линейной регрессии. Анализ мощности статистического теста для ген-средовых взаимодействий проводился с помощью пакета Genpwr.

### **2.3.2. Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей исследуемых генов**

Сравнительный анализ частот встречаемости в группах проводился с помощью рекомендованного для маленьких выборок точный тест Фишера. Равновесие Харди-Вайнберга оценивалось с помощью критерия хи-квадрат. Для сравнения частот встречаемости также использовался график ассоциаций, построенный с помощью пакета assocplot, где оценивались ожидаемые и фактические частоты встречаемости.

### **2.3.3. Ассоциативный анализ полиморфизма исследуемых генов и функциональных показателей**

Для поиска ассоциаций между полиморфизмом исследуемых генов и максимальным потреблением кислорода был использован метод квантильной регрессии. Этот метод регрессионного анализа является непараметрическим методом, имеет ряд преимуществ по сравнению с методом линейной регрессии, он менее чувствителен к выбросам в данных и ненормальному характеру распределения остатков. Этот метод позволяет получить информацию для любых квантилей. Оценивались регрессионные параметры для квантилей 15, 25, 50, 75 и 85% (Q15, Q25, Q50, Q75, Q85) распределения зависимой переменной. В качестве зависимых переменных были выбраны:

максимальное потребление кислорода относительное (МПК отн., мл/мин/кг). Независимые переменные включали полиморфизм генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609). В модель также были включены кофакторы: пол, возраст, спортивный разряд и специализация. Для исследования влияния полиморфизмов генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609) на максимальное потребление кислорода была использована кодоминантная модель.

Для поиска ген-генных взаимодействий был выбран алгоритм случайного леса, реализованный в пакете RandomForestSRC (Ishwaran et al., 2007). При построении модели с помощью алгоритма случайного леса были выбраны следующие критерии. Показатель *mtry* был выбран на уровне 2. Количество деревьев было выбрано на уровне  $1000 * p$ , то есть 8000. Выбор значимых переменных происходил с помощью функции *holdout.rfscr*. В этом случае ошибка вычислялась сначала в присутствии переменной, а затем при ее удалении. Выбор переменных основывался на величине ошибки, чем выше была ошибка, тем выше важность предиктора. Взаимодействия между переменными определялись с помощью функции *find.interactions*, метод анализа был выбран VIMP, ассоциации между переменными были выбраны значимыми, если разница между аддитивными (*additive*) и парными (*paired*) значениями была достаточно высокой, а сами значения VIMP были достаточно высокими для обеих переменных. Ген-генные взаимодействия оценивались с помощью метода регрессии «Лассо» и алгоритма случайного леса. Мощность теста рассчитывалась с помощью пакета *rwr*. Ассоциативный анализ максимальной анаэробной мощности относительной (Вт/кг), определенной с помощью теста МАМ, и локуса rs660339 (*UCP2*) производился с помощью множественной линейной регрессии.

## **Ассоциативный анализ полиморфизма исследуемых генов и содержания лактата в крови до и после нагрузки**

Ассоциативный анализ полиморфизма исследуемых генов и содержания лактата в крови до и после нагрузки проводился с помощью множественной линейной регрессии. Для проведения ассоциативного исследования были проверены модели: аддитивная, рецессивная, доминантная и кодоминантная. Для каждого локуса оценивалась модель наследования. Для каждого локуса была построена кодоминантная модель, которая сравнивалась с аддитивной, рецессивной и доминантной моделями (Табл. 9).

Таблица 9. Формализация моделей наследования.

Модель	Присвоенное значение		
	0 минорных аллелей	1 минорный аллель	2 минорных аллеля
Аддитивная	0	1	2
Доминантная	1	1	0
Рецессивная	0	0	1

В случае аддитивной модели максимальное значение, или 2, присваивалось носителю двух минорных аллелей, значение 1 – носителю 1 аллеля, а 0 - носителю 2 предковых аллелей. В доминантной модели, значение 1 присваивалось носителям 1 или 2 минорных аллелей, в противном случае присваивалось значение 0. В рецессивной модели в случае наличия 2 минорных аллелей присваивалось значение 1, для остальных носителей присваивалось значение 0. Сравнение моделей производилось с помощью критерия отношения правдоподобия (likelihood ratio test, LRT) и скорректированного информационного критерия Акаике (AICc) (Hurvich et al., 1993).

### **2.3.4. Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей генов разобщающих белков в популяциях мира**

Для анализа распределения частот встречаемости аллелей генов *UCP1*, *UCP2*, *UCP3* (А аллель rs1800592, С аллель rs660339, Т аллель rs1800849) от климатогеографических факторов были использованы данные геномного проекта «1000 геномов фаза III», находящиеся в открытом доступе (McKinney et al., 2012). Для анализа были выбраны 15 популяций с различным этническим фенотипом. Популяции, проживающие на территории Москвы и Московской области, также были включены в анализ. Климатические данные для территорий, на которых проживают исследуемые популяции, были получены из базы данных NASA GISTEMP, находящейся в открытом доступе (Hansen et al., 2010). Данные за период 1981-2017 были усреднены, далее в анализ были включены средние значения этих показателей. Для анализа были выбраны показатели среднегодовой температуры, минимальных температур, инсоляции, относительной влажности и температуры точки росы. Для уменьшения размерности климатических данных был выбран метод главных компонент. Для приведения климатических данных к одинаковым единицам измерения была использовано скалирование. Для анализа зависимости частот встречаемости исследуемых аллелей от комплекса климатических факторов и отдельных показателей температуры и широты была использована обобщенная смешанная линейная модель, рекомендованная для анализа многоуровневых данных (Key et al., 2018). Были построены 5 моделей, которые сравнивали с нулевой моделью. В нулевую модель были включены индекс *Fst*, рассчитанный по протоколу Key F. в качестве фиксированного эффекта, и этнический фенотип в качестве случайного эффекта (Key et al., 2018). Для выбора лучшей модели был выбран информационный критерий Акаике скорректированный (AICc), применяемый для выборок малого размера (Hurvich et al., 2013). Наименьшее значение AICc соответствует лучшей модели. Для построения модели использовался пакет lme4 в среде R.

### **3.1. Анализ факторов, ассоциированных с повышенным набором жировой массы тела в обследованной выборке**

Для ассоциативного генетического исследования антропометрических признаков был выбран дизайн по типу «случай-контроль». Были сформированы 2 группы: контрольная группа, в которую входили представители, имеющие европеоидное происхождение, не являющиеся квалифицированными спортсменами и не имеющие медицинских отклонений. Во вторую группу были включены квалифицированные спортсмены различной специализации, также имеющие европеоидное происхождение. Общая характеристика изученной выборки представлена в приложениях А, Б, В.

#### **3.1.1. Антропометрические индексы как предикторы жирового компонента в обследованной выборке**

Антропометрические индексы широко используются в клинической практике и обладают высокой предиктивной способностью (Quaye et al., 2019; Wang et al., 2017). Для обычной популяции людей прослеживается четкая зависимость между этими показателями и риском развития ожирения (Quaye et al., 2019; Wang et al., 2017). Так, индекс массы тела (ИМТ) широко используется при скрининговых исследованиях для диагностики избыточной массы тела или ожирения (Hattori et al., 2013). Индекс соотношения талии к длине тела (WHtR), известный также как индекс центрального ожирения, и индекс талии/бедра (WHR) отражают количество жира в абдоминальной области и имеет высокую прогностическую силу для диагностики метаболических заболеваний (Lee et al., 2008). Антропометрический индекс ожирения тела (BAI) широко используется в эпидемиологических исследованиях как показатель, который отражает общее количество жировой массы (Bergman et al., 2011; Valdez et al., 1999). Антропометрический индекс абдоминального ожирения (AVI) отражает количество жира в абдоминальной

области (Guerrero-Romero et al., 2003). Для этих индексов показаны ассоциации с повышенным риском развития метаболических заболеваний.

В то же время, результаты исследований в группах спортсменов о взаимосвязи антропометрических индексов и процентного содержания жировой массы носят противоречивый характер (Walsh et al., 2018). Например, у физически активных испытуемых высокие значения антропометрических индексов могут быть следствием повышенного содержания безжировой массы тела, а не жировой (Freedman et al., 2005; Torstveit et al., 2012). В связи с этим, задачей данной части исследования было оценить взаимосвязь между процентным содержанием жировой массы и антропометрическими индексами в контрольной группе и группе квалифицированных спортсменов 18-25 лет. Результаты описательной статистики исследуемых признаков для контрольной группы и группы спортсменов в зависимости от пола представлены в таблице 10.

Таблица 10. Результаты описательной статистики морфологических признаков для контрольной группы и группы спортсменов

N		ИМТ	ЖМТ	МТ	ДТ	WHR	WhtR	BAI	AVI	
Мужчины	Квалифицированные спортсмены									
	55	M	24,37	16,51	77,07	174,97	0,80	0,43	23,04	12,67
		SD	3,04	6,69	13,25	9,61	0,05	0,03	2,81	2,30
	Контрольная выборка									
	28	M	25,01	17,35	78,69	177,43	0,83	0,46	23,97	13,69
		SD	2,59	3,24	8,19	6,14	0,02	0,02	4,47	1,26
Женщины	Квалифицированные спортсмены									
	47	M	21,99	24,65	66,22	173,02	0,73	0,43	24,60	10,74
		SD	0,03	5,29	11,29	11,60	0,03	0,02	3,07	1,62
	Контрольная выборка									
	78	M	21,15	26,51	57,24	164,59	0,71	0,41	27,44	10,03
		SD	2,72	5,38	7,17	5,95	0,03	0,03	3,48	1,61

Для того чтобы оценить, связаны ли антропометрические индексы (индекс массы тела, индекс центрального ожирения, индекс талии/бедра, индекс абдоминального ожирения и индекс ожирения тела) с процентным содержанием жировой массы в двух исследуемых группах был использован корреляционный анализ Спирмена, дополнительно в группе спортсменов были использованы такие методы, как метод Блэнда-Альтмана и регрессия Деминга.

Корреляционный анализ в группе женщин и мужчин из контрольной выборки выявил значимые взаимосвязи между процентным содержанием жировой массы тела и антропометрическими индексами. В группе женщин были выявлены корреляционные взаимосвязи между процентным содержанием жировой массы и индексами массы тела ( $r_s=0,75$ ,  $p<0,01$ ), талии/бедра ( $r_s=0,32$ ,  $p<0,01$ ), центрального ожирения ( $r_s=0,73$ ,  $p<0,01$ ), ожирения тела ( $r_s=0,72$ ,  $p<0,01$ ), абдоминального ожирения ( $r_s=0,79$ ,  $p<0,01$ ).

В группе мужчин были выявлены корреляционные взаимосвязи между процентным содержанием жировой массы и индексами массы тела ( $r_s=0,45$ ,  $p<0,01$ ), центрального ожирения ( $r_s=0,49$ ,  $p<0,01$ ), ожирения тела ( $r_s=0,5$ ,  $p<0,01$ ), абдоминального ожирения ( $r_s=0,29$ ,  $p<0,01$ ). Корреляционный анализ в группе спортсменов показал, что исследуемые антропометрические индексы, а именно индексы массы тела, талии/бедра, центрального ожирения, ожирения тела, абдоминального ожирения также значимо коррелируют с содержанием жировой массы, измеренной с помощью биоимпедансометрии (Табл. 11). Корреляционные взаимосвязи были выявлены как в группе мужчин, так и в группе женщин, за исключением индекса талии/бедра. В группе мужчин спортсменов значимых корреляций обнаружено не было (Табл. 11).

Схожие результаты показала регрессия Деминга в группе спортсменов (Табл. 11). Доверительный интервал рассчитывался с помощью процедуры

«складного ножа». Нулевая гипотеза опровергалась, если доверительный интервал (ДИ) для углового коэффициента попадал в диапазон от 0 до 1.

Таблица 11. Взаимосвязь между жировой компонентой и антропометрическими индексами.

Показатель	Пол	Угловой коэффициент (95% ДИ)	Коэффициент корреляции (уровень значимости)
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	М	0,0 (-0,24;0,25)	0,61* (0,0001)
	Ж	0,0 (-0,25;0,25)	0,67* (0,0001)
Индекс ожирения тела, %	М	0,0 (-0,27; 0,27)	0,49* (0,0001)
	Ж	0,0 (-0,31; 0,32)	0,46* (0,0001)
Индекс центрального ожирения (WHtR)	М	0,0 (-0,3;0,3)	0,63* (0,0001)
	Ж	0,0 (0,29; 0,29)	0,47* (0,0001)
Индекс талии/бедра (WHR)	М	0,0 (-0,22;0,21)	0,14 (0,31)
	Ж	0,0 (-0,19;0,19)	0,34* (0,04)
Индекс абдоминального ожирения (AVI)	М	0,0 (-0,32; 0,32)	0,75* (0,0001)
	Ж	0,0 (-0,27; 0,27)	0,52* (0,0001)

Метод Блэнд-Альтмана показал, что в группе спортсменов антропометрические индексы хорошо предсказывают процентное количество жировой массы. Около 95% значений попадает в диапазон  $\pm 1,96$  SD, то есть разница между этими показателями незначима (Рис. 7).

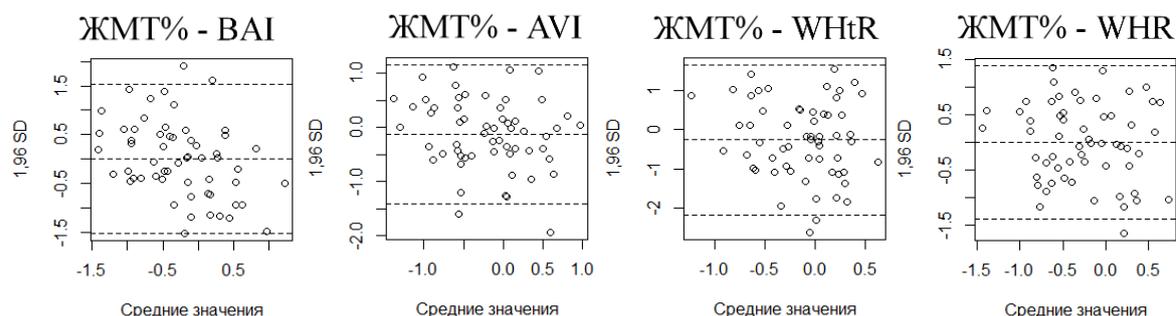


Рисунок 7. Взаимосвязь между жировой компонентой и антропометрическими индексами.

Условные обозначения: Пунктирной линией обозначены интервал  $1,96SD$  – 1,96 от стандартного отклонения.

## Краткое заключение по разделу

Были выявлены значимые корреляционные взаимосвязи между показателями процентного содержания жировой массы и антропометрическими индексами, что может говорить о возможности использования последних в качестве косвенной оценки количества жира в группах с различным уровнем физической активности, в том числе и у квалифицированных спортсменов.

### 3.1.2. Анализ ассоциаций между вариантами исследуемых генов и антропометрическими показателями в обследованной выборке

Ассоциативный анализ между локусами *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609) и антропометрическими показателями был проведен с учетом таких факторов, как пол и возраст. Предполагается, что наличие рискованных вариантов *UCP1* (G аллель, rs1800592), *UCP2* (T аллель, rs660339), *UCP3* (C аллель, rs1800849) и *FTO* (A аллель, rs9939609) повышает риск развития ожирения. Для ассоциативного анализа были выбраны такие антропометрические показатели, как индекс массы тела, индекс центрального ожирения и индекс ожирения тела (как показатель, отражающий количество жировой массы). Ассоциативный анализ был проведен в целом в исследуемой выборке. Также анализ ассоциаций был проведен отдельно в группе контроля и группе спортсменов, для того, чтобы оценить фенотипическое проявление исследуемых вариантов (силу связи генотип-фенотип) в двух группах, различающихся по уровню физической активности.

Распределение частот встречаемости генотипов гена *UCP1* в обследованной выборке соответствует равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2=0,32$  (df=1),  $p=0,56$ ). Та же тенденция наблюдается и для частот встречаемости генотипов генов *UCP2* ( $\chi^2=0,26$  (df=1),  $p=0,61$ ) и *UCP3* ( $\chi^2=0,40$  (df=1),

$p=0,52$ ). Отклонение от равновесия может говорить об ошибках генотипирования, популяционной стратификации, отборе или мутациях.

В целом в обследованной выборке с учетом пола, возраста и физической активности были обнаружены значимые ассоциации между исследуемыми вариантами *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609) и повышенным риском набора жировой массы. Так, в группе женщин у носителей рискованного С аллеля гена *UCP3* (rs1800849, СС/СТ генотип:  $28,9 \pm 3,9$ , ТТ генотип:  $23,8 \pm 2,5$ ,  $\beta=2,98$ ,  $p=0,0002$ ) и А аллеля *FTO* (rs9939609, АА/АТ генотип:  $27,8 \pm 4,5$ , ТТ генотип:  $26,6 \pm 3,4$ ,  $\beta=0,11$ ,  $p=0,04$ ) выше показатель индекса ожирения тела. Также в обследованной выборке женщин носители рискованного G аллеля *UCP1* (rs1800592) обладают более высокими показателями индекса массы тела (GG/AG генотип:  $21,3 \pm 3,1$ , AA генотип:  $20,1 \pm 2,5$ ,  $\beta=0,79$ ,  $p=0,03$ ) и индекса центрального ожирения (GG/AG генотип:  $0,42 \pm 0,04$ , AA генотип:  $0,40 \pm 0,04$ ,  $\beta=0,02$ ,  $p=0,005$ ). В группе мужчин прослеживается схожая тенденция. У носителей рискованного С аллеля гена *UCP3* (rs1800849, СС/СТ генотип:  $22,4 \pm 3,5$ , ТТ генотип:  $20,8 \pm 1,1$ ,  $\beta=0,03$ ,  $p=0,03$ ) выше показатель индекса ожирения тела.

В группе контроля ассоциативное исследование показало, что носительство рискованных вариантов генов *UCP1* (G аллель, rs1800592), *UCP2* (T аллель, rs660339), *UCP3* (C аллель, rs1800849), *FTO* (A аллель, rs9939609) ассоциировано с повышенным набором жировой массы. Анализ ассоциаций выявил значимые ассоциации полиморфизма гена *FTO* (rs9939609) и индексом массы тела ( $\beta=0,83$ ,  $p=0,03$ ) в контрольной группе (Рис. 8). Каждый добавочный А аллель *FTO* увеличивает в среднем до  $0,84 \text{ кг/м}^2$  индекса массы. Ранее было показано, что локус rs9939609 (*FTO*) ассоциирован с повышенным риском развития ожирением (Frayling et al., 2007).

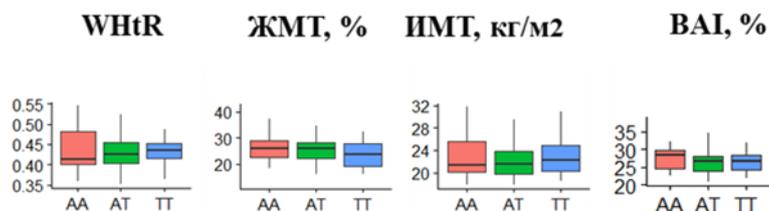


Рисунок 8. Диаграммы размаха морфологических показателей для локуса rs9939609, А аллель *FTO* является рисковым.

Для полиморфизма гена *UCP1* (rs1800592) также были обнаружены значимые ассоциации с такими морфологическими показателями, как индекс ожирения тела ( $\beta=1,55$ ,  $p=0,03$ ) и индексом центрального ожирения ( $\beta=0,02$ ,  $p=0,03$ ). Носители рискового G аллеля гена *UCP1* (rs1800592) имеют более высокие показатели индекса ожирения тела (Рис. 9).

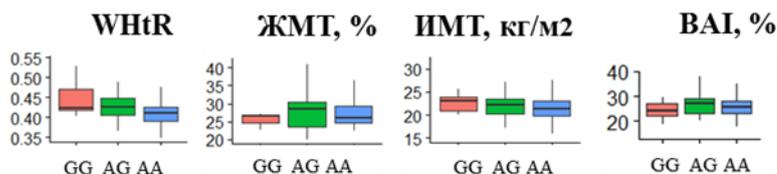


Рисунок 9. Диаграммы размаха морфологических показателей для локуса rs1800592, G аллель *UCP1* является рисковым.

Для полиморфизма генов *UCP2* (rs660339) и *UCP3* (rs1800849) были найдены значимые ассоциации с индексом центрального ожирения и индексом ожирения тела (рис. 10). У носителей рискового аллеля Т *UCP2* (rs660339) выше показатели индекса ожирения тела ( $\beta=1,21$ ,  $p=0,04$ ). Однако, уровень значимости с учетом поправки на множественное тестирование был выше порогового значения ( $FDR>0,05$ ). Носители С аллеля гена *UCP3* (rs1800849) обладают более высоким показателем индекса ожирения тела ( $\beta=3,45$ ,  $p=0,002$ ) и индексом центрального ожирения ( $\beta=0,03$ ,  $p=0,03$ ).

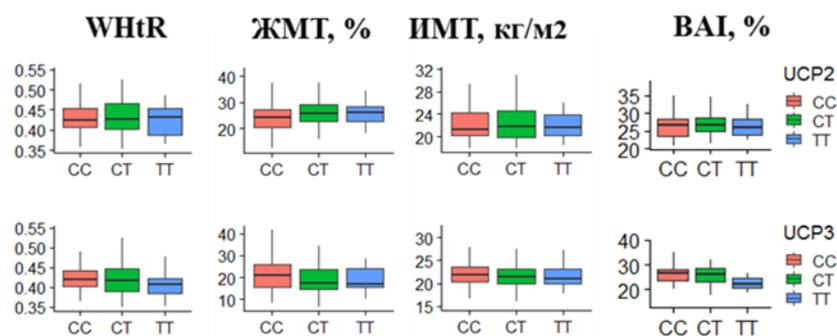


Рисунок 10. Диаграммы размаха морфологических показателей для rs660339 *UCP2* и rs1800849 *UCP3*, рисковые аллели: Т аллель *UCP2*, С аллель *UCP3*.

Аналогичная попытка анализа ассоциаций была предпринята в группе спортсменов. В группе взрослых спортсменов не было обнаружено значимых ассоциаций между вариантами генов *FTO* (rs9939609), *UCP2* (rs660339) и исследуемыми антропологическими показателями (Таблица 12).

Таблица 12. Анализ ассоциаций между полиморфизмом генов *UCP1* (G аллель, rs1800592), *UCP2* (Т аллель, rs660339), *UCP3* (С аллель, rs1800849), *FTO* (А аллель, rs9939609) и антропометрическими индексами в группе спортсменов  
Условные обозначения: SE –ошибка среднего

Параметр	rs9939609 <i>FTO</i>	rs1800592 <i>UCP1</i>	rs660339 <i>UCP2</i>	rs1800849 <i>UCP3</i>
Индекс массы тела (ИМТ)				
Коэффициент регрессии (SE)	0,55 (0,35)	0,16 (0,29)	0,02 (0,31)	0,33 (0,32)
Ур. значимости	0,11	0,56	0,95	0,31
Индекс центрального ожирения (WHtR)				
Коэффициент (SE)	0,02 (0,3)	<b>0,02*</b> (0,01)	0,03 (0,27)	<b>0,03*</b> (0,01)
Ур. значимости	0,95	0,05	0,92	0,51
Индекс ожирения тела (BAI)				
Коэффициент (SE)	0,22 (0,39)	<b>1,50*</b> (0,31)	0,22 (0,35)	<b>3,01*</b> (0,34)
Ур. значимости	0,56	0,05	0,52	0,05

В группе спортсменов было обнаружены значимые ассоциации между рисковыми вариантами *UCP1* (G аллель, rs1800592) и *UCP3* (С аллель, rs1800849). Так, носители рискового G аллеля *UCP1* (rs1800592) обладают более высокими показателями индекса ожирения тела ( $\beta=1,50$ ,  $p=0,05$ ) и

индекса центрально ожирения ( $\beta=0,02$ ,  $p=0,03$ ). Носители рискованного С аллеля *UCP3* (rs1800849) обладают более высокими показателями индекса ожирения тела ( $\beta=3,01$ ,  $p=0,05$ ) и индекса центрально ожирения ( $\beta=0,03$ ,  $p=0,04$ ). Однако, необходимо заметить, что уровень значимости с учетом поправки на множественное тестирование был выше порогового значения ( $FDR>0,05$ ).

В группе подростков 11-18 лет ( $N=201$ ) наблюдается схожая тенденция. В контрольной группе подростков полиморфизм гена *FTO* (rs9939609) значимо ассоциирован с более высоким показателем индекса массы тела ( $\beta=0,29$ ,  $p=0,02$ ). Схожая тенденция наблюдается и для жировой массы, измеренного с помощью метода биоимпедансометрии ( $\beta=0,28$ ,  $p=0,02$ ). В группе юных спортсменов влияние полиморфизма гена *FTO* пропадает на индекс массы тела ( $\beta=0,10$ ,  $p=0,34$ ) и на процентное содержания жировой массы ( $\beta=0,14$ ,  $p=0,09$ ).

Таким образом, в целом в обследованной выборке были обнаружены значимые ассоциации между исследуемыми вариантами *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609) и повышенным риском набора жировой массы тела. В данном исследовании мы получили схожие результаты с ранее проведенными исследованиями, где было показано, что носители рискованых вариантов генов *UCP1* (G аллель, rs1800592), *UCP2* (T аллель, rs660339), *UCP3* (C аллель, rs1800849), *FTO* (A аллель, rs9939609) обладают более высокими антропометрическими показателями, отражающими количество жировой массы и топографию жиротложения. Так, ряд исследований установили, что исследуемый вариант гена *FTO* (A аллель, rs9939609) ассоциирован с повышенным риском ожирения (Frayling et al., 2007). Молекулярно-генетические исследования показали, что недостаток продукции FTO может защитить организм от развития ожирения (Fischer et al., 2009; Church et al., 2009; McMurray et al., 2013). Однако, молекулярный механизм развития ожирения с участием FTO до недавнего времени был не известен. В 2013 году ученые из Германии показали, что недостаток FTO

приводит к усилению митохондриального разобщения (Tews et al., 2013). Один из вариантов гена *FTO* (rs1421085), который связан с сниженным синтезом продукта этого гена, влияет на уровень экспрессии *ARID5B*, *IRX3*, *IRX5* и *UCP1* (Berulava et al., 2015, Claussnitzer et al., 2015). Было установлено, что *FTO* регулирует экспрессию гена *IRX3*, который задействован в адипогенезе (Smemo et al., 2014, Landgraf et al., 2016). На примере модельных организмов - мышей, у которых производился нокаут гена *IRX*, было показано, что у носителей *IRX*<sup>-/-</sup> меньшее накопление жировой массы по сравнению с диким типом (Smemo et al., 2014). Подавление экспрессии этих генов приводит к преобразованию белых адипоцитов в бежевые. Молекулярно-генетические исследования на мышах показали, что уровень экспрессии гена *UCP1* в жировой ткани у особей с нокаутом гена *FTO* повышался в 4 раза по сравнению с носителями дикого типа (Tews et al., 2013).

Для рискованного варианта гена *UCP1* (rs1800592) в ранее проведенных исследованиях были обнаружены ассоциации с повышенным риском развития абдоминального ожирения у женщин (Ho Cha et al., 2008). Ряд ген-таргетных исследований показал, что полиморфизм гена *UCP1* (rs1800592) ассоциирован с ИМТ (Kozak et al., 2009, Brondini et al., 2012). Молекулярно-генетические исследования показали, что снижение уровня экспрессии *UCP1* приводит к избыточному накоплению жировой массы (Kozak et al., 2009). Предполагается, что полиморфизм гена *UCP1* ассоциирован с более низким производством мРНК и белка в клетках бурой жировой ткани. Более того, мутации в промоторной области (области, где произошла исследуемая замена) могут влиять на стабильность мРНК (De Vooght et al., 2009). Для исследуемых вариантов Ala55Val *UCP2* и -55C/T *UCP3* были описаны значимые ассоциации с более высокими значениями антропометрических индексов, которые отражают жировую компоненту и повышенным риском развития ожирения в некоторых популяциях (Coppola et al., 2007; Souza et al., 2011; Diano et al., 2012).

## Краткое заключение по разделу

Анализ ассоциаций выявил ряд значимых взаимосвязей между полиморфизмом исследуемых генов и повышенным риском набора жировой массы. Так, в целом в обследованной выборке у носителей рискованных вариантов генов *UCP1* (G аллель, rs1800592), *UCP2* (T аллель, rs660339), *UCP3* (C аллель, rs1800849) и *FTO* (A аллель, rs9939609) наблюдается повышенное количество жировой массы тела по сравнению с носителями протекторных аллелей. Однако, необходимо заметить, что в группе контроля и спортсменов не все проверяемые гипотезы были подтверждены с учетом поправки на множественное тестирование. В группе контроля были выявлены ассоциации, которые не подтвердились в группе спортсменов, что может говорить о значимом влиянии физической активности на фенотипическое проявление исследуемых вариантов (силу связи генотип-фенотип). В связи с этим была предпринята попытка оценить суммарный генетический вклад рискованных («бережливых» или ассоциированных с ожирением) вариантов в двух исследуемых группах.

### 3.1.3. Анализ ассоциаций рискованного генетического индекса и антропометрических показателей

Полиморфизм генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609) объясняет небольшой процент (менее 1%) вариативности исследуемых признаков ( $R^2=0,006$ ). Была произведена попытка построить модель для интерпретации межгрупповых различий антропометрических признаков в зависимости от суммарной оценки генетического риска. В качестве модели суммарной оценки генетического риска была выбрана модель рискованного генетического индекса (TGS, total genotype score), разработанная Williams и Folland (Williams и Folland, 2008). Модель рискованного генетического индекса была разработана для полигенной оценки развития выносливости и скоростно-силовых показателей в группе спортсменов (Williams и Folland, 2008). Ранее проведенные исследования

показали, что рисковый генетический индекс ассоциирован с различным фенотипом, например, безжировой массой или мышечной силой у спортсменов (Ben-Zaken et al., 2015). Нами данная модель была применена для оценки риска излишнего набора жировой массы в контрольной группе и группе спортсменов. Предполагается, что чем выше показатель рискового генетического индекса, тем выше риск набора жировой массы.

Анализ проводился для группы спортсменов и контрольной группы отдельно для того, чтобы оценить точность предсказания в каждой группе. «Бережливым» (рисковым в случае ожирения) генотипам *GG\*UCP1*, *TT\*UCP2*, *CC\*UCP3*, *AA\*FTO* которые приводят к повышенному риску развития метаболических заболеваний, был присвоен весомый индекс 2. «Протекторным» генотипам *AA\*UCP1*, *CC\*UCP2*, *TT\*UCP3*, *TT\*FTO* был присвоен индекс 0, в то время как гетерозиготам был присвоен индекс 1 (Табл. 9). Далее был рассчитан рисковый генетический индекс по 4 полиморфизмам.

Однако, необходимо заметить, что у моделей оценки рискового статуса, рассчитанного для нескольких вариантов, имеется ряд ограничений. Например, при наличии низкорисковых полиморфизмов модель увеличивает максимальный относительный риск, что может быть связано с неполным сцепленным наследованием. Для исследуемых локусов *rs660339 UCP2* и *rs1800849 UCP3*, показатели LD составили  $D=0,12$  и  $r^2=0,09$ . Таким образом, между этими аллелями не наблюдается тесное генетическое сцепление.

Для интерпретации межгрупповых различий в зависимости от суммарной оценки генетического риска были выбраны бинарные классификаторы. В качестве группирующей переменной был выбран рисковый генетический индекс TGS. Для этого исследуемая выборка была разделена на 2 подгруппы. Первая подгруппа включала испытуемых, чей рисковый генетический индекс (TGS) был меньше 50% (предполагается низкий риск развития ожирения), во вторую подгруппу были отнесены

испытуемые, чей рискованный генетический индекс был больше или равен 50% (предполагается высокий риск развития ожирения). Задачей данного раздела была интерпретация межгрупповых различий у испытуемых с различным уровнем физической активности и предсказание значения рискованного генетического индекса по антропометрическим показателям. Анализ проводился с учетом пола. В качестве независимых переменных были выбраны следующие антропометрические показатели: процент жировой массы тела (%ЖМТ), индекс массы тела (ИМТ), индекс ожирения тела (ВАИ). Также были включены индекс абдоминального ожирения и индекс талии/бедра, которые не были рассмотрены в ассоциативном исследовании. Переменная индекса центрального ожирения (WHtR) как высоко коррелирующая с остальными переменными была удалена перед анализом. Были использованы 3 метода бинарной классификации: линейный дискриминантный анализ, метод опорных векторов на радиальном ядре и алгоритм случайного леса. Перед проведением линейного дискриминантного анализа проводилось сравнение полной и компактной модели для того, чтобы определить, какой набор данных является наиболее информативным. Для линейной дискриминантной модели была выбрана компактная модель, включающей переменные ИМТ и антропометрический индекс ожирения ВАИ, так как ошибка распознавания компактной модели (23%) была ниже ошибки распознавания (27%) полной модели, включающей все предикторы. Модели, построенные с помощью алгоритма случайного леса и метода опорных векторов, включали полный набор предикторов. Сравнение моделей, построенных с помощью линейного дискриминантного анализа, метода опорных векторов на радиальном ядре и алгоритма случайного леса, производилось по протоколу, разработанному Kuhn и Johnson (2003). Для каждой модели строились матрицы сопряжения и вычислялись следующие критерии: точность, специфичность (ошибка I рода), чувствительность (ошибка II рода) и F1-мера. Точность определяет общую вероятность теста давать правильный результат. Чувствительность определяет мощность теста,

то есть вероятность отклонения нулевой гипотезы (ошибка II рода). Специфичность определяет верность принятия нулевой гипотезы. Однако при несбалансированных частотах классов эти критерии могут дать некорректный ответ, в связи с этим также было решено использовать F1-меру, которая позволяет дать более сбалансированную характеристику модели.

Сравнение классификаторов проводилось с помощью ROC анализа, который позволяет оценить качество бинарных классификаторов. ROC анализ имеет количественную интерпретацию в виде показателя AUC (показатель площади под кривой). Чем выше показатель AUC, тем выше точность классификатора.

Максимальное значение AUC (91,4%) принадлежит модели, построенной с помощью алгоритма случайного леса (Рис. 11). Таким образом, сравнительный анализ моделей выявил, что наибольшую точность показал алгоритм случайного леса, что может говорить о нелинейной зависимости отклика и независимых переменных. Точность финальной модели, построенной с помощью алгоритма случайного леса, составила 92%, специфичность - 73%, чувствительность - 91%, а F1-мера - 91%. Таким образом, на основе переменных индекса массы тела (ИМТ), индекса ожирения тела (BAI), индекса абдоминального ожирения (AVI), процентного содержания жировой массы (%ЖМТ) верно были предсказаны значения рискового генетического индекса TGS в 91 случае из 100 (Рис. 11).

Схожая процедура была проделана для группы спортсменов. Максимальное значение AUC (87,3%) принадлежит модели, построенной с помощью алгоритма случайного леса.

Однако, необходимо заметить, что модель в контрольной группе точнее предсказывала рисковый генетический индекс по сравнению с моделью в группе спортсменов, что может говорить о влиянии регулярной физической активности на антропологические показатели. Ранее было показано, что

физическая активность может компенсировать влияние генетических факторов на антропологические показатели (Li et al., 2010). Регулярные занятия спортом на 40% снижают влияние генетических факторов на некоторые антропометрические показатели, например, индекс массы тела (Li et al., 2010).

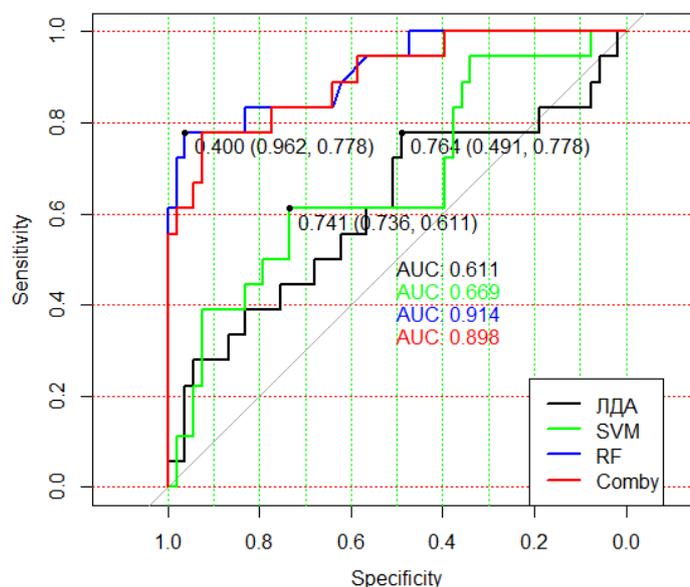


Рисунок 11. ROC-кривые для моделей, построенных с помощью классификаторов линейного дискриминантного анализа (ЛДА), метода опорных векторов на радиальном ядре (SVM) и алгоритма случайного леса (RF), comby- комбинированный прогноз.

### Краткое заключение по разделу

Точность моделей для контрольной группы и группы спортсменов составила 92% и 87%, соответственно. Антропометрические показатели, ассоциированные с ожирением и различными метаболическими заболеваниями, хорошо предсказывают рисковый генетический индекс, то есть, чем выше рисковый генетический индекс, тем выше риск развития ожирения. Однако, точность модели в группе спортсменов была ниже, по сравнению с группой контроля, что может быть связано с влиянием регулярных физических нагрузок. В связи с этим, далее было проведено исследование о влиянии регулярных физических упражнений на различные антропометрические показатели.

### **3.1.4. Анализ взаимосвязи физической активности и антропометрических показателей<sup>1</sup>**

Изменчивость исследуемых антропометрических показателей определяется не только генетическими факторами (Blüher et al., 2019). Влияние таких факторов, как диета, socioeconomic status, физическая активность и некоторые факторы среды, на антропометрические показатели достаточно велико (Kilpeläinen et al., 2011; Celis-Morales et al., 2019). В связи с этим было выдвинуто предположение, что регулярные занятия спортом оказывают значимое влияние на исследуемые антропометрические показатели, а также на фенотипическое проявление суммарного вклада исследуемых генетических факторов (Goni et al., 2018).

Оценка влияния фактора регулярных занятий спортом была проведена с помощью метода множественной линейной регрессии. Анализ проводился для объединенной группы, в которую входили группа контроля и группа квалифицированных спортсменов различной специализации. Уровень физической активности оценивался как 0 в случае контрольной группы и 1 в случае квалифицированных спортсменов. Для оценки главного эффекта физической активности, в анализ были включены следующие кофакторы: пол, возраст, разряд и спортивная специализация.

Сравнительный анализ групп контроля и спортсменов выявил значимые различия между испытуемыми, которые регулярно занимаются спортом (квалифицированными спортсменами) и испытуемыми из группы контроля (Табл. 13). В целом физическая активность снижает риск избыточного накопления жировой массы и центрального ожирения.

---

<sup>1</sup> Материалы главы опубликованы в работе: Parfenteva OI, Groth D., Scheffler C., Zaharova M.F. Influence of the A/T polymorphism of the FTO gene and sport specialization on the body composition of young Russian athletes/ OI Parfenteva, D. Groth, C. Scheffler, M.F. Zaharova // Anthropologischer Anzeiger; Bericht über die biologisch-anthropologische Literatur. 2019. DOI: 10.1127/anthranz/2019/0943

Таблица 13. Оценка влияния физической активности на исследуемые морфологические показатели с помощью регрессионного анализа.

Переменная	Бета-коэффициент	Стандартная ошибка среднего	Уровень значимости
Процентное содержание жировой массы	<b>-2,02*</b>	0,73	$1 \cdot 10^{-15}$
Индекс массы тела	<b>-1,12*</b>	0,37	0,003
Индекс талии/бедра	<b>-0,09*</b>	0,04	0,04
Индекс ожирения тела	<b>-0,82*</b>	0,19	$6 \cdot 10^{-4}$
Индекс абдоминального ожирения	<b>-0,89*</b>	0,11	0,009
Индекс центрального ожирения	<b>-0,01*</b>	0,007	0,03

Испытуемые в группе спортсменов обладают значимо более низкими значениями таких показателей как процентное содержание жировой массы ( $\beta = -2,02$ ,  $p = 1 \cdot 10^{-15}$ ), индекс массы тела ( $\beta = -1,12$ ,  $p = 0,003$ ), индекс талии/бедра ( $\beta = -0,09$ ,  $p = 0,04$ ), индекс центрального ожирения ( $\beta = -0,01$ ,  $p = 0,03$ ), индекс ожирения тела ( $\beta = -0,82$ ,  $p = 6 \cdot 10^{-4}$ ), индекса абдоминального ожирения ( $\beta = -0,89$ ,  $p = 0,009$ ) и жировой массы тела, измеренной с помощью биоимпедансометрии ( $\beta = -2,02$ ,  $p = 1 \cdot 10^{-15}$ ).

Физическая нагрузка, направленная на развитие аэробной выносливости в группе женщин и мужчин, снижает такие показатели, как процентное содержание жировой массы ( $p = 0,01$  и  $p = 7 \cdot 10^{-12}$ ) и индекс ожирения тела ( $p = 1 \cdot 10^{-6}$  и  $p = 7 \cdot 10^{-12}$ ). В группе спортсменов, которые специализируются в видах спорта, где преобладает анаэробное и смешанное энергообеспечение, такие показатели как процентное содержание жировой массы тела, индекс абдоминально ожирения, индекс ожирения тела и индекс талии/бедра значимо ниже по сравнению с контрольной группой (Рис. 12). Данные закономерности сохраняются с учетом поправки на множественное тестирование. Полученные данные согласуются с результатами ранее проведенных исследований, где было показано, что повышение расхода энергии – одна из стратегий борьбы с

ожирением (Blüher et al., 2019, Liu et al., 2018). Аэробные физические нагрузки ведут к снижению жировой массы (Blüher et al., 2019; Liu et al., 2018).

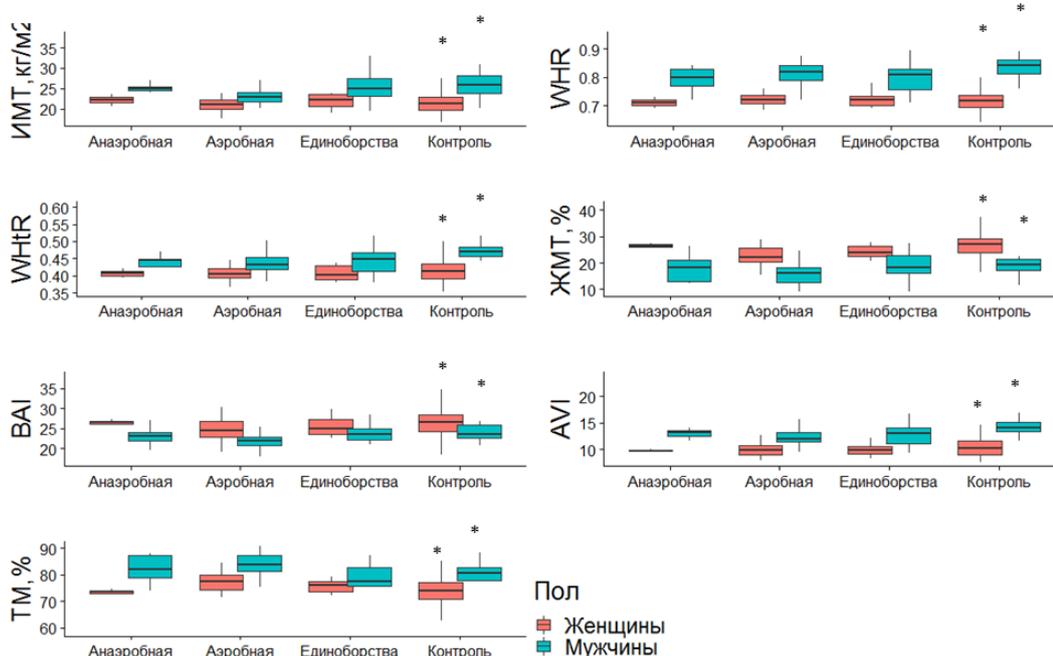


Рисунок 12. Диаграмма размаха исследуемых антропометрических показателей в зависимости от пола в группах контроля и спортсменов различной специализации.

Физическая активность может модифицировать фенотипическое проявление генетических факторов. В группе контроля рисковый генетический индекс значимо ассоциирован с такими показателями, как индекс массы тела ( $\beta=0,04$ ,  $p=0,01$ ), индекс центрального ожирения ( $\beta=0,02$ ,  $p=0,03$ ) и индекс ожирения тела ( $\beta=0,07$ ,  $p=0,0005$ ). В то время, как в группе спортсменов обнаруженные ассоциации подтвердились только для индекса ожирения тела ( $\beta=0,02$ ,  $p=0,04$ ). Предполагается, что физическая активность даже в случае генетической предрасположенности может снижать риск развития ожирения. В связи с этим было оценено совместное влияние рискового генетического индекса и физической активности на морфологические индексы, то есть было оценено влияние генно-средовых взаимодействий (TGS\*ФА). Наличие взаимодействий оценивалось при помощи линейного регрессионного анализа. Пол, возраст, спортивная

специализации и разряд были включены в регрессионную модель в качестве кофакторов. С помощью метода линейной регрессии было построено 2 модели. Первая модель являлась аддитивной моделью, которая не включала взаимодействия. Вторая модель была построена с учетом взаимодействий и являлась мультипликативной.

Для таких показателей, как индекс массы тела и индекс центрального ожирения точность мультипликативной модели (включающая взаимодействия) была выше по сравнению с аддитивной моделью (не включающая взаимодействия). Так, коэффициент детерминации, который показывает долю объясненной дисперсии индекса массы тела и индекса центрального ожирения, был выше для модели, включающей взаимодействие рискованного генетического индекса (Табл. 14). Для остальных показателей сравнительный анализ не показал значимой разницы между мультипликативной и аддитивной моделями.

Таблица 14. Сравнительный анализ мультипликативной и аддитивной моделей.

Параметр	Аддитивная модель	Мультипликативная модель
ИМТ		
Коэффициент детерминации $R^2$	0,40	0,46
Средняя абсолютная ошибка	1,90	1,87
Среднеквадратичное отклонение	2,55	2,43
Уровень значимости	0,05	
WHtR		
Коэффициент детерминации $R^2$	0,20	0,22
Средняя абсолютная ошибка	0,02	0,02
Среднеквадратичное отклонение	0,31	0,31
Уровень значимости	0,04	

Для индекса массы тела ( $\beta=1,29$ ,  $p=0,05$ ) и индекса центрального ожирения ( $\beta=0,02$ ,  $p=0,04$ ) найден значимый эффект взаимодействия между

рисковым генетическим индексом и уровнем физической активности. Так, в группе контроля у испытуемых с высоким генетическим риском выше показатели индекса массы тела и индекса центрального ожирения, в то время как в группе спортсменов значимой разницы между испытуемыми с высоким и низким риском не выявлено (Рис. 13).

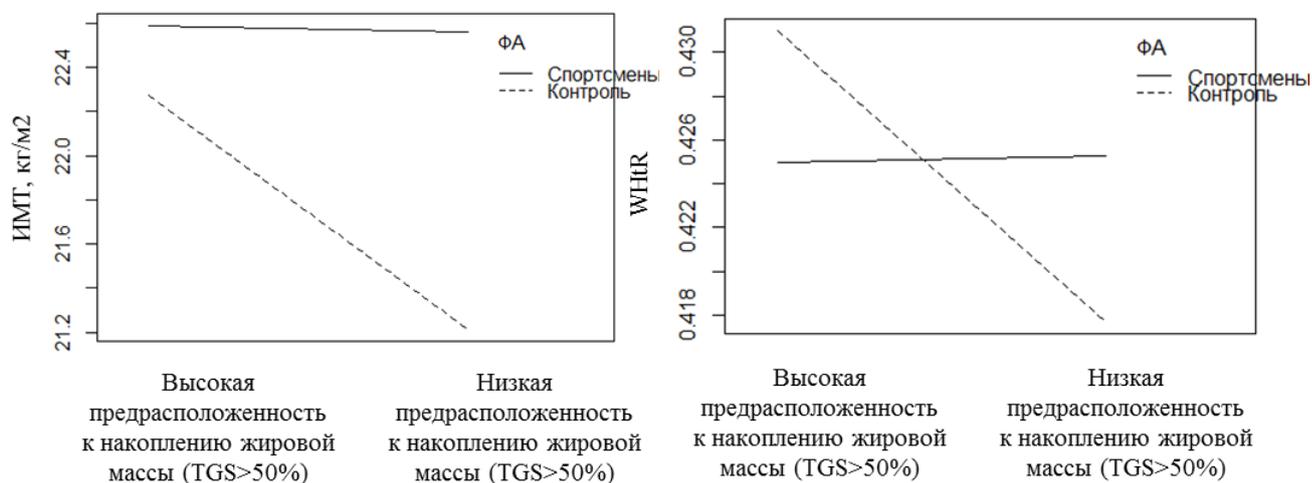


Рисунок 13. Эффект взаимодействия между рисковым генетическим индексом TGS и уровнем физической активности (ФА) в объединенной группе спортсменов и контроля. При наличии взаимодействия линии не являются параллельными.

Таким образом показано, что даже в случае генетической предрасположенности физическая активность является эффективным способом для борьбы с лишним весом. Ранее было показано, что различные факторы среды могут модифицировать влияние генетических факторов на риск развития ожирения (Zhu et al., 2014; Kilpeläinen et al., 2011, Qi et al.; 2008; Li et al., 2019). Такие факторы, как количество сна, диета, потребление алкоголя, физическая активность и другие модифицируют проявление генетических факторов в фенотипе (Rask-Andersen et al., 2017). Например, в случае генетической предрасположенности, определенной на основе полигенной оценки (100 рискованных вариантов генов), диета с высоким содержанием жиров значительно увеличивает риск развития ожирения (Li et al., 2019). Для ряда вариантов генов, ассоциированных с повышенным риском развития ожирения, например, *FTO* (rs9939609), было показано, что

повышение уровня физической активности компенсирует влияние этих генов на антропометрические показатели (Kilpeläinen et al., 2011; Rask-Andersen et al., 2017; Celis-Morales et al., 2019).

Межиндивидуальные различия антропометрических показателей объясняются не только генетическими факторами и физической активностью. Так, в нашем случае исследуемые варианты объясняли лишь небольшой процент дисперсии исследованных признаков, менее 1 процента. На данный момент суммарный вклад всех известных локусов генов, ассоциированных с ожирением, составил около 6% (Locke et al., 2015, Yengo et al., 2018). Уровень физической активности также определяется генетическими факторами, которые могут влиять на ее уровень и паттерн, и в связи с этим не может быть определен как полностью средовой фактор. Например, у мышей с нокаутом гена *FTO* был снижен уровень физической активности (Fisher et al., 2009).

Для антропометрических показателей, отражающих количество и характер жировоголожения, наблюдается половозрастная зависимость. Например, с возрастом наблюдается увеличение количества висцерального жира, что связано с повышенным риском развития метаболических заболеваний (Hunter et al., 1997). В данном исследовании была предпринята попытка выявить факторы (возраст, пол, физическая активность или полиморфизм исследуемых генов), которые объясняют наибольший процент межиндивидуальных различий антропометрических показателей в обследованной выборке. Выбор важных предикторов производился с помощью алгоритма «Voruta» и алгоритма случайного леса. Уровень значимости для выбора предикторов с помощью алгоритма случайного леса был рассчитан с поправкой на множественное сравнение (критерий Бенджамини-Хохберга, пакет *rRF*). Анализ проводился для объединенных групп спортсменов и контроля (N=275).

С помощью алгоритма «Boruta» были выбраны предикторы, которые объясняют наибольший процент межиндивидуальных различий (Рис. 14). Так, такие показатели, как пол, физическая активность и возраст объясняют наибольший процент вариабельности всех антропометрических показателей, полиморфизм исследуемых генов вносит минимальный вклад.

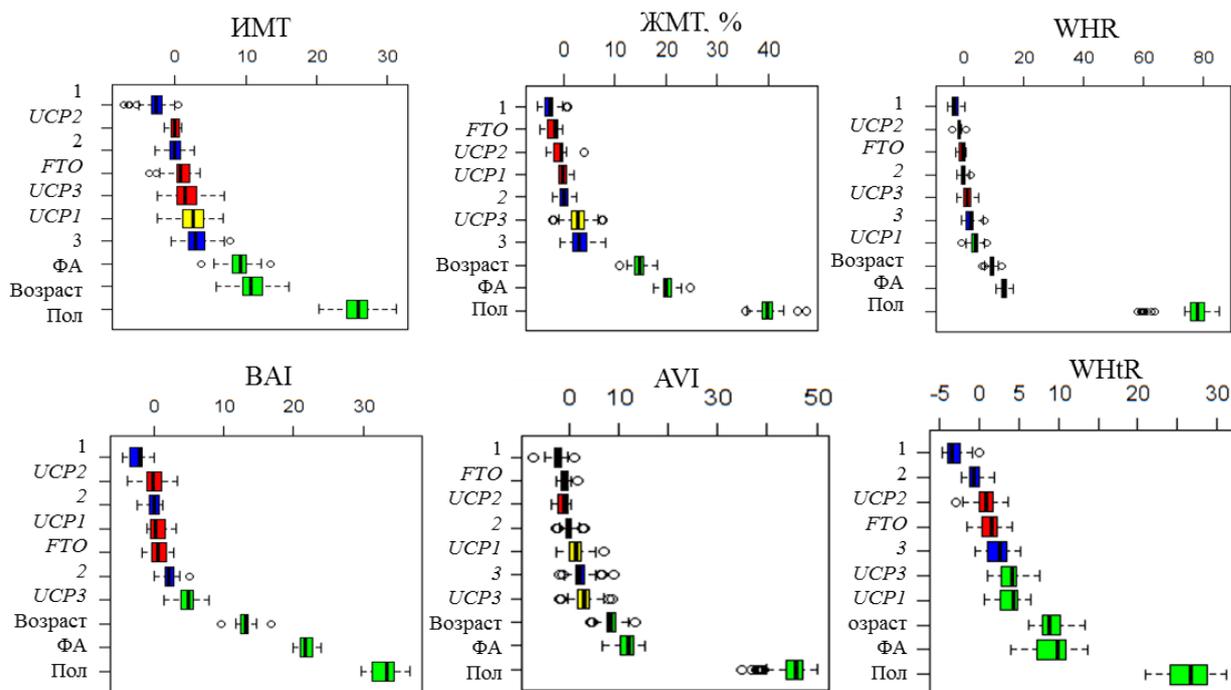


Рисунок 14. Оценка важности предикторов с использованием алгоритма «Boruta» для объединенной группы контроля и спортсменов. Условные обозначения: зеленым цветом обозначены значимые предикторы, желтым – близкие к значимым, красным – незначимые предикторы, ФА - уровень физической активности; 1, 2, 3 – пороговые значения для определения важности предикторов), по оси Y обозначен процент объясненной дисперсии.

Алгоритм случайного леса показал схожие результаты (Табл. 15). Пол, физическая активность и возраст объясняют наибольший процент вариабельности всех антропометрических показателей. Для предсказания таких параметров, как индекс центрального ожирения и индекс ожирения тела, также важную роль играют полиморфизм генов *UCP1* (rs1800592) и *UCP3* (rs1800849).

Таблица 15. Выбор важных переменных для предсказания признаков по %IncMSE – ошибки, основанной на среднем снижении точности предсказания (FDR).

Параметр	ИМТ	ЖМТ,%	AVI	BAI	WHR	WHtR
Пол	<b>17,32*</b>	<b>26,96*</b>	<b>24,98*</b>	<b>21,28*</b>	<b>31,38*</b>	<b>12,90*</b>
Возраст	<b>8,94*</b>	<b>14,01*</b>	<b>11,98*</b>	<b>10,94*</b>	<b>22,10*</b>	<b>8,79*</b>
Физическая активность	<b>7,62*</b>	<b>22,67*</b>	<b>24,09*</b>	<b>20,36*</b>	<b>16,35*</b>	0,86
<i>FTO</i>	3,31	0,001	0,001	0,001	0,64,	0,01
<i>UCP1</i>	3,16	0,94	1,53	0,63	5,59	<b>1,12*</b>
<i>UCP2</i>	0,18	0,001	0,87	0,84	2,10	0,01
<i>UCP3</i>	2,63	6,17	5,02	<b>13,17*</b>	2,48	<b>0,02*</b>

### Краткое заключение по разделу

Влияние таких предикторов, как уровень физической активности, пол и возраст сильнее, чем влияние полиморфизма исследуемых генов. Такие факторы, как уровень физической активности, пол и возраст объясняет более 35% дисперсии исследуемых морфологических параметров, в то время как исследуемые варианты rs1800592 (*UCP1*), rs660339 (*UCP2*), rs1800849 (*UCP3*) и rs9939609 (*FTO*) объясняют менее 1%. Физическая активность снижает риск набора жировой массы даже в случае генетической предрасположенности.

### 3.2. Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей исследуемых генов в обследованной выборке<sup>2</sup>

Разобщающие белки, снижая электрохимический градиент в клетке, задействованы в регуляции энергетического метаболизма. «Бережливые» варианты генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849), снижающие эффективность разобщения и ассоциированные с повышенным риском набора жировой массы, в условиях повышенного расхода энергии, как

<sup>2</sup> Материалы главы опубликованы в работах: Бондарева Э.А., Парфентьева О.И., Сонькин В.Д. «Бережливый» генотип: ожирение или спортивный успех / Э.А. Бондарева, О.И. Парфентьева, В.Д. Сонькин // Вестник Московского университета. Серия 23: Антропология. – 2017 - №. 3 -с. 56-67; Bondareva, E., Parfenteva, O. and Son'kin, V. Variation in the Uncoupling Proteins Genes in Different Sports/ E. Bondareva, O. Parfenteva, V. Son'kin, // In Proceedings of the 7th International Conference on Sport Sciences Research and Technology Support (icSPORTS 2019) by SCITEPRESS – Science and Technology Publications, Lda – 2019, pp 38-46 DOI: 10.5220/0008066800380046

например, в случае квалифицированных спортсменов, могут стать преимуществом для их носителей. В связи с этим, задачей данного этапа анализа была проверка гипотезы о направленном отборе «бережливых» вариантов исследуемых генов в группе квалифицированных спортсменов. Ранее для полиморфизма гена *FTO* (rs9939609) было показано, что в группе спортсменов не наблюдается значимых различий между группами спортсменов и контроля (Eunon et al., 2013). В данном исследовании значимых различий в частотах встречаемости *FTO* (rs9939609) между двумя исследуемыми группами также не было обнаружено ( $p > 0,05$ ).

Для каждого маркерного локуса в обеих группах подсчитывалось число носителей различных генотипов (Табл. 16). Далее проводился сравнительный анализ частот встречаемости генотипов разобщающих белков в контрольной выборке и группе спортсменов с помощью точного теста Фишера.

Частоты встречаемости минорных аллелей генов *UCP1* (G аллель, rs1800592), *UCP2* (T аллель, rs660339), *UCP3* (T аллель, rs1800849) в группе контроля равны 0,23, 0,42 и 0,24, соответственно. В группе спортсменов частоты встречаемости минорных аллелей генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) равны 0,30, 0,41 и 0,32 соответственно (Табл. 16).

Таблица 16. Распределение генотипов в исследуемых выборках.

Группа	Аллели		Генотип			N	Уровень значимости
	A	G*	AA	AG	GG*		
<i>rs1800592</i>	A	G*	AA	AG	GG*		
Контроль	0,77	0,23	42 (0,59)	26 (0,36)	2 (0,03)	71	p=0,03
Спортсмены	0,70	0,30	100 (0,54)	54 (0,31)	20 (0,14)	174	
<i>rs660339</i>	C	T*	CC	CT	TT*	N	p=0,14
Контроль	0,58	0,42	22 (0,31)	39 (0,54)	9 (0,12)	71	
Спортсмены	0,59	0,41	67 (0,37)	78 (0,43)	29 (0,2)	174	
<i>rs1800849</i>	C	T	CC	CT	TT	N	p=0,07
Контроль	0,76	0,24	44 (0,61)	21 (0,29)	5 (0,07)	71	
Спортсмены	0,68	0,32	86 (0,49)	74 (0,42)	14 (0,08)	174	

Сравнительный анализ группы спортсменов и группы контроля выявил значимые различия по частотам встречаемости исследуемых генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849). В целом в обследованной группе спортсменов наблюдается преобладание «бережливых» рискованных вариантов генов *UCP* по сравнению с группой контроля. Было обнаружено, что исследуемые группы значительно отличаются по частотам встречаемости генотипов гена *UCP1* ( $p=0,03$ ). На рисунке 15 представлены различия между ожидаемым и фактическим количеством измерений частот встречаемости для каждой группы. Для гена *UCP1* частота встречаемости протекторных генотипов *AG* и *AA* ниже ожидаемого в группе спортсменов по сравнению с группой спортсменов, а *GG* генотипа выше ожидаемой. В группе спортсменов наблюдается увеличение частоты встречаемости *T* аллеля *UCP3* (rs1800849), однако эти различия на уровне тенденций ( $p=0,07$ ).

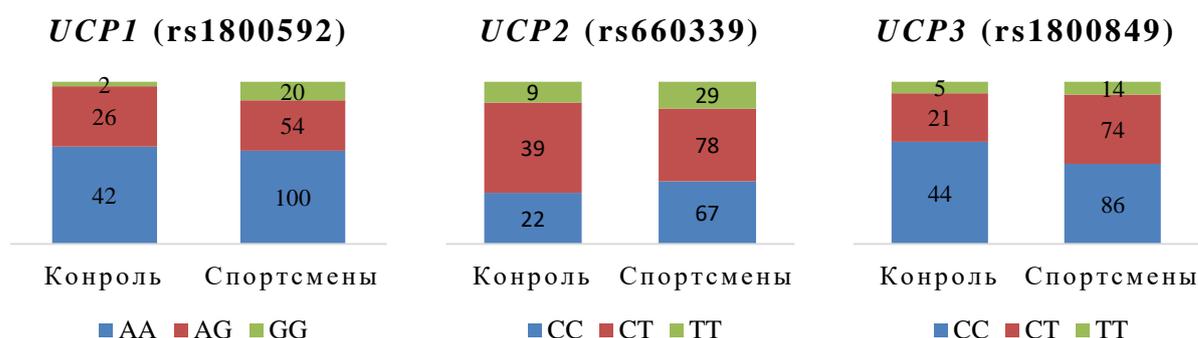


Рисунок 15. Частоты встречаемости генотипов генов разобщающих белков в группах контроля и спортсменов.

Значимых различий по частотам встречаемости генотипов гена *UCP2* (rs660339,  $p=0,14$ ) не обнаружено. Однако необходимо заметить, что группа спортсменов гетерогенна, в связи с этим было решено разбить группу на отдельные подгруппы в зависимости от спортивной специализации. Были выделены подгруппы аэробной ( $N=37$ ), анаэробной ( $N=24$ ), единоборства ( $N=23$ ), игровые ( $N=41$ ), смешанная подгруппа циклических видов спорта ( $N=52$ ). Частоты встречаемости аллелей и генотипов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) представлены в таблице 17.

Таблица 17. Частоты встречаемости генов *UCP1-3* в группе спортсменов различной специализации.

Группа	rs1800592 <i>UCP1</i>					Статистика
	A	G*	AA	AG	GG*	
Контроль	0,79	0,21	42 (0,60)	26 (0,37)	2 (0,03)	p=0,17
Анаэробная	0,61	0,39	12 (0,44)	9 (0,33)	6 (0,22)	
Аэробная	0,66	0,34	13 (0,42)	15 (0,48)	3 (0,10)	
Игровые	0,71	0,29	22 (0,54)	14 (0,34)	5 (0,12)	
Единоборства	0,78	0,22	17 (0,74)	2 (0,09)	4 (0,17)	
Циклические	0,68	0,32	22 (0,52)	13 (0,31)	7 (0,17)	
Группа	rs660339 <i>UCP2</i>					
	C	T*	CC	CT	TT*	
Контроль	0,59	0,41	22 (0,31)	39 (0,56)	9 (0,13)	p=0,02
Анаэробная	0,48	0,52	6 (0,24)	12 (0,48)	7 (0,28)	
Аэробная	0,53	0,47	9 (0,24)	21 (0,57)	7 (0,19)	
Игровые	0,51	0,49	12 (0,29)	18 (0,44)	11 (0,27)	
Единоборства	0,74	0,26	14 (0,61)	6 (0,26)	3 (0,13)	
Циклические	0,64	0,36	23 (0,44)	21 (0,40)	8 (0,15)	
Группа	rs1800849 <i>UCP3</i>					
	C	T	CC	CT	TT	
Контроль	0,78	0,22	44 (0,63)	21 (0,30)	5 (0,07)	p=0,34
Анаэробная	0,72	0,28	16 (0,59)	7 (0,26)	4 (0,15)	
Аэробная	0,74	0,26	17 (0,55)	12 (0,39)	2 (0,06)	
Игровые	0,59	0,41	14 (0,34)	20 (0,49)	7 (0,17)	
Единоборства	0,70	0,30	10 (0,43)	12 (0,52)	1 (0,04)	
Циклические	0,69	0,31	21 (0,50)	16 (0,32)	5 (0,12)	

Значимых различий по частотам встречаемости генотипов генов *UCP1* (p=0,17) и *UCP3* (p=0,34) не обнаружено. Исследуемые подгруппы спортсменов значимо отличаются по частотам встречаемости генотипов гена *UCP2* (rs660339), p=0,02). В группе спортсменов, специализирующихся в

видах спорта на выносливость, фактическая частота встречаемости гетерозиготного генотипа *CT\*UCP2* (rs660339) выше ожидаемой, в то время как в группе спортсменов-единоборцев и спортсменов, относящихся к группе со смешанным энергообеспечением, фактическая частота встречаемости «протекторного» генотипа *CC UCP2* (rs660339) выше ожидаемой. В подгруппе спортсменов игровых видов спорта и анаэробной подгруппе фактическая частота встречаемости «бережливового» генотипа *TT UCP2* выше ожидаемой (Рис.16).

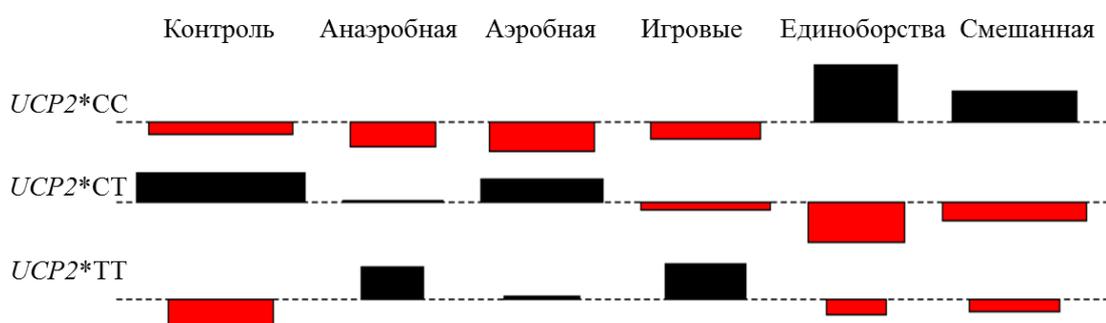


Рисунок 16. Сравнительный анализ частот встречаемости генотипов *UCP2* (rs660339), где красным обозначены фактические частоты ниже ожидаемых, а черным – фактические частоты выше ожидаемых

Физическая активность влияет на уровень экспрессии генов разобщающих белков. Например, физическая нагрузка приводит к увеличению уровня экспрессии *UCP1* в белой жировой ткани, и преобразованию белых адипоцитов в бежевые у мышей (Yoshioka et al., 1989; De Las Heras et al., 2018; Xu et al., 2011; Ringholm et al., 2013). Предполагается, что в случае усиленного расхода энергии, снижение активности процессов разобщения в мышцах может стать преимуществом. При физической активности, направленной на развитие скоростно-силовых качеств, экспрессия *UCP2* возрастает (Liu et al., 2013). Интенсивные физические нагрузки приводят к увеличению производства активных форм кислорода в клетках мышц (Liu et al., 2013). Для этих белков была выявлена защитная функция клеток от активных форм кислорода при развитии различных состояний, вызванных гипоксией и последующей реоксигенацией (Toda et al., 2016).

## **Краткое заключение по разделу**

Частоты встречаемости генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) значительно отличаются в группе контроля и группе спортсменов. В группе спортсменов, специализирующихся в видах спорта на выносливость, выше частота встречаемости гетерозиготного генотипа СТ гена *UCP2*, в то время как в группе спортсменов, специализирующихся в скоростно-силовых видах спорта, выше частоты встречаемости «протекторного» СС генотипа *UCP2*.

### **3.3. Анализ факторов, ассоциированных с функциональными показателями в группе спортсменов**

В связи с тем, сравнительный анализ частот встречаемости аллелей и генотипов генов *UCP2* (rs660339) значимые различия в подгруппах спортсменов была предпринята попытка выявить ассоциации полиморфизма гена *UCP2* (rs660339) с различными функциональными показателями в группе спортсменов. Более того, ранее было показано, что полиморфизм I/D и Ala55Val *UCP2* ассоциирован с более высокими значениями максимального потребления кислорода и аэробной эффективности (Holdys et al., 2013; Ahmetov et al., 2008; Vuemann et al., 2001). Дополнительно были проанализированы ассоциации между полиморфизмом *UCP1* (rs1800592) и *UCP3* (rs1800849) и функциональными показателями спортсменов. Результаты описательной статистики представлены в приложениях Г и Д.

#### **3.3.1. Поиск ассоциаций между показателями максимального потребления кислорода, максимальной анаэробной производительностью и полиморфизмом исследуемых генов<sup>3</sup>**

Ассоциативный анализ включал 2 этапа. Первый этап был направлен на выявление ассоциаций полиморфизма гена *UCP2* (rs660339) и максимального

---

<sup>3</sup> Материалы главы опубликованы в работах: Бондарева Э. А., Парфентьева О. И., Якушкин А.В., Андреев Р.А., Акимов Е.Б., Сонькин В. Д. Полиморфизм генов разобщающих белков семейства *ucp* у футболистов: в поисках функциональной роли/ Э.А. Бондарева, О.И.

потребления кислорода в группе спортсменов. Дополнительно анализ ассоциаций был проведен между полиморфизмом генов *UCP1* (rs1800592), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609). На втором этапе проверялась гипотеза о связи полиморфизма гена *UCP2* (rs660339) с максимальной анаэробной производительностью.

В целом в обследованной выборке спортсменов были получены значимые ассоциации между максимальным потреблением кислорода и полиморфизмом гена *UCP2* (rs660339). Так, носители гетерозиготного СТ варианта обладали значимо более высокими значениями максимального потребления кислорода (СС генотип:  $52,6 \pm 11,3$ , генотип СТ:  $58,6 \pm 8,9$ ,  $p=0,004$ , Рис. 16). Данная тенденция сохраняется как в группе мужчин (СС генотип:  $60,4 \pm 7,2$ , генотип СТ:  $65,0 \pm 7,6$ ,  $p=0,05$ ), так и в группе женщин (СС генотип:  $43,8 \pm 8,2$ , генотип СТ:  $45,2 \pm 7,6$ ,  $p=0,05$ ,  $p=0,01$ ).

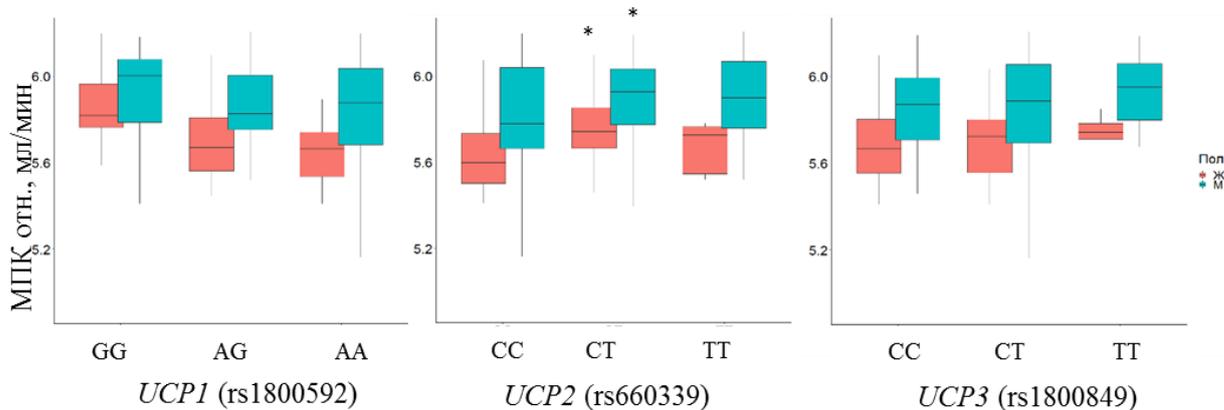


Рисунок 16. Диаграммы размаха относительного МПК (мл/кг/мин) для исследуемых локусов, данные после лог-трансформации.

Парфентьева, А.В. Якушкин, Р.А. Андреев, Е.Б. Акимов, В. Д. Сонькин //Физиология человека. – 2016. – Т. 42. – №. 6. – С. 645-654; Бондарева Э.А., Парфентьева О.И., Козлов А.В., Журавлева Ю.С., Косякова Е.В., Карелина Е.Э., Кетлерова Е.С., Сонькин В.Д. Полиморфизм гена *UCP2* реципрочно ассоциирован с аэробной и анаэробной производительностью у спортсменов / Э.А. Бондарева, О.И. Парфентьева, А.В. Козлов, Ю.С. Журавлева, Е.В. Косякова, Е.Э. Карелина, Е.С. Кетлерова, В.Д. Сонькин //Физиология человека/"Human Physiology". -2018 - №. 6, с. 12-18

В связи с тем, что в обследованную выборку спортсменов вошли спортсмены, имеющие различный спортивный разряд и стаж, дополнительно был проведен квантильный регрессионный анализ, который позволяет оценить влияние предикторов на распределение максимального потребления кислорода. Квантильная регрессия имеет ряд преимуществ перед методом наименьших квадратов. Так, в отличие от метода наименьших квадратов квантильная регрессия позволяет оценить полную картину взаимосвязи зависимой и независимых переменных, то есть влияние предикторов на квантили зависимой переменной, а также не чувствительна к выбросам и не основывается на предположениях о распределении целевой переменной (Koenker et al., 2005). Результаты квантильной регрессии представлены в таблице 18. Квантильный регрессионный анализ выявил, что влияние полиморфизма гена *UCP2* (rs660339) сильнее на нижних квантилях показателей максимального потребления кислорода, затем это влияние снижается и пропадает. У испытуемых с низкими значениями максимального потребления кислорода возрастает влияние исследуемого полиморфизма гена *UCP2* (rs660339). Таким образом, показано, что при увеличении спортивного мастерства влияние данного полиморфизма снижается

Таблица 18. Анализ ассоциаций между *UCP2* (rs660339, СТ+ТТ) и максимальным потреблением кислорода относительного (МПК отн., мл/кг/мин.).

Условные обозначения: Q15-85 –квантили.

Параметр	Q15	Q25	Q50	Q75	Q85
Коэффициент регрессии	<b>0,07*</b>	<b>0,04*</b>	<b>0,08*</b>	0,69	0,43
Ошибка среднего	1,33	0,03	0,03	1,55	1,44
Уровень значимости	0,04	0,208	0,04	0,656	0,765

Для полиморфизма гена *UCP1* (rs1800592) и *UCP3* (rs1800849) значимых различий обнаружено не было ( $p=0,06$  и  $p=0,19$ , соответственно). Дополнительно анализ ассоциаций был проведен для полиморфизма гена *FTO*

(rs9939609). Несмотря на то, что для данного варианта не было обнаружено разницы по частотам встречаемости в группах спортсменов и контроля, как в данном исследовании, так и по данным литературы, была выдвинута гипотеза, что локус rs9939609 (*FTO*) может быть ассоциирован с таким показателем, как максимальное потребление кислорода, так как *FTO* может быть задействован в регуляции работы митохондрий в клетках скелетной мускулатуры (Grunnet et al., 2009). Более того, ранее были получены значимые ассоциации между полиморфизмом гена *FTO* (rs9939609) и потреблением кислорода в группе людей, страдающих ожирением (Sailer et al., 2016). Сравнительный анализ максимального потребления кислорода у спортсменов с различным генотипом *FTO* (rs9939609) показал, что носители Т аллеля обладали более высокими значениями максимального потребления кислорода (ТТ генотип:  $66,6 \pm 4,6$ , АТ генотип:  $55,5 \pm 11,0$ ,  $p=0,00003$ ). Однако данная закономерность прослеживается только для группы мужчин ( $p=0,001$ ). В группе женщин данная закономерность не была подтверждена ( $p=0,07$ ).

Ранее для некоторых генов были показаны ген-генные взаимодействия при описании таких показателей, как содержание жировой массы. Например, для вариантов *UCP1* -3826A>G и *ADRB3* 64 Trp/Arg были обнаружены ассоциации с повышенным накоплением висцерального жира и незначительным снижением количества бурой жировой ткани (Yoneshiro et al., 2013). В связи с этим, была предпринята попытка оценить ген-генные взаимодействия между исследуемыми полиморфизмами rs1800592 (*UCP1*), rs660339 (*UCP2*), rs1800849 (*UCP3*). В данный анализ также был включен полиморфизм гена *FTO* (rs9939609), так как для него были выявлены значимые ассоциации с максимальным потреблением кислорода.

Для того, чтобы оценить, какие из предикторов оказывают значимое влияние на показатель максимального потребления кислорода дополнительно была проведена оценка важности предикторов. В анализ были включены такие предикторы, как пол, возраст, разряд и рисковый генетический индекс, для

того, чтобы оценить совместное влияние вариантов rs1800592 (*UCP1*), rs660339 (*UCP2*), rs1800849 (*UCP3*) и rs9939609 (*FTO*). Оценка важности предикторов производилась с помощью алгоритма случайного леса и алгоритма «Boruta». Алгоритм случайного леса с учетом всех предикторов (пол, возраст, разряд и полиморфизм исследуемых генов) описал 23,58 % вариативности относительного максимального потребления кислорода. Наибольшее влияние на показатель относительного максимального потребления кислорода оказывает пол, возраст и разряд (Табл. 19). Рисковый генетический индекс объясняет наименьший процент дисперсии максимального потребления кислорода.

Таблица 19. Выбор значимых предикторов для относительного МПК с помощью алгоритма случайного леса на основе %MSE, IncNodePurity

Переменная	МПК отн., мл/кг/мин	
	%MSE	IncNodePurity
Пол	<b>29,90*</b>	1658,4
Возраст	<b>12,18*</b>	2391,10
Разряд	<b>14,37*</b>	1405,42
<i>TGS</i>	<b>8,73*</b>	1214,83

Алгоритм «Boruta» показал схожий результат. Полиморфизм генов разобщающих белков значимо ассоциирован с максимальным потреблением кислорода. Однако генетические факторы *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609) объясняют менее 5% вариативности исследуемого показателя.

Для того чтобы оценить наличие ген-генных взаимодействий был выбран метод регрессии «Лассо» и алгоритм случайного леса. Ранее было показано, что регрессия с регуляризацией «лассо» способна выявить ген-генные взаимодействия (Malo et al., 2008; Wu et al., 2009). Метод регрессии «Лассо» (LASSO, Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) позволяет ввести параметр регуляции (лямбда), что позволяет дать более устойчивое решение.

При значении лямбда равному нулю, модель сводится к методу наименьших квадратов, в то время как при максимальном лямбда строится нуль-модель, где все коэффициенты ( $\beta$ ) равны 0. В нашем случае оптимальный параметр лямбда выбирался с помощью перекрестной проверки. Точность модели оценивалась по 3 параметрам: RMSE (корню квадратному из среднеквадратичного отклонения), MAE (среднему абсолютному отклонению) и  $R^2$  (коэффициенту детерминации). Мультиплексная модель, построенная с помощью метода регрессии «лассо» и включающая ген-генные взаимодействия, сравнивалась с моделью, не включающей взаимодействия (полная модель). Результаты представлены в таблице 20. Наибольшая точность показана для моделей, включающих ген-генные взаимодействия *UCP2-UCP3*, *FTO-UCP1* и *FTO-UCP2*, что может говорить о наличии взаимодействия между этими переменными. Анализ ген-генных взаимодействий имеет ряд ограничений. Размер выборки должен быть достаточным для выявления взаимодействий (Struchalin et al., 2010). Мощность статистического теста при тестировании эффекта ген-генного взаимодействия в данном исследовании составила 0,55, что значительно ниже порогового значения (0,80). Статистическая мощность – это вероятность того, что при заданном объеме выборке отклоняется нулевая гипотеза. Чем выше мощность, тем ниже вероятность совершить ошибку второго рода.

Таблица 20. Анализ ген-генных взаимодействий, полученные с помощью регрессии «Лассо»

Модель	Среднеквадратичное отклонение	Коэффициент детерминации	Среднее абсолютное отклонение
<i>UCP1*UCP2</i>	8,27	0,19	6,64
<i>UCP1*UCP3</i>	8,29	0,20	6,71
<i>UCP2*UCP3</i>	<b>8,37*</b>	<b>0,21*</b>	<b>6,77*</b>
<i>FTO*UCP1</i>	<b>8,18*</b>	<b>0,22*</b>	<b>6,60*</b>
<i>FTO*UCP2</i>	<b>8,15*</b>	<b>0,23*</b>	<b>6,65*</b>
<i>FTO*UCP3</i>	8,26	0,20	6,68
Полная модель	8,26	0,19	6,63

Дополнительно был применен алгоритм случайного леса, реализованного в пакете RandomForestSCR. Для оценки эффекта ген-генных взаимодействий на исследуемые показатели была использована функция `find.interactions`. Взаимодействия определялись по величине показателей важности (VIMP) самих переменных и различием между их парными и аддитивными эффектами. Чем выше была разница между парным и аддитивным эффектами, тем выше вероятность наличия взаимодействия. Результаты, полученные при поиске взаимодействия между переменными с помощью алгоритма случайного леса, представлены в таблице 21.

Таблица 21. Результаты исследования ген-генных взаимодействий с помощью алгоритма случайного леса для показателя максимального потребления кислорода

Взаимодействие	VIMP1	VIMP2	Парное	Аддитивное	Разница
<i><b>FTO*UCP2</b></i>	5,62	1,87	8,67	7,50	<b>0,65*</b>
<i><b>FTO*UCP1</b></i>	5,62	2,75	4,62	4,20	<b>1,17*</b>
<i>FTO*UCP3</i>	5,62	0,04	4,80	5,67	-0,87
<i>UCP2*UCP1</i>	1,78	2,57	4,16	4,35	-0,19
<i><b>UCP2*UCP3</b></i>	1,74	-0,16	1,81	1,57	<b>0,23*</b>
<i>UCP1*UCP3</i>	2,57	0,02	2,61	2,59	0,02

Алгоритм случайного леса показал результаты, схожие с регрессией «Лассо». Наибольшая разница между показателями наблюдается для пары *FTO* и *UCP1*, а также *UCP2* и *UCP3*, *FTO* и *UCP2*. Обе модели показали одинаковую точность прогноза. Таким образом, для максимального потребления кислорода были обнаружены значимые ген-генные взаимодействия *FTO* (rs9939609) и *UCP1* (rs1800592), а также *UCP2* (rs660339) и *UCP3* (rs1800849), *FTO* (rs9939609) и *UCP2* (rs660339). В целом для исследуемых генов наблюдается синергический эффект.

Следующий этап исследования включал ассоциативный анализ полиморфизма гена *UCP2* (rs660339) и показателей максимальной анаэробной производительности в группе мужчин шорт-трекистов (N=31). Средние значения показателя максимальной анаэробной мощности были  $12,69 \pm 2,36$  в

изученной выборке спортсменов. Для ассоциативного исследования использовали линейный регрессионный анализ. Были выявлены значимые ассоциации полиморфизма гена *UCP2* (rs660339) и показателей анаэробной энергопродукции ( $\beta=2,51$ ,  $p=0,01$ ). Носители «протекторного» СС генотипа *UCP2* обладали более высокими показателями анаэробной энергопродукции (Рис. 17).

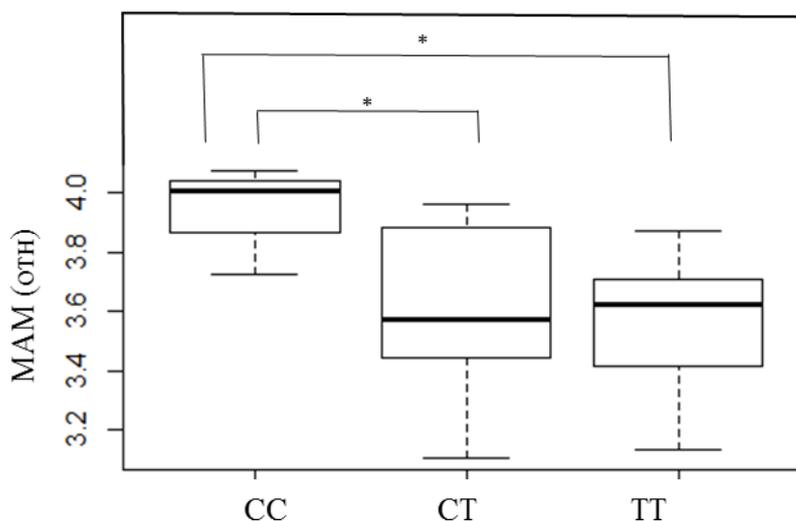


Рисунок 17. Диаграмма размаха максимальной анаэробной мощности (Вт/кг), рисковый аллель: Т аллель *UCP2* (rs660339).

Интенсивные физические нагрузки приводят к увеличению производства активных форм кислорода в мышечных клетках (Thirupathi et al., 2017). Предполагается, что «протекторный» СС вариант *UCP2* (rs660339), ассоциированный с увеличением митохондриального разобщения, стал преимуществом для спортсменов, так как разобщающие белки выполняют защитную функцию, оберегая клетки от повышенного производства активных форм кислорода при развитии различных состояний, вызванных гипоксией и последующей реоксигенацией (Toda et al., 2016).

Таким образом, предполагается, что разнонаправленные физические нагрузки приводят к разным эффектам: аэробная физическая активность приводит к снижению синтеза разобщающих белков, а высокоинтенсивная анаэробная нагрузка связана с обратным эффектом.

## **Краткое заключение по разделу**

Были обнаружены значимые ассоциации между исследуемыми локусом rs660339 *UCP2* и максимальным потреблением кислорода. Носители СТ генотипа *UCP2* (rs660339) обладали значимо более высокими показателями максимального потребления кислорода. В то время как СС генотип гена *UCP2* (rs660339), который, как предполагается, является протекторным, ассоциирован со значимо более высокими показателями максимальной анаэробной мощности.

### **3.3.2. Ассоциативный анализ полиморфизма исследуемых генов и содержания лактата в крови до и после нагрузки**

Лактат является производным молочной кислоты, в покое в небольших количествах образуется при окислении глюкозы в различных тканях. В определенных условиях, например, при интенсивной физической нагрузке, наблюдается резкое увеличение содержания лактата в мышцах и крови. Поступая в кровь, лактат транспортируется в различные ткани, где является источником энергии. Более того, лактат выполняет роль сигнальной молекулы, например, в клетках мышц он активирует сигнальные пути АМПК и р38 МАРК, которые регулируют метаболизм жирных кислот, рост мышечной клетки (Matsukawa et al., 2017). Лактат подавляет липогенез в клетках белой и бурой жировой ткани, а увеличение концентрации лактата приводит к увеличению экспрессии *UCP1* (Petersen et al., 2017; Weir et al., 2018). На активность ферментов, регулирующих производство и утилизацию лактата, влияют такие факторы, как PGC-1 $\alpha$ , PPAR $\alpha$  и UCP (Xu et al., 2015; Matsukawa et al., 2017). Разобщающие белки задействованы в активации сигнального пути PI3K/Akt/mTOR, повышающего активность гликолиза (Xu et al., 2015). Предполагается, что митохондриальное разобщение может приводить к изменению концентрации лактата в покое (Si et al., 2009; Petersen et al., 2017; Xu et al., 2015). В то же время неизвестно, как исследуемые варианты генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO*

(rs9939609) могут повлиять на концентрацию лактата после интенсивных физических нагрузок. Например, в данной работе и по данным литературы было показано, что в группах спортсменов, специализирующихся в видах спорта на выносливость, преобладают Т аллель *UCP2* (rs660339), ассоциированный со сниженным расходом энергии, а также Т аллель *UCP3* (rs1800849), которые, как предполагается повышает эффективность разобщения (Astrup et al., 1999; Esterbauer et al., 2001). Таким образом предполагается, что «бережливые» варианты *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) могут быть ассоциированы с количеством лактата в крови спортсменов после физической нагрузки. Нами была предпринята попытка выявить ассоциации между исследуемыми вариантами и концентрацией лактата в покое (*La<sub>i</sub>*), а также концентрацией лактата в момент отказа от работы в РАМП тесте (максимальное содержание лактата, *La<sub>Max</sub>*). Результаты описательной статистики для концентрации лактата в крови в покое, после работы и разницей между максимальным содержанием лактата и лактатом в покое представлены в таблице 22.

Таблица 22. Результаты описательной статистики концентрации лактата в крови.

Условные обозначения: М – средние значения, SD – стандартное отклонение.

Группа	Показатель	N	М	SD
Анаэробная	Лактат в покое, ммоль/л	20	1,59	0,48
	Максимальная концентрация лактата, ммоль/л		11,02	2,46
Аэробная	Лактат в покое, ммоль/л	34	1,51	0,39
	Максимальная концентрация лактата, ммоль/л		10,24	3,08
Единоборства	Лактат в покое, ммоль/л	23	1,58	0,59
	Максимальная концентрация лактата, ммоль/л		8,51	2,8
Игровые	Лактат в покое, ммоль/л	41	1,99	0,68
	Максимальная концентрация лактата, ммоль/л		11,5	2,12
Смешанные	Лактат в покое, ммоль/л	56	1,65	0,5
	Максимальная концентрация лактата, ммоль/л		10,19	2,22

Для поиска ассоциаций между исследуемыми вариантами и содержанием лактата был использован метод линейной регрессии. В модель были включены кофакторы пола, возраста и разряда. Были проверены неаддитивные эффекты исследуемых генов на концентрацию лактата (доминантная и рецессивная модели). В случае, если для локуса обнаруживается неаддитивный эффект использование аддитивной модели может привести к снижению статистической мощности, и анализ не выявит ассоциаций (Hill et al., 2008, Tsepilov et al., 2013). Модели анализа, которые учитывают неаддитивные эффекты, позволят увеличить мощность и долю объясненной дисперсии, а также выявить ассоциации, которые не позволили выявить аддитивные модели (Tsepilov et al., 2013). Например, Tsepilov и коллеги выявили ассоциации между рядом ранее неизвестных локусов и такими биохимическими показателями, как карнитины и ацилкарнитины (Tsepilov et al., 2013). В связи с этим, для ассоциативного анализа между полиморфизмом исследуемых генов и морфологическими показателями были проверены следующие модели наследования: аддитивная, рецессивная и доминантная. Для выбора модели был использован скорректированный информационный критерий Акаике (AICc). Наименьший критерий AICc соответствовал лучшей модели. Каждому генотипу присваивалось свой весовой индекс (Табл. 8).

Анализ ассоциаций с помощью 3 моделей наследования (аддитивной, рецессивной и доминантной) позволил определить локусы, ассоциированные с содержанием лактата в покое и после нагрузки (Табл. 23, рис. 18).

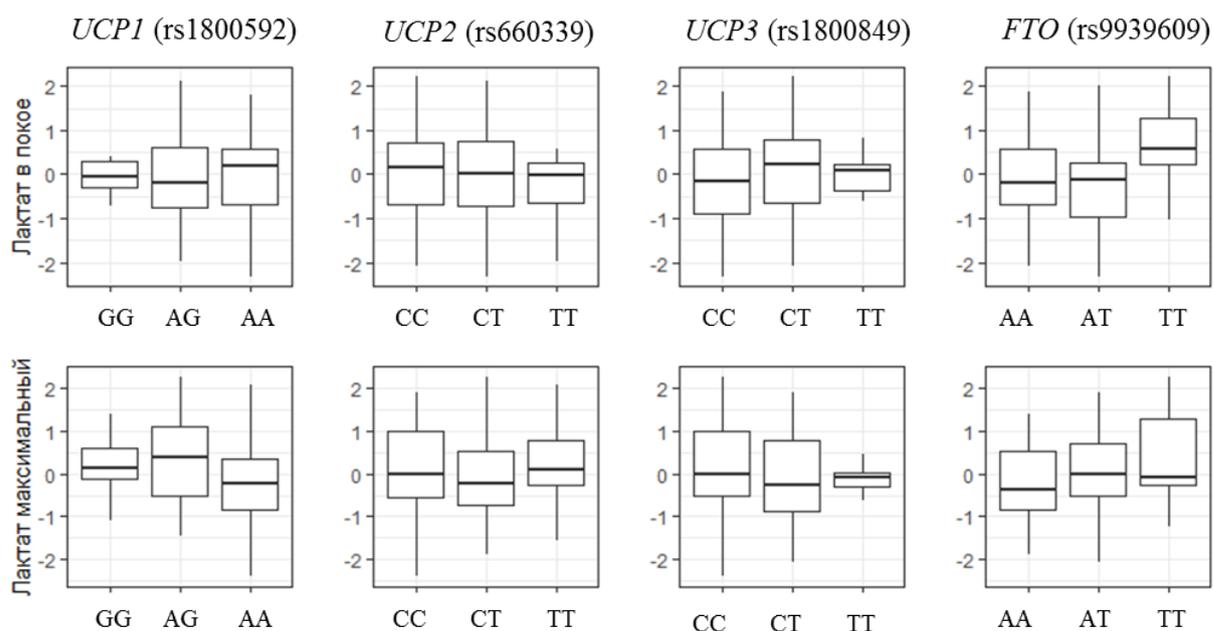


Рисунок 18. Диаграмма размаха для показателей содержания лактата в крови до и после физической нагрузки (скалированные данные) для генотипов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609).

Так, аддитивная и доминантная модели показали лучший скорректированный критерий Акаике для показателя лактата в покое по сравнению с рецессивной моделью ( $AICc=171$  и  $AICc=178$ , против  $AICc=184$ ), схожие результаты были получены для показателя лактата после нагрузки ( $AICc=533$  и  $AICc=532$ , против  $AICc=542$ ). С помощью аддитивной и доминантной моделей были определены значимые ассоциации между локусом rs9939609 в гене *FTO* ( $\beta=-0,45$ ,  $p=0,0003$ ,  $FDR=0,007$ ) и содержанием лактата в покое. Для локуса rs1800592 (*UCP1*) значение уровня значимости с учетом поправки Бенджамини-Хохберга на множественное сравнение было выше порогового. Таким образом, носители Т аллеля *FTO* (rs9939609) обладают более высоким содержанием лактата в покое.

Таблица 23. Результаты ассоциативного анализа исследуемых локусов и содержания лактата в крови до и после нагрузки, рисковые аллели: G аллель *UCP1*, T аллель *UCP2*, T аллель *UCP3*, A аллель *FTO*

Параметр	Локус	Аддитивная модель	
		Коэффициент регрессии (ошибка среднего)	Уровень значимости
Ла в покое (ммоль/л)	<i>FTO</i>	<b>-0,45*</b> (0,07)	0,003
	<i>UCP1</i>	<b>0,18*</b> (0,07)	0,05
	<i>UCP2</i>	-0,03 (0,07)	0,67
	<i>UCP3</i>	0,03 (0,07)	0,67
Ла макс. (ммоль/л)	<i>FTO</i>	<b>-0,96*</b> (0,03)	0,0003
	<i>UCP1</i>	<b>0,75*</b> (0,03)	0,004
	<i>UCP2</i>	-0,01 (0,07)	0,96
	<i>UCP3</i>	<b>-0,71*</b> (0,03)	0,03

Для локусов rs1800592 (*UCP1*) и rs9939609 (*FTO*) были обнаружены значимые ассоциации с максимальным содержанием лактата после нагрузки до отказа. Так, носители T аллеля *FTO* (rs9939609) обладают более высоким содержанием лактата максимальным, измеренном сразу после физической нагрузки. Носители «бережливого» G аллеля обладают более высоким содержанием лактата максимального. Гипотеза о взаимосвязи локусов *UCP2* (rs660339) и *UCP3* (rs1800849) и лактатом максимальным не подтвердилась. Ассоциации для локуса rs1800849 (*UCP3*) и лактатом максимальным не прошла поправку на множественное тестирование ( $p=0,03$ ,  $FDR=0,12$ ). Ранее было показано, физическая нагрузка может приводить к усилению активности бурой жировой ткани (Dinas et al., 2015). Предполагается, что повышение эффективность разобщения может быть связано с поддержанием гомеостаза при физической нагрузки.

### Краткое заключение по разделу

Были проверены аддитивная, рецессивная и доминантная модели для анализа эффектов исследуемых локусов генов разобщающих белков на

содержание лактата в крови в покое и после напряженной физической нагрузки в тесте РАМП до отказа. Для всех локусов были показаны аддитивные эффекты на концентрации лактата в крови до и после нагрузки. Были выявлены локусы, ассоциированные с содержанием лактата в крови до и после нагрузки. Для локуса rs9939609 (*FTO*) были обнаружены ассоциации с содержанием лактата в покое. носители Т аллеля *FTO* (rs9939609) обладают более высоким содержанием лактата в покое. Для локусов rs1800592 (*UCP1*), rs9939609 (*FTO*) были обнаружены значимые ассоциации с максимальным содержанием лактата после нагрузки до отказа. Так, носители Т аллеля *FTO* (rs9939609) обладают более высоким содержанием лактата максимальным, измеренном сразу после физической нагрузки. Носители «бережливого» G аллеля обладают более высоким содержанием лактата максимального.

### **3.4. Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей генов разобщающих белков в популяциях мира<sup>4</sup>**

Последний этап исследования включал сравнительный анализ частот встречаемости аллелей генов разобщающих белков *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) в популяциях мира. Предполагается, что в холодных климатических условиях протекторные в случае ожирения варианты генов *UCP1*, *UCP2*, *UCP3* (А аллель rs1800592, С аллель rs660339, Т аллель rs1800849) могут стать преимуществом для их носителей, так как было показано, что некоторые из этих вариантов ассоциированы с усилением несократительного термогенеза в ответ на холодовое воздействие (Esterbauer et al., 2001; Nagai et al., 2003; Nau et al., 2008, Brondani et al., 2014; Nishimura et al., 2017). Однако, необходимо заметить, что на данный момент терморегулирующая роль для *UCP2* и *UCP3* все еще не подтверждена. Одним из инструментов для подтверждения участия *UCP2* и *UCP3* в

---

<sup>4</sup> Материалы главы опубликованы в работах: Парфентьева О.И. Широкая изменчивость частот «термогенных» аллелей разобщающих белков как один из факторов популяционного риска ожирения у современного человека/ О.И. Парфентьева //Вестник Московского университета. Серия 23: Антропология. – 2019 - н. 2 -с. 126-133

несократительном термогенезе может стать популяционный генетический анализ (Hancock et al., 2011). В пользу терморегулирующей роли *UCP3* может говорить зависимость распределения частоты встречаемости «протекторного» (термогенного) Т аллеля *UCP3* (rs1800849) в популяциях мира от температуры окружающей среды. Предполагается, что частоты таких «термогенных» аллелей будут выше в популяциях, проживающих в условиях, где преобладают низкие температуры. Так, согласно данным GnomAD и «1000 геномов» распределение частот встречаемости протекторных аллелей генов разобщающих белков *UCP1* (rs1800592) и *UCP3* (rs1800849) сильно варьирует в популяциях мира, проживающих в различных климатогеографических зонах, что может говорить о направленном отборе вариантов *UCP1* (rs1800592) и *UCP3* (rs1800849) в определенных популяциях (Рис. 19).

В связи с этим была предпринята попытка оценить ассоциации между исследуемыми вариантами *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339) и *UCP3* (rs1800849) и комплексом климатогеографических факторов. Для анализа зависимости частот встречаемости «термогенных» аллелей генов разобщающих белков (А аллель rs1800592, С аллель rs660339, Т аллель rs1800849) от комплекса климатогеографических факторов была построена обобщенная смешанная линейная модель, которая позволяет контролировать генетическую структуру популяций (Key et al., 2017).

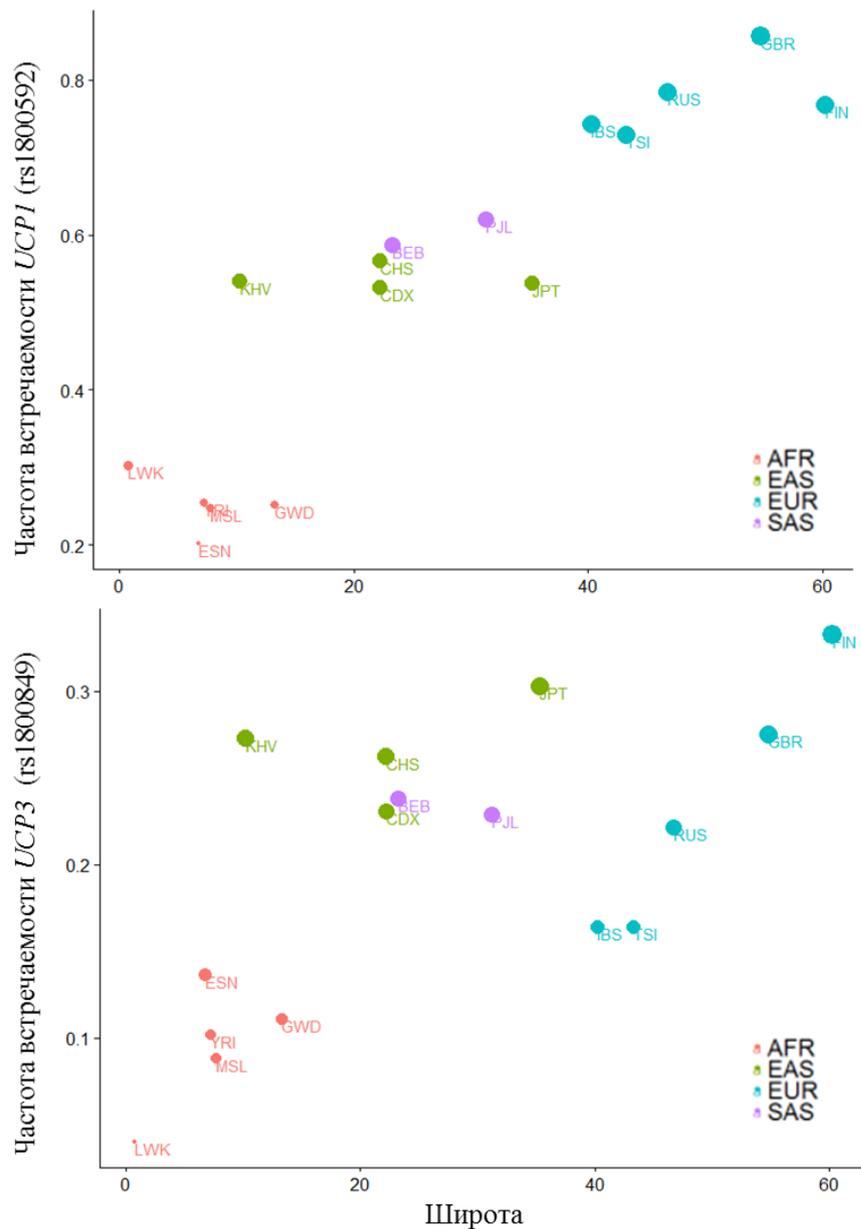


Рисунок 19. Частоты встречаемости протекторных вариантов генов *UCP1* и *UCP3* в зависимости от широты, данные проекта 1000 геномов.

Условные обозначения: Популяции: AFR – популяции, имеющие африканское происхождение, SAS – популяции, имеющие южноазиатское происхождение, EAS – популяции, имеющие восточноазиатское происхождение, EUR – популяции, имеющие европеоидное происхождение (приложение Е).

Для анализа были выбраны следующие климатические данные: географическая широта и долгота, среднегодовая температура, среднегодовая, минимальная температура, инсоляция, относительная влажность воздуха и температура точки росы. Все данные получены из открытых источников.

Климатические данные для исследованных популяций представлены в приложении Е. В связи с тем, что наличие всех климатических факторов одновременно избыточно, было решено использовать метод главных компонент для уменьшения размерности данных. Были выделены 3 главные компоненты, объясняющие 97,33% общей вариативности климатических данных. Результаты метода главных компонент представлены в таблице 24. Главная компонента 1 (ГК1) описывает 69,56% вариативности данных. Главная компонента 2 (ГК2) описывает 16,7% вариативности данных, 11,01% вариативности климатических данных описывает главная компонента 3 (ГК3). В последующую модель были включены главные компоненты 1, 2 и 3, а также минимальная среднегодовая температура и широта.

Таблица 24. Результаты анализа главных компонент

ГК	Дисперсия	Признак
1	69,56	Широта, температура среднегодовая, минимальная среднегодовая температура, температура точки росы, инсоляция
2	16,76	Относительная влажность, температура точки росы
3	11,01	Долгота

Анализ проводился по протоколу, предложенному Key F. (Key et al., 2017). Строились 2 модели: полная и нулевая модель. Нулевая модель включала только параметры генетической структуры популяции, в то время как в полную модель дополнительно были включены климатогеографические факторы. Нулевая модель сравнивалась с полной моделью. Сравнение моделей проводилось с помощью скорректированного информационного критерия Акаике (AICc). Модели были построены для каждого из исследуемых вариантов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339) и *UCP3* (rs1800849) для того, чтобы выявить зависимость частоты встречаемости этих вариантов от климатогеографических условий. Результаты анализа клинальной изменчивости частоты встречаемости «термогенных» аллелей

генов *UCP1*, *UCP2*, *UCP3* (А аллель rs1800592, С аллель rs660339, Т аллель rs1800849) представлены в таблице 25.

Таблица 25. Результаты анализа обобщенной смешанной линейной модели.

Условные обозначения: НМ-нулевая модель, М-модель, ГК-главная компонента

Ген	Модель	AIC	$\Delta$ AIC	Вес AIC	df
<i>UCP1</i>	НМ: Нулевая модель	782,89	11,2	0,002	4
	М1: НМ+широта	773,42	1,7	0,23	5
	М2: НМ+температура	773,62	1,9	0,21	5
	М3: НМ+ГК1	771,68	0,0	0,56	5
	М4: НМ+ГК2	784,86	13,0	0,0001	5
	М5: НМ+ГК3	782,69	11,0	0,002	5
<i>UCP2</i>	НМ: Нулевая модель	999,37	8,5	0,012	4
	М1: НМ+широта	990,87	0,0	0,899	5
	М2: НМ+температура	998,96	8,1	0,016	5
	М3: НМ+ГК1	996,87	6,0	0,045	5
	М4: НМ+ГК2	1000,14	10,3	0,005	5
	М5: НМ+ГК3	998,27	7,4	0,022	5
<i>UCP3</i>	НМ: Нулевая модель	350,15	0,3	0,248	4
	М1: НМ+широта	352,04	2,2	0,095	5
	М2: НМ+температура	349,87	0,0	0,283	5
	М3: НМ+ГК1	351,14	1,3	0,150	5
	М4: НМ+ГК2	351,54	1,7	0,123	5
	М5: НМ+ГК3	351,95	2,1	0,100	5

Популяционный анализ показал, что частота встречаемости «термогенного» протекторного в случае ожирения А аллеля *UCP1* (rs1800592) зависит от комплекса климатогеографических факторов. Наименьший скорректированный информационный критерий Акаике ( $AIC_c=771,68$ ) был получен для модели 3, которая включала главную компоненту 1 (ГК1). Более того, полная модель, включающая ГК1, значительно отличается от нулевой модели ( $\chi^2(df=1)=13,21$ ,  $p<0,001$ ). Таким образом, показано, что комплекс

климатогеографических факторов, включающих переменные широты и температуры, является хорошим предиктором для описания частот встречаемости «термогенного» А аллеля гена *UCP1*. Частота встречаемости А аллеля *UCP1* (rs1800592) значимо выше в северных популяциях по сравнению с популяциями, проживающие в теплых климатических популяциях. Максимальная частота встречаемости характерна для европейских популяций, а именно популяций, проживающих на территории современной Финляндии (0,73) и Великобритании (0,76). Минимальная частота встречаемости А аллеля характерна для африканских популяций (0,20). Полученные данные согласуются с ранее проведенными исследованиями, где было показано, что в ответ на холодовой стимул повышается эффективность термогенеза в бурой жировой ткани (Shore et al., 2013). Исследуемый вариант гена *UCP1* (rs1800592) влияет на активность несократительного термогенеза и базальный метаболизм (Nishimura et al., 2017). Локус rs1800592 *UCP1*, расположенный в промоторной области, может влиять на стабильность мРНК и, возможно, снижать эффективность несократительного термогенеза (Esterbauer et al., 1998). В молекулярно-генетических исследованиях было показано, что нокаут этого гена приводил к снижению устойчивости к холоду и повышению риска набора веса (Enerbäck et al., 1998).

Аналогичная тенденция наблюдается в отношении исследуемого полиморфизма -55С/Т (rs1800849) *UCP3* (рис. 20). Наибольшая встречаемость генотипа ТТ наблюдается у таких этнических групп, как Хань, обитающей на территории Китая, и популяций, имеющих европеоидное происхождение. Повышенная частота встречаемости Т аллеля у северных народов может говорить о вкладе этого белка в развитие устойчивости к холоду, и возможно, об его участии в несократительном термогенезе. Так, наилучшей моделью для описания распределения частот встречаемости «термогенного» протекторного в случае ожирения Т аллеля гена *UCP3* (rs1800849) является среднегодовая минимальная температура ( $AICc=349,87$ ). Значимые ассоциации между

среднегодовой минимальной температурой и частотой встречаемости Т аллеля гена *UCP3* (rs1800849) может говорить об участии *UCP3* в защите организма в условиях холода. Полученные результаты согласуются с ранее проведенными исследованиями, где было показано, что в популяциях мира частота встречаемости этого варианта зависит от среднегодовой температуры, но не от широты (Hancock et al., 2011). Замена в последовательности гена *UCP3* произошла в промоторной области, и предполагается, что она может влиять на уровень экспрессии этого гена. Белок *UCP3* синтезируется в мышечных клетках и может быть задействован в развитии адаптации к холодным условиям.

Впервые были получены значимые ассоциации между климатогеографическими факторами и протекторным в случае ожирения вариантом (С аллель) гена *UCP2* (rs660339). Модель, включающая широту, лучше всего описывает данные (AICc=990,87), что говорит о том, что распределение частоты встречаемости С аллеля гена *UCP2* зависит от географической широты. Однако необходимо заметить, что для данного варианта не наблюдается четкого паттерна широтной изменчивости, как в случае протекторных вариантов *UCP1* (rs1800592) и *UCP3* (rs1800849). Функциональная роль *UCP2* гораздо шире, *UCP2* активно экспрессируется в различных тканях и связан с регуляцией пищевого поведения, метаболизмом глюкозы и липидов, транспортом некоторых катионов и анионов и регуляцией иммунного ответа (Toda et al., 2016). В связи с этим нельзя исключать другие факторы, как, например, особенности диеты.

Таким образом, с помощью популяционного генетического анализа мы показали, что разобщающие белки *UCP1* и *UCP3* могут быть связаны с адаптацией к холодным климатическим условиям проживания. Частоты встречаемости «термогенных» аллелей генов разобщающих белков *UCP1* (rs1800592) и *UCP3* (rs1800849) зависят от комплекса климатогеографических условий. В популяциях, обитающих в холодных условиях, частота

встречаемости «термогенного» А аллеля *UCP1* (rs1800592) и Т аллеля *UCP3* (rs1800849) выше по сравнению с популяциями, обитающими в теплых условиях экваториальных широт.

### **Краткое заключение по разделу**

Частоты встречаемости «термогенных» протекторных в случае ожирения вариантов генов *UCP1*, *UCP2*, *UCP3* (А аллель rs1800592, С аллель rs660339, Т аллель rs1800849) варьируют в зависимости от различных климатогеографических факторов. Распределение частот встречаемости вариантов генов разобщающих белков, протекторных в случае ожирения, в зависимости от климатогеографических факторов может объяснить процент гетерогенности распространения ожирения. Миграция представителей нашего рода в суровые холодные условия среды, например, арктической или бореальных зон, могла привести к изменению аллельных частот, а именно увеличению количества вариантов генов, ассоциированных с более эффективным производством тепла, что в свою очередь снижает риск развития ожирения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разобщающие белки, чья протонофорная активность приводит к снижению степени сопряжения окислительного фосфорилирования в митохондриях, могут быть задействованы в развитии адаптаций организма к различным условиям среды. Рисквые («бережливые», снижающие эффективность разобщения) варианты генов разобщающих белков UCP1 (G аллель, rs1800592), UCP2 (T аллель, rs660339), UCP3 (C аллель, rs1800849) и гена FTO (A аллель, rs9939609) в целом в обследованной выборке ассоциированы с накоплением жировой массы. Однако, в условиях повышенного энергопотребления, такие «бережливые» варианты являются преимуществом для их носителей, например, квалифицированных спортсменов. Например, в группе спортсменов наблюдается увеличение частот встречаемости таких «бережливых» аллелей по сравнению с группой контроля. В популяциях, которые проживают в холодных климатических условиях, преобладают протекторные (повышающие эффективность разобщения) варианты генов разобщающих белков UCP1 (A аллель, rs1800592), UCP2 (C аллель, rs660339), UCP3 (T аллель, rs1800849).

Необходимо заметить, что полиморфизм исследуемых генов и физическая активность определяют предрасположенность к накоплению жировой массы, однако влияние физической активности значимо выше. Так, рисковый вариант гена FTO (A аллель, rs9939609) оказывает значимое влияние на накоплению жировой массы только в случае отсутствия регулярных физических нагрузок. Данная закономерность прослеживается как в группе взрослых, так и в группе подростков. Схожая закономерность наблюдается для рискового генетического индекса и физической активности. В группе спортсменов влияние рискового генетического индекса ослабевает или пропадает. В целом в обследованной выборке спортсменов частота встречаемости «бережливых» аллелей генов разобщающих белков выше, чем в контрольной группе. В группе спортсменов, специализирующихся в

аэробных видах спорта, наблюдается отбор гетерозиготного СТ варианта, а в группе спортсменов смешанного энергообеспечения наблюдался отбор протекторного СС генотипа гена UCP2 (rs660339). В группе спортсменов были выявлены значимые ассоциации полиморфизма генов UCP2 (rs660339) с максимальным потреблением кислорода и показателями максимальной анаэробной мощности.

Исследование генетического контроля количественных морфофункциональных признаков, контролируемого огромным количеством генов наряду с различными средовыми факторами, может помочь раскрыть причинно-следственные связи развития метаболических заболеваний. Однако полученные результаты могут быть полезны не только для медицинских задач. Результаты ассоциативного исследования могут быть использованы для индивидуализации тренировочного процесса на основании генетических данных, а также в спортивном отборе.

## ВЫВОДЫ

1. Выявлены значимые ассоциации между исследуемыми морфофункциональными показателями и полиморфизмов генов *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849) и *FTO* (rs9939609) в группе испытуемых, не занимающихся регулярно спортом. У носителей рискованных «бережливых» вариантов *UCP1* (G аллель, rs1800592), *UCP2* (T аллель, rs660339), *UCP3* (C аллель, rs1800849) и гена *FTO* (A аллель, rs9939609) выше такие показатели, как индекс массы тела, индекс ожирения тела и индекс абдоминально ожирения.

2. Выявлены значимые корреляционные связи между антропометрическими индексами (индекс массы тела, индекс талии/бедра, индекс центрального ожирения, индекс абдоминального ожирения, индекс ожирения тела) и процентным содержанием жировой массы как в группе контроля, так и в группе спортсменов.

3. Полиморфизм исследуемых генов и физическая активность определяют предрасположенность к накоплению жировой массы, однако влияние физической активности значимо сильнее.

4. Показано, что в группе квалифицированных спортсменов значимо выше частоты встречаемости «бережливых» аллелей *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs660339), *UCP3* (rs1800849), чем в группе контроля. В группе квалифицированных спортсменов выявлены значимые ассоциации между вариантом rs660339 в гене *UCP2*, максимальным потреблением кислорода и показателем относительной анаэробной мощности. Носители минорного аллеля rs660339 в гене *UCP2* обладают более высокими показателями максимального потребления кислорода и низкими значениями максимальной анаэробной мощности, чем носители исходного варианта.

5. Выявлены значимые ассоциации для локусов rs1800592 (*UCP1*) и rs9939609 (*FTO*) и содержанием лактата в крови в покое и после физической нагрузки.

6. Показано, что частоты встречаемости протекторных «термогенных» аллелей генов разобщающих белков в проанализированных популяциях человека зависят от географической широты проживания и других климатогеографических факторов. Частоты встречаемости «термогенных» протекторных аллелей выше в северных популяциях, чем в популяциях, проживающих ближе к экватору, что может быть связано с участием разобщающих белков *UCP1* и *UCP3* в несократительном термогенезе.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность научному руководителю – заведующему кафедрой Физиологии РГУФКСМиТ, профессору, д.б.н. Сонькину В.Д. за помощь в организации диссертационного исследования и научные консультации по спортивной физиологии, генетике и общей биологии; старшему научному сотруднику НИИ и Музея антропологии МГУ, к.б.н. Бондаревой Э.А. за консультативную помощь по молекулярной биологии, генетике и статистической обработке данных и помощь в планировании, выполнении диссертационного исследования и проведении генетического анализа, физиологу ГКУ ЦСТиСК Москомспорта Захаровой М.Ф. и спортивному врачу ГКУ ЦСТиСК Москомспорта Гюльназарян С.А. за проведение антропометрических обследований и сбор антропометрических данных, физиологам ГКУ ЦСТиСК Москомспорта Козлову А.В. и Карцеву С.А. за проведение функциональных тестирований и сбор физиологических данных, главному специалисту ГКУ ЦСТиСК Москомспорта, к.т.н. Е.А. Тимме за научные консультации по математическому моделированию и статистическому анализу данных, д.б.н., профессору кафедры физиологии РГУФКСМиТ, Мельникову А.А. за консультативную помощь по спортивной физиологии, а также благодарность Dr. Groth, Dr. Scheffler и Dr. Hermanussen из Потсдамского Университета за консультативную помощь по статистической обработке антропометрических данных подростков, руководству ГКУ ЦСТиСК Москомспорта за возможность проведения диссертационного исследования на базе ГКУ ЦСТиСК и помощь на всех этапах исследования, сотрудникам НИИ и музею антропологии им. Д. Н. Анучина за предоставленные антропометрические данные подростков и взрослых контрольной группы. Исследование проведено при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №17-26-03004 «Физические кондиции современных детей, подростков и молодежи в контексте этногенетических, социально-экономических и экологических факторов».

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ - аденозиндифосфат

АТФ - аденозинтрифосфат

МТ - масса тела, кг

ГТФ - гуанозинтрифосфат

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ДТ - длина тела, см

ЖК - жирные кислоты

ИМТ - индекс массы тела (индекс Кетле-2, ИМТ).

КМС - кандидат в мастера спорта

МПК - максимальное потребление кислорода

ОБ - Обхваты бедер, см

ОТ - Обхваты талии, см

цАМФ - циклоаденозинмонофосфат

ЯМР - ядерно-магнитный резонанс

ААС - АДФ/АТФ транслоказа

AcUCP - разобщающий белок почвенной амебы (*Amoeba Umax*)

AgRP - Агути белок

ATGL - липаза ТАГ

atPUMP - разобщающий белок Резуховидки Таля (*Arabidopsis thaliana*)

AVI - Abdominal volume index, индекс абдоминального ожирения

АФК - активные формы кислорода

BAI - Body adiposity index, индекс ожирения тела

Beta ( $\beta$ ) - сила эффекта (коэффициент регрессии)

BMPC1 - разобщающий белок 5

CGI-58 – ген-идентификатор 58

CPT1 - Карнитин-пальмитоилтрансфераза I

DRP1 - ГТФаза, регулирующая слияние митохондрий

FABP - белок, связывающий жирные кислоты

FTO - белок, кодируемый геном *FTO*

GHSR - рецептор секретируемого гормона роста

H<sub>2</sub>O - вода

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - перекись водорода

IRS - субстрат рецепторов инсулина

LMS - метод трансформации антропометрических данных детей и подростков, принятой Всемирной организацией здравоохранения

LXR $\alpha$ -*Dio2* - путь активации и ингибирования печеночного X рецептора и дегидрогеназы 2

M - среднее значение в изученной выборке

MCU - мембранный переносчик кальция

MICU1 - белок, кодируемый геном *CBARA1*

MICU2 - белок, кодируемый геном *CBARA2*

miRNA - микроРНК

NADH - никотинамидадениндинуклеотид восстановленный

NO<sup>-</sup> - оксид азота

NOX - НАДФН-оксидаза

NPY - нейропептид

NRF1 - ядерный респираторный фактор

NRIP1 - стероидный рецептор

O<sub>2</sub> - кислород

OH<sup>-</sup> - гидроксид

OPA1 - белок, кодируемый геном *OPA1*

P-value - уровень значимости

pDRP1 - фосфорилированная форма белка DRP1

pH - водородный показатель

POMC - нейроны гипоталамуса

PPARs - факторы транскрипции семейства рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами

PRMT1 - протеинаргининметилтрансфераза 1

PTP - протеин-тирозин-фосфатаза

PUMP - разобщающий белок растений

SE - среднеквадратичная ошибка

SERCA - кальциевая АТФаза

SD – стандартное отклонение

SLC25 - семейство митохондриальных транспортеров

T3 - трийодтиронин

T4 - тироксин

TGS - рискованный генетический индекс

UCP1 - разобщающий белок 1

UCP2 - разобщающий белок 2

UCP3 - разобщающий белок 3

UCP4 - разобщающий белок 4

WHR - соотношение показателей обхватов талии к обхвату бедер

WHtR - отношение обхвата талии к росту, индекс центрального ожирения

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бондарева Э. А. и др. Ассоциации T/A-полиморфизма гена *fto* с характером жировотложения у юношей и девушек // Э. А. Бондарева и др. // Вестник Московского университета. Серия 23. Антропология. – 2016. – №. 4.

Ahmetov I. I. et al. Genome-wide association study identifies three novel genetic markers associated with elite endurance performance //Biology of sport. – 2015. – Т. 32. – №. 1. – С. 3.

Ahmetov, D. V. Popov, I. V. Astratenkova, A. M. Druzhevskaya, S. S. Missina, O. L. Vinogradova, and V. A. Rogozkin, The use of molecular genetic methods for prognosis of aerobic and anaerobic performance in athletes // Hum. Physiol.- 2008, Т. 34, Т. 3, С. 338–342,.

Aldiss P. et al. Exercise-induced ‘browning’ of adipose tissues //Metabolism. – 2018. – Т. 81. – С. 63-70.

Antos-Krzeminska N. et al. Acanthamoeba castellanii UCP protein expressed in yeast system; influence on viability of SOD1-and SOD2-deficient yeast under oxidative stress //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. – 2018. – Т. 1859. – С. e49

Aoi W. et al. The microRNA miR-696 regulates PGC-1 $\alpha$  in mouse skeletal muscle in response to physical activity //American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. – 2010. – Т. 298. – №. 4. – С. E799-E806.

Arner P., Kulyte A. MicroRNA regulatory networks in human adipose tissue and obesity //Nature Reviews Endocrinology. – 2015. – Т. 11. – №. 5. – С. 276.

Astrup A. et al. Impact of the v/v 55 polymorphism of the uncoupling protein 2 gene on 24-h energy expenditure and substrate oxidation //International journal of obesity. – 1999. – Т. 23. – №. 10. – С. 1030.

Buemann B., Schierner B., Toubro S., Bibby B. M., Sørensen T., Dalgaard L., Pedersen O Astrup A., The association between the val/ala-55 polymorphism of the uncoupling protein 2 gene and exercise efficiency// *Int. J. Obes* -2001., T. 25, №. 4, C. 467–471, 2001.

Babenko V. et al. FTO haplotyping underlines high obesity risk for European populations // *BMC medical genomics*. – 2019. – T. 12. – №. 2. – C. 46.

Ben-Zaken S. et al., Genetic score of power-speed and endurance track and field athletes // *Scandinavian journal, of medicine & science in sports*. – 2015. – T. 25. – №. 2. – C. 166-174.

Berardi M. J., Shih W. M., Harrison S. C., and J. J. Chou, “Mitochondrial uncoupling protein 2 structure determined by NMR molecular fragment searching,” *Nature*, vol. 476, no. 7358, pp. 109–113, Aug. 2011.

Berulava T. et al., N6-adenosine methylation in MiRNAs // *PloS one*. – 2015. – T. 10. – №. 2. – C. e0118438.

Betz M. J., Enerbäck S. Targeting thermogenesis in brown fat and muscle to treat obesity and metabolic disease // *Nature Reviews Endocrinology*. – 2018. – T. 14. – №. 2. – C. 77.

Bland J. M., Altman D. G. Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading // *The lancet*. – 1995. – T. 346. – №. 8982. – C. 1085-1087.

Blüher M. Obesity: global, epidemiology and pathogenesis // *Nature Reviews Endocrinology*. – 2019. – C. 1.

Bondareva E. A., Zadorozhnaya L. V., Khomyakova I. A. T/A polymorphism of the FTO gene and lifestyle are associated with fat accumulation in different age groups of men // *Obesity and metabolism*. – 2019. – T. 16. – №. 2. – C. 49-53.

Branco M. et al. 3, 5, 3'-Triiodothyronine actively stimulates UCP in brown fat under minimal sympathetic activity //American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. – 1999. – T. 276. – №. 1. – C. E179-E187.

Brendle C. et al. Correlation of brown adipose tissue with other body fat compartments and patient characteristics: a retrospective analysis in a large patient cohort using PET/CT //Academic radiology. – 2018. – T. 25. – №. 1. – C. 102-110.

Brondani L. A. et al., Meta-analysis reveals the association of common variants in the uncoupling protein (UCP) 1–3 genes with body mass index variability //PloS one. – 2014. – T. 9. – №. 5. – C. e96411.

Brondani L. A. et al. The presence of at least three alleles of the ADRB3 Trp64Arg (C/T) and UCP1– 3826A/G polymorphisms is associated with protection to overweight/obesity and with higher high-density lipoprotein cholesterol levels in Caucasian-Brazilian patients with type 2 diabetes //Metabolic syndrome and related disorders. – 2014. – T. 12. – №. 1. – C. 16-24.

Bronnikov G. E., Zhang S., B. Cannon, and J. Nedergaard, “A Dual Component Analysis Explains the Distinctive Kinetics of cAMP Accumulation in Brown Adipocytes // Nature - 1999vol. 274, no. 53, pp. 37770–37780,.

Brown G. C. et al. Mitochondrial proton and electron leaks //Essays in biochemistry. – 2010. – T. 47. – C. 53-67.

Cannon B., Nedergaard J. A. N. Brown adipose tissue: function and physiological significance //Physiological reviews. – 2004. – T. 84. – №. 1. – C. 277-359.

Cardona A. et al. Genome-wide analysis of cold adaptation in indigenous Siberian populations //PLoS One. – 2014. – T. 9. – №. 5. – C. e98076.

Carrière A. et al., Browning of white adipose cells by intermediate metabolites: an adaptive mechanism to alleviate redox pressure //Diabetes. – 2014. – T. 63. – №. 10. – C. 3253-3265.

Carroll A. M., Porter R. K., Morrice N. A. Identification of serine phosphorylation in mitochondrial uncoupling protein 1 //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. – 2008. – T. 1777. – №. 7-8. – C. 1060-1065.

Cassard A. M. et al. Human uncoupling protein gene: structure, comparison with rat gene, and assignment to the long arm of chromosome 4 //Journal of cellular biochemistry. – 1990. – T. 43. – №. 3. – C. 255-264.

Cassard-Doulier A. M. et al. In vitro interactions between nuclear proteins and uncoupling protein gene promoter reveal several putative transactivating factors including Ets1, retinoid X receptor, thyroid hormone receptor, and a CACCC box-binding protein //Journal of Biological Chemistry. – 1994. – T. 269. – №. 39. – C. 24335-24342.

Chathoth S. et al. Association of Uncoupling Protein 1 (UCP1) gene polymorphism with obesity: a case-control study //BMC medical genetics. – 2018. – T. 19. – №. 1. – C. 203.

Chen Y. et al. The combined effects of FADS gene variation and dietary fats in obesity-related traits in a population from the far north of Sweden: the GLACIER Study //International Journal of Obesity. – 2018. – C. 1.

Chouchani E. T. et al. Mitochondrial ROS regulate thermogenic energy expenditure and sulfenylation of UCP1 //Nature. – 2016. – T. 532. – №. 7597. – C.

Church C. et al., A mouse model for the metabolic effects of the human fat mass and obesity associated FTO gene //PLoS genetics. – 2009. – T. 5. – №. 8. – C. e1000599.

Claussnitzer M. et al. FTO obesity variant circuitry and adipocyte browning in humans //New England Journal of Medicine. – 2015. – T. 373. – №. 10. – C. 895-907.

Cogliati S. et al. Mitochondrial cristae shape determines respiratory chain supercomplexes assembly and respiratory efficiency //Cell. – 2013. – T. 155. – №. 1. – C. 160-171.

Cole T. J., Green P. J. Smoothing reference centile curves: the LMS method and penalized likelihood //Statistics in medicine. – 1992. – T. 11. – №. 10. – C. 1305-1319.

Coppola A. et al., A central, thermogenic-like mechanism in feeding regulation: an interplay between arcuate nucleus T3 and UCP2 //Cell metabolism. – 2007. – T. 5. – №. 1. – C. 21-33.

Cypess A. M. et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans //New England Journal of Medicine. – 2009. – T. 360. – №. 15. – C. 1509-1517.

de Almeida Brondani L. et al., Association of the UCP polymorphisms with susceptibility to obesity: case-control study and meta-analysis //Molecular biology reports. – 2014. – T. 41. – №. 8. – C. 5053-5067.

De Marchi U., Castelbou C., Demaurex N. Uncoupling protein 3 (UCP3) modulates the activity of Sarco/endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase (SERCA) by decreasing mitochondrial ATP production //Journal of Biological Chemistry. – 2011. – T. 286. – №. 37. – C. 32533-32541.

De Souza B. M. et al. Associations between UCP1-3826A/G, UCP2-866G/A, Ala55Val and Ins/Del, and UCP3-55C/T polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus: case-control study and meta-analysis //PloS one. – 2013. – T. 8. – №. 1. – C. e54259.

De Vooght K. M. K., Van Wijk R., Van Solinge W. W. Management of gene promoter mutations in molecular diagnostics //Clinical, chemistry. – 2009. – T. 55. – №. 4. – C. 698-708.

Deming W. E. Statistical adjustment of data. – 1943.

Dempersmier J. et al. Cold-inducible Zfp516 activates UCP1 transcription to promote browning of white fat and development of brown fat //Molecular cell. – 2015. – T. 57. – №. 2. – C. 235-246.

Diano S., Horvath T. L. Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) in glucose and lipid metabolism //Trends in molecular medicine. – 2012. – T. 18. – №. 1. – C. 52-58.

Dina C. et al. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity //Nature genetics. – 2007. – T. 39. – №. 6. – C. 724.

Dong S. S. et al. Detecting epistasis within chromatin regulatory circuitry reveals CAND2 as a novel susceptibility gene for obesity //International Journal of Obesity. – 2019. – T. 43. – №. 3. – C. 450.

Draper N. R., Cox D. R. On distributions and their transformation to normality //Journal, of the Royal, Statistical, Society: Series B (Methodological,). – 1969. – T. 31. – №. 3. – C. 472-476.

Esterbauer H. et al. A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with decreased risk of obesity in middle-aged humans //Nature genetics. – 2001. – T. 28. – №. 2. – C. 178.

Eynon N. et al. Genes for elite power and sprint performance: ACTN3 leads the way //Sports medicine. – 2013. – T. 43. – №. 9. – C. 803-817.

Fieller E. C., Hartley H. O., Pearson E. S. Tests for rank correlation coefficients. I //Biometrika. – 1957. – T. 44. – №. 3/4. – C. 470-481.

Fischer J. et al., Inactivation of the Fto gene protects from obesity //Nature. – 2009. – T. 458. – №. 7240. – C. 894.

Fleury C. et al. Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia //Nature genetics. – 1997. – T. 15. – №. 3. – C. 269.

Forman H. J., Fukuto J. M., Torres M. Redox signaling: thiol chemistry defines which reactive oxygen and nitrogen species can act as second messengers //American Journal of Physiology-Cell Physiology. – 2004. – T. 287. – №. 2. – C. C246-C256.

Frayling T. M. et al., A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity //Science. – 2007. – T. 316. – №. 5826. – C. 889-894.

Fumagalli M. et al. Greenlandic Inuit show genetic signatures of diet and climate adaptation //Science. – 2015. – T. 349. – №. 6254. – C. 1343-1347.

Gamboa R. et al. The UCP2-866G/A, Ala55Val and UCP3-55C/T polymorphisms are associated with premature coronary artery disease and cardiovascular risk factors in Mexican population //Genetics and molecular biology. – 2018. – T. 41. – №. 2. – C. 371-378.

Garlid K. D. et al. On the mechanism of fatty acid-induced proton transport by mitochondrial uncoupling protein //Journal of Biological Chemistry. – 1996. – T. 271. – №. 5. – C. 2615-2620.

Gaudry M. J., Campbell K. L. Evolution of UCP1 transcriptional regulatory elements across the mammalian phylogeny //Frontiers in Physiology. – 2017. – T. 8. – C. 670

Grayson B. E., Seeley R. J., Sandoval D. A. Wired on sugar: the role of the CNS in the regulation of glucose homeostasis //Nature Reviews Neuroscience. – 2013. – T. 14. – №. 1. – C. 24.

Gronek P. et al. Polygenic Study of Endurance-Associated Genetic Markers NOS3 (Glu298Asp), BDKRB2 (-9/+ 9), UCP2 (Ala55Val), AMPD1 (Gln45Ter) and ACE (I/D) in Polish Male Half Marathoners //Journal of human kinetics. – 2018. – T. 64. – №. 1. – C. 87-98.

Gu W. et al. The role of RNA structure at 5' untranslated region in microRNA-mediated gene regulation //Rna. – 2014. – T. 20. – №. 9. – C. 1369-1375.

Guerrero-Romero F., Rodríguez-Morán M. Abdominal, volume index. An anthropometry-based index for estimation of obesity is strongly related to impaired glucose tolerance and type 2 diabetes mellitus //Archives of medical, research. – 2003. – T. 34. – №. 5. – C. 428-432.

Kim H. J., Lee S. Y., and C. M. Kim, Association between gene polymorphisms and obesity and physical fitness in Korean children// Biol. Sport – 2018, T. 35, № 1, C. 21–27,.

Hancock A. M. et al., Population genetic analysis of the uncoupling proteins supports a role for UCP3 in human cold resistance //Molecular biology and evolution. – 2010. – T. 28. – №. 1. – C. 601-614.

Hattori A., Sturm R. The obesity epidemic and changes in self-report biases in BMI //Obesity. – 2013. – T. 21. – №. 4. – C. 856-860.

Hermanussen M., Bogin B. Auxology—an editorial,. – 2014.

Hill W. G., Goddard M. E., Visscher P. M. Data and theory point to mainly additive genetic variance for complex traits //PLoS genetics. – 2008. – T. 4. – №. 2. – C. e1000008.

Ho Cha M. et al. A UCP1-412A> C polymorphism is associated with abdominal fat area in Korean women //Hereditas. – 2008. – T. 145. – №. 5. – C. 231-237.

Hoang T., Smith M. D., Jelokhani-Niaraki M. Expression, Folding, and Proton Transport Activity of Human Uncoupling Protein-1 (UCP1) in Lipid Membranes evidence for associated functional forms //Journal of Biological Chemistry. – 2013. – T. 288. – №. 51. – C. 36244-36258.

Hoang T., Smith M. D., Jelokhani-Niaraki M. Toward understanding the mechanism of ion transport activity of neuronal uncoupling proteins UCP2, UCP4, and UCP5 //Biochemistry. – 2012. – T. 51. – №. 19. – C. 4004-4014.

Huang T., Hu F. B. Gene-environment interactions and obesity: recent developments and future directions //BMC medical genomics. – 2015. – T. 8. – №. 1. – C. S2.

Hughes J., Criscuolo F. Evolutionary history of the UCP gene family: gene duplication and selection //BMC evolutionary biology. – 2008. – T. 8. – №. 1. – C. 306.

Hunt S. E. et al. Ensembl variation resources //Database. – 2018. – T. 2018.

Hurvich C. M., Tsai C. L. A corrected Akaike information criterion for vector autoregressive model selection //Journal, of time series analysis. – 1993. – T. 14. – №. 3. – C. 271-279.

Ishwaran H. and Kogalur U.B. (2007). Random survival, forests for R, Rnews, 7(2):25-31

Jarmuszkiewicz, C. M. Sluse-goffart, L. Hryniewiecka, and F. E. Sluse, Identification and Characterization of a Protozoa Uncoupling Protein in *Acanthamoeba castellanii* //Nature - 1999, vol. 274, no. 33, pp. 231–232

Jia J. et al., The polymorphisms of UCP1 genes associated with fat metabolism, obesity and diabetes //Molecular biology reports. – 2010. – T. 37. – №. 3. – C. 1513-1522.

Jiménez-Jiménez J., A. Ledesma, P. Zaragoza, M. M. González-Barroso, and E. Rial, “Fatty acid activation of the uncoupling proteins requires the presence of the central matrix loop from UCP1,” Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg., vol. 1757, no. 9–10, pp. 1292–1296, 2006.

Jordan D. M., Verbanck M., Do R. The landscape of pervasive horizontal pleiotropy in human genetic variation is driven by extreme polygenicity of human traits and diseases //Available at SSRN 3188410. – 2018.

Kahara. T et al., Prediction of exercise-mediated changes in metabolic markers by gene polymorphism // Diabetes Res. Clin. Pract., vol. 57, no. 2, pp. 105–110, 2002.

Key F. M. et al., Human local, adaptation of the TRPM8 cold receptor along a latitudinal, cline //PLoS genetics. – 2018. – T. 14. – №. 5. – C. e1007298.

Kilpeläinen T. O. et al., Physical, activity attenuates the influence of FTO variants on obesity risk: a meta-analysis of 218,166 adults and 19,268 children //PLoS medicine. – 2011. – T. 8. – №. 11. – C. e1001116.

Kostka D., Hahn M. W., Pollard K. S. Noncoding sequences near duplicated genes evolve rapidly //Genome biology and evolution. – 2010. – T. 2. – C. 518-533.

Kozak L. P., Anunciado-Koza R. UCP1: its involvement and utility in obesity //International, journal, of obesity. – 2009. – T. 32. – №. S7. – C. S32.

Kozak U. C. et al. An upstream enhancer regulating brown-fat-specific expression of the mitochondrial uncoupling protein gene //Molecular and cellular biology. – 1994. – T. 14. – №. 1. – C. 59-67.

Krauss S., Zhang C. Y., Lowell B. B. The mitochondrial uncoupling-protein homologues //Nature reviews Molecular cell biology. – 2005. – T. 6. – №. 3. – C. 248.

Kring S. I. I. et al., FTO gene associated fatness in relation to body fat distribution and metabolic traits throughout a broad range of fatness //PloS one. – 2008. – T. 3. – №. 8. – C. e2958.

Kuhn M. Caret: classification and regression training //Astrophysics Source Code Library. – 2015.

Kuhn M., Johnson K. Applied predictive modeling. – New York : Springer, 2013. – T. 26.

Kursa M. B. et al., Feature selection with the Boruta package //J Stat Softw. – 2010. – T. 36. – №. 11. – C. 1-13.

Landgraf K. et al. FTO obesity risk variants are linked to adipocyte IRX3 expression and BMI of children-relevance of FTO variants to defend body weight in lean children? //PloS one. – 2016. – T. 11. – №. 8. – C. e0161739.

Ledesma, M. G. De Lacoba, and E. Rial, “Protein family review The mitochondrial uncoupling proteins,” pp. 1–9, 2002.

Lee C. M. Y. et al., Indices of abdominal, obesity are better discriminators of cardiovascular risk factors than BMI: a meta-analysis //Journal, of clinical, epidemiology. – 2008. – T. 61. – №. 7. – C. 646-653.

Lee J. Y. et al. Triiodothyronine induces UCP-1 expression and mitochondrial biogenesis in human adipocytes //American Journal of Physiology-Cell Physiology. – 2011. – T. 302. – №. 2. – C. C463-C472.

Leitner B. P. et al. Kinetics of human brown adipose tissue activation and deactivation //International Journal of Obesity. – 2019. – T. 43. – №. 3. – C. 633.

Li S. et al., Physical, activity attenuates the genetic predisposition to obesity in 20,000 men and women from EPIC-Norfolk prospective population study //PLoS medicine. – 2010. – T. 7. – №. 8. – C. e1000332.

Li X., Qi L. Gene–Environment Interactions on Body Fat Distribution //International, journal, of molecular sciences. – 2019. – T. 20. – №. 15. – C. 3690.

Liaw A. et al., Classification and regression by randomForest //R news. – 2002. – T. 2. – №. 3. – C. 18-22.

Lima T. I. et al. Essential role of PGC-1 $\alpha$ /PPAR $\beta$  axis in Ucp3 gene induction //The Journal of physiology. – 2019.

Liu X. et al., Prevalence and influencing factors of overweight and obesity in a Chinese rural population: the Henan Rural Cohort Study //Scientific reports. – 2018. – T. 8. – №. 1. – C. 13101.

Locke A. E. et al. Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology //Nature. – 2015. – T. 518. – №. 7538. – C. 197.

Lynch M. et al., Genetics and analysis of quantitative traits. – Sunderland, MA : Sinauer, 1998. – T. 1. – C. 535-557.

Madreiter-Sokolowski C. T. et al. PRMT1-mediated methylation of MICU1 determines the UCP2/3 dependency of mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake in immortalized cells //Nature communications. – 2016. – T. 7. – C. 12897.

Manolio T. A. et al. Finding the missing heritability of complex diseases //Nature. – 2009. – T. 461. – №. 7265. – C. 747.

Martinez-Hervas S. et al. Polymorphisms of the UCP2 gene are associated with body fat distribution and risk of abdominal obesity in Spanish population //European journal of clinical investigation. – 2012. – T. 42. – №. 2. – C. 171-178.

Mathieson I. et al. Genome-wide patterns of selection in 230 ancient Eurasians //Nature. – 2015. – T. 528. – №. 7583. – C. 499

Matsukawa T. et al., Upregulation of skeletal, muscle PGC-1 $\alpha$  through the elevation of cyclic AMP levels by Cyanidin-3-glucoside enhances exercise performance //Scientific reports. – 2017. – T. 7. – C. 44799.

McDonald A. E., Vanlerberghe G. C. The organization and control of plant mitochondrial metabolism //Annual Plant Reviews online. – 2018. – C. 290-324.

McKinney, M. (2012), "Human Genome Project Information", Reference Reviews, Vol. 26 No. 3, pp. 38-39. <https://doi.org/10.1108/09504121211211415>

McMurray F. et al., Adult onset global, loss of the fto gene alters body composition and metabolism in the mouse //PLoS genetics. – 2013. – T. 9. – №. 1. – C. e1003166.

Morgan S. A., Z. K. Hassan-Smith, C. L. Doig, M. M. Sherlock, P. M. Stewart, and G. G. Lavery, “Glucocorticoids and 11 $\beta$ -HSD1 are major regulators of intramyocellular protein metabolism,” *J. Endocrinol.*, vol. 229, no. 3, pp. 277–286, Nov. 2011.

Moszyńska A. et al. SNPs in microRNA target sites and their potential role in human disease // *Open biology*. – 2017. – Т. 7. – №. 4. – С. 170019.

Rudnev S. et al., Body composition in Russians as assessed by bioimpedance analysis: the population reference data and some comparisons // *Вестник Московского университета. Серия 23. Антропология*. – 2014. – №. 3.

Nakatochi M. et al. Identification of an interaction between VWF rs7965413 and platelet count as a novel risk marker for metabolic syndrome: an extensive search of candidate polymorphisms in a case-control study // *PloS one*. – 2015. – Т. 10. – №. 2. – С. e0117591.

Nan C. et al. Heritability of body mass index in pre-adolescence, young adulthood and late adulthood // *European journal of epidemiology*. – 2012. – Т. 27. – №. 4. – С. 247-253.

Nicholls D. G. The physiological regulation of uncoupling proteins // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 2006. – Т. 1757. – №. 5-6. – С. 459-466.

Nicholls D.G., Bernson V.S., Heaton G.M. The identification of the component in the inner membrane of brown adipose tissue mitochondria responsible for regulating energy dissipation (англ.) // *Experientia Suppl. : journal*. — 1978. — Vol. 32. — P. 89—93. — PMID 348493.

Nishimura T. et al., Experimental, evidence reveals the UCP1 genotype changes the oxygen consumption attributed to non-shivering thermogenesis in humans // *Scientific reports*. – 2017. – Т. 7. – №. 1. – С. 5570.

Nowack J., S. Giroud, W. Arnold, and T. Ruf, Muscle non-shivering thermogenesis and its role in the evolution of endothermy // *Front. Physiol.* – 2017 – T. 8, no., pp. 1–13.

Parton L. E. et al. Glucose sensing by POMC neurons regulates glucose homeostasis and is impaired in obesity // *Nature.* – 2007. – T. 449. – №. 7159. – C. 228.

Peckett A. J., Wright D. C., Riddell M. C. The effects of glucocorticoids on adipose tissue lipid metabolism // *Metabolism.* – 2011. – T. 60. – №. 11. – C. 1500-1510.

Petersen C. et al., MCT1 and MCT4 expression and lactate flux activity increase during white and brown adipogenesis and impact adipocyte metabolism // *Scientific reports.* – 2017. – T. 7. – №. 1. – C. 13101.

Pi J., Collins S. Reactive oxygen species and uncoupling protein 2 in pancreatic  $\beta$ -cell function // *Diabetes, Obesity and Metabolism.* – 2010. – T. 12. – C. 141-148.

Pitulko V. V. et al. Early human presence in the Arctic: Evidence from 45,000-year-old mammoth remains // *Science.* – 2016. – T. 351. – №. 6270. – C. 260-263.

Pontzer H. Economy and endurance in human evolution // *Current Biology.* – 2017. – T. 27. – №. 12. – C. R613-R621.

Pontzer H. et al. Hunter-gatherer energetics and human obesity // *PloS one.* – 2012. – T. 7. – №. 7. – C. e40503.

Qi L. et al., Fat mass–and obesity-associated (FTO) gene variant is associated with obesity: longitudinal, analyses in two cohort studies and functional, test // *Diabetes.* – 2008. – T. 57. – №. 11. – C. 3145-3151.

Qi L., Cho Y. A. Gene-environment interaction and obesity // *Nutrition reviews.* – 2008. – T. 66. – №. 12. – C. 684-694.

Qian L. et al. UCP2-866G/A, Ala55Val and UCP3-55C/T polymorphisms in association with obesity susceptibility—a meta-analysis study // *PloS one.* – 2013. – T. 8. – №. 4. – C. e58939.

Quaye L. et al., Comparative Abilities of Body Mass Index, Waist Circumference, Abdominal, Volume Index, Body Adiposity Index, and Conicity Index as Predictive Screening Tools for Metabolic Syndrome among Apparently Healthy Ghanaian Adults //Journal, of Obesity. – 2019. – T. 2019.

R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Racimo F. et al. Archaic adaptive introgression in TBX15/WARS2 //Molecular biology and evolution. – 2017. – T. 34. – №. 3. – C. 509-524.

Ramos A. V. et al. The contribution of FTO and UCP-1 SNPs to extreme obesity, diabetes and cardiovascular risk in Brazilian individuals //BMC medical genetics. – 2012. – T. 13. – №. 1. – C. 101.

Rask-Andersen M. et al., Gene-environment interaction study for BMI reveals interactions between genetic factors and physical activity, alcohol consumption and socioeconomic status //PLoS genetics. – 2017. – T. 13. – №. 9. – C. e1006977.

Richard D. et al. Distribution of the uncoupling protein 2 mRNA in the mouse brain //Journal of Comparative Neurology. – 1998. – T. 397. – №. 4. – C. 549-560.

Richardson K. et al. The PLIN4 variant rs8887 modulates obesity related phenotypes in humans through creation of a novel miR-522 seed site //PloS one. – 2011. – T. 6. – №. 4. – C. e17944.

Roberts P., Stewart B. A. Defining the ‘generalist specialist’ niche for Pleistocene Homo sapiens //Nature human behaviour. – 2018. – C. 1.

Roeber C. et al., The klaR package //Department of Statistics, University of Dortmund. – 2006.

Rovati G. E. and S. Nicosia, Lower efficacy: interaction with an inhibitory receptor or partial agonism? // Trends Pharmacol. Sci. - 1994, vol. 15, no. 5, c. 140–144.

Sale M.M., et al., “The uncoupling protein 1 gene, UCP1, is expressed in mammalian islet cells and associated with acute insulin response to glucose in African American families from the IRAS Family Study,” *BMC Endocr. Disord.*, vol. 7, no. 1, p. 1, 2007.

Schrauwen P. et al. A novel polymorphism in the proximal UCP3 promoter region: effect on skeletal muscle UCP3 mRNA expression and obesity in male non-diabetic Pima Indians // *International journal of obesity*. – 1999. – T. 23. – №. 12. – C. 1242.

Schrauwen P. et al. Skeletal muscle UCP2 and UCP3 expression in trained and untrained male subjects // *International journal of obesity*. – 1999. – T. 23. – №. 9. – C. 966.

Shadel G. S. and T. L. Horvath, “Mitochondrial ROS Signaling in Organismal Homeostasis,” *Cell*, vol. 163, no. 3, pp. 560–569, Oct. 2015.

Shapiro S. S., Francia R. S. An approximate analysis of variance test for normality // *Journal, of the American Statistical, Association*. – 1972. – T. 67. – №. 337. – C. 215-216.

Shu L. et al. A-FABP mediates adaptive thermogenesis by promoting intracellular activation of thyroid hormones in brown adipocytes // *Nature communications*. – 2017. – T. 8. – C. 14147.

Si Y., Shi H., Lee K. Metabolic flux analysis of mitochondrial uncoupling in 3T3-L1 adipocytes // *PloS one*. – 2009. – T. 4. – №. 9. – C. e7000.

Smemo S. et al., Obesity-associated variants within FTO form long-range functional, connections with IRX3 // *Nature*. – 2014. – T. 507. – №. 7492. – C. 371.

Smirnova E. et al. Dynamin-related protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells // *Molecular biology of the cell*. – 2001. – T. 12. – №. 8. – C. 2245-2256.

Solanes G., A. Vidal-Puig, D. Grujic, J. S. Flier, and B. B. Lowell, "The Human Uncoupling Protein-3 Gene," *J. Biol. Chem.*, vol. 272, no. 41, pp. 25433–25436, Oct. 1997.

Souza B. M. et al., The role of uncoupling protein 2 (UCP2) on the development of type 2 diabetes mellitus and its chronic complications // *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. – 2011. – T. 55. – №. 4. – C. 239-248.

Srivastava N. et al. A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with obesity and hyperinsulinemia in northern Indians // *Molecular and cellular biochemistry*. – 2010. – T. 337. – №. 1-2. – C. 293-298.

Struchal, in M. V. et al., Variance heterogeneity analysis for detection of potentially interacting genetic loci: method and its limitations // *BMC genetics*. – 2010. – T. 11. – №. 1. – C. 92.

Stunkard A. J., LaFleur W. R., Wadden T. A. Stigmatization of obesity in medieval times: Asia and Europe // *International journal of obesity*. – 1998. – T. 22. – №. 12. – C. 1141.

Su M. et al. UCP2 and UCP3 variants and gene-environment interaction associated with prediabetes and T2DM in a rural population: a case control study in China // *BMC medical genetics*. – 2018. – T. 19. – №. 1. – C. 43.

Tagen M., A. Elorza, D. Kempuraj, W. Boucher, C. L. Kepley, O. S. Shirihai, and T. C. Theoharides, "Mitochondrial Uncoupling Protein 2 Inhibits Mast Cell Activation and Reduces Histamine Content," *J. Immunol.*, vol. 183, no. 10, pp. 6313–6319, Nov. 2009.

Tan L. J. et al. Replication of 6 obesity genes in a meta-analysis of genome-wide association studies from diverse ancestries // *PLoS One*. – 2014. – T. 9. – №. 5. – C. e96149.

Templeton A. Out of Africa again and again //Nature. – 2002. – T. 416. – №. 6876. – C. 45.

Tews D. et al., FTO deficiency induces UCP-1 expression and mitochondrial, uncoupling in adipocytes //Endocrinology. – 2013. – T. 154. – №. 9. – C. 3141-3151.

Thirupathi A., de Souza C. T. Multi-regulatory network of ROS: the interconnection of ROS, PGC-1  $\alpha$ , and AMPK-SIRT1 during exercise //Journal, of physiology and biochemistry. – 2017. – T. 73. – №. 4. – C. 487-494.

Thomou T. et al. Adipose-derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues //Nature. – 2017. – T. 542. – №. 7642. – C. 450.

Tibshirani R. Regression shrinkage and selection via the lasso //Journal, of the Royal, Statistical, Society: Series B (Methodological,). – 1996. – T. 58. – №. 1. – C. 267-288.

Tietjen G. L., Moore R. H. Some Grubbs-type statistics for the detection of several, outliers //Technometrics. – 1972. – T. 14. – №. 3. – C. 583-597.

Toda C. et al. UCP2 regulates mitochondrial fission and ventromedial nucleus control of glucose responsiveness //Cell. – 2016. – T. 164. – №. 5. – C. 872-883.

Trenker M. et al. Uncoupling proteins 2 and 3 are fundamental for mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uniport //Nature cell biology. – 2007. – T. 9. – №. 4. – C. 445.

Tsepilov Y. A. et al., Development and application of genomic control methods for genome-wide association studies using non-additive models //PLoS One. – 2013. – T. 8. – №. 12. – C. e81431.

Urhammer S. A. et al. Studies of the Synergistic Effect of the Trp/Arg64 Polymorphism of the  $\beta$  3-Adrenergic Receptor Gene and the – 3826 A  $\rightarrow$  G Variant of the Uncoupling Protein-1 Gene on Features of Obesity and Insulin Resistance in a Population-Based Sample of 379 Young Danish Subjects //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2000. – T. 85. – №. 9. – C. 3151-3154.

Valve R. et al. Synergistic effect of polymorphisms in uncoupling protein 1 and  $\beta$ 3-adrenergic receptor genes on basal metabolic rate in obese Finns //Diabetologia. – 1998. – T. 41. – №. 3. – C. 357-361.

Valverde A. M. et al. Insulin-induced up-regulated uncoupling protein-1 expression is mediated by insulin receptor substrate 1 through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway in fetal brown adipocytes //Journal of Biological Chemistry. – 2003. – T. 278. – №. 12. – C. 10221-10231.

Vercesi A. E. et al. PUMPing plants //Nature. – 1995. – T. 375. – №. 6526. – C. 24-24.

Vidal-Puig A., G. Solanes, D. Grujic, J. S. Flier, and B. B. Lowell, “An uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue,” Biochem Biophys Res Commun, vol. 235, no. 235, pp. 79–82, 1997.

Vijgen G. H. E. J. et al. Brown adipose tissue in morbidly obese subjects //PloS one. – 2011. – T. 6. – №. 2. – C. e17247.

Villarroya F., Peyrou M., Giralt M. Transcriptional regulation of the uncoupling protein-1 gene //Biochimie. – 2016. – T. 134. – C. 86-92.

Virtanen K. A. et al. Functional brown adipose tissue in healthy adults //New England Journal of Medicine. – 2009. – T. 360. – №. 15. – C. 1518-1525.

Wainschtein P. et al. Recovery of trait heritability from whole genome sequence data //bioRxiv. – 2019. – C. 588020.

Waldeck-Weiermair M. et al. The contribution of UCP2 and UCP3 to mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake is differentially determined by the source of supplied Ca<sup>2+</sup> //Cell calcium. – 2010. – T. 47. – №. 5. – C. 433-440.

Walder K. et al. Association between uncoupling protein polymorphisms (UCP2–UCP3) and energy metabolism/obesity in Pima Indians //Human Molecular Genetics. – 1998. – T. 7. – №. 9. – C. 1431-1435.

Wallace I. J., Hainline C., Lieberman D. E. Sports and the human brain: an evolutionary perspective //Handbook of clinical neurology. – Elsevier, 2018. – T. 158. – C. 3-10.

Walsh J., Heazlewood I. T., Climstein M. Body mass index in master athletes: review of the literature //Journal, of lifestyle medicine. – 2018. – T. 8. – №. 2. – C. 79.

Wang H. et al., Comparison of anthropometric indices for predicting the risk of metabolic syndrome and its components in Chinese adults: a prospective, longitudinal, study //BMJ open. – 2017. – T. 7. – №. 9. – C. e016062.

Watanabe A. et al. AtUCP2: a novel isoform of the mitochondrial uncoupling protein of Arabidopsis thaliana //Plant and Cell Physiology. – 1999. – T. 40. – №. 11. – C. 1160-1166.

Weir G. et al., Substantial, metabolic activity of human brown adipose tissue during warm conditions and cold-induced lipolysis of local, triglycerides //Cell metabolism. – 2018. – T. 27. – №. 6. – C. 1348-1355. e4.

Williams A. G., Folland J. P. Similarity of polygenic profiles limits the potential, for elite human physical, performance //The journal, of physiology. – 2008. – T. 586. – №. 1. – C. 113-121.

Woyda-Ploszczyca A. M., Jarmuszkiewicz W. The conserved regulation of mitochondrial uncoupling proteins: from unicellular eukaryotes to mammals //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. – 2017. – T. 1858. – №. 1. – C. 21-3

Wu Y. et al. Identification of miR-106b-93 as a negative regulator of brown adipocyte differentiation //Biochemical and biophysical research communications. – 2013. – T. 438. – №. 4. – C. 575-580.

Xu Y. et al., Manganese superoxide dismutase deficiency triggers mitochondrial, uncoupling and the Warburg effect //Oncogene. – 2015. – T. 34. – №. 32. – C. 4229.

Yoneshiro T. et al., Impact of UCP1 and  $\beta$ 3AR gene polymorphisms on age-related changes in brown adipose tissue and adiposity in humans //International journal of obesity. – 2013. – T. 37. – №. 7. – C. 993.

Yoneshiro T. et al., Recruited brown adipose tissue as an antiobesity agent in humans //The Journal of clinical investigation. – 2013. – T. 123. – №. 8. – C. 3404-3408.

Yuan Y. et al., MiR-133a is functionally involved in doxorubicin-resistance in breast cancer cells MCF-7 via its regulation of the expression of uncoupling protein 2 //PLoS One. – 2015. – T. 10. – №. 6. – C. e0129843.

Zhou J. et al., Associations between physical activity-related miRNAs and metabolic syndrome //Hormone and Metabolic Research. – 2014. – T. 46. – №. 03. – C. 201-205.

Zhou J. Y., Li L. MicroRNAs are key regulators of brown adipogenesis //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2014. – T. 1841. – №. 11. – C. 1590-1595.

Zhu J. et al., Associations of genetic risk score with obesity and related traits and the modifying effect of physical, activity in a Chinese Han population //PloS one. – 2014. – T. 9. – №. 3. – C. e91442.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

**Приложение А.** Средние значения морфологических показателей в зависимости от количества «бережливых» аллелей в контрольной группе.

Показатель			ЖМТ, %			ИМТ			АVI			BAI			WHR			WHtR			
Ген	N		0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	
FTO	Ж	71	M	26,45	26,87	27,7	20,85	21,02	22,22	12,47	12,78	12,99	27,43	27,39	28,99	0,7	0,71	0,73	0,41	0,41	0,43
			SD	3,24	5,12	5,08	2,01	2,22	2,10	4,09	3,12	1,94	1,24	1,99	2,01	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,04
	М	33	M	17,35	18,05	18,47	23,18	22,21	24,49	16,77	17,25	17,62	24,15	21,92	23,85	0,79	0,8	0,81	0,44	0,43	0,45
			SD	3,86	3,40	4,00	2,12	3,05	1,58	1,56	3,23	3,55	2,24	3,36	2,21	0,03	0,03	0,04	0,02	0,04	0,01
UCP1	Ж	71	M	26,36	28,08	25,37	20,83	21,96	20,62	12,55	13,17	11,97	27,27	28,48	27,82	0,71	0,73	0,71	0,41	0,43	0,41
			SD	1,36	2,44	2,25	2,02	4,08	3,52	1,33	2,54	1,31	2,45	1,50	3,11	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03
	М	33	M	17,38	17,57	17,43	23,88	22,1	21,36	17,32	16,72	17,42	25,03	22,55	20,01	0,8	0,79	0,83	0,45	0,43	0,43
			SD	1,67	1,54	2,84	4,34	5,05	5,48	3,52	2,15	0,46	8,57	3,72	2,07	0,09	0,08	0,02	0,06	0,01	0,01
UCP2	Ж	71	M	27,79	26,72	27,01	20,97	21,17	21,44	12,85	12,87	12,52	27,12	27,5	28,37	0,72	0,72	0,72	0,42	0,42	0,42
			SD	3,21	3,13	2,37	3,86	4,46	2,82	2,69	3,25	3,59	3,16	3,25	2,57	0,04	0,03	0,02	0,03	0,03	0,02
	М	33	M	17,23	17,15	17,33	24,68	20,51	23,44	18,47	16,5	17,24	21,54	20,74	23,77	0,86	0,8	0,8	0,46	0,41	0,44
			SD	2,33	2,26	1,26	6,01	5,45	5,22	1,33	2,26	1,96	2,23	4,55	2,48	0,04	0,03	0,00	0,02	0,03	0,02
UCP3	Ж	71	M	26,98	27,24	25,44	21,25	21,57	19,67	12,7	12,83	12,91	27,81	28,37	24,41	0,72	0,72	0,69	0,42	0,43	0,39
			SD	2,88	2,20	2,36	4,01	3,26	4,15	1,65	1,38	1,55	1,64	3,84	1,56	0,02	0,04	0,04	0,01	0,03	0,03
	М	33	M	17,43	17,48	17,02	23,79	22,13	21,64	17,32	16,95	17,34	24,31	21,78	20,74	0,8	0,8	0,82	0,45	0,43	0,43
			SD	1,43	3,01	0,55	4,22	5,02	3,23	0,60	4,02	1,77	5,70	0,31	2,02	0,03	0,05	0,03	0,03	0,03	0,03

**Приложение Б. Результаты описательной статистики морфологических показателей в зависимости от количества «бережливых» аллелей в группе спортсменов.**

Ген	N		ЖМТ,%			ИМТ			АVI			BAI			WHR			WHtR			
			0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	
FTO	Ж	50	M	21,9	23,6	24,4	21,7	21,3	22,3	26,5	24,9	27,9	11,1	11,0	10,7	0,73	0,73	0,71	0,42	0,41	0,42
			SD	4,63	6,21	7,00	2,08	2,37	2,07	4,18	3,28	2,30	1,37	2,24	1,92	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,04
	М	124	M	15,74	15,80	14,46	22,91	23,92	22,55	21,7	23,13	24,55	13,99	15,26	13,46	0,81	0,82	0,81	0,43	0,45	0,44
			SD	3,99	3,90	4,17	2,89	3,32	1,52	1,98	3,70	3,08	2,69	3,25	2,26	0,03	0,03	0,05	0,02	0,05	0,00
UCP1	Ж	50	M	23,46	22,36	22,79	15,15	15,35	15,08	15,63	17,74	17,28	23,43	21,73	20,93	0,78	0,82	0,81	0,43	0,44	0,43
			SD	1,44	2,80	2,65	2,07	4,40	3,97	1,33	2,25	1,41	2,54	1,35	3,20	0,03	0,02	0,03	0,01	0,02	0,03
	М	124	M	20,76	21,42	20,86	20,79	20,11	19,39	13,87	14,38	12,72	29,02	24,60	24,33	0,78	0,78	0,71	0,46	0,43	0,39
			SD	1,67	1,54	2,84	4,34	5,05	5,48	3,52	2,15	0,46	8,57	3,72	2,07	0,09	0,08	0,02	0,06	0,01	0,01
UCP2	Ж	50	M	23,69	23,47	22,63	15,76	15,86	14,40	14,51	14,58	15,02	22,24	23,19	22,28	0,81	0,82	0,82	0,44	0,45	0,44
			SD	3,21	3,13	2,37	3,86	4,46	2,82	2,69	3,25	3,59	3,16	3,25	2,57	0,04	0,03	0,02	0,03	0,04	0,02
	М	124	M	21,71	21,09	21,40	22,03	21,90	23,56	11,31	10,54	9,79	26,73	26,05	25,95	0,72	0,73	0,69	0,42	0,41	0,39
			SD	2,35	2,40	1,35	6,10	5,84	5,23	1,81	2,30	1,89	2,75	4,47	2,84	0,04	0,05	0,00	0,02	0,04	0,02
UCP3	Ж	50	M	23,18	22,41	22,57	14,74	15,13	16,92	17,69	16,56	16,67	21,79	21,29	19,79	0,81	0,80	0,84	0,44	0,42	0,42
			SD	2,70	2,50	2,31	4,07	3,62	4,21	1,81	1,55	1,55	1,70	3,97	1,60	0,02	0,04	0,04	0,01	0,03	0,03
	М	124	M	21,80	19,81	20,17	19,95	19,19	21,16	12,46	15,04	13,95	27,74	22,83	23,38	0,72	0,80	0,76	0,42	0,42	0,41
			SD	1,44	3,19	0,29	4,98	5,99	3,23	0,60	4,02	1,77	5,70	0,31	2,02	0,03	0,10	0,08	0,05	0,06	0,03

**Приложение В. Результаты описательной статистики морфологических показателей в зависимости от спортивной специализации спортсменов.**

Подгруппа	N	Параметр	ИМТ	ЖМТ,%	WHiR	BAI	AVI	WHR
Подгруппа спортсменок (женщин)								
Анаэробная	1	M	20,7	27,49	0,39	25,88	9,47	0,69
		SD	-	-	-	-	-	-
Аэробная	28	M	21,02	23,02	0,41	26,05	9,84	0,72
		SD	2,54	6,21	0,03	2,99	1,61	0,03
Единоборства	8	M	22,65	27,9	0,42	26,5	10,35	0,72
		SD	2,78	7,41	0,04	4,32	2,08	0,03
Игровые	16	M	22,69	28,15	0,42	23,95	12,05	0,74
		SD	1,73	2,68	0,02	2,97	1,08	0,03
Контроль	75	M	21,29	27,51	0,42	27,79	10	0,72
		SD	2,75	4,39	0,04	3,46	1,55	0,04
Смешанная	9	M	21,86	23,08	0,41	25,08	9,9	0,73
		SD	1,9	5,59	0,03	4,16	1,42	0,02
Подгруппа спортсменов (мужчины)								
Анаэробная	4	M	25,4	16,27	0,45	22,85	13,38	0,82
		SD	1,59	4,39	0,02	1,6	0,29	0,03
Аэробная	22	M	23,27	16,12	0,44	21,67	12,75	0,83
		SD	2,3	4,39	0,03	2,08	2,08	0,04
Единоборства	22	M	25,88	15,66	0,47	25,02	13,74	0,82
		SD	4,23	1,99	0,05	3,09	3,23	0,03
Игровые	33	M	22,53	15,13	0,41	20,69	12,41	0,77
		SD	1,85	0,67	0,01	0,92	1,44	0,03
Контроль	33	M	25,01	17,35	0,46	23,97	13,69	0,83
		SD	2,59	3,24	0,02	4,47	1,26	0,02
Смешанная	10	M	23,82	17,04	0,43	22,51	12,12	0,81
		SD	1,74	5,56	0,02	2,18	1,41	0,03

**Приложение Г. Результаты описательной статистики для максимального потребления кислорода (мл/кг/мин) в группе квалифицированных спортсменов с учетом пола.**

Генотип	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD
Для подгруппы мужчин и женщин			Подгруппа спортсменов (мужчины)			Подгруппа спортсменок (женщин)			
<i>FTO *TT</i>	27	66,67	4,62	23	65,13	4,8	4	51,55	5,3
<i>FTO *TA</i>	71	55,48	11,03	46	59,74	7,9	14	49,57	4,2
<i>FTO *AA</i>	52	52,67	9,21	21	57,15	7,3	18	53,81	6,5
<i>UCP1*AA</i>	60	54,34	11,03	90	60,52	7,6	36	51,91	5,8
<i>UCP1*AG</i>	35	56,15	9,86	46	60,62	7,4	21	43,79	7,1
<i>UCP1*GG</i>	13	63,40	7,95	32	58,61	7,5	2	43,00	-
<i>UCP2*CC</i>	40	52,64	11,26	12	60,41	7,2	1	43,79	-
<i>UCP2*CT</i>	45	58,71	8,92	90	65,00	7,6	24	45,20	7,5
<i>UCP2*TT</i>	23	56,62	11,46	24	59,82	8,5	15	43,94	8,2
<i>UCP3*CC</i>	81	54,95	10,11	42	61,21	6,5	5	44,60	2,0
<i>UCP3*CT</i>	50	55,89	11,75	24	59,84	8,5	4	51,55	5,3
<i>UCP3*TT</i>	19	60,40	7,40	90	60,48	7,6	14	49,57	4,2

**Приложение Д.** Результаты описательной статистики для максимального потребления кислорода (мл/кг/мин) в группе квалифицированных спортсменов с учетом пола и специализации.

Подгруппа	Подгруппа спортсменов (мужчины)			Подгруппа спортсменок (женщин)		
	N	M	SD	N	M	SD
Анаэробная	13	53,05	7,39	7	54,53	6,82
Аэробная	19	62,85	5,75	15	52,12	7,25
Единоборства	16	48,38	12,18	7	43,59	6,28
Игровые	41	62,59	7,76	-	-	-
Смешанные	35	59,06	6,42	21	51,14	4,30

**Приложение Е. Климатогеографические данные для территорий, на которых проживают исследуемые популяции.**

Группа/Популяция	Широта/ Долгота	T max, °C	T точки росы, °C	RH,%	T min, °C	T, °C	Инсоляция
Бенгальцы ВЕВ/SAS	23,25/90,25	31,37	19,03	68,34	21,48	26,02	9,47
Дайцы CHS/EAS	22,25/100,25	25,68	13,88	72,49	14,38	19,37	8,42
Хань CDX/EAS	22,25/114,25	25,06	19,84	81,41	21,70	23,31	9,46
Ишан ESN/AFR	6,75/-6,24	30,78	20,88	76,31	21,69	25,69	9,79
Финны FIN/EUR	60,25/24,75	7,508	2,87	86,80	2,30	4,97	6,95
Русские RUS/EUR	55,45/37,04	9,6	4,68	78,00	2,1	5,8	7,15
Британцы GBR/EUR	54,75/1,25	11,25	6,70	86,67	6,49	8,86	7,48
Гамбийцы GWD/AFR	13,25/-16,25	33,68	16,29	57,95	21,17	26,67	9,40
Испанцы IBS/EUR	40,25/-3,24	20,19	4,43	59,86	7,21	13,32	7,37
Японцы JPT/EAS	35,25/139,25	18,32	10,88	78,58	11,57	14,76	7,99
Вьетнамцы KHV/EAS	10,25/106,25	31,96	22,67	76,05	24,23	27,51	10,02
Лухья LWK/AFR	0,75/34,75	24,53	13,38	72,58	13,70	18,69	8,80
Менде MSL/AFR	7,75/-11,25	30,01	21,73	80,83	22,021	25,48	9,83
Пакистанцы PJL/SAS	31,25/74,25	33,70	7,64	34,97	19,13	25,97	8,64
Итальянцы TSI/EUR	43,25/11,25	19,47	8,318	72,55	8,84	13,73	7,69
Йоруба YRI/ AFR	7,25/3,75	29,39	22,35	84,40	22,05	25,27	9,81