

На правах рукописи

ФЕДОТОВСКАЯ ОЛЬГА НИКОЛАЕВНА

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *AMPD1*, *СКММ*, *G6PC2* И
МСТ1 ЧЕЛОВЕКА С МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬЮ РАЗЛИЧНОЙ
МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ**

14.03.11 – Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная
физкультура, курортология и физиотерапия

03.02.07 – Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2012

Работа выполнена в секторе биохимии спорта Федерального государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физической культуры» (ФГБУ СПб НИИФК)

Научный руководитель: доктор медицинских наук
АХМЕТОВ Ильдус Ильясович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор,
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный научный центр физической культуры и спорта» (ФГБУ ФНЦ ВНИИФК), руководитель
управления центра инновационных технологий
сопровождения спорта высших достижений и
спортивного резерва
АБРАМОВА Тамара Федоровна

доктор медицинских наук, профессор,
Государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Московский государственный медико-
стоматологический университет», заведующий
лабораторией медицинских генетических технологий
ПЕТРИН Александр Николаевич

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И.Мечникова

Защита состоится «25» апреля 2012 года в 14 часов на заседании совета Д311.002.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научный центр физической культуры и спорта» (ФГБУ ФНЦ ВНИИФК) по адресу: 105005, Москва, Елизаветинский пер., д.10

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научный центр физической культуры и спорта» (ФГБУ ФНЦ ВНИИФК)

Автореферат разослан «_____» марта 2012 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

С.А. Неборский

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Успешная реализация многолетней международной программы «Геном человека» оказала большое влияние на фундаментальную и прикладную медико-биологическую науку (Рогозкин В.А. и др., 2005). В настоящее время молекулярными биологами и генетиками активно проводится детальная расшифровка функций генома человека, представляющая собой, помимо транскриптомных и протеомных исследований, детекцию полиморфных участков ДНК, влияющих на экспрессию генов, активность и структуру функциональных продуктов (белков, РНК).

Генетические факторы наряду с эпигенетическим воздействием и факторами внешней среды играют важную роль в детерминации индивидуальных различий в развитии и проявлении физических качеств и адаптационных возможностей человека (Ahmetov I.I. and Rogozkin V.A., 2009). Результаты исследований влияния полиморфных генов на значимые в условиях спортивной деятельности фенотипы позволят модернизировать систему медико-генетического обеспечения физической культуры и спорта с учетом оценки генетического потенциала организма спортсмена, внедрить в практику основы профилактической персонализированной медицины, помочь в планировании и коррекции тренировочного процесса спортсменов.

В исследовании, проводимом в рамках проекта HERITAGE, были выявлены группы испытуемых с различными значениями концентраций ферментов, участвующих в основных путях энергообеспечения скелетных мышц. Причем, среди членов семей значения активности ферментов имели меньший разброс, чем среди всех обследованных («семейное сходство») (Rico-Sanz J. et al., 2003). Это позволяет считать преобладание у индивида определенных механизмов энергообеспечения мышечной деятельности наследуемым признаком, что создает предпосылки к поиску молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к мышечной деятельности различной метаболической направленности, характеризующейся разными вкладками механизмов энергообеспечения.

Гены *AMPD1* и *CKMM* кодируют мышечные изоформы аденозинмонофосфатдезаминазы (АМФД-М) и креатинфосфокиназы (КК-М) – ферментов, участвующих в реакциях ресинтеза АТФ в процессе энергообеспечения сокращающихся мышц. Катализируемая АМФД-М реакция дезаминирования АМФ смещает миокиназную реакцию в сторону продукции АТФ и минимизирует накопление АДФ в скелетных мышцах в процессе их сокращения. Фермент КК-М осуществляет фосфотрансферную реакцию между креатинфосфатом (КФ) и АДФ, поставляя вновь синтезированную АТФ к сократительным элементам мышечного волокна (Яковлев Н.Н., 1983). Помимо этого, КК-М участвует в транспорте макроэргического фосфата из митохондрий к сокращающимся миофибриллам («креатинфосфатный челнок») (Bessman S.P. and Geiger P.J., 1981; Saks V.A. et al., 2007). Ген *G6PC2* кодирует каталитическую субъединицу глюкозо-6-фосфатазы 2 типа (Г6ФК2) – фермента, который участвует в регуляции уровня глюкозы в крови, использующейся сокращающимися скелетными мышцами для ресинтеза АТФ. Ген *MCT1* кодирует белок-транспортёр монокарбоновых кислот 1 типа (МКТ1), который обеспечивает транспорт лактата из кровотока в медленные мышечные волокна, где он может быть использован в качестве энергетического субстрата (Dubouchaud H. et al., 2000). Эффективное функционирование МКТ1 способствует поддержанию кислотно-щелочного равновесия крови и мышечной ткани, что препятствует развитию утомления в процессе выполнения интенсивной физической нагрузки (Thomas C. et al., 2005).

Результаты исследований в области биохимии, физиологии и молекулярной генетики физической активности указывают на то, что вариации в генах *AMPD1*, *СКММ*, *G6PC2* и *MCT1*, белковые продукты которых участвуют в энергообеспечении мышечной деятельности, могут влиять на эффективность мышечной деятельности в результате изменения метаболизма мышечной ткани и процессов адаптации скелетных мышц к физическим нагрузкам.

Гипотеза. Предполагается, что полиморфизмы в генах *AMPD1*, *СКММ*, *G6PC2* и *MCT1* человека могут быть генетическими маркерами, детерминирующими предрасположенность к выполнению мышечной деятельности различной метаболической направленности.

Цель исследования – изучить ассоциации полиморфизмов генов *AMPD1*, *СКММ*, *G6PC2* и *MCT1* с предрасположенностью к мышечной деятельности различного характера, морфометрическими характеристиками скелетных мышц и функциональными особенностями организма человека.

Задачи исследования:

1. Проанализировать полиморфные варианты генов *AMPD1* (С34Т), *СКММ* (А/Г), *G6PC2* (G/A) и *MCT1* (А1470Т), определить распределение частот генотипов и аллелей у спортсменов различной специализации и квалификации, сравнить их с данными контрольной группы (незанимающиеся спортом жители России).
2. Изучить ассоциации полиморфизмов генов *AMPD1*, *СКММ*, *G6PC2* и *MCT1* с параметрами физиологических функций спортсменов и их динамикой при тренировке аэробной направленности.
3. Изучить ассоциации полиморфизмов генов *AMPD1*, *СКММ*, *G6PC2* и *MCT1* с морфометрическими параметрами мышечных волокон в группе физически активных людей.
4. Изучить взаимосвязи полиморфизма гена *G6PC2* с базальным уровнем глюкозы в крови и полиморфизма гена *MCT1* с уровнем лактата в крови при предельной физической нагрузке.

Объект исследования. Закономерности влияния полиморфных генов, белковые продукты которых участвуют в энергообеспечении мышечной деятельности, на значимые в условиях спортивной деятельности фенотипы.

Предмет исследования. Полиморфизм ДНК, функциональные особенности и морфометрические характеристики мышц квалифицированных спортсменов, физически активных людей и незанимающихся спортом лиц.

Научная новизна. Впервые изучены полиморфизмы генов *AMPD1* (С34Т), *СКММ* (А/Г), *G6PC2* (G/A) и *MCT1* (А1470Т) у жителей России и российских спортсменов. Показано, что исследованные вариации генов ассоциированы с предрасположенностью к занятиям различными видами спорта, а также с показателями аэробной работоспособности, силовыми, морфометрическими и физиологическими параметрами скелетных мышц.

Теоретическая значимость. Результаты настоящей работы вносят вклад в развитие геномики физической активности. Изучение полиморфных вариантов генов, белковые продукты которых связаны с энергообеспечением мышечной деятельности, поможет выявить новые сведения о механизмах, которые лежат в основе срочной и долговременной адаптации к мышечной деятельности.

Практическая значимость. Анализ полиморфизмов генов *AMPD1* (C34T), *CKMM* (A/G), *G6PC2* (G/A) и *MCT1* (A1470T) в комплексе с другими молекулярно-генетическими маркерами и фенотипическими показателями можно рекомендовать для оценки предрасположенности к развитию и проявлению физических качеств человека. Проведение подобного комплексного анализа поможет индивидуализировать тренировочный процесс, сохранить здоровье спортсмена в условиях интенсивной спортивной деятельности, а также существенно повысит прогностические возможности спортивного отбора. Результаты диссертационной работы внедрены в практику подготовки спортсменов-биатлонистов Училища Олимпийского резерва №2 города Санкт-Петербурга, учащихся спортивного центра подготовки «Касатка» и в тренировочный процесс сборной команды Санкт-Петербурга по лыжным гонкам.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Полиморфизмы генов *AMPD1* (C34T), *CKMM* (A/G), *G6PC2* (G/A) и *MCT1* (A1470T) ассоциируются с двигательной деятельностью человека. В группе спортсменов, занимающихся видами спорта с преимущественным проявлением выносливости, частоты *AMPD1* CC генотипа, *CKMM* A аллеля, *G6PC2* GG генотипа и *MCT1* AA генотипа статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой (незанимающиеся спортом жители России). Частоты *AMPD1* CC генотипа, *CKMM* G аллеля, *G6PC2* GG генотипа и *MCT1* AA генотипа преобладают в группе спортсменов, занимающихся видами спорта, направленными на развитие быстроты/силы. На этом основании *CKMM* G аллель можно рассматривать как маркер предрасположенности к развитию и проявлению быстроты/силы, *CKMM* A аллель – как маркер предрасположенности к развитию и проявлению выносливости. Носительство *AMPD1* CC, *G6PC2* GG и *MCT1* AA генотипов ассоциировано с повышенной физической работоспособностью: носители данных генотипов и аллелей в одинаковой степени предрасположены к занятиям любыми изученными в настоящей работе видами спорта.
2. Обнаружена взаимосвязь генотипов *AMPD1*, *CKMM* и *MCT1* с аэробными возможностями спортсменов, занимающихся академической греблей, лыжными гонками и биатлоном. У носителей *AMPD1* CC, *CKMM* AA и *MCT1* AA генотипов обнаружены большие значения максимального потребления кислорода (VO_{2max}) при выполнении теста со ступенчато повышающейся нагрузкой до отказа. У обладателей *AMPD1* CC и *CKMM* AA генотипов выявлены большие значения максимальной аэробной мощности. В результате длительной тренировки выносливости прирост VO_{2max} больше у обладателей *AMPD1* CC и *CKMM* AA генотипов. *CKMM* GG генотип связан с высокими силовыми показателями спортсменов, занимающихся академической греблей и тяжелой атлетикой.

3. A1470T полиморфизм гена *MCT1* и G/A полиморфизм гена *G6PC2* ассоциированы с размером мышечных волокон. Носители *MCT1* AA генотипа имеют бóльшие значения площади поперечного сечения (ППС) медленных мышечных волокон. У обладателей *G6PC2* GG генотипа обнаружены бóльшие значения ППС быстрых мышечных волокон.
4. У спортсменов, носителей *MCT1* T аллеля, выявлен более высокий уровень лактата в крови при предельной физической нагрузке по сравнению с обладателями *MCT1* AA генотипа. Обнаружена корреляция носительства *G6PC2* G аллеля с повышенной базальной концентрацией глюкозы в крови.
5. Ассоциации полиморфных вариантов генов *AMPD1*, *СКММ*, *G6PC2* и *MCT1* с предрасположенностью к определенным типам двигательной деятельности согласуются с результатами корреляционного анализа данных полиморфизмов в отношении физиологических, морфометрических и биохимических параметров скелетных мышц.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы были представлены на межвузовской научно-технической конференции: XXXII неделя науки СПбГПУ (Санкт-Петербург, 2004), политехническом симпозиуме: Молодые ученые – промышленности Северо-Западного региона (Санкт-Петербург, 2004), ежегодных научных итоговых конференциях ФГУСПбНИИ физической культуры (Санкт-Петербург, 2004, 2005), X конгрессе Европейского колледжа спортивных наук (Белград, Сербия и Черногория, 2005), III Всероссийской с международным участием школе-конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности (Москва, 2005), Всероссийской конференции молодых ученых «Физиология и медицина» (Санкт-Петербург, 2005), III Международной научной конференции «Актуальные проблемы спортивной морфологии и генетики человека» (Москва, 2009), XII и XIII Всероссийских конференциях «Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2009, 2010), Российском Конгрессе с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное» (Санкт-Петербург, 2010), V Международном конгрессе «Человек, спорт, здоровье» (Санкт-Петербург, 2011).

Личное участие автора. Автором лично выполнены обзор литературы, планирование исследований, разработка методик определения G/A полиморфизма гена *G6PC2* и A1470T полиморфизма гена *MCT1*, весь объем молекулярно-генетической диагностики (забор биологического материала, выделение ДНК различными методами, анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов), статистический анализ и обработка полученных результатов, подготовка к печати публикаций по результатам работы, написание и оформление рукописи диссертации.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 15 печатных работ, в том числе 5 работ в ведущих научных рецензируемых изданиях.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания организации и методов исследования, полученных результатов и их обсуждения, выводов и списка литературы. Текст диссертации изложен на 149 страницах, содержит 23 рисунка и 21 таблицу. Список литературы включает 224 источника, из которых 19 опубликованы в отечественных изданиях и 205 – в иностранных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Организация исследования. Обследовали спортсменов (мужчины, $n = 743$, возраст: 20.6 ± 5.4 лет; женщины, $n = 253$, возраст: 19.3 ± 2.8 лет) различной специализации и квалификации. В соответствии с типом энергообеспечения и характером физической нагрузки группа спортсменов была разделена на три подгруппы: I – виды спорта с преимущественным проявлением выносливости; II – виды спорта с проявлением смешанных качеств (выносливость, быстрота/сила); III – виды спорта с преимущественным проявлением быстроты/силы. На момент забора биологического материала для исследований ДНК, 17 спортсменов являлись заслуженными мастерами спорта (ЗМС), 32 – мастерами спорта международного класса (МСМК), 302 – мастерами спорта (МС), 407 – кандидатами в мастера спорта (КМС) и 238 имели первый взрослый разряд. Контрольная группа состояла из жителей города Санкт-Петербурга (мужчины, $n = 201$, возраст: 19.5 ± 4.7 лет; женщины, $n = 298$, возраст: 19.3 ± 5.9 лет) и студентов Казанского медицинского университета (мужчины, $n = 360$, возраст: 18.8 ± 1.5 лет; женщины, $n = 530$, возраст: 18.3 ± 1.2 лет). Главным условием для включения в контрольную группу являлось отсутствие стажа регулярных занятий спортом и спортивного разряда.

В таблице 1 представлены структура и объем исследований ассоциаций полиморфизмов генов *AMPD1* (C34T), *СКММ* (A/G), *G6PC2* (G/A) и *MCT1* (A1470T) с фенотипами физической активности.

Таблица 1.

Изучаемые выборки, типы и объемы исследований

	<i>n</i>	Исследование
<i>«Случай-контроль»</i>		
Контрольная группа	1389	Анализ распределения частот генотипов и аллелей изучаемых полиморфизмов генов
Все спортсмены	996	Выявление статистически значимых различий в частотах генотипов и аллелей генов по сравнению с контрольной группой
<i>«Генотип-фенотип»</i>		
Гребцы-академисты	90	Определение взаимосвязи генотипов и аллелей с показателями физической работоспособности
Лыжники-гонщики, биатлонисты	82	
Тяжелоатлеты	70	Определение взаимосвязи генотипов и аллелей с показателями силы (стандартный поднятый вес, вычисленный на основании лучших персональных результатов в рывке и толчке)
Гребцы-академисты	40	Определение взаимосвязи генотипов и аллелей с динамометрическими показателями
Физически активные мужчины	55	Определение взаимосвязи генотипов и аллелей с соотношением быстрых и медленных мышечных волокон, их площадью поперечного сечения
Гребцы-академисты	79	Определение взаимосвязи генотипов и аллелей гена <i>MCT1</i> с уровнем лактата в крови спортсменов при предельной физической нагрузке
Лыжники-двоеборцы	17	
Физически активные мужчины и женщины	255	Определение взаимосвязи генотипов и аллелей гена <i>G6PC2</i> с базальным уровнем глюкозы в крови
<i>«Генотип-фенотип в динамике»</i>		
Лыжники-гонщики, биатлонисты	30	Определение взаимосвязи генотипов и аллелей с приростом показателей физической работоспособности после тренировочного макроцикла

Все испытуемые были проинформированы о целях и условиях экспериментов. Участие в исследованиях было добровольным. Обследования были одобрены Физиологической секцией Российской Национальной комиссии по биологической этике, комиссией по биоэтике Института медико-биологических проблем РАН, этическим комитетом СПбГУ.

Молекулярно-генетические методы. Выделение ДНК проводили из эпителиальных клеток ротовой полости методом щелочной экстракции или сорбентным методом, из сухих пятен крови стандартным фенольно-хлороформным методом, из лейкоцитов крови сорбентным методом.

Для определения полиморфизмов генов *G6PC2* (G/A) и *MCT1* (A1470T) были разработаны методики с использованием биотехнологической информационной базы данных NCBI. Для идентификации полиморфизмов применяли приложение «SNP», для подбора праймеров – программы «Primer 3» и «PrimerBLAST». Определение генотипов проводили при помощи анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Для выявления однонуклеотидных замен ампликоны инкубировали с эндонуклеазами рестрикции: NspI (*AMPD1*, C34T rs17602729), Bsp19I (*CKMM*, A/G rs8111989), Bst4CI (*G6PC2*, G/A rs560887), BccI (*MCT1*, A1470T rs1049434).

Анализ длин продуктов рестрикции проводили электрофоретическим разделением в полиакриламидном либо агарозном гелях с последующей окраской бромистым этидием и визуализацией в проходящем ультрафиолетовом свете.

Определение показателей аэробной и анаэробной работоспособности. Определение аэробных и анаэробных возможностей в тесте со ступенчато повышающейся нагрузкой у гребцов-академистов на механическом гребном эргометре РМ 3 (Concept II, США) проводили сотрудники Института медико-биологических проблем РАН к.б.н. Попов Д.В., Миссина С.С. и д.б.н. Виноградова О.Л. Начальная нагрузка составила 150 Вт для мужчин и 100 Вт – для женщин, длительность ступени – 3 минуты, время отдыха между ступенями – 30 секунд. Работа выполнялась до отказа. Во время теста каждый дыхательный цикл регистрировали параметры внешнего дыхания и частоту сердечных сокращений (газоанализатор MetaMax 3B (Cortex, Германия) и $V_{\max}229$ (SensorMedics, США)). Максимальное потребление кислорода ($VO_{2\max}$, л/мин) определяли по значениям показателей газообмена усредненных за последние 30 секунд каждой ступени теста. Концентрацию лактата (L_{\max} , мМ) определяли электрохимическим методом в цельной крови (Super GL easy, Dr. Mueller, Германия). Капиллярную кровь (20 мкл) брали из пальца после каждой ступени и сразу после окончания работы.

Определение аэробных и анаэробных возможностей в тесте с нарастающей нагрузкой у спортсменов, занимающихся лыжными гонками, биатлоном и лыжным двоеборьем, на тредбане Saturn (HP Cosmos, Германия) проводили сотрудники Санкт-Петербургского НИИ физической культуры Черенина С.В., Масанова Ф.М., к.б.н. Гольберг Н.Д. и Сабурова В.В. Начальная нагрузка для мужчин составила 6 км/ч, для женщин – 5 км/ч, длительность ступени – 3 минуты, шаг – увеличение угла наклона на 2.5% и скорости: мужчины – 6 км/ч, 9 км/ч, 12 км/ч; женщины – 5 км/ч, 8 км/ч, 10 км/ч. Работа выполнялась до отказа. На протяжении всего теста регистрировали параметры внешнего дыхания и частоту сердечных сокращений (газоанализатор MetaMax 3B (Cortex, Германия) и пульсометр Polar S610 (Финляндия)). Содержание лактата определяли энзиматическим колориметрическим методом (Screen Master Point, Hospitex, Швейцария) в сыворотке капиллярной крови при помощи набора

реактивов фирмы «Ольвекс Диагностикум» (Санкт-Петербург). Капиллярную кровь брали из пальца до и через 3 минуты после окончания выполнения тестирующей нагрузки.

Определение силовых показателей. Определение динамометрических показателей спортсменов, занимающихся академической греблей, проводили сотрудники Института медико-биологических проблем РАН к.б.н. Нетреба А.И., д.б.н. Виноградова О.Л. Значения максимальной произвольной силы (МПС) мышц бедра определяли в тренировочном движении методом одноповторного максимума с использованием измерительного комплекса BIODEX System 3 Pro (США). Фенотипирование осуществляли во время соревнований. Проводили сбор анкетных данных о личных рекордах в подъеме штанги. Для определения стандартного веса, поднятого в толчке или рывке, нормализованного с учетом веса и пола спортсменов, использовали критерий Роберта Уилкса.

Определение гистоморфометрических показателей мышечных волокон *m. vastus lateralis*. Биопсию скелетных мышц физически активных здоровых мужчин проводили сотрудники Института медико-биологических проблем РАН (Москва) Любаева Е.В., к.б.н. Таракин П.П., д.б.н. Шенкман Б.С. Пробы мышечной ткани из *m. vastus lateralis* брали методом игольчатой биопсии по Бергстрему. Для иммуногистохимического выявления тяжелых цепей миозина использовали иммунопероксидазную технику. Применяли антитела против медленных и быстрых цепей миозина (клоны NCL-MHCs и NCL-MHCf (a+b), Novocastra Laboratories). Для выявления изоформ тяжелых цепей миозина использовали вторичные антитела, конъюгированные с флуоресцеинизотиоцианатом (FITC). Распределение мышечных волокон (МВ) было выражено как соотношение между числом МВ каждого типа на срезе к общему количеству МВ. Площадь поперечного сечения (ППС) была измерена не менее чем для 100 МВ каждого типа (не менее 40% всех МВ).

Определение концентрации глюкозы в крови. Базальную концентрацию глюкозы определяли сотрудники Казанского Государственного Медицинского Университета (руководитель – Борисова А.В.) в цельной крови, взятой натошак из пальца, при помощи биохимического экспресс-анализатора CardioChek.

Методы статистической обработки данных. Статистический анализ данных был выполнен с применением программы «GraphPad InStat». Определяли среднее значение (M), среднее квадратическое отклонение ($\pm SD$). Сравнительный анализ проводили с использованием критерия χ^2 , точного теста Фишера, непарного t теста и дисперсионного анализа ANOVA. Корреляционный анализ проводили при помощи метода Спирмена для непараметрических данных. Для оценки вклада генетического компонента в фенотипическую дисперсию использовали регрессионный анализ. Силу ассоциаций оценивали по значениям показателей отношения шансов (OR) и доверительного интервала для OR (95%CI). Различия считались статистически значимыми при $P \leq 0.05$. При проведении множественных сравнений использовали поправку Бонферрони.

Результаты исследований

1. Результаты генотипирования спортсменов и контрольной группы

1.1. Распределения частот генотипов и аллелей гена *AMPD1*

Частота редкого *AMPD1* T аллеля в контрольной группе составила 15.0%, не отличалась у женщин и мужчин (15.3% против 14.7%, $P = 0.86$) и была схожа с

данными европейской популяции ($P = 0.39$) (Norman B. et al., 1998). Наблюдаемое в контрольной группе распределение генотипов подчинилось равновесию Харди-Вайнберга ($P = 0.21$).

Частота Т аллеля в группе спортсменов была ниже, чем в контрольной группе (7.8% против 15.0%; $P < 0.0001$) и не отличалась у спортсменок и спортсменов (7.6% против 7.8%, $P = 0.92$). Распределение генотипов в группе спортсменов подчинилось равновесию Харди-Вайнберга ($P = 0.75$) и отличалось от распределения в контрольной группе ($P < 0.0001$). При разделении всех спортсменов на три группы в соответствии с типом энергообеспечения мышечной деятельности во всех группах было обнаружено преобладание С аллеля и СС генотипа по сравнению с контрольной группой (табл. 3).

Таблица 3.

Распределения частот генотипов и аллелей гена *AMPD1* у спортсменов и в контрольной группе

Группа	Вид спорта	n	Генотипы <i>AMPD1</i> , %				Аллель, %	
			СС	СТ	ТТ	P_1	Т	P_2
I	Лёгкая атлетика (бег, 3-5км)	24	54.2	37.5	8.3	0.10	27.1	0.04
	Биатлон	61	86.9	13.1	0.0	0.06	6.6	0.01
	Конькобежный спорт (5-10км)	6	100.0	0.0	0.0	0.35	0.0	0.23
	Лыжные гонки (5-15км)	66	86.4	13.6	0.0	0.05	6.8	0.01
	Плавание (800-1500м)	20	80.0	20.0	0.0	0.63	10.0	0.50
	Триатлон	4	100.0	0.0	0.0	0.49	0.0	0.61
	Все	181	82.3	16.6	1.1	0.04	9.4	0.01
II	Академическая гребля	201	89.1	10.9	0.0	<0.0001	5.5	<0.0001
	Горные лыжи	6	100.0	0.0	0.0	0.35	0.0	0.23
	Лыжное двоеборье	69	84.1	15.9	0.0	0.10	8.0	0.03
	Плавание (200-400м)	17	88.2	11.8	0.0	0.38	5.9	0.21
	Теннис	12	50.0	50.0	0.0	0.07	25.0	0.24
	Футбол	49	98.0	2.0	0.0	0.0008	1.0	<0.0001
	Хоккей	9	66.7	33.3	0.0	0.65	16.7	0.74
	Шорт-трек	6	50.0	50.0	0.0	0.27	25.0	0.41
	Все	369	87.0	13.0	0.0	<0.0001	6.5	<0.0001
III	Бокс	20	75.0	25.0	0.0	0.66	12.5	0.82
	Борьба	59	86.4	11.9	1.7	0.10	7.7	0.04
	Конькобежный спорт (0.5-1.5км)	62	88.7	11.3	0.0	0.03	5.7	0.004
	Пауэрлифтинг	8	100.0	0.0	0.0	0.24	0.0	0.15
	Плавание (50-100м)	34	94.1	5.9	0.0	0.03	3.0	0.003
	Тяжелая атлетика	122	77.0	23.0	0.0	0.09	11.5	0.18
	Все	305	83.6	16.1	0.3	0.0004	8.4	<0.0001
Все спортсмены	855	84.8	14.9	0.3	<0.0001	7.8	<0.0001	
Контроль	499	73.8	22.4	3.8	1	15.0	1	

Здесь и далее: P_1 – значение P при сравнении частот генотипов между группами спортсменов и контрольной группой; P_2 – при сравнении частот аллелей.

Группы: I – виды спорта с преимущественным проявлением выносливости; II – виды спорта с проявлением смешанных качеств; III – виды спорта с преимущественным проявлением быстроты/силы.

При сравнении распределений в контрольной группе и группах видов спорта, учитывая поправку Бонферрони для множественных сравнений, различия были статистически значимыми для спортсменов II и III групп ($P \leq 0.0125$). На основании полученных результатов установлено, что индивиды с СС генотипом имеют больше шансов успешно заниматься спортом, чем носители ТТ генотипа (OR = 12.48; 95% CI: 3.67 - 42.45).

При оценке распределения частот аллелей в зависимости от спортивной квалификации обнаружено, что частота Т аллеля понижается с ростом квалификации в I группе (1 разряд, КМС ($n = 105$) – 13.4%; МС, МСМК, ЗМС ($n = 76$) – 4.0%; $P = 0.003$), во II группе (1 разряд, КМС ($n = 276$) – 7.8%; МС, МСМК, ЗМС ($n = 93$) – 2.7%; $P = 0.02$), в III группе спортсменов (1 разряд, КМС ($n = 175$) – 12.1%; МС, МСМК, ЗМС ($n = 130$) – 6.6%; $P = 0.18$).

Носительство Т аллеля приводит к образованию стоп-кодона в последовательности гена *AMPD1*, что является причиной образования каталитически неактивного белка АМФД-М (Morisaki T. et al., 1992). Реакция, катализируемая АМФД-М, значительно влияет на эффективность энергообеспечения мышечной деятельности в условиях необходимости поддержания повышенного уровня энергообразования (Sabina R.L. et al., 2002), то есть во время интенсивных физических нагрузок. Данные нашего исследования подтвердили результаты предыдущих работ (Rubio J.C. et al., 2005; Juffer P. et al., 2009; Muniesa C.A. et al., 2010), показывающих, что частота Т аллеля понижена в группе спортсменов видов спорта с преимущественным проявлением выносливости. В настоящей работе впервые показано, что *AMPD1* СС генотип дает преимущество для развития и проявления не только выносливости, но также и быстроты/силы. Полученные результаты свидетельствуют о благоприятном эффекте носительства *AMPD1* СС генотипа (а значит, и наличия активности фермента АМФД-М в скелетных мышцах) на мышечную деятельность. У носителей СТ и ТТ генотипов (недостаточность АМФД-М) при выполнении систематических высокоинтенсивных физических нагрузок можно спрогнозировать развитие вызванной упражнениями миопатии (мышечные судороги, повышенная утомляемость). При данном состоянии можно рекомендовать полноценное восстановление после выполнения высокоинтенсивных физических нагрузок, коррекцию питания (употребление продуктов, содержащих РНК – бобовые, красное мясо), фармакологическую коррекцию (прием энергетических препаратов, содержащих рибозу, креатинфосфат) (Wagner D.R. et al., 1991; Tarnopolsky M.A., 2007).

1.2. Распределения частот генотипов и аллелей гена *СКММ*

Частота минорного *СКММ* G аллеля в контрольной группе составила 34.6%, была схожа со значениями в европейской популяции 29-35% (Rivera M.A. et al., 1999; Heled Y. et al., 2007) и не отличалась в подгруппах жителей Санкт-Петербурга и студентов Казанского медицинского университета (33.2% против 35.1%; $P = 0.45$), а также у женщин и мужчин (34.7% против 34.6%; $P = 0.98$). Наблюдаемое в контрольной группе распределение генотипов подчинялось равновесию Харди-Вайнберга ($P = 0.33$).

В общей группе спортсменов частота G аллеля не отличалась у спортсменок и спортсменов (32.5% против 31.6%, $P = 0.81$). В таблице 4 представлены данные о

распределении генотипов и аллелей гена *СКММ* у спортсменов различных видов спорта и в контрольной группе. С учетом поправки Бонферрони частоты G аллеля и GG генотипа были понижены у спортсменов I группы при сравнении по группам ($P \leq 0.0125$). Лица с AA генотипом имели больше шансов стать успешными стайерами, чем носители GG генотипа (OR = 2.66; 95%CI: 1.43 - 4.97).

Среди спортсменов, занимающихся тяжелой атлетикой (III группа), чаще встречались носители G аллеля (46.0% против 34.6%; $P = 0.007$) и GG генотипа (31.1% против 13.4%; $P = 0.0001$). У носителей GG генотипа шансы стать успешными штангистами были больше, чем у обладателей AA генотипа (OR = 2.61; 95%CI: 1.46 - 4.64).

Таблица 4.

Распределения частот генотипов и аллелей гена *СКММ* у спортсменов и в контрольной группе

Группа	Вид спорта	n	Генотипы <i>СКММ</i> , %				Аллель, %	
			AA	AG	GG	P_1	G	P_2
I	Биатлон	51	45.3	35.8	18.9	0.43	36.8	0.24
	Конькобежный спорт (5-10км)	13	51.0	41.2	7.8	0.05	28.4	0.02
	Льжные гонки (5-15км)	44	61.8	29.4	8.8	0.05	23.5	0.02
	Все	108	58.3	36.1	5.6	0.006	23.7	0.001
II	Академическая гребля	95	61.4	34.1	4.5	0.24	21.6	0.59
	Льжное двоеборье	68	76.9	23.1	0.0	0.02	11.6	0.01
	Футбол	39	48.7	41.0	10.3	0.79	30.8	0.56
	Все	202	51.5	34.6	13.9	0.10	31.2	0.20
III	Тяжелая атлетика	74	39.2	29.7	31.1	0.0001	46.0	0.007
Все спортсмены		384	51.0	34.1	14.9	0.02	32.0	0.2
Контрольная группа		1116	44.2	42.4	13.4	1.00	34.6	1.0

При оценке распределения частот генотипов в зависимости от спортивной квалификации было обнаружено, что среди спортсменов I группы у МС, МСМК, ЗМС ($n = 48$) частоты GG генотипа и G аллеля ниже, чем у спортсменов I разряда, КМС ($n = 60$) (GG генотип: 2.1% против 8.3%; $P = 0.02$; G аллель: 14.6% против 30.8%; $P = 0.006$). У спортсменов III группы МС, МСМК, ЗМС ($n = 41$) частоты GG генотипа и G аллеля были выше, чем у спортсменов I разряда, КМС ($n = 33$) этой группы (GG генотип: 48.8% против 9.1%, $P = 0.001$; G аллель: 59.8% против 28.8%, $P = 0.0002$).

У мышей, нокаутированных по гену *Skmm*, наблюдается повышенная аэробная работоспособность и меньшая утомляемость после длительных физических нагрузок (van Deursen J. et al., 1993). A/G полиморфизм локализован в 3'-UTR, поэтому он может влиять на стабильность мРНК и изменять экспрессию гена *СКММ*. Обнаруженная более высокая частота *СКММ* A аллеля у спортсменов видов спорта с преимущественным проявлением выносливости, по сравнению с контрольной группой и ее повышение с ростом спортивной квалификации может свидетельствовать о том, что носительство *СКММ* A аллеля благоприятствует развитию и проявлению выносливости. С другой стороны, увеличение частот GG генотипа и G аллеля среди штангистов позволяет предположить, что носительство G аллеля способствует проявлению силовых качеств.

1.3. Распределения частот генотипов и аллелей гена *G6PC2*

Частота редкого *G6PC2* А аллеля в контрольной группе составила 25.7%, не отличалась у женщин и мужчин (25.2% против 26.3%, $P = 0.96$) и была незначительно ниже, чем в европейской популяции – 30-33% (Bouatia-Naji N. et al., 2008; Rose C.S. et al., 2009; Demirci F. et al., 2010). Наблюдаемое в контрольной группе распределение генотипов подчинялось равновесию Харди-Вайнберга ($P = 0.99$).

Частота А аллеля в общей группе обследованных спортсменов была ниже, чем в контрольной группе (17.3% против 25.7%; $P = 0.0003$). Распределение генотипов в группе спортсменов подчинялось равновесию Харди-Вайнберга ($P = 0.93$) и отличалось от распределения в контрольной группе ($P = 0.001$). Частоты А аллеля у спортсменок и спортсменов не отличались (15.9% против 17.9%, $P = 0.68$). В таблице 5 представлены распределения частот генотипов и аллелей гена *G6PC2* у спортсменов и в контрольной группе.

Таблица 5.

Распределения частот генотипов и аллелей гена *G6PC2* у спортсменов и в контрольной группе

Группа	Вид спорта	<i>n</i>	Генотипы <i>G6PC2</i> , %				Аллель, %	
			GG	GA	AA	P_1	A	P_2
II	Академическая гребля	83	69.9	26.5	3.6	0.04	16.9	0.02
	Лыжное двоеборье	16	81.3	12.5	6.2	0.10	12.5	0.14
	Футбол	54	66.7	33.3	0.0	0.08	16.7	0.05
	Все	153	69.9	27.5	2.6	0.002	16.4	0.0004
III	Тяжелая атлетика	67	67.1	26.9	6.0	0.16	19.5	0.14
Все спортсмены		220	69.1	27.3	3.6	0.001	17.3	0.0003
Контроль		837	55.3	38.1	6.6	1.00	25.7	1.00

Среди спортсменов всех групп носители GG генотипа встречались чаще, чем в контрольной группе. Учитывая поправку Бонферрони, статистической значимости достигали результаты в общей группе спортсменов при сравнении с контрольной группой ($P \leq 0.05$) и во II группе при сравнении по группам ($P \leq 0.017$).

При оценке распределения частот аллелей в зависимости от спортивной квалификации среди спортсменов было обнаружено, что частота А аллеля понижается с ростом квалификации (II группа: МС, МСМК, ЗМС ($n = 75$) – 12.0%; 1 разряд, КМС ($n = 78$) – 20.5%, $P = 0.05$; III группа: МС, МСМК, ЗМС ($n = 45$) – 11.1%; 1 разряд, КМС ($n = 22$) – 36.4%, $P = 0.0009$).

Выявленные различия в частотах генотипов и аллелей гена *G6PC2* у спортсменов и в контрольной группе, а также снижение частоты А аллеля с ростом квалификации спортсменов, позволяют предположить, что носительство А аллеля является неблагоприятным для занятий спортом.

1.4. Распределения частот генотипов и аллелей гена *MTC1*

Частота редкого *MTC1* Т аллеля в общей контрольной группе составила 37.5%, не отличалась у женщин и мужчин (37.3% против 37.8%, $P = 0.89$) и была схожа с данными европейской популяции – 35.8% (HarMar-CEU) и 34.7% (Merezhinskaya N. et al., 2000). Наблюдаемое в контрольной группе распределение генотипов подчинялось равновесию Харди-Вайнберга ($P = 0.99$).

В общей группе спортсменов частота Т аллеля была ниже, чем в контрольной группе (26.5% против 37.5%; $P = 0.0004$) и не отличалась у спортсменов и спортсменок (26.4% против 26.5%, $P = 0.99$). Наблюдаемое в группе спортсменов распределение генотипов подчинялось равновесию Харди-Вайнберга ($P = 0.32$) и отличалось от распределения в контрольной группе ($P < 0.0001$). В таблице 6 представлены данные о распределении генотипов и аллелей гена *MCT1* у спортсменов различных видов спорта и в контрольной группе.

Учитывая поправку Бонферрони, статистической значимости достигали результаты в общей группе спортсменов при сравнении с контрольной группой ($P \leq 0.05$) и во II группе при сравнении по группам ($P \leq 0.017$).

При оценке распределения частот аллелей в зависимости от квалификации спортсменов было обнаружено, что частота Т аллеля снижается с ростом квалификации (II группа: МС, МСМК, ЗМС ($n = 68$) – 21.5%; 1 разряд, КМС ($n = 91$) – 29.9%, $P = 0.10$; III группа: МС, МСМК, ЗМС ($n = 22$) – 18.2%; 1 разряд, КМС ($n = 27$) – 37.0%, $P = 0.05$).

Таблица 6.

Распределения частот генотипов и аллелей гена *MCT1* у спортсменов и в контрольной группе

Группа	Вид спорта	<i>n</i>	Генотипы <i>MCT1</i> , %				Аллель, %	
			АА	АТ	ТТ	P_1	Т	P_2
II	Академическая гребля	89	65.2	26.9	7.9	< 0.0001	21.4	< 0.0001
	Льжное двоеборье	17	47.1	41.1	11.8	0.81	32.4	0.59
	Футбол	53	47.2	43.4	9.4	0.44	31.1	0.24
	Все	159	57.3	33.9	8.8	0.0004	25.8	< 0.0001
III	Тяжелая атлетика	49	57.1	28.6	14.3	0.04	28.6	0.10
Все спортсмены		208	57.2	32.7	10.1	< 0.0001	26.5	0.0004
Контроль		467	39.4	46.3	14.3	1.00	37.5	1.00

Анализ полученных результатов по изучению *MCT1* А1470Т полиморфизма у спортсменов и в контрольной группе показал, что частота А аллеля был выше в группах спортсменов и увеличивалась с ростом спортивной квалификации. Этот факт позволяет предположить, что *MCT1* АА генотип благотворно влияет на мышечную деятельность человека.

2. Ассоциация полиморфизмов генов с физиологическими показателями

2.1. Ассоциация полиморфизмов генов с показателями физической работоспособности спортсменов

Для проверки гипотезы о возможной ассоциации вариаций генов *AMPD1*, *СКММ*, *MCT1* и *G6PC2* с показателями физической работоспособности был проведен корреляционный анализ изучаемых полиморфизмов генов с функциональными показателями, полученными при выполнении теста со ступенчато повышающейся нагрузкой до отказа на гребном эргометре в группе спортсменов КМС, МС, МСМК, занимающихся академической греблей (мужчины, $n = 57$; женщины, $n = 33$) и на тредбане в группе спортсменов 1 взрослого разряда, КМС, МС, занимающихся лыжными гонками и биатлоном (мужчины, $n = 50$; женщины, $n = 32$).

Среди обследованных гребцов отсутствовали носители *AMPD1* TT генотипа. Была выявлена ассоциация *AMPD1* CC генотипа с большими значениями $\text{отнVO}_{2\text{max}}$ (мужчины: CC – 58.41 ± 3.53 мл/кг/мин, CT – 52.61 ± 5.04 мл/кг/мин, $P = 0.0005$; женщины: CC – 48.59 ± 5.94 мл/кг/мин, CT – 43.65 ± 1.58 мл/кг/мин, $P = 0.06$). Средние значения W_{max} имели тенденцию к повышению у обладателей CC генотипа (мужчины: CC – 382.39 ± 36.04 Вт, CT – 357.60 ± 59.11 Вт; $P = 0.09$; женщины: CC – 279.16 ± 23.12 Вт, CT – 258.8 ± 22.86 Вт; $P = 0.06$). У спортсменов, занимающихся лыжными гонками и биатлоном, была обнаружена ассоциация *AMPD1* CC генотипа с большими значениями $\text{VO}_{2\text{max}}$ (мужчины: CC – 3.94 ± 0.94 мл/мин, CT – 3.18 ± 0.51 мл/мин, $P = 0.08$; женщины: CC – 2.98 ± 0.62 мл/мин, CT – 2.45 ± 0.72 мл/мин, $P = 0.13$), статистически значимо большими значениями $\text{отнVO}_{2\text{max}}$ (мужчины: CC – 56.56 ± 11.02 мл/кг/мин, CT – 45.20 ± 7.53 мл/кг/мин, $P = 0.03$; женщины: CC – 53.66 ± 6.28 мл/кг/мин, CT – 41.88 ± 10.29 мл/кг/мин, $P = 0.003$) и большими значениями W_{max} (мужчины: CC – 323.04 ± 19.29 Вт, CT – 255.00 ± 16.77 Вт; $P = 0.04$; женщины: CC – 221.86 ± 53.63 Вт, CT – 168.75 ± 21.65 Вт; $P = 0.06$), что согласуется с данными, полученными при обследовании гребцов.

Обнаружена ассоциация *СКММ* А аллеля у мужчин, занимающихся академической греблей, с более высокими значениями $\text{отнVO}_{2\text{max}}$ (AA – 58.98 ± 3.44 мл/кг/мин, AG – 56.99 ± 4.36 мл/кг/мин, GG – 52.87 ± 4.32 мл/кг/мин, $P = 0.01$). Средние значения W_{max} с увеличением количества А аллелей *СКММ* в генотипе в подгруппе гребцов-мужчин имели тенденцию к повышению (AA – 344.63 ± 57.03 Вт, AG – 337.16 ± 61.29 Вт, GG – 320.94 ± 75.70 Вт; $P = 0.18$), а у женщин повышались статистически значимо (AA – 287.14 ± 17.99 Вт, AG – 265.00 ± 23.94 Вт, GG – 267.63 ± 27.99 Вт; $P = 0.04$). Среди обследованных спортсменов, занимающихся лыжными гонками и биатлоном, обнаружена ассоциация *СКММ* А аллеля с более высокими значениями $\text{VO}_{2\text{max}}$ (мужчины: AA – 4.23 ± 1.21 мл/мин, GA – 3.75 ± 0.63 мл/мин, GG – 3.16 ± 0.41 мл/мин, $P = 0.03$; женщины: AA – 3.17 ± 0.69 мл/мин, GA – 3.03 ± 0.27 мл/мин, GG – 2.43 ± 0.70 мл/мин, $P = 0.02$). В группе женщин выявлена значимая ассоциация *СКММ* А аллеля с большими значениями $\text{отнVO}_{2\text{max}}$ (AA – 57.15 ± 6.13 мл/кг/мин, GA – 52.51 ± 5.01 мл/кг/мин, GG – 45.18 ± 7.63 мл/кг/мин, $P = 0.0007$). Средние значения W_{max} у всех обследованных лыжников-гонщиков и биатлонистов повышались с увеличением количества А аллелей в генотипе (мужчины: AA – 358.92 ± 31.63 Вт, AG – 298.74 ± 81.68 Вт, GG – 254.00 ± 44.37 Вт; $P = 0.05$; женщины: AA – 244.13 ± 52.18 Вт, AG – 227.00 ± 32.54 Вт, GG – 162.28 ± 58.09 Вт; $P = 0.0004$).

Ассоциаций генотипов и аллелей гена *G6PC2* с изученными функциональными показателями обнаружено не было.

В подгруппе спортсменов-мужчин, занимающихся академической греблей, обнаружена ассоциация *МСТ1* А аллеля с более высокими абсолютными значениями $\text{VO}_{2\text{max}}$ (AA – 5.45 ± 0.56 мл/мин, AT – 4.71 ± 0.70 мл/мин, TT – 5.03 ± 0.56 мл/мин, $P = 0.03$), однако в подгруппе обследованных женщин данная ассоциация не была выявлена.

Взаимосвязь *AMPD1* С аллеля, *СКММ* А аллеля и *МСТ1* А аллеля с высокими значениями показателей аэробной работоспособности ($\text{VO}_{2\text{max}}$, $\text{отнVO}_{2\text{max}}$, W_{max}) в

некоторой степени объясняет обнаруженное в исследовании «случай-контроль» преобладание этих аллелей и повышение их частоты с ростом спортивной квалификации у спортсменов, тренирующих выносливость, по сравнению с контрольной группой.

2.2. Ассоциация полиморфизмов генов с приростом показателей физической работоспособности у спортсменов в результате тренировки выносливости

У 30 спортсменов (мужчины; лыжные гонки $n = 21$, биатлон $n = 9$) определяли взаимосвязь генотипов с приростом показателей работоспособности после тренировочного макроцикла. Прирост $\text{отнVO}_{2\text{max}}$ у носителей *AMPD1* CC генотипа ($n = 24$; 14.63 ± 10.91 мл/кг/мин) был больше ($P = 0.05$), чем у обладателей *AMPD1* CT генотипа ($n = 6$; 5.10 ± 4.60 мл/кг/мин), что подтверждает благоприятный эффект носительства *AMPD1* CC генотипа на мышечную деятельность аэробной направленности. Прирост $\text{отнVO}_{2\text{max}}$ уменьшался с увеличением количества *CKMM* G аллелей в генотипе (AA ($n = 11$) – 18.12 ± 11.82 мл/кг/мин; AG ($n = 15$) – 11.35 ± 8.76 мл/кг/мин; GG ($n = 4$) – 5.22 ± 3.00 , $P = 0.03$). Полученные результаты согласуются с данными об ассоциации *CKMM* AA генотипа с большим увеличением аэробных возможностей в результате аэробной тренировки у людей, ведущих малоподвижный образ жизни (Rivera M.A. et al., 1999; Lucia A. et al., 2005).

2.3. Ассоциация полиморфизмов генов с силовыми характеристиками спортсменов

В группе спортсменов, занимающихся академической греблей (мужчины, $n = 40$), определяли значения максимальной произвольной силы (МПС) мышц бедра. У носителей *CKMM* GG генотипа были обнаружены более высокие значения МПС (AA – 85.06 ± 16.58 кг; AG – 88.44 ± 15.32 кг; GG – 105.67 ± 9.42 кг; $P = 0.005$). Каких-либо ассоциаций генотипов генов *AMPD1*, *G6PC2* и *MCT1* с динамометрическими характеристиками выявлено не было. Обнаружена тенденция к увеличению значений МПС у носителей *AMPD1* CC генотипа (CC – 94.09 ± 16.22 кг; CT – 83.48 ± 18.86 кг; $P = 0.12$) и *G6PC2* GG генотипа (GG – 96.3 ± 14.97 кг; GA – 84.4 ± 19.48 кг; $P = 0.17$) (носители *AMPD1* TT и *G6PC2* AA генотипов среди обследованных гребцов отсутствовали).

У спортсменов, занимающихся тяжелой атлетикой ($n = 70$), оценивали значения стандартных весов штанги, поднятых в рывке и толчке, в зависимости от генотипов исследуемых генов. Носители *CKMM* GG генотипа поднимали больший вес штанги в толчке (AA – 100.55 ± 21.77 кг; AG – 100.86 ± 23.51 кг; GG – 119.08 ± 26.37 кг; $P = 0.06$) и статистически значимо больший вес штанги в рывке (AA – 82.10 ± 18.33 кг; AG – 86.47 ± 22.83 кг; GG – 102.59 ± 12.10 кг; $P = 0.03$). Большие значения показателей, характеризующих силовые возможности спортсменов, объясняют выявленное при генотипировании преобладание носителей *CKMM* GG генотипа среди спортсменов видов спорта с преимущественным проявлением быстроты/силы. Ассоциаций генотипов *AMPD1*, *MCT1* и *G6PC2* со значениями стандартных весов рывка и толчка тяжелоатлетов выявлено не было.

3. Ассоциация полиморфизмов генов с гистоморфометрическими показателями мышечных волокон *m. vastus lateralis*

3.1. Ассоциация полиморфизмов генов с типом мышечных волокон

В группе обследованных физически активных мужчин у носителей *AMPD1* Т аллеля обнаружено несколько большее процентное содержание медленных МВ (СС – 49.78 ± 11.07 %, СТ+ТТ – 54.36 ± 14.05 %; $P = 0.26$). Возможно, формирование большего количества медленных МВ связано с запуском адаптационных механизмов в организме, усиливающих экспрессию эритроцитарной изоформы фермента в медленных МВ, которая частично компенсирует нехватку АМФД-М. Данное предположение требует подтверждения при проведении исследований скелетных мышц на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях. Ассоциаций полиморфизмов генов *СКММ*, *G6PC2* и *MCT1* с составом МВ обнаружено не было.

3.2. Ассоциация полиморфизмов генов с ППС мышечных волокон

У носителей *MCT1* Т аллеля обнаружены меньшие значения ППС медленных МВ (АА – 5860.77 ± 1514.50 μm^2 , АТ+ТТ – 4732.04 ± 662.29 μm^2 ; $r = 0.43$; $P = 0.02$). Вклад полиморфизма гена *MCT1* в фенотипическую дисперсию значений ППС медленных МВ составил 19% ($r^2 = 0.19$). У обладателей *G6PC2* А аллеля выявлены меньшие значения ППС быстрых МВ (GG – 6675.55 ± 1369.90 μm^2 , GA+AA – 5816.74 ± 1261.40 μm^2 ; $r = 0.31$, $P = 0.04$). Вклад полиморфизма гена *G6PC2* в фенотипическую дисперсию значений ППС быстрых МВ в нашем исследовании составил 10% ($r^2 = 0.10$). Обнаружены большие значения ППС медленных МВ у носителей *AMPD1* Т аллеля (СС – 5058.71 ± 1008.10 μm^2 , СТ+ТТ – 5529.32 ± 1037.80 μm^2 ; $P = 0.22$).

4. Ассоциация полиморфизмов генов с биохимическими показателями

4.1. Концентрация глюкозы в крови натощак в зависимости от G/A полиморфизма гена *G6PC2*

Из участников общей контрольной группы была выделена группа испытуемых ($n = 255$) у которых определяли концентрацию глюкозы в крови натощак. Значения концентрации глюкозы в крови у всех обследованных были в пределах физиологической нормы. В подгруппе мужчин ($n = 88$) уровень глюкозы в крови статистически значимо повышался с увеличением количества *G6PC2* G аллелей в генотипе (GG – 4.45 ± 0.64 мМ, GA – 4.21 ± 0.52 мМ, AA – 3.80 ± 1.10 мМ; $P = 0.03$) (рис. 1). В подгруппе женщин ($n = 167$) повышенный уровень глюкозы наблюдался у обладательниц GG генотипа (GG – 4.22 ± 0.64 мМ, GA – 4.12 ± 0.63 мМ, AA – 4.12 ± 0.79 мМ; $P = 0.33$). Полученные результаты подтверждают выявленную у жителей Европы ассоциацию генотипов *G6PC2* с базальным уровнем глюкозы в крови (Vouatia-Naji N. et al., 2008; Dupuis J. et al., 2010). Вклад полиморфизма гена *G6PC2* в фенотипическую дисперсию концентрации глюкозы в крови составил 2% ($r^2 = 0.02$).

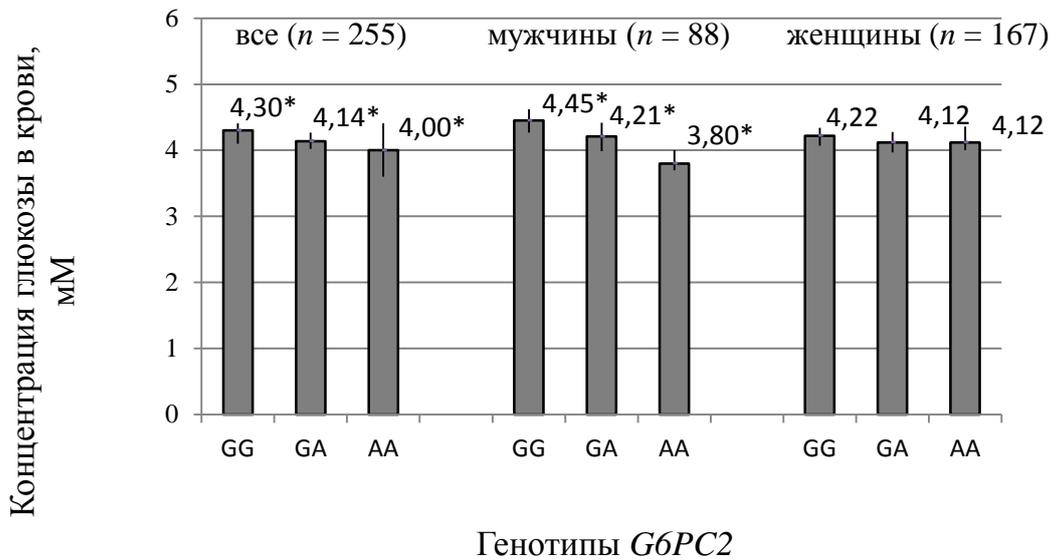


Рис. 1. Зависимость концентрации глюкозы в крови натощак от генотипов *G6PC2* у студентов Казанского медицинского университета.

* $P \leq 0.05$ – статистически значимые различия при сравнении генотипов.

Присутствие в генотипе минорного *G6PC2* А аллеля замедляет экспрессию гена и уменьшает количество образующегося белка Г6ФК2, что приводит к снижению уровня глюкозы в крови (Bouatia-Naji N. et al., 2008). Возможно, носительство *G6PC2* G аллеля предполагает наличие у белка Г6ФК2 каталитической активности, которая отсутствует при носительстве А аллеля (Chen W.M. et al., 2008). Каталитически активный фермент Г6ФК2 в поджелудочной железе является антагонистом глюкокиназы, что влечет за собой интенсификацию гликолиза в β -клетках и усиление чувствительности к глюкозо-стимулированной секреции инсулина. С этими гипотезами согласуется выявленная ассоциация *G6PC2* А аллеля с меньшей концентрацией глюкозы в крови.

Нами были обнаружены бóльшие значения ППС быстрых МВ у носителей *G6PC2* GG генотипа по сравнению с носителями А аллеля. Возможно, более высокие значения концентрации глюкозы в крови способствуют накоплению в быстрых МВ запасов гликогена, что влечет за собой увеличение их ППС.

Показано, что утилизация глюкозы мышцами зависит от концентрации глюкозы в крови (Wojtaszewski J.F. et al., 1998). В результате исследований влияния тренировок выносливости на показатели обмена глюкозы у испытуемых было выявлено увеличение концентрации глюкозы в крови натощак по сравнению с уровнем до тренировки (Boule N.G. et al., 2005). Можно полагать, что концентрация глюкозы в крови, определяемая, в том числе, генетическими вариациями, влияет на эффективность энергообеспечения мышечной деятельности. Это подтверждается обнаруженным в нашем исследовании фактом естественного отбора в спорт носителей *G6PC2* GG генотипа.

4.2. Уровень лактата в крови после нагрузки до отказа в зависимости от A1470T полиморфизма гена *MCT1*

У 79 спортсменов, занимающихся академической греблей, определяли концентрацию лактата в крови после выполнения ступенчато повышающейся нагрузки до отказа на гребном эргометре. Концентрация лактата в крови у носителей *MCT1* Т аллеля была больше, чем у обладателей АА генотипа (мужчины: АА – 8.75 ± 1.69 мМ, АТ – 10.37 ± 2.02 мМ, ТТ – 9.69 ± 1.07 мМ, $P = 0.005$; женщины: АА – 8.06 ± 1.07 мМ, АТ – 8.67 ± 1.23 мМ, ТТ – 8.79 ± 1.47 мМ, $P = 0.14$) (рис.2), что согласуется с результатами пилотного исследования Суреиро R. и др. (2010).

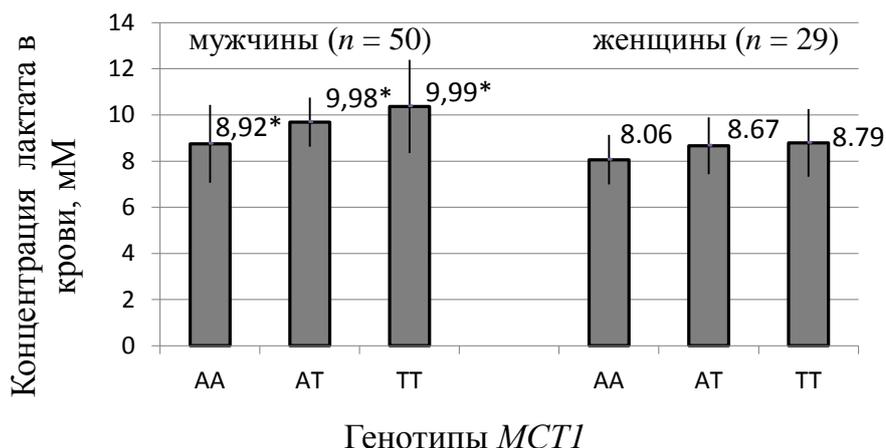


Рис. 2. Значения концентрации лактата в крови после нагрузки до отказа в зависимости от A1470T полиморфизма гена *MCT1* у спортсменов, занимающихся академической греблей.

* $P \leq 0.05$ – статистически значимые различия при сравнении генотипов.

Концентрация лактата в крови у лыжников-двоеборцев ($n = 17$) после тестирования на тредбане также зависела от генотипа *MCT1*. У носителей Т аллеля уровень лактата в крови был выше, чем у обладателей АА генотипа (АА – 9.56 ± 1.0 мМ, АТ – 12.74 ± 0.21 мМ, ТТ – 12.85 ± 1.65 мМ, $P = 0.03$).

Возможно, у носителей *MCT1* Т аллеля транспорт лактата из кровотока в медленные МВ происходит менее эффективно, что является результатом изменения аминокислотной последовательности белка-транспортера МКТ1 вследствие нуклеотидной замены А1470Т. Подобное предположение согласуется с результатами генотипирования спортсменов (преобладание носителей *MCT1* АА генотипа среди спортсменов) и подтверждают функциональную значимость А1470Т полиморфизма в условиях спортивной деятельности. В процессе восстановления после физических нагрузок эффективное функционирование транспортера при отсутствии *MCT1* Т аллеля позволяет переносить лактат в медленные МВ интенсивнее и в бóльших объемах, что, возможно, приводит к увеличению ППС медленных МВ. Бóльшие значения ППС медленных МВ у испытуемых с *MCT1* АА генотипом, подтверждают результаты о наличии ассоциации данного полиморфизма гена с предрасположенностью к развитию и проявлению выносливости, полученные в ходе исследования «случай-контроль».

ВЫВОДЫ

1. Впервые проанализированы полиморфизмы генов *AMPD1*(C34T), *СКММ*(A/G), *G6PC2*(G/A) и *MCT1*(A1470T) у российских спортсменов и жителей России. Частоты редких аллелей генов составили соответственно: аллель Т гена *AMPD1* – 15.0% и 7.8%, аллель G гена *СКММ* – 34.6% и 31.9%, аллель А гена *G6PC2* – 25.8% и 17.3%, аллель Т гена *MCT1* – 37.5% и 26.4%.
2. На основании сравнения распределений частот генотипов и аллелей генов *AMPD1*, *СКММ*, *G6PC2* и *MCT1* у спортсменов различной специализации и квалификации и в контрольной группе обнаружены ассоциации *СКММ* AA генотипа с предрасположенностью к развитию и проявлению выносливости; *СКММ* GG генотипа – с предрасположенностью к развитию и проявлению качеств быстроты/силы; *AMPD1* CC, *MCT1* AA и *G6PC2* GG генотипов – с предрасположенностью к развитию и проявлению высокой физической работоспособности.
3. В результате корреляционного анализа полиморфизмов генов с показателями физической работоспособности у спортсменов выявлены ассоциации *AMPD1* CC генотипа, *СКММ* А аллеля и *MCT1* А аллеля с большими значениями максимального потребления кислорода (VO_{2max}) у гребцов-академистов, лыжников-гонщиков и биатлонистов. В результате тренировки выносливости у носителей *AMPD1* CC и *СКММ* AA генотипов обнаружены большие значения прироста VO_{2max} . Выявлена ассоциация *СКММ* G аллеля с большими показателями силы у гребцов-академистов и тяжелоатлетов.
4. Выявлена ассоциация *MCT1* Т аллеля с меньшими значениями ППС медленных МВ и *G6PC2* А аллеля с меньшими значениями ППС быстрых МВ.
5. Обнаружено, что в группе относительно здоровых жителей России (мужчины) носительство *G6PC2* А аллеля ассоциируется с более низким базальным уровнем глюкозы в крови. Носительство *MCT1* Т аллеля связано с большим уровнем лактата в крови у спортсменов-мужчин при предельной физической нагрузке.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Носителям *СКММ* AA генотипа могут быть предложены занятия видами спорта с преимущественным проявлением выносливости; носителям *СКММ* GG генотипа – занятия видами спорта с преимущественным проявлением качеств быстроты/силы; носителям *AMPD1* CC, *MCT1* AA и *G6PC2* GG генотипов – занятия видами спорта, направленными на развитие как выносливости, так и быстроты/силы.
2. Генотипы *AMPD1* и *СКММ* могут выступать в качестве предикторов роста максимального потребления кислорода (VO_{2max}) в результате тренировки аэробной направленности. У обладателей *AMPD1* CC и *СКММ* AA генотипов можно спрогнозировать больший прирост VO_{2max} в результате аэробных тренировок, чем у носителей *AMPD1* Т и *СКММ* G аллелей.
3. При проведении исследований в области биохимии и физиологии физических упражнений необходимо подбирать генетически однородные выборки испытуемых с учетом генотипов *MCT1* и *G6PC2*, влияющих на уровни лактата при предельной физической нагрузке и глюкозы в крови натощак.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в ведущих рецензируемых изданиях:

1. Федотовская, О.Н. Гены-маркеры предрасположенности к скоростно-силовым видам спорта / В.А. Рогозкин, И.В. Астратенкова, А.М. Дружевская, О.Н. Федотовская // Теория и практика физической культуры. – 2005. – №1. – С.2-4.
2. Fedotovskaya, O.N. The combined impact of metabolic gene polymorphisms on elite endurance athlete status and related phenotypes / I.I. Ahmetov, A.G. Williams, D.V. Popov, E.V. Lyubaeva, A.M. Hakimullina, O.N. Fedotovskaya, I.A. Mozhayskaya, O.L. Vinogradova, I.V. Astratenkova, N.E. Montgomery, V.A. Rogozkin // Human Genetics. – 2009. – V.126(6). – P.751-761.
3. Федотовская, О.Н. Ассоциация полиморфизмов гена мышечной изоформы креатинфосфокиназы (СКММ) с физической работоспособностью спортсменов / О.Н. Федотовская, Д.В. Попов, О.Л. Виноградова, И.И. Ахметов // Физиология человека. – 2012. – №1. – С.105-109.
4. Федотовская, О.Н. Полиморфизм гена транспортера монокарбоновых кислот 1 типа (MCT1) у спортсменов / О.Н. Федотовская, Д.В. Попов, О.Л. Виноградова, И.И. Ахметов // Теория и практика физической культуры. – 2012. – №3. – С.92-94.
5. Федотовская, О.Н. Взаимосвязь полиморфизма гена *G6PC2* с изменением уровня глюкозы крови при физической нагрузке / О.Н. Федотовская, Н.Д. Гольберг, С.И. Глушков, С.Н. Жерегеля, И.И. Ахметов // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2012. - №1(37). – С.110-114.

Публикации в других научных изданиях:

6. Федотовская, О.Н. Полиморфизм С34Т в гене аденозинмонофосфат дезаминазы 1 у жителей Санкт-Петербурга / В.И. Казаков, О.Н. Федотовская, Н.М. Усманова, И.В. Астратенкова, В.А. Рогозкин // Медицинская генетика (Прил.). – 2005. – Т.4. – №5. – С.198.
7. Федотовская, О.Н. Полиморфизм гена АМФ-дезаминазы (*AMPD1*) у спортсменов / О.Н. Федотовская, И.В. Астратенкова, В.А. Рогозкин // Мат. III Всерос. с межд. участием школы-конф. по физиологии мышц и мышеч. деятельности, посвящ. 250-летию МГУ им.М.В.Ломоносова. 1-4 февраля 2005 г. – Москва. – 2005. – С.96.
8. Fedotovskaya, O.N. C34T *AMPD1* gene polymorphism in young athletes / O.N. Fedotovskaya, I.V. Astratenkova, V.A. Rogozkin // 10th Ann. Congress ECSS, July 13-16, 2005, Belgrade, Serbia. Abs. Book. – 2005. – P.52.
9. Федотовская, О.Н. Влияние С34Т полиморфизма в гене АМФ-дезаминазы (*AMPD1*) на физическую работоспособность человека / О.Н. Федотовская // Генетические, психофизические и педагогические технологии подготовки спортсменов. Сб. науч. тр. – СПб. – 2006. – С.74-80.
10. Федотовская, О.Н. Анализ комбинации генетических маркеров мышечной деятельности / И.И. Ахметов, И.В. Астратенкова, А.М. Дружевская, А.И. Комкова, И.А. Можайская, О.Н. Федотовская, В.А. Рогозкин // Генетические, психофизические и педагогические технологии подготовки спортсменов. Сб. науч. тр. – СПб. – 2006. – С.95-102.

11. Fedotovskaya, O.N. Regulation of muscle fiber type composition by gene polymorphisms / I.I. Ahmetov, A.S. Glotov, E.V. Lyubaeva, O.S. Glotov, I.V. Astratenkova, A.M. Druzhevskaya, O.N. Fedotovskaya, V.A. Rogozkin // 11th Ann. Congress ECSS, July 5-8, 2006, Lausanne, Switzerland. Abs. Book. – 2006. – P.253.
12. Федотовская, О.Н. Молекулярная генетика энергообеспечения мышечной деятельности спортсмена / О.Н. Федотовская, И.В. Астратенкова // III Межд. науч. конф. «Актуальные проблемы спортивной морфологии и генетики человека», Москва, 21-22 мая 2009 г. – 2009. – С.184-186.
13. Федотовская, О.Н. Ассоциация A/G полиморфизма гена мышечной креатинкиназы (*СКММ*) с физической работоспособностью спортсменов / О.Н. Федотовская, И.В. Астратенкова // Клинико-лабораторный консилиум. – СПб. – 2010. – №2-3. – С.141-142.
14. Fedotovskaya, O.N. A/G *СКММ* and C/T *AMPD1* gene polymorphisms in elite Russian athletes and response to endurance training / O.N. Fedotovskaya, I.I. Ahmetov, V.A. Rogozkin // Eur J Hum Genet. Supp. 2. – 2011. – V.19.– P.327.
15. Федотовская, О.Н. Полиморфизм гена *G6PC2* у спортсменов / О.Н. Федотовская, А.В. Борисова, И.И. Ахметов // Физкультура в профилактике, лечении и реабилитации. – 2011. – №1-2 (36-37). – С.5-9.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМФД-М	мышечная изоформа аденозинмонофосфатдезаминазы
Г6ФК2	каталитическая субъединица глюкозо-6-фосфатазы 2 типа
ЗМС	заслуженный мастер спорта
КК-М	мышечная изоформа креатинфосфокиназы
КМС	кандидат в мастера спорта
КФ	креатинфосфат
МКТ1	транспортер монокарбоновых кислот 1 типа
VO _{2max}	максимальное потребление кислорода
МПС	максимальная произвольная сила
МС	мастер спорта
МСМК	мастер спорта международного класса
отнVO _{2max}	максимальное потребление кислорода, отнесенное к массе тела
ППС	площадь поперечного сечения
<i>AMPD1</i>	AMP-Deaminase muscle isoform gene (ген мышечной изоформы аденозинмонофосфат дезаминазы человека)
<i>СКММ</i>	Creatine Kinase Muscle isoform gene (ген мышечной изоформы креатинфосфокиназы человека)
<i>Скmm</i>	Creatine Kinase Muscle isoform gene (ген мышечной изоформы креатинфосфокиназы мышцы)
<i>G6PC2</i>	Glucose-6-Phosphatase Catalytic subunit 2 gene (ген каталитической субъединицы глюкозо-6-фосфатазы 2 типа человека)
<i>МСТ1</i>	MonoCarboxylate Transporter 1 (ген транспортера монокарбоксилатов 1 типа человека)
W _{max}	максимальная мощность