

ПОИСК АССОЦИАЦИЙ Т/А-ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ГОРМОНА РОСТА С НЕКОТОРЫМИ МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ СПОРТСМЕНОВ

Э.А. Бондарева¹, Е.С. Кетлерова²

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, НИИ и Музей антропологии, Москва

²РУДН, Кафедра физического воспитания и спорта, Москва

Гормон роста (ГР) оказывает влияние на дефинитивный рост, рост мышечной массы, липидный и углеводный метаболизм и постнатальный рост. +1169А – аллель Т/А-полиморфизма находится в 4 интроне гена GH1 и ассоциирован со снижением концентрации циркулирующего ГР и инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1). Остается открытым вопрос о том, является ли данный полиморфизм функциональным или же он сцеплен с другим функциональным полиморфизмом, который влияет на экспрессию гена GH1.

Целью работы является изучение ассоциаций Т/А-полиморфизма GH1 с морфологическими характеристиками и скоростно-силовыми и силовыми возможностями спортсменов-мужчин высокой квалификации. В исследовании приняли участие 225 высококвалифицированных спортсменов-мужчин в возрасте от 18 до 38 лет. Программа обследования включала измерение антропометрических параметров по стандартной методике, тестирование скоростно-силовых возможностей (тест на велоэргометре и кистевая динамометрия), сбор образцов буккального эпителия для последующего генотипирования по локусу GH1, rs2665802. Распределение частот встречаемости генотипов гена ГР в обследованной выборке спортсменов соответствует равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2_{HW}=0,03$. $P=0,86$). Не было найдено статистически достоверных ассоциаций между генотипами GH1, морфологическими параметрами и скоростно-силовыми возможностями обследованных спортсменов.

Ключевые слова: антропология, Т/А-полиморфизм GH1, длина тела, морфологические особенности, скоростно-силовые возможности, спортсмены

Введение

Соматотропная ось, состоящая из гормона роста (ГР, соматотропин), секретируемого гипофизом, и инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1 – insulin-like growing factor 1) является молекулярной основой обуславливающий процессы постнатального роста, дефинитивный рост и размеры тела, компонентный состав тела, углеводный и липидный метаболизм [Velloso, 2008]. Также она отчасти влияет на половое созревание и работу половых желез, участвует в поддержании нормального функционирования и целостности тканей во взрослом организме. Рецепторы ГР несут на своих мембранах практически все клетки организма [Velloso, 2008], поэтому действие ГР проявляется на всех уровнях организации: от клеточного до организмен-

ного и имеет продолжительное воздействие. Помимо стимулирующего влияния на процессы линейного роста, главным образом, за счет роста длинных трубчатых костей, ГР вызывает гипертрофию скелетных мышц за счет образования новых мышечных волокон [Sotiropoulos et al., 2006]. Сила мышц пропорциональна количеству мышечных волокон, входящих в состав мышцы, поэтому ГР оказывает влияние на скоростно-силовые и силовые возможности человека. Наследственные факторы обуславливают силу мышц, определенную в тесте кистевой динамометрии, на 20–25% [Carmelli, Reed, 2000; Frederiksen et al., 2002]. Несмотря на удобство и простоту использования данного теста для определения силовых качеств скелетных мышц, для объективного представления о скоростно-силовых и силовых возможностях спортсменов

необходимо измерять силу и других групп мышц (корпуса и/или конечностей), так как, несмотря на наличие корреляций между силой различных групп мышц, корреляционные связи не являются абсолютными. Например, коэффициент корреляции между силой сжатия кисти и силой разгибателя колена равен 0,58 [Carmelli, Reed, 2000].

Положительное влияние, которое оказывает гормон роста на рост спортивных результатов, общеизвестно [Velloso, 2008; Clemmons, 2009; Lang et al., 2010]. Поэтому гормон роста находится в списке запрещенных препаратов [URL: <https://www.wada-ama.org/en/prohibited-list> (дата обращения: 12.03.2017)] и его прием не допускается правилами всемирного антидопингового агентства (WADA – world anti-doping agency). Известно большое число разнообразных замен в нуклеотидной последовательности *GH*, которые встречаются с частотой более 1%, однако подавляющее большинство исследованных маркеров не оказывают никакого влияния на дефинитивный рост, концентрацию и/или активность ГР. В отличие от них T/A-полиморфизм гена *GH1* широко распространен в различных популяциях, и частота встречаемости A-аллеля в некоторых из них достигает до 50% [Millar et al., 2010]. Данный полиморфизм находится в 4 интроне гена *GH1* и не оказывает влияния на изменение аминокислотной последовательности ГР. При этом он ассоциирован с пониженной концентрацией ГР и IGF1 в плазме крови [Khoury-Shakour et al., 2008; Millar et al., 2010]. Белок IGF1 является молекулярной основой большинства физиологических и биохимических эффектов, которые ГР оказывает на организм [Bartke, 2005].

В этой связи становится актуальным изучение полиморфизма гена гормона роста в свете его возможного влияния на морфологические и функциональные особенности спортсменов, как естественного недопингового способа повышения спортивных результатов.

Целью работы является изучение ассоциаций T/A-полиморфизма *GH1* с морфологическими характеристиками и скоростно-силовыми и силовыми возможностями спортсменов-мужчин высокой квалификации.

Материалы и методы

В работе были использованы материалы комплексного обследования 225 спортсменов мужского пола возрасте от 18 до 38 лет. По этнической принадлежности родители у 85% обследованных – русские, у остальных респондентов один из роди-

телей русский. Антропометрическое обследование проводилось по стандартной методике [Бунак, 1941]. Программа включала обширный набор измерительных и описательных признаков (около 50) и определение соотношения компонентов массы тела методом биоимпедансометрии. Определение скоростно-силовых возможностей спортсменов (анаэробный алактатный компонент) производили в модифицированном тесте «МAM», на велоэргометре (Monark, Швеция). Сбор и обработку информации проводили при помощи аппаратно-программного комплекса «Эргомакс» (Россия). В задачу спортсмена входило выполнение упражнения с установкой на достижение за 10 сек. максимальной частоты педалирования. Величина сопротивления оставалась постоянной и составляла для мужчин 100 г*кг⁻¹. Количество повторений – 3. Отдых между повторениями – 1 мин. Общая продолжительность разминки составила 5 мин. Разминка проводилась на велоэргометре с двумя последовательными нагрузками без интервалов отдыха и постоянной частотой педалирования – 75–80 об/мин. Первая нагрузка продолжительностью три минуты составила 1,5 кПн (112,5 Вт), вторая нагрузка продолжительностью две минуты составила 2,5 кПн (187,5 Вт). Для дальнейшего анализа использовались следующие функциональные показатели: пиковая мощность, нормированная на килограмм массы тела испытуемого (W_{max}/M , Вт/кг), средняя мощность за тест ($W_{ср}/M$, Вт/кг), максимальная работа, нормированная на килограмм массы тела испытуемого (A_p/M , Дж/кг), общая работа за тест, нормированная на килограмм массы тела испытуемого (A_t/M , Дж/кг). У всех обследованных были собраны образцы биологического материала для последующего генотипирования по полиморфному локусу гена *GH1* (T/A, rs2665802). Выделение геномной ДНК из собранных образцов и генотипирование проводили в ООО «Литех» (г. Москва).

Для статистической обработки полученных данных был использован пакет программ «Statistica 8.0» (StatSoft, США) [Боровиков, 1998; Дерябин, 2007]. Для проверки соответствия распределения изучаемых признаков нормальному был использован *W*-критерий Шапиро-Уилка [Shapiro and Wilk, 1965]. Одномерный дисперсионный анализ применен для установления неоднородности средних арифметических величин морфологических параметров, имеющих нормальное распределение в подгруппах обследованных спортсменов, являющихся носителями различных генотипов *GH1* (*GH1*AA*, *GH1*AT* и *GH1*TT*). Для анализа различий показателей, не имеющих нормального распределения, в группах испытуемых с различными генотипами *GH1* применен критерий Краскела-Уоллиса.

Таблица 1. Морфологические характеристики и показатели скоростно-силовых качеств обследованных спортсменов – носителей различных генотипов гена *GH1*

Признаки	Генотип гена <i>GH1</i>		
	<i>GH1*AA</i>	<i>GH1*AT</i>	<i>GH1*TT</i>
Вес, кг	75,9±11,3	77,5±11,8	76,9±10,3
Длина тела, см	177,3±6,3	178,1±8,1	178,1±6,7
Индекс массы тела, кг/м ²	24,1±2,8	24,4±2,9	24,2±2,7
Окружность талии, см	79,8±7,2	81,1±7,3	81,8±6,4
Окружность бёдер, см	97,6±5,9	97,9±7,4	98,1±5,3
Окружность груди, см	94,9±6,6	95,0±7,3	96,5±6,0
Ширина запястья, см	5,9±0,3	6,0±0,4	5,9±0,4
Ширина лодыжки, см	7,1±0,5	7,2±0,4	7,1±0,4
Диаметр плеч, см	40,4±1,9	40,6±1,7	40,8±1,8
Диаметр таза, см	28,0±1,8	28,1±1,9	28,6±1,6
Жировая складка под лопаткой, мм	11,2±4,3	11,6±4,7	11,3±4,1
Жировая складка на трицепсе, мм	3,2±1,0	3,3±1,3	3,3±0,9
Жировая складка на предплечье, мм	4,6±1,6	4,7±1,7	5,0±1,6
Жировая складка на животе, мм	13,0±7,5	13,8±8,6	14,5±7,9
Жировая складка на бедре, мм	7,6±4,3	7,3±3,5	7,9±4,2
Жировая складка на голени, мм	11,7±6,2	10,9±5,2	11,9±4,8
W_{Mcp}/M , Вт/кг	14,1±2,1	14,1±2,4	14,1±2,2
A_T/M , Дж/кг	308,2±43,8	305,3±47,6	308,2±51,3

Примечания. W_{Mcp}/M – средняя мощность, вычисленная по результатам трех попыток в тесте МАМ; A_T/M – суммарная работа, вычисленная по результатам трех попыток в тесте МАМ

Все материалы комплексного обследования, использованные в представленной статье, собраны с соблюдением правил биоэтики. Испытуемые были осведомлены о целях и методах обследования и дали свои информированные согласия. Все данные были деперсонифицированы.

Результаты

Частоты встречаемости генотипов гена гормона роста в обследованной выборке спортсменов составили: *GH1*AA* – 32,9%, *GH1*AT* – 48,4% и *GH1*TT* – 18,7%; частоты аллелей – *GH1*T* – 43% и *GH1*A* – 57%. Наблюдаемое распределение соответствует равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2_{HW}=0,0$. $P=0,86$).

В таблице 1 представлены средние значения исследованных морфологических параметров и показателей скоростно-силовых и силовых возможностей в трех подгруппах испытуемых – носителей различных генотипов гена *GH1*.

На рисунках 1 и 2 проиллюстрированы результаты сравнительного анализа средних значений некоторых морфологических и функциональных показателей в подгруппах испытуемых с различными генотипами *GH1*.

Обсуждение результатов

Были исследованы ассоциации Т/А-полиморфизма гена *GH1* с комплексом морфофункциональных характеристик высококвалифицированных спортсменов-мужчин, представляющих различные виды спорта. Выбранная замена по данным некоторых исследований связана с пониженной концентрацией гормона роста и инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1) [Khoury-Shakour et al., 2008; Millar et al., 2010], также известного как соматомедин С. Белок IGF1 имеет собственный ген, однако, его синтез в печени индуцируется ГР. Именно IGF1 вызывает большинство анаболических и анти-катаболических эффектов ГР. Так же как ГР, соматомедин С является допингом и запрещен WADA. В свете представленных данных Т/А-замена *GH1* кажется многообещающим маркером для прогнозирования индивидуальной предрасположенности к развитию скоростно-силовых и силовых возможностей мышц спортсменов, а также к набору мышечной массы и большей длине тела. Однако нами не было найдено статистически достоверных связей между генотипами *GH1* и морфологическими характеристиками обследованной выборки спортсменов-мужчин высокой квалификации. Можно отметить лишь некоторую тенденцию к уменьшению большинства из рассмотренных

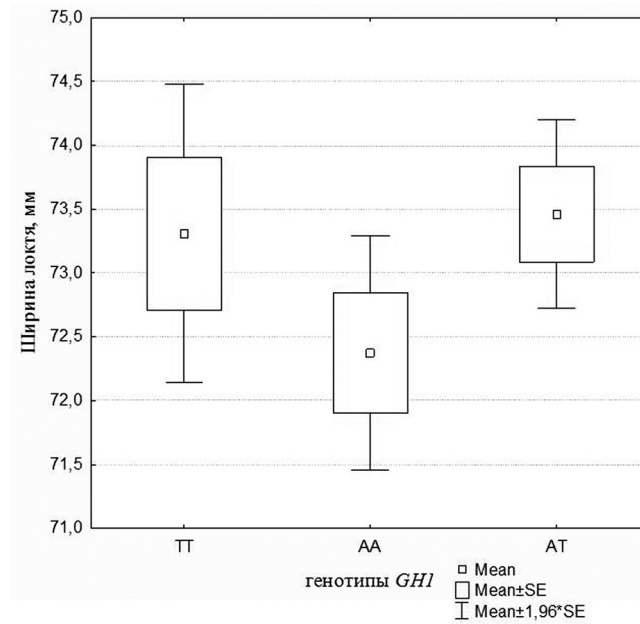


Рис. 1. Средние значения показателя ширина локтя у обследованных спортсменов-носителей различных генотипов гена *GH1* ($P=0,19$)

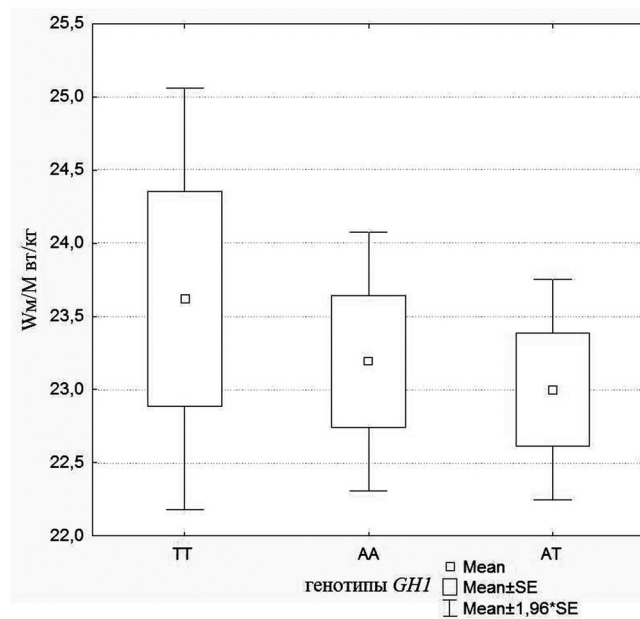


Рис. 2. Средние значения показателя средней мощности, рассчитанной по итогам выполнения трех попыток в тесте МАМ, у обследованных спортсменов-носителей различных генотипов гена *GH1* ($N=0,26$. $P=0,88$)

морфологических показателей у носителей генотипа *GH1*AA*, для которых концентрация IGF1 в плазме крови минимальна (табл. 1, рис. 1).

Дефинитивный рост человека детерминирован наследственными факторами на 80–90%, и это один из самых высоких показателей влияния наследственных факторов на фенотип среди количественных признаков [Fisher, 1918]. В большинстве случаев патологические изменения процессов линейного роста связаны с нарушениями в гене гормона роста (*GH1*) и гене рецептора соматолиберина (*GHRHR*). Однако нечувствительность к гормону роста и IGF1 может быть обусловлена мутациями в широком спектре генов (*GHSR*, *RNPC3*, *IFT172*, *GHR*, *STATB*, *IGFALS*) [Wit et al., 2016]. Тем не менее, исследования, посвященные ассоциациям полиморфизма *GH1* с длиной тела у людей с нормальным дефинитивным ростом, крайне противоречивы [Phillips et al., 1990; Carrascosa et al., 2006; Kenth et al., 2007; Yang et al., 2008; de Graaff et al., 2010; Wit et al., 2016].

На молекулярном уровне функционирование скелетных мышц регулируют гормон роста и инсулиноподобные факторы роста. Полиморфизм данных генов может оказывать влияние на рост и функциональные особенности скелетных мышц, влияя на характеристики физической работоспособности [Alfred et al., 2012]. Изучение наследственных факторов, детерминирующих силу мышц, проведенное на обширной выборке близнецов показало, что на долю наследственных факторов приходится 14% и 31% изменчивости показателей силы, измеренной для сжатия кисти и разгибателя колена, соответственно [Täininen et al., 2004]. Мощный анаболический эффект, который оказывает гормон роста на скелетные мышцы, позволяет предположить, что вариации в последовательности гена *GH1* могут оказывать влияние на предрасположенность к набору мышечной массы, а также на скоростно-силовой и силовой компоненты физической работоспособности. Однако нами не было найдено достоверных связей Т/А-полиморфизма *GH1* с показателями физической работоспособности, позволяющими оценить скоростно-силовые возможности спортсменов (тест МАМ и кистевая динамометрия), а также с показателем мышечной массы, определенным методом биоимпедансометрии.

Возможно, отсутствие влияния Т/А-полиморфизма гена *GH1* на морфологические характеристики и скоростно-силовые возможности спортсменов связано с целым рядом причин:

– существование высокого уровня стабильности гормона роста даже при значительном изменении

его аминокислотной последовательности. Ген гормона роста человека локализован в длинном плече 17 хромосомы и состоит из 5 экзонов. Из-за наличия сайтов альтернативного сплайсинга в третьем экзоне в ходе экспрессии гена *GH1* образуются две изоформы белка, содержащие полную аминокислотную последовательность (191 аминокислотный остаток, изоформа 1) и альтернативный вариант, содержащий на 15 аминокислотных остатков меньше – изоформа 2. Образовавшиеся белковые продукты далее подвергаются посттрансляционной модификации – фосфорилированию по остаткам серина в положениях 132 и 176. Таким образом, фактически в клетках в норме присутствуют многочисленные вариации белковых продуктов гена *GH1*;

– выявлен полигенный характер наследования изученных признаков. Из-за большого числа генов, контролирующих процессы роста, скоростно-силовые и силовые характеристики скелетных мышц и детерминирующих параметры дефинитивного фенотипа, небольшие изменения последовательности конкретного гена нивелируются действием остальных;

– силовые тренировки вызывают секрецию гормона роста гипофизом, а также синтез «местного» IGF1, который действует в мышцах аутокринно-паракринным путем, что может значительно снижать зависимость рассмотренных параметров от индивидуальных генетических особенностей спортсменов.

Отсутствие достоверных связей генотипа *GH1* с морфологическими показателями спортсменов-мужчин высокой квалификации, а также мышечной массой испытуемых и с результатами функциональных тестов позволяет предположить, что изученный полиморфизм не оказывает значительного влияния на изученные параметры. Необходимо оценить влияние данной замены на примере женщин-спортсменок, так как мышечная масса и, как следствие, скоростно-силовые возможности спортсменов-мужчин находятся под сильным влиянием тестостерона и могут быть им маскированы. Также необходимо продолжить исследование, влияния Т/А-замены *GH1* в группах спортсменов, занимающихся видами спорта, предполагающих наличие крайне высокой мышечной массы и силовых возможностей (тяжелоатлетов, бодибилдеров и пауэрлифтеров), для которых наличие даже незначительных изменений в концентрации и/или биологической активности гормона роста и IGF1 будет фактором, повышающим шансы на успех и будет закрепляться действием направленного спортивного отбора.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке РФФИ: грант № 15-06-06901 «Молекулярно-генетические маркеры роста у представителей различных этнических групп, проживающих на территории России»

Библиография

- Боровиков В.П. Популярное введение в программу STATISTICA. М.: КомпьютерПресс, 1998. 267 с.
- Бунак В.В. Антропометрия. М., 1941. 367 с.
- Дерябин В.Е. Решение задач обработки антропологических данных с использованием компьютера. М.: МГУ, 2007. 79 с.
- Alfred T., Ben-Shlomo Y., Cooper R., Hardy R., Cooper C., Deary I.J. A Multi-Cohort Study of Polymorphisms in the GH/IGF Axis and Physical Capability: The HALCyon Programme // PLoS ONE, 2012. Vol. 7 (1). e29883.
- Bartke A. Minireview: role of the growth hormone/insulin-like growth factor system in mammalian aging // Endocrinology, 2005. Vol. 146. P. 3718–3723.
- Carmelli D., Reed T. Stability and change in genetic and environmental influences on hand-grip strength in older male twins // J. Appl. Physiol., 2000. Vol. 89. P. 1879–1883.
- Carrascosa A., Esteban C., Espadero R., Fernandez-Cancio M., Andaluz P., Clemente M., Audi L., Wollman H., Fryklund L., Parodi L., and the Spanish Study Group. The d3_growth hormone receptor polymorphism does not influence the effect of GH treatment (66_g/k/day) or the spontaneous growth in short non-GH-deficient small-for-gestational-age children: results from a two-year controlled prospective study in 170 Spanish patients // J. Clin. Endocrinol. Metab., 2006. Vol. 91. P. 3281–3286.
- Clemmons D.R. Role of IGF-I in skeletal muscle mass maintenance // Trends Endocrinol. Metab., 2009. Vol. 20. P. 349–356.
- de Graaff L.C., Argente J., van Meurs J.B., Uitterlinden A.G., Hokken-Koelega A.C. Genetic polymorphisms in the locus control region and promoter of GH1 are related to serum IGF-I levels and height in patients with isolated growth hormone deficiency and healthy controls // Horm. Res. Paediatr., 2010. Vol. 73 (1). P. 25–34.
- Fisher R.A. The Correlation between Relatives on the Supposition of Mendelian Inheritance // Trans. Roy. Soc., 1918. Vol. 52 (15). P. 399–433.
- Frederiksen H., Gaist D., Christian P.H., Hjelmborg J., McGue M., Vaupel J.W. Hand grip strength: a phenotype suitable for identifying genetic variants affecting mid- and late-life physical functioning // Genet. Epidemiol., 2002. Vol. 23. P. 110–122.
- Kent G., Zhuo S., Cole D.E.C., Goodyer C. Relationship of the Human Growth Hormone Receptor Exon 3 Genotype with Final Adult Height and Bone Mineral // J. Clin. Endocrinol. Metab., 2007. Vol. 92 (2). P. 725–728.
- Khoury-Shakour S., Gruber S.B., Lejbkovicz F., Rennert H.S., Raskin L., Pinchev M., Rennert G. Recreational physical activity modifies the association between a common GH1 polymorphism and colorectal cancer risk // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., 2008. Vol. 17 (12). P. 3314–3318.
- Lang T., Streeper T., Cawthon P., Baldwin K., Taaffe D.R. Sarcopenia: etiology, clinical consequences, intervention, and assessment // Osteoporos. Int., 2010. Vol. 21. P. 543–559.
- Millar D.S., Horan M., Chuzhanova N.A., Cooper D.N. Characterisation of a functional intronic polymorphism in the human growth hormone (GH1) gene // Hum. Genomics., 2010. Vol. 4 (5). P. 289–301.
- Phillips K., Matheny Jr.A.P. Quantitative genetic analysis of longitudinal trends in height: preliminary results from the Louisville Twin Study // Acta Genet. Med. Gemellol. (Roma), 1990. Vol. 39. P. 143–163.
- Shapiro S.S., Wilk M.B. An analysis of variance test for normality // Biometrika, 1965. Vol. 52 (3). P. 591–611.
- Tiainen K., Sipila S., Alen M., Heikkinen E., Kaprio J., Koskenvuo M., Tolvanen A., Pajala S., Rantanen T. Heritability of maximal isometric muscle strength in older female twins // J. Appl. Physiol., 2004. Vol. 96. P. 173–180.
- Velloso C.P. Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-I // Br. J. Pharmacol., 2008. Vol. 154. P. 557–568.
- Wit J.M., Oostdijk W., Losekoot M., van Duyvenvoorde H.A., Ruivenkamp C.A.L., Kant S.G. Novel genetic causes of short stature // European J. Endocrinol., 2016. Vol. 174. P. 145–173.
- Yang T.L., Xiong D.H., Guo Y., Recker R.R., Deng H.W. Comprehensive association analyses of IGF1, ESR2, and CYP17 genes with adult height in Caucasians // European J. Hum. Genet., 2008. Vol. 16. P. 1380–1387.

Контактная информация:

Бондарева Эльвира Александровна:

e-mail: Bondareva.E@gmail.com;

Кетлерова Евгения Святославна: e-mail: ev.ket@mail.ru.

SEARCH FOR ASSOCIATIONS BETWEEN T/A POLYMORPHISM OF THE GROWTH HORMONE GENE AND SOME MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS IN ATHLETES

E.A. Bondareva¹, E.S. Ketlerova²

¹Lomonosov Moscow State University, Institute and Museum of Anthropology, Moscow

²RUDN University, Department of physical education and sport, Moscow

Human growth hormone (GH) influences stature, muscle mass, lipid and carbohydrate metabolism and postnatal growth. The +1169A allele of the T/A single nucleotide polymorphism (SNP; rs2665802), located within intron 4 of the human growth hormone 1 (GH1) gene, has been associated with reduced levels of circulating GH and insulin-like growth factor 1. Whether this intronic SNP is itself the functional polymorphism responsible for exerting a direct effect on GH1 gene expression, however, or whether it is instead in linkage disequilibrium with the functional SNP, has been an open question. The aim of the present paper was to study associations between T/A-polymorphism of the GH1 gene with morphological traits and speed-power capacities in Russian male athletes. 225 highly qualified Russian male athletes aged from 18 to 38 years, took part in the investigation. The program included anthropometric measurements (50), testing of speed-power capacities (bicycle ergometry, dynamometry) and the collection of buccal smears for genetical analysis (GH1, rs2665802). Distribution of the genotype frequencies is consistent with Hardy–Weinberg equilibrium ($\chi^2_{HW}=0,03$ $P=0,86$). Significant differences were not revealed both in morphological traits and speed-power capacities.

Keywords: *anthropology, T/A-polymorphism, GH1, height, morphological traits, speed-power capacities, athletes*