

АССОЦИАТИВНЫЕ СВЯЗИ ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ ОРГАНИЗМА С ГЕНЕТИЧЕСКИМИ МАРКЕРАМИ У СПОРТСМЕНОВ

Д.Д. Сафарова, Б.Ж. Ядгаров

Узбекский Государственный институт физической культуры, Ташкент, Узбекистан

Для связи с авторами: dilbar-safarova@mail.ru

Аннотация:

Идентификация генетических маркеров позволяет в спорте прогнозировать не только предрасположенность к проявлению определенных физических качеств, но и индивидуальную предрасположенность к выполнению физических нагрузок. В работе исследованы ассоциативные взаимосвязи между такими генетическими маркерами, как фенотип ацетилирования с антигенами системы HLA. Распределение антигенов системы HLA у спортсменов, имеющих медленный и быстрый ацетилярный статусы, показал, что имеются достоверные различия по локусам HLA-B5 и HLA-B18. Антиген HLA-B5 был маркером «медленных» ацетилятов и не обнаруживался в группе «быстрых» ацетилятов. Лocus HLA-B18 преимущественно обнаруживался у быстрых ацетилятов и не встречался в группе с низким уровнем ацетилирования. Высокий уровень иммунореактивности и продукции специфических антител наблюдали у спортсменов-носителей в фенотипе антиген HLA-B15; низкий уровень иммунного реагирования и титра специфических антител выявлен при наличии в фенотипе антигенов HLA-B5 и HLA-B35.

Ключевые слова: генетические маркеры, фенотип ацетилирования, антигены системы HLA, иммунореактивность, медленные ацетиляторы, быстрые ацетиляторы, АСЛ – антигенсвязывающие лимфоциты, продукция антител.

ASSOCIATIVE COMMUNICATIONS IMMUNOREACTIVITY AN ORGANISM WITH GENETIC MARKERS AT SPORTSMEN

D.D. Safarova, B.J. Yadgarov

The Uzbek State institute of physical training, Tashkent, Uzbekistan

Abstract:

Identification of genetic markers allows to predict in sports not only predisposition to display of certain physical qualities, but also individual predisposition to performance of physical activities. In work associative interrelations between such genetic markers as a phenotype acitileytion with system HLA antigenes are investigated. Distribution of antigenes of system HLA in groups of the sportsmen having slow and fast acitileytion the status has shown, that there are authentic distinctions on loci B5 and B18. Antigene HLA – B5 was a marker "slow" acitileytion and it was not found out in group "fast" acitileytion. Locus B18: it was mainly found out at fast acitileytion and did not meet in group low level acitileytion. High level immunologic reactance and production of specific antibodies observed at sportsmen of-carriers in a phenotype antigene HLA-B15; Low level of immune reaction and tитра specific antibodies is revealed at presence in a phenotype of antigenes HLA-B5 and HLA-B35.

Key words: genetic markers, a phenotype acitileytion, system HLA antigenes, immunologic reactance, slow acitileytion, fast acitileytion, limfocytes of antigens, production of antibodies.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее перспективных подходов в спортивном отборе является изучение абсолютных и условных генетических маркеров, которые детерминируют не только развитие тех или иных физических качеств у спортсменов, но и уровень адаптационных возможностей. Однако выявление факторов

генетической предрасположенности и прогнозирования уровня развития двигательных качеств все еще остается нерешенной проблемой спортивной генетики. Довольно перспективным направлением в области спортивной генетики можно считать поиск генетических маркеров, которые могут ассоциироваться с изменением показателей иммунореактивно-

сти, влияющих на диапазон адаптационных возможностей организма спортсмена, способности переносить экстремальные, специфические нагрузки. Основная сложность при решении этой проблемы связана с вовлечением в процесс двигательной деятельности ассоциаций из множества генетических маркеров, а их различные сочетания могут принимать различное участие при развитии того или иного определенного фенотипического признака.

Ценность проводимых исследований должна быть подтверждена статистически достоверными взаимосвязями между генетическими маркерами и интересующим признаком.

АНАЛИЗ ПОСЛЕДНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПУБЛИКАЦИЙ

По мнению Рогозкина В.А., Астратенкова И.В. [8], идентификация генетических маркеров позволит прогнозировать развитие физических качеств человека, что имеет большое значение для наиболее эффективного профессионального отбора в спорт и другие виды деятельности, связанные с экстремальными физическими нагрузками. К абсолютным генетическим маркерам относятся некоторые признаки дерматоглифики и одонтоглифики, группы крови, иммуногенетическая система HLA, некоторые серологические показатели. К условным генетическим маркерам относят соматотип, темперамент, тип нервной деятельности, фенотип ацетилирования. Экстремальные нагрузки в современном спорте вызывают нарушения иммунологической реактивности, снижение сопротивляемости, существует вероятность срывов в состоянии здоровья спортсменов в момент ответственных соревнований [2, 10, 11]. Кроме того, показано, что риск заболеваемости для ряда болезней связан с одними и теми же генетическими маркерами. Так, к генетически детерминированным биохимическим маркерным системам относятся и фенотип ацетилирования. В последнее время в медицине накоплен фактологический материал, подтверждающий связь состояния иммунологической реактивности с процессами ацетилирования [1]. Это было принято за основу для проведения данного исследования.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: изучение взаимосвязи показателей функциональной активности иммуноцитов с фенотипом ацетилирования и выявлением ассоциаций между HLA фенотипом и особенностями процессов N-ацетилирования у спортсменов узбекской популяции.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ:

1. Проведение генетических исследований требует использования однородной выборки, поэтому объектом исследования явились спортсмены узбекской популяции (свыше 300 человек), имеющие высокие спортивные квалификации в возрасте 17 – 21 год. Для изучения процессов ацетилирования использовали нагрузочный тест с норсульфазолом. Учитывая, что показатели фенотипа ацетилирования подвержены сезонным колебаниям, обследование спортсменов проводилось в различные сезоны года. В течение года проведено исследование 303 проб мочи. Из общего количества обследованных проб 120 было взято в ноябре–декабре, 117 проб – в марте–апреле и 66 проб – в мае–июне. В качестве модельного препарата использовали норсульфазол в фиксированной дозе 0.5 гр. Через 5-6 часов собиралась моча, в которой по методу Пребстинг и Гаврилова в модификации В.Д.Пономарева [6,7] определяли ацетилированный и неацетилированный препарат.

Показатель ацетилирования определяли по формуле:

$$\text{Фенотип ацетилирования (ФА в \%)} = \frac{O - C}{O} \times 100\%$$

O, где

ФА (%) – показатель фенотипа ацетилирования

O – оптическая плотность общего норсульфазола,

C – оптическая плотность свободного норсульфазола.

2. HLA-фенотип определяли в стандартном лимфоцитотоксическом тесте с использованием панели антисывороток, полученных из центра иммунологического типирования тканей при Санкт-Петербургском НИИ переливания крови. Лимфоциты периферической крови выделяли в градиенте плотности

фиколл-верографин.

3. В качестве антигенного воздействия была использована брюшнотифозная вакцина. Иммуный ответ оценивали путем определения антигенсвязывающих лимфоцитов (АСЛ), специфически сенсibilизированных относительно антигена *S typhi* по методу Гурарий Н.И. [3]. Титр специфических антител определяли в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) с эритроцитарным сальмонелезным О-диагностикумом по принципу парных сывороток. Реакцию проводили на нормальной кроличьей сыворотке с соответствующим контролем в изотоническом растворе.

4. Цифровые данные подвергали статистической обработке. Вычисляли средние величины, достоверность их различий и взаимные корреляции. Достоверным считали различия, удовлетворяющие $p < 0,05$.

Положение основного материала: учитывая, что показатели фенотипа ацетилирования подвержены сезонным колебаниям, обследование спортсменов проводилось в различные сезоны года. Обследованные спортсмены узбекской популяции в зависимости от способности ацетилирования модельного препарата распределялись бимодально. У 44 человек процент ацетилирования не достигал 10%, и они были отнесены к категории низких ацетилаторов. У других (72 человека) он был выше 20%, что явилось основанием считать их быстрыми ацетилаторами.

Количество «быстрых» ацетилаторов в августе превышает таковые в феврале. В среднем частота встречаемости «медленного» фено-

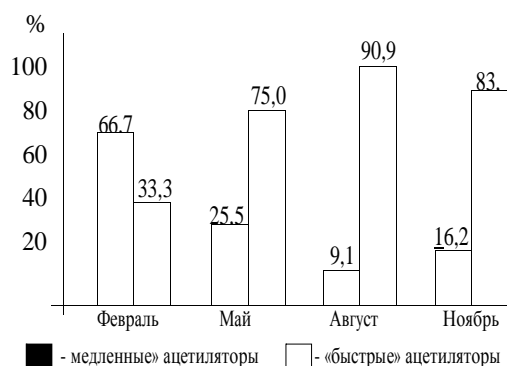


Рисунок 1 – Распределение лиц узбекской национальности по фенотипу ацетилирования в зависимости от сезона года

типа ацетилирования в различные сезоны года составляет: в феврале самая высокая частота встречаемости «медленного» фенотипа ацетилирования – 66,7%, затем наблюдается постепенное снижение и в августе составляет 9,1%. Диаметально противоположные результаты выявлены для лиц с «быстрым» фенотипом ацетилирования. Наибольшая частота встречаемости «быстрых» ацетилаторов приходится на август – 90,9%, к августу снижается до 9,1%.

Как следует из результатов исследований (рисунок 1), показатели фенотипа ацетилирования подвержены значительной изменчивости. Так, при обследовании 120 спортсменов в декабре 38,33% лиц при унимодальном распределении имели показатели фенотипа ацетилирования в интервале от 10 до 20. При обследовании, проведенном в марте, из 117 человек выявлено бимодальное распределение фенотипа. У 22,92% лиц в интервалах, соответственно, от 0-10 - средние показатели фенотипа составили $10,26 \pm 1,56$, а при втором типе распределения у 25,64% лиц в интервалах 30-40 средний показатель фенотипа ацетилирования составил $35,69 \pm 2,87$.

При обследовании 66 спортсменов в третий раз в июне у подавляющего большинства обследованных, в частности, 40,91% спортсменов имели фенотип в интервале от 10-20 со средним показателем ацетилирования - $15,34 \pm 1,37$. (таблица 1).

Приведенные показатели указывают на значительную вариабельность изучаемого признака, как при индивидуальном обследовании, так и при анализе характера распределений на больших группах. Сравнение указанных параметров по критерию Стьюдента / + / подтверждает это предположение.

В предыдущих исследованиях было установлено, что показатели функциональной активности энзимного статуса иммуноцитов после антигенного воздействия имеют корреляцию с динамикой титра антител, антигенсвязывающих лимфоцитов (АСЛ) и f – НАЭ - положительных лимфоцитов. Выявлены также ассоциативные связи показателей энзимного статуса иммуноцитов с особенностями антигенного состава системы HLA.

Таблица 1 - Характеристика распределений по фенотипу ацетилирования студентов обследованных за период с декабря по июнь

№ гр.	период обследования	Кол-во обследованных	Сред. показатели фенотипа ацетилирования	Мода+	σ	Тип распределения
1	ноябрь-декабрь	120	22,82±1,18	Мо ¹	12,92	Унимодальный
2		117	10,26±1,56	Мо ²	9,35	Бимодальный
	март-апрель		35,69±2,87	Мо ³		
3	Май- июнь		15,34±1,37	Мо ⁴	11,12	Унимодальный

Таблица 2 - Ассоциация степени нарастания титра специфических антител и содержания антигенсвязывающих лимфоцитов с HLA-фенотипом при вакцинации брюшнотифозной вакциной

HLA-фенотип	Динамика антителообразования		Динамика АСЛ
	Нормальная кроличья сыворотка	Изотонический раствор	
HLA-A9	-2,7	-2,2	8,25
HLA-A10	+1,5	+2,0	+9,36
HLA-B5	-4,0	-1,5	-0,5
HLA-B13	-1,7	-2,2	+7,0
HLA-B15	+0,5	+4,0	+20,0
HLA-B16	-1,4	-1,7	+3,24
HLA-B35	-1,5	-3,0	+2,0

Динамика антителообразования у спортсменов с различным HLA-фенотипом варьировала в широких пределах. Как рост, так и снижение титра антител у большинства обследуемых имели значения, относительно близкие к средним общегрупповым показателям. Однако при фенотипах HLA-B5, HLA-B15 и HLA-B35 различия в титре антител являются значимыми: если фенотипы HLA-B5, и особенно, B-35, ассоциировали с низким содержанием титра антител вплоть до снижения, то фенотип HLA-B15 ассоциировал с выраженным повышением титра специфических антител (таблица 2).

Динамика АСЛ у обследуемого контингента спортсменов на 10-12-й день после вакцинации характеризуется возрастанием среднегрупповых показателей. Однако наиболее выраженные различия в динамике АСЛ отмечены также у лиц с фенотипами HLA-B5, HLA-B35 и HLA-B15. Динамика АСЛ у лиц с фенотипом HLA-B5 и HLA-B35 характеризуется несущественным повышением или снижением количества АСЛ как относительно исходного, так и относительно среднегруппового показателя. В то же время выраженное повышение АСЛ как относительно исходного, так и относительно среднегруппового показателя отмечено у носителей фенотипа HLA-B15, у которых было выявлено наиболее значительное повышение кратности титра антител. Полученные результаты исследований указывают на существование HLA-ассоциированного генетического контроля клеточного и гумо-

рального иммунитета, причем сила иммунного реагирования и характер иммунного ответа на брюшнотифозное антигенное воздействие зависят непосредственно от HLA-фенотипа. В литературе имеются подобные данные о существовании зависимости проявления функциональной специфичности и активности иммунной системы от иммуногенетических особенностей [5]. Установлено, что действие HLA-B35 ассоциированного гена проявляется через разнонаправленный уровень двух разных субпопуляций иммунокомпонентных клеток: повышенную активность естественных киллеров (ЕК) и сниженный митогенный ответ Т-лимфоцитов. У обследованных спортсменов узбекской популяции с фенотипом HLA-B15 отмечается выраженное повышение титра антител, достоверное повышение в крови количества АСЛ, выраженные колебания показателей общего пула Т- и В- лимфоцитов, что свидетельствует об адекватной иммунной реакции в ответ на антигенное воздействие и характеризует высокий уровень иммунореактивности с интенсивной продукцией специфических антител. Это позволяет сделать прогноз, что спортсмены узбекской популяции – носители в фенотипе антиген HLA-B15 обладают также и способностью высокой степени адаптироваться к физическим нагрузкам различного объема и мощности.

Противоположный характер иммунного реагирования выявлен для спортсменов с фенотипами HLA-B5 и HLA-B35: неадекватно

низкий уровень иммунного реагирования позволяет судить об ограниченности у них адаптационных возможностей иммунной системы одной из главных систем контроля и поддержания гомеостаза. Лица с подобным типом иммунного ответа зачастую предрасположены к затягиванию и хронизации ряда инфекционных заболеваний [4, 9]. Следовательно, спортсменов-носителей в фенотипе HLA-B5 и HLA-B35 можно отнести к группе риска, способных дать срывы в период ответственных соревнований. Полученные результаты указывают на возможность прогнозирования адаптационных способностей организма спортсменов к повышенным функциональным нагрузкам по признакам иммунного статуса и с учётом особенностей у них HLA-B5 и HLA-35-фенотипа.

Установлены также взаимосвязи показателей функциональной активности иммуноцитов с фенотипом ацетилирования. Анализ результатов исследований показал, что функциональная активация иммунокомпетентных клеток при антигенном воздействии зависит от фенотипа ацетилирования: степень повышения показателей энзимного статуса и сила иммунного реагирования достоверно выше при медленном фенотипе ацетилирования,

чем при быстром.

Малоизученным до настоящего времени остается вопрос, связанный с выявлением критериев гетерогенности у спортсменов одинаковой этнической принадлежности по фенотипу ацетилирования и его сопряженности с качественным составом антигенов системы HLA. Распределение антигенов системы HLA в группах «медленных» и «быстрых» ацетиляторов показало, что имеются статически достоверные различия по антигенам локусов B5 и B18 (таблица 3).

Антиген HLA – B5 был маркером «медленных» ацетиляторов и не обнаружился в группе «быстрых» ацетиляторов. Противоположная картина наблюдалась по локусу B18: который преимущественно обнаружился у быстрых ацетиляторов и не встречался в группе с низким уровнем ацетилирования. Таким образом, фенотип ацетилирования тесно взаимосвязан не только с HLA-фенотипом, но и показателями уровня иммунореактивности, что, по-видимому, обуславливает уровень адаптационных возможностей организма спортсменов.

На основании полученных результатов можно предположить, что выявленные различия в распределении антигенов системы HLA в

Таблица 3 - Ассоциации антигенов HLA с фенотипом ацетилирования у спортсменов узбекской популяции

HLA антигены	«Медленные» ацетиляторы n-44	«Быстрые» ацетиляторы n-72
HLA-A1	0,117	0,185
A2	0,294	0,222
A3	0,294	0,148
A9	0,176	0,370
A10	0,117	0,259
A11	0,117	0,148
A19	0	0
A28	0,117	0,037
HLA- B5*	0,176*	0*
B7	0,176	0,111
B8	0,048	0,037
B12	0,117	0,148
B13	0,411	0,222
B14*	0,0	0,0
B15*	0,0	0,0
B16	0,058	0,146
B17	0,058	0,074
B18*	0	0,148
B21	0,058	0,148
B22	0	0,037
B27	0,058	0
B35	0	0,037
B40	0	0,074

*P<0,05

группах спортсменов с различными фенотипами ацетиляции обуславливают детерминированность процессов ацетиляции, что необходимо учитывать при построении тренировочного процесса для оценки индивидуальных возможностей организма спортсмена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Спортсмены узбекской популяции по фенотипу ацетиляции представляют гетерогенную группу, а преобладание того или иного ацетиляторного статуса спортсменов зависит от сезона года. Показатели характеристик распределений по фенотипу распределения выявляют значительную изменчивость параметров ацетилирующей способности в зависимости от сезонных климатических факторов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гулямов, Н.Г. Иммуноморфологические основы патогенеза различных форм острых кишечных инфекций : дисс. ... д-ра мед. наук / Н. Г. Гулямов. - Ташкент, 1993. - 231 с.
2. Граевская, Н.Д. Применение новых технологий в спортивной медицине / Н.Д. Граевская и др. // Теория и практи. физической культуры.—2007.- № 2.—С. 67- 68.
3. Гураий, Н.И. Количественный анализ Т-и В- лимфоцитов и их антигенсвязывающих субпопуляций у здоровых и больных пневмонией детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.36 / Н. И. Гураий. - Алма-Ата, 1981.— 16 с.
4. Зарецкая, Ю.М. Введение в клиническую иммуногенетику / Ю.М. Зарецкая, В.Ю. Абрамов. - М., 1986.
5. Каргин, А.В., Гольдберг Н.Д. Ассоциация (УУ АА) полиморфизма гена EPO 12 с уровнем адаптационных изменений в организме спортсмена при систематической мышечной деятельности / А.В. Каргин, Н.Д. Гольдберг // АФК.—2013.- №1 (53).—С. 27-29.
6. Коненков, В.И. Ассоциированность генов HLA-молекул в проявлении функциональной активности клеток иммунной системы / В.И. Коненков, М.И. Му-

2. Распределение антигенов системы HLA в группах спортсменов медленных и быстрых ацетиляторов показал, что имеются достоверные различия по локусам В5 и В18. Антиген HLA-B5 был маркером «медленных» ацетиляторов и не обнаруживался в группе «быстрых» ацетиляторов. Лocus В18 преимущественно обнаруживался у быстрых ацетиляторов и не встречался в группе с низким уровнем ацетиляции.

3. Высокая иммунная реактивность у спортсменов узбекской популяции при фенотипе HLA-B15 указывает на широкие адаптационные возможности, а низкий иммунный ответ при фенотипе HLA-B5 и HLA-B35 - на ограниченность адаптационных возможностей организма, в частности к повышенным физическим нагрузкам

сатов // Клиническая иммунология и иммуногенетика. - Новосибирск, 1988. - С. 57.

7. Пономарев В.Д. Резорбция норсульфазола при пероральном введении кроликам в виде гидрофилизированной суспензии / В.Д. Пономарев, В.А. Макаров, Н. Мухитдинов // Фармация. - 1971. - № 4. - С. 51-52.
8. Пребстинг, С. Методы экспериментальной химиотерапии / С. Пребстинг, И. П. Гаврилов. — М., 1971.
9. Рогозкин, В.А. Анализ полиморфизма генов для оптимизации подготовки спортсменов / В.А. Рогозкин, И.В. Астратенкова // Медико-биологические технологии повышения работоспособности в условиях напряженных физических нагрузок. — М., 2004. - С. 49-57.
10. Серова, Л.Д. Биологические основы формирования ассоциаций антигенов системы HLA и предрасположенностью к заболеваниям / Л.Д. Серова, В.Н. Шабапин // Вестник АМН СССР. - М. : Медицина, 1988. - № 7. - С. 17-22.
11. Шахлина, Л. Адаптация организма спортсменок высокой квалификации к физическим нагрузкам в спорте высших достижений / Л. Шахлина // Современный олимпийский спорт и спорт для всех : материалы науч.-практ. Конф.—Т. 2.—М., 2003. - С. 202-203.

BIBLIOGRAPHY

1. Graevskaja, N.D., etc., Application of new technologies in sports medicine // the Theory. Physical training, 2007, №2. — P. 67-68.
2. Guljamov, N.G. Immunomorphological bases pathologic processes various forms of sharp intestinal infections // On . Degrees doct. of Medical sciences, Tashkent.— 1993. - 231 p.
3. Guraiy, N.I. Quantitative analysis T-B — limfocytes and them subpopulations at children healthy and sick of a pneumonia: the Author's abstract. Medical Sciences. 14.0036//Alma-Ata.- 1981.— 16 p.
4. Kargin, A.V., Goldberg N.D. - Association (УУ АА) polymorphism of gene EPO 12 with level adaptable

change in an organism of the sportsman at regular muscular activity. AFC.— 2013. - №1 (53). - P. 27-29.

5. Konenkov, V.I, Musatov, M.I. Association genes of HLA-molecules in display of functional activity of cages of immune system // Clinical immunology and immunogenetik. Novosibirsk.— 1988. - 57 p.
6. Ponomarev, V.D, Makarov, V.A, Muhitdinov, N. Reabsorption of norsulfazol at perioraly introduction to rabbits in a kind suspensions // Pharmacy. - 1971. - № 4. - P. 51-52.
7. Prebsting, C, Gavrilov, I.P.— Methods of experimental chemotherapy.— М, 1971.
8. Rogozkin, V.A, Astratenkova, I.V. — the Analysis of polymorphism of genes for optimisation of

- preparation of sportsmen / сб. «Medical and biologic technologies of increase of working capacity in conditions stronger physical activities Moscow. — 2004. - P. 49-57.
9. Serova, L.D., Shabalin V.N. Biological bases of formation of associations of antigens of system HLA and predisposition to diseases.//Bulletin AMH the USSR, M, Medicine.— 1988. - № 7. - P. 17-22.
10. Shahlina, L. Adaptation of an organism of sportswomen of high qualification to physical activities in sports of the higher achievements / the scientific Congress «Modern Olympic sports and sports for all (conference Materials, volume 2, Moscow.- 2003, - 202-203 pp.
11. Zaretskaja, J.M., Abramov, V.J.U. Introduction in clinical immunogenetik.— M., 1986.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сафарова Дильбар Джамаловна — кандидат биологических наук, профессор кафедры анатомии и физиологии Узбекского Государственного института физической культуры.

Ядгаров Боходир Жуматович — кандидат педагогических наук, старший преподаватель Ургенчского Государственного Университета.