

конф. / Казанский нац. исслед. техн. ун-т им. А.Н. Туполева. – Казань, 2012. – С. 269-272.

REFERENCES

1. Verkhoshansky, Yu.V. (1988), *Bases of special physical preparation of athletes*, Physical culture and sport, Moscow.
2. Kamalyaev, V.M., Khoroshilov S.A. and Sokunova S.F. (2012), “Features fitness novice bodybuilders at separate training”, *Uchenye zapiski universiteta imeni P.F. Lesgafta*, Vol. 88, No. 6, pp. 53-56.
3. Kosikhin, V.P. (2009), “Technologies of management of training of athletes all-rounders in hopping types of all-round”, *Uchenye zapiski universiteta imeni P.F. Lesgafta*, Vol. 48, No. 2, pp. 35-40.
4. Certificate of state registration of the computer №2013613088 “Muscle Training Systems” on March 25, 2013, available at: <http://www.fips.ru/cdfi/Fips2009.dll/CurrDoc?SessionKey=QCG9TENOS2LKL5RCKNT0&GotoDoc=1&Query=1>
5. McDougall, J.D. (Ed.), Uengera, G.E. (Ed.), Green, G.J. (Ed.) (1998), *Physiological testing of high-class athlete*, Olympic Books, Kiev.
6. Khoroshilov, S.A. and Sokunova S.F. (2011), “Analysis of the application of computer technology at the inception of bodybuilders”, Proceedings of the IV All-Russian conference with international participation “Medical and physiological problems of human ecology”, *Ulyanovsk State University*, Ulyanovsk, pp.286-287.
7. Khoroshilov, S.A. and Sokunova, S.F. (2012), “Features choice of training methods for novice bodybuilders”, *All-Russian (with int. Distr.) Scientific-Practical. conference. “Physical Education and Sport Students: Problems implementing the strategy of development”*, Kazan National Research tech. Univ them. Tupolev A.N., Kazan, pp. 269-272.

Контактная информация: soksf@mail.ru

Статья поступила в редакцию 19.05.2015.

УДК 796.01:575

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ С АКТИВНОСТЬЮ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ У СТУДЕНТОВ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РОССИИ, ЗАНИМАЮЩИХСЯ АЭРОБНЫМИ ВИДАМИ СПОРТА

Анна Владимировна Кьергаард, кандидат биологических наук, **Роза Борисовна Цаллагова**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой, Национальный государственный университет физической культуры, спорта и здоровья имени П.Ф. Лесгафта, Санкт-Петербург (НГУ им. П.Ф. Лесгафта, Санкт-Петербург); **Олег Сергеевич Глотов**, кандидат биологических наук, **Андрей Сергеевич Глотов**, кандидат биологических наук, Санкт-Петербургский государственный университет; **Владимир Степанович Пакин**, клинический ординатор, Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта Северо-Западного отделения РАМН, Санкт-Петербург

Аннотация

Результаты генетического и биохимического исследования 136 студентов, занимающихся аэробными видами спорта, показали, что полиморфные варианты генов ренин-ангиотензиновой системы *REN* (I9-83G>A), *ACE* (I/D) и *AGTR1* (1166A>C) влияют на функциональную активность ряда наиболее важных ферментов антиоксидантной системы. В статье рассматриваются перспективы использования анализа полиморфных генов ренин-ангиотензиновой системы для оценки антиоксидантного статуса и адаптационного потенциала спортсменов.

Ключевые слова: мониторинг здоровья, генетическое тестирование, генетический полиморфизм, ренин-ангиотензиновая система, антиоксидантные ферменты, студенты.

ASSOCIATION OF THE RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM GENE POLYMORPHISM WITH THE ACTIVITY OF ANTIOXIDATIVE FERMENTS IN THE GOING IN FOR AEROBIC SPORTS STUDENTS OF THE NORTH-WESTERN REGION OF RUSSIA

Anna Vladimirovna Kergaard, the candidate of biological sciences, Roza Borisovna Tsallagova, the doctor of medical sciences, professor, department chair, The Lesgaft National State University of Physical Education, Sport and Health, St. Petersburg; Oleg Sergeevich Glotov, the candidate of biological sciences, Andrey Sergeevich Glotov, the candidate of biological sciences, St. Petersburg State University; Vladimir Stepanovich Pakin, the medical resident, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS, St. Petersburg

Annotation

The genetic and biochemical study performed in 136 students going in for aerobic sports shows that polymorphisms in the renin-angiotensin system genes *REN* (19-83G>A), *ACE* (I/D) and *AGTR1* (1166A>C) are associated with activity of the key ferments of the antioxidative stress system. The prospects of the analysis of the polymorphic renin-angiotensin system genes for the estimation of antioxidant status and adaptive capacity of the sportsmen are considered in this article.

Keywords: health monitoring, genetic testing, gene polymorphism, renin-angiotensin system, antioxidative ferments, students.

ВВЕДЕНИЕ

В процессе адаптации человека к физическим нагрузкам ключевую роль играет способность его антиоксидантной системы (АОС) к обезвреживанию реакционно-активных форм кислорода, которые возникают при сокращении скелетных мышц и могут повреждать биологические структуры, приводя к окислительному стрессу. Она находится под контролем ренин-ангиотензиновой системы (РАС), относящейся к числу основных регуляторных систем организма [4, 8, 10].

Наследственно обусловленные особенности АОС и РАС определяются генетическим полиморфизмом, то есть наличием двух и более альтернативных вариантов гена, встречающихся в популяции с частотой не менее 1÷5% [1, 3]. Несмотря на большое число работ, посвященных изучению роли тех или иных полиморфных аллелей в генных сетях отдельно взятых метаболических систем, на данный момент явно недостаточно исследован вклад генетического полиморфизма в сложные межсистемные взаимодействия [5, 6, 8, 9]. Поэтому весьма актуальным представляется изучение молекулярно-генетических и биохимических особенностей указанных систем, а также механизмов их взаимного влияния в ходе совместного функционирования в организме человека [3, 4].

АОС включает в себя большое количество звеньев, имеющих как ферментативную, так и не ферментативную природу. Ключевую роль в работе АОС играют антиоксидантные ферменты – супероксиддисмутаза, каталаза и глутатионпероксидаза [10]. Поэтому целью данного исследования стало изучение ассоциации полиморфизма генов РАС и функциональной активности данных ферментов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

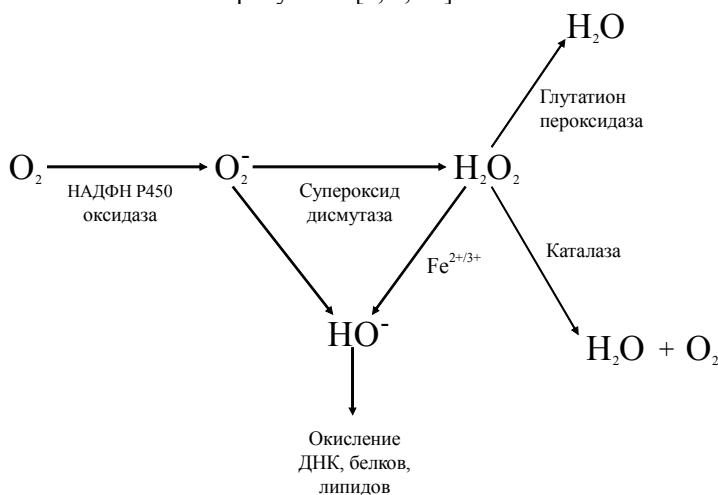
Группа обследуемых состояла из 136 студентов 1 курса СПбГУ мужского и женского пола (средний возраст $18,5 \pm 1,8$ лет), проживающих на территории Северо-Западного региона России и занимающихся различными аэробными видами спорта (плаванием, велосипедным спортом, аэробикой и игровыми видами спорта – большим теннисом, футболом, баскетболом, волейболом). Все участники исследования подписали информированное согласие на участие в НИР и заполнили анкеты. Анкетирование обследуемых с тщательным сбором анамнеза жизни и наследственного анамнеза являлось важным этапом проведения исследования. Также в обследуемой группе было выполнено

определение функциональной активности ферментов АОС в плазме венозной крови.

Образцы ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови фенольным методом. Для исследования полиморфных вариантов генов были использованы методы ПЦР и гибридизации на ДНК-биочипах. В панели генетических тестов были включены полиморфные варианты генов REN (I9-83G>A), AGT (M235T), ACE (I/D), AGTR1 (1166A>C), AGTR2 (3123C>A). Анализ образцов ДНК методом гибридизации на ДНК-биочипах включал в себя следующие этапы: проведение первого раунда мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР), проведение второго раунда мультиплексной ПЦР, гибридизацию меченого продукта на микрочипе и интерпретацию результатов гибридизации. Точечно-бисериальный коэффициент и значение t-критерия Стьюдента вычисляли по стандартным формулам [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Центральную роль в работе АОС играют антиоксидантные ферменты, функции которых схематично показаны на рисунке 1 [4, 8, 10].



Условные обозначения: O_2^- – супероксид-анион; OH^- – гидрокси-анион; H_2O_2 – перекись водорода
Рисунок 1. Механизм образования и утилизации активных форм кислорода при участии ферментов АОС.

К числу свободных радикалов относятся активные формы кислорода (супероксид-анион, гидрокси-анион, оксид азота ($NO^\bullet$), перекись водорода, пероксинитрит, гипохлорная кислота), а также окисленные липопротеиды низкой плотности. Следует отметить, что продукция какого-либо одного свободного радикала может вызывать образование нескольких других. В условиях нормальной жизнедеятельности организма некоторые свободные радикалы выполняют регуляторные функции и имеют определенное адаптационно-компенсаторное значение. Однако их избыточная продукция преодолевает защитные механизмы антиоксидантной системы и становится сильным патогенным фактором, подвергая окислению и нарушая функции таких биологических макромолекул, как ДНК, белки, липиды [8, 9].

При физических нагрузках антиоксидантная защита организма осуществляется посредством скоординированного взаимодействия ферментов АОС, а также буферной емкости неферментативной компоненты редокс-гомеостаза, включающей низкомолекулярные антиоксиданты, витамины и микроэлементы [4, 10].

Как представлено в таблице 1, нами выявлена ассоциация аллельного полиморфизма трех исследованных генов РАС с функциональной активностью ферментов АОС у студентов Северо-Западного региона РФ, занимающихся аэробными видами спорта.

Таблица 1

Взаимосвязь (ассоциация, корреляция) между аллельным полиморфизмом генов РАС и функциональной активностью ферментов АОС в исследуемой выборке

Параметр	Ген	Генотип	Частота встречаемости генотипа	гpb	t-value (t-crit = 1,97)
Активность супероксид-дисмутазы	AGTR1	C/C	0,55	-0,20	2,11
		A/C	0,40	0,22	2,20
	ACE	I/I	0,29	-0,25	2,65
Активность каталазы	REN	G/G	0,61	-0,25	2,54
		G/A	0,33	-0,20	2,02
Активность глутатион-пероксидазы	REN	G/G	0,61	-0,26	2,67
Условные обозначения: гpb – точно-бисериальный коэффициент; t-value – коэффициент Стьюдента.					

Результаты многочисленных зарубежных и отечественных исследований показывают, что нарушения в функционировании АОС могут приводить к сбоям в работе механизмов адаптации и лежать в основе практически всех известных сегодня мультифакториальных заболеваний. К ним относятся более 100 нозологических форм, таких как гипертоническая болезнь, атеросклероз, сахарный диабет, бронхиальная астма, обструктивная болезнь легких, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, злокачественные новообразования, психические заболевания и многие другие [10].

Поэтому в задачи данного исследования входило изучение влияния генетических факторов, в частности, полиморфизма генов РАС, на функциональную активность ферментов АОС. Полученные результаты показаны в таблице 2.

Таблица 2

Влияние аллельного полиморфизма генов РАС на функциональную активность ферментов АОС у студентов Северо-Западного региона РФ, занимающихся аэробными видами спорта

Ген	Генотип	Влияние на активность фермента АОС		
		Супероксид-дисмутаза	Каталаза	Глутатион-пероксидаза
REN	G/G	-	↓	↓
	G/A	-	↓	-
ACE	I/I	↓	-	-
AGTR1	A/C	↑	-	-
	C/C	↓	-	-
Условные обозначения: ↓ – повышение активности по сравнению со средним значением, $P < 0,05$ ↑ – понижение активности по сравнению со средним значением, $P < 0,05$.				

Ниже приведено краткое описание генов, для полиморфных вариантов которых нами обнаружены ассоциации с функциональной активностью ферментов АОС.

Ген ренина (REN) находится на длинном плече 1-й хромосомы, в локусе 1q32, содержит 9 экзонов. Ренин является одним из основных регуляторов артериального давления – катализирует превращение ангиотензиногена в ангиотензин, то есть активирует ренин-ангиотензиновый каскад [3]. В нашем исследовании показано, что у гомозигот по G-аллелю снижена активность каталазы и глутатионпероксидазы, а у гетерозигот GA – только глутатионпероксидазы.

Ген ангиотензинпревращающего фермента (ACE) локализован в локусе 17q23.3. Ангиотензинпревращающий фермент (АПФ) представляет собой ключевое звено в поддержании равновесия между факторами вазоконстрикции и вазодилатации. Он гидролизует декапептидный прекурсор ангиотензин-I в вазопрессор ангиотензин-II, играет важную роль в поддержании баланса электролитов и регуляции артериального давления, а также влияет на фибринолиз, активацию и агрегацию тромбоцитов [3].

В настоящее время известно более двух десятков полиморфных вариантов этого гена, однако функционально наиболее значимым является инсерционно-делеционный

полиморфизм в 16-м интроне (I/D), который обусловлен наличием или отсутствием Alu-повтора. Аллель I ассоциирован с повышенной устойчивостью организма к физическим нагрузкам. Выявлено, что наличие в генотипе женщины аллеля I положительно влияет на эффективность тренировки мышц (она оказалась в 2 раза выше у женщин с генотипом I/I, чем с генотипом D/D) в ответ на физические нагрузки, на фоне гормональной терапии. Исследования также показывают, что в выборках высококлассных спортсменов-стайеров частота аллеля I, ассоциированного с выносливостью, выше среднепопуляционного значения [2].

Ассоциация D/D-генотипа с гипертрофией левого желудочка сильнее у мужчин, чем у женщин, таким образом, инсерционно-делеционный полиморфизм гена ACE может выступать в качестве маркера риска развития гипертрофии левого желудочка у мужчин среднего возраста [1].

Установлено, что уровень АПФ в сыворотке крови у здоровых людей, гомозиготных по I-аллелю, в 2 раза ниже, чем у гомозигот по D-аллелю, и имеет среднее значение у гетерозигот. В нашем исследовании показано, что у гомозигот по I-аллелю снижена активность супероксиддисмутазы.

Ген рецептора ангиотензина II 1-го типа (**AGTR1**) локализован на длинном плече 3-й хромосомы и содержит 5 экзонов. Он кодирует один из четырех основных рецепторов ангиотензина II. Основная биологическая роль этого гена, как и других компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы заключается в контроле и регуляции кровяного давления. Полиморфизм приводящий к замене в 1166 позиции A>C изменяет структуру регуляторного *cis-элемента* гена что ведет к усиленной экспрессии гена AGTR1. Во многих исследованиях показана ассоциация генотипа C/C гена AGTR1 с предрасположенностью к АГ и другим кардиоваскулярным заболеваниям, однако не все работы подтверждают такую зависимость [3]. Согласно полученным нами данным, у гомозигот по C-аллелю снижена активность супероксиддисмутазы, а у гетерозигот AC она повышена. Таким образом, наличие ДНК-полиморфизмов в структуре генов PAC, затрагивающих экспрессию генов AOC, вносит свой вклад в формирование уникальности каждого человека в отношении активности свободнорадикальных процессов. Учет влияния аллельного полиморфизма генов PAC на формирование антиоксидантного статуса и адаптационного потенциала спортсменов позволит индивидуализировать тренировочный процесс и объем мероприятий постнагрузочного восстановления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахметов, И.И. Молекулярная генетика спорта : монография / И.И. Ахметов. – М. : Советский спорт, 2009. – 268 с.
2. Ахметов, И.И. Молекулярно-генетические маркеры предрасположенности к различным видам спорта / И.И. Ахметов // Ученые записки университета имени П.Ф. Лесгафта. – 2010. – № 7 (65). – С. 3-6.
3. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / под ред. В. С. Баранова. — СПб. : ООО «Изд-во Н-Л», 2009. – 528 с.
4. Исследование корреляции полиморфных вариантов генов ренин-ангиотензиновой системы с активностью антиоксидантных ферментов у студентов Северо-Западного региона России / А.В. Кьергаард, О.С. Глозов, В.С. Пакин, Л.В. Шадрин, М.М. Данилова, А.С. Глозов // Материалы IV Международной научно-практической конференции «Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине». Казань, Россия, (29 октября – 1 ноября 2014 г.). – Казань, 2013. – С. 263.
5. Кьергаард, А.В. Молекулярно-генетические методы в прогнозировании и повышении работоспособности у спортсменов / А.В. Кьергаард // Методы оценки и повышения работоспособности у спортсменов : материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (13-14 июня 2013 г.). – СПб., 2013. – С. 44-47.
6. Кьергаард, А.В. Применение молекулярно-генетических методов в комплексе мер по сохранению и укреплению здоровья студентов / А.В. Кьергаард // Сборник трудов VII Санкт-

Петербургского Конгресса «Профессиональное образование, наука, инновации в XXI веке» (СПб., 27-28 ноября 2013 г.). – СПб., 2013. – С. 309.

7. Лакин, Г.Ф. Биометрия : учеб. пособие для биол. специальностей вузов / Г. Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1990. – 351 с.

8. Метельская, В.А. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова // Лабораторная медицина. – 2005. – № 7. – С. 19-24.

9. Молекулярно-генетические подходы к мониторингу здоровья студентов / В.С. Пакин, О.С. Глотов, А.В. Кьергаард, С.Ш. Намозова, Л.В. Шадрин, А.С. Глотов, В.С. Баранов // Материалы Всероссийской с международным участием научно-практической конференции «Актуальные вопросы спортивной медицины и лечебной физической культуры», посвященной 135-летию юбилею профилактической медицины в физической культуре России (СПб., 13-14 декабря 2013 г.). – СПб., 2013. – С. 66-71.

10. Солодилова, М.А. Вовлеченность полиморфизма ферментов антиоксидантной системы в формирование предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям человека : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Солодилова М.А. – М., 2009. – 49 с.

REFERENCES

1. Ahmetov, I.A. (2009), *Molecular genetics of sports: monograph*, Soviet sport, Moscow.
2. Ahmetov, I.A. (2010), "Molecular genetic markers of predisposition to different kinds of sports", *Uchenye zapiski universiteta imeni P.F. Lesgafta*, Vol. 65, No. 7, pp.3-6.
3. Ed. Baranov, V.S. (2009), *Genetic passport – the basis of individual and predictive medicine*, publishing house "N-L", Ltd, St. Petersburg.
4. Kergaard, A.V., Glotov, O.S., Pakin, V.S., Shadrin, L.V., Danilova, M.M. and Glotov, A.S. "Correlation study of polymorphic variants of genes of the renin-angiotensin system with the activity of antioxidant enzymes in the students of the North-West region of Russia", *Proceedings of the IV International scientific and practical conference "Post-genomic analysis methods in biology, laboratory and clinical medicine."* Kazan, Russia, October 29 - November 1, 2014, p.263.
5. Kergaard, A.V. (2013), "Molecular genetic methods in predicting and improving performance in athletes", *Methods for evaluating and improving performance in athletes: Proceedings of the All-Russian scientific-practical conference with international participation. (13-14 June 2013)*, publishing house Mechnikov Northwest State Medical University, St. Petersburg, pp.44-47.
6. Kergaard, A.V. (2013), "The use of molecular genetic methods in the complex of measures to preserve and strengthen the health of students", *Proceedings of the VII Congress of the St. Petersburg "Vocational education, science and innovation in the twenty-first century" (November 27-28, 2013)*, St. Petersburg, pp. 309.
7. Lakin, G. F. (1990), *Biometry: a manual for biol. spec. universities*, High School, Moscow.
8. Metelskaya, V.A. and Gumanova, N.G. (2005), "Nitric oxide: role in the regulation of biological functions, methods of its determining in a person's blood", *Lab. Medicine*, No. 7, pp.19-24.
9. Pakin, V.S., Glotov, O.S., Kergaard, A.V., Namozova, S.S., Shadrin, L.V., Glotov, A.S. and Baranov, V.S. (2013), "Molecular genetic approaches to monitoring the health of students", *Proceedings of the All-Russian with international participation scientific-practical conference "Actual problems of sports medicine and physical culture", dedicated to the 135th anniversary of Preventive Medicine in Physical Culture of Russia (St. Petersburg., 13-14 December 2013)*, pp.66-71.
10. Solodilova, M.A. (2009), *Involvement of polymorphism of antioxidant enzymes in the formation of predisposition to human multifactorial diseases*, dissertation, St. Petersburg.

Контактная информация: anna_kyergaard@mail.ru

Статья поступила в редакцию 21.03.2015.