

И.Н. Нечаев¹, М.Ю. Шкурников¹, Д.Г. Максименко²

Определение предрасположенности к развитию нарушений сердечно-сосудистой системы у молодых спортсменов Московского региона

¹ ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

² Общество с ограниченной ответственностью Научно-технический центр «БиоКлиникум», 115088, Москва, ул. Угрешская, 2

Определены частоты аллелей 234 испытуемых (состоящих из двух групп спортсменов: скоростно-силовой и циклической подготовкой) по 12 полиморфизмам. Были рассчитаны распределения частот кардиориска для группы контроля и двух групп спортсменов. Разработана методика индивидуальной оценки генетического кардиориска.

Ключевые слова: кардиориск, сердечно-сосудистые заболевания, полиморфизм, аллель

I.N. Nechaev¹, M.U. Shkurnikov¹, D.G. Maximenko²

Determination of susceptibility to the development of disorders of the cardiovascular system in young athletes in the Moscow region

¹ Institute of general pathology and pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

² SRC «Bioclinicum», 2, Ugreshskaya str., Moscow, 115088, Russia

The allele's frequencies of 234 subjects (consisting of two groups of athletes: speed-strength and cyclic training) of 12 polymorphisms. We calculated the frequency distribution cardiovascular risk for the control group and two groups of athletes. There was made the technique of an individual assessment of the genetic cardiovascular risk.

Key words: cardiovascular risk, cardiovascular disease, polymorphism, allele

В России среди общей смертности доля заболеваний, приходящихся на сердечно-сосудистую систему, составляет 57%. В последнее десятилетие самое пристальное внимание спортивных кардиологов обращено на выявление факторов риска внезапной сердечной смерти (ВСС) у спортсменов. Известно, что высококвалифицированные спортсмены имеют выраженные структурно-функциональные изменения сердца, которые связаны с видом спорта, полом, и генетическими факторами [19]. В ряде популяционных исследований показано, что смертность от сердечно-сосудистых заболеваний среди спортсменов от 12 до 35 лет в 2,5 раза превышает данный показатель для лиц, не занимающихся спортом [16]. К числу наиболее частых причин смерти от заболеваний сердечно-сосудистой системы (ССС) большинство зарубежных авторов относят гипертрофическую кардиомиопатию (60%), аномалии строения коронарных артерий (25%) и миокардиты (10%) [16].

В настоящее время для изучения границ индивидуальной адаптации к физическим нагрузкам используются молекулярно-генетические технологии. На данный момент найдено более 100 наследственных детерминант «спортивной успешности» в проявлении целого ряда физических качеств, комбинации которых дают возможность спортсменам с определенным набором данных генетических признаков доминировать в определенных видах спорта [5]. С другой стороны, отмечена ассоциация некоторых из «спортивных» полиморфизмов — кандидатов (*ACE*, *AGT*, *AGTR1*, *AGTR2*, *BDKRB2*, *GNB3*, *NOS3*, *AMPD1*, *ITGB3*, *ADRB2* и *PPARD*) с рядом заболеваний, таких, как гипертоническая и ишемическая болезнь сердца, аритмии, артериальная гипертензия [1, 3, 4, 9]. Предположительно специфические комбинации этих генетических факторов не только влияют на рост спортивных показателей, но и под воздействием спортивных нагрузок способствуют ускорению патологической трансформации спортивного сердца. Поэтому на сегодняшний день стала как никогда важна разработка ранней диагностики генетической предрасположенности к развитию ССЗ. Информация о суммарном сердечно-сосудистом риске и факторах,

Для корреспонденции: Нечаев Илья Николаевич, м.н.с., лаб. молекулярной физиологии ФГБУ «НИИОПП» РАМН. E-mail: ilyanech@gmail.com

его определяющих, является важным инструментом, дающим врачу сведения о состоянии здоровья обследуемого человека, помогающим с выбором тактики ведения конкретного пациента, подборе действенных мер клинической профилактики.

Проведение одновременного анализа большого числа генов-кандидатов представляется на сегодняшний день очень сложной задачей. Поэтому необходимо выделение группы генов с потенциально наибольшим вкладом в патогенез заболевания, таких как гены ренин-ангиотензиновой системы, гены системы регуляции давления в кровяном русле (ренин, ангиотензиноген, брадикинин, ангиотензин-превращающий фермент и т.д.) [2, 8, 11, 14, 20], группа генов напрямую или опосредованно связанная с вторичными мессенджерами [13], компонентов системы свертывания крови [6], факторы пролиферации [7, 9], рецепторы вегетативной нервной системы [18].

Целью данного исследования было оценить предрасположенность к развитию нарушений сердечно-сосудистой системы (ССС) в зависимости от полиморфизмов генов *ACE*, *AGT*, *AGTR1*, *AGTR2*, *BDKRB2*, *GNB3*, *NOS3*, *AMPD1*, *ITGB3*, *ADRB2* и *PPARD*.

Методика

В ходе работы были обследованы 234 мужчины в возрасте 16—35 лет, регулярно тренирующиеся, специализирующиеся в циклических и скоростно-силовых видах спорта, с квалификацией от 1 разряда до мастеров спорта международного класса (мастер спорта международного класса — 12,5%; мастер спорта — 32,5%; кандидат в мастера спорта — 39,5%; 1-й разряд — 15,5%). Все испытуемые давали письменное информированное согласие на участие в исследовании. В исследовании принимали участие спортсмены различной специализации. Спортсмены, специализирующиеся в скоростно-силовых видах спорта — 115 чел.,

(спринтерский бег, плавание) и 119 чел. группы циклических видов спорта (академическая гребля, байдарки и каноэ, шорт-трек, велоспорт, современное пятиборье, триатлон). Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ ФНЦ ВНИИФК.

Материалом для генетического исследования служила дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК), выделенная из лейкоцитов периферической крови. Забор крови производился из локтевой вены. ДНК выделяли из 100 мкл цельной крови с помощью комплекта реагентов для выделения ДНК «Проба-ГС» (ООО «НПО ДНК-Технология»). Полиморфизмы оценивали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) согласно методике производителя тест-систем (ООО «НПО ДНК-Технология»). ПЦР-РВ проводили на амплификаторе ДТ-384 производства ООО «НПО ДНК-Технология». Изучавшиеся полиморфизмы представлены в табл. 1.

Исходя из данных литературы, у каждого из представленных полиморфизмов есть аллель кардиориска и аллель кардиопротекции. Аллелью кардиориска принято называть аллель, при которой повышен риск возникновения ССЗ, согласно данным литературы. В свою очередь, аллель кардиопротекции, та при которой риск возникновения ССЗ снижен [15].

Частоты аллелей и генотипов определялись исходя из закона Харди—Вайнберга [17]. Для проверки соответствия эмпирического распределения частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению использовался z-критерий биномиального распределения. Достоверными считали различия частот аллелей и генотипов при значении критерия меньше либо равным 0,05 [3, 12]. В качестве популяционных данных (группа контроля) использовались общедоступные базы данных [10].

Полиморфизмы изучаемые в работе, разбитые по группам

Таблица 1

Группа полиморфизмов	Полиморфизмы	Аллель кардиориска
Группа ренин-ангиотензиновой системы	1) rs4340 (I/D, ген <i>ACE</i>)	D
	2) rs699 (Met235Thr (704T>C), ген <i>AGT</i>)	C
	3) rs4762 (Thr174Met (521 C>T), ген <i>AGT</i>)	T
	4) rs5186 (1166 A>C, ген <i>AGTR1</i>)	C
	5) rs1403543 (G1675A, ген <i>AGTR2</i>)	A
Система регуляции давления в кровяном русле	1) rs1799722 (-58T/C (+9/-9), ген <i>BDKRB2</i>)	C
	2) rs1799983 (894G>T (Glu298Asp), ген <i>NOS3</i>)	T
Группа напрямую или опосредованно связанная с вторичными мессенджерами	1) rs5443 (825C>T, ген <i>GNB3</i>)	T
	2) rs17602729 (34C/T, ген <i>AMPD1</i>)	C
Группа компонентов системы свертывания крови	1) rs5918 (1565 T>C, ген <i>ITGB3</i>)	C
Группа факторов пролиферации	1) rs2016520 (294 T>C, ген <i>PPARD</i>)	C
Группа рецепторов вегетативной нервной системы	1) rs1042714 (79C>G (Gln27Glu), ген <i>ADRB2</i>)	G

Распределения частот кардиориска для группы контроля, группы скоростно-силовых видов спорта и группы циклических видов спорта (р — аллель кардиориска; q — аллель кардиопротекции)

Ген	Популяция		Циклические виды спорта		Скоростно-силовые виды спорта	
	р	q	р	q	р	q
<i>ACE</i>	0,50	0,50	0,51	0,49	0,52	0,49
<i>AGT</i>	0,41	0,59	0,52	0,48	0,54	0,46
<i>AGT(2)</i>	0,11	0,89	0,15	0,85	0,19	0,81
<i>AGTR1</i>	0,64	0,36	0,72	0,22	0,78	0,28
<i>AGTR2</i>	0,60	0,40	0,5	0,5	0,55	0,45
<i>BDKRB2</i>	0,46	0,54	0,46	0,54	0,48	0,52
<i>GNB3</i>	0,39	0,61	0,28	0,72	0,42	0,58
<i>NOS3</i>	0,34	0,66	0,3	0,69	0,41	0,59
<i>ITGB3</i>	0,14	0,86	0,13	0,87	0,19	0,81
<i>ADRB2</i>	0,47	0,53	0,43	0,57	0,49	0,51
<i>PRARD</i>	0,22	0,78	0,12	0,88	0,23	0,77
<i>AMPD1</i>	0,13	0,87	0,13	0,87	0,21	0,79

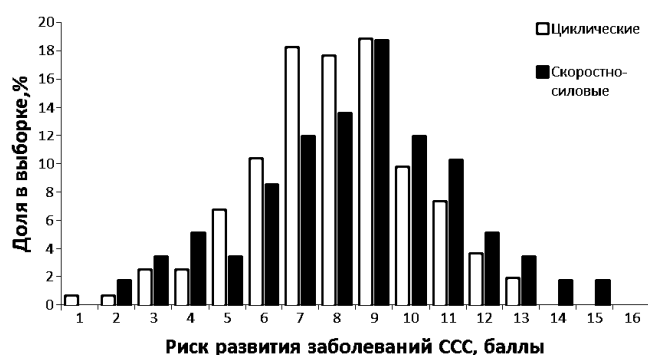
Результаты и обсуждение

Для обеих групп спортсменов был проведен генетический анализ по 12 полиморфизмам (*ACE*, *AGT*, *AGTR1*, *AGTR2*, *BDKRB2*, *GNB3*, *NOS3*, *ITGB3*, *ADRB2*, *PRARD*, *AMPD1*). Проведено сравнение частот встречаемости данных полиморфизмов в группе контроля и двух изучаемых группах. Частоты аллелей соответствуют распределению Харди—Вайнберга, что позволяет составить распределения частот кардиориска для группы контроля и двух групп спортсменов (табл. 2), на котором можно визуальным образом проследить различия в частотах между разными группами.

Анализ распределения частот аллелей показал, что в группе циклических видов спорта значимые различия относительно группы контроля наблюдаются по полиморфизмам генов *AGT*, *AGTR1*, *AGTR2*, *NOS3* и *PRARD*, тогда как в группе скоростно-силовой подготовки значимые различия, также относительно группы контроля отмечаются по следующим генам: *AGT*, *AGTR1*, *GNB3*, *NOS3*, *ITGB3*, *AMPD1*.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что значения частот аллелей кардиориска значимо выше у профессиональных спортсменов по сравнению с группой контроля, что соответствует литературным данным [1, 2, 4, 12]. Наиболее демонстративным являются различия в частотах аллеля С, полиморфизма rs699 гена *AGT*. Аллель С данного полиморфизма у группы спортсменов циклической и скоростно-силовой подготовки значимо превышают популяционные данные ($p=0,11$; $0,15$; $0,19$ соответственно), что свидетельствует о повышенной риске возникновения ССЗ у обеих групп, при чем у группы скоростно-силовой подготовки этот риск заметно выше чем у циклической группы. Сходное распределение можно на-

блюдать на примере гена *AGTR1*(rs5186): частота распределения аллеля С ($p=0,64$; $0,72$; $0,78$) соответственно для группы контроля, циклической и скоростно-силовой. Что свидетельствует о тенденции к повышенному кардиориску у обеих групп спортсменов, и так же как у полиморфизма *AGT*, данный риск выше у группы скоростно-силовой подготовки. Также стоит отметить распределение по полиморфизму rs1799983 гена *NOS3*, частоты аллеля Т равны $p=0,34$; $0,30$; $0,41$ соответственно для группы контроля, циклической и скоростно-силовой. Для данного полиморфизма тенденция несколько иная, частота аллели Т у группы скоростно-силовой подготовки так же значимо превышает популяционные данные и свидетельствует о повышенном риске возникновения патологий ССС, тогда как частота аллеля у группы циклической подготовки значимо меньше популяционных данных, что указывает на снижение кардиориска у данной группы по данному полиморфизму.



Суммированные данные оценки кардиориска для двух групп спортсменов

Методика оценки индивидуального кардиориска

В ходе данного исследования была разработана методика индивидуальной оценки кардиориска. Каждому определённому состоянию полиморфизма присваивался свой бал: гетерозиготе 1 балл, гомозиготе по аллели кардиориска 2 балла, гомозиготе по аллели кардиопротекции 0 баллов. Баллы по всем 12 полиморфизмам суммировались, в итоге сумма теоретически могла иметь разброс от 0 до 24 баллов. Результаты были разбиты на 4 группы: 0—6 баллов — низкий кардиориск, 7—12 — умеренный кардиориск, 13—18 баллов — повышенный кардиориск, 19—24 — высокий кардиориск. Для каждого спортсмена была составлена таблица с индивидуальным подсчетом его кардиориска.

Для оценки кардиориска внутри групп циклической и скоростно-силовой подготовки был построен график (рисунок), на котором отражающий распределение риска развития сердечно-сосудистых заболеваний внутри группы в процентном соотношении. По результатам обсчета данных о суммарном кардиориске, представленным на графике, возможно сделать ряд утверждений. Во-первых, это преобладание у группы циклических видов спорта низкого и умеренного кардиориска (6—10 баллов), тогда как при крайних значениях умеренного и повышенном кардиориске преобладает группа скоростно-силовой подготовки (9—16 баллов). Из таких показателей можно сделать предположение, что риск возникновению патологии ССС у группы скоростно-силовой подготовки значимо выше, чем у групп циклической подготовки.

Заключение

Таким образом, по результатам данной работы можно сделать выводы, что предрасположенность к развитию нарушений ССС у спортсменов как циклических, так и скоростно-силовых видов спорта составляет выше среднепопуляционных. В свою очередь, у группы скоростно-силовой подготовки риск возникновения ССЗ значимо выше, чем у группы циклической подготовки. Также следует отметить, что разработанный и применённый в данном исследовании комплексный подход к оценке риска ССЗ дает возможность наиболее полно оценивать вклад аллельных вариантов различных генов в возникновение ССЗ. Данная методика открывает путь к построению генных сетей развития мультифакториальных заболеваний. Дальнейший поиск внедрение генетических маркеров мультифакториальных заболеваний будет иметь не только научное, но и социально-экономическое значение, так как позволит повысить надежность и эффективность ранней скрининговой диагностики данных патологий.

Сведения об авторах:

Шкурников Максим Юрьевич, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. молекулярной физиологии ФГБУ «НИИОПП» РАМН
Максименко Даниил Геннадьевич, мл. науч. сотр. ООО НТЦ «БиоКлиникум»

Список литературы

1. Ахметов И.И., Астратенкова И.В., Rogozkin В.А. Ассоциация полиморфизма гена PPAR α с физической деятельностью человека // Молекулярная биология. — 2007. — Т. 41, №5. — С. 852—857.
2. Alvarez R., Terrados N., Ortolano R. et al. Genetic variation in the renin-angiotensin system and athletic performance // Appl. Physiol. — 2000. — May. — 82(1—2). — P. 117—120.
3. Agresti A. An introduction to categorical data analysis. — «John Wiley & Sons Inc.», Hoboken, New Jersey, 2007.
4. Ahmetov I.I., Mozhayanskaya I.A., Flavell D.M. et al. PPAR α gene variation and physical performance in Russian athletes // Eur. J. Appl. Physiol. — 2006. — Vol. 97 (1). — P. 103—108
5. Ahmetov I.I., Rogozkin V.A. Genes, athlete status and training — An overview // Genetics and Sports / Ed. by Collins M. Basel. — Karger, 2009.
6. Ballesteros F., Tassies D., Reverter J.C. et al. Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss: Classic Cardiovascular and New Genetic Risk Factors // Audiol. Neurootol. — 2012. — Aug. 30. — Vol. 17(6). — 400—408.
7. Barish G.D., Narkar V.A., Evans R.M. PPAR delta: a dagger in the heart of the metabolic syndrome // J. Clin. Invest. — 2006. — Vol. 116(3). — P. 590—597.
8. Bonnardeaux A., Davies E., Jeunemaitre X. et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension // Hypertension. — 1994. — Jul. — Vol. 24(1). — P. 63—69.
9. Eynon N., Meckel Y., Alves A.J. Is there an interaction between PPAR δ T294C and PPAR γ C1A Gly482Ser polymorphisms and human endurance performance? // M. Exp. Physiol. — 2009. — Nov. — Vol. 94(11). — P. 1147—1152.
10. <http://www.nextbio.com/b/nextbio.nb>
11. Jones A., Dhamrait S.S., Payne J.R. Genetic variants of angiotensin II receptors and cardiovascular risk in hypertension // Hypertension. — 2003. — Oct. — Vol. 42(4). — P. 500—506. Epub. 2003 Aug. 18.
12. Kanji K. 100 Statistical Tests, «SAGE Publications Ltd». — London, 2006.
13. Lee J.Y. et al. GNB3 C825T polymorphism and elevated blood pressure // Int. J. Sports Med. — 2009. — Dec. — Vol. 30(12). — P. 892—897.
14. Li Y.Y. et al. Bradykinin β (2) Receptor -58T/C Gene Polymorphism and Essential Hypertension: A Meta-Analysis // PLoS One. — 2012. — Vol. 7(8). — e43068.
15. Montgomery H., Clarkson P., Dollery C.M. et al. Association of angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training // Circulation. — 1997. — Vol. 96. — P. 741—747.
16. Priori S.G., Aliot E., Blomstrom-Lindqvist L. et al. Task force on sudden cardiac death of the European Society of Cardiology // Eur. Heart J. — 2001. — Vol. 22. — P. 1374—1450.
17. Siffert W. Review G protein beta 3 subunit 825T allele, hypertension, obesity, and diabetic nephropathy // Nephrol. Dial. Transplant. — 2000. — Sep. — Vol. 15(9). — P. 1298—1306.
18. Thomsen M., Dahl M., Tybjaerg-Hansen A., Nordestgaard B.G. β 2-adrenergic receptor Thr164Ile polymorphism, blood pressure and ischaemic heart disease in 66750 individuals // J. Intern. Med. — 2012. — Mar. — Vol. 271(3). — P. 305—314.
19. Wolfarth B. et al. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2004 update // Med. Sci. Sports Exerc. — 2005. — Vol. 37(6). — P. 881—903. Review.
20. Zhang X. et al. Pharmacogenetic association of NOS3 variants with cardiovascular disease in patients with hypertension: the GenHAT study. // PLoS One. — 2012. — Vol. 7(3). — e34217.

Поступила 28.09.12