

Министерство спорта Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ФИЗИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ»
(ФГБУ СПбНИИФК)

УДК 796.015:642

№ гос.регистрации 01201250971

Инв.№ ГЗ.2012-07

УТВЕРЖДАЮ

Зам.директора по НИР
д-р техн.наук, профессор

_____ К.Г.Коротков

О Т Ч Е Т
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

Разработка и модификация методов определения полиморфизма
новых генов. Оценка пищевого статуса спортсменов высокого класса
зимних видов спорта

по теме
РАЗРАБОТКА ПРОГРАММ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ
СПОРТСМЕНОВ В РАЗНЫХ ВИДАХ СПОРТА
С УЧЕТОМ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ОРГАНИЗМА
СПОРТСМЕНОВ ВЫСОКОГО КЛАССА

(промежуточный)

Руководитель темы -
канд.биол.наук, доцент

_____ Н.Д.Гольберг
подпись, дата

Санкт-Петербург 2012

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель темы - канд.биол.наук, доцент	_____	Н.Д.Гольберг (введение, разделы 1. 2 и 3, заключение)
	подпись, дата	
Зав. сектором, докт.мед.наук	_____	С.И. Глушков (раздел 2.2)
	подпись, дата	
Научный сотрудник канд.биол.наук	_____	А.М.Дружевская (разделы 2.1, 3.1)
	подпись, дата	
Научный сотрудник канд.мед.наук	_____	С.Н.Жерегеля (раздел 2.1)
	подпись, дата	
Мл.научный сотрудник	_____	О.Н.Федотовская (разделы 1, 3.1, 3.2)
	подпись, дата	
Мл. научный сотрудник	_____	В.С. Козицина (раздел 2.2)
	подпись, дата	
Лаборант-исследователь	_____	В.В.Сабурова (разделы 2.1, 3.3)
	подпись, дата	
Инженер	_____	Б.Г.Макаров (разделы 2.2, 3.3)
	подпись, дата	
Нормоконтролер	_____	В.П.Киселева
	подпись, дата	

РЕФЕРАТ

Отчет 61 с., 12 табл., 2 рис., 41 источник, 1 прил.

МЫШЕЧНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ, ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ, БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ЗДОРОВЬЕ, ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ, ПИЩЕВОЙ СТАТУС

Объект исследования: генетические полиморфизмы, ассоциируемые с особенностями метаболизма.

Цель. Разработать программы функционального питания спортсменов высокого класса с учетом метаболических особенностей вида спорта, уровня спортивного мастерства и генетических особенностей организма

Методы исследования: анализ современной литературы, молекулярно-генетический анализ, биохимические методы исследований, оценка физической работоспособности, оценка фактического питания.

Результаты. Впервые проанализированы полиморфизмы генов *AMPD1*, *G6PC2*, *MCT1*, *IRS1* и *EPOR*, белковые продукты которых участвуют в энергообеспечении мышечной деятельности и обмене веществ, у российских спортсменов и в контрольных выборках. Обнаружены ассоциации генотипов CC гена *AMPD1*, AA гена *MCT1* и GG гена *G6PC2* – с предрасположенностью к проявлению высокой физической работоспособности и GG генотипа гена *EPOR* с предрасположенностью к проявлению выносливости. Обнаружена ассоциация CC генотипа гена *AMPD1*, и GG генотипа гена *EPOR* с бóльшими значениями аэробной мощности (по VO_{2max}) у лыжников-гонщиков и биатлонистов. Показано, что А аллель гена *G6PC2* с менее значимым приростом концентрации глюкозы крови и А аллель гена *MCT1* связан с меньшим уровнем лактата в крови у спортсменов-мужчин при предельной физической нагрузке до отказа.

Результаты исследования могут быть использованы в системе подготовки спортсменов команд различного уровня и при организации питания в условиях тренировочного процесса, сборов и соревнований.

СОДЕРЖАНИЕ

	С.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	6
1 АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР	8
1.1 Генетические маркеры физической активности	8
1.2 Полиморфизм генов – кандидатов оценки физической работоспособности спортсменов	12
2 МЕТОДЫ И ОРГАНИЗАЦИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ	19
2.1 Методы исследования	19
2.2 Организация исследования	21
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	24
3.1 Результаты генотипирования спортсменов и лиц контрольной группы	24
3.2 Ассоциация полиморфизмов генов с функциональными и метаболическими показателями спортсменов	30
3.3 Оценка пищевого статуса спортсменов по анализу фактического питания	35
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	38
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	40
Приложение А ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ В СПОРТЕ: МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	45

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМФД –	фермент аденозинмонофосфатдезаминаза
Г6ФК2 –	каталитическая субъединица глюкозо-6-фосфатазы 2 типа
ГЛЮТ –	глюкозный транспортер
ДНК –	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИПРФ1 –	инсулиноподобный фактор роста-1
МКТ1–	транспортер монокарбоксилатов 1 типа
ПАНО–	порог анаэробного обмена
ПДРФ–	полиморфизм длин рестрикционных фрагментов
ПНЖК –	полиненасыщенные жирные кислоты
ПЦР –	полимеразная цепная реакция
ТГ –	триглицериды
ФИЗК –	фосфатидилинозитол-3-киназа
ФН –	физическая нагрузка
<i>AMPD1</i> –	ген мышечной изоформы аденозинмонофосфатдезаминазы человека
BLAST –	семейство компьютерных программ для поиска нуклеотидных последовательностей
<i>G6PC2</i> –	ген каталитической субъединицы глюкозо-6-фосфатазы 2 типа
ЕРО –	гормон эритропоэтин
ЕРОR–	рецептор эритропоэтина
<i>EPOR</i> –	ген рецептора эритропоэтина
Нb	гемоглобин
IRS-1 –	субстрат инсулинового рецептора 1 типа
<i>IRS-1</i> –	ген субстрата инсулинового рецептора 1 типа
<i>MCT1</i> –	ген транспортера монокарбоксилатов 1 типа
VO ₂ max–	максимальное потребление кислорода
VO ₂ ПАНО –	потребление кислорода на уровне мощности ПАНО

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие в связи с расшифровкой структуры генома человека появилась возможность определения генетических маркеров, ассоциированных с развитием и проявлением физических качеств, а также с биохимическими, антропометрическими и физиологическими показателями, значимыми в условиях спортивной деятельности. Главным преимуществом молекулярно-генетического метода выявления наследственной предрасположенности человека к двигательной деятельности является высокая информативность при оценке потенциала развития физических качеств и возможность осуществления ранней диагностики. К отличительным свойствам такой диагностики также следует отнести возможность определения наследственной предрасположенности к развитию профессиональных патологий – факторов, лимитирующих физическую работоспособность человека и ухудшающих его качество жизни.

Расшифровка генома человека положила основу инновационным направлениям в нутрициологии – нутригеномики и нутригенетики. Нутригеномика описывает влияние компонентов пищи на экспрессию гена. Нутригенетика стремится понять, как генетический статус человека координирует ответ организма на пищу и позволяет определить оптимальную диету для конкретного человека на основе его генотипа. Определение генетических особенностей метаболизма и предрасположенности к мышечной деятельности у спортсменов различных видов спорта является современным научно обоснованным подходом к организации питания спортсменов, позволяющим повысить уровень адаптации к мышечной деятельности и сохранить и укрепить здоровье спортсмена.

Цель исследования - разработать программы функционального питания спортсменов высокого класса с учетом метаболических особенностей вида спорта, уровня спортивного мастерства и генетических особенностей

организма.

Задачи исследования на 2012 год:

1) на основе анализа современной литературы провести информационный поиск и определить гены-кандидаты, полиморфизм которых может быть ассоциирован с проявлением и развитием двигательных качеств, особенностями энергетического и пластического обмена и усвоения пищевых веществ;

2) разработать и модифицировать методы определения полиморфизма новых генов, проанализировать полиморфные варианты выбранных генов и провести исследования контрольной группы для оценки частот распределения генотипов и аллелей выбранных генов среди населения России;

3) определить распределение частот генотипов и аллелей у спортсменов зимних видов спорта, сравнить их с данными контрольной группы;

4) провести оценку пищевого статуса спортсменов зимних видов спорта.

1 АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

1.1 Генетические маркеры физической активности

Известно, что геном человека включает примерно 21 000 белок-кодирующих генов, однако в функциональном плане расшифрована лишь небольшая часть генома человека, что указывает на относительность нашего понимания его устройства и работы, а также на необходимость дальнейшего увеличения объема исследований в области функциональной геномики, сейчас активно продолжается поиск генов и их вариантов, связанных с проявлением различных физических качеств [1]. Результаты многочисленных исследований указывают на важную роль генетических факторов наряду с эпигенетическим воздействием и факторами внешней среды в детерминации индивидуальных различий в развитии, проявлении физических качеств и адаптационных возможностей человека.

Последняя генетическая карта, обобщающая работы по генетике физической активности, включала полиморфизмы 239 генов и локусов количественных признаков, для которых были показаны ассоциации с развитием и проявлением физических качеств человека, а также морфофункциональными признаками и биохимическими показателями, изменяющимися под воздействием физических нагрузок различной направленности. Однако лишь некоторые из этих полиморфных маркеров ассоциируются с достижением успеха в спорте высших достижений [2]. Были выявлены многочисленные ядерные и митохондриальные ДНК-маркеры, тесно связанные с гемодинамическими признаками и показателями физической работоспособности [2, 3].

Одним из методов обнаружения информативных полиморфных локусов считается анализ ассоциации полиморфизмов генов-кандидатов с различными физическими качествами. Этот вид поиска полиморфных генов-кандидатов и их использование в изучении генетической

предрасположенности к выполнению различных физических нагрузок основан на знании молекулярных механизмов мышечной деятельности и предположении, что полиморфизм данного гена может повлиять на уровень метаболических процессов в организме.

Основываясь на ассоциации полиморфизма гена с определенными физическими признаками, изучаемый генотип может быть отнесен к генетическим маркерам предрасположенности к проявлению выносливости или быстроты/силы, либо смешанных физических качеств [1]. В таблице 1 представлены генетические маркеры, локализованные в аутосомных генах, митохондриальной ДНК (мтДНК) и Y-хромосоме, для которых показана ассоциация со спортивной деятельностью человека.

Анализ влияния тренировки на изменения физических качеств выявил большие различия между индивидами с различными генотипами [4]. Поэтому, помимо генетических маркеров, ассоциированных со спортивной деятельностью, выделяют также генетические маркеры тренируемости физических качеств.

Концепция вариативности в способности человека реагировать на выполнение физической нагрузки была предложена почти 30 лет назад на основе результатов исследований, проведенных в лаборатории К.Бушара в университете Лавалья (Laval University) в Квебеке. Было показано, что между людьми существуют большие различия в ответе на тренировку, то есть в тренируемости, по всем исследуемым параметрам, (максимальное потребление кислорода (VO_{2max}), субмаксимальная физическая нагрузка, потенциальные окислительные показатели скелетных мышцах и маркеры мобилизации и хранения липидов в жировой ткани [5].

Близнецовые исследования, проведенные на основе разных тренировок, которые отличались по продолжительности, интенсивности и контролю за диетой выявили, что коэффициенты внутригрупповой корреляции в различии ответа на тренировку по VO_{2max} между парами составили от 0,44 до 0,77.

Таблица 1 – Генетические маркеры, ассоциированные со спортивной деятельностью

Ген	Локализация	Полиморфизм	Маркер выносливости или быстроты/силы
<i>Генетические варианты, ассоциированные с проявлением выносливости</i>			
ACE	17q23.3	Alu I/D	I
ADRA2A	10q24-q26	6.7/6.3 K6	6.7 K6
ADRB2	5q31-q32	Gly16Arg (rs1042713 G/A)	16Arg
AMPD1	1p13	Gln12Ter (rs17602729 C/T), C34T	Gln12
BDKRB2	14q32.1-q32.2	+9/-9 п.н.	-9 п.н.
EPAS1 (HIF2A)	2p21-p16	rs1867785 A/G	rs1867785 G
		rs11689011 C/T	rs11689011 T
EPOR	19p13.3-p13.2	(GGAA) _n повторы	185 п.н.
GNB3	12p13	rs5443, C/T	rs5443 T
HFE	6p21.3	His63Asp (rs1799945 C/G)	63Asp
HIF1A	14q21-q24	Pro582Ser (rs11549465 C/T)	Pro582
KCNJ11	11p15.1	Glu23Lys (rs5219 C/T)	Glu23
Локусы мтДНК	мтДНК	Гаплогруппы, состоящие из нескольких полиморфизмов мтДНК	Благоприятные: H и L0 Неблагоприятные: K, J2, T и L3*
NFATC4	14q11.2	Gly160Ala (rs2229309 G/C)	Gly160
NOS3	7q36	Glu298Asp (rs1799983 G/T)	Glu298
		(CA) _n повторы	164 п.н.
		27 п.н. повторы (4B/4A)	4B
PPARA	22q13.31	rs4253778 G/C	rs4253778 G
PPARD	6p21.2-p21.1	rs2016520 T/C	rs2016520 C
PPARGC1A	4p15.1	Gly482Ser (rs8192678 G/A)	Gly482
PPARGC1B	5q33.1	Ala203Pro (rs7732671 G/C)	203Pro
		Arg292Ser (rs11959820 C/A)	292Ser
PPP3R1	2p15	Промотор 5I/5D	5I
TFAM	10q21	Ser12Thr (rs1937 G/C)	12Thr
UCP2	11q13	Ala55Val (rs660339 C/T)	55Val
UCP3	11q13	rs1800849 C/T	rs1800849 T
VEGFA	6p12	rs2010963 G/C	rs2010963 C
VEGFR2 (KDR)	4q11-q12	His472Gln (rs1870377 T/A)	472Gln
Y-хромосома	Y	Гаплогруппы Y-хромосомы	Благоприятные: E*, E3* и K*(xP)
			Неблагоприятные: E3b1
<i>Генетические варианты, ассоциированные с проявлением быстроты/силы</i>			
ACE	17q23.3	Alu I/D	D
ACTN3	11q13.1	Arg577Ter (rs1815739 C/T)	Arg577
AR	Xq11.2-q12	(CAG) _n	L (n ≥ 22)
HIF1A	14q21-q24	Pro582Ser (rs11549465 C/T)	582Ser
PPARA	22q13.31	rs4253778 G/C	rs4253778 C
PPARG	3p25	Pro12Ala (rs1801282 C/G)	12Ala

Это указывает на то, что генотип человека играет важную роль в определении амплитуды тренируемости VO_{2max} [5, 6]. Результаты исследования HERITAGE показали, что максимальный прирост VO_{2max} после тренировки составил от 25 до 55 %, максимальной мощности – от 60 до 80 %. Наследуемость субмаксимальной ЧСС во время выполнения физической нагрузки, ударного объема и сердечного выброса на уровне мощности 50 Вт в ответ на тренировку на выносливость составила около 35 % [7].

Помимо вопросов поиска генетических маркеров, существует проблема классификации аллелей в отношении их эффекта на определенный фенотип мышечной деятельности. Некоторые полиморфные варианты генов обладают множественным влиянием (явление плейотропии), другие воздействуют только на один признак. Также необходимо учитывать, что в процесс мышечной деятельности вовлечено множество полиморфных генов, каждый из которых в отдельности вносит лишь небольшой вклад (в среднем до 0.1 %) в общее развитие физических качеств человека [8, 9, 10].

Выявлено аддитивное влияние полиморфизмов десяти генов с показателями успешности спортсменов, тренирующих выносливость [8]. Такой вывод был подкреплён результатами исследования влияния рассмотренных полиморфизмов на характеристики промежуточных фенотипов (VO_{2max} , состав МВ), определяющих в итоге предрасположенность человека к занятиям спортом. Все эти исследования подтверждают комплексное влияние полиморфизмов генов на формирование признаков, характеризующих двигательную функцию человека.

В процессе тренировок различной направленности отмечается существенное изменение мощности и емкости механизмов энергообеспечения. Это связано со структурными и функциональными изменениями мышечной ткани, что является результатом повышения или понижения экспрессии многих генов, продукты которых участвуют в процессах адаптации к постоянным тренировочным воздействиям. В исследовании, проведенном N.K.Stepto с коллегами, было показано, что в

m. vastus lateralis квалифицированных спортсменов происходит изменение экспрессии более 250 генов в ответ на систематические физические нагрузки аэробного или анаэробного характера.

Активация «ранних» генов вызывает изменения транскрипции структурных и других генов-мишеней, экспрессия которых может поддерживаться в течение нескольких дней. Повторение интенсивных упражнений влечет за собой стойкие изменения в концентрации мРНК белков, а затем и количественные изменения самих белков.

Исходя из вышеизложенного, нами был проведен поиск генов-предикторов физической активности и особенностей метаболических реакций у спортсменов.

1.2 Полиморфизм генов-кандидатов оценки физической работоспособности спортсменов

Мышечная форма аденозинмонофосфатдезаминазы (АМФД-М) является важным регулятором метаболизма мышечной энергии при физической нагрузке. АМФД-М, катализируя реакцию дезаминирования, является одним из интегральных ферментов цикла пуриновых нуклеотидов, который играет важную роль в метаболизме адениловых нуклеотидов и определяет энергетический потенциал клетки [11]. В покоящейся мышце более 90 % АМФД-М находится в саркоплазме в несвязанном с миозином неактивном состоянии. В процессе энергичного сокращения мышцы 50-60 % АМФД-М связываются с миофибриллами. При неизменном уровне общей активности в период отдыха доля связанного фермента возвращается к исходному уровню [12].

Специфичная для скелетных мышц АМФД-М кодируется геном *AMPD1*, локализованном в коротком плече первой хромосомы (1p13.1).

При проведении биопсии мышечной ткани обнаружено, что в ~ 2 % образцов существует пониженная активность АМФД-М, или фермент

вообще не активен [13]. Индивиды, имеющие пониженную активность АМФД-М, могут испытывать слабость, быструю утомляемость даже после средней по интенсивности физической нагрузки [14]. Причиной большинства случаев недостатка АМФД-М у человека является однонуклеотидная замена цитозина на тимин в 34-ом положении кодирующей последовательности во втором экзоне гена *AMPD1*, в результате чего глутаминовый кодон САА превращается в стоп-кодон ТАА (С/Т полиморфизм гена).

Частота мутантного Т аллеля составляет 12 % среди жителей Европы, 19 % у афро-американцев и 0 % в японской популяции. Гомозиготы по мутантному аллелю имеют очень низкую концентрацию АМФД-М в скелетных мышцах и во время высокоинтенсивного короткого по времени упражнения не используют весь пул адениловых нуклеотидов, следовательно, при этом не аккумулируется ИМФ и аммиак. У гомозигот по нормальному аллелю, напротив, происходит практически полное истощение АТФ и стехиометрическое накопление ИМФ и NH_3 . Для гетерозигот эти показатели имеют среднее значение [14, 15].

Последствием недостаточности АМФД-М является усиленное образование АДФ, что снижает максимальную скорость сокращения и увеличивает время расслабления скелетных мышц. Было обнаружено, что после тренировок высокой интенсивности лица, являющиеся гомозиготами по мутантному аллелю (генотип ТТ) или гетерозиготами (генотип СТ), имеют аэробные показатели хуже, чем те, в генотипе которых отсутствует мутантный аллель (генотип СС) [16]. При выполнении анаэробного теста Вингейта у носителей СТ и ТТ генотипов обнаружены значения максимальной мощности на 10 % ниже, чем у носителей СС генотипа [13]. Первая работа, рассматривающая распределение генотипов *AMPD1* среди спортсменов, показала достоверное снижение частоты мутантного Т аллеля у элитных велосипедистов и бегунов на длинные дистанции по сравнению с контрольной группой [17].

В организме человека глюкоза является основным и наиболее

универсальным источником энергии для совершения физической работы. Баланс между процессами абсорбции глюкозы в ЖКТ, ее продукции в печени и почках и утилизации органами и тканями, определяет уровень глюкозы в крови для каждого человека. Повышение концентрации глюкозы крови наблюдается при диабете, но даже среди здоровых, не больных диабетом людей, уровень глюкозы очень варьирует. В европейской популяции от 25 до 50 % разнообразия в уровне глюкозы в крови определяется генетическими особенностями, а также различными эффектами ген-генных и ген-средовых взаимодействия.

Самая сильная ассоциация с уровнем глюкозы у здорового человека была выявлена для полиморфизма rs560887 гена *G6PC2*, локализованного в длинном плече 2 хромосомы (2q24-q31), состоящего из 5 экзонов и 4 интронов. Частота встречаемости минорного А аллеля варьирует в пределах от 0 % в негроидной популяции до 30 % у европеоидов и 33 % у белых американцев [18]. Показано, что чем больше G аллелей в генотипе (AG и GG генотипы), тем больше концентрация глюкозы в крови [19, 20]. Ген *G6PC2* кодирует белок каталитической субъединицы глюкозо-6-фосфатазы 2 типа, Г6ФК2, экспрессирующийся тканеспецифично в β -клетках островков Лангерганса в поджелудочной железе. Белок является частью мультикомпонентного комплекса белков в мембране, играющих важную роль в контроле метаболизма глюкозы [21]. Высказывается предположение, что присутствие минорного А аллеля замедляет экспрессию гена и получается меньшее количество Г6ФК2, что так же приводит к снижению уровня глюкозы в крови [19]. Учитывая роль G/A полиморфизма гена *G6PC2* в регуляции уровня глюкозы в крови, можно предположить, что носительство определенного аллеля гена *G6PC2* может влиять на эффективность выполнения физических нагрузок.

Образовавшийся в результате интенсивной работы лактат может окисляться в сердце и медленных мышечных волокнах (МВ), ресинтезироваться в гликоген в быстрых МВ или поступать в клетки печени

и почек для участия в процессах гликонеогенеза и липогенеза [22,23]. Лактат не может пройти через плазматическую мембрану посредством свободной диффузии. Для его переноса требуются специфические транспортные белки – протон-зависимые транспортеры монокарбоновых кислот (МКТ), которые обеспечивают быстрый транспорт лактата через плазматическую мембрану [24, 25, 26].

Показано, что в скелетных мышцах основными изоформами являются МКТ1 и МКТ4 [27]. При гистохимическом исследовании мышечных биопсий было показано, что МКТ1 экспрессируется в больших количествах в клеточных мембранах миоцитов медленных МВ. В быстросокращающиеся мышцах (*m. gastrocnemius* и *m. tibialis anterior*) высока экспрессия белка МКТ4 и практически отсутствует изоформа МКТ1. Установлен механизм сопряженного действия этих двух видов МКТ: МКТ4 выводит лактат из быстрых МВ в интерстиций, откуда МКТ1 транспортирует его в медленные МВ для утилизации в качестве энергетического субстрата [28, 29].

Уровень активности скелетных мышц влияет на степень экспрессии МКТ1. Отсутствие активности снижает экспрессию МКТ1, в то время как тренировка, наоборот, усиливает экспрессию МКТ1 [23, 29, 30].

МКТ1 кодируется геном *MCT1*, локализованном в коротком плече 1 хромосомы (1p13.2-p12). В структуре ДНК обнаружено три миссенс-мутации в гене *MCT1*, одна из которых мутация – А1470Т, у носителей мутантного аллеля (в гомозиготном ТТ и гетерозиготном АТ состоянии) наблюдалось снижение на 40 % скорости транспорта лактата в эритроцитах [31]. Частота встречаемости Т аллеля варьирует в пределах от 7 % в африканской популяции до 56 % у испанцев. Первая попытка связать замену А1470Т с функциональными характеристиками была предпринята испанскими учеными [32]. У носителей Т аллеля наблюдалась бóльшая аккумуляция лактата в крови в отличие от АА гомозиготных носителей.

Действие инсулина начинается с его связывания со специфическим гликопротеиновым рецептором (IR) на поверхности клетки-мишени Это

гликопротеин, построенный из двух поверхностных α -субъединиц (130 кДа) и двух интегральных β -субъединиц (95 кДа). Рецепторы инсулина обнаружены почти во всех типах клеток.

Субстрат инсулинового рецептора-1 (IRS-1) – белок-посредник, главный субстрат тирозиновой протеинкиназы инсулинового рецептора, а также рецептора инсулиноподобного фактора роста – 1. Белок IRS-1 синтезируется во всех тканях, участвующих в метаболизме глюкозы, и играет важную роль в метаболических и митогенетических эффектах инсулина. IRS-1 участвует в регуляции процессов транслокации переносчиков глюкозы к мембране, синтеза гликогена в ответ на инсулиновый стимул [33]. Понижение экспрессии IRS-1 в тканях-мишенях инсулина (мышцы, печень) может являться молекулярным маркером инсулинорезистентных состояний, таких как ожирение или СД второго типа, а, значит, и на механизмах углеводного обмена человека.

Ген *IRS-1* локализован во 2 хромосоме, локус q36.3. Самым распространенным и изученным полиморфизмом гена *IRS-1* является полиморфизм Gly972Arg. Однонуклеотидная замена гуанина на аденин в 972-м кодоне гена *IRS-1* приводит к замене глицина на аргинин в белковом продукте гена.

Экспрессия Arg972 варианта *IRS-* приводила к снижению базального и инсулиностимулированного транспорта глюкозы в клетках L6 скелетных мышц крыс по сравнению с клетками, имеющими Gly972 вариант белка [32]. Такую связь полиморфизма с метаболизмом глюкозы можно объяснить снижением числа транспортеров глюкозы (ГЛЮТ-4), транслоцирующихся в плазматическую мембрану без и при наличии инсулиновой стимуляции. При этом общее число ГЛЮТ-4 остается неизменным [33].

Экспрессия Arg972 варианта *IRS-1* через каскад ферментативных реакций вызывает снижение активности протеинкиназы B, что приводит к нарушению процесса синтеза гликогена, регулируемого киназой гликогенсинтазы 3-бета (GSK-3b). Полиморфизм Arg972Gly может быть

связан с развитием резистентности к инсулину, угнетая способность инсулина активировать IRS-1/ФИЗК/Akt/GSK-3 β сигнальный путь, приводя к нарушениям транспорта глюкозы, транслокации переносчиков глюкозы и синтеза гликогена [34].

Эритропоэз представляет собой постоянный и непрерывный процесс образования и восстановления клеток эритрона, главной функцией которых является снабжение тканей кислородом. Клеточная основа эритропоэза состоит из дифференциации, пролиферации и созревания эритроидных предшественников в костном мозгу с последующим выходом эритроцитов в циркуляцию крови. Центральное место в регуляции эритропоэза занимает эритропоэтин (ЕРО) – почечный гормон гликопротеиновой природы. ЕРО является физиологическим регулятором продукции эритроцитов и играет ключевую роль в приспособлении этой продукции к метаболическим потребностям в кислороде.

Синтез и секреция ЕРО играют важную патофизиологическую роль в клинике первичных и вторичных нарушений эритрона, приводящих к изменению устойчивого эритроцитарного равновесия. При анемиях и полицитемиях возникает патологическая регуляция эритропоэза, которая характеризуется изменениями продукции ЕРО. ЕРО является уникальным белком. Сохранившийся неизменным в процессе эволюции, образующийся в двух органах и всегда присутствующий в плазме крови, ЕРО действует как митоген и как фактор выживания: он способствует пролиферации ранних эритроидных предшественников и поддерживает выживание (препятствующее апоптозу) поздних стадий до их созревания [35]

Функции ЕРО осуществляются через специфические поверхностные рецепторы (ЕРОR). Ген *EPOR* кодирует белок, состоящий из 507 аминокислот и содержащий одну связанную с мембраной область. ЕРО связывается с двумя молекулами ЕРОR. Это приводит к гомодимеризации рецептора с последующей активацией нескольких путей сигнальной трансдукции (передачи сигнала). ЕРОR относится к семейству цитокиновых

рецепторов. При связывании ЕРО с рецептором, производится запуск различных внутриклеточных путей, обеспечивающих функцию клеток эритроидного ряда. Экспрессия *EPOR* идентифицирована не только на клетках гемопоэтических линий, но также и других тканей, например в эпикарде и перикарде. Открытие *EPOR* на мезангиальных клетках и в миокарде, фибробластах мышечной ткани и нейронов позволило изучить не эритропоэтические функции гормона [36]. Данные о широком распространении *EPOR* в тканях, позволяют обоснованно предполагать, что изменения в системе ЕРО – *EPOR* могут приводить к различным биологическим проявлениям. Например, редкие мутации в гене *EPOR* ассоциированы с семейным эритроцитозом, одним из проявлений которого является высокий уровень гемоглобина в связи с нарушением негативной регуляции экспрессии *EPOR* [37]. В 5'-фланкирующем регионе гена *EPOR* обнаружен микросателлитный полиморфизм $(GGAA)_n$ [8], который, по мнению В.Wolfarth с соавторами, связан с аэробной работоспособностью спортсменов [38].

2 МЕТОДЫ И ОРГАНИЗАЦИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Методы исследования

Биохимические методы. Для оценки пищевого статуса спортсменов и метаболического характера ФН использовали определение молочной кислоты (лактата), глюкозы, триглицеридов сыворотки крови по биотестам фирмы «Ольвекс Диагностикум» (Санкт-Петербург, Россия). Кровь из мякоти безымянного пальца брали в состоянии покоя и на 3-ей минуте восстановления после тестирующей нагрузки. Содержание гемоглобина определяли в капиллярной крови гемоглобинцианидным методом. Измерения проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «Screen Master Point» фирмы Hospitex (Италия).

Молекулярно-генетический анализ. Полиморфизм генов предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям определяли с помощью молекулярно-генетического анализа. Для анализа использовали образцы ДНК, выделенные сорбентным методом из букальных клеток ротовой полости. Полиморфизм генов определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Определение С34Т полиморфизма 2 экзона гена *AMPD1* проводили по методу В. Norman [15]. Для определения G/A полиморфизма гена *G6PC2* (rs560887), A1470T гена *MCT1* (rs1049434) и (GGAA)_n полиморфизма гена *EPOR* были разработаны методики с использованием биотехнологической информационной базы данных NCBI. Для идентификации полиморфизма применяли приложение «SNP» (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>), для подбора праймеров – программу «Primer 3» (<http://primer3.sourceforge.net>) и программу «PrimerBLAST» (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>), для проверки их уникального соответствия изучаемой последовательности ДНК – программу «BLAST» (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Для определения Arg972Gly полиморфизма гена *IRS1* использовали методику

Bezerra с соавторами [39].

ПЦР исследуемых генов осуществляли с помощью соответствующих двухпраймерных систем (праймеры синтезированы в НПФ «ЛИТЕХ», Россия). Для амплификации специфических фрагментов ДНК в реакционную смесь добавляли 3 мкл ДНК и проводили ПЦР на термоциклере «Терцик». Рестрикция синтезированных фрагментов ДНК проводилась с помощью эндонуклеазы, специфичной для каждого однонуклеотидного генетического полиморфизма. При изучении GGAA полиморфизма гена *EPOR*, не требующего проведения рестрикционного анализа, продукт амплификации сразу подвергался электрофоретическому разделению. Анализ длин рестрикционных продуктов проводился электрофоретическим разделением в 8%-ном полиакриламидном геле с последующей окраской бромистым этидием и визуализацией в проходящем ультрафиолетовом свете при помощи трансиллюминатора «ETS Vilber-Lourmat». Результаты электрофореза заносились в рабочий журнал и документировались с помощью цифровой фотокамеры «Canon».

Определение физической работоспособности Исследуемые спортсмены проходили тестирование в ступенчато-повышающейся нагрузке на тредбане фирмы «Viasys Healthcare» (h/p/Cosmos, Германия). Начальная нагрузка для мужчин – 6 км/ч, для женщин – 5 км/ч, длительность ступени 3 мин, шаг – увеличение угла наклона на 2,5 % и скорости (мужчины – 6, 9 и 12 км/ч; женщины – 5, 8 и 10 км/ч). Работа выполнялась до отказа.

Во время теста постоянно (каждый дыхательный цикл) регистрировали параметры внешнего дыхания на газоанализаторе MetaMax 3B (Cortex, Германия) и частоту сердечных сокращений.

Максимальное потребление кислорода (VO_{2max} , л/мин) определяли по значениям усредненных показателей газообмена за последние 30 секунд каждой ступени теста. Рассчитывали относительное значение VO_{2max} (отн VO_{2max} , мл/мин/кг) и VO_2 ПАНО.

Анализ фактического питания. Фактическое питание спортсменов-

лыжников УОР-2 (техникум) Санкт-Петербург проводили с использованием компьютерной программы «Организация питания спортсменов», разработанной в секторе биохимии спорта ФГБУ СПбНИИФК.

Статистическая обработка результатов. Для хранения и обработки результатов исследования была создана матрица данных в виде электронных таблиц "Excel". Статистический анализ проводился на персональной ЭВМ с применением программы «GraphPad InStat».

2.2 Организация исследования

В исследовании приняли участие 634 человека, из которых 285 являлись спортсменами, 349 относились к контрольной группе.

При исследовании ассоциаций генетических маркеров с фенотипами для обеспечения однородности анализируемых выборок учитывались следующие критерии:

- расовая принадлежность (все обследованные были европеоидами);
- пол (частоту генетических маркеров у спортсменов и в контрольной группе сравнивали как отдельно в группах мужчин и женщин, так и в совокупности; корреляционный анализ по физиологическим и биохимическим показателям проводили в зависимости от пола);
- возраст (участники исследований были примерно одного возраста);
- спортивная специализация (обследовали спортсменов различных видов спорта; спортсменов также объединяли в группы на основании типа энергообеспечения физической нагрузки);
- спортивная квалификация (обследовали спортсменов различной квалификации – заслуженных мастеров спорта (ЗМС), мастеров спорта международного класса (МСМК), мастеров спорта (МС), кандидатов в мастера спорта (КМС) и спортсменов, имеющих первый взрослый разряд).

Все испытуемые были проинформированы о целях и условиях экспериментов. Участие в исследованиях было добровольным.

Для выявления ассоциаций полиморфизмов генов с исследуемыми фенотипами применяли различные методические подходы.

Методический подход «случай-контроль» (case-control study) заключался в выявлении и сравнении частот генотипов и аллелей определенного гена у спортсменов различных специализаций и квалификаций и в контрольной группе.

В исследовании приняли участие 285 российских спортсменов различной специализации и квалификации (мужчины, $n = 198$, возраст 20.6 ± 5.4 лет; женщины, $n = 85$, возраст 19.3 ± 2.8 лет). Образцы ДНК собирались у спортсменов училища олимпийского резерва (УОР-2) и сборных команд Санкт-Петербурга и России.

В соответствии с типом энергообеспечения мышечной деятельности и характером соревновательной нагрузки обследованные спортсмены были разделены на три подгруппы:

I – виды спорта с преимущественным проявлением выносливости: биатлон, коньки (5-10 км), лыжные гонки (5-15 км);

II – виды спорта с проявлением смешанных физических качеств (выносливость, быстрота/сила): горнолыжный спорт, лыжное двоеборье, шорт-трек;

III – виды спорта с преимущественным проявлением быстроты/силы: коньки (500-1 500 м).

Общая контрольная группа состояла из жителей города Санкт-Петербурга и Казани (349 человек: мужчины, $n = 194$, возраст 19.5 ± 4.7 лет; женщины, $n = 155$, возраст 19.3 ± 5.9 лет). Главным условием для включения человека в контрольную группу являлось отсутствие стажа регулярных занятий спортом и спортивного разряда.

Методический подход «генотип-фенотип» (аналитическое одномоментное исследование, *cross-sectional study*) представлял собой проведение корреляционного анализа между различными генотипами и уровнем физической подготовленности или соревновательной успешности.

Структура и объем экспериментального материала для исследования ассоциаций полиморфизмов со спортивной деятельностью представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Структура и объем экспериментального материала для исследования ассоциаций полиморфизмов со спортивной деятельностью

	<i>n</i>	Исследование
<i>«Случай-контроль»</i>		
Контрольная группа	349	Анализ распределения частот генотипов и аллелей изучаемых полиморфизмов генов
Все спортсмены	285	Выявление статистически значимых различий в частотах генотипов и аллелей генов по сравнению с контрольной группой
<i>«Генотип-фенотип»</i>		
Лыжники-гонщики, биатлонисты	102	Определение взаимосвязи генотипов и аллелей с показателями физической работоспособности
Лыжники- гонщики, биатлонисты и двоеборцы	67	Определение взаимосвязи генотипов и аллелей гена <i>MCT1</i> с уровнем лактата в крови спортсменов при предельной физической нагрузке
Лыжники - гонщики, биатлонисты и двоеборцы	102	Определение взаимосвязи генотипов по гену <i>EPOR</i> с уровнем гемоглобина (Hb) крови
Физически активные мужчины и женщины	255	Определение взаимосвязи генотипов и аллелей гена <i>G6PC2</i> с базальным уровнем глюкозы в крови
Лыжники-гонщики, биатлонисты	69	Определение взаимосвязи генотипов и аллелей гена <i>G6PC2</i> с уровнем глюкозы крови в покое и после физической нагрузки
Лыжники - гонщики, биатлонисты и двоеборцы	131	Определение взаимосвязи генотипов гена <i>IRS1</i> с уровнем глюкозы и триглицеридов (ТГ) крови в покое и после физической нагрузки

Определение физиологических и биохимических показателей спортсменов проводили при тестировании спортсменов в лабораториях ФГБУ СПбНИИФК.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Результаты генотипирования спортсменов и лиц контрольной группы

При анализе распределений частот генотипов и аллелей по С34Т полиморфизму 2 экзона гена *AMPD1* в контрольной группе и у спортсменов были получены следующие результаты.

Частота *AMPD1* Т аллеля в контрольной группе жителей Санкт-Петербурга ($n = 349$) составила 15.0 %, значимо не отличалась у женщин ($n = 208$) и мужчин ($n = 141$) (15.3 % против 14.7 %, $P = 0.86$), что соответствовало данным, полученным по европейской популяции ($P = 0.39$) [15]. Наблюдаемое в контрольной группе распределение генотипов СС (73.8 %), СТ (22.4 %) и ТТ (3.8 %) подчинялось равновесию Харди-Вайнберга.

Частота Т аллеля в группе спортсменов ($n = 285$) была значимо ниже, чем в контрольной группе (8.5 % против 15.0 %; $P < 0.0001$), и не отличалась у спортсменок ($n = 87$) и спортсменов ($n = 198$) (8.6 % против 8.4 %, $P = 0.92$). Распределение генотипов у спортсменов СС (81.9 %), СТ (18.1 %) и ТТ (0.0 %) подчинялось равновесию Харди-Вайнберга.

При разделении всех спортсменов на три группы в соответствии с типом энергообеспечения мышечной деятельности во всех группах было обнаружено преобладание С аллеля отсутствие носительства ТТ генотипа по сравнению с контрольной группой (таблица 3).

На основании полученных результатов нами было установлено, что индивиды с СС генотипом *AMPD1* имеют больше шансов успешно заниматься спортом, чем носители ТТ генотипа *AMPD1*

При оценке распределения частот аллелей в зависимости от спортивной квалификации было обнаружено, что частота Т аллеля значимо понижается с ростом квалификации в группах спортсменов, занимающихся

видами спорта с преимущественным проявлением выносливости (1 разряд, КМС – 13.4 %; МС, МСМК, ЗМС – 4.0 %; $P = 0.003$) и видами спорта с преимущественным проявлением смешанных качеств (1 разряд, КМС – 7.8 %; МС, МСМК, ЗМС – 2.7 %; $P = 0.02$).

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
I	Биатлон	61	86.9	13.1	0.0	0.06	6.6
	Коньки (5-10 км)	6	100.0	0.0	0.0	0.35	0.0
	Лыжные гонки (5-15 км)	66	86.4	13.6	0.0	0.05*	6.8
	Все	133	90,3	9,7	0.0	0.04*	4.9
II	Горные лыжи	6	100.0	0.0	0.0	0.35	0.0
	Лыжное двоеборье	69	84.1	15.9	0.0	0.10	8.0
	Хоккей	9	66.7	33.3	0.0	0.65	16.7
	Шорт-трек	6	50.0	50.0	0.0	0.27	25.0
	Все	90	66.7	33.3	0.0	0.06	16.6
III	Коньки (500-1500 м)	62	88.7	11.3	0.0	0.03*	5.7
Все спортсмены		285	81.9	18.1	0.0	<0.001*	9.1
Контроль		349	73.8	22.4	3.8	1	15.0

$P \leq 0.05$ – статистически значимые различия между группами спортсменов и контрольной группой.

Полученные результаты свидетельствуют о благоприятном эффекте носительства СС генотипа (а значит, и наличия активности фермента АМФД-М в скелетных мышцах) на мышечную деятельность.

Частота *G6PC2A* аллеля в контрольной выборке составила 25.8 %, при этом она практически не отличалась среди женщин (25.2 %) и мужчин (26.3 %) и была незначительно ниже, чем в европейской популяции 30-33 % [18]. Наблюдаемое в контрольной выборке распределение генотипов GG (55.3 %), GA (38.1 %) и AA (6.6 %) подчинялось равновесию Харди-Вайнберга.

Распределение частот генотипов и аллелей гена *G6PC2* у спортсменов и в контрольной группе представлено в таблице 4.

Таблица 4 – Распределение 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
I	Лыжные гонки	69	66.7	30.4	2.9	0,14	18,1
II	Лыжное двоеборье	16	81.3	12.5	6.3	0.10	12.5
Все спортсмены		85	74.0	21.5	3.5	0.1	14.1 ($p=0,05^*$)
Контроль		255	55.3	38.1	6.6	1.00	25.6

$P \leq 0.05$ – статистически значимые различия между группами спортсменов и контрольной группой.

Выявлено, что распределение частот генотипов гена *G6PC2* у лыжников-гонщиков значимо не отличаются от популяционных данных. Частота редкого *G6PC2**A аллеля составила 14,1 %, не отличалась в группах женщин и мужчин (19,6 против 17,4 %, $p=0,88$) и была значимо ниже, чем в популяции жителей России (14,1 против 25,6 %, $p=0,05$).

Более выраженные отличия по частоте распределения GG генотипа наблюдаются у представителей лыжного двоеборья, Однако, учитывая поправку Бонферрони для множественных сравнений, статистической значимости ($P \leq 0.01$) результаты по распределению генотипов в группе спортсменов при сравнении с контрольной группой не достигли.

При оценке распределения частот аллелей в зависимости от спортивной квалификации среди всех спортсменов было обнаружено, что частота A аллеля понижается с ростом квалификации, однако требуется более значительная выборка спортсменов различного уровня спортивного мастерства.

Таким образом, среди спортсменов реже встречаются носители A аллеля гена *G6PC2*.

При анализе распределения частот генотипов и аллелей гена *MCT1* у спортсменов и в контрольной группе были получены следующие результаты. Частота редкого T аллеля в общей контрольной группе (таблица 5) составила 37.5 %, при этом она не отличалась между женщинами (37.3 %) и мужчинами

(37.8 %). Наблюдаемое в контрольной выборке распределение генотипов АА (39.4 %), АТ (46.3 %) и ТТ (14.3 %) подчинялось равновесию Харди-Вайнберга и практически не отличалось от данных в европейской популяции (АА – 35.8 %).

Таблица 5 – Распределение частот генотипов и аллелей гена *MCT1* у спортсменов и в контрольной группе

Группа	Вид спорта	n	Генотипы <i>MCT1</i> , %				Т Аллель, %
			АА	АТ	АТ	ТТ	
I	Лыжные гонки	64	43.8	42.2	14.1	0.4	35.2
	Биатлон	44	38.7	40.9	20.5	0.5	40.9
	Все	108	41.3	41.5	17.2	0.4	38.0
II	Лыжное двоеборье	84	58.3	31	10.7	0.04*	26.2*
Все спортсмены		192	44.8	36.3	13.9	0.09	32.0
Контроль		293	39.4	46.3	14.3	1.00	37.5

$P \leq 0.05$ – статистически значимые различия между группой спортсменов и контрольной группой.

Наблюдаемое в общей группе спортсменов распределение генотипов АА (44.8 %), АТ (36.3 %) и ТТ (13.9 %) подчинялось равновесию Харди-Вайнберга и не отличалось от распределения в контрольной группе. Частота Т аллеля в общей группе спортсменов ($n = 192$) была ниже, чем в контрольной выборке, но различия недостоверны.

Как видно из таблицы 5, частота А аллеля и АА генотипа была значимо выше в группе спортсменов, занимающихся лыжным двоеборьем. Вероятно, АА генотип по гену *MCT1* благоприятен для проявления двигательных качеств спортсменов, как выносливости, так и скоростно-силовых возможностей.

При оценке распределения частот аллелей в зависимости от спортивной квалификации у всех спортсменов было обнаружено, что частота Т аллеля снижается с ростом квалификации, однако эта зависимость наблюдалась на уровне тенденции и не достигала статистической значимости ($P = 0.07$).

Анализ полученных результатов по изучению А/Т полиморфизма гена *MCT1* у спортсменов и в контрольной позволяет сделать вывод о благоприятном влиянии АА генотипа на физическую работоспособность человека.

При анализе распределений частот генотипов и аллелей по Gly972Arg полиморфизму гена *IRS-1* в контрольной группе и у спортсменов были получены следующие результаты.

Частота 972Arg аллеля (таблица 6) в контрольной группе жителей Санкт-Петербурга ($n = 293$) составила 12,4 %, распределение генотипов Gly/Gly (73.8 %), Gly/Arg (22.4 %) и Arg/Arg (3.8 %) подчинялось равновесию Харди-Вайнберга.

Таблица 6 – Распределение частот генотипов и аллелей гена *IRS-1* у спортсменов и в контрольной группе

Группа	n	Генотипы <i>IRS-1</i> , %				Arg Аллель, %
		Gly/ Gly	Gly/Arg	Arg/Arg	P_1	
I	138	77.5	22,5	0	0,63	11,3
II	89	85,4	14,6	0	0,04*	7,3
Все спортсмены	227	81.5	18.5	0	0,17	9.3
Контроль	293	75.1	24.8	0.1	1	12.4

$P \leq 0.05$ – статистически значимые различия между группой спортсменов и контрольной группой.

Частота 972Arg аллеля в группе спортсменов ($n = 227$) не имела значимых отличий по сравнению с контрольной группой (11.3 % против 12.4 %; $P = 0,2$). При сравнении распределения генотипов и частот аллелей среди мужчин (Gly/Gly – 78,8 %; Gly/Arg – 21,2 %; Arg – 10,6 %) и женщин (Gly/Gly – 82,1 %; Gly/Arg – 17,9 %; Arg – 8,9 %) значимых отличий обнаружено не было ($P_1=0,48$; $P_2=0,45$).

При разделении всех спортсменов на группы в соответствии с типом энергообеспечения мышечной деятельности лишь, в группе спортсменов, занимающихся видами спорта с проявлением смешанных качеств (лыжное

двоеборье), было обнаружено статистически значимое снижение частоты Gly/Arg генотипа по сравнению с контрольной группой (14,6 % против 24,8 %, $P = 0,04$).

При оценке распределения частот аллелей в зависимости от спортивной квалификации статистически значимых отличий обнаружено не было. Однако можно отметить тенденцию к снижению частот генотипа Gly/Arg при повышении уровня спортивной квалификации в группе спортсменов с преимущественным проявлением выносливости (17.1 % у МС – ЗМС против 24.3 % у спортсменов 1 разряда и КМС).

При анализе распределения частот генотипов гена *EPOR* у спортсменов и в контрольной группе были получены следующие результаты. В контрольной группе наблюдались следующая частота генотипов: GG – 3.0 %, GA – 65.2 % и AA – 31.8 % (таблица 7).

Таблица 7 – Распределение частот генотипов и аллелей гена *EPOR* у спортсменов и в контрольной группе

Группа	n	Генотипы <i>EPOR</i> , %			
		GG	GA	AA	P_1
Аэробная выносливость	129	13.2	59.1	27.1	0.002*
Скоростно-силовая выносливость	21	4.8	57.1	38.1	0.06
Все спортсмены (выносливость)	150	11.9	58.9	29.2	0,002*
Контроль	203	3.0	65.2	31.8	1

$P \leq 0.05$ – статистически значимые различия между группой спортсменов и контрольной группой.

Частота распределения генотипов по гену *EPOR* у спортсменов значимо отличается от контрольной группы ($P < 0.002$). Так редкий GG генотип встречается в целом по группе спортсменов тренирующихся на выносливость в 11.9 % случаев против 3 % в контрольной группе. В видах спорта с преимущественным проявлением аэробной выносливости частота распределения генотипа GG значимо выше и составила 13.2 % против 4.8 % в группе «скоростно-силовая выносливость». Распределение частоты

генотипов в зависимости от квалификации спортсменов с преимущественным развитием выносливости показало значимое ($P < 0.01$) повышение встречаемости GG генотипа с ростом квалификации (МС – ЗМС: 14,9 % против 8,9 % у 1 разряда и КМС).

Анализ полученных результатов по изучению $(GGAA)_n$ полиморфизма гена *EPOR* у спортсменов и в контрольной позволяет сделать вывод о благоприятном влиянии GG генотипа на физическую работоспособность человека и проявление выносливости.

3.2 Ассоциация полиморфизмов генов с функциональными и метаболическими показателями спортсменов

Изучение ассоциации генотип-фенотип проводили с участием спортсменов, специализирующихся в лыжных гонках, биатлоне и лыжном двоеборье. Ассоциация проводилась между генотипами конкретного гена и вероятными маркерами их метаболической активности.

Ассоциации полиморфизмов генов *AMPD1* и *EPOR* с функциональными показателями определялись в группе спортсменов, занимающихся лыжными гонками и биатлоном ($n = 102$). Обнаруженные значительные различия в антропометрических и физиологических показателях между лыжниками-гонщиками разного пола обусловили проведение отдельного корреляционного анализа фенотипов с генотипами изучаемых генов (таблицы 8 и 9).

У обследованных спортсменов, занимающихся лыжными гонками и биатлоном, была обнаружена ассоциация CC генотипа *AMPD1* с большими значениями VO_{2max} (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, $P = 0.13$) и значимо большими значениями $отнVO_{2max}$ (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, $P = 0.003$).

Таблица 8 – Ассоциация С/Т полиморфизма гена *AMPD1* с функциональными показателями у лыжников-гонщиков и биатлонистов

Показатель	Генотипы <i>AMPD1</i>		P
	СС	СТ	
Мужчины:	n = 45	n = 5	
VO _{2max} , л/мин	3.94 ± 0.94	3.18 ± 0.51	0.08
отнVO _{2max} , мл/кг/мин	56.56 ± 11.02	45.20 ± 7.53	0.03*
Женщины:	n = 28	n = 4	
VO _{2max} , л/мин	2.98 ± 0.62	2.45 ± 0.72	0.13
отнVO _{2max} , мл/кг/мин	53.66 ± 6.28	41.88 ± 10.29	0.003*

M ± *SEM*

**P* ≤ 0.05 – статистически значимые различия между группами с различными генотипами (по непарному *t* тесту).

Таблица 9 – Ассоциация (GGAA)_n полиморфизма гена *EPOR* с функциональными показателями у лыжников-гонщиков и биатлонистов

Показатель	Генотипы <i>EPOR</i>			P
	GG	GA	AA	
Мужчины:	n = 10	n = 31	n = 18	
VO _{2max} , л/мин	4.75 ± 0.78	4.21 ± 0.67	4.17 ± 0.89	0.03*
VO _{2ПАНО} , л/мин	3.46 ± 0.54	3.0 ± 0.45	3.11 ± 0.32	0.04*
Нб, г/л	157 ± 12	152 ± 21	154 ± 13	0.1
Женщины:	n = 6	n = 27	n = 10	
VO _{2max} , л/мин	3.44 ± 0.64	3.12 ± 0.87	3.30 ± 0.44	0.4
VO _{2ПАНО} , л/мин	2.30 ± 0.54	2.17 ± 0.88	2.40 ± 0.67	0.3
Нб, г/л	130 ± 9	155 ± 14	145 ± 21	0.1

M ± *SEM*

**P* ≤ 0.05 – статистически значимые различия между группами с различными генотипами (по непарному *t* тесту).

У обследованных лыжников гонщиков и биатлонистов ассоциация GG генотипа с более высокими значениями VO_{2max} по сравнению с GA и AA генотипами наблюдалась только у спортсменов мужского пола (GG - 4.75±0.78; GA - 4.21±0.67 и AA - 4.17±0.89). В группе женщин аналогичной ассоциации не выявлено. У спортсменов как мужского, так и женского пола ассоциации генотипов гена *EPOR* с уровнем Нб крови не обнаружено.

Ранее нами было установлено, что А аллель *G6PC2* ассоциируется с

более низкой концентрацией глюкозы в крови (GG – 4.30 ± 0.65 ммоль/л, GA – 4.14 ± 0.60 ммоль/л, AA – 4.00 ± 0.90 ммоль/л; $P = 0.02$) у 255 здоровых, физически активных лиц контрольной группы. Нам представилось целесообразным изучить ассоциацию генотипов *G6PC2* не только с базальным уровнем глюкозы, но и с динамикой ее концентрации при выполнении дозированной физической нагрузки

Значения концентрации глюкозы у всех обследованных лыжников-гонщиков были в пределах физиологической нормы. Показано, что носительство *G6PC2**А аллеля ассоциируется с незначительно более низкой концентрацией глюкозы в крови натощак (GG – $4,15 \pm 0,14$ мМ, GA – $4,10 \pm 0,15$ мМ, AA – $4,01 \pm 0,34$ мМ; $p=0,7$).

Выявлена взаимосвязь генотипов *G6PC2* с изменением уровня глюкозы крови в результате выполнения квалифицированными лыжниками-гонщиками физической нагрузки до отказа (рисунок 1). Среди обследованных спортсменов, носителей генотипа *G6PC2* GG, наблюдался бóльший прирост значений концентрации глюкозы крови (GG – $+2,97 \pm 0,22$ мМ, GA – $+2,35 \pm 0,31$ мМ, AA – $+1,72 \pm 0,73$ мМ; $p=0,09$).

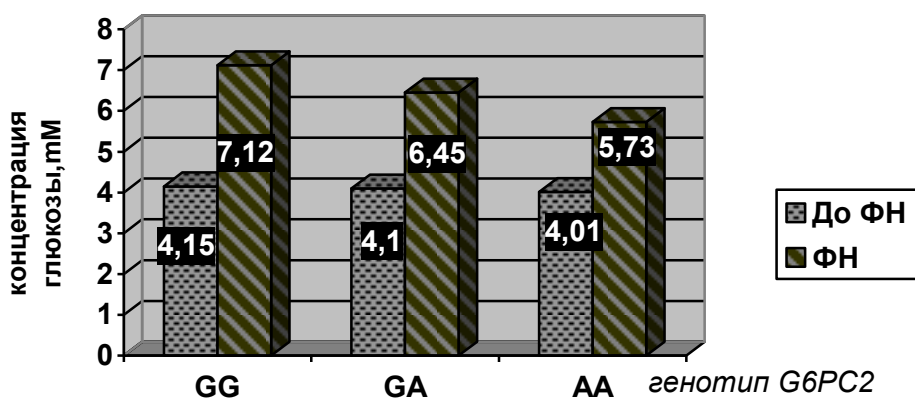


Рисунок 1 - Динамика концентрации глюкозы при ФН до отказа в зависимости от генотипа *G6PC2*

Концентрация глюкозы крови, определяемая, в том числе, генетическими вариациями, влияет на эффективность энергообеспечения мышечной деятельности. Это подтверждается обнаруженным фактом преобладания среди обследованных лыжников-гонщиков носителей *G6PC2*G* аллеля. На основании выявленной тенденции к увеличению прироста уровня глюкозы крови после физической нагрузки с увеличением количества *G* аллелей в генотипе можно предположить, что носительство *G6PC2*G* аллеля повышает эффективность энергообеспечения мышечной деятельности.

У 67 спортсменов, занимающихся лыжными гонками двоеборьем, нами была определена концентрация лактата смешанной капиллярной крови после выполнения ступенчато возрастающей нагрузки до отказа и проводилась ассоциация генотипов *MCT1* с изменениями ее концентрации. В состоянии покоя концентрация лактата у всех спортсменов соответствовала физиологической норме и составляла в среднем $1,9 \pm 0,6$ мМ. Физическая нагрузка привела к изменениям концентрации лактата крови у носителей всех генотипов *MCT1* (рисунок 2).

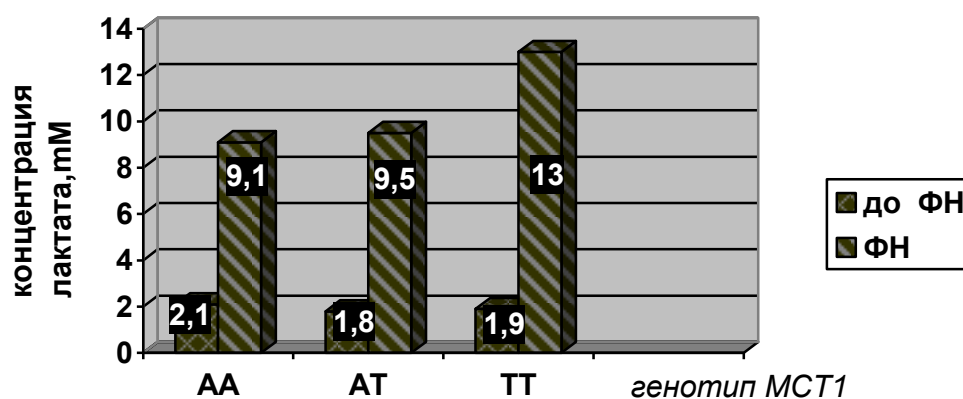


Рисунок 2 – Динамика концентрации лактата крови после предельной ФН в зависимости от генотипа *MCT1*

Как видно из представленных результатов, AA генотип ассоциируется с меньшей динамикой концентрации лактата в ответ на предельную дозированную нагрузку и меньшим абсолютным значением ее концентрации ($9.1 \pm 2,6$ mM). У гомозигот по T аллелю гена *MCT1* обнаруживается наибольший прирост концентрации лактата крови и различия между гомозиготами по A и T аллелям достоверны ($P = 0.02$). Полученные результаты позволяют предположить более эффективную утилизацию лактата крови путем его окисления неработающими мышцами, миокардом и печенью.

Таким образом, в нашем исследовании выявлена ассоциация A/T полиморфизма гена *MCT1* с концентрацией лактата в крови после интенсивной физической нагрузки. Возможно, у носителей T аллеля транспорт лактата из крови в медленные мышечные волокна происходит менее эффективного, что является результатом модификации транспортера MCT1.

Из участников общей группы спортсменов нами была выделена группа испытуемых ($n = 131$), для которых определяли концентрацию триглицеридов и глюкозы в крови натощак, а также концентрацию глюкозы в крови после нагрузки.

Значения концентрации глюкозы и триглицеридов у всех обследованных были в пределах физиологической нормы. Результаты обследования показали, что Arg аллель *IRS-1* ассоциируется с более низкой разницей концентрации глюкозы в крови до и после нагрузки, а также с достоверно более высоким уровнем триглицеридов в крови натощак (таблица 10).

Таким образом, результаты настоящей работы подтвердили выводы предыдущих исследований, демонстрирующих, что 972Arg аллель гена *IRS-1* может быть ассоциирован с нарушением, в том числе, липидного обмена и влиять на регуляцию уровня глюкозы в крови.

Таблица 10 - Уровень биохимических показателей в зависимости от генотипа по гену *IRS-1* у спортсменов

Генотип	Концентрация глюкозы в крови		ТГ, мМ
	до нагрузки мМ	Δ GLU, мМ	
Gly/Gly	4,29±0,89	2,89±1,66	1,18±0,55
Gly/Arg	4,27±0,94	1,72±1,43	1,49±0,75
Arg/Arg	-	-	-
P	0,92	0,0018*	0,05*

* $P \leq 0.05$ – статистически значимые различия между группами с разными генотипами;

Δ GLU – разница концентраций глюкозы в крови до и после нагрузки.

3.3 Оценка пищевого статуса спортсменов по анализу фактического питания

При анализе отдельных биохимических показателей крови, характеризующих углеводный и липидный метаболизм (см. раздел 3.2) отклонений от физиологических норм обнаружено не было. Однако для более детальной характеристики возникла необходимость оценить фактическое питание спортсменов, нарушение которого при наличии «неблагоприятных» аллелей или генотипов может привести к нарушению обмена веществ. С этой целью провели оценку организованного питания спортсменов УОР-2 (в среднем за 1 декаду месяца), специализирующихся в лыжных гонках и биатлоне, в период базовой подготовки [40]. Полученные результаты сравнивали с нормами питания спортсменов училищ олимпийского резерва, утвержденными приказом по Минспорту в 2004 году [41].

Результаты оценки фактического питания представлены в таблицах 11-12.

Как следует из таблицы 11, энергетическая ценность суточного рациона обследуемой группы спортсменов, в среднем составила 5248±222

ккал/сутки, что соответствует рекомендуемым нормам. В рационе спортсменов содержание животных белков соответствует рекомендуемым величинам и составляет 66 % от общего количества белка. В среднесуточном рационе спортсменов наблюдается избыток жиров (+62 %), как животного, так и растительного происхождения, что приводит к значительному превышению ПНЖК и холестерина в питании спортсменов и может негативно сказаться на физической работоспособности. Недостаточное потребление общих углеводов с пищей связано с нарушением структуры их потребления – избыточным количеством простых углеводов (+12 %) при недостатке сложных (- 52 %).

Таблица 11 – Оценка обеспеченности рационов питания спортсменов УОР 2 энергией и основными пищевыми веществами ($M \pm m$)

Показатель	Фактическое потребление $M \pm m$	Норма для IV группы видов спорта	Соответствие норме, %
Калорийность, ккал	5248 ± 222	5460	- 4
Белки, г	183 ± 34	175	+4
Жиры, г	251 ± 47	154	+ 62
Углеводы, г	583 ± 39	836,5	- 30,5
ПНЖК, г	22,6 ± 4,9	4,5	+ 401
Холестерин, мг	796 ± 104	450	+ 77

При анализе рациона питания спортсменов обнаружена недостаточность потребления витаминов группы В (на 35-50%) и суммы витамина А и каротина на 43,5%. По минеральному составу рацион спортсменов УОР 2 отличается недостаточным количеством кальция при значительном повышении калия в пище.

Таблица 12 – Оценка обеспеченности рациона лыжников и биатлонистов витаминами и минеральными веществами ($M \pm m$)

Содержание микронутриентов	Фактическое потребление $M \pm m$	Норма для IV группы видов спорта
Витамин С, мг	262 ± 41	275,0
Витамин В1, мг	$2,1 \pm 0,1$	4,35
Витамин В2, мг	$3,2 \pm 0,1$	4,95
Витамин РР, мг	$39,5 \pm 1,7$	39,5
Витамин А, мкг	1922 ± 244	3400
Витамин Е, мг	$37,5 \pm 3,9$	37,5
Калий, мг	7871 ± 198	6000
Кальций, мг	1651 ± 85	2200
Магний, мг	710 ± 35	700
Фосфор, мг	2853 ± 91	2750
Железо, мг	$38,5 \pm 2,0$	37,50

На основании обобщения литературных сведений и результатов собственных исследований были разработаны и подготовлены к печати методические рекомендации по использованию методов генетического тестирования в спорте (приложение А).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен информационно-аналитический поиск по выбору генов-маркеров, полиморфизмы которых ассоциированы с особенностями клеточного метаболизма спортсменов и могут являться предикторами соревновательной успешности.

Впервые проанализированы полиморфизмы генов *AMPD1*, *G6PC2*, *MCT1*, *IRS1* и *EPOR*, белковые продукты которых участвуют в энергообеспечении мышечной деятельности и обмене веществ, у российских спортсменов и в контрольных выборках.

На основании сравнения данных распределений частот генотипов и аллелей генов *AMPD1*, *G6PC2* и *MCT1* у спортсменов различной специализации и квалификации и в контрольных группах, обнаружены ассоциации генотипов *CC* гена *AMPD1*, *AA* гена *MCT1* и *GG* гена *G6PC2* – с предрасположенностью к проявлению высокой физической работоспособности и *GG* генотипа гена *EPOR* с предрасположенностью к проявлению выносливости. Однозначных ассоциаций *Gly972Arg* полиморфизма гена *IRS-1* с проявлением спортивных качеств не обнаружено.

Корреляционный анализ полиморфизмов генов с показателями физической работоспособности у спортсменов показал ассоциацию *CC* генотипа гена *AMPD1*, и *GG* генотипа гена *EPOR* с бóльшими значениями $\text{VO}_{2\text{max}}$ у лыжников-гонщиков и биатлонистов.

Обнаружено, что у спортсменов *A* аллель гена *G6PC2* ассоциируется с более низким базальным уровнем глюкозы в крови и менее значимым приростом ее концентрации после ФН до отказа. *A* аллель гена *MCT1* связан с меньшим уровнем лактата в крови у спортсменов-мужчин при предельной физической нагрузке.

Выявлено, что в группе спортсменов носительство *IRS-1 Gly/Arg* генотипа ассоциируется с более высоким базальным уровнем триглицеридов в крови, а также с пониженной разностью уровня глюкозы в крови до и после

физической нагрузки.

Обнаружены ошибки в фактическом питании спортсменов, заключающиеся в повышенном потреблении жиров, как животного, так и растительного происхождения и недостаточном потреблении полисахаридов, что приводит к дисбалансу энергопотребления спортсменов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 Ahmetov, I.I. Genes, athlete status and training – An overview / I.I.Ahmetov, V.A.Rogozkin / Genetics and Sports, ed.: Collins M. // Med. Sport Sci. - Basel, Karger, 2009. – V.54. – P.43-71.

2 Bray, M.S. The Human Gene Map for Performance and Health-Related Fitness Phenotypes: The 2006-2007 Update / M.S.Bray, J.M.Hagberg, L.Perusse, T.Rankinen, S.M.Roth, B.Wolfarth, C.Bouchard // Med. Sci. Sports. Exerc. – 2009. – V.41. – P.35–73.

3 Rankinen, T. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2005 update / T.Rankinen, M.S.Bray, J.M.Hagberg, L.Perusse, S.M.Roth, B.Wolfarth, C.Bouchard // Med Sci Sports Exerc. – 2006. – V.38 (11). – P.1863-1888.

4 Bouchard, C. Familial aggregation of VO₂max response to exercise training: results from the HERITAGE Family Study / C.Bouchard, P.An, T.Rice, J.S.Skinner, J.H.Wilmore, J.Gagnon, L.Perusse, A.S.Leon, D.C.Rao // J. Appl. Physiol. – 1999. – V.87. – P.1003-1008.

5 Bouchard, C. Genomic predictors of trainability / C.Bouchard // Exp. Physiol. - 2012. – V.97. – P.347–352.

6 Rankinen, T. Gene–Exercise Interactions / T.Rankinen, C.Bouchard // Progress in Molecular Biology and Translational Science. - 2012. – V.108. – P.447-460.

7 Bouchard C, Rankinen T. Individual differences in response to regular physical activity / C.Bouchard, T.Rankinen // Med. Sci. Sports Exerc. – 2001. – V.33. – P.S446–51.

8 Ахметов, И.И. Молекулярная генетика спорта: монография / И.И.Ахметов. – М.: Советский спорт, 2009. – 268 с.

9 Williams, A.G. Similarity of polygenic profiles limits the potential for elite human physical performance / A.G.Williams, J.P.Folland // J. Physiol. – 2008. – V.586. – P.113-121.

10 Ruiz, J.R. Is there an optimum endurance polygenic profile? / J.R.Ruiz, F.Gomez-Gallego, C.Santiago, M.Gonzalez-Freire, Z.Verde, C.Foster, A.Lucia // J. Physiol. – 2009. – V.587. – P.1527-1534.

11 Lowenstein, J.M. The purine nucleotide cycle revised / J.M.Lowenstein // Int. J. Sports Med. – 1990. – V.11. – P.37-46.

12 Rundell, K.W. Altered kinetics of AMP deaminase by myosin binding / K.W.Rundell, P.C.Tullson, R.L.Terjung // Am. J. Physiol. – 1992. – V.263. – P.294-299.

13 Fischer, S. Clinical significance and neuropathology of primary MADD in C34-T and G468-T mutations of the AMPD1 gene / S.Fischer, C.Drenckhahn, C.Wolf, K.Eschrich, S.Kellermann, U.G.Froster, R.Schober // Clin. Neuropathol. – 2005. – V.24 (2). – P.77-85.

14 Norman, B. Regulation of skeletal muscle ATP catabolism by AMPD1 genotype during sprint-exercise in asymptomatic subjects / B.Norman, R.L.Sabina, E. Jansson // J. Appl. Physiol. – 2001. – V.91. – P.258-264.

15 Norman, B. Genetic and other determinants of AMP deaminase activity in healthy adult skeletal muscle / B.Norman, D.K.Mahnke-Zizelman, A.Vallis, A.Sabina // J. Appl. Physiol. – 1998. – V.85. – P.1273–1278.

16 Rico-Sanz, J. HERITAGE Family study: Associations between cardiorespiratory responses to exercise and the C34T AMPD1 gene polymorphism in the HERITAGE Family Study / J.Rico-Sanz, T.Rankinen, D.R.Joanisse, A.S.Leon, J.S.Skinner, J.H.Wilmore, D.C.Rao, C.Bouchard // Physiol. Genomics. – 2003. – V.14. – P.161-166.

17 Rubio, J.C. Frequency of the C34T mutation of the AMPD1 gene in world-class endurance athletes: does this mutation impair performance? / J.C.Rubio, M.A.Martin, M.Rabadan, F.Gomez-Gallego, A.F.San Juan, J.M.Alonso, J.L.Chicharro, M.Perez, J.Arenas, A.Lucia // J. Appl. Physiol. – 2005. – V.98 (6). – P.2108-2112.

18 Demirci, F.Y. Association of a common G6PC2 variant with fasting plasma glucose levels in non-diabetic individuals / F.Y.Demirci, A.S.Dressen,

R.F.Hamman, C.H.Bunker, C.M.Kammerer, M.I.Kamboh // *Ann. Nutr. Metab.* – 2010. – V.56 (1). – P.59-64.

19 Bouatia-Naji, N. A polymorphism within the G6PC2 gene is associated with fasting plasma glucose levels / N.Bouatia-Naji, G.Rocheleau, L.Van Lommel, K.Lemaire et al // *Science.* – 2008. – V.320 (5879). – P.1085-1088.

20 Rose, C.S. A variant in the G6PC2/ABCB11 locus is associated with increased fasting plasma glucose, increased basal hepatic glucose production and increased insulin release after oral and intravenous glucose loads / C.S.Rose, N.Grurup, N.T.Krarup et al. // *Diabetologia.* – 2009. – V.52. – P.2122-2129.

21 Matschinsky, F.M. Banting Lecture 1995. A lesson in metabolic regulation inspired by the glucokinase glucose sensor paradigm / F.M.Matschinsky // *Diabetes.* – 1996. – V.45. – P.2223-2241.

22 McDermott, J.C. Glyconeogenic and oxidative lactate utilization in skeletal muscle / J.C.McDermott, A.Bonen // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1992. – V.70 (1). – P.142-149.

23 Bonen, A. Short-term training increases human muscle MCT1 and femoral venous lactate in relation to muscle lactate / A.Bonen, K.J.McCullagh, C.T.Putman, E.Hultman, N.L.Jones, G.J.Heigenhauser // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 1998. – V.274. – P.102-107.

24 Bonen, A. Lactate transporters (MCT proteins) in heart and skeletal muscles / A.Bonen // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2000. – V.32. – P.778-789.

25 Dubouchaud, H. Endurance training, expression, and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle / H.Dubouchaud, G.E.Butterfield, E.E.Wolfel, B.C.Bergman, G.A.Brooks // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2000. – V.278. – P.571-579.

26 Juel, C. Current aspects of lactate exchange: lactate/H transport in human skeletal muscle / C.Juel // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 2001. – V.86. – P.12-16.

27 Garcia, C.K. Molecular characterization of a membrane transporter for lactate, pyruvate, and other monocarboxylates: implications for the Cori cycle /

C.K.Garcia, J.L.Goldstein, R.K.Pathak, R.G.Anderson, M.S.Brown // Cell. – 1994. – V.76. – P.865-873.

28 Fishbein, W.N. Relative distribution of three major lactate transporters in frozen human tissues and their localization in unfixed skeletal muscle / W.N.Fishbein, N.Merezhinskaya, J.Foellmer // Muscle Nerve. – 2002. – V.26. – P.101-112.

29 Pilegaard, H. Effect of high-intensity exercise training on lactate/H transport capacity in human skeletal muscle / H.Pilegaard, K.Domino, T.Noland, C.Juel, Y.Hellsten, A.P.Halestrap, J.Bangsbo // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 1999. – V.276. – P.255-261.

30 Juel, C. Training-induced changes in membrane transport proteins of human skeletal muscle / C.Juel // Eur. J. Appl. Physiol. – 2006. – V.96 (6). – P.627-635.

31 Merezhinskaya, N. Mutations in MCT1 cDNA in patients with symptomatic deficiency in lactate transport / N.Merezhinskaya, W.N.Fishbein, J.I.Davis, J.W.Foellmer // Muscle Nerve. – 2000. – V.23. – P.90-97.

32 Carvalho, E. Low cellular IRS 1 gene and protein expression predict insulin resistance and NIDDM / E.Carvalho, P.A.Jansson, M.Axelsen et al. // FASEB J. – 1999. – V.13. – P.2173–2178.

33 Hribal, M.L. The Gly972Arg amino acid polymorphism in IRS-1 affects glucose metabolism in skeletal muscle cells. / M.L.Hribal, M.Federici, O.Porzio et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2000. – V.85. – P.2004–2013.

34 Sigal, R.J. Codon 972 polymorphism in the insulin receptor substrate-1 gene, obesity, and risk for noninsulin-dependent diabetes mellitus / R.J.Sigal, A.Doria, J.H.Warram et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1996. – V.81. – P.1657–1659.

35 Румянцев, А.Г. Эритропоэтин: диагностика, профилактика и лечение анемий / А.Г.Румянцев, Е.Ф.Морщакова, А.Д.Павлов. – М., 2003. – 448 с.

36 Watowich, S.S. Activation of erythropoietin signaling by receptor

dimerization / S.S.Watowich // Intern. J. Biochem. Cell. Biology. – 1999. –V.31. – P.1075–1088.

37 Al-Sheikh, M. A study of 36 unrelated cases with pure erythrocytosis revealed three new mutations in the erythropoietin receptor gene / M.Al-Sheikh // Haematol. – 2008. – V.93. – P.1072-1075.

38 Wolfarth, B. Association between a tetranucleotide (GGAA)_n repeat in the erythropoietin receptor gene and endurance performance. / B.Wolfarth, J.A.Simoneau, E.Jakob et al // Med. Sci. Sports Exerc. – 1997. – V.29 (Suppl). – P.51 (Abstract).

39 Bezerra, R.M.N. Lack of Arg972 Polymorphism in the IRS1 Gene in Parakand Brazilian Indians / R.M.N.Bezerra, T.T.Chadid, C.M.Altemani // Human Biology. – 2004. – V.76. – P.147-151.

40 Полиевский, С.А. Основы индивидуального и коллективного питания спортсменов / С.А.Полиевский.– М.: Физкультура и спорт, 2005. – 384 с.

41 Гольберг, Н.Д. Питание юных спортсменов / Н.Д.Гольберг, Р.Р.Дондуковская. – М.: Советский спорт, 2005. – 280 с.

Приложение А

Министерство спорта Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ФИЗИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ»

Гольберг Н.Д., Дружевская А.М., Федотовская О.Н., Ахметов И.И.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ
В СПОРТЕ

Санкт-Петербург

2012

ВВЕДЕНИЕ

Применение молекулярно-генетических маркеров в практике спортивной науки существенно повысило прогностические возможности спортивной ориентации и отбора и привело к формированию новой научной дисциплины – молекулярной генетики спорта, центральной идеей которой является представление о том, что индивидуальные различия в степени развития тех или иных физических и психических качеств человека во многом обусловлены ДНК-полиморфизмами.

Генетическое тестирование в спорте позволяет оказывать помощь педагогам, тренерам и спортивным врачам в определении предрасположенности детей и подростков к определенному виду двигательной деятельности, в повышении роста спортивных показателей за счет оптимизации и коррекции тренировочного процесса, и в профилактике различных заболеваний, связанных с профессиональной деятельностью спортсменов.

Расшифровка генома человека стала наиболее значительным научным событием начала XXI века, открывающим колоссальные возможности для понимания неповторимой природы каждого человека. Индивидуальность человека – это не только его внешность, интеллект, физические качества, но и, в большой степени, его здоровье, состояние которого определяется уникальной комбинацией генотипов, полученных от родителей, и которые он передаст своим детям. В перспективе каждый индивид сможет получить в руки индивидуальную генетическую карту – данные о вариациях (полиморфизмах) в определенных участках генома, которые являются маркерами предрасположенности к двигательной деятельности, а также факторами риска для здоровья. Такая информация имеет огромную практическую значимость, поскольку дает возможность человеку узнать потенциально сильные и слабые места своего организма. Информация о генетическом полиморфизме позволит правильно организовать свою жизнь:

работу, быт, отдых, занятия спортом, питание и своевременно предпринять соответствующие профилактические меры в отношении факторов риска для здоровья. При этом квалифицированная консультация может помочь индивиду в подборе оптимальной спортивной специализации, в оптимизации тренировочного процесса и питания, а также позволит существенно ограничить влияние опасных факторов на здоровье.

Генетические маркеры физических качеств человека

Полиморфизм ДНК – это вариабельность (изменчивость) в структуре ДНК. Обнаружено уже более 20 млн. таких участков (полиморфизмов). Задача генетиков заключается в выявлении функциональной значимости определенного полиморфизма (хотя показано, что большинство полиморфизмов нейтральны). У каждого полиморфизма имеется определенный идентификационный номер (rs), например rs1815739 означает полиморфизм в гене *ACTN3* (ген альфа-актинина-3; отвечает за синтез белка, входящего в состав сократительного комплекса миофибрилл быстрых мышечных волокон).

В молекулярной генетике спорта под термином «молекулярно-генетический маркер» (коротко: «генетический маркер») понимается определенный аллель гена (либо генотип, различные комбинации аллелей и генотипов), ассоциированный с предрасположенностью к занятиям каким-либо видом спорта (или группам видов спорта), развитием и проявлением какого-либо физического качества (двигательной способности), а также с биохимическими, антропометрическими, композиционными, физиологическими, психологическими, патологическими и другими показателями.

В таблицах 1–2 представлены наиболее значимые генетические маркеры выносливости и скорости/силы в отдельных видах спорта (Ахметов, 2010). Для этого были использованы данные, свидетельствующие

о значимых различиях в частотах встречаемости аллелей между российскими спортсменами ($n = 1423$) и контрольной группой ($n = 1132$).

Таблица 1 - Значимые генетические маркеры выносливости в отдельных видах спорта

Группа	Вид спорта	Аллели выносливости										
		<i>NFATC4</i> rs229309 G	<i>PPARA</i> rs4253778 G	<i>PPARD</i> rs2016520 C	<i>PPARGC1A</i> rs8192678 G	<i>PPARGC1B</i> rs7732671 C	<i>PPP3R1 5I</i>	<i>TFAM</i> rs1937 C	<i>UCP2</i> rs660339 T	<i>UCP3</i> rs1800849 T	<i>VEGFA</i> rs2010963 C	<i>VEGFR2</i> rs1870377 A
I	Биатлон					+		+		+	+	
	Велошоссе			+				+	+		+	+
	Лыжные гонки 15-50 км	+	+	+		+	+	+	+	+	+	
	Плавание 5-25 км			+				+		+		+
	Спортивная ходьба	+				+		+			+	
	Триатлон		+	+		+		+	+	+		
	Все	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II	Академическая гребля	+	+		+	+		+	+	+		
	Бег 3-10 км							+				
	Коньки 5-10 км							+				
	Лыжные гонки 5-10 км		+	+				+				
	Плавание 800-1500 м			+	+	+			+	+	+	+
	Все	+	+	+	+	+		+	+	+	+	
III	Гребля на байдарках			+								
	Коньки 1,5-3 км	+			+	+	+			+	+	
	Плавание 200-400 м										+	+
	Все	+		+	+	+	+		+	+	+	
IV	Баскетбол					+		+				
	Бокс				+				+			
	Борьба				+		+	+			+	
	Теннис	+			+				+			
	Футбол								+			
	Хоккей с шайбой									+	+	
	Все				+	+		+	+		+	

В таблице 2 можно видеть, что обнаружение у индивида *ACTN3* С аллеля повышает его шансы на успех в таких видах спорта, как академическая гребля, горнолыжный спорт, спринт в конькобежном спорте, бодибилдинг и хоккей с шайбой. Соответственно, индивиды с ТТ генотипом имеют невысокие шансы в достижении выдающихся успехов в данных видах спорта. Вместе с тем, наличие у индивида максимального количества аллелей выносливости либо быстроты/силы повышает его генетический потенциал в развитии данных качеств в еще большей степени.

Таблица 2 - Значимые генетические маркеры быстроты/силы

Вид спорта	Аллели быстроты/силы				
	<i>ACTN3</i> rs1815739 С	<i>HIF1A</i> rs11549465 Т	<i>PPARA</i> rs4253778 С	<i>PPARG</i> rs1801282 G	<i>PPARGC1B</i> rs7732671 С
Академическая гребля	+				
Бег 60-400 м		+		+	+
Бодибилдинг	+			+	
Горнолыжный спорт	+				+
Коньки 500-1000 м	+		+	+	
Метания			+	+	+
Пауэрлифтинг			+		
Плавание 50-100 м				+	
Прыжки в длину			+		
Прыжки с шестом				+	
Спортивная гимнастика				+	
Тяжелая атлетика		+	+	+	+
Хоккей с шайбой	+				
Все		+	+	+	+

Генетические маркеры профессиональных патологий спортсменов

Согласно обнаруженным эффектам полиморфизмов генов, выделяют аллели (маркеры), ограничивающие двигательную деятельность человека (маркеры адаптации сердечнососудистой системы к физическим нагрузкам,

маркеры интолерантности (невосприимчивости по ряду показателей) к физическим нагрузкам, маркеры посттравматических заболеваний головного мозга и патологий опорно-двигательного аппарата и др.) (Ахметов, 2009; Jordan et al., 1997; Collins and Raleigh, 2009). Следствием такого ограничения двигательной деятельности в лучшем случае является прекращение роста спортивных результатов, в худшем – развитие патологических состояний, таких как, например, выраженная гипертрофия миокарда левого желудочка с исходом в сердечную недостаточность (Ахметов и др., 2008; Линде и др., 2007, 2009).

В таблице 3 представлены генетические маркеры, ассоциированные с заболеваниями опорно-двигательного аппарата у спортсменов и лиц, не занимающихся спортом. На основании генотипирования данных и других маркеров в будущем могут быть разработаны методы лечения, профилактики и реабилитации спортсменов с повреждениями опорно-двигательного аппарата (Hoffmann and Gross, 2009; Tran et al., 2010).

Рост спортивных достижений требует от спортсменов максимального напряжения сил. Иногда спортсмены перегружают себя тренировками, что может привести к длительной гиперфункции сердца с дальнейшим развитием выраженной гипертрофии миокарда, препятствующей росту спортивного мастерства. Известно, что предрасположенность к гипертрофии миокарда передается по наследству, и носит множественный полигенный характер.

Установлена взаимосвязь некоторых аллелей/генотипов с предрасположенностью к развитию гипертрофии миокарда левого желудочка у спортсменов (*ACE* DD, *AGT* TT (M235T полиморфизм), *AGTR1* CC (A1166C полиморфизм), *IGF1* >19/19>, *IGF1R* AA (G3174A полиморфизм), *MSTN* AA (IVS1+88_90delA полиморфизм), *NFATC4* rs2229309 GG, *PPARA* rs4253778 C, *PPARD* rs2016520 C, *PPP3R1* 5D) (Ахметов и др., 2008; Линде и др., 2007, 2009; Di Mauro et al., 2010; Karlowatz et al., 2009; Karjalainen et al., 1999).

Таблица 3 - Генетические маркеры, ассоциированные с заболеваниями опорно-двигательного аппарата

Ген	Маркер	Патология
<i>ADAMTS18</i>	rs11864477 C (маркер риска)	Переломы костей
<i>COL1A1</i>	rs1800012 TT (протективный генотип)	Разрыв ахиллова сухожилия, разрыв крестообразных связок, тендинопатия ахиллова сухожилия, дислокация плечевого сустава
<i>COL5A1</i>	rs12722 CC (протективный генотип)	Разрыв передней крестообразной связки, тендинопатия ахиллова сухожилия
<i>COL12A1</i>	rs970547 AA (маркер риска)	Разрыв передней крестообразной связки
<i>GDF5</i>	rs143383 TT (маркер риска)	Тендинопатия ахиллова сухожилия
<i>JAG1</i>	rs2273061 G (протективный аллель)	Переломы костей вследствие остеопороза
<i>LRP5</i>	rs4988321 A (Met667) rs3736228 T (Val1330) (маркеры риска)	Переломы костей
<i>MMP3</i>	rs679620 GG rs591058 CC rs650108 AA (маркеры риска)	Тендинопатия ахиллова сухожилия
<i>TNC</i>	(GT-повторы 17-го интрона): 12 и 14 повторов – маркеры риска, 13 и 17 повторов – протективные аллели	Разрыв ахиллова сухожилия, тендинопатия ахиллова сухожилия

В 36 % случаев внезапная смерть у спортсменов вызвана гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) (Maron et al., 2009), которая является следствием мутаций генов, кодирующих синтез сократительных белков миокарда (тяжелые цепи миозина, тропонин Т, тропомиозин и связывающий миозин белка С) (Аль-Обади и Смоленский, 2007). Обнаружено уже более 150 мутаций, приводящих к ГКМП. Избирательный скрининг юных спортсменов на носительство мутаций в этих генах в

будущем позволит существенно снизить среди спортсменов смертность от сердечнососудистых патологий.

Принципы генетического тестирования в спорте

Как известно, неадекватный выбор вида спортивной деятельности сопровождается формированием нерациональной функциональной системы адаптации с большим числом лишних, неэффективных и даже нецелесообразных функциональных взаимосвязей, напряжением компенсаторных механизмов, затруднением восстановительных процессов, медленным развитием тренированности, менее успешным выступлением в соревнованиях, достижением высокого уровня спортивного мастерства, неутешительным прогнозом перспективности и, наконец, остановкой роста спортивного мастерства в связи с исчерпанием генетического резерва организма (Сологуб и Таймазов, 2000; Кочергина и Ахметов, 2006).

Существование предрасположенности у каждого человека к каким-либо видам спорта подтверждается примерами по определению частоты встречаемости различных аллелей генов, ассоциированных с двигательной деятельностью. Так, на основании анализа rs4253778 полиморфизма гена *PPARA* можно выделить индивидов с наличием аллелей G (носители генотипов GG и GC) или C (носители генотипов GC и CC). Было обнаружено, что частота встречаемости *PPARA* G аллеля значимо выше среди стайеров по сравнению с контрольной группой, а частота *PPARA* C аллеля – среди спринтеров и тяжелоатлетов.

Подобный антагонизм аллелей, когда первый аллель гена предрасполагает к видам спорта одной метаболической направленности, а второй – к видам спорта другой метаболической направленности, обнаружен также для *ACE I/D*, *ACTN3* rs1815739 и *HIF1A* Pro582Ser полиморфизмов. На основании этих данных можно предположить, что носительство каких-либо аллелей генов *ACE*, *ACTN3*, *HIF1* и *PPARA* не ограничивает человека в

возможности занятий видами спорта вообще.

В повседневной жизни можно наблюдать процессы спортивного отбора, протекающие естественным образом. Одни спортсмены остаются в тех видах спорта, в которых начали свою карьеру, поскольку их генетическая конституция предрасполагает к такой двигательной деятельности. Другие же или вообще уходят из спорта, или находят (либо им подбирают) тот оптимальный вид спорта, в котором они могут добиться наилучших результатов.

В исследовании с участием российских лыжников (Кочергина и Ахметов, 2006) было показано, что частота встречаемости неблагоприятного для проявления выносливости *PPARA* C аллеля (повышает риск развития гипертрофии миокарда, что ограничивает аэробные возможности) среди юных лыжников-гонщиков, прекративших заниматься данным видом спорта, через 7 месяцев после начала занятий составила 66,7 %, в то время как среди оставшейся группы частота *PPARA* C аллеля была всего 6,5 %. Более того было выявлено, что в группе спортсменов-стайеров частота *PPARA* C аллеля у разрядников и КМС близка к среднепопуляционным данным, а у мастеров спорта международного класса (МСМК) и заслуженных мастеров спорта (ЗМС) это значение достигает минимальных значений (Ahmetov et al., 2006). Этот феномен (в соответствии с генетической концепцией спортивного отбора) отражает накопление благоприятствующих определенной двигательной деятельности аллелей у спортсменов высокой квалификации и постепенный отсев спортсменов с неблагоприятным сочетанием генотипов (в приведенном примере: накопление *PPARA* G и снижение *PPARA* C аллелей у стайеров с ростом спортивной квалификации).

Используя литературные данные о встречаемости аллелей различных генов у спортсменов, занимающихся разными видами спорта, можно подобрать оптимальные для конкретной двигательной деятельности сочетания аллелей и генотипов по многим генам-кандидатам (см. таблицы 1–2). При этом необходимо признать существование индивидов, на которых

стандартные физические нагрузки действуют как минимум нейтрально, не вызывая улучшения таких физических показателей, как максимальное потребление кислорода в результате длительных тренировок (Bouchard et al., 1999; Bouchard and Rankinen, 2001). Данный факт свидетельствует об индивидуальных различиях в ответ на классические физические нагрузки, но еще не доказывает наличие очень низких спортивных способностей. По крайней мере, исследования с целью оптимизации тренировочного процесса с учетом индивидуальной генетической предрасположенности показали положительные результаты (Кочергина и Ахметов, 2006). Также необходимо учитывать возможность того, что такие индивиды могут быть интолерантными к физическим нагрузкам ввиду мутаций в ядерных и митохондриальных генах, и поэтому не могут быть отнесены в полной мере к здоровым лицам (Bray et al., 2009).

Интерпретация результатов генетического тестирования и составление рекомендаций

Интерпретация результатов генетического тестирования в спорте – ответственное и трудоемкое дело, которым должен заниматься подготовленные специалисты, обладающие знаниями в области молекулярной генетики человека, физиологии и биохимии мышечной деятельности, спортивной медицины и антропологии, а также разбирающийся в различных аспектах питания спортсменов и спортивной педагогики (вопросы отбора в спорте, спортивной тренировки, многолетней подготовки спортсменов и др.).

При решении вопросов спортивной специализации и отбора, оптимизации и коррекции тренировочного процесса, профилактики профессиональных заболеваний спортсменов молекулярно-генетическое тестирование не может заменить фенотипическую диагностику, а может лишь дополнить и конкретизировать отдельные ее моменты. Связано это не

только с тем, что на данный момент мы не располагаем всей информацией о генетических маркерах, ассоциированных с двигательной и психической деятельностью человека, но и с тем, что генетическая диагностика не распространяется дальше генотипа (она не позволяет установить промежуточный или конечный результат взаимодействия генотипа, эпигенетических модификаций и средовых факторов).

Интерпретация должна проводиться на основе суммарного вклада генотипов и аллелей генов в определение наследственной предрасположенности к двигательной деятельности и к развитию профессиональных патологий спортсменов. Вклад отдельных генотипов и аллелей генов в развитие физических качеств человека необходимо оценивать как на основе литературных источников, так и собственных данных, полученных на больших выборках спортсменов и контрольных групп.

В соответствии с функциональной значимостью определенных аллелей генов, ассоциированных со спортивной деятельностью, у испытуемых можно определить четыре типа предрасположенности к развитию и проявлению физических качеств:

1) *низкая предрасположенность* к развитию и проявлению какого-либо физического качества (определяется на основании того, что среди большой выборки высококвалифицированных спортсменов отсутствуют носители такого минимального числа благоприятствующих конкретной деятельности аллелей либо если у них отсутствуют найденные у испытуемого негативные мутации, влияющие на спортивный результат); означает, что имеется высокая вероятность того, что индивид не сможет преодолеть уровень мастера спорта (МС) в определенной группе видов, требующих преимущественного проявления какого-либо физического качества (выносливости, быстроты, силы, ловкости, гибкости). По всей видимости, к этой категории испытуемых будут относиться индивиды с негативными мутациями, вызывающими интолерантность к физическим нагрузкам;

2) *умеренная предрасположенность* – имеется относительная вероятность, что индивид сможет достичь выдающихся результатов в той группе видов спорта, где требуется проявление определенного физического качества;

3) *выраженная предрасположенность* – большая вероятность, что индивид сможет достичь выдающихся результатов в той группе видов спорта, где требуется проявление определенного физического качества;

4) *ярко выраженная предрасположенность* – очень большая вероятность, что индивид сможет достичь выдающихся результатов в той группе видов спорта, где требуется проявление определенного физического качества.

На основании выявления предрасположенности к развитию и проявлению отдельных физических качеств (например, выраженная предрасположенность к развитию и проявлению выносливости + низкая предрасположенность к развитию и проявлению быстроты и силы), для испытуемого подбирается набор групп видов спорта (рис.1), к которым он предрасположен (с учетом фенотипических данных).

В зависимости от приоритета и генетического потенциала индивида, этот набор должен включать в себя группы видов спорта 1-го и 2-го выбора.

Индивидуальные заключения

В текст индивидуального заключения должно входить:

1) перечисление всех выявленных генотипов по изучаемым локусам ДНК. Эта информация носит конфиденциальный характер, так как содержит генетические данные индивида о его предрасположенности к спорту и о риске развития мультифакторных и других патологий. С этой информацией могут быть ознакомлены исключительно испытуемый и родители испытуемого и, при наличии их разрешения – личный (спортивный или семейный) врач и тренер;

2) интерпретационная часть: в соответствии с полученными генетическими данными предоставляется информация о

предрасположенности индивида к развитию и проявлению физических качеств (можно также дать информацию по развитию промежуточных фенотипов, например, оценить состав мышечных волокон, определить, до каких пределов может осуществляться прирост МПК и т.п.), а также о риске развития различных патологических состояний и заболеваний (но только при запросе этих данных): ГМЛЖ (актуально для стайеров), внезапная сердечная смерть (футбол, хоккей), атеросклероз, посттравматические поражения нервной системы (бокс, борьба, восточные единоборства), заболевания ОДА (травмоопасные спортивные специализации), сахарный диабет 2-го типа, ожирение, артериальная гипертензия, нарушения свертываемости крови, и др.;

3) рекомендательная часть:

а) для испытуемого подбираются группы видов спорта, в которых он может достичь выдающихся результатов, а также описание сильных и слабых сторон систем организма с точки зрения потенциала развития физических качеств;

б) диетические рекомендации (составляются на основе определенной индивидуальной чувствительности испытуемых к пищевым веществам);

в) профилактический раздел: определяются меры по профилактике мультифакторных заболеваний и патологических состояний, связанных как со спортивной деятельностью, так и с образом жизни.

Индивидуализация тренировочного процесса

Результаты исследований свидетельствуют о том, что индивиды различаются по степени прироста тех или иных показателей в ответ на физические нагрузки. Например, были выявлены группы испытуемых с отрицательным приростом максимального потребления кислорода, очень низким, низким, средним, высоким и очень высоким приростом в ответ на 20-недельную тренировку аэробной направленности (Bouchard et al., 1999).

Исследованию индивидуальных различий показателей и их взаимосвязи с полиморфизмами генов посвящено много работ, в том числе работ по изучению индивидуальных различий в изменениях липидного профиля, частоты сердечных сокращений и артериального давления в ответ на физические нагрузки. Получены данные, которые указывают на то, что ожидать от того или иного вида тренировки с определенным сочетанием генотипов, что имеет немаловажное значение для оптимизации тренировочного процесса, правильного дозирования физической нагрузки с лечебной целью. Так, в работе Blanchard и соавт. (2006) установлены наиболее оптимальные тренировочные режимы для индивидов с различными генотипами ренин-ангиотензин-альдостероновой системы с целью снижения артериального давления.

Достижения в области молекулярной биологии и генетики открыли возможности для разработки новых методов спортивной ориентации и отбора, а также методов профилактики и лечения патологий, связанных со спортивной деятельностью. В основе данных методов лежит анализ полиморфизмов ДНК, ассоциированных с нормальными и патологическими фенотипами. Сейчас происходит формирование новой системы медико-генетического обеспечения физической культуры и спорта, которая позволит повысить эффективность подготовки спортсменов и сохранить их здоровье.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аль-Обади И.С., Смоленский А.В. Генные маркеры как предикторы внезапной сердечной смерти в спорте // Российский кардиологический журнал. – 2007. – №1. – С.57–61.
2. Ахметов И.И. Молекулярная генетика спорта. Монография. – М.: Советский спорт, 2009. – 268 с.
3. Ахметов И.И. Молекулярно-генетические маркеры предрасположенности к различным видам спорта // Ученые записки университета им.П.Ф.Лесгафта. – 2010. – 7(65). – С.3-6.
4. Ахметов И.И., Линде Е.В., Рогозкин В.А. Ассоциация полиморфизмов генов-регуляторов с типом адаптации сердечнососудистой системы к физическим нагрузкам // Вестник спортивной науки. – 2008. – №1. – С.38–41.
5. Кочергина А.А., Ахметов И.И. Оптимизация тренировочного процесса юных лыжников с учетом их генетической предрасположенности // Физическая культура: воспитание, образование, тренировка. – 2006. – №1. – С.35–36.
6. Линде Е.В., Ахметов И.И., Астратенкова И.В., Федотова А.Г. Роль наследственных факторов в формировании гипертрофии миокарда левого желудочка у высококвалифицированных спортсменов // Международный журнал интервенционной кардиоангиологии. – 2007. – №13. – С.56–62.
7. Линде Е.В., Ахметов И.И., Орджоникидзе З.Г., Астратенкова И.В., Федотова А.Г. Клинико-генетические аспекты формирования «патологического спортивного сердца» у высококвалифицированных спортсменов // Вестник спортивной науки. – 2009. – №2. – С.32–37.
8. Сологуб Е.Б., Таймазов В.А. Спортивная генетика: Учеб.пособие. – М.: Терра-Спорт, 2000. – 127 с.

9. Ahmetov I.I., Mozhayskaya I.A., Flavell D.M., et al. PPAR α gene variation and physical performance in Russian athletes // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 2006. – V.97. – P.103-108.
10. Blanchard B.E., Tsongalis G.J., Guidry M.A. et al. RAAS polymorphisms alter the acute blood pressure response to aerobic exercise among men with hypertension // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 2006. – V.97(1). – P.26-33.
11. Bouchard C., An P., Rice T., et al. Familial aggregation of VO₂max response to exercise training: results from the HERITAGE Family Study // *J. Appl. Physiol.* – 1999. – V.87. – P.1003–1008.
12. Bouchard C., Rankinen T. Individual differences in response to regular physical activity // *Med Sci Sports Exerc.* – 2001. – V.33. – P.446–451.
13. Bray M.S., Hagberg J.M., Perusse L., et al. The Human Gene Map for Performance and Health-Related Fitness Phenotypes: The 2006-2007 Update // *Med. Sci. Sports. Exerc.* – 2009. – V.41. – P.35–73.
14. Collins M., Raleigh S.M. Genetic risk factors for musculoskeletal soft tissue injuries // *Med. Sport Sci.* – 2009. V.54. – P.136–149.
15. Di Mauro M., Izzicupo P., Santarelli F. et al. ACE and AGTR1 polymorphisms and left ventricular hypertrophy in endurance athletes // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2010. – V.42(5). – P.915–921.
16. Hoffmann A., Gross G. Innovative strategies for treatment of soft tissue injuries in human and animal athletes // *Med. Sport Sci.* – 2009. – V.54. – P.150–165.
17. Jordan B.D., Relkin N.R., Ravdin L.D. et al. Apolipoprotein E epsilon4 associated with chronic traumatic brain injury in boxing // *JAMA.* – 1997. – V.278(2). – P.136–140.
18. Karjalainen J., Kujala U.M., Stolt A. et al. Angiotensinogen gene M235T polymorphism predicts left ventricular hypertrophy in endurance athletes // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1999. – V.34(2). – P.494–499.
19. Karlowatz R.J., Scharhag J., Rahnenführer J. et al. Polymorphisms in the IGF1 signalling pathway including the myostatin gene are associated with

left ventricular mass in male athletes // Br. J. Sports Med. 2009. – DOI:10.1136/bjism.2008.050567.

20. Maron B.J., Doerer J.J., Haas T.S. et al. Sudden deaths in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980-2006 // Circulation. – 2009. – 119(8). – P.1085-1092.