

**Методические рекомендации по применению эпигеномных технологий для
выявления особенностей адаптации организма спортсменов к физическим
нагрузкам**

Москва 2013

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
Введение.....	3
1. Механизмы регуляции генной экспрессии с помощью эпигенетической модификации в ответ на физические нагрузки.....	5
2. Эпигенетические особенности, влияющие на функциональное состояние и заболевания человека.....	19
3. Молекулярно-генетические маркеры, ассоциированные с эпигенетическими процессами в скелетных мышцах.....	22
4. Методы изучения метилирования генов в клетках крови и мышечных волокнах.....	28
Заключение.....	33

Введение

В процессе адаптации человека к физическим нагрузкам меняется активность генов: одни гены активируются, другие инактивируются. Наблюдаемые изменения активности генов лежат в основе клеточной дифференцировки в целом, и в мышечной пластичности, в частности. Обратимые изменения активности генов в тренировочном процессе индивида, не связанные с нарушением нуклеотидной последовательности ДНК, но приводящие к сохранению неактивного или активного состояния генов в ряду клеточных поколений, называют эпигенетическими. Неактивное состояние гена может быть обусловлено особой компактной структурой хроматина (гетерохроматина), которая образуется в результате взаимодействия ДНК со специфическими хромосомными белками. В некоторых случаях образование такой структуры хроматина объясняют метилированием ДНК и, напротив, деметилирование ДНК может сопровождаться активацией гена.

Благодаря последним достижениям в области эпигеномных технологий, сегодня стало возможным понять, каким образом и в какой степени в мышечных волокнах происходит генная экспрессия, лежащая в основе пластичности скелетных мышц. Тренировки, направленные на развитие выносливости либо скоростно-силовых качеств, представляют собой разные по стимулам внешние воздействия, которые приводят к специфическим структурным и метаболическим сдвигам в клетках скелетных мышц в результате регуляции экспрессии ряда генов.

Однократная физическая нагрузка приводит к изменению экспрессии сотен генов, которая приходит к исходному уровню через некоторое время (секунды, минуты, часы). Долговременную адаптацию к тренировкам различной направленности можно рассматривать как ответ организма на совокупность однократных физических нагрузок, которые приводят к

глобальным изменениям в системе регуляции генной экспрессии. В некоторых исследованиях было установлено наличие стойкой экспрессии сотен генов у спортсменов и добровольцев в ответ на длительные физические нагрузки аэробного и анаэробного характера. Вместе с тем, существуют индивидуальные различия в уровне генной экспрессии скелетных мышц в ответ на физические нагрузки, которые могут быть связаны со структурными особенностями генов, влияющих на эпигенетические механизмы. Таким образом, применение эпигеномных технологий позволит своевременно и точно оценить степень адаптации спортсменов к конкретным видам физических нагрузок.

1. Механизмы регуляции генной экспрессии с помощью эпигенетической модификации в ответ на физические нагрузки

Активность генов тканеспецифична (например, одни гены экспрессируются исключительно в мышечной ткани, другие – в нервной), изменяется на протяжении всей жизни человека, и зависит от пола, возраста, выполнения различных видов физических упражнений, особенностей питания, приема фармакологических препаратов и биологически активных добавок (Wittwer et al., 2004; Mahoney et al., 2005; Radom-Aizik et al., 2005; Hood et al., 2006; Stewart et al., 2006; Radom-Aizik et al., 2007; Smith et al., 2009; Stepto et al., 2009).

Регуляция активности генов осуществляется:

1) на уровне ДНК (последовательности промоторов, энхансеров, инсуляторов и др. генетических элементов) с помощью транскрипционных факторов (факторы белковой природы, способные связываться со специфическими сайтами промоторов генов; инициируют или ингибируют посадку РНК-полимеразы), а также метилирования, скручивания ДНК и других механизмов;

2) на уровне мРНК (микроРНК осуществляют посттранскрипционный сайленсинг генов – РНК-интерференцию); и

3) на уровне белков (при трансляции и деградации) (Heintzman et al., 2009). Применительно к спорту активность генов можно регулировать с помощью генного допинга (с изменением или без изменения структуры генома) либо с использованием пищевых веществ и разрешенных фармакологических препаратов.

Геномный импринтинг. Для описания механизмов, которые могут контролировать экспрессию генов, не будучи сами под непосредственным контролем генов, предложено название «эпигенез». Одним из механизмов

эпигенетической регуляции экспрессии генов является геномный импринтинг (от англ. imprint – оставлять отпечаток, след, запечатлевать), с которым связывают развитие некоторых наследственных заболеваний и индивидуальные различия в проявлении фенотипов (Гвоздев, 1999; Немцов и Залетаев, 2005; Hulver et al., 2005; Heijmans et al., 2008).

В процессе развития многоклеточных организмов меняется активность генов – одни гены до поры до времени неактивны (репрессированы), тогда как другие активны в раннем развитии, но инактивируются позднее (Гвоздев, 1999). Наблюдаемые изменения активности генов лежат в основе клеточной дифференцировки. Обратимые изменения активности генов в процессе индивидуального развития организма, не связанные с нарушением нуклеотидной последовательности ДНК, но приводящие к сохранению неактивного или активного состояния генов в ряду клеточных поколений, называют эпигенетическими. Неактивное состояние гена может быть обусловлено особой компактной структурой хроматина (гетерохроматина), которая образуется в результате взаимодействия ДНК со специфическими хромосомными белками. В некоторых случаях образование такой структуры хроматина объясняют метилированием ДНК и, напротив, деметилирование ДНК может сопровождаться активацией гена. *Метилирование* представляет собой временную химическую модификацию нуклеотидной последовательности без нарушения кодирующей способности ДНК. В этом случае обратимое метилирование рассматривается как эпимутация в отличие от мутации, вызываемой нуклеотидными заменами, нехваткой участка гена или, наконец, вставкой нуклеотидов, включая такой случай, как внедрение мобильного элемента.

Метилирование ДНК осуществляется главным образом в результате обратимой химической модификации азотистого основания – цитозина (С), что приводит к присоединению метильной группы к углероду, расположенному в положении 5' пиримидинового кольца. Метилирование

катализируется ферментом – ДНК-метилтрансферазой. При присоединении фермента к ДНК водородные связи цитозина с комплементарным основанием гуанина (G) в двухнитевой ДНК разрываются и метильная группа присоединяется к цитозину, находящемуся в момент метилирования вне двойной спирали ДНК. Затем 5-метилцитозин возвращается на место цитозина напротив гуанина, водородные связи между метилированным цитозином и гуанином восстанавливаются. Цитозин метилируется в том случае, если рядом с ним находится гуанин (G) в сочетании CpG, где p – остаток фосфорной кислоты, связывающийся с сахарными остатками с образованием сахарофосфатного остова ДНК. После репликации метилированной ДНК новообразованная цепь не будет метилированной, такую ДНК называют полуметилированной. Полуметилированная ДНК – это субстрат для ДНК-метилтрансферазы, которая метилирует C, комплементарный G в новообразованной цепи ДНК. Таким образом, если отдельные C, соседствующие с G в родительской ДНК, уже метилированы, то метилированы будут и C в комплементарной, вновь синтезированной цепи ДНК. В результате благодаря способности метилтрансферазы узнавать полуметилированные районы ДНК рисунок распределения метилированных оснований будет автоматически поддерживаться при репликации ДНК в процессе клеточных делений (Гвоздев, 1999). Установлено, что нормальное развитие млекопитающих невозможно без метилирования. Если направленно инактивировать, разрушить ген, ответственный у мышей за образование ДНК-метилтрансферазы, то развитие эмбриона приостанавливается на ранних стадиях.

Потенциально метилируемые остатки C в соседстве с G (CpG), встречающиеся по длине гена, обычно метилированы. В геномах млекопитающих последовательности CpG представлены неравномерно: обнаруживаются участки, где такие последовательности сгруппированы, образуя так называемые CpG-островки. Эти островки занимают около 1000

п.н. ДНК. Островки чаще встречаются в районах промоторов генов позвоночных, распространяясь в область начала гена. С промоторной областью связываются регуляторные белки, обеспечивающие активную транскрипцию гена. Островки могут быть в значительной степени метилированы, что сопровождается инактивацией гена. По-видимому, метилирование ДНК препятствует взаимодействию регуляторных белков (факторов транскрипции) с промотором. Метилирование ДНК способствует привлечению к району промотора белков, подавляющих транскрипцию. Степень репрессии активности гена пропорциональна плотности метилирования цитозинов на условную единицу длины ДНК.

Однако в отдельных случаях метилирование может препятствовать взаимодействию участка ДНК с репрессорными белками, подавляющими активность гена и конкурирующими за связывание ДНК с белками, обеспечивающими транскрипцию гена. Так, например, метилирование района интрона может обеспечить активность гена. Это связано с наличием в интронах энхансеров, с которыми взаимодействуют факторы транскрипции, в свою очередь контактирующие с РНК-полимеразой. В таком случае метилирование района интрона может препятствовать взаимодействию с белками-репрессорами.

Родительский геномный импринтинг. Итак, отдельным генам свойственен определенный рисунок распределения метилированных остатков цитозина, которые располагаются в основном в промоторной области. Этот рисунок может автоматически поддерживаться после каждого акта репликации ДНК, то есть сохраняться в ряду клеточных поколений делящихся клеток благодаря активности ДНК-метилтрансферазы, узнающей полуметилированные участки ДНК после репликации. Оказалось, что рисунок метилирования гена, регистрируемый в соматических клетках млекопитающих, стирается в процессе образования зародышевой ткани и

гамет. В некоторых случаях специфичный рисунок метилирования устанавливается вновь уже при образовании гамет: один характерен для гена в сперматозоиде, а другой – для гомологичного гена в яйцеклетке.

Во многих других случаях для гомологичных генов, унаследованных от отца и матери, соответствующий рисунок метилирования устанавливается позднее, на ранних стадиях развития эмбриона. Оказывается, например, что ген, пришедший от отца, сильнее метилирован и неактивен, тогда как гомологичный материнский ген активно транскрибируется. В этом случае говорят о наличии родительского импринтинга. К 2009 году идентифицировано около 180 генов человека, которые подвергаются импринтингу (база данных: <http://www.geneimprint.com/site/genes-by-species.Homo+sapiens>). Из них 97 экспрессируются по материнской линии (т.е. материнские копии гена экспрессируются, а отцовские копии тех же генов метилированы) и 84 – по отцовской.

Эпигенетика и средовые факторы. Помимо запрограммированного метилирования ДНК, необходимого для осуществления нормального развития организма, в феномене геномного импринтинга также могут играть роль половые различия и средовые факторы. Так, несмотря на отсутствие генетической предрасположенности к ожирению и сахарному диабету 2-го типа, малоактивный образ жизни, а также несбалансированное и нерациональное питание в детском возрасте способны привести к данным патологиям за счет стойкого подавления или активации экспрессии генов, участвующих в обмене веществ. В частности, в опытах на культурах мышечных клеток, полученных из биоматериала тощих и страдающих ожирением людей, было выявлено, что уровень экспрессии гена, кодирующего фермент SCD1 (stearoyl-CoA desaturase 1) в 3 раза выше у страдающих ожирением людей, чем у тощих индивидов. С другой стороны, у тучных людей была отмечена низкая активность экспрессии генов,

ответственных за окисление жирных кислот. Фермент SCD1 катализирует синтез жиров, и поэтому его повышенная активность и концентрация в мышечной ткани способствуют постоянному накоплению внутримышечных триглицеридов и развитию инсулинорезистентности. Когда экспрессия гена *SCD1* была экспериментально увеличена в мышечных клетках тощих людей, такие клетки начали аккумулировать в себе триглицериды (Hulver et al., 2005). Подобная разница в метаболическом профиле у тощих и тучных людей может быть обусловлена генетическими и эпигенетическими факторами. С грудного возраста родители рискуют «запрограммировать» будущее ожирение своих детей, влияя на их физическую активность и количество/качество потребляемой пищи. Подвижные игры в раннем возрасте, активные занятия физической культурой и спортом школьников и студентов способны поддерживать скелетные мышцы человека в режиме стабильной экспрессии генов, ответственных за сжигание жиров и синтез различных липопротеидов в оптимальном соотношении. В противном случае благоприятная для обмена веществ экспрессия генов может быть стойко подавлена, что увеличивает риск развития ожирения. С другой стороны, предполагается, что физические нагрузки пролонгированного характера способны «поломать» патологически заложенную эпигенетическую программу (за счет метилирования одних и деметилирования других генов) и оптимизировать обменные процессы.

Ген инсулиноподобного фактора роста 2 (*IGF2*) кодирует фетальный ростовой фактор, и его аномальная экспрессия может вызывать патологии органов. Он является митогеном (фактором, стимулирующим начало клеточного деления) практически для всех типов клеток, но специфически модулирует рост и дифференциацию мышечных клеток. Его гиперэкспрессия у трансгенных мышей вызывает увеличение размеров тела, органов и опухоли. И в эмбриональных, и в зрелых тканях человека *IGF2* экспрессируется только с отцовской хромосомы. В недавнем исследовании

была изучена связь между степенью метилирования гена *IGF2* и калорийностью пищи во время беременности. Исследователи сравнили степень метилирования *IGF2* у голландцев, родившихся в 1944-1945 гг. (когда из-за перебоя поставок продовольствия дневной рацион среднего голландца содержал не более 500 ккал при норме 2000-2500 ккал) с их братьями и сестрами, родившимися в мирное время. Оказалось, что ген *IGF2* детей военного времени содержит в среднем на 5% меньше метильных групп по сравнению с контрольной группой. Такой разницы вполне достаточно для того, чтобы повлиять на экспрессию гена (Heijmans et al., 2008).

Регуляция экспрессии генетических элементов малыми РНК. В последнее время в систему контроля экспрессии генов и других генетических элементов был включен новый компонент: регуляция трансляционной эффективности мРНК и других биомолекул или скорости их деградации, осуществляемая малыми РНК. К малым РНК относятся 3 класса: siRNA (short interfering RNA; короткие интерферирующие РНК или киРНК), miRNA (microRNA; миРНК или микроРНК) и piRNA (PIWI-interacting RNA; РНК, взаимодействующие по Piwi-типу, или пиРНК) (Moazed, 2009).

миРНК – это одноцепочечные РНК длиной 21-25 нуклеотидов, которые комплементарно (или частично комплементарно) связываются с мРНК, что приводит к разрушению этой мРНК или к ингибированию трансляции с нее (Катохин и др., 2006). Оба эти эффекта приводят, в конечном счете, к снижению содержания белкового продукта гена, т. е. к подавлению его экспрессии, и поэтому названы посттранскрипционным сайленсингом генов (PTGS от Post-Transcriptional Gene Silencing). По историческим причинам термин PTGS чаще применяется для растений, а для животных кроме него используется также термин *РНК-интерференция* (RNAi от RNA interference). Механизм PTGS основан на комплементарных взаимодействиях между мРНК и одноцепочечными РНК, процессируемыми из небольших молекул

двухцепочечной РНК (дцРНК). дцРНК могут происходить из нескольких эндогенных источников – прежде всего экспрессироваться с генов миРНК, а также могут возникать в результате деятельности мобильных генетических элементов, репликации вирусов, или случайной транскрипции в разных направлениях геномных повторов.

Во всех случаях, когда короткие дцРНК происходят не в результате транскрипции генов миРНК, а также в случае их экзогенного происхождения, т.е. при экспериментальном введении их в клетку, их принято называть короткими интерферирующими РНК (киРНК), запускающими процесс RNAi (Bartel, 2004). миРНК и киРНК имеют общий центральный биогенез и могут выполнять взаимозаменяемые биохимические функции, однако эти два класса РНК, сайленсирующих экспрессию генов, имеют важные различия, относящиеся к их происхождению и типу генов, подвергаемых сайленсингу (Bartel, 2004). Во-первых, миРНК происходят от геномных локусов, не имеющих никакого отношения к генам, с транскриптами которых эти миРНК взаимодействуют, тогда как киРНК могут образовываться непосредственно из тех же мРНК, а также РНК-интермедиатов транспозонов и вирусов, на которые они оказываются нацеленными в результате созревания. Во-вторых, миРНК созревают из транскриптов, имеющих структуру «шпильки», тогда как в созревание киРНК может быть вовлечен любой сегмент длинной дцРНК. В-третьих, с каждой «шпильки» молекулы-предшественника миРНК генерируется единственный дуплекс из миРНК и комплементарной ей цепи, тогда как длинная молекула дцРНК может дать начало множеству различных киРНК (Bartel, 2004).

миРНК играют важную роль в сложной пространственной и временной регуляции активности генов, поскольку определяют качественный и количественный состав транскриптов и, соответственно, белков, необходимых для развития отдельных тканей, органов и всего организма у животных и растений (Bartel, 2004). Они участвуют также в ряде процессов

функционирования взрослого организма. миРНК осуществляют свою регуляторную функцию на уровне, предшествующем синтезу белка, тонко модулируя использование разных частей транскрипта многоклеточного организма для формирования необходимого для конкретной клетки спектра белков – протеома. Таким образом, миРНК являются новыми необходимыми компонентами генных сетей и молекулярно-генетических систем в целом (Bartel, 2004; Катохин и др., 2006).

В 2006 г. было обнаружено, что клетки могут целенаправленно регулировать активность не только генов, но и своих мобильных генетических элементов (транспозонов, ретротранспозонов и др.) (Vagin et al., 2006). пиРНК – короткие, длиной в 24-31 нуклеотид, молекулы, нуклеотидные последовательности которых совпадают с теми или иными участками различных мобильных генетических элементов. пиРНК присоединяются к Рiwi-белкам и «программируют» их на распознавание и уничтожение молекул РНК, считанных с мобильных элементов. Тем самым подавляется активность этих элементов (Moazed, 2009).

Основные группы генов, экспрессирующиеся в ответ на аэробные и анаэробные нагрузки

Тренировки, направленные на развитие выносливости либо скоростно-силовых качеств, представляют собой разные по стимулам внешние воздействия, которые приводят к специфическим структурным и метаболическим сдвигам в скелетных мышцах. Так, при тренировке на выносливость повышается способность мышц к окислению липидов и углеводов, увеличивается содержание миоглобина, гликогена и триглицеридов в мышечных волокнах, увеличиваются размеры и количество митохондрий, количество капилляров, приходящихся на одно мышечное волокно, повышаются способности митохондрий к окислительному ресинтезу АТФ, увеличивается использование липидов как энергетического

топлива, происходит избирательная гипертрофия медленных мышечных волокон, а также незначительная трансформация быстрых мышечных волокон в медленные; в итоге повышаются аэробные возможности организма. С другой стороны, тренировочные занятия, направленные на развитие силы, мощности или скорости, оказывают незначительное влияние на аэробные возможности. Адаптация к спринтерской и силовой тренировке происходит за счет значительного увеличения площади анатомического поперечника скелетных мышц, повышения содержания креатинфосфата и гликогена, а также гликолитических способностей, улучшения буферных свойств мышц и снижения митохондриальной плотности, что приводит к повышению силы и способности к выполнению физических упражнений высокой интенсивности (Моган и др., 2001).

Однократная физическая нагрузка приводит к изменению экспрессии сотен генов (за счет множества механизмов, включая эпигенетическую регуляцию), которая приходит к исходному уровню через некоторое время (секунды, минуты, часы) (Pilegaard et al., 2000; Mahoney et al., 2005; Yang et al., 2005; Schmutz et al., 2006). Долговременную адаптацию к тренировкам различной направленности, по-видимому, можно рассматривать как ответ организма на совокупность однократных физических нагрузок, которые приводят к глобальным изменениям в системе регуляции генной экспрессии (Fluck, 2006). В некоторых исследованиях было установлено наличие стойкой экспрессии сотен генов у спортсменов и добровольцев в ответ на длительные физические нагрузки аэробного и анаэробного характера (табл. 1–2) (Roth et al., 2002; Patti et al., 2003; Wittwer et al., 2004; Hittel et al., 2005; Timmons et al., 2005; Stepto et al., 2009).

В таблицах 1 и 2 обозначены более 250 генов, активность которых повышена (состояние деметилирования генов) либо понижена (состояние метилирования генов) в латеральной головке четырехглавой мышцы бедра квалифицированных спортсменов (стаж занятий более 8 лет), тренирующих

качества выносливости (велошоссе) и силы (силовое троеборье), в состоянии покоя (не менее 24 часов отдыха после тренировок) по сравнению с контролем (Stepito et al., 2009).

Таблица 1. Гены, активность которых повышена у квалифицированных спортсменов, тренирующих качества выносливости (В) и силы (С), в состоянии покоя по сравнению с контролем (по: Stepito et al., 2009).

Функциональная группа	Символы генов
Структура, развитие и сокращение скелетных мышц	<i>CHI3L1, CLEC3B, COL11A2, KCNMB3, LMO7, MRCL3 (B), PEX12, PPP1R12A, PRKG1, SPRR1A, SSPN, UTRN (C)</i>
Энергетический метаболизм	<i>ALOX15B, ARSF, AMY1A, ARPP-19, BPGM, CBR3, CYP3A7, CYP4B1, DLAT, GALE, GOT1 (B), LDHB (B), ME1, SGPL1</i>
Митохондриальные белки	<i>ACSL6, ATP5F1 (B), BCKDHB, FXN, MDH1 (B), MTCPI, MTRR, MTX1, NDUFB2, NDUFB3, NDUFB8, SDHB, UQCRB</i>
Иммунный ответ	<i>APLN, ATP6V0A2, CCL22, CCL26, CCRL1, CD1A, CD8A, CSF2RA, GPX3, PF4, TGFBI (B)</i>
Метаболизм белков	<i>AIP (C), APBA3, GZMM, KLK11, MSRA, PALM2-AKAP2, PTS, SERPINB8, SOLH, SULT1C1, SURF5, MAG, UCHL3 (C)</i>
Клеточный цикл и пролиферация	<i>CDC2L2, CDK2, DNAJA2, ENPEP, ESM1, NEK1, PDCD5, PMS2, RARRES1, S100A2, TGFB2, WDR45</i>
Транспортные белки	<i>CLTB (B), CNGBI, NBEA, NUP155, SCFD1, SLC15A3, SLC16A7 (B), SLC4A7, SLC6A12</i>
Ангиогенез	<i>EPAS1 (B), FIGF, FLT4, SH2D2A</i>

Сигнальная трансдукция	<i>ARHGAP6</i> (C), <i>CALCR</i> (C), <i>FSTL3</i> , <i>GPR34</i> , <i>GRB7</i> , <i>HMHA1</i> , <i>HUNK</i> , <i>ITSN2</i> , <i>LIFR</i> , <i>NRAS</i> , <i>P2RY5</i> , <i>PLA2R1</i> , <i>PLEKHG6</i> , <i>PRR5</i> , <i>PTPN4</i> , <i>PTPO</i> , <i>PTPRE</i> , <i>RAB33A</i> , <i>RAPGEF5</i> , <i>SOS2</i> , <i>STAC</i> , <i>TEK</i>
Транскрипция и трансляция	<i>APOBEC1</i> , <i>ATF1</i> , <i>EIF3S1</i> (C), <i>HOXD8</i> , <i>KCNIP3</i> , <i>KRR1</i> , <i>LDB2</i> , <i>LMO4</i> (C), <i>NRF1</i> , <i>PER3</i> , <i>PMS2L1</i> , <i>REV1L</i> , <i>ROD1</i> , <i>RORA</i> , <i>SIRT6</i> (C), <i>SKIV2L2</i> , <i>SOX12</i> , <i>TCF21</i> , <i>TCF4</i> , <i>TRPS1</i> , <i>ZNF187</i>
Развитие и функции нейронов	<i>AGRIN</i> , <i>EFNB2</i> (B), <i>GBX2</i> , <i>NEDD1</i> (C), <i>NOVA1</i> , <i>PCDH12</i> , <i>SYP</i>
Другие функции (некоторые не определены)	<i>ARMCX1</i> , <i>ASMTL</i> , <i>BEST1</i> , <i>CAST</i> , <i>CCDC19</i> , <i>CCDC95</i> , <i>CYB5D2</i> , <i>JPH3</i> , <i>REEP2</i> , <i>SCHIP1</i> , <i>SDF4</i> , <i>TBC1D22A</i> , <i>VSIG2</i> , <i>ZDHHC2</i> , <i>LOC651370</i> , <i>LOC90925</i> , <i>FANCF</i> (B), <i>C12orf32</i> , <i>CDSN</i> (C)

В этом исследовании было установлено, что уровень экспрессии генов, ответственных за митохондриальный биогенез, окисление жиров и углеводов, положительно коррелирует с показателями МПК у стайеров, в то время как уровень экспрессии генов мышечных белков коррелирует с показателями силы у троеборцев.

Можно видеть, что между спортсменами противоположных групп имеются различия в экспрессии, по меньшей мере, 20 генов. Очевидно, что картина профиля генной экспрессии будет меняться в зависимости от времени забора биопробы; можно предположить, что в результате detrенировки после продолжительных занятий физическими упражнениями, экспрессия генов в скелетных мышцах спортсменов придет к исходному уровню. Однако, ввиду индивидуальных различий (высокой либо низкой предрасположенности к занятиям видами спорта), исходные уровни генной

экспрессии в скелетных мышцах могут различаться между спортсменами и контрольной группой.

Таблица 2. Гены, активность которых понижена у квалифицированных спортсменов, тренирующих качества выносливости и силы, в состоянии покоя по сравнению с контролем (по: Stepto et al., 2009).

Функциональная группа	Символы генов
Структура, развитие и сокращение скелетных мышц	<i>ACHE, CACNA1H, DLK1, KIF2A, KRT31, LCP1, MATN3, MYO10, PLXNA3, TBCC</i>
Энергетический метаболизм	<i>CHKA, LCAT</i>
Митохондриальные белки	<i>CYP27A1</i>
Иммунный ответ	<i>BMP2, BMP6, CCL4L2, CTSG, IL2RB, PLP2</i>
Метаболизм белков	<i>ACY1, DHFR, PPIF, PSMA5, RPL31, RPL35A, RPL7A, RPS14, RPS7, SEC61G, SLPI, UBE1L, UBE2L3</i>
Клеточный цикл и пролиферация	<i>IL4R, MUTYH, MYC, NUPR1, PAPP A, PCNA, PTMS</i>
Транспортные белки	<i>ABCF2, ARF3, CNGB1, KCNN3, KPNA1, NPC1, PITPNA, SCAMP2, SLC9A1, TCOF1, VPS45A</i>
Ангиогенез	<i>RNHI</i>
Сигнальная трансдукция	<i>ARHGAP29, CEACAM5, CSNK2A2, GTPBP2, ITSN2, LENG4, LHB, LRPAP1, PDPK1, PKN3, PLCB2, PRKCA, RGS4, STAC, YES1</i>
Транскрипция и трансляция	<i>CBFA2T2, CBX5, EMG1, GATA4, GIPC1, GTF2E2, GTF3C2, HIST1H2AM, HIST1H4C, HOXB7, NUDT1, POLE2, PPIH, RAD51AP1,</i>

	<i>RFC4, RHOT1, SMARCC1, TAF1, ZNF525</i>
Развитие и функции нейронов	<i>NR4A1</i>
Другие функции (некоторые не определены)	<i>ACRV1, DSP, FAM82B, HEMGN, ICAM2, KRT20, PDPN, RABAC1, RDH5, STRA13, TKT, FAM86A, C6orf130</i>

2. Эпигенетические особенности, влияющие на функциональное состояние и заболевания человека

Эпигенетическая нестабильность и комплексные заболевания

Многие комплексные заболевания, такие как диабет II типа, ожирение, аутоиммунные болезни и рак, обнаруживают наследуемый компонент, но не проявляют четкого менделевского паттерна наследования. Динамический эпигенетический механизм позволяет дать альтернативное объяснение некоторым особенностям комплексных заболеваний, в том числе позднего начала, тендерных эффектов, эффектов, связанных с происхождением от того или иного родителя, дискордантности монозиготных близнецов, и флуктуации симптомов при комплексных заболеваниях (Petronis, 2001).

Хотя все увеличивающееся количество данных позволило связать aberrантное метилирование ДНК и модификации гистонов с раком, роль эпигенетических механизмов в этиологии многих других комплексных заболеваний в основном неизвестна. Сравнительные исследования общегеномных паттернов метилирования ДНК в популяциях здоровых и больных могут позволить проникнуть в эпигенетические основы разных комплексных заболеваний, при которых трудно выявить генетические мутации.

Модуляция обратимых эпигенетических состояний

Большинство, если не все эпигенетические модификации являются обратимыми, что делает модуляцию эпигенетических состояний новой потенциальной терапевтической альтернативой для рака и других заболеваний. Ряд агентов, изменяющих паттерны метилирования ДНК или подавляющих HDACs, испытываются в настоящее время в клинике (Egger et al., 2004). Некоторые из них продемонстрировали многообещающие противоопухолевые эффекты.

Эпигенетика и болезни человека

Последние два десятилетия мы были свидетелями беспрецедентного успеха в идентификации генетических основ многих болезней человека. Изучение взаимоотношений генотипа и фенотипа бросает вызов клиницистам и исследователям, поскольку некоторые наблюдения не так просто поддаются объяснению. Например, однояйцевые близнецы, несущие мутацию, которая приводит к одному и тому же заболеванию, могут отличаться друг от друга по клиническим показателям. Мутация, передающаяся в семье, представляющей ряд поколений, может вызывать довольно сильно различающиеся заболевания, в зависимости от пола родителя, передающего эту мутацию.

Изучение таких необычных случаев вскрыло роль эпигенома (измененной генетической информации, возникшей без изменения в нуклеотидной последовательности ДНК) в вопросах здоровья и болезней. Эти исследования показали, что некоторые области генома млекопитающих функционально неравноценны, в зависимости от того, представлены ли они материнскими или отцовскими аллелями.

У пациентов, наследующих обе гомологичные хромосомы (или их сегменты) от одного и того же родителя (однородительская дисомия - uniparental disomy, UPD), наблюдается потеря экспрессии некоторых генов, которые экспрессируются только в материнских аллелях (в случае отцовской UPD), и повышение уровня экспрессии отцовских генов. Довольно скоро стало общепризнанным, что UPD, как и измененные ДНК-модификации (эпигенетические мутации, которые могут изменять метилирование ДНК), являются молекулярной основой целого ряда неврологических нарушений и нарушений развития.

Интересно, что для многих нарушений такого рода либо эпигенетические, либо генетические мутации могут приводить к одному и тому же фенотипу. Это часто происходит потому, что генетические мутации

нарушают функцию гена, неправильно регулируемую в тех случаях, когда на данный локус влияют эпигенетические дефекты. В другом классе заболеваний, где генетические мутации вызывают утрату функций белков, участвующих в метилировании ДНК или ремоделинге хроматина, фенотипы возникают в результате изменения эпигенетических состояний в одном или нескольких локусах.

Взаимоотношения между геномом и эпигеномом расширили круг типов молекулярных событий, вызывающих заболевания человека. Они могут возникать *de novo* или быть унаследованными, могут быть генетическими или эпигенетическими и, что особенно интересно, некоторые из них могут быть подвержены влиянию факторов внешней среды.

Обнаружение того факта, что внешние факторы, такие как режим питания или «жизненный опыт», изменяют эпигеном (в частности, метилирование ДНК), вероятно дает нам механистическое понимание нарушений с генетической предрасположенностью и сильным влиянием окружающей среды. В число таких нарушений входят дефекты нервной трубки и заболевания, лежащие в сфере психиатрии. Установление внешних факторов, влияющих на эпигеном, внушает надежду на разработку медицинских вмешательств, которые смогут снизить риск нарушений развития раковых заболеваний и нервно-психических расстройств или уменьшить их тяжесть.

3. Молекулярно-генетические маркеры, ассоциированные с эпигенетическими процессами в скелетных мышцах

Миогенные факторы, регулируя экспрессию множества мышечных генов, выполняют ключевую роль в дифференцировке и росте мышечных волокон на всех этапах развития человека. Изменения в активности генов, кодирующих эти факторы, приводят к трансформации мышечного фенотипа (размеры, количество, тип мышечных волокон). Регуляция активности этих генов может осуществляться с помощью транскрипционных факторов, изменения статуса метилирования ДНК и других механизмов.

Метилирование ДНК играет ведущую роль в формировании и поддержании эпигенетической изменчивости – наследственного динамического процесса, определяющего степень активности генов. Профиль метилирования значительно влияет на функциональное состояние генов и стабильно передается в ряду клеточных поколений. Метилирование ДНК осуществляется, главным образом, в результате обратимой химической модификации цитозина (C), путем присоединения метильной группы с S-аденозилметионина (SAM) к углероду, расположенному в 5'-положении пиримидинового кольца, что приводит к образованию 5'-метилцитозина. Цитозин метилируется только в том случае, если рядом с ним находится гуанин (G) в сочетании CpG, где p – остаток фосфорной кислоты. S-аденозилметионин, являющийся универсальным донором метильных групп для целого ряда акцепторов, образуется из метионина в процессе реметилирования последнего из гомоцистеина.

Нарушение процессов реметилирования (образования метионина из гомоцистеина), происходящее из-за дефицита ферментов фолатного цикла – MTHFR, MTRR и MTR, приводит к развитию ряда патологических состояний, таких как гипергомоцистеинемия, атеросклероз, ИБС, тромбоз,

дефект незаращения нервной трубки, нарушение расхождения хромосом и др.

Фермент MTHFR (метилентетрагидрофолатредуктаза) катализирует восстановление 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат (рис. 1). Последний является активной формой фолиевой кислоты, необходимой для образования метионина из гомоцистеина и далее - S-аденозилметионина, играющего ключевую роль в процессе метилирования ДНК.

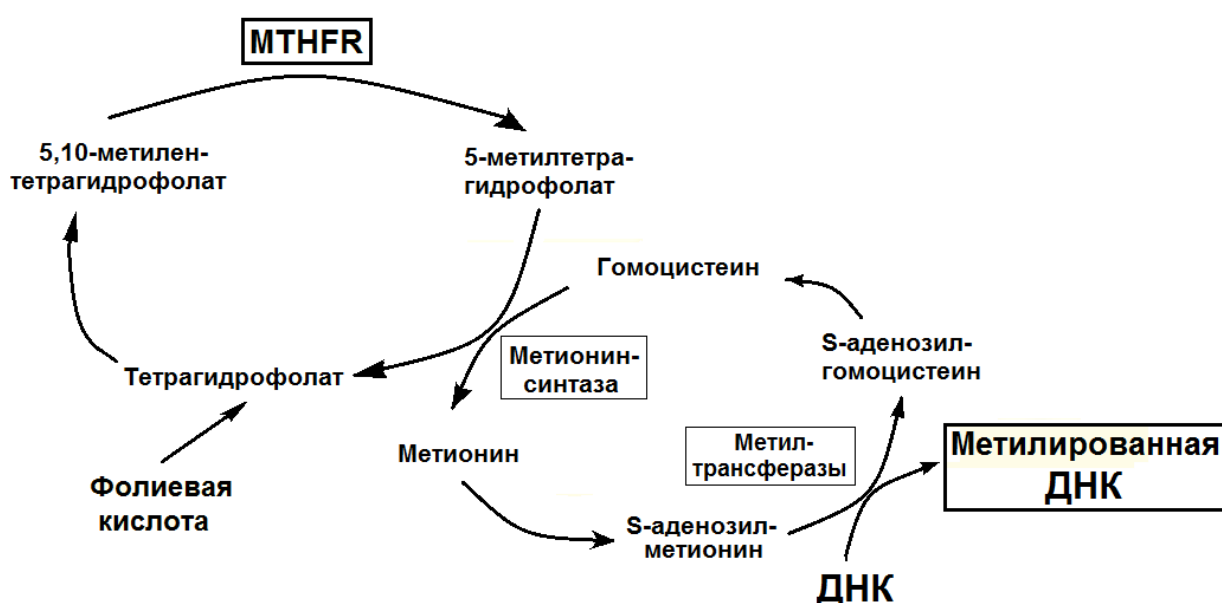


Рис. 1. Цикл фолиевой кислоты

Ген, кодирующий этот фермент – MTHFR – локализован в 1-й хромосоме. Наличие замены цитозина на тимин в 677 (C677T) положении гена (4-й экзон) обуславливает замещение валина на аланин в ферменте. Установлено, что белковый продукт мутантного Т аллеля отличается высокой термолабильностью и пониженной активностью. Так у ТТ гомозигот активность фермента составляет около 30% от активности фермента при СС генотипе. Для носительства Т аллеля показана связь с

гипергомоцистеинемией, атеросклерозом, злокачественными опухолями и др. патологиями.

Установлено, что гипометилирование приводит к увеличению продольных и поперечных размеров миотубов (Terruzzi et al. 2011), то есть, к гипертрофии мышечных трубочек. На этом основании предполагается, что полиморфизмы генов, влияющих на статус метилирования, могут быть ассоциированы с ростом скелетных мышц и мышечной деятельностью, которая в наибольшей степени проявляется в профессиональном спорте.

В работе Ahmetov и соавт. (2012) был проведен анализ распределения частот генотипов и аллелей по полиморфизму C677T гена MTHFR в контрольной группе (n=766) и у спортсменов (n=1461). Были получены следующие результаты. Частота 677T аллеля в контрольной выборке составила 26,9%. Наблюдаемое в общей контрольной выборке распределение генотипов CC (53,8%), CT (38,6%) и TT (7,5%) подчинялось равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2=0.132$; $P=0.936$). Частота 677T аллеля гена MTHFR в группе спортсменов (n=1461) значимо не отличалась от контрольной выборки (29,2% против 26,9%; $P=0.114$), а наблюдаемое в общей группе спортсменов распределение генотипов CC (50,8%), CT (40,0%) и TT (9,2%) подчинялось равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2=0.684$; $P=0.71$). Частоты генотипов и аллелей гена MTHFR не отличались между спортсменами отдельных спортивных специализаций и контрольной группой.

При оценке распределения частот аллелей в зависимости от спортивной квалификации было обнаружено, что частота T аллеля значимо повышается с ростом квалификации (26.2% (КМС + разряд) $\rightarrow$ 27.4% (МС) $\rightarrow$ 30.3% (МСМК) $\rightarrow$ 34.2% (ЗМС); для линейной зависимости: $\chi^2=8.303$; $P=0.004$). Отдельный анализ также выявил значимо более высокую частоту T аллеля среди ЗМС по сравнению с контрольной группой (34,2% против 26,9%; $P = 0.0032$). Все эти результаты оставались статистически значимыми после поправки Бонферрони для множественных сравнений.

На основании сравнительного анализа частот аллелей гена MTHFR можно предположить, что в группе спортсменов происходит постепенный отбор индивидов с Т аллелем гена MTHFR по мере повышения их уровня спортивного мастерства, и данный аллель благоприятствует занятиям спортом.

В результате проведения анализа взаимосвязи между полиморфизмом гена MTHFR и площадью поперечного сечения (ППС) мышечных волокон, была выявлена ассоциация Т аллеля гена MTHFR (взаимосвязанного с гипометилированием ДНК) с большей ППС медленных мышечных волокон испытуемых, т.е., с большей степенью их гипертрофии (СС (n=22) – 4900 (792) μm^2 , СТ (n=25) – 5545 (1214) μm^2 ; $p=0.0175$). Эти результаты согласуются с данными, полученными на культурах мышечных клеток, где была показана ассоциация между гипометилированием генов, кодирующих миогенные факторы, и увеличенными размерами миотубов (Terruzzi et al. 2011). Гипертрофия скелетных мышц может давать преимущество в развитии, как выносливости, так и скоростно-силовых качеств. Дальнейшие исследования должны быть направлены на изучение взаимосвязи полиморфизма C677T гена MTHFR с физической работоспособностью и силовыми показателями спортсменов.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют об ассоциации полиморфизма C677T гена MTHFR с предрасположенностью к занятиям спортом. Данное утверждение находит поддержку в обнаруженной взаимосвязи MTHFR Т аллеля с более крупными размерами мышечных волокон m. vastus lateralis у физически активных мужчин.

Полиморфизм гена MTHFR и патологии человека

У носителей Т/Т генотипа MTHFR при оптимальном потреблении фолатов уровень гомоцистеина повышен умеренно. Известно, что при тяжелой форме гипергомоцистеинемии дневное потребление комбинации из 2,5 мг фолиевой кислоты, 25 мг витамина В6 и 250 мкг витамина В12

снижает прогрессирование атеросклероза (измерялась бляшка в сонной артерии), однако еще не доказано, что гомоцистеин-снижающая терапия предупреждает сосудистые осложнения у лиц с умеренной ГГ.

Максимальная защита для таких людей – переход пожизненно на фолиевую зеленолистную диету, предполагающую повышенное (не менее 500 г в сутки) потребление свежей зелени и темнозеленых яблок, зеленой капусты, шпината, сельдерея, а также вишни, авокадо и свежих сыров. Необходимо исключить потребление растворимого кофе, который содержит синтетическую присадку, замедляющую снижение уровня гомоцистеина, и творога, содержащего избыточное количество метионина.

Повышение частоты встречаемости аллеля 677Т было отмечено не только при позднем токсикозе (гестозе), но и при других осложнениях беременности (отслойке плаценты, задержке роста плода, дефекте нервной трубки, пренатальной смерти плода). Сочетание мутации 677Т с другими факторами риска приводит к повышению вероятности раннего выкидыша.

О важности проблемы говорит тот факт, что Министерство здравоохранения США в 1992 году рекомендовало женщинам, которые могут забеременеть, принимать по 400 мкг фолиевой кислоты в день.

При исследовании связи между мутацией 677Т и сердечнососудистыми заболеваниями обнаружено, что гомозиготная мутация 677Т/Т встречается гораздо чаще в группе пациентов, чем у здоровых доноров. У молодых пациентов с ишемией артерий гомозигота Т/Т встречается в 1,2 раза чаще. Статистический метаанализ 40 независимых исследований пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), обобщающий данные о 11162 пациентах и 12758 здоровых донорах, показал увеличение риска развития ИБС в 1,16 раза при наличии гомозиготы Т/Т. Невысокая степень риска связана с гетерогенностью анализируемых выборок населения. При исследовании гомогенных выборок населения (индивидуальные исследования, а не метаанализ) оценки степени риска значительно выше. Так,

разница в частоте встречаемости гомозигот Т/Т у пациентов и у здоровых доноров соответствовала 3х кратному повышению риска кардиоваскулярных заболеваний в молодом возрасте.

Выявлена определенная взаимосвязь между полиморфизмами МТНFR и развитием предраковых и раковых состояний колоректальной области. Проведено исследование значительной группы больных с полипозом толстого кишечника. Определяли уровни фолата в эритроцитах и наличие полиморфизма С677Т гена МТНFR. Полученные результаты выявили связь между пониженным содержанием фолата и риском развития аденоматоза. Многофакторный анализ показал, что курение, фолатный статус и генотип МТНFR являются существенными компонентами высокого риска аденоматоза. Этот риск оказался весьма велик у лиц с низким уровнем фолата, являющихся носителями аллели 677Т в гомо или гетерозиготной форме. Полученные данные указывают на взаимное влияние питания и генных факторов при развитии предраковых состояний.

Сходные предположения выдвинуты учеными, которые обследовали большое количество больных раком толстого кишечника и выявили значительную связь между риском развития ракового заболевания, возрастом больных, возрастным дефицитом фолата и Т/Т генотипом МТНFR. Исследование 379 пациентов с колоректальной аденомой и 726 здоровых доноров показало, что у мужчин-носителей Т/Т генотипа, употребляющих много алкоголя, риск заболевания аденомой повышается в 3,5 раза. Однако некоторые исследователи считают, что без употребления алкоголя, как одного из факторов риска, мутация 677Т в случае колоректального рака является защитным фактором. Так, исследование пациентов с проксимальным колоректальным раком показало, что наличие у пациента гомозиготы Т/Т приводит к 2,8кратному понижению риска его развития.

4. Методы изучения метилирования генов в клетках крови и мышечных волокнах

Картирование метилирования ДНК

Чтобы понять функции метилирования ДНК, необходимо сначала выяснить, где оно происходит в геноме. Для этого существуют несколько методов, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки.

Поскольку метилирование ограничено в основном последовательностями CpG, для картирования широко использовали расщепление рестрикционными ферментами, распознающими содержащие CpG нуклеотидные последовательности ДНК (Bird and Southern, 1978). Преимущество этого метода заключается в том, что можно протестировать большие участки генома, но он ограничен динуклеотидами CpG, которые обнаруживаются в сайтах рестрикционных ферментов.

Надежный метод тестирования всех цитозинов в данном участке включает бисульфитную модификацию одно-нитевой ДНК (Frommer et al., 1992). Это приводит к дезаминированию модифицированных цитозинов, но 5-метилцитозин остается защищенным. В результате цитозины, сохраняющиеся после обработки бисульфитом, идентифицируются как метилированные. Благодаря своей высокой разрешающей способности и позитивной идентификации метилированных цитозинов этот метод является предпочтительным для анализа паттернов метилирования ДНК, хотя детальный анализ больших участков занимает много времени.

Несколько методов, базирующихся на ПЦР, которые зависят от предшествующей бисульфитной обработки, были разработаны для того, чтобы ускорить анализ интересующих исследователя районов (см., например, Herman et al., 1996). Эти методы очень удобны, но, фокусируясь на нескольких немногих сайтах CpG, они жертвуют детальной информацией, которая была бы получена при бисульфитном секвенировании.

Недавно для картирования метилирования ДНК были использованы микрочипы (microarrays). Например, ДНК, устойчивая к деградации специфичной к 5-метилцитозину нуклеазой MspBC, может быть использована как зонд для работы с последовательностями геномной ДНК методом tiled arrays, чтобы получить общую картину уровня метилирования в специфическом участке (Martienssen et al., 2005). Можно также провести иммунопреципитацию зондов для tiled arrays, используя специфичные к 5-метилцитозину антитела, что позволяет получить общую картину уровней метилирования ДНК (Vteber et al., 2005).

На протяжении более 50 лет изучения феномена применялись разные методы, как количественной его оценки, так и статуса метилирования специфических участков генома (Doerfler et al. 1983). Суммарное содержание метилированного цитозина в ДНК оценивают после ее предварительного кислотного или ферментативного гидролиза. 5-Метилцитозин выявляют разными способами (одномерные или двумерные хроматография и электрофорез, газовая хроматография, масс-спектрометрия, HPLC) и измеряют его относительное содержание.

Конъюгаты 5-метилцитозина с сывороточным альбумином могут быть использованы для получения антител, которые эффективно (хотя и не абсолютно специфично) выявляют в ДНК малые количества этого модифицированного основания.

5-метилцитозин в ДНК выявляется секвенированием по Максама и Гилберту. Поскольку модифицированное основание в меньшей степени, чем цитозин или тимин, реагирует с гидразином, то в секвенирующем геле соответствующая полоса отсутствует. Подтверждение может быть получено секвенированием комплементарной нити.

Метилирование исследуется чувствительными к 5-мС рестриктазами. Используют рестрикционные эндонуклеазы, чувствительные и нечувствительные к метилированию остатков цитозина

(такие, например, как пары HpaII и MspI, SmaI и XmaI). В сочетании с гибридизацией методом Саузерна этот способ позволяет установить, метилирован ли сайт узнавания соответствующих рестриктаз. Применимость подхода ограничена тем, что набор соответствующих изошизомеров не покрывает всех CpG-динуклеотидов.

MSP (methylation-specific PCR, ПЦР). Это новый метод, позволяющий оценить статус метилирования индивидуальных CpG-островков. Его большим достоинством является высокая чувствительность, позволяющая анализировать измененные (метилированные) аллели в присутствии большого избытка аллелей дикого типа (Herman, et al. 1996).

Процедура состоит в предварительной обработке тестируемых ДНК бисульфитом натрия, что при определенных условиях приводит к дезаминированию цитозина с образованием урацила, тогда как метилированные остатки цитозина резистентны к такой процедуре. При последующей полимеразной цепной реакции (ПЦР) урацил заменяется на тимин. Таким образом оказывается возможным конструировать праймеры, избирательно амплифицирующие последовательности, содержащие (или не содержащие) метилированные остатки цитозина в CpG-островках. Метод позволяет детектировать 1 метилированный аллель в присутствии 1000 неметилированных.

Картирование всех метилированных цитозинов в известной ДНК. Метод (Clark, et al. 1994) основан на превращении всех неметилированных остатков цитозина в урацил в результате обработки ДНК бисульфитом натрия (после обработки нити ДНК оказываются в участках модификации некомплементарными друг другу). Амплификация исследуемой последовательности с помощью ПЦР и последующее секвенирование выявляют как цитозин только те цитозиновые остатки, которые в исходной нити были метилированы. Чувствительность метода соответствует чувствительности ПЦР. Этот метод позволил исследовать статус

метилирования отдельных генов в раннем эмбриональном развитии (на стадии двух клеток), а также выявить те динуклеотиды CpG в составе CpG-островков, метилирование которых необходимо и достаточно для подавления транскрипции соответствующего гена (Walsh, et al. 1999 , Warnecke. et al. 1998 , Cote. et al. 1998).

МСА метод. (Methylation CpG island modification) Метод основанный на ПЦР, позволяющий избирательно амплифицировать CpG-островки , дифференциально метилированные в нормальных и опухолевых клетках (Toyota. et al. 1999). ДНК вначале обрабатывают рестриктазой SmaI (сайт узнавания CCCGGG не расщепляется, если он содержит 5-метилцитозин), которая дает фрагменты с тупыми концами. Метилированные сайты CCCGGG затем расщепляются рестриктазой XtaI, которая формирует фрагменты с липкими концами. Именно последние способны взаимодействовать с адаптерами и быть амплифицированными в последующей ПЦР. В сочетании с методом репрезентативного дифференциального анализа (RDA) (Lisitsyn, et al. 1993) этот подход позволяет избирательно амплифицировать CpG-островки, aberrantly метилированные в опухолевых клетках . Таким способом в клетках рака толстого кишечника были идентифицированы и клонированы 33 последовательности, включая фрагменты известных генов (PAX6, Versican, alfa-tubulin, CSX, OPT и др.).

Рестрикционно-ориентированное геномное сканирование RLGS. RLGC (restriction landmark genomic scanning) позволяет одновременно анализировать статус метилирования в геноме нескольких тысяч CpG-островков (Eng, et al. 2000 , Costello, et al. 2000). Суть его заключается в разделении двумерным электрофорезом рестрикционных фрагментов, полученных обработкой геномной ДНК несколькими рестриктазами. Вначале ДНК обрабатывают крупнощепляющей рестриктазой NotI (расщепляет только неметилированные CpG). После мечения концов полученных отрезков

радиоактивной меткой фрагменты обрабатывают вторым ферментом (например, EcoRV) для уменьшения их размеров и продукты гидролиза разделяют в первом направлении (в капиллярной трубке с агарозным гелем). Разделенные фрагменты NotI/EcoRV обрабатывают *in situ* (т.е. в геле) еще одним ферментом (например, HinfI), после чего проводят электрофорез в полиакриламидном геле во втором направлении. Пластины геля автордиографируют и в результате выявляют множество пятен, по интенсивности которых судят о степени метилирования соответствующего CpG-островка (положение пятен строго определено). Интенсивность пятна, принятая за нормальную, свидетельствует о неметилированном статусе обоих аллелей, наполовину сниженная - о метилировании одного из аллелей, исчезновение пятна - о метилировании обоих аллелей (соответствующий сайт не расщепляется NotI).

Заключение

Обратимые изменения активности генов в тренировочном процессе индивида, не связанные с нарушением нуклеотидной последовательности ДНК, но приводящие к сохранению неактивного или активного состояния генов в ряду клеточных поколений, называют эпигенетическими. Эпигенетическая модификация может лежать в основе адаптации человека к физическим нагрузкам. Эти процессы сопровождаются изменениями в активности мышечных и других генов: одни гены активируются, другие инактивируются. Наблюдаемые изменения активности генов также лежат в основе клеточной дифференцировки в целом, и в мышечной пластичности, в частности.

Благодаря последним достижениям в области эпигеномных технологий, сегодня стало возможным понять, каким образом и в какой степени в мышечных волокнах происходит генная экспрессия, лежащая в основе пластичности скелетных мышц. Тренировки, направленные на развитие выносливости либо скоростно-силовых качеств, представляют собой разные по стимулам внешние воздействия, которые приводят к специфическим структурным и метаболическим сдвигам в клетках скелетных мышц в результате регуляции экспрессии ряда генов. Вместе с тем, существуют индивидуальные различия в уровне генной экспрессии скелетных мышц в ответ на физические нагрузки, которые могут быть связаны со структурными особенностями генов, влияющих на эпигенетические механизмы. Таким образом, применение эпигеномных технологий позволяет своевременно и точно оценить степень адаптации спортсменов к конкретным видам физических нагрузок.