

IV. МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ФИЗИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ И СПОРТА

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА (С/Т-34) ГЕНА *CYP17A1* С БИОХИМИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КРОВИ КОНЬКОБЕЖЦЕВ

И.Л. Гилеп,

Белорусский государственный университет физической культуры,

А.В. Ильютик,

Научно-исследовательский институт физической культуры и спорта
Республики Беларусь

Ген CYP17A1 кодирует фермент цитохром P450c17, который катализирует начальные стадии синтеза стероидных гормонов. Структурный полиморфизм С/Т-34 гена CYP17A1 заключается в наличии Т- или С-нуклеотида в положении -34 промоторной области. С ростом спортивной квалификации увеличивается частота встречаемости конькобежцев, имеющих ТТ вариант гена CYP17A1, и уменьшается частота встречаемости конькобежцев с СС-генотипом. Наличие С-аллеля данного гена способствует более высокой концентрации кортизола в крови у конькобежцев, по сравнению с представителями, не имеющими данного аллеля.

The CYP17A1 gene encodes enzyme cytochrome P450c17 that catalyzes the initial stage of steroid hormones synthesis. Structural polymorphism S/T-34 of the CYP17A1 gene consists in the presence of T- or C-nucleotide in the -34 position of the promoter region. Alongside with sports skill growth the incidence of skaters with the TT variant of the CYP17A1 gene increases and the incidence of skaters with the CC-genotype decreases. Presence of the C-allele of the gene contributes to higher cortisol concentration in the blood of skaters, compared with the skaters having no given allele.

Введение. Ген *CYP17A1* расположен в 10 хромосоме (10q 24 регион). Полиморфизм гена *CYP17A1* заключается в наличии Т или С нуклеотида в положении -34 промоторной области гена *CYP17A1*. Продукт данного гена, цитохром P450c17 [1], относится к группе цитохромов P450 микросомального типа и участвует в реакциях биосинтеза стероидных гормонов в мембранах эндоплазматического ретикулума ряда стероидогенных органов и тканей. Цитохром P450c17 катализирует реакцию селективного 17 α -гидроксилирования прегненолона и прогестерона с образованием соответствующих 17 α -гидроксипроизводных, являющихся предшественниками биосинтеза глюкокортикоидных гормонов. Цитохром P450c17 также катализирует реакцию превращения 17 α -гидроксипрегненолона

посредством 17,20-лиазной реакции в дегидроэпиандростерон, который является промежуточным звеном в биосинтезе половых гормонов (андрогенов и эстрогенов) [1]. Таким образом, цитохром P450c17 является ключевым ферментом в биосинтезе стероидных гормонов, определяющим направленность реакций по пути биосинтеза глюкокортикоидов либо половых гормонов, и нарушение функций данного фермента сопровождается тяжелыми наследственными заболеваниями. Содержание цитохрома P450c17 в различных тканях, его каталитическая активность, субстратная специфичность и чувствительность к содержанию внутриклеточных модуляторов являются важными регуляторными факторами, определяющими направленность реакций биосинтеза стероидов, их эффективность и, следовательно, концентрацию основных стероидных гормонов в организме [1–4].

Большинство исследований полиморфизма *CYP17A1* касаются оценки уровня эстрогенов и прогестерона, и, в меньшей степени, уровня андрогенов. Однако биосинтез эстрогенов является многоступенчатым процессом и изменения в синтезе предшественников эстрогенов могут нивелироваться другими компонентами системы стероидогенеза. В связи с этим при определении роли полиморфизма *CYP17A1* важным является оценка уровня стероидных гормонов, концентрация которых в наибольшей степени определяется работой цитохрома P450c17. Кроме того, имеющиеся в литературе данные не позволяют идентифицировать роль структурного полиморфизма *CYP17A1* в развитии физической работоспособности организма.

Цель нашего исследования заключалась в анализе распределения полиморфных вариантов гена *CYP17A1* у белорусских конькобежцев в зависимости от квалификации и специализации. А также в выявлении ассоциаций (С/Т-34) полиморфизма гена *CYP17A1* с основными показателями крови и показателями физической работоспособности конькобежцев при выполнении тестирующей нагрузки

Материалы и методы исследования. В исследовании были использованы образцы геномной ДНК спортсменов национальной команды Республики Беларусь и спортивного резерва, специализирующихся в скоростном беге на коньках. В тестировании принимали участие спортсмены мужчины в возрасте от 13 до 25 лет, МСМК 2 человек, МС – 21, КМС – 17, I–III разряд – 24. Определение полиморфизма гена *CYP17A1* осуществлялось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в лаборатории молекулярной диагностики ИБОХ НАН Беларуси. Определение полиморфизма гена в контрольной группе было проведено нами ранее [5, 6].

Протестированы 13 конькобежцев – 8 КМС, 5 МС. В качестве тестирующей нагрузки использовали тест PWC₁₇₀. Забор капиллярной крови для определения биохимических и гематологических показателей проводили до и после нагрузки. Так как продукт гена *CYP17A1*, 17 α -гидроксилаза, катализирует начальные стадии синтеза стероидных гормонов, то нами были определены концентрации наиболее важных стероидных гормонов: тестостерона и кортизола. Определение

гематологических и биохимических показателей осуществлялось в лаборатории биохимии спорта НИИ физической культуры и спорта Республики Беларусь.

Значимость различий распределения генотипов и аллелей в сравниваемых группах определяли с помощью критерия χ^2 с учетом поправки Йетса. Для выявления статистически значимых различий в частоте встречаемости генотипов и аллелей в исследуемых группах использовали многомерный критерий углового преобразования Фишера (ϕ). Вычисляли среднее значение показателей и среднее квадратическое отклонение. Проводилась проверка нормальности распределения количественных признаков с использованием критерия Шапиро-Уилка и критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса. При нормальном распределении показателей статистическую значимость их различий в сравниваемых группах определяли с использованием t-критерия Стьюдента для нормированного отклонения с малым числом вариант в группе ($n < 30$). Статистически значимыми считали различия при величине $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. На основании результатов ПЦР проведен сравнительный анализ встречаемости аллелей и генотипов гена *CYP17A1* среди конькобежцев и людей, не занимающихся профессиональным спортом. Результаты анализа представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение частот генотипов и аллелей гена *CYP17A1* среди конькобежцев-мужчин и людей, не занимающихся спортом

Группы	n	Распределение генотипов, % (n)			χ^2	Распределение аллелей, % (n)		χ^2
		СС	ТС	ТТ		С	Т	
Контрольная группа	140	12,9 (18)	52,8 (74)	34,3 (48)	-	39,3 (110)	60,7 (170)	-
Спортсмены	63	14,3 (9)	54,0 (34)	31,7 (20)	0,16	41,3 (52)	58,7 (74)	0,14
I–III разряд	24	25,0* (6)	50,0 (12)	25,0 (6)	2,63	50,0* (24)	50,0* (24)	1,61
КМС	17	11,8 (2)	64,7 (11)	23,5 (4)	0,94	44,1 (15)	55,9 (19)	0,27
МС и МСМК	23	4,3* (1)	52,2 (12)	43,5 (10)	1,70	30,4* (14)	69,6* (32)	1,31

Примечание – Жирным шрифтом выделена линейная корреляционная зависимость частоты встречаемости генотипов от уровня квалификации конькобежцев; – * – статистически значимые различия в частоте генотипов и аллелей между группами (по критерию углового преобразования Фишера (ϕ), $P < 0,05$).

Значимых различий распределения генотипов и аллелей в контрольной группе и у спортсменов обнаружено не было. Как у спортсменов, так и в контрольной группе с наибольшей частотой отмечены представители гетерозиготного варианта гена *CYP17A1*. При сравнении гомозиготных генотипов как в контрольной группе, так и среди конькобежцев, преобладают представители с ТТ-полиморфным вариантом гена *CYP17A1* (таблица 1). Всего 14,3 % от всех конькобежцев составляли спортсмены, имеющие СС полиморфизм гена *CYP17A1*, у представителей контрольной группы этот генотип отмечен в 12,9 % случаев.

Сравнительный анализ частоты встречаемости полиморфных вариантов гена *CYP17A1* с учетом роста спортивного мастерства выявил тенденцию к увеличению количества спортсменов, обладающих ТТ-полиморфным вариантом гена *CYP17A1* (рисунок 1). Обнаружена линейная корреляционная зависимость частоты встречаемости СС-варианта гена от уровня квалификации конькобежцев ($r=-0,988$, $P<0,01$ для линейной зависимости). Используя многомерный критерий углового преобразования Фишера (ϕ), выявили, что частота встречаемости СС полиморфного вариант гена *CYP17A1* среди спортсменов I–III разряда, выше, чем среди конькобежцев, имеющих разряды МС и МСМК ($\phi_{эмп}=2,15$, $P<0,05$) (таблица 1). При этом частота встречаемости аллеля С в группе разрядников выше, а аллеля Т – ниже, чем в группе МС и МСМК ($\phi_{эмп}=1,95$, $P<0,05$).

Всех конькобежцев высокой квалификации (КМС, МС и МСМК) разделили на три группы в зависимости от специализации на спринтеров, стайеров и многоборцев. Специализацию выявляли, анализируя лучшие результаты выступления спортсменов на различных дистанциях. Проанализировав частоту встречаемости полиморфных вариантов гена *CYP17A1* у спортсменов высокой квалификации в зависимости от специализации, было показано, что среди спринтеров отсутствуют спортсмены, обладающие СС-генотипом (рисунок 2). Наибольшее количество спортсменов, имеющих СС полиморфный вариант гена *CYP17A1*, (25 %) обнаружено среди конькобежцев, специализирующихся в беге на длинные дистанции. Среди конькобежцев-многоборцев, генотипы ТТ и ТС имеют одинаковую частоту встречаемости: 47 % (рисунок 2). Используя критерий χ^2 , достоверных различий в группах обнаружено не было. Анализ результатов с помощью многомерного преобразователя Фишера показал, что частота встречаемости СС-полиморфизма среди спринтеров ниже, по сравнению со стайерами ($\phi_{эмп}=2,36$, $P<0,05$).

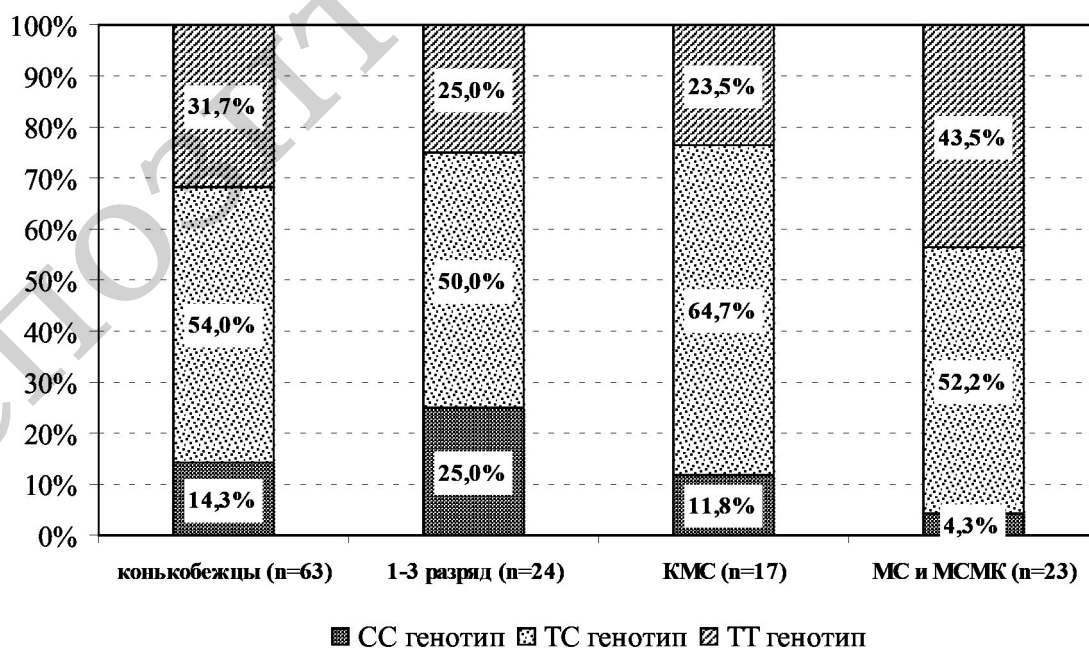


Рисунок 1 – Распределение частот полиморфных вариантов гена *CYP17A1* у конькобежцев разной квалификации

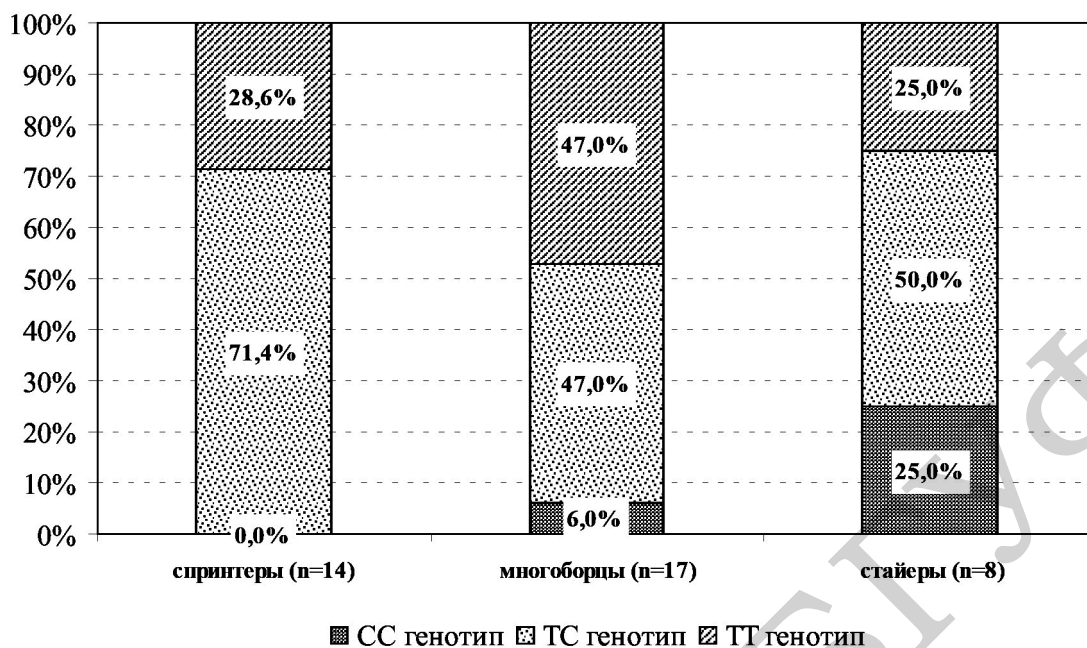


Рисунок 2 – Распределение частот полиморфных вариантов гена *CYP17A1* у конькобежцев высокой квалификации (КМС, МС и МСМК) в зависимости от специализации

Результаты тестирования спортсменов по тесту PWC_{170} показали, что мощность работы в соревновательном периоде подготовки у спортсменов обеих групп была выше, чем в восстановительном периоде подготовки. Так у спортсменов, имеющих гетерозиготный полиморфизм гена *CYP17A1*, мощность работы по тесту составляла 1438 ± 119 кгм/мин, а у спортсменов с вариантом ТС того же гена мощность работы была ниже и составляла 1294 ± 131 кгм/мин. В восстановительном периоде подготовки мощность работы снизилась по сравнению с соревновательным, и составила $1210 \pm 75,84$ кгм/мин (у спортсменов с генотипом ТС) и $1125 \pm 68,8$ кгм/мин (у спортсменов с генотипом ТТ).

Сравнительная характеристика средегрупповых значений биохимических показателей крови конькобежцев с различными полиморфными вариантами гена *CYP17A1* показала значимые различия ($P < 0,05$) концентраций гормона кортизола между группами как до нагрузки, так и после нагрузки (таблица 2). Так, концентрация кортизола до нагрузки в группе спортсменов с ТТ-полиморфным вариантом гена *CYP17A1* составляла $341 \pm 25,0$ нмоль/л, в группе обладателей гетерозиготного полиморфизма того же гена была значительно выше и составляла $437,6 \pm 33,4$ нмоль/л (таблица 2). После нагрузки концентрация кортизола в группе с гомозиготным генотипом незначительно снижалась и составляла $316,1 \pm 5,95$ нмоль/л. В то же время показатели концентрации кортизола у конькобежцев, обладающих ТС-полиморфным вариантом гена *CYP17A1*, возрастали до $443,6 \pm 49,9$ нмоль/л (таблица 2). Таким образом, С/Т-полиморфизм гена *CYP17A1* связан со скоростью синтеза кортизола. Наличие С-аллеля данного гена способствует более высокой концентрации кортизола в крови. Известно, что кортизол является регулятором обмена веществ в организме человека. Он стимулирует глюконеогенез из веществ неуглеводной природы: аминокислот,

глицерина, молочной кислоты; стимулирует катаболические процессы. Кортизол обеспечивает адаптацию и адекватную реакцию организма на стресс, физическую нагрузку, голодание, инфекции, травмы [7, 8].

Концентрации тестостерона в группе с ТТ-полиморфизмом гена *CYP17A1* как до, так и после нагрузки выше по сравнению с представителями гетерозиготного полиморфизма, однако различия не значимы (таблица 2).

Необходимо отметить, что концентрация холестерина в группе конькобежцев обладающих ТТ-полиморфным вариантом гена *CYP17A1* значимо выше ($P < 0,05$), чем его концентрация в группе спортсменов, имеющих гетерозиготный полиморфизм и С-аллель (таблица 2). Известно, что предшественником в синтезе кортизола является холестерин. Запасы холестерина в надпочечниках человека составляют 3–10 % в расчете на сырую массу. Для синтеза кортикостероидов холестерин поступает в надпочечники из плазмы крови или синтезируется из ацетил-КоА [7, 8]. Таким образом, можно сделать предположение, что наличие С-аллеля ассоциируется с более низкими показателями холестерина в крови вследствие вовлечения его в процессы синтеза кортикостероидов.

Таблица 2 – Среднегрупповые значения биохимических показателей в крови конькобежцев с различными полиморфными вариантами гена *CYP17A1* при выполнении тестирующей нагрузки

Показатели	Аллельные варианты гена <i>CYP17A1</i>			
	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
	ТТ (n=3)	ТТ (n=3)	ТС (n=10)	ТС (n=10)
	до нагрузки	после нагрузки	до нагрузки	после нагрузки
1	2	3	4	5
Рост, см	182,5±5,19	-	182,5±8,68	-
Вес, кг	78,2±8,96	-	76,7±7,96	-
Кортизол, нмоль/л	341,0±25,0* ³	316,1±5,95* ⁴	437,6±33,4* ¹	443,6±49,9* ²
Тестостерон, нмоль/л	17,6±1,76	18,9±1,89	15,3±1,14	17,4±1,85
Аспаратаминотрансфераза, Е/л	30,6±0,8	44,1±0,1	31,9±2,2	41,1±4,1
Аланинаминотрансфераза, Е/л	31,4±3,5* ³	33,2±5,2	17,9±1,8* ^{1,4}	23,7±1,8* ³
Креатинкиназа, Е/л	165,1±34,0* ²	243,0±7,0* ¹	203,9±71,5	244,8±72,5
Мочевина, ммоль/л	6,4±0,73	7,0±0,78* ⁴	5,5±0,35	5,2±0,27* ²
Глюкоза, ммоль/л	3,85±0,21	4,42±0,06	3,88±0,29	3,74±0,36
Триглицериды, ммоль/л	0,89±0,37	0,96±0,29	0,61±0,08	0,72±0,09
Холестерин, ммоль/л	3,85±0,06* ³	4,78±1,04	2,88±0,17* ¹	3,08±0,15
Общий белок, г/л	70,7±3,17	64,8±2,76	71,4±1,76	72,0±2,29
Альбумин, г/л	41,9±2,67	45,2±0,90* ⁴	38,5±0,92	40,8±1,08* ³
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,13±2,22	7,74±2,16	5,79±1,56	6,78±1,58
Эритроциты, 10 ¹² /л	4,93±0,44	5,21±0,05	5,43±0,22	5,58±0,30
Гемоглобин, г%	157,0±7,07	163,0±1,41	156,5±9,42	160,3±10,56
Гематокрит, %	47,3±1,60	51,5±6,86	44,9±2,25	46,1±2,99
Средний размер эритроцитов, фл	96,4±12,2	99,05±14,2	82,81±2,78	83,18±3,36

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	31,9±1,41	31,3±0,56	28,8±1,12	28,5±1,15
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	33,2±2,68	31,9±3,96	34,8±0,68	34,6±0,83
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	223,5±37,4	182,5±36,1	214,1±44,0	212,7±38,7
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	4,8±2,59	5,1±2,56	3,2±1,17	3,5±0,98
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	1,60±0,17	1,76±0,17	1,87±0,45	2,48±0,79

Примечание – * – P<0,05, статистически значимые различия между группами.

Выводы

Проведенные исследования показали, что с ростом спортивной квалификации увеличивается частота встречаемости конькобежцев, имеющих ТТ полиморфный вариант гена *CYP17A1*, и уменьшается частота встречаемости спортсменов, имеющих гомозиготный полиморфизм СС того же гена.

Наиболее результативными в конькобежном спорте являются генотипы, имеющие в своем составе Т аллель гена *CYP17A1*. Наличие генотипов ТТ и ТС является благоприятным фактором для роста спортивного мастерства конькобежцев различной квалификации. При наличии СС полиморфного варианта гена *CYP17A1* предпочтительнее специализироваться в беге на длинные дистанции и многоборье.

Наличие С-аллеля данного гена способствует более высокой концентрации кортизола в крови у конькобежцев, по сравнению с представителями, не имеющими данного аллеля. Наличие С-аллеля ассоциируется с более низкими показателями холестерина в крови.

1. Hanukoglu, I. Steroidogenic enzymes: structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis / I. Hanukoglu // J. Steroid Biochem. Molec. Biol. – 1992. – Vol. 43, № 8. – P. 779–804.

2. Гилеп, А.А. Структура и функция стероид 17 α -гидроксилазы/17,20-лиазы / А.А. Гилеп, С.А. Усанов // Биорегуляторы: исследования и применение: сб. науч. тр. / под ред. Ф.А. Лахвича. – Минск, 2009. – Вып. 2. – С. 192–211.

3. Lin, C.J. NF-1C, Sp1, and Sp3 are essential for transcription of the human gene for P450c17 (steroid 17 α -hydroxylase/17,20 lyase) in human adrenal NCI-H295A cells / C.J. Lin [et al.] // Mol. Endocrinol. – 2001. – Vol. 15, № 8. – P. 1277–1293.

4. Henderson, B.E. Hormonal carcinogenesis / B.E. Henderson, H.S. Feigelson // Carcinogenesis. – 2000. – Vol. 21, № 3. – P. 427–433.

5. Гилеп, И.Л. Роль полиморфизма генов *ACE*, *ACTN3* и *CYP17A1* в развитии физической работоспособности человека: автореф. дис. ... канд. хим. наук: 03.00.04 / И.Л. Гилеп; Ин-т биоорганической химии НАН Беларуси. – Минск, 2010. – 23 с.

6. Взаимосвязь структурного полиморфизма гена *CYP17* (С/Т-34) с биохимическими и биоэнергетическими характеристиками человека / И.Л. Гилеп [и др.] // Вестник Фонда фундаментальных исследований. – 2009. – № 4. – С. 118–125.

7. Эндокринная система, спорт и двигательная активность: пер. с англ. / под ред. У.Дж. Кремера, А.Д. Рогола. – Киев: Олимпийская литература, 2008. – С. 216–220.

8. Остапенко, Л.А. Анаболические средства в современном силовом спорте / Л.А. Остапенко, М.В. Клестов. – М.: СпортСервис, 2002. – 288 с.

Поступила 26.03.2013